



UADY

POSGRADO
INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS
QUÍMICAS Y
BIOQUÍMICAS

ESTUDIO DE LA RELACIÓN ESTRUCTURA-
ACTIVIDAD DE ANÁLOGOS LIPOFÍLICOS N-(4-
ARIL-2-TIAZOLIL)-AMIDAS COMO INHIBIDORES
DE *Giardia intestinalis*

TESIS

PRESENTADO POR

MARIO DE JESÚS NOH BURGOS

EN OPCIÓN AL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS
QUÍMICAS Y BIOQUÍMICAS

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO



UADY

POSGRADO
INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS
QUÍMICAS Y
BIOQUÍMICAS

**ESTUDIO DE LA RELACIÓN ESTRUCTURA-
ACTIVIDAD DE ANÁLOGOS LIPOFÍLICOS N-(4-
ARIL-2-TIAZOLIL)-AMIDAS COMO INHIBIDORES
DE *Giardia intestinalis***

TESIS

PRESENTADO POR

MARIO DE JESÚS NOH BURGOS

EN OPCIÓN AL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS
QUÍMICAS Y BIOQUÍMICAS**

MÉRIDA, YUCATÁN, MÉXICO

2019



Mérida, Yuc., 30 de octubre de 2019
Oficio Num.: PICQB/205/2019

Asunto: Autorización de digitalización

La tesis "Estudio de la relación estructura-actividad de análogos lipofílicos N-(4-aril-2-tiazolil)-amidas como inhibidores de *Giardia intestinalis*" presentada por Mario de Jesús Noh Burgos, en cumplimiento parcial de los requisitos para optar por el grado de Maestro en Ciencias Químicas y Bioquímicas, ha sido aprobada en cuanto a su contenido científico y en cuanto a lo establecido en el Manual de Procedimientos del Posgrado Institucional en Ciencias Químicas y Bioquímicas, por lo que se le autoriza la digitalización de los ejemplares correspondientes.

Directores de la tesis



Dr. Rolando David Cáceres Castillo



Dr. Gonzalo Joaquín Mena Rejón

Sinodales

Dr. Ramiro F. Quijano Quiñones

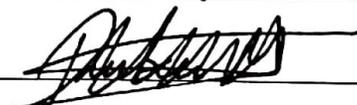
Dra. Adriana Esparza Ruíz

Dr. Rubén Marrero Carballo

Firmas







ATENTAMENTE
"LUZ, CIENCIA Y VERDAD"


DRA. MAIRA RUBI SEGURA CAMPOS
COORDINADORA DEL POSGRADO INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS QUÍMICAS Y BIOQUÍMICAS



c.c. Archivo
MRSC

POSGRADO INSTITUCIONAL
EN CIENCIAS QUÍMICAS
Y BIOQUÍMICAS

AGRADECIMIENTOS ACADÉMICOS

A todos aquellos quienes de una u otra forma contribuyeron para que fuera posible la realización de este trabajo, desde las personas responsables de mi formación universitaria, hasta las personas que de manera más estrecha aportaron ideas y su experiencia para la culminación de este documento.

Al **Dr. Rolando David Cáceres Castillo** por darme la oportunidad de trabajar nuevamente en su grupo de trabajo, por su apoyo, consejos y guía durante la realización de este trabajo, gracias por brindarme su confianza, paciencia, sabiduría y amistad.

Al **Dr. Gonzalo Joaquín Mena Rejón** por darme la oportunidad de trabajar con él, su disposición para enseñarme y ayudarme a crecer académica y personalmente, así como por su paciencia y consejos para lograr la culminación de este trabajo.

A los miembros del honorable sínodo y suplentes, **Dr. Ramiro F. Quijano Quiñones, Dra. Adriana Esparza Ruiz, Dr. Rubén Marrero Carballo, Dr. Julio Cesar Torres Romero** por dedicar parte de su invaluable tiempo y sus valiosos conocimientos en las revisiones de este trabajo, así como por sus aportaciones durante el transcurso de la maestría.

Al **Dr. Gumersindo Mirón López**, al **QFB. Carlos Alfonso Pech Cauich** y al laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear por la realización de los experimentos espectroscópicos.

Al **M. en C. Manlio Joaquín Graniel Sabido** por la realización de los espectros de masa y por sus consejos otorgados para la mejora de este trabajo.

A la **Dra. Rosa Esther Moo Puc, Dr. Juan Chalé Dzul**, por la realización de las evaluaciones de actividad biológica, así como permitirme realizar actividades de apoyo técnico, permitiéndome conocer y aplicar las técnicas utilizadas en la evaluación de la actividad biológica.

Al equipo de trabajo "**TEAM TIAZOLES**" conformado por la **Q. Carolina Stephania Castro Segura, QFB. Jesús Alberto Aguilera González** y compañeros que conforman el mismo, **Ángeles Gamboa** y **Mario López**, por sus comentarios, amistad y apoyo incondicional durante la fase experimental y escritura de este trabajo.

A la **Q. Jessica Alejandra Carrillo Uicab, M en C. Sara Medina Gómez** por sus comentarios, señalamientos, apoyo incondicional durante mi formación y consejos durante la realización de este trabajo.

A mis compañeros del laboratorio de Química Farmacéutica: Wendy, Marco, Fernando, David, Adrián y Vicente por sus comentarios, señalamientos y buenos momentos.

A toda mi familia y amigos, por su apoyo y cariño durante toda mi formación personal y académica. Gracias, en especial, a mis **padres** y **novia** que me han brindado su amor y motivación durante el transcurso de la maestría.

A las autoridades de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán por permitir la realización de este trabajo en dichas instalaciones.

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Química Farmacéutica de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán, bajo la dirección del Dr. Rolando David Cáceres Castillo y el Dr. Gonzalo Joaquín Mena Rejón y formó parte del Proyecto “Desarrollo de inhibidores selectivos de *Giardia intestinalis*. Ensayos preclínicos de derivados de *N*-(4-metilfenil-5-aril-2-tiazolil)-acetamidas.” Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social, financiado con recursos del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología mediante el convenio 290398 (Clave FQUI-2018-0001) y con el apoyo de una beca concedida por el mismo (631587).

RESUMEN

La giardiasis es una enfermedad parasitaria causada por *Giardia intestinalis*, este protozoo es el responsable más frecuente de enfermedades gastrointestinales a nivel mundial. Hoy en día, aunque hay varios tipos de fármacos disponibles para el tratamiento de la giardiasis, el fracaso terapéutico se produce con frecuencia siendo los mecanismos de resistencia la causa más importante, por lo que no se cuenta con razones suficientes para considerar que el arsenal quimioterapéutico de agentes anti-giardíacos sea suficiente.

Debido a que muchos compuestos que contienen el anillo tiazólico como componente principal han mostrado poseer una gran variedad de propiedades farmacológicas ha sido una de las estructuras heterocíclicas que ha sido extensamente estudiada en los últimos años. En la quimioterapia de enfermedades transmitidas por protozoarios, los derivados de tipo 2-aminotiazoles como los 2-amino-4-ariltiazoles constituyen una alternativa para combatir la giardiasis.

En este trabajo se presenta la obtención de derivados de tipo *N*-(4-aril-2-tiazolil)-amidas. Con la finalidad de analizar la influencia de los sustituyentes en la actividad anti-giardíaca se llevó a cabo la síntesis de 31 amidas empleando siete diferentes cloruros de ácido.

Los resultados de la actividad biológica frente a *Giardia intestinalis*, revelan que dos de los 31 derivados evaluados presentaron las mejores actividades del set de compuestos, los cuales corresponden a los derivados *N*-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-pivaloamida y *N*-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-ciclopentamida.

En el estudio de las relaciones estructura-actividad (SAR) de los derivados tiazólicos sintetizados, se encontró que no existe una relación entre la estructura, lipofilia y la actividad anti-giardíaca en derivados de tipo *N*-(4-aril-2-tiazolil)-amidas.

ABSTRACT

Giardiasis is a parasitic disease caused by *Giardia intestinalis*, this protozoon is the most frequently responsible of gastrointestinal infections worldwide. Nowadays, although many types of drugs are available for giardiasis treatment, therapeutic failures are frequently produced and the resistances mechanisms being the most important cause, for this reason there is no reasons to consider that available chemotherapeutic arsenal for giardiasis treatment are satisfactory.

Due to many compounds with thiazole ring as principal component have shown a wide range of pharmacological activities properties it has been a heterocyclic structure extensively studied in the last years. In protozoan transmitted disease chemotherapy 2-aminothiazoles derivatives such as 2-amino-4-arylthiazoles are an alternative to combat giardiasis.

In this work the obtention of *N*-(4-aryl-2-thiazolyl)-amides are presented. With the aim for analyze the influence of substituents in anti-giardial activity the synthesis of 31 amide derivatives was carried out employing seven different acid chlorides.

The results of the activity of biological against *Giardia intestinalis*, reveal that two of the 31 derivatives evaluated presented the best activities of the set of compounds, which correspond to derivatives *N*-(5-bromo-4-methylphenyl-2-thiazolyl)-pivaloamide and *N*-(5-bromo-4-methylphenyl-2-thiazolyl)-cyclopentamide

In the study of the structure-activity relationships (SAR) of the synthesized thiazole derivatives, it was found that there is no relationship between the structure, lipophilicity and the anti-giardiasis activity in derivatives of type *N*-(4-aryl-2-thiazolyl)-amides.

ÍNDICE

INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES	3
Giardiasis.....	3
Fármacos con actividad anti-giardiasica.....	4
Tiazoles con actividad anti-giardiasica.....	7
Síntesis de derivados tiazólicos.....	11
Relación Estructura-actividad.....	14
HIPOTESIS	19
JUSTIFICACIÓN	21
OBJETIVO	23
Objetivo general.....	23
Objetivos específicos.....	23
METODOLOGÍA	25
Procedimiento general para la preparación de 2-amino-4-aryl-1,3-tiazoles.....	25
Procedimiento general para la preparación de 2-amino-5-bromo-4-aryl-1,3-tiazoles.....	26
Procedimiento general para la preparación de N-(5-bromo-4-aryl-2-tiazolil)amidas.....	27
Procedimiento general para la preparación de N-(5-bromo-4-aryl-2-tiazolil)amidas.....	32
Evaluación de la actividad biológica.....	36
Bioensayo de actividad citotóxica frente a línea celular Vero.....	37
RESULTADOS Y DISCUSIONES	39
Síntesis de los derivados tiazólicos.....	39
Síntesis de los 2-amino-4-aryl-1,3-tiazoles.....	39
Bromación de los 2-amino-4-aryl-1,3-tiazoles.....	42
Acilación de los derivados de tipo 2-amino-5-bromo-4-aryl-1,3-tiazol.....	44
Acilación de los 2-amino-4-aryl-1,3-tiazoles.....	46
Actividad anti-giardiasica.....	51
Bioensayo de actividad citotóxica frente a línea celular Vero.....	51
Relación Estructura-Actividad (SAR) de los diferentes derivados tiazólicos.....	53
Cálculo de las propiedades fisicoquímicas moleculares.....	55
CONCLUSIONES	59
REFERENCIAS	61
ANEXOS	67

INTRODUCCIÓN

En septiembre de 2004 la giardiasis fue incluida dentro del grupo de enfermedades desatendidas de la Organización Mundial de la Salud, desafortunadamente, aun con iniciativas de este tipo, se estima que solamente el 10% de los recursos destinados a investigación, son utilizados en enfermedades que afectan al 90% de la población mundial.¹ En México, 7 de cada 10 personas se encuentran infectadas por parásitos intestinales, lo que nos ubica como un país con alta prevalencia en parasitosis.² Siendo las enfermedades infecciosas intestinales la quinta causa de muerte en niños menores de 4 años, la alta incidencia de esta condición se ha asociado a una disminución de los niveles de zinc, hierro, ácido fólico, y vitaminas A y B12, lo que resulta en afectaciones al crecimiento y desarrollo.^{3,4} Aunque hay varios tipos de fármacos disponibles para el tratamiento de la giardiasis, el fracaso terapéutico se produce con frecuencia, siendo la farmacoresistencia la causa más importante. Lo que subraya la necesidad de incorporar nuevas alternativas de tratamiento para combatir esta parasitosis.⁵

Actualmente los fármacos anti-giardíacos poseen en su estructura núcleos heterocíclicos, los cuales presentan innumerables actividades biológicas. En la quimioterapia de enfermedades transmitidas por protozoarios, los derivados de tipo 2-aminotiazol han sido investigados debido a su amplio espectro antiparasitario. Estos derivados se han evaluado en actividades tanto *in vitro* como *in vivo*, en contra de *Trypanosoma*, *Leishmania*, *Plasmodium*, *Toxoplasma*, entre otros.⁶⁻¹¹

Es por ello, que se manifiesta el interés por contribuir con información sobre derivados de tipo 2-amino-4-ariltiazoles, mediante la elaboración de análogos lipofílicos de tipo *N*-(4-aril-2-tiazolil)-amidas y evaluar su actividad farmacológica a través de ensayos de actividad anti-giardíaca, sus posibles efectos citotóxicos y tratar de establecer la relación estructura-actividad que éstos posean para con ello apoyar el desarrollo de la búsqueda de un compuesto líder para el desarrollo de moléculas para el tratamiento de la giardiasis.

ANTECEDENTES

Giardiasis

La giardiasis es una enfermedad parasitaria intestinal de origen hídrico, causada por el protista amitocariado, *Giardia intestinalis* (sin. *G. duodenalis*, *G. lamblia*), este agente protozoario es el responsable más frecuente de enfermedades intestinales, se le atribuyen 280 millones de infecciones sintomáticas por año en todo el mundo.¹²⁻¹⁹ Su nivel de prevalencia varía del 2 al 7% en los países desarrollados y del 20 al 30% en la mayoría de los países en desarrollo, sin embargo, se estima que para el año del 2050 más del 50% de los países en desarrollo, serán susceptibles a contraer esta enfermedad.^{16,20}

En Asia, África y América Latina, alrededor de 200 millones de personas tienen giardiasis sintomática, con informe de 500,000 nuevos casos cada año.^{20,21} La incidencia de esta enfermedad es mayor para la población infantil de 1 a 9 años y adultos de 30 a 39 años.²² En países en desarrollo *G. intestinalis* representa una de las principales causas de muerte infantil, que contrasta con países desarrollados, el cual no hay evidencia estadística asociada a diarrea aguda e infecciones por *Giardia* en niños mayores de 5 años.^{14, 16-18} En México, las enfermedades infecciosas intestinales suman la quinta causa de muerte en el grupo de edad de menores de 4 años. Se estima que aproximadamente 9 millones de personas se encuentran infectadas con *G. intestinalis*, siendo esta la principal responsable de enfermedades parasitarias.^{20,21} En 2010, para Yucatán diversas instituciones reportaron en conjunto un total 103,386 personas con padecimientos de alguna infección intestinal, el cual va en aumento de forma anual. Para el año 2016 se reporta un total hasta ese año de 106,849 personas con algún tipo de padecimiento de carácter intestinal, situación que se percibe como de alto riesgo debido a la afectación que provoca esta parasitosis al estado nutricional de la población infantil, ya que se ha asociado con una disminución de los niveles de zinc, hierro, ácido fólico, y vitaminas A y B12.^{2-4, 23}

El género *Giardia* se ha clasificado de acuerdo con las características morfológicas del cuerpo medio y se ha dividido en seis especies: *G. muris* (roedores, pájaros y reptiles), *G. agilis* (anfibios), *G. ardeae* (garzas), *G. psittaci* (loros), *G. intestinalis* (humanos y mamíferos) y *G. microtti* (roedores); esta última se considera por algunos autores dentro de la especie *G. intestinalis*.^{24,25}

El ciclo biológico del parásito incluye dos etapas, el quiste y el trofozoíto. Cada quiste maduro es tetranucleado y son relativamente inertes, su actividad metabólica es solo de un 10-20% de la desarrollada por los trofozoitos. Los trofozoitos presentan dos núcleos y su citoesqueleto incluye un disco ventral adhesivo, un cuerpo medial y cuatro pares de flagelos.^{14, 26}

Giardia intestinalis se propaga en el medio ambiente como un quiste altamente infeccioso; una vez ingerido por el huésped, la pared del quiste es removida por la acción del medio ácido del estómago, la presencia de las sales biliares y tripsina en el duodeno. Los trofozoítos, que infectan el duodeno y el yeyuno debido al pH favorablemente alcalino, se adhieren al epitelio intestinal utilizando el disco ventral, eventualmente causando la enfermedad.^{17-19,23} El disco ventral es considerado como uno de los principales factores de virulencia, esta es una estructura rígida compuesta por microtúbulos que están dispuestos en un arreglo en espiral alrededor de un área descubierta. Se han identificado ciertas proteínas específicas de los discos ventrales, entre ellas se encuentran las α y β tubulinas y las β , δ y γ giardinas, de estas últimas se ha demostrado que la δ giardina se relaciona con la adhesión de *Giardia* en las células epiteliales.^{14, 26, 27}

Aunque comúnmente es considerado como un patógeno anaeróbico, *Giardia intestinalis* coloniza preferentemente en la mucosa rica en oxígeno del intestino delgado proximal. Los trofozoítos son desplazados de su sitio de adhesión y comienzan nuevamente el proceso de enquistación antes de abandonar al hospedero. Finalmente, los quistes son expulsados al medio ambiente listo para infectar otros anfitriones, siendo la forma de transmisión de humano a humano (antropóticos) o animal a humano (zoonótico). Una persona infectada con *G. intestinalis* puede eliminar hasta 9.0×10^8 quistes por día, cantidad muy por encima de la dosis para iniciar la infección, que se estima a partir de 10 quistes.^{14,17-19, 23}

El síntoma clínico más importante de la giardiasis es la diarrea, a menudo severa y prolongada, con mala absorción, deshidratación, pérdida de peso, falta de desarrollo, deterioro cognitivo en los niños y fatiga crónica en adultos.^{12,13,17} La gravedad de la enfermedad está determinada por la interacción entre la virulencia del parásito y el desarrollo, la nutrición y la inmunidad del huésped.^{16,21}

Fármacos con actividad anti giardiásica

Existen varios fármacos aprobados o de uso común para el tratamiento de la giardiasis, que consisten en erradicar el parásito en el intestino del huésped.¹⁴ Actualmente, las clases de agentes quimioterapéuticos disponibles para el tratamiento de la giardiasis se clasifican dependiendo si su mecanismo de acción se orienta hacia la interferencia del sistema redox del parásito como los 5-nitroimidazoles (metronizadol, tinidazol, secnidazol, ornidazol y nimorazol), 5-nitrotiazoles (nitazoxanida) y 5-nitrofuranos (furazolidona); agentes con blancos terapéuticos de biomoléculas como el ADN o de síntesis de proteínas como las acridinas (quinacrina) y aminoglicósidos (paromomicina); y agentes que afectan el citoesqueleto del parásito como los benzimidazoles (albendazol y mebendazol), Figura 1. Sin embargo, aún con el empleo

de estos fármacos, las células de *Giardia*, poseen la habilidad de generar resistencia contra estos, sin menospreciar los efectos adversos que presentan.^{14, 28, 29}

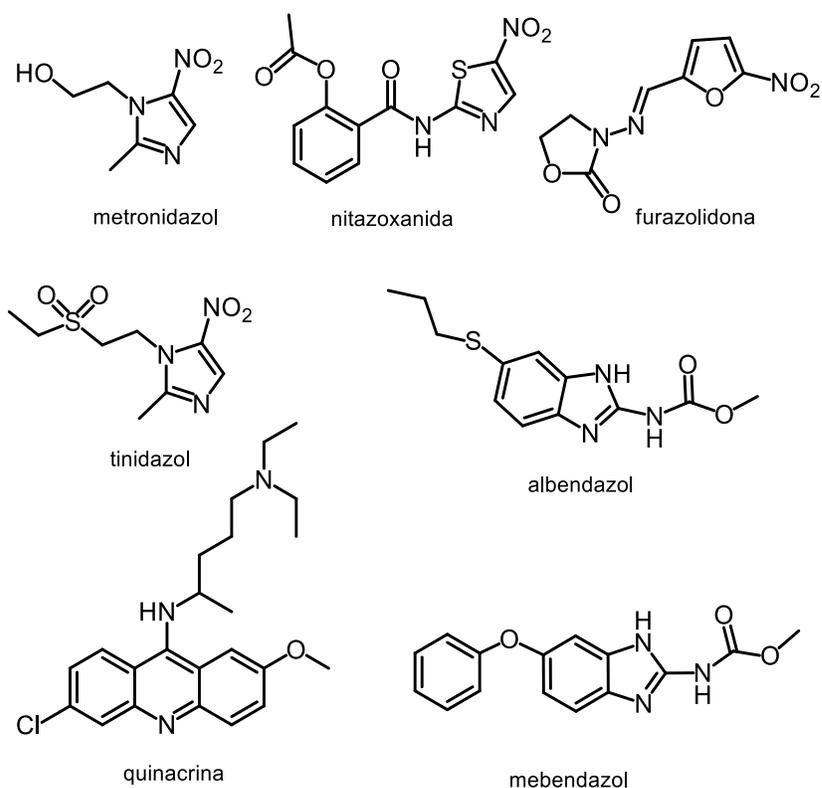


Figura 1. Agentes quimioterapéuticos anti-giardíasicos.

Aunque los 5-nitroimidazoles son los fármacos anti-giardíasicos comúnmente utilizados, estudios recientes han demostrado que estos poseen efectos adversos. El metronidazol (MTZ) es el agente imidazólico más utilizado, sin embargo, entre los efectos adversos que esta provoca se encuentran la anorexia, náuseas, vómitos, indisposición, sabor metálico, teratogenicidad potencial, malestar estomacal, sabor agrio, comezón, dolor de cabeza, fatiga física, mareos, somnolencia y perturbaciones del sueño.^{30, 31}

Por otra parte, los otros agentes alternativos para tratar la giardiasis muestran eficacias variables además de efectos adversos, por ejemplo, la quinacrina con una eficacia del 90% es menos tolerado que las otras clases y no está disponible en muchos países, presenta como parte de sus efectos secundarios vómitos, sabor amargo, náusea, dolor de cabeza, decoloración amarilla de la piel y orina (reversible), urticaria, dermatitis exfoliativa y psicosis.^{20,30} Los bencimidazoles (albendazol, mebendazol) son mejor tolerados que el fármaco de referencia (metronidazol), pero condujeron a efectos secundarios como náuseas, vómitos, diarrea y dolor epigástrico.^{17,20} La nitazoxanida es

bien tolerada sin embargo, sus efectos secundarios incluyen dolor abdominal, diarrea, vómitos, dolor de cabeza y orina amarillenta.²⁰

Un problema cada vez más frecuente encontrada para las infecciones por *Giardia intestinalis*, es el desarrollo de resistencia hacia la farmacoterapia habitual, por ejemplo, el metronidazol, debido a la escasa penetración del fármaco a través de la pared celular del quiste. El desarrollo de resistencia hacia este agente se ha demostrado en estudios *in vitro* y se debe a la disminución de la actividad de óxido-reductora de la ferredoxina del sistema de transporte electrónico del parásito. La quinacrina la cual interfiere en la duplicación de ADN del parásito, se han reportado indicios de resistencia debido a una reducida absorción del fármaco hacia los trofozoítos del mismo.¹⁴ Otro tipo de resistencia observada es hacia los fármacos de tipo benzimidazol, esto es posible a través de cambios en el citoesqueleto o mutaciones específicas en el dominio de unión de la colchicina al interior de la β -tubulina del parásito.^{32, 33}

Aunque hay varios tipos de fármacos disponibles para el tratamiento de la giardiasis, el fracaso terapéutico se produce con frecuencia, siendo la resistencia a los fármacos la causa más importante.³⁴ Las cepas de *Giardia* han desarrollado resistencia a MTZ *in vivo* y manifiestan resistencia cruzada a otros análogos de nitroimidazol, lo que da como resultado fallas de tratamiento en hasta 20% de los casos. Muchos casos de resistencia cruzada también han sido reportados recientemente para el tinidazol, furazolidona, quinacrina, nitazoxanida, albendazol y mebendazol. Sin embargo, los mecanismos de resistencia de estos agentes anti-giardíacos disponibles no se encuentran comprendidos completamente, por lo tanto, se han propuesto varias hipótesis para explicarlos pero todas indican que los mecanismos de resistencia podrían ser complejos y diversos, por lo que se debe tomar precauciones durante el tratamiento, en particular a los posibles efectos genotóxicos y citotóxicos de estos fármacos.^{29, 34}

Actualmente los fármacos anti-giardíacos poseen en su estructura núcleos heterocíclicos, los cuales presentan innumerables actividades biológicas. El anillo 1,3-tiazol se ha constituido como un motivo estructural común en un gran número de moléculas biológicamente activas. En la quimioterapia de enfermedades transmitidas por protozoarios, los derivados de tipo 2-aminotiazol han sido investigados debido a su amplio espectro antiparasitario. Estas unidades heterocíclicas se han evaluado como farmacóforos en compuestos sintéticos con actividades tanto *in vitro* como *in vivo*, en contra de *Trypanosoma*, *Leishmania*, *Plasmodium*, *Toxoplasma*, entre otros.⁶⁻¹¹

Tiazoles con actividad anti*giardiásica*

Se encuentra documentado que los derivados de tipo tiazol son compuestos importantes en química medicinal, debido a su amplio rango de propiedades biológicas.³⁵ Estos compuestos han mostrado poseer una gran variedad de propiedades farmacológicas como antiinflamatorios, anti-tuberculosos, antibacterianos, fungicidas, anestésicos locales, tranquilizantes, insecticidas, antimicrobianos, antitumorales y diuréticos.^{29,35}

Los derivados tiazólicos son compuestos de gran importancia, ya que presentan un amplio espectro de actividad biológica, en especial por ser compuestos anti*giardiásicos*. En 2006, se sintetizaron una serie de derivados de nitazoxanida, realizando modificaciones en la estructura principal, las variantes incluyeron, por un lado la sustitución del grupo nitro en el anillo de tiazol por un átomo de bromo y por el otro la incorporación de los grupos metilo en el anillo benzénico. De todos los compuestos bromados solo un derivado presentó inhibición moderada de la proliferación de *G. intestinalis* (Figura 2) en comparación con la nitazoxanida. Además, la metilación o carboxilación en la posición 3 del anillo benzénico dio como resultado una disminución significativa de la actividad y la metilación en la posición 5 anuló completamente el efecto antiparasitario del compuesto de nitrotiazol.³⁶

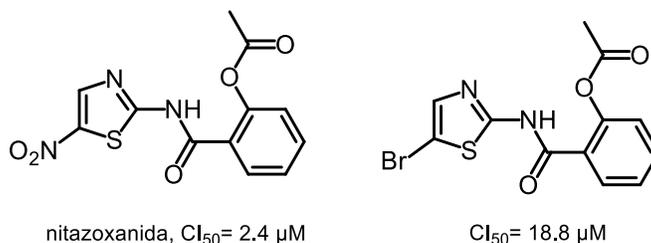


Figura 2. Análogo de nitazoxanida con inhibición moderada de la proliferación.

En 2014 se sintetizó un análogo de nitazoxanida, específicamente el derivado 4-nitro-N-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-benzamida (Figura 3). En este estudio, se evaluó la actividad *in vitro* frente *Giardia intestinalis*. El derivado de nitazoxanida presentó mejor inhibición de la proliferación (CI_{50} de 0.78 ± 0.01) que el metronidazol ($CI_{50} = 5.36 \pm 0.23 \mu M$). Por otra parte, la evaluación de la citotoxicidad del compuesto demostró ser menos citotóxico que el fármaco de referencia ($CI_{50} = 685.98$ frente a $CI_{50} = 68 \mu M$, respectivamente), con buen índice de selectividad ($SI = 879$).³⁷

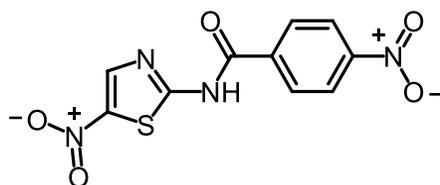


Figura 3. Análogo de nitazoxanida 4-nitro-*N*-(5-nitro-1,3-tiazol-2-il)-benzamida.

En 2017, se sintetizaron 5 nuevos compuestos con actividad biológica contra *G. intestinalis*. Los cuales fueron diseñados a partir del 2-amino-5-nitrotiazol de la nitazoxanida y la sustitución de la subestructura acetilsalicílico (fragmento de tipo antiinflamatorio no esterooidal) por otras moléculas no esteroidales como ibuprofeno, naproxeno, ácido, clófrico, indometacina y diclofenaco mediante la formación del enlace amida entre el grupo de amino en la posición 2 del anillo tiazol y los grupos carboxílicos de las moléculas antiinflamatorias no esteroidales. Obteniendo como resultado nuevos compuestos con actividad anti-giardiasis (Figura 4). Siendo el compuesto 4 el que presentó mejor inhibición para *G. intestinalis* con $CI_{50} = 0.15 \mu M$, el cual demostró ser 38 veces más potente que el metronidazol ($CI_{50} = 5.36 \mu M$) y 8 veces más activo que la nitazoxanida ($CI_{50} = 1.214 \mu M$).³⁸

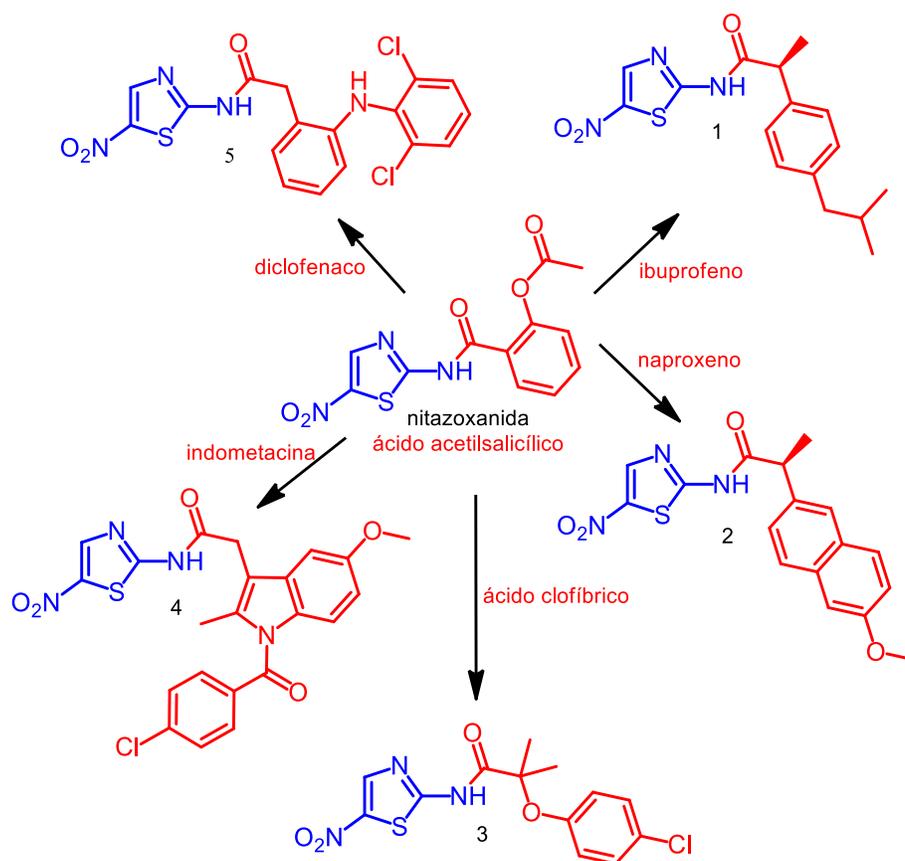


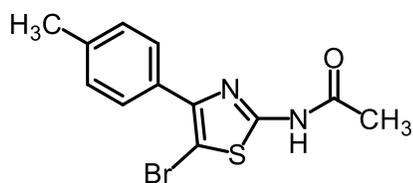
Figura 4. Diseño de compuestos anti-giardíasicos mediante el 2-amino-5-nitrotiazol (azul) de la nitazoxanida y la parte roja, moléculas antiinflamatorias no esteroideas.

Los anillos tiazólicos pueden servir de base para la síntesis de nuevos compuestos, sin embargo, también pueden ser utilizados como referencia para la síntesis de otras moléculas con actividad biológica como los oxazoles, siendo estos heterociclos similares a los tiazoles.³⁹ En 2017, se llevó a cabo un estudio con este tipo de heterociclo, en donde se sintetizaron 7 derivados de tipo 2-amino-4-(*p*-fenilsustituido)-oxazol, los cuales fueron diseñados a partir de estudios obtenidos de derivados tiazólicos. El estudio de la relación estructura-actividad de estos derivados reveló que los sustituyentes bromo, benzoílo y nitro en posición *para* al grupo bencénico aumentan la lipofilia de estos derivados lo que le confiere una mejor actividad.³⁹

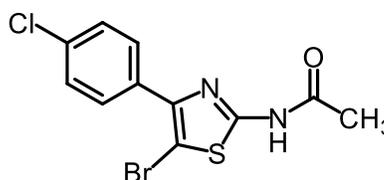
Hoy en día, los derivados de tipo tiazol, presentan una amplia gama de las actividades biológicas, demostrando efectos como radioprotector, bactericida, antimicótica, antiviral, insecticida y actividades anestésicas.⁴⁰

El grupo de investigación en Química Farmacéutica de la Facultad de Química de la UADY ha realizado en los últimos años la síntesis de algunos derivados del 2-amino-4-ariltiazol y evaluando la actividad biológica de los mismos. Los resultados obtenidos se muestran a continuación:

En 2015, se realizó un estudio sobre 50 derivados de tipo 2-amino-4-ariltiazol en donde se evaluó la actividad *in vitro* contra *G. intestinalis*. La exploración inicial se realizó a través de la variación en la posición para del grupo fenilo. La evaluación de grupos electrodonadores y electrosustractores no mostró una actividad contundente ($Cl_{50} = 17-108 \mu M$). Sin embargo, considerando que fármacos como la NIT contienen un grupo benzamida en su estructura, se estableció una variación del grupo 2-amino para obtener aminotiazoles *N*-sustituídos con grupos acetilo, benzoilo y furoilo. La relación estructura-actividad con estos sustituyentes mostró una ligera mejoría de la actividad antiparasitaria ($Cl_{50} = 9-120 \mu M$), haciendo evidente la influencia del tamaño del grupo acilo. Con el propósito de aumentar la afinidad hacia proteínas receptoras, se evaluó la influencia de un átomo de bromo en la posición 5 del esqueleto tiazólico. Los derivados 5-bromotiazólicos mostraron una notable mejoría en la inhibición de *G. intestinalis* ($Cl_{50} = 0.4-60 \mu M$). Particularmente la combinación de un átomo de bromo en la posición 5 y un grupo acilo en la posición 2, incrementa la potencia del compuesto haciéndolo 3.6 veces más activo que el MTZ, uno de los fármacos de elección. Adicionalmente el set de compuestos bromados más activos fue evaluado en pruebas de citotoxicidad utilizando células Vero; de aquí los compuestos 6b y 6e (Figura 5) mostraron índices de selectividad (IS) de 52 y 139 respectivamente, siendo valores mucho mayores a lo establecido en la literatura para un compuesto antiparasitario ($IS \geq 10$). A través de un análisis cuantitativo de relación estructura-actividad (QSAR, Quantitative Structure-Activity Relationship) en 2 dimensiones bajo un enfoque Hansch, se determinó una importante correlación entre la actividad anti-giardíasis y descriptores moleculares asociados a la polarizabilidad y el carácter lipofílico de los derivados tiazólicos.²⁹



N-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-acetamida (6e)
 $Cl_{50} = 0.39 \mu M$

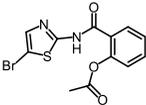
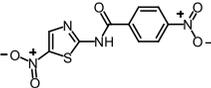
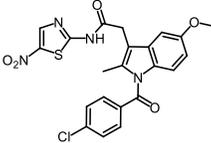
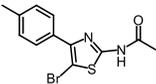


N-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-acetamida (6b)
 $Cl_{50} = 0.87 \mu M$

Figura 5. Derivados de *N*-(5-bromo-4-aril-tiazol-2-il)-acetamida con actividad anti-giardíasis.

A continuación, en la tabla 1 se presenta un resumen correspondiente a las mejores actividades biológicas frente a *Giardia intestinalis* de los derivados tiazólicos sintetizados en los estudios anteriores. Como se puede observar en la tabla 1, tres de estos compuestos superan los criterios establecidos por la literatura para un compuesto antiparasitario ($CI_{50} \leq 1 \mu M$, $IS \geq 10$).²⁹ Por otra parte, a excepción del primer derivado, los demás resultaron ser hasta 536 veces más activos que el MTZ usado como control positivo. El conjunto de estos resultados sería un indicativo de la importancia de los derivados tiazólicos para el desarrollo de agentes anti-giardíasicos.

Tabla 1. Derivados tiazólicos con actividad anti-giardíasica.

Estructura	G. <i>intestinalis</i> ($CI_{50} \mu M$)	Células Vero ($CI_{50} \mu M$)	IS ^a	MTZ/ Actividad ^b	Referencia
	18.80	-----	-----	-2.40	Müller, J.; <i>et al.</i>
	0.78	685.98	879	6.87	Valladares, M. A.; <i>et al.</i>
	0.15	12.96	89.37	38.17	Colín, L. B. <i>et al.</i>
	0.39	54.20	139.00	3.60	Mocelo, C. R.; <i>et al.</i>

^a Índice de Selectividad, ^b Proporción del valor CI_{50} del MTZ entre el valor CI_{50} en *G. intestinalis*.

Síntesis de derivados tiazólicos

Los derivados de 2-amino-4-ariltiazoles han demostrado tener buenas actividades biológicas contra *Giardia intestinalis*, los derivados de este tipo (Figura 6) pueden sintetizarse mediante una reacción de tipo Hantzsch's en fase sólida, que implica la ciclocondensación de acetofenonas *p*-sustituidas y tiourea en presencia de yodo molecular. Otros métodos sintéticos implican el uso de cetonas, *N*-bromosuccinimida, tiourea y peróxido de benzoílo, o la bromación de cetonas en presencia de $AlCl_3$ seguida de ciclocondensación de las bromocetonas con tiourea.⁴⁰

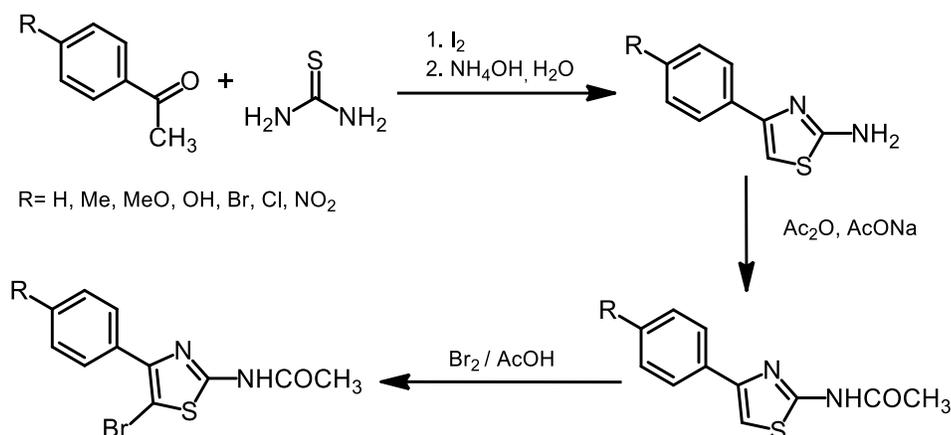


Figura 6. Síntesis de derivados de 2-acetamida-5-bromo-4-(4-fenilsustituido)-1,3-tiazol.

Los procedimientos generales reportados para la obtención de derivados tiazólicos poseen varias desventajas tales como largos tiempos de reacción, el empleo de altas temperaturas así como el empleo de reactivos costosos.⁴¹ Todo esto conlleva a la formación de productos secundarios y complicados procesos de purificación, lo que plantea la necesidad de desarrollar un mejor método para su obtención, como el uso de la radiación microondas el cual ha traído una considerable atención en los últimos años.⁴²⁻⁴⁵

En síntesis orgánica, la radiación microondas representa una alternativa importante para la introducción de energía en las reacciones, siendo una metodología eficiente en reacciones que son sensibles y/o tienen una baja reactividad.⁴⁶ En comparación con métodos convencionales de calentamiento, frecuentemente se obtiene una disminución en el tiempo de reacción y aumento en el rendimiento de los productos, así como la pureza.⁴²⁻⁴⁵

Entre las ventajas de esta metodología es que utiliza la capacidad de algunos materiales (líquidos y sólidos) para transformar la energía electromagnética en calor, además con el uso de reactores especializados se hace posible controlar aspectos específicos de las reacciones tales como el monitoreo de la temperatura, tiempo y presión.⁴²⁻⁴⁵ A continuación, se presentan algunos ejemplos de obtención de algunos derivados tiazólicos mediante el empleo de la radiación de microondas.

Las aplicaciones de la radiación microondas en la síntesis de derivados tiazólicos ha sido de gran utilidad. Un método rápido para la síntesis de estos derivados es la que se lleva a cabo mediante la condensación de bromocetonas con tioureas bajo radiación microondas (Figura 7).⁴⁶

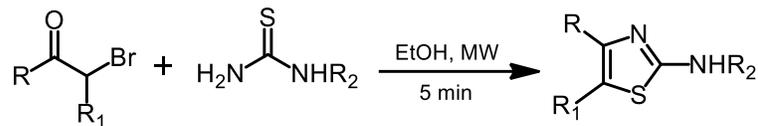


Figura 7. Síntesis de 2-aminotiazoles asistida por microondas.

La síntesis de estos derivados puede llevarse a cabo también a partir de bromocetonas utilizando agua como disolvente, bajo radiación microondas. De esta forma se reporta la obtención de 4-aryl-1,3-tiazoles con rendimientos entre 81% y 97% (Figura 8).⁴⁷

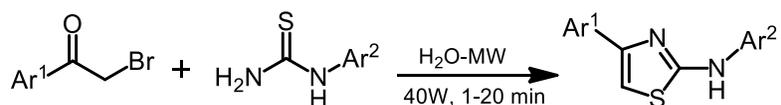


Figura 8. Síntesis de 2-amino-4-ariltiazoles.

De igual forma ha sido posible obtener 2-amino-4-feniltiazol (Figura 9) bajo radiación microondas en ausencia de disolvente con la obtención de buenos rendimientos (88%), en donde dicho compuesto se obtiene en períodos cortos de tiempo en comparación con métodos convencionales.⁴¹

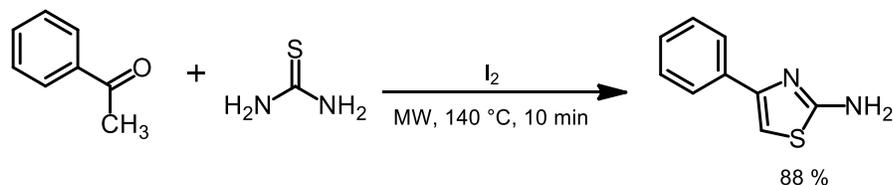


Figura 9. Esquema de Síntesis de 2-amino-4-feniltiazol bajo condiciones de microondas en ausencia de disolvente.

En síntesis de derivados tiazólicos, la radiación microondas resulta una vía alternativa a los métodos convencionales. Utilizando el método de calentamiento asistido por microondas, frecuentemente se obtiene una disminución en el tiempo de reacción y aumento en el rendimiento de los productos, así como la pureza. El calentamiento ocurre de manera rápida, ya que se alcanzan mayores temperaturas y por consiguiente velocidades de reacción mayores, sin embargo, un calentamiento brusco de este método de calefacción en síntesis de estos derivados puede llevar a la descomposición del producto ya que se encuentra reportado en la literatura que la reacción de polimerización del tiazol ocurre a temperaturas de 160 °C.⁴¹

Relación Estructura-Actividad

Relación Estructura-Actividad (SAR)

Para compuestos de síntesis, en donde un grupo en particular de la molécula puede ser modificado, debe realizarse este tipo de estudios con el propósito de descubrir qué parte o partes de la molécula son responsables de la actividad biológica. Esto involucra el realizar ensayos de actividad biológica a todos los derivados y compararlos con el compuesto de referencia. Si un análogo disminuye significativamente su actividad, entonces el grupo que fue modificado debe ser importante, pero si la actividad permanece muy similar, entonces el grupo no era importante.⁴⁸

De esta manera, seleccionando un determinado número de compuestos que varíen ligeramente de la molécula original, se puede analizar qué efecto tiene dicha variación sobre la actividad biológica. Dichos cambios pueden ser clasificados como: a) cambios en el tamaño y forma del esqueleto carbonado, b) cambios en la naturaleza y grado de sustitución y c) cambios de la estereoquímica del compuesto de referencia. Asimismo, el análisis de los resultados obtenidos puede servir de base para la síntesis de nuevos compuestos activos que ofrezcan nuevas alternativas de tratamiento a enfermedades emergentes, tales como las infecciones intestinales.^{48, 49}

Lipofilia en el descubrimiento de fármacos

El mecanismo más usual por el que los fármacos atraviesan la membrana celular es la disolución en su componente lipoideo. Las moléculas que por su lipofilia son capaces de disolverse en la membrana celular y las que por su tamaño pueden pasar por los poros, atraviesan la membrana por procesos pasivos. Estos procesos no requieren energía, no son selectivos ni saturables y no se inhiben por otras sustancias.⁵⁰⁻⁵³

La lipofilia es un parámetro que proporciona una medida de la biodisponibilidad de un compuesto, lo cual determinaría, en parte, la cantidad de compuesto que consigue llegar al sitio de acción. Se expresa como coeficiente de partición (P) en el sistema *n*-octanol/agua aunque generalmente se utiliza como su logaritmo (Log P).⁵⁰⁻⁵³ El Log P de un compuesto representa una medida de su hidrofiliidad. Una baja hidrofiliidad se encuentra representado por un alto valor de Log P, situación que deriva en una baja absorción. El coeficiente de partición permite cuantificar el balance entre la hidrofilia y la lipofilia de una molécula. Se ha demostrado que los compuestos mejor absorbidos, son aquellos que presentan un valor de Log P no mayor a 5.0.⁵⁰⁻⁵³

La mayoría de los fármacos disponibles en el mercado son administrados por vía oral, por lo que la biodisponibilidad oral es una de las consideraciones más importante en el descubrimiento y desarrollo de nuevas entidades químicas (NCE, *New Chemical Entities*).⁵⁴

Considerando que las propiedades fisicoquímicas como la solubilidad y la difusión están íntimamente relacionadas con la farmacocinética de moléculas biológicamente activas, se han establecido tendencias como la denominada regla de los cinco (Ro5, *Rule of-five*) planteada por Lipinski. Dicha regla se debe a que los parámetros de evaluación se enmarcan en múltiplos de 5 y la molécula activa no puede violar más de una de las siguientes reglas: peso molecular ≤ 500 , $\log P \leq 5$, grupos donadores de enlaces de hidrógeno ≤ 5 , grupos aceptores de enlaces de hidrógeno ≤ 10 . Aunque el análisis realizado por Lipinski a principios de los años 90, deriva de las propiedades de un conjunto de moléculas en fase clínica II, es utilizado como marco general para la identificación de compuestos dentro de un espacio químico con potencial de fármaco (*drug-like*).^{53, 54}

A continuación, se presenta de manera general algunos ejemplos de relación estructura-actividad aplicado en la búsqueda de moléculas bioactivas

En año 2013, se sintetizó una serie de tiazoles de tipo 2-(3-piridil)-4,5-disustituidos. Los compuestos sintetizados se evaluaron para determinar su actividad antimicrobiana *in vitro* contra diez cepas bacterianas y cinco fúngicas. Entre los compuestos sintetizados, el derivado 5-acetil-4-metil-2-(3-piridil)-tiazol (Figura 11, Compuesto 5) exhibió un CI_{50} de 2.19 μM contra *Staphylococcus epidermidis* y también mostró actividad antifúngica contra *Geotricum candidum* ($CI_{50} = 2.2 \mu M$). En el estudio de la relación estructura-actividad de estos derivados, se observó que el aumento del tamaño de las sustituciones en la posición cuatro o cinco en el núcleo de tiazol disminuyó la actividad antimicrobiana. La presencia de grupos electroextractores (acetilo) en la posición cinco y grupos electrodonadores (metilo) en la posición cuatro da lugar a la más alta actividad entre todos los compuestos investigados en este estudio.⁵⁵

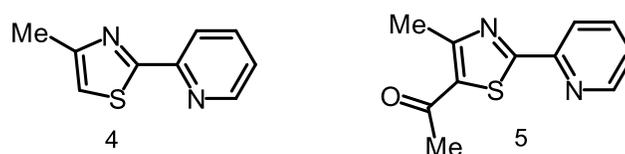


Figura 11. tiazoles de tipo 2-(3-piridil)-4,5-disustituidos

En un estudio realizado en 2014 y con el intento de mejorar la actividad antimicrobiana del compuesto principal contra cepas clínicas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina y la vancomicina (MRSA y VRSA), se sintetizó 10 derivados de tipo feniltiazol, las modificaciones estructurales se centraron en el aumento de átomos de carbono en C_2 (Fracción lipofílica) y un elemento catiónico en la posición cinco del anillo tiazólico. Los resultados de la actividad biológica revelaron que todos los derivados sintetizados exhibieron una fuerte actividad contra 18 cepas clínicas de

MRSA y VRSA, sin embargo, tres derivados inhibieron rápidamente el crecimiento de MRSA en 6h, además de no ser tóxicos para células HeLa a 11 µg/mL (Figura 10). El análisis de la relación estructura-actividad de los derivados reveló que con el aumento de la longitud de la cadena lateral en C₂ (3-5 átomos de carbono), hay una mejora constante en los valores observados contra todas las cepas de MRSA analizadas. Sin embargo, un alargamiento adicional de la cadena pareció anular la actividad antimicrobiana (> de cinco átomos de carbono). Por otra parte, es importante enfatizar que en este tipo de derivados se hace necesario de la introducción de un elemento catiónico en C₅ para potenciar la actividad (1a, CI₅₀ = 4.24 µM). El conjunto de estos resultados son indicativos de la importancia de estos dos componentes estructurales para la actividad antimicrobiana de derivados de tipo feniltiazol.⁵⁶

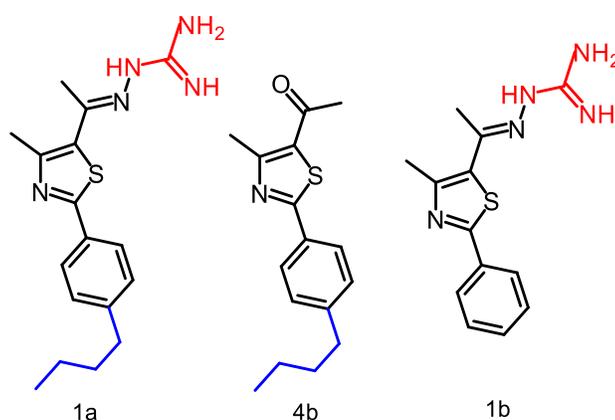


Figura 10. Derivados de tipo feniltiazol, 1a, 4b (eliminación del resto catiónico) y 1b (eliminación de la cadena lateral del alcano lipofílico).

En un estudio realizado en 2015, se reportó que análogos de nitaxozanida de tipo 2-acilamino-5-nitro-1,3-tiazoles resultaron más potentes contra *G. intestinalis*. En este estudio se sintetizaron 14 nuevos derivados, los cuales fueron evaluados *in vitro* contra este parásito. Con base a los resultados se estableció la relación estructura-actividad de los mismos, lo cual reveló que los derivados con pequeños sustituyentes como metilo, fenilo, butilo, metoxilo y etoxicarbonilo son más lipofílicos y mejoran la actividad antiprotozoaria contra *G. intestinalis*. Cabe mencionar que el metilcarbamato (Figura 12) que contiene en su estructura al grupo metilo presentó una CI₅₀ = 0.010 µM, demostrando ser 536 veces más potente que metronidazol (CI₅₀ = 5.360 µM) y 121 veces más efectivo que la nitazoxanida (CI₅₀ = 1.214 µM).^{35, 57}

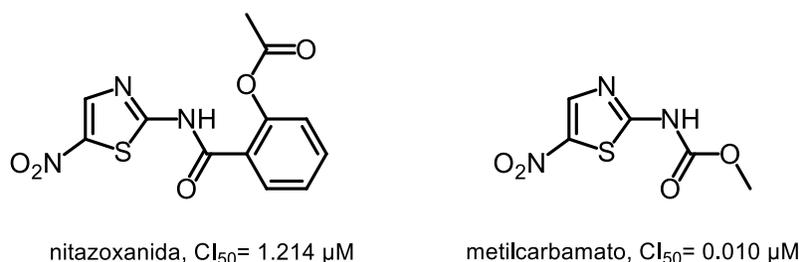


Figura 12. Metilcarbamato como análogo de tipo nitazoxanida contra *G. intestinalis*.

En el mismo año, cuatro derivados de 5-nitrotiazol fueron diseñados utilizando la estructura base de la nitazoxanida, manteniendo el núcleo tiazólico eliminando el fragmento aromático y agregando el grupo α -(ciclo)-alquilaminoacetilo en la posición 2 para aumentar la polaridad de los compuestos y explorar la falta de aromaticidad en la cadena lateral. Estos compuestos fueron evaluados contra *Giardia intestinalis*, la mayoría de ellos mostraron importantes actividades antiprotozoarias en el rango micromolar. El análisis de la relación estructura-actividad de los derivados reveló que el sustituyente dietilamina contenido en la estructura (Figura 13) aumenta el carácter lipofílico del compuesto, el cual resultó ser 44 veces más activo que el metronidazol y 10 veces más efectivo que la nitazoxanida contra *G. intestinalis*.¹²

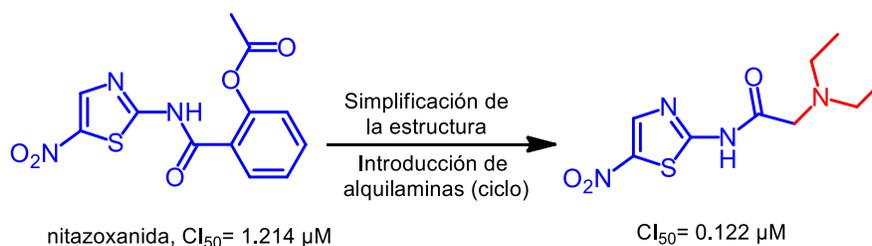


Figura 13. Análogo de tipo nitazoxanida con actividad anti-giardiasica.

En el presente año se llevó a cabo la síntesis y evaluación de la actividad antimicrobiana de quince tiazoles que contienen en su estructura un grupo ciclohexeno (Figura 14). Entre los derivados, los compuestos 3a-3d, 3f, 3n y 3o mostraron una potente actividad contra cepas de *Candida spp.* y también hacia la mayoría de las levaduras aisladas de materiales clínicos. Los estudios de citotoxicidad para los compuestos más activos mostraron que el crecimiento de *Candida spp.* se inhibió a concentraciones no citotóxicas para fibroblastos L₉₂₉ de mamíferos. Además, se obtuvo una buena correlación entre la lipofilia de los compuestos determinados mediante cromatografía en capa fina de fase inversa (RP-TLC) y su actividad antifúngica. La actividad antifúngica más alta fue demostrada por los compuestos 3n y 3o (Cl_{50} = 0.05 y 0.13 μ M respectivamente) que contienen el grupo CH_2COOEt y CH_3 , que se caracterizan por los valores de lipofilia más bajos. Todos estos resultados proporcionan

una nueva comprensión de la relación entre la estructura de los derivados de tiazol, su lipofilia y la actividad antifúngica.⁵⁸

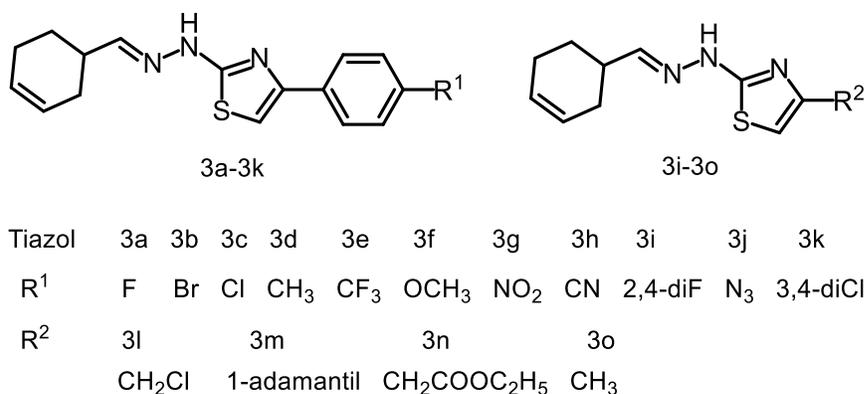


Figura 14. Derivados de tipo ((ciclohex-3-enilmetilen)hidrazinil)tiazol con actividad antifúngica.

Considerando el perfil antiparasitario de los derivados tiazólicos e importancia de los parámetros lipofílicos en el descubrimiento de moléculas biológicamente activas, el presente trabajo se enfoca en la síntesis de una serie análogos lipofílicos de tipo *N*-(4-aryl-2-tiazolil)-amidas mediante la introducción de grupos acilo en la posición del grupo 2-aminotiazol y con ello evaluar su actividad biológica a través de ensayos de actividad anti-giardíasis y tratar de establecer las relaciones estructura actividad.

HIPÓTESIS

Es posible obtener derivados tiazólicos con buenas concentraciones inhibitorias del crecimiento de los trofozoítos de *Giardia intestinalis* mediante el aumento del carácter lipofílico por medio de la introducción de grupos acilo en la posición del grupo 2-aminotiazol.

JUSTIFICACIÓN

La mayoría de los fármacos vendidos actualmente son pequeñas moléculas orgánicas que comprenden uno o más anillos heterocíclicos.⁴⁹ Una de las estructuras heterocíclicas que ha sido extensamente estudiada en los últimos años es el anillo de tipo tiazólico, debido a que muchos compuestos que contienen esta estructura como componente principal, han mostrado poseer una gran variedad de propiedades farmacológicas, como antiinflamatorias, anti-tuberculosas, antibacterianas, fungicidas, anestésicos locales, tranquilizantes, insecticidas, antimicrobianas, antitumorales y diuréticas.^{29, 35}

Actualmente, los anillos tiazólicos son utilizados como andamios moleculares en la investigación farmacéutica; así muchos derivados de este heterociclo están siendo estudiados contra actividades antiprotozoarias, específicamente contra *Giardia intestinalis* mostrando mejor actividad que los fármacos de elección, los cuales se ha comprobado que poseen efectos secundarios indeseables o adversos, tales como hipersensibilidad, dolor abdominal, dolor de cabeza, fatiga, vómito y vértigo.^{17,20,30} Es importante señalar que se ha reportado la aparición de resistencia a estos fármacos. Por todo lo anterior se hace indispensable buscar nuevas alternativas para el tratamiento de giardiasis.⁴⁰

Los derivados tiazólicos constituyen una buena alternativa para la búsqueda de nuevos fármacos contra *Giardia intestinalis*.^{40, 41} En estudios recientes, se ha demostrado que este tipo de derivados potencian su actividad al aumentar su grado de lipofilia mediante la incorporación de cadenas hidrocarbonadas. Por ello, considerando el perfil antiparasitario de los derivados tiazólicos y la relevancia de la lipofilia en la búsqueda de moléculas biológicamente activas, el presente trabajo se enfoca en la síntesis de una serie de análogos lipofílicos de tipo *N*-(4-*aril*-2-tiazolil)-amidas mediante el aumento del carácter lipofílico por medio de la introducción de grupos acilo en la posición del grupo 2-aminotiazol y con ello evaluar su actividad biológica a través de ensayos de actividad anti-giardiasis, sus posibles efectos citotóxicos, así como establecer la relación estructura-actividad anti-giardiasis.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la relación estructura-actividad anti*giardiásica* en derivados de tipo *N*-(4-*aril*-2-tiazolil)-*amidas*.

Objetivos específicos

1. Obtención de los derivados 2-*amino*-4-*aril*-1,3-tiazol por métodos convencionales.
2. Sintetizar las moléculas objetivo de tipo *N*-(5-*bromo*-4-*aril*-2-tiazolil)-*amidas*
3. Obtener derivados lipofílicos de tipo *N*-(4-*aril*-2-tiazolil)-*amidas* en la posición del grupo 2-*aminotiazol*.
4. Caracterización estructural de los derivados tiazólicos, a través de métodos espectroscópicos y espectrométricos.
5. Realizar la evaluación biológica *in vitro* de los derivados obtenidos frente a *Giardia intestinalis*
6. Evaluar la influencia de los sustituyentes alquilo y arilo de las *N*-(5-*bromo*-4-*aril*-2-tiazolil)-*amidas* en la actividad anti*giardiásica*.

METODOLOGÍA

Todos los reactivos utilizados fueron de la marca Sigma-Aldrich y fueron utilizados sin previa purificación. Los disolventes de grado industrial empleados para las purificaciones fueron destilados en el laboratorio previamente a su uso. Las reacciones se realizaron en atmósfera de nitrógeno utilizando material de vidrio previamente secado en la estufa (150 °C).

Los análisis por cromatografía en capa delgada (CCD) se realizaron en cromatofolios de aluminio impregnados de gel de sílice GF254 con grosor de 0.25 mm marca Merck o Aldrich. Los agentes reveladores utilizados fueron luz de ultravioleta (UV) de onda corta (254 nm).

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato de punto de fusión Electrothermal modelo IA 9100 y se reportan sin corrección.

Los espectros de masas, tanto de baja (EM) y alta resolución (EMAR), se realizaron en un espectrómetro de masas Jeol GC-Mate II. La técnica utilizada fue impacto electrónico (EI+) por inserción directa a 70 eV, 280° C, las muestras se disolvieron en CH₂Cl₂ con un tiempo de análisis de 1 min. El análisis de alta resolución se llevó a cabo a 5000, calibrado con PFK (perflouroqueroseno).

Los espectros de Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMN-¹H) y de Carbono 13 (RMN-¹³C), se obtuvieron utilizando un equipo Bruker Avance 400 con una sonda dual de 5 mm. Los análisis se realizaron en solución de cloroformo deuterado (CDCl₃), acetona deuterada ((CD₃)₂CO) y los desplazamientos químicos (δ) se reportan en ppm referidos a la señal residual del disolvente deuterado.

Procedimiento general para la preparación de 2-amino-4-aryl-1,3-tiazoles

En un matraz balón se mezclaron 8.6 mmol (1 mL) de acetofenona *p*-sustituida, 17.2 mmol (1.3 g) de tiourea y 8.6 mmol (2.2 g) de yodo molecular. Dicha mezcla se calentó a 150 °C durante 15 min con agitación constante. Agotado el tiempo de reacción se dejó enfriar casi a totalidad, se trituró y se añadieron 10 mL de éter etílico anhidro, la mezcla se mantuvo en agitación hasta la aparición de un sólido de color amarillo el cual fue filtrado a vacío y lavado con el mismo disolvente (4 x 50 mL) para eliminar el exceso de yodo. El sólido se disolvió en agua caliente, se dejó enfriar y se alcalinizó con NH₄OH concentrado hasta pH 10. El precipitado formado se filtró a vacío y se recrystalizó de una mezcla de 200 mL H₂O-EtOH (4:1). (Figura 15).

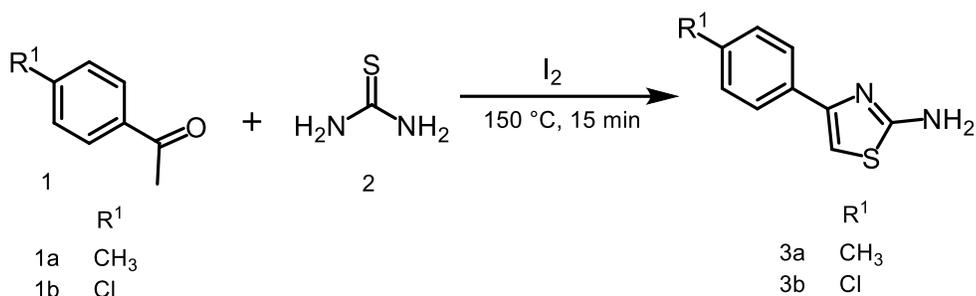


Figura 15. Síntesis para la preparación de los 2-amino-4-aryl-1,3-tiazoles.

Caracterización del 2-amino-(4'-metifenil)-1,3-tiazol (3a).

Cristales de color amarillo, cristalizados de H₂O-EtOH (4:1), 1100 mg, rendimiento 67%, pf 136°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 2.36 (s, 3H), 5.25 (s, 2H), 6.65 (s, 1H), 7.18 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.66 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 21.4 (c), 102.1 (d), 126.1 (d), 129.4 (d), 132.1 (s), 137.7 (s), 151.5 (s), 167.5 (s). (EI+, 70 eV) *m/z* 190.0599 para C₁₀H₁₀N₂S (calculada 190.0564).

Caracterización del 2-amino-4(4'-clorofenil)-1,3-tiazol (3b).

Sólido amorfo de color amarillo, cristalizado de H₂O-EtOH (2:1), 1214 mg, rendimiento 67%, pf, 166°C

RMN-¹H (CDCl₃): δ 5.09 (s, 2H), 6.71 (s, 1H), 7.34 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.70 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 103.4 (d), 127.4 (d), 128.9 (d), 133.3 (s), 133.6 (s), 150.3 (s), 167.5 (s). (EI+, 70 eV) *m/z* 210.0058 para C₉H₇N₂SCI (calculada 210.0018).

Procedimiento general para la preparación de 2-amino-5-bromo-4-aryl-1,3-tiazoles

En un matraz balón se pesaron cantidades equimolares del correspondiente 2-aminotiazol-4-*p*-fenil sustituido y la *N*-bromosuccinimida y se disolvieron en 100 mL de cloroformo, la mezcla de reacción se dejó en agitación constante durante 2h, agotado el tiempo el exceso de disolvente se concentró a vacío, posteriormente se agregaron 10 mL de NH₄OH concentrado, 20 mL de CH₂Cl₂ y se realizaron lavados con una solución saturada de NaCl (x3). (Figura 16).

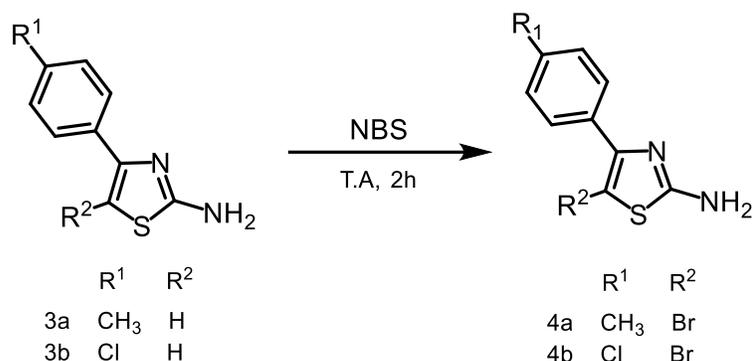


Figura 16. Reacción de bromación de los derivados tiazólicos

Caracterización del 2-amino-5-bromo-4(4'-metilfenil)1,3-tiazol (4a).

Sólido amorfo de color gris, purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm , eluyente, eluyente CH_2Cl_2 , CH_2Cl_2 -AcOEt (1:1) y AcOEt), 1207 mg, rendimiento 85%, pf 113°C.

RMN-¹H (CDCl_3): δ 2.37 (s, 3H), 7.21 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H), 7.71 (d, $J = 8.3$ Hz, 2H).
 RMN-¹³C (CDCl_3): δ 21.9 (c), 90.1 (s), 128.4 (d), 129.1 (d), 130.6 (s), 138.3 (s), 148.1 (s), 166.3 (s). (EI+, 70 eV) m/z 267.9654 para $\text{C}_{10}\text{H}_9\text{BrN}_2\text{S}$ (calculada 267.9669).

Caracterización del 2-amino-5-bromo-4(4'-clorofenil)1,3-tiazol (4b).

Sólido amorfo de color gris, purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm , eluyente, eluyente CH_2Cl_2 , CH_2Cl_2 -AcOEt (1:1) y AcOEt), 1167 mg, rendimiento 85%, pf 163°C.

RMN-¹H (CDCl_3): δ 5.13 (s, 2H), 7.37 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H), 7.79 (d, $J = 8.6$ Hz, 2H).
 RMN-¹³C (CDCl_3): δ 91.3 (s), 128.6 (d), 129.9 (d), 132.1 (s), 134.2 (s), 147.3 (s), 166.1 (s). (EI+, 70 eV) m/z 287.9147 para $\text{C}_9\text{H}_6\text{BrClN}_2\text{S}$ (calculada 287.9123).

Procedimiento general para la preparación de N-(5-bromo-4-aryl-2-tiazolil)-amidas

En un tubo de ensayo provisto de un agitador magnético se agregó un equivalente del 2-amino-5-bromo-4-aryl-1,3-tiazol (150 mg), 1.5 equivalentes de trietilamina y 5 mL de CH_2Cl_2 ; Posteriormente a 0°C (baño de hielo) se agregaron 5 equivalentes del respectivo cloruro de ácido, la mezcla de reacción se dejó en agitación constante durante 18 h a temperatura ambiente y en atmosfera de nitrógeno, al término de la reacción el crudo se secó a vacío y se le realizaron lavados con NaHCO_3 (x3). (Figura 17).

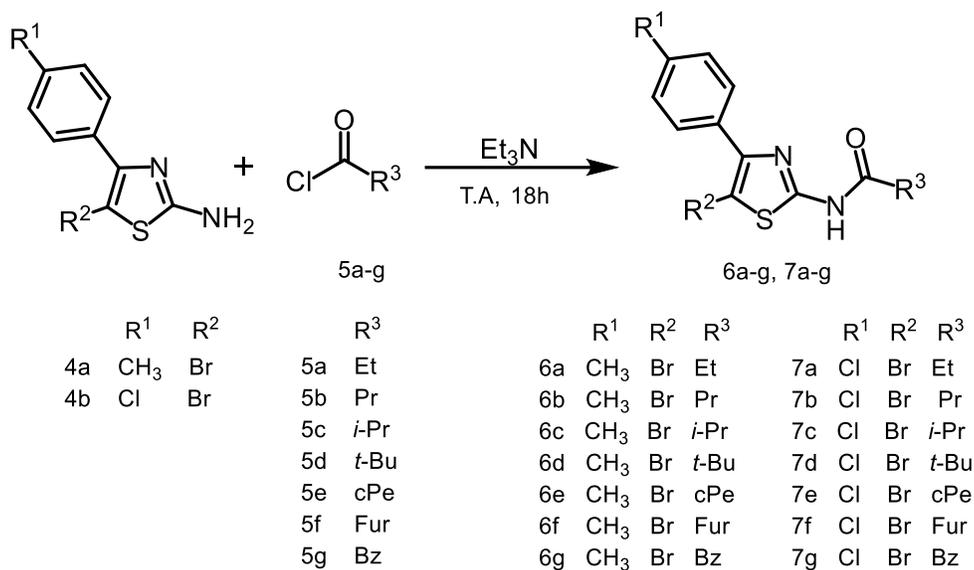


Figura 17. Reacciones de acilación de los derivados de tipo 2-amino-5-bromo-4-aryl-1,3-tiazol.

Caracterización del N-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-propanamida (6a).

Sólido no cristalino de color blanco purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μ m, eluyente Hx-AcOEt 70-30 y gel de sílice 20-2 μ m, eluyente Hx-Acetona 96:4, 94:6, 92:8 y 90:10), 18.5 mg, rendimiento 10.2%, pf 201.2°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 0.89 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 1.76 (c, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.39 (s, 3H), 7.25 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.72 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 11.11 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 8.6 (c), 21.3 (c), 28.4 (t), 98.1 (s), 128.5 (d), 129.2 (d), 130.4 (s), 138.7 (s), 146.3 (s), 158.4 (s), 172.4 (s). (EI+, 70 eV) *m/z* 323.9925 para C₁₃H₁₃BrN₂OS (calculada 323.9932).

Caracterización del N-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-butanamida (6b).

Sólido no cristalino de color blanco purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μ m, eluyente Hx-AcOEt 70-30 y gel de sílice 20-2 μ m, eluyente Hx-Acetona 96:4, 88:12, 84:16), 99 mg, rendimiento 52%, pf 159.5°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 0.96 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 1.41 (m, *J* = 7.5 Hz, 2H), 1.66 (t, 2H), 2.39 (s, 3H), 7.27-7.25 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.73 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 11.31 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 13.4 (c), 17.8 (t), 21.3 (c), 36.8 (t), 98.1 (s), 128.5 (d), 129.3 (d), 130.4 (s), 138.7 (s), 146.2 (s), 158.7 (s), 171.7 (s). (EI+, 70 eV) *m/z* 338.0079 para C₁₄H₁₅BrN₂OS (calculada 338.0088).

Caracterización del N-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-isobutanamida (6c).

Sólido no cristalino de color amarillo purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm , eluyente Hx-AcOEt 70-30 y gel de sílice 20-2 μm , eluyente Hx-Acetona 96:4, 88:12, 84:16), 28 mg, rendimiento 15%, pf 191.3°C.

RMN- ^1H (CDCl_3): δ 0.96 (d, 6H), 1.94 (m, 1H), 2.39 (s, 3H), 7.24-7.27 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.73 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 10.62 (s, 1H). RMN- ^{13}C (CDCl_3): δ 19.1 (c), 21.4 (c), 34.9 (d), 98.3 (s), 128.5 (s), 129.3 (s), 130.6 (s), 138.8 (s), 146.5 (s), 158.3 (s), 175.6 (s). (EI+, 70 eV) m/z 338.0092 para $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{BrN}_2\text{OS}$ (calculada 338.0088).

Caracterización del N-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-pivaloamida (6d).

Sólido no cristalino de color amarillo purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm , eluyente Hx-AcOEt 70-30 y gel de sílice 20-2 μm , eluyente Hx-Acetona 96:4, 88:12, 84:16), 47 mg, rendimiento 24%, pf 178.2°C.

RMN- ^1H (CDCl_3): δ 1.31 (s, 9H), 2.39 (s, 3H), 7.25 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.75 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 9.03 (s, 1H). RMN- ^{13}C (CDCl_3): δ 21.5 (c), 27.3 (c), 39.2 (s), 98.3 (s), 128.3 (d), 129.2 (d), 130.7 (s), 138.5 (s), 146.7 (s), 156.9 (s), 176.5 (s). (EI+, 70 eV) m/z 352.0230 para $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{BrN}_2\text{OS}$ (calculada 352.0245).

Caracterización del N-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-ciclopentamida (6e).

Sólido no cristalino de color amarillo purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm , eluyente Hx-AcOEt 70-30 y gel de sílice 20-2 μm , eluyente Hx-Acetona 96:4, 88:12, 84:16), 29 mg, rendimiento 14%, pf 189.4°C.

RMN- ^1H (CDCl_3): δ 1.50 (m, 2H), 1.66 (m, 6H), 2.04 (q, 1H), 2.24 (s, 3H), 7.28 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.77 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 10.90 (s, 1H). RMN- ^{13}C (CDCl_3): δ 21.5 (c), 25.9 (t), 30.3 (t), 44.9 (d), 98.2 (s), 128.5 (d), 129.4 (d), 130.6 (s), 138.8 (s), 146.4 (s), 158.7 (s), 175.1 (s). (EI+, 70 eV) m/z 364.0241 para $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{BrN}_2\text{OS}$ (calculada 364.0245).

Caracterización del N-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-furamida (6f).

Sólido de color amarillo purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm , eluyente Hx-AcOEt 70-30 y gel de sílice 20-2 μm , eluyente Hx-Acetona 96:4, 88:12, 84:16), 51 mg, rendimiento 10%, pf 185.9°C.

RMN- ^1H (CDCl_3): δ 2.38 (s, 3H), 6.56 (dd, 1H), 7.23 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.31 (d, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.78 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 9.96 (s, 1H). RMN- ^{13}C (CDCl_3): δ 21.5 (c), 98.4 (s), 113.1 (d), 117.6 (d), 128.3 (d), 129.1 (d), 130.6 (s), 138.5 (s), 145.6 (s), 145.8 (s), 147.1 (s), 155.4 (s), 156.2 (s). (EI+, 70 eV) m/z 361.9729 para $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{BrN}_2\text{O}_2\text{S}$ (calculada 361.9724).

Caracterización del N-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-benzamida (6g).

Sólido de color amarillo purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm , eluyente Hx-AcOEt 70-30 y gel de sílice 20-2 μm , eluyente Hx-Acetona 96:4, 88:12, 84:16), 55 mg, rendimiento 26%, pf 122.7°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 2.33 (s, 3H), 7.14 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.40 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.53 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.65 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.80 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 10.62 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 21.3 (c), 98.4 (s), 127.4 (d), 128.2 (d), 128.9 (d), 129.0 (d), 130.3 (s), 131.3 (d), 133.0 (s), 138.4 (s), 146.9 (s), 157.7 (s), 165.0 (s). (EI+, 70 eV) m/z 371.9924 para C₁₇H₁₃BrN₂OS (calculada 371.9932).

Caracterización del N-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-propanamida (7a).

Sólido no cristalino de color blanco purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm , eluyente Hx-AcOEt 70-30 y gel de sílice 20-2 μm , eluyente Hx-Acetona 96:4, 88:12, 84:16), 22 mg, rendimiento 12%, pf 212.5°C.

RMN-¹H (CD₃)₂CO): δ 1.20 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H), 2.61 (c, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.48 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 7.95 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 11.33 (s, 1H). RMN-¹³C (CD₃)₂CO): δ 9.2 (c), 29.2 (t), 98.2 (s), 129.2 (d), 130.6 (d), 133.4 (s), 134.4 (s), 145.8 (s), 158.2 (s), 173.5 (s). (EI+, 70 eV) m/z 343.9355 para C₁₂H₁₀BrClN₂OS (calculada 343.9385).

Caracterización del N-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-butanamida (7b).

Sólido no cristalino de color blanco purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm , eluyente Hx-AcOEt 70-30 y gel de sílice 20-2 μm , eluyente Hx-Acetona 96:4, 88:12, 84:16), 35 mg, rendimiento 19%, pf 182.8°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 0.83 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H), 1.58 (m, $J = 7.2$ Hz, 2H), 2.02 (t, $J = 7.2$ Hz, 2H), 7.42 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.81 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 10.36 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 13.6 (c), 18.3 (t), 37.6 (t), 99.2 (s), 128.9 (d), 129.8 (d), 131.9 (s), 134.7 (s), 145.2(s), 158.1(s), 171.3(s). (EI+, 70 eV) m/z 357.9522 para C₁₃H₁₂BrClN₂OS (calculada 357.9542).

Caracterización del N-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-isobutanamida (7c).

Sólido no cristalino de color blanco purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm , eluyente Hx-AcOEt 70-30 y gel de sílice 20-2 μm , eluyente Hx-Acetona 96:4, 88:12, 84:16), 41 mg, rendimiento 22%, pf 208.3°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 1.10 (d, $J = 6.9$ Hz, 6H), 2.23 (m, $J = 6.9$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.81 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 9.90 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 19.1 (c), 35.3 (d), 99.3 (s), 128.8 (d), 129.8 (d), 131.7 (s), 134.7 (s), 145.3 (s), 157.9 (s), 175.3 (s). (EI+, 70 eV) m/z 357.9565 para C₁₃H₁₂BrClN₂OS (calculada 357.9542).

Caracterización del N-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-pivaloamida (7d).

Sólido no cristalino de color amarillo purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm , eluyente Hx-AcOEt 70-30), 128 mg, rendimiento 66%, pf 185.2°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 1.33 (s, 9H), 7.40 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.81 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 9.19 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 27.3 (c), 39.2 (s), 99.2 (s), 128.7 (d), 129.7 (d), 131.9 (s), 134.5 (s), 145.3 (s), 157.3 (s), 176.7 (s). (EI+, 70 eV) m/z 371.9742 para C₁₄H₁₄BrClN₂OS (calculada 371.9698).

Caracterización del N-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-ciclopentamida (7e).

Sólido no cristalino de color amarillo purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm , eluyente Hx-AcOEt 70-30 y gel de sílice 20-2 μm , eluyente Hx-Acetona 96:4, 88:12, 84:16), 48 mg, rendimiento 24%, pf 179.1°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 1.49 (m, 2H), 1.70 (m, 6H), 2.30 (q, 1H), 7.42 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.82 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 10.12 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 26.0 (t), 30.3 (t), 45.2 (d), 99.2 (s), 128.9 (d), 129.8 (d), 132.0 (s), 134.7 (s), 145.2 (s), 158.2 (s), 174.8 (s). (EI+, 70 eV) m/z 383.9656 para C₁₅H₁₄BrClN₂OS (calculada 383.9698).

Caracterización del N-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-furamida (7f).

Sólido no cristalino de color amarillo purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm , eluyente Hx-AcOEt 70-30 y gel de sílice 20-2 μm , eluyente Hx-Acetona 96:4, 88:12, 84:16), 36 mg, rendimiento 18%, pf 179.8°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 6.60 (dd, 1H), 7.35 (d, 1H), 7.40 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.54 (d, 1H), 7.85 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 9.79 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 99.4 (s), 113.3 (d), 117.8 (d), 128.7 (d), 129.7 (d), 131.9 (s), 134.5 (s), 145.5 (s), 145.9 (s), 145.9 (s), 155.3 (s), 156.28 (s). (EI+, 70 eV) m/z 381.9158 para C₁₄H₈BrClN₂O₂S (calculada 381.9178).

Caracterización del N-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-benzamida (7g).

Sólido no cristalino de color amarillo purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm , eluyente Hx-AcOEt 70-30 y gel de sílice 20-2 μm , eluyente Hx-Acetona 96:4, 88:12, 84:16), 50 mg, rendimiento 24%, pf 155.6°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 7.30 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.43 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.56 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.71 (d, $J = 8.5$ Hz, 2H), 7.81 (d, $J = 7.5$ Hz, 2H), 10.54 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 99.5 (s), 127.6 (d), 128.7 (d), 129.1 (d), 129.7 (d), 131.3 (s), 131.7 (d), 133.3 (s), 134.5 (s), 145.8 (s), 158.0 (s), 165.2 (s). (EI+, 70 eV) m/z 391.9397 para C₁₆H₁₀BrClN₂OS (calculada 391.9385).

Procedimiento general para la preparación de *N*-(4-*aril*-2-tiazolil)-amidas.

En un tubo de ensayo provisto de un agitador magnético se agregó un equivalente del derivado 2-amino-4-*aril*-1,3-tiazol, 5 equivalentes de trietilamina y 5 mL de CH₂Cl₂; Posteriormente a 0°C (baño de hielo) se agregaron 5 equivalentes del respectivo cloruro de ácido, la mezcla de reacción se dejó en agitación constante durante 18 h a temperatura ambiente y en atmosfera de nitrógeno, al término de la reacción, la mezcla de reacción se secó a vacío y se le realizaron lavados con NaHCO₃ (x3). (Figura 18).

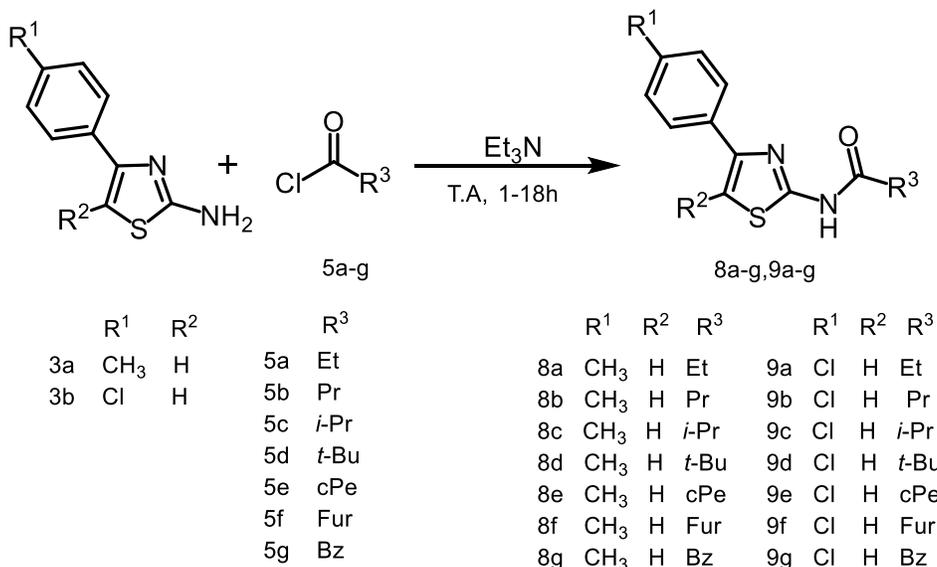


Figura 18. Reacciones de acilación de los derivados de tipo 2-amino-5-bromo-4-*aril*-1,3-tiazol.

Caracterización del *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-propanamida (**8a**).

Sólido amorfo de color blanco purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μ m, eluyente Hx-AcOEt 90:10), 65 mg, rendimiento 31%, pf 180.4°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 1.13 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 2.25 (c, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.38 (s, 3H), 7.08 (s, 1H), 7.22 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 7.70 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H), 10.01 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 8.9 (c), 21.4 (c), 29.2 (t), 107.2 (d), 126.3 (d), 129.7 (d), 131.9 (s), 138.3 (s), 149.8 (s), 159.3 (s), 172.2 (s). (EI+, 70 eV) *m/z* 246.0869 para C₁₃H₁₄N₂OS (calculada 246.0826).

Caracterización del *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-butanamida (**8b**).

Sólido amorfo de color blanco purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μ m, eluyente Hx-AcOEt 90:10), 65 mg, rendimiento 32%, pf 179.8°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 0.85 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 1.63 (m, *J* = 7.5 Hz, 2H), 2.18 (t, 2H), 2.38 (s, 3H), 7.08 (s, 1H), 7.22 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 7.70 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H), 10.07 (s, 1H).

RMN-¹³C (CDCl₃): δ 13.5 (c), 18.4 (t), 21.4 (c), 37.8 (t), 107.2 (d), 126.4 (d), 129.7 (d), 131.8 (s), 138.3 (s), 149.8 (s), 159.6 (s), 171.6 (s). (EI+, 70 eV) m/z 260.0998 para C₁₄H₁₆N₂OS (calculada 260.0983).

Caracterización del N-(4-metilfenil-2-tiazolil)-isobutanamida (8c).

Cristales de color amarillo purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm, eluyente Hx-AcOEt 85:15), 141 mg, rendimiento 71%, pf 108.3°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 0.95 (d, 6H), 2.13 (m, 1H), 2.37 (s, 3H), 7.07 (s, 1H), 7.22 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.70 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 11.15 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 19.0 (c), 21.3 (c), 35.1 (d), 107.3 (d), 126.3 (d), 129.6 (d), 131.7 (s), 138.2 (s), 149.8 (s), 159.6 (s), 175.7 (s). (EI+, 70 eV) m/z 260.0957 para C₁₄H₁₆N₂OS (calculada 260.0983).

Caracterización del N-(4-metilfenil-2-tiazolil)-pivaloamida (8d).

Sólido de color amarillo purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm, eluyente Hx-AcOEt 90:10), 58 mg, rendimiento 27%, pf 112.3°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 1.32 (s, 9H), 2.37 (s, 3H), 7.06 (s, 1H), 7.21 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.68 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 9.41 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 21.3 (c), 27.3 (c), 39.2 (s), 107.2 (d), 126.1 (d), 129.5 (d), 131.7 (s), 137.9 (s), 149.9 (s), 158.3 (s), 176.5 (s). (EI+, 70 eV) m/z 274.1142 para C₁₅H₁₈N₂OS (calculada 274.1139).

Caracterización del N-(4-metilfenil-2-tiazolil)-ciclopentamida (8e).

Sólido blanco cristalino purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm, eluyente Hx-AcOEt 85:15), 110 mg, rendimiento 49%, pf 132.7°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 1.28 (m, 2H), 1.42 (m, 2H), 1.61 (m, 4H), 2.18 (m, 1H), 2.37 (s, 3H), 7.07 (s, 1H), 7.22 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.71 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 11.41 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 21.3 (c), 25.8 (t), 30.3 (t), 45.1 (d), 107.2 (d), 126.3 (d), 129.7 (d), 131.8 (s), 138.2 (s), 149.7 (s), 159.9 (s), 175.2 (s). (EI+, 70 eV) m/z 286.1122 para C₁₆H₁₈N₂OS (calculada 286.1139).

Caracterización del N-(4-metilfenil-2-tiazolil)-furanamida (8f).

Sólido amarillo cristalino purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm, eluyente Hx-AcOEt 85:15), 18 mg, rendimiento 8%, pf 124.5°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 2.36 (s, 3H), 6.55 (dd, 1H), 7.11 (s, 1H), 7.20 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 7.33 (d, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.70 (d, *J* = 8.2 Hz, 2H), 10.57 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 21.4 (c), 107.5 (d), 112.9 (d), 117.1 (d), 126.1 (d), 129.5 (d), 131.6 (s), 138.1 (s), 145.6 (s), 146.0 (d), 150.4 (s), 155.5 (s), 157.7 (s). (EI+, 70 eV) m/z 284.0646 para C₁₅H₁₂N₂O₂S (calculada 284.0619).

Caracterización del N-(4-metilfenil-2-tiazolil)-benzamida (9g).

Agujas de color blanco purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm , eluyente Hx-AcOEt 85:15), 49 mg, rendimiento 21%, pf 146.9°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 2.30 (s, 3H), 7.08 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.11 (s, 1H), 7.26 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.43 (t, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.77 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 11.16 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 21.3 (c), 107.4 (d), 126.0 (d), 127.5 (d), 128.7 (d), 129.4 (d), 131.5 (s), 132.0 (d), 132.7 (s), 137.9 (s), 150.4 (s), 159.2 (s), 165.4 (s). (EI+, 70 eV) m/z 294.0796 para C₁₇H₁₄N₂OS (calculada 294.0826).

Caracterización del N-(4-clorofenil-2-tiazolil)-propanamida (9a).

Sólido amorfo de color blanco purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm , eluyente Hx-AcOEt 90:10), 35 mg, rendimiento 18%, pf 204.5°C.

RMN-¹H ((CD₃)₂CO): δ 1.21 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H), 2.61 (c, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.41 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.49 (s, 1H), 7.91 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 11.65 (s, 1H). RMN-¹³C ((CD₃)₂CO): δ 9.4 (c), 29.4 (t), 108.8 (d), 128.3 (d), 129.5 (d), 133.7 (s), 134.5 (s), 149.1 (s), 159.2 (s), 172.9 (s). (EI+, 70 eV) m/z 266.0261 para C₁₂H₁₁ClN₂OS (calculada 266.0281).

Caracterización del N-(4-clorofenil-2-tiazolil)-butanamida (9b).

Sólido amorfo de color blanco purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm , eluyente Hx-AcOEt 90:10), 88 mg, rendimiento 44%, pf 209.5°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 0.86 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H), 1.64 (m, $J = 7.4$ Hz, 2H), 2.19 (t, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.13 (s, 1H), 7.39 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.75 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 10.08 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 13.7 (c), 18.5 (t), 38.1 (t), 108.3 (d), 127.5 (d), 129.2 (d), 132.9 (s), 134.2 (s), 148.6 (s), 158.9 (s), 171.1 (s). (EI+, 70 eV) m/z 280.0477 para C₁₃H₁₃ClN₂OS (calculada 280.0437).

Caracterización del N-(4-clorofenil-2-tiazolil)-isobutanamida (9c).

Sólido amorfo de color blanco purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm , eluyente Hx-AcOEt 85:15), 54 mg, rendimiento 27%, pf 149.2°C

RMN-¹H (CDCl₃): δ 1.11 (d, $J = 6.9$ Hz, 6H), 2.35 (m, $J = 6.9$ Hz, 1H), 7.12 (s, 1H), 7.37 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 7.74 (d, $J = 8.7$ Hz, 2H), 10.12 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 19.2 (c), 35.4 (d), 108.4 (d), 127.5 (d), 129.1 (d), 132.9 (s), 134.1 (s), 148.7 (s), 159.0 (s), 172.2 (s). (EI+, 70 eV) m/z 280.0466 para C₁₃H₁₃ClN₂OS (calculada 280.0437).

Caracterización del N-(4-clorofenil-2-tiazolil)-pivaloamida (9d).

Sólido amorfo de color amarillo purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm , eluyente Hx-Acetona 85:15), 161 mg, rendimiento 77%, pf 160.3°C

RMN-¹H (CDCl₃): δ 1.34 (s, 9H), 7.11 (s, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.74 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 9.02 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 27.3 (c), 39.3 (s), 108.3 (d), 127.4 (d), 129.0 (d), 133.0 (s), 133.9 (s), 148.8 (s), 158.2 (s), 176.4 (s). (EI+, 70 eV) *m/z* 294.0597 para C₁₄H₁₅ClN₂OS (calculada 294.0593).

Caracterización del N-(4-clorofenil-2-tiazolil)-ciclopentamida (9e).

Sólido de color amarillo purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm, eluyente Hx-Acetona 85:15), 44 mg, rendimiento 20%, pf 172.3°C

RMN-¹H (CDCl₃): δ 1.48 (m, 2H), 1.74 (m, 6H), 2.49 (q, 1H), 7.12 (s, 1H), 7.38 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.75 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 10.17 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 26.0 (t), 30.4 (t), 45.5 (d), 108.3 (d), 127.5 (d), 129.1 (d), 132.9 (s), 134.1 (s), 148.6 (s), 159.2 (s), 174.6 (s). (EI+, 70 eV) *m/z* 306.0505 para C₁₅H₁₅ClN₂OS (calculada 306.0481).

Caracterización del N-(4-clorofenil-2-tiazolil)-furamida (9f).

Sólido amorfo de color amarillo purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm, eluyente Hx-AcOEt 85:15), 32.5 mg, rendimiento 16%, pf 162.9°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 6.59 (dd, 1H), 7.17 (s, 1H), 7.34 (d, 1H), 7.37 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 7.53 (d, 1H), 7.77 (d, *J* = 8.7 Hz, 2H), 9.89 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 108.6 (d), 113.1 (d), 117.4 (d), 127.4 (d), 129.0 (d), 132.9 (s), 133.9 (s), 145.6 (s), 145.9 (d), 149.22 (s), 155.3 (s), 157.4 (s). (EI+, 70 eV) *m/z* 304.0086 para C₁₄H₉ClN₂O₂S (calculada 304.0073).

Caracterización del N-(4-clorofenil-2-tiazolil)-benzamida (9g).

Sólido amorfo de color amarillo purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm, eluyente Hx-AcOEt 85:15), 51 mg, rendimiento 23%, pf 201.3°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 7.17 (s, 1H), 7.31 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.43 (t, *J* = 7.5 Hz, 2H), 7.54 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 7.68 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.87 (d, *J* = 7.5 Hz, 2H), 10.39 (s, 1H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 108.5 (d), 127.4 (d), 127.5 (d), 129.0 (d), 129.0 (d), 131.9 (s), 132.8 (d), 133.1 (s), 133.9 (s), 149.2 (s), 158.9 (s), 165.0 (s). (EI+, 70 eV) *m/z* 314.0320 para C₁₆H₁₁ClN₂OS (calculada 314.0280).

Derivados diacilados de tipo 2-amino-4-aryl-1,3-tiazol.

Caracterización del N-(4-metilfenil-2-tiazolil)-d ciclopentilamida (8e).*

Agujas de color blanco purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 μm, eluyente Hx-AcOEt 85:15), 22 mg, rendimiento 7%, pf 110.4°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 1.58 (m, 4H), 1.73 (m, 4H), 1.94 (m, 8H), 2.38(s, 3H), 3.20(q, 2H), 7.22(d, *J* = 8.25 Hz, 2H), 7.42 (s, 1H), 7.75 (d, *J* = 8.25 Hz, 2H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 21.4 (c), 26.3 (t), 31.4 (t), 46.5 (d), 112.62 (d), 126.14 (d), 129.6 (d), 131.3 (s), 138.4

(s), 152.1 (s), 158.6 (s), 179.1 (s). (EI+, 70 eV) m/z 382.1716 para C₂₂H₂₆N₂O₂S; (calculada 382.1715).

Caracterización del N-(4-clorofenil-2-tiazolil)-dipropanamida (**9a***)

Sólido amorfo de color blanco purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 µm, eluyente Hx-AcOEt 90:10), 13 mg, rendimiento 6%, pf 78.7°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 1.18 (t, *J* = 7.3 Hz, 6H), 2.73 (c, *J* = 7.28 Hz, 4H), 7.39(d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.54 (s, 1H), 7.78 (d, *J* 8.5 Hz, 2H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 8.9 (c), 31.9 (t), 115.1 (d), 127.6 (d), 129.2 (d), 132.4 (s), 134.5 (s), 151.7 (s), 159.1 (s), 175.9 (s). (EI+, 70 eV) m/z 322.0546 para C₁₅H₁₅ClN₂O₂S (calculada 322.0542).

Caracterización del N-(4-clorofenil-2-tiazolil)-dibutanamida (**9b***)

Sólido amorfo de color blanco purificado por cromatografía en columna (gel de sílice 74-37 µm, eluyente Hx-AcOEt 90:10), 30 mg, rendimiento 12%, pf 101.7°C.

RMN-¹H (CDCl₃): δ 0.96 (t, *J* = 7.5 Hz, 6H), 1.72 (m, *J* = 7.5 Hz, 4H), 2.67 (t, *J* = 7.5 Hz, 4H), 7.39 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 7.54 (s, 1H), 7.78 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H). RMN-¹³C (CDCl₃): δ 13.7 (c), 18.2 (t), 40.1 (t), 114.9 (d), 127.6 (d), 129.2 (d), 132.4 (s), 134.9 (s), 151.6 (s), 159.0 (s), 175.1 (s). (EI+, 70 eV) m/z 350.0848 para C₁₇H₁₉ClN₂O₂S (calculada 350.085).

Evaluación de la actividad biológica

Los ensayos biológicos preliminares de todos los derivados obtenidos se realizaron utilizando cultivos de trofozoítos de *G. intestinalis* de la cepa IMSS: 0696:1 aislados de un individuo mexicano con giardiasis sintomática. La actividad anti-giardiasis se realizó siguiendo los protocolos utilizados por el grupo de investigación de la UMAE-IMSS del Centro Médico Ignacio García Téllez en el parque científico y tecnológico del estado de Yucatán.⁵⁹

La determinación del efecto antiprotozoario de los compuestos se realizaron mediante ensayos de susceptibilidad por el método de inhibición de la proliferación. Los parásitos se obtuvieron en fase logarítmica de crecimiento en el medio de cultivo de Diamond modificado por Keister TYI-S-33.

Para la evaluación de la actividad biológica, se incubaron 5x10⁴ trofozoítos de *Giardia intestinalis* (por separado) por 48 horas a 37°C. Cada producto puro (5 mg) se disolvió en DMSO, para obtener disoluciones de 10 mg/mL de concentración. Posteriormente, se colocaron alícuotas de cada solución en tubos de microcentrífuga, hasta lograr soluciones con concentraciones finales de 10, 5, 2.5, 1.25 y 0.6 µg/mL de los productos sintetizados a los cuales se le agregó un inóculo de 100 µL de los trofozoítos de

Giardia y se incubó a 37 °C por 48 h. Terminado el periodo de incubación, los trofozoítos se cosecharon por enfriamiento a 5°C por 30 min y fueron contados en una cámara de cuenta glóbulos (Neubauer). Los ensayos fueron evaluados por duplicado, realizando dos repeticiones de cada experimento. Como control positivo se empleó metronidazol (Sigma Aldrich) y como controles negativos trofozoítos en medio libre de fármacos. El porcentaje de inhibición de crecimiento se determinó en comparación con el control y posteriormente, se empleó el paquete estadístico Prisma 6 (GraphPad Software), para obtener las concentraciones inhibitorias del 50% (CI₅₀) del crecimiento de los trofozoítos.

Bioensayo de actividad citotóxica frente a línea celular Vero.

La línea celular (células normales de riñón de mono verde, Vero) fue cultivada y mantenida en fase logarítmica de crecimiento con medio DMEM suplementado con 10% de suero fetal bovino (SFB). Se empleó estreptomycin (solución de concentración de 10 mg/mL) para inhibir el crecimiento de bacterias Gram positivas. Asimismo, se utilizó anfotericina B (solución de concentración 2.5 µg/mL) para inhibir el crecimiento fúngico. En una atmósfera de cultivo con 95% de humedad y 5% de CO₂ a 37 °C; se incubaron las células en placas para cultivo celular de 96 pozos. A cada pozo se le adicionó 100 µL de medio con una densidad celular de 50 000 células/mL.

Transcurridas 24 h (confluencia celular de 90%), se retiró el medio para añadir a cada pozo 100 µL de medio de cultivo sin SFB, adicionando alícuotas correspondientes para alcanzar las concentraciones deseadas de los compuestos a evaluar (50, 25, 12.5, 6.25 µg/mL) y se incubó durante un periodo de 48 h.

Al cabo de este tiempo, se adicionaron 100 µL de ácido tricloroacético al 10% a cada pozo, con la finalidad de fijar las células; se incubó de nuevo a 4 °C por 30 min. Transcurrido el tiempo señalado se retiró el sobrenadante, y se adicionaron a cada pozo 100 µL de una disolución de sulforodamida B, (0.1% SRB en ácido acético al 1%), dejando transcurrir 15 min. Posteriormente, se retiró el sobrenadante y se realizaron cuatro lavados con ácido acético al 1% para eliminar el exceso de colorante.

La tinción se solubilizó con 200 µL de tris-base (10 mM) y se midió la densidad óptica de la disolución a 560 nm, empleando un espectrofotómetro para la determinación de la inhibición del crecimiento.

Los resultados fueron sometidos a análisis del modelo de log (inhibidor) vs. respuesta normalizada, empleando el paquete estadístico Prisma 5 (GraphPad Software), para obtener las concentraciones inhibitorias del 50% (CC₅₀) del crecimiento celular, cada evaluación se realizó por duplicado.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Síntesis de los derivados tiazólicos

Se logró la obtención de 31 amidas tiazólicas; 17 de ellas fueron sintetizadas a partir del 2-amino-4-fenil-1,3-tiazol, en tanto que las 14 restantes fueron sintetizadas a partir del tiazol con el átomo de bromo en la posición 5. Así, entre los 5-bromoderivados siete corresponden a amidas de tipo *N*-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-amidas y siete a *N*-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-amidas, de las 17 restantes, siete corresponden a amidas de tipo *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-amidas y siete a *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-amidas, por último, los tres productos restantes corresponden a compuestos diacilados.

Síntesis de los 2-amino-4-aryl-1,3-tiazoles

Se ha descrito en la literatura que es posible obtener derivados de tipo 2-amino-4-aryl-1,3-tiazol haciendo reaccionar acetofenonas *p*-fenil sustituidas, tiourea y yodo molecular a 150°C por 15 min bajo radiación microondas.^{29,39} La radiación microondas representa alternativa a la calefacción convencional para la introducción de energía en las reacciones. El fenómeno de radiación promueve la calefacción dieléctrica a través de dos mecanismos principales: El mecanismo de la polarización dipolar y el mecanismo por conducción.⁴²⁻⁴⁵

Aun con la utilización de este método de calefacción, no fue posible la obtención de estos derivados debido a la reacción de polimerización del tiazol (Figura 19). Se encuentra reportado en la literatura que la reacción de polimerización ocurre a 160 °C observándose la formación de un producto de color negro, esta situación fue observada utilizando las condiciones descritas anteriormente (150 °C, 15 min).⁴¹

En microondas a potencias altas se accede a un calentamiento más rápido y por consiguiente se lograrían mejores condiciones para la condensación del tiazol; Sin embargo, el exceso de potencia generado por el equipo llevó a un calentamiento brusco que dio origen a la reacción de polimerización (producto de color negro) y por ende bajos rendimientos (menor del 49%).⁴¹

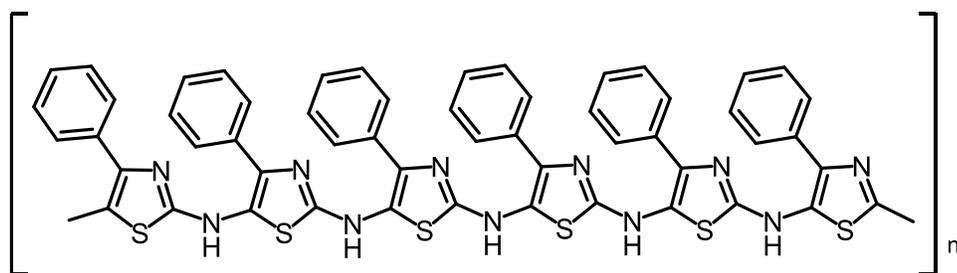


Figura 19. Polímero formado a partir del 2-amino-4-fenil-1,3-tiazol.

Por esta razón, con el objetivo de aumentar el rendimiento de la reacción se decidió realizar la síntesis por métodos convencionales y de esta manera utilizando las condiciones descritas anteriormente (150 °C, 15 min) se llevó a cabo la síntesis de los 2-amino-4-aryl-1,3-tiazoles (Figura 20) obteniendo rendimientos del 67% para ambos derivados. Como se puede observar en la Figura 20 los rendimientos de la reacción para ambos derivados son iguales debido a que presentan diferencias en sus procesos de cristalización.

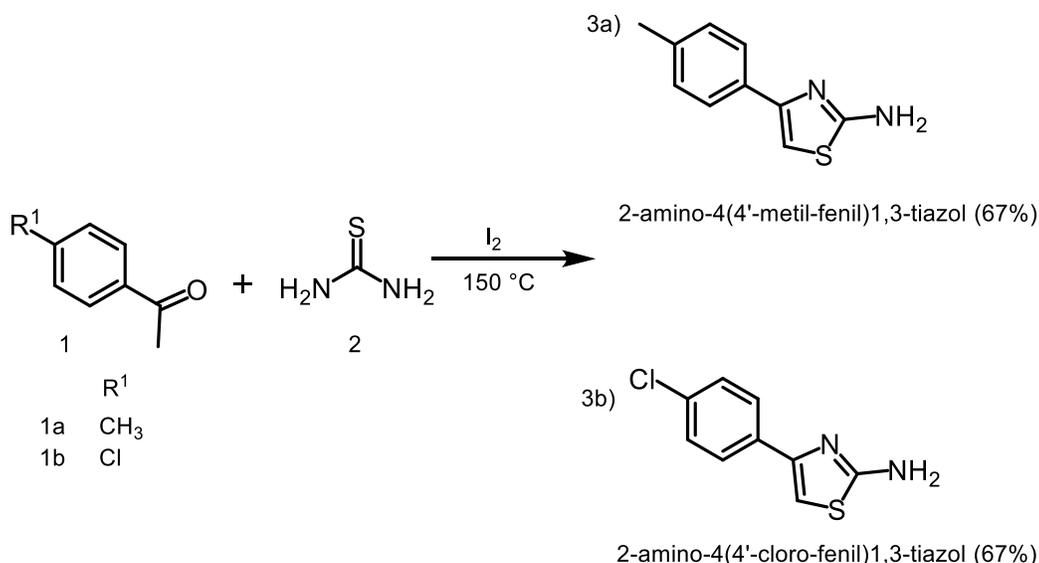


Figura 20. Síntesis de los 2-amino-4-aryl-1,3-tiazoles.

Analizando el tipo de sustituyente en posición *para* del anillo fenílico, la formación del anillo tiazólico depende en gran medida del sustituyente en dicha posición, siendo que los efectos inductivos y de resonancia de dichos sustituyentes, parecen incrementar o disminuir la formación de dicho anillo.⁵¹ Los grupos electrodonadores presentes en posición *para* desfavorecen el ataque nucleofílico del átomo de nitrógeno de la tiourea al carbono carbonílico de la acetofenona afectando negativamente la formación de anillo tiazólico, en tanto que los grupos electroextractores tienen un efecto contrario.

El mecanismo más conocido para formación de los derivados tiazólicos es la reacción de Hantzsch que implica la ciclocondensación de acetofenonas *p*-sustituidas y tiourea en presencia de yodo molecular en donde se hace necesario la formación de α -haloacetona como producto intermediario.⁴⁰ Sin embargo, existen propuestas como la realizada por Villanueva⁶⁰ el cual propone un mecanismo de 4 pasos en donde la formación de la especie disulfuro de formamidina favorece la condensación del anillo tiazólico de los 2-aminoariltiazoles (Figuras 21-24).⁵

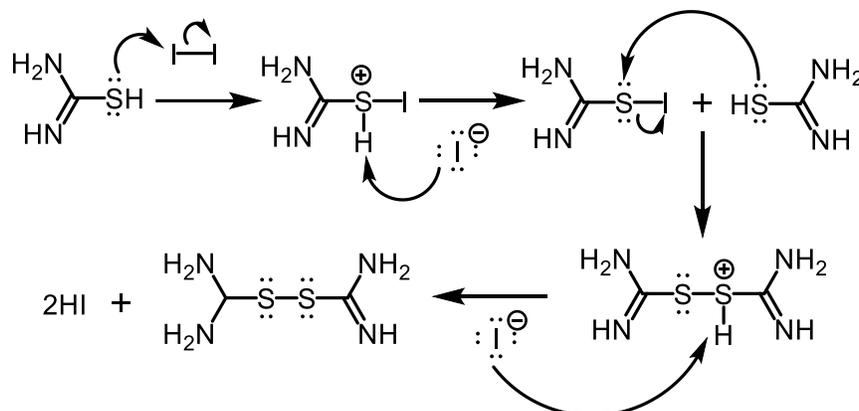


Figura 21. Oxidación de la tiourea para la formación del disulfuro de formamidina.

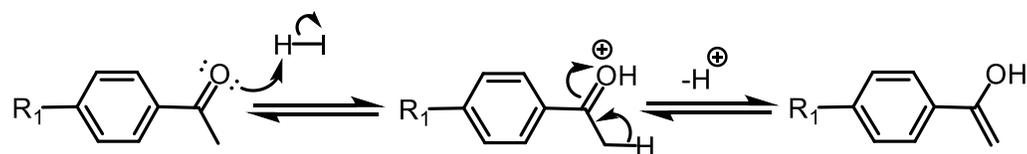
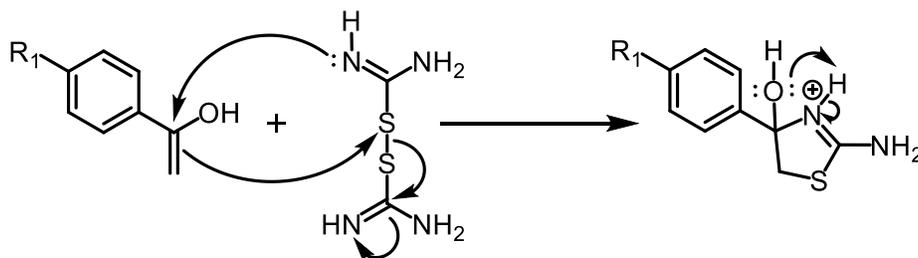


Figura 22. Tautomerización de la acetofenona 4-*p*-fenil sustituida



Paso 23: Cicloadición [3+2] mediante un mecanismo tipo *syn* concertado.

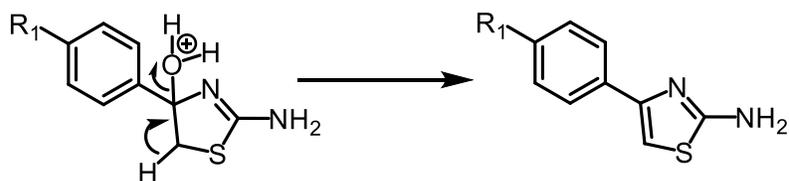


Figura 24. Deshidratación y aromatización del anillo tiazólico.

Así mismo, se encuentra documentado que dicha reacción se trata de un proceso de oxidación-reducción y que no es necesario de la formación de la α -haloacetona como sustrato activado, de tal manera que, cualquier especie química receptora de dos electrones, tendría la capacidad de reaccionar (Figura 25). Además, el disulfuro de formamidina puede ser un intermediario cuando los tiazoles son sintetizados a partir de diferentes compuestos cetónicos y tiourea por acción directa de un agente oxidante como el iodo.⁶¹

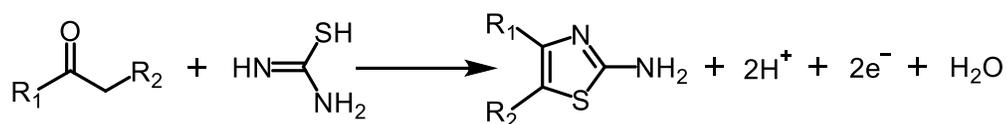


Figura 25. Esquema de reacción oxidación-reducción para la formación del 2-aminotiazol

El dihidroyoduro del disulfuro de formamidina es un compuesto de tipo 1,3-dipolar muy inestable, por lo que este mecanismo implicaría su generación in situ y su posterior utilización en la formación del tiazol correspondiente.^{62,63}

Bromación de los 2-amino-4-aril-1,3-tiazoles.

Síntesis del 2-amino-5-bromo-4(4'-metil-fenil)1,3-tiazol (4a)

La síntesis del derivado bromado en posición cinco del anillo tiazólico con el grupo amino libre en la posición 2 (Tabla 2) se realizó utilizando las condiciones descritas en literatura, sin embargo, los bajos rendimientos, el empleo de reactivos tóxicos, corrosivos que hacen difícil su manipulación y la dificultad para la obtención del producto motivaron a buscar una alternativa que mejore las condiciones de halogenación, así que se decidió utilizar NBS.^{29, 40}

El empleo de 1.1 equivalentes de NBS llevó a la obtención del derivado bromado con un 83 % de rendimiento, sin embargo, el exceso de NBS formaba un producto de color negro debido al exceso de bromo generado en la reacción, por ello se decidió modificar la cantidad de equivalentes, con 0.9 equivalentes se lograba la obtención del producto (66%), a pesar de esta modificación la proporción no resultaba suficiente para una

buena conversión hacia los productos (Entrada 3), por tal motivo se decidió utilizar proporciones equimolares de NBS (Entrada 4) y con ello lograr la obtención del derivado del derivado 2-amino-5-bromo-4(4'-metil-fenil)1,3-tiazol con buen rendimiento (90 %)

Tabla 2. Condiciones de reacción para la síntesis de 2-amino-5-bromo-4(4'-metil-fenil)1,3-tiazol.

Entrada	Condiciones de Reacción	Tiempo (h)	Rendimiento (%)
1	Br (1eq), AcOH, H ₂ SO ₄	18	52 %
2	NBS (1.1 eq), CHCl ₃	2	83 %
3	NBS (0.9 eq), CHCl ₃	2	66 %
4	NBS (1 eq), CHCl ₃	2	90 %

Una vez obtenido el mejor método para reacción de bromación en la posición 5 del esqueleto tiazólico, se decidió extender los alcances de esta metodología, para ello la síntesis del 2-amino-5-bromo-4(4'-cloro-fenil)1,3-tiazol se realizó de la misma manera utilizando cantidades equimolares de NBS en un tiempo de 2 h, con ello se obtuvo un rendimiento del 85 %. (Figura 26)

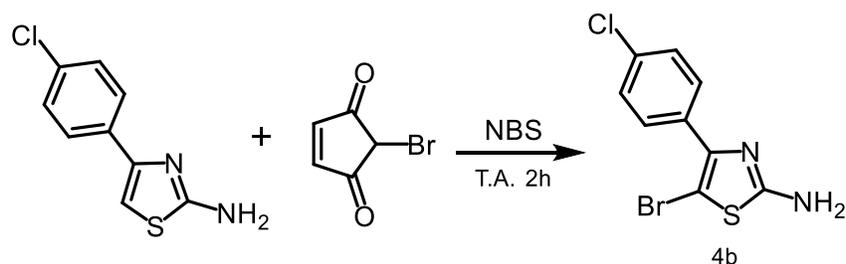


Figura 26. Reacción para la obtención del 2-amino-5-bromo-4(4'-cloro-fenil)1,3-tiazol

A continuación, se presenta el mecanismo propuesto para la reacción de halogenación utilizando NBS como agente bromante en la posición cinco del anillo tiazólico, dicha reacción se lleva a cabo por medio de radicales libres, la cual consta de un proceso de tres pasos; iniciación, propagación y terminación (Figuras 27-29).^{64,65}

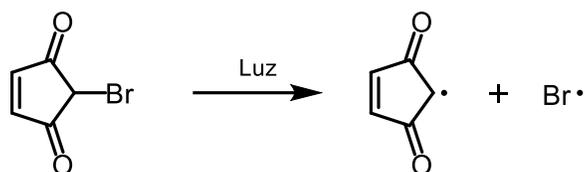


Figura 27. Formación del radical Succinimidil (Proceso de iniciación).

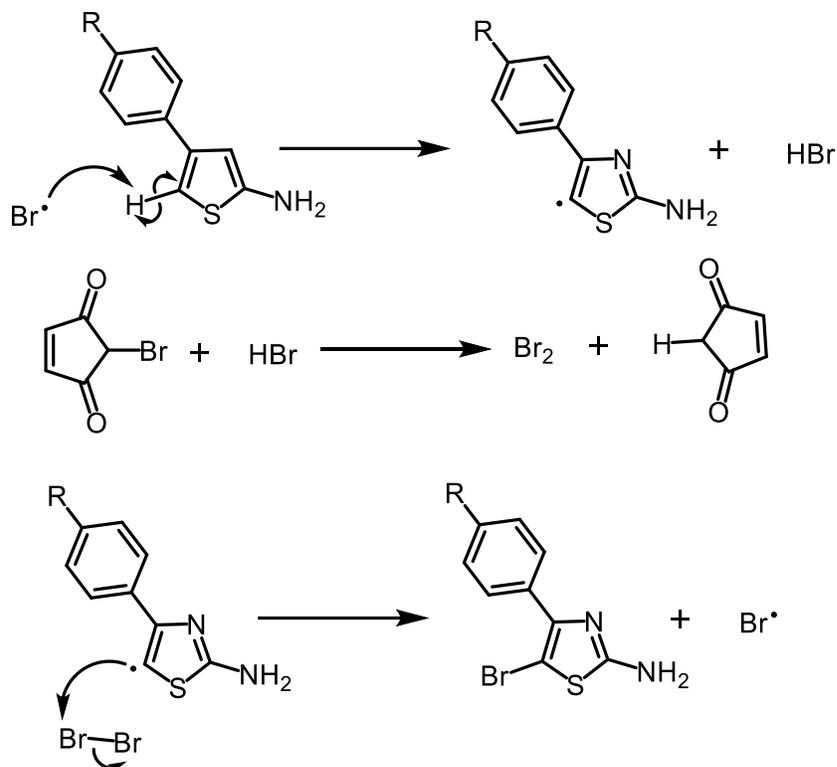


Figura 28. Proceso de Propagación

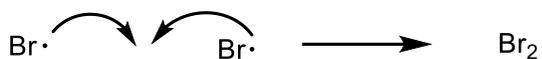


Figura 29. Proceso de Terminación

Acilación de los derivados de tipo 2-amino-5-bromo-4-aryl-1,3-tiazol

Teniendo en cuenta que los derivados 5-bromotiazólicos han mostrado una notable mejoría en la inhibición de *G. intestinalis* y que el derivado acetilado de la misma incrementa la potencia del compuesto haciéndolo 3.6 veces más activo que el MTZ.²⁹ Fue de interés estudiar las variaciones del grupo amida introduciendo grupos acilo; propilo, butilo, Isobutilo, pivaloilo, ciclopentilo, furoilo y benzoilo.

La síntesis de los derivados se inició utilizando 5 equivalentes de cloruro de ácido y 1.5 equivalentes de Et₃N en un tiempo de 18 h (Figura 30), sin embargo, los rendimientos fueron bajos en general, posiblemente a la facilidad que tienen los cloruros para descomponerse en presencia de humedad y a la formación de productos secundarios. Por lo que se estableció para la reacción, una proporción de 5 equivalentes del cloruro de ácido. Con estas condiciones los rendimientos para las siete amidas obtenidas fueron de un 10-52%, situación que se atribuye a las diferencias en las solubilidades de los productos finales y a la formación de productos secundarios, siendo uno de ellos la formación de derivados no halogenados (pérdida del átomo de bromo). Es importante mencionar que la cercanía de RF del producto de interés y su análogo deshalogenado, complicó la purificación por cromatografía en columna.

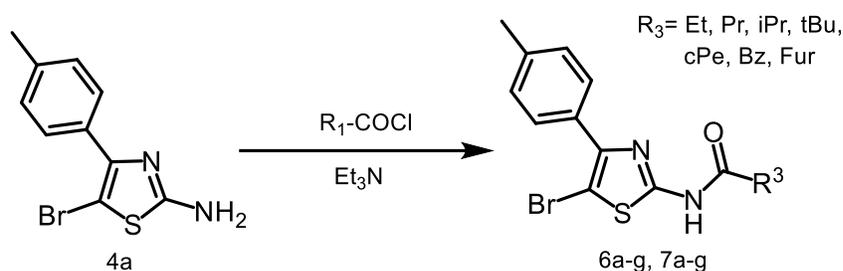


Figura 30. Reacción de acilación de los derivados de tipo 2-amino-5-bromo-4(4'-metilfenil)1,3-tiazol.

En la Figura 31 se presenta los posibles productos de las reacciones de acilación, entre ellos los productos de interés, sus análogos deshalogenados y posiblemente productos diacilados. Este hecho, aunado a los largos tiempo de reacción, así como el exceso utilizado tanto del cloruro de acilo como de la base, provoca que los rendimientos de la reacción fueran bajos (10-52 %).

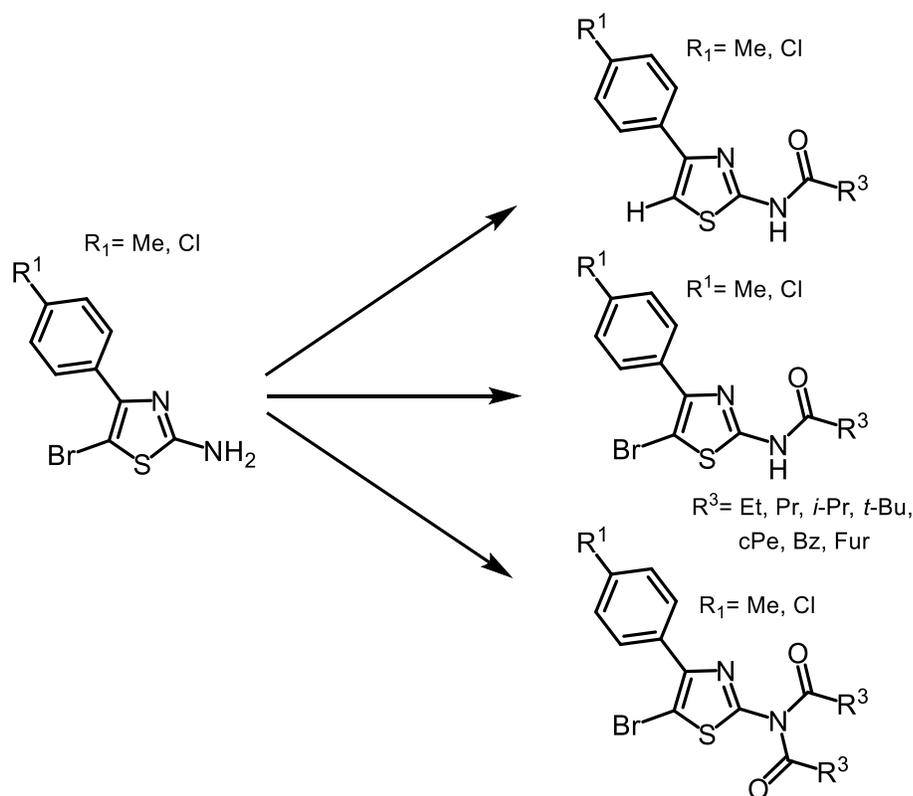


Figura 31. Productos formados en las reacciones de acilación de los derivados de tipo 2-amino-5-bromo-4-aril-1,3-tiazol

Por otra parte, las síntesis de los derivados *N*-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-acilamidas, se llevó a cabo utilizando las mismas condiciones descritas anteriormente (relación molar y tiempo), reflejando un comportamiento similar tanto en la síntesis, como en la purificación y rendimiento (12-66%).

Acilación de los 2-amino-4-aril-1,3-tiazoles

La síntesis de las *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-acilamidas se llevó a cabo con 5 equivalentes tanto del cloruro de ácido, como de la misma base, buscando obtener una mayor conversión a productos en un tiempo de 18 h; pese a estas modificaciones solo fue posible obtener seis derivados (**8a-8d**, **8f**, **8g**) debido a que el exceso de cloruro de ácido y de base ocasionan que el derivado tiazólico continuara reaccionando hasta la formación de sub-productos (Figura 32).

Debido a la formación de subproductos (Figura 32) los cuales dificultaban el proceso de purificación, para el resto de los derivados se dispuso a buscar nuevas metodologías de purificaron, sin embargo, no se obtuvo evidencia del producto deseado y de esta manera se decidió realizar modificaciones en cuanto a la síntesis,

las variantes consistieron en disminuir las cantidades del cloruro de ácido, la base y el tiempo de reacción.

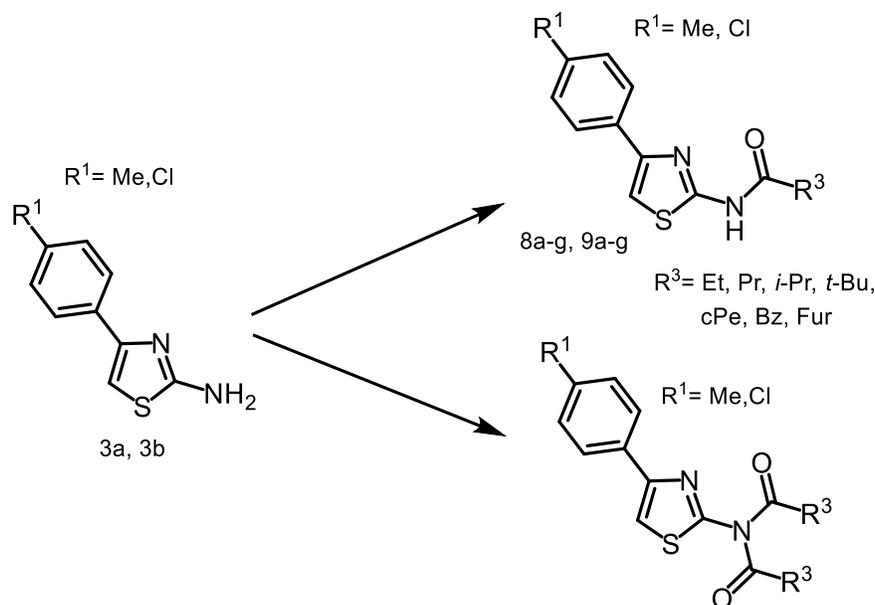


Figura 32. Productos formados en las reacciones de acilación de los 2-amino-4-aryl-1,3-tiazoles.

Monitoreando la reacción por CCD en un tiempo de 1 h se logró la conversión de una mayor cantidad de sustrato y una menor cantidad de subproductos lo cual facilitó el proceso de purificación, dicha purificación se realizó utilizando como fase móvil Hexano-Acetona, obteniendo de esta manera el producto de interés, el derivado **8e** con rendimiento del 49%.

Derivados tiazólicos diacilados.

Durante los procesos de purificación de los derivados *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-acilamidas se logró aislar e identificar por métodos espectroscópicos y espectrométricos, el análogo diacilado del derivado **8e***. Producto generado a partir del exceso tanto del tiempo de reacción, así como de los reactivos utilizados.

La síntesis de los derivados *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-acilamidas, se inició siguiendo las mismas condiciones descritas anteriormente (5 Eq de TEA y cloruro de ácido), de esta manera se logró la obtención de los primeros 3 derivados de esta serie (**9d-9f**).

Los derivados **9c** y **9g** fueron sintetizados realizando modificaciones en la síntesis para evitar la formación de subproductos, y así evitar el problema con la purificación, de esta manera con 1.5 equivalentes del cloruro de ácido, manteniendo la cantidad de

equivalente de la base y con un tiempo de 1 h se obtuvo la formación de una menor cantidad de productos secundarios facilitándose, la purificación y llevando a la obtención de rendimientos del 27 y 23%, respectivamente.

Los derivados con los grupos propanamida y butanamida (**9a**, **9b**) fueron sintetizados realizando modificaciones en cuanto a los equivalentes del cloruro de acilo, la base, así como el tiempo de reacción, esto debido a que en las condiciones originales el grupo amino sufría una desprotonación facilitando el ataque del nitrógeno al carbono del carbonilo del cloruro de acilo obteniendo como resultado subproductos de reacción (derivados diacetilados). De esta manera, con un tiempo de 1 h y con cantidades equimolares de la base se logró la obtención de los compuestos monoacetilados con rendimientos del 18 y 44%, respectivamente.

Derivados tiazólicos diacetilados.

Durante la purificación de los derivados 2-*N*-acilamino-4(4'-clorofenil)1,3-tiazol se lograron aislar e identificar análogos diacetilados de los derivados **9a** y **9b** que corresponden a subproductos de la reacción.

Los rendimientos obtenidos para todos los derivados sintetizados, los cuales fueron bajos en general, pueden ser explicados también en términos de reactividad del grupo amino, la cual está influenciada por la existencia de un equilibrio tautomérico entre el nitrógeno exocíclico y el anillo del tiazol (Figura 33). Este equilibrio compromete el par de electrones del nitrógeno y por tanto condiciona la capacidad nucleofílica del grupo amino en el tiazol.

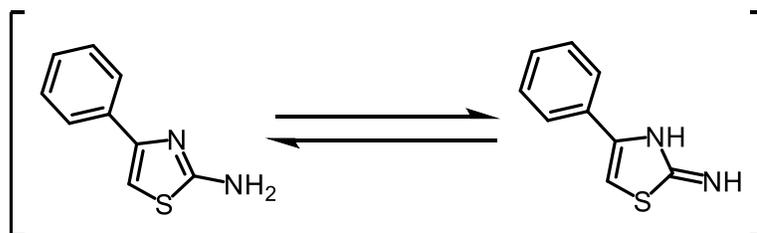


Figura 33. Equilibrio tautomérico del tiazol.

Así, el anillo fenílico se encuentra coplanar al anillo tiazólico por lo que pueden existir efectos de resonancia, inductivos y de campo de los sustituyentes presentes en posición *para* (-CH₃ y Cl), lo cual podría afectar la disponibilidad del par electrónico solitario del átomo de nitrógeno del grupo amino para llevar a cabo el ataque hacia el grupo carbonilo del cloruro de ácido.

A continuación, se presenta el plan sintético completo (Figura 34), incluyendo la formación del esqueleto tiazólico, así como la formación de grupos amida, además, en

la Tabla 3 se presentan los rendimientos obtenidos de los derivados *N*-(4-aryl-2-tiazolil)-amidas

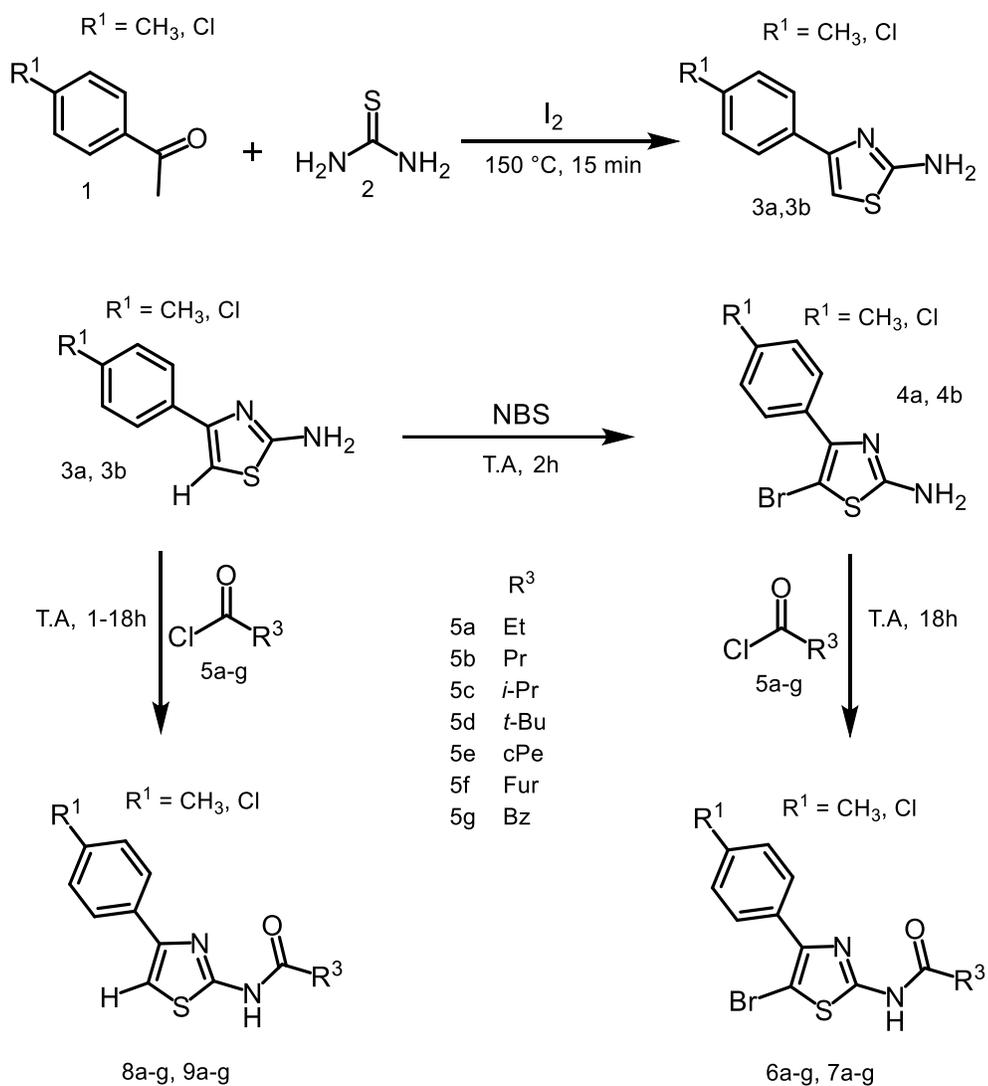
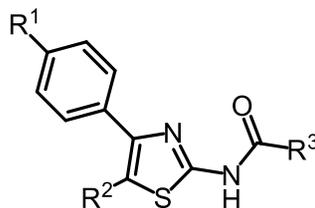


Figura 34. Plan sintético completo para la obtención de los derivados tiazólicos

Tabla 3. Rendimientos obtenidos en la síntesis de los derivados N-(4-aryl-2-tiazolil)-amidas.



Entrada	Compuesto	Sustituyente			Rendimiento (%)
		R ¹	R ²	R ³	
1	6a	Me	Br	Et	10
2	6b	Me	Br	Pr	52
3	6c	Me	Br	<i>i</i> -Pr	15
4	6d	Me	Br	<i>t</i> -Bu	24
5	6e	Me	Br	cPe	14
6	6f	Me	Br	Fur	10
7	6g	Me	Br	Bz	26
8	7a	Cl	Br	Et	12
9	7b	Cl	Br	Pr	19
10	7c	Cl	Br	<i>i</i> -Pr	22
11	7d	Cl	Br	<i>t</i> -Bu	66
12	7e	Cl	Br	cPe	24
13	7f	Cl	Br	Fur	18
14	7g	Cl	Br	Bz	24
15	8a	Me	H	Et	31
16	8b	Me	H	Pr	32
17	8c	Me	H	<i>i</i> -Pr	71
18	8d	Me	H	<i>t</i> -Bu	27
19	8e	Me	H	cPe	49
20	8f	Me	H	Fur	8
21	8g	Me	H	Bz	21
22	9a	Cl	H	Et	18
23	9b	Cl	H	Pr	44
24	9c	Cl	H	<i>i</i> -Pr	27
25	9d	Cl	H	<i>t</i> -Bu	77
26	9e	Cl	H	cPe	20
27	9f	Cl	H	Fur	16
28	9g	Cl	H	Bz	23
29	8e*	Me	H	cPe	7
30	9a*	Cl	H	Et	6
31	9b*	Cl	H	Pr	12

Actividad anti*giardiásica*

Los ensayos biológicos preliminares de todos los derivados obtenidos se realizaron bajo protocolos *in vitro*, los ensayos consistieron en la evaluación de la actividad antiprotozoaria utilizando la cepa de aislado clínico *Giardia intestinalis* IMSS:0696:1. La actividad anti*giardiásica* se realizó en el laboratorio de la Unidad de Investigación Médica Yucatán (UIMY) en el Parque Científico y Tecnológico de la Península de Yucatán perteneciente a la Unidad Médica de Alta Especialidad Mérida. Además, se llevó a cabo la evaluación de la actividad citotóxica de cada derivado sintético mediante bioensayo de actividad citotóxica frente a línea celular Vero, con la finalidad de analizar la influencia de los sustituyentes en la actividad biológica.

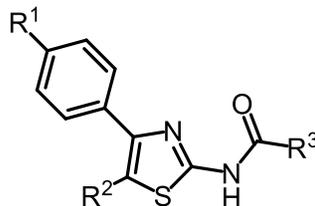
Bioensayo de actividad citotóxica frente a línea celular Vero

Citotoxicidad Celular

La citotoxicidad celular es una alteración de las funciones celulares básicas que conlleva a un daño y que puede ser detectado.⁶⁶ Los ensayos de citotoxicidad son capaces de detectarse, mediante el uso de diferentes mecanismos celulares conocidos, como los efectos adversos para la supervivencia celular y proliferación. Dentro de estos se encuentran la integridad de la membrana y del citoesqueleto, metabolismo, síntesis y degradación, liberación de constituyentes celulares o productos, regulación iónica y división celular.⁶⁶ La citotoxicidad suele evaluarse utilizando líneas celulares tales como: Células Vero, Células MCDK, entre otras.

A continuación, se presenta los resultados obtenidos de la actividad biológica frente *Giardia intestinalis* y citotoxicidad frente células Vero de los derivados de tipo *N*-(4-*aril*-2-tiazolil)-*amidas* (Tabla 4)

Tabla 4. Susceptibilidad de *G. intestinalis* (CI₅₀) y citotoxicidad frente células Vero (CI₅₀) de todos los derivados sintetizados.



Entrada	Compuesto	Sustituyente			CLogP ^a	<i>Giardia int</i> CI ₅₀ (μM)	Vero CI ₅₀ (μM)	IS ^b
		R ¹	R ²	R ³				
1	6a	Me	Br	Et	4.47	53.08	3083.42	58.09
2	6b	Me	Br	Pr	4.92	50.76	988.72	19.47
3	6c	Me	Br	<i>i</i> -Pr	4.68	35.64	844.05	23.68
4	6d	Me	Br	<i>t</i> -Bu	5.25	32.12	582.06	18.12
5	6e	Me	Br	cPe	5.01	19.72	1060.65	53.78
6	6f	Me	Br	Fur	4.64	25.41	402.52	15.84
7	6g	Me	Br	Bz	5.46	19.97	19.24	0.96
8	7a	Cl	Br	Et	4.28	32.50	3910.56	120.32
9	7b	Cl	Br	Pr	5.18	33.53	7660.28	228.52
10	7c	Cl	Br	<i>i</i> -Pr	4.95	31.59	2380.50	75.35
11	7d	Cl	Br	<i>t</i> -Bu	5.51	NA ^c	176.76	-----
12	7e	Cl	Br	cPe	5.27	NA ^c	1081.33	-----
13	7f	Cl	Br	Fur	4.91	NA ^c	419.19	-----
14	7g	Cl	Br	Bz	5.72	28.01	645.50	23.04
15	8a	Me	H	Et	3.54	NA ^c	1364.19	-----
16	8b	Me	H	Pr	4.00	NA ^c	9034.98	-----
17	8c	Me	H	<i>i</i> -Pr	3.75	43.94	89.65	2.04
18	8d	Me	H	<i>t</i> -Bu	4.32	37.83	5.54	0.14
19	8e	Me	H	cPe	4.08	42.01	833.24	19.83
20	8f	Me	H	Fur	3.71	NA ^c	41.68	-----
21	8g	Me	H	Bz	4.53	37.09	2552.70	68.82
22	9a	Cl	H	Et	3.80	63.03	852.53	13.52
23	9b	Cl	H	Pr	4.25	38.89	3483.63	89.57
24	9c	Cl	H	<i>i</i> -Pr	4.01	NA ^c	214.43	-----
25	9d	Cl	H	<i>t</i> -Bu	4.60	19.26	37.67	1.95
26	9e	Cl	H	cPe	4.35	31.57	615.89	19.50
27	9f	Cl	H	Fur	3.97	20.59	397.02	19.28
28	9g	Cl	H	Bz	4.78	35.06	3665.25	104.54
29	8e*	Me	H	Cpe	5.40	28.70	33.64	1.17
30	9a*	Cl	H	Et	4.56	34.15	280.39	8.21
31	9b*	Cl	H	Pr	5.47	32.24	58.35	1.80

Control positivo (MTZ): 1.4 μM. ^a Log P calculado, ^b Índice de Selectividad, ^c No activo

Relación Estructura-Actividad (SAR) de los diferentes derivados tiazólicos

Relación Estructura-Actividad (SAR)

El estudio de las relaciones estructura-actividad de los derivados tiazólicos sintetizados en este trabajo, se realizó analizando el efecto producido por el sustituyente presente en la posición dos del anillo tiazólico. Por su parte, el grupo amino provoca que una molécula presente alta hidrofiliidad debido a que forma sales en medio biológico y, por lo tanto, involucra uniones tanto del tipo puente de hidrógeno como del tipo iónico. La incorporación de aminas aromáticas, generalmente se evita ya que son bastante tóxicas, así como también carcinogénicas.^{48, 67}

El grupo amida, por otro lado, interacciona con proteínas a través de puentes de hidrógeno, su presencia puede incrementar la actividad biológica del análogo. Es posible que el grupo amida de los derivados sintetizados interactúe en el sitio de unión a través de enlaces de hidrógeno, además si el sustituyente del grupo amida interactúa con una bolsa hidrofóbica en el sitio de unión, entonces la variación de la longitud y el volumen del sustituyente (metilo, etilo, propilo, isopropilo, isobutilo o *t*-butilo) permite investigar la profundidad y ancho de la bolsa hidrofóbica aumentando la interacción de unión y un posible aumento en la actividad biológica. Los grupos alquilo voluminosos pueden conferir también selectividad al compuesto, en el caso de un compuesto que interactúe con dos receptores diferentes, un sustituyente voluminoso puede evitar la unión a uno de ellos y así reducir los efectos secundarios.^{48, 67}

La introducción de anillos puede tener diversos efectos, por ejemplo, anillos heterocíclicos aromáticos incrementan el tamaño en la zona donde interaccionan, lo cual puede o no ser beneficioso, también implica un sistema π de electrones del anillo aromático que puede generar interacciones beneficiosas o perjudiciales. Se prefieren pequeños sistemas aromáticos como el benceno o heterociclos de cinco miembros, los cuales introducen nuevos grupos funcionales que pueden afectar la potencia y actividad del derivado.⁴⁸

Los grupos metilo, cloro y bromo presentes en los diferentes derivados, pueden incrementar la lipofiliidad y facilitar la absorción hacia el interior de la membrana celular, pero pueden dificultar su liberación hacia un medio acuoso. Además, los grupos metilo, dependiendo de su posición dentro de la molécula, pueden generar restricciones de tipo estérico con el centro reactivo de la misma disminuyendo o impidiendo que exhiban su actividad biológica.⁴⁸

Por otra parte, la inserción de halógenos en compuestos bioactivos se realiza predominantemente para explorar sus efectos lipofílicos. Los halógenos son átomos electronegativos que generan o aumentan polarizabilidad a la molécula lo cual facilita su absorción a través de las membranas por difusión pasiva.⁶⁸

En cuanto a su actividad anti*giardiásica* del Grupo 1 (Entradas 1-7), se observó de manera general que el aumento del número de átomos de carbono, así como el volumen del grupo amida incrementa la actividad biológica de los mismos (Entrada 1-5 y 7). Sin embargo, se observó que no existe una relación entre la lipofilia y actividad de los derivados de este grupo, esto es debido a que si analizamos las Entradas 2 y 3 el aumento de la lipofilia (Entrada 2, CLogP= 4.92) produce una disminución de la actividad (CI₅₀= 50.76 frente a 35.64 μM), lo mismo sucede para las Entradas 4 y 5 (CI₅₀= 32.12 frente a 19.72 μM).

Para los derivado **6f** y **6g** (Entrada 6 y 7), los cuales corresponden a amidas aromáticas, la actividad antiprotozoaria puede deberse, en parte, a la citotóxicidad de los mismos, además de que presentan los índices de selectividad más bajos del Grupo 1.

Adicionalmente, en las pruebas de citotoxicidad; los compuestos **6a** y **6e** (Entradas 1 y 5) mostraron índices de selectividad (IS) de 58.09 y 53.78 respectivamente, siendo valores mucho mayores a lo establecido en la literatura para un compuesto antiparasitario (IS ≥ 10).⁶⁹

Para el Grupo 2 (Entradas 8-14), se observa la pérdida de la actividad, de los cuales los grupos voluminosos como pivaloíl, ciclopentíl y así como de la presencia de amidas aromáticas (Furoíl) inactivan a la molécula al no presentar actividad biológica frente a *Giardia intestinalis* (Entradas 11-13). Por otra parte, no existe una relación entre la estructura, su lipofilia y la actividad anti*giardiásica* debido a que los resultados obtenidos de la actividad biológica son similares para las Entradas 8-10 y 14.

Comparando los resultados obtenidos de ambos grupos, las mejores actividades corresponden a los derivados **6d** y **6e** los cuales poseen los mejores índices de inhibición contra *Giardia intestinalis* de 32.12 y 19.72 μM respectivamente.

Para el conjunto de análogos del Grupo 3 (Entradas 15-21), los derivados con los grupos, propilo, butilo, así como la presencia de amidas aromáticas (furoíl) no exhibieron actividad frente a *Giardia intestinalis* (Entradas 15, 16 y 20 respectivamente). Para las Entradas 17-19 y 21, el aumento del número de átomos de carbono, el volumen del sustituyente, así como del valor calculado de CLogP no mejoran la actividad anti*giardiásica* ya que las actividades para estos son similares, de tal forma que para este grupo no existe una relación entre la estructura, lipofilia y la actividad anti*giardiásica*.

Para el caso del Grupo 4 (Entradas 22-28), con el aumento del número de átomo de carbono (Entrada 22 y 23), así como el volumen del sustituyente (Entrada 25, 26 y 28) se observa un aumento de la actividad anti*giardiásica*, siendo el derivado con el sustituyente pivaloilo (Entrada 25) el que presentó la mejor inhibición del set de compuestos ($CI_{50} = 19.26$), sin embargo, posee un índice de selectividad de 1.95, el cual está muy por debajo a lo establecido para un compuesto antiparasitario ($IS \geq 10$).⁶⁹ Por otra parte, analizando los valores de CLogP, para las Entradas 23 y 25 se observa el aumento de la lipofilia-actividad, sin embargo, comparando estos resultados con la Entrada 28 se observa la pérdida de la actividad, es por ello y con base en los resultados que no existe una relación entre la lipofilia y la actividad anti*giardiásica*.

Por otra parte, al comparar los compuestos de los Grupos 3 y 4 con sus similares 1 y 2, se pudo notar que la introducción del bromo en posición cinco del anillo tiazólico tiene un efecto positivo en la actividad anti*giardiásica*. Tal es el caso del derivado **8d**, el cual exhibió un CI_{50} de 37.83 μM y su análogo bromado una CI_{50} de 32.12 μM . Lo mismo ocurre para derivado **8e** el cual exhibió un CI_{50} de 42.01 μM y su análogo bromado una CI_{50} de 19.72 μM (**6e**), lo cual hace notable el efecto del átomo de bromo en posición cinco. Para el caso de la citotoxicidad, se observó el efecto contrario para estos derivados, ya que el derivado halogenado resultó menos citotóxico.

Para el caso de los derivados diacilados (Entradas 29-31), se observa un ligero aumento en la relación lipofilia-actividad anti*giardiásica* comparado con sus análogos monoacilados, sin embargo, al tratarse de amidas terciarias, las cuales poseen enlaces sencillos que pueden girar podrían conducir a la pérdida de la actividad. Además, carecen del átomo de hidrógeno y no pueden interactuar con proteínas a través de puentes de hidrógeno. Por otra parte, poseen índices de selectividad por debajo a los reportados en literatura

Cálculo de las propiedades fisicoquímicas moleculares

A continuación, se presenta el cálculo de las propiedades fisicoquímicas moleculares de los derivados que presentaron las mejores actividades obtenidas en este estudio, los cuales corresponden a los derivados de tipo *N*-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-acilamidas (**6d** y **6e**) con índices de inhibición contra *Giardia intestinalis* de 32.12 y 19.72 μM respectivamente.

Las propiedades moleculares de partición (CLogP), superficie polar (PSA, Polar Surface Area) y potencial tipo fármaco (druglikeness), fueron calculadas con el software DataWarrior y los resultados se presentan a continuación (Tabla 5).^{70,71}

Tabla 5. Propiedades fisicoquímicas de los derivados *N*-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-acilamidas (**6d** y **6e**).

Entrada	Compuesto	PM	CLogP ^a	NA ^b	N _D ^c	PSA ^d	dl ^e	Ro5 ^f
1	6d	353.28	5.25	3	1	70.23	-5.19	X
2	6e	365.29	5.01	3	1	70.23	-2.63	X

^a Log P calculado.

^b Suma de grupos N y O-H aceptores de enlaces de hidrógeno.

^c Suma de grupos N y O-H donadores de enlaces de hidrógeno.

^d Superficie polar.

^e Potencial tipo fármaco (*druglikeness*).

^f Regla de los cinco (Lipinski).

Debido a que propiedades fisicoquímicas como la solubilidad y la difusión se encuentran relacionadas con la farmacocinética de moléculas biológicamente activas, se han establecido tendencias como la denominada regla de los cinco (Ro5) planteada por Lipinski. Esta regla se debe a que los parámetros de evaluación se enmarcan en múltiplos de 5 y la molécula no puede violar más de una de las siguientes reglas; peso molecular ≤ 500 , $\log P \leq 5$, grupos donadores de enlaces de hidrógeno ≤ 5 , grupos aceptores de enlaces de hidrógeno ≤ 10 . Para el caso de los derivados **6d** y **6e** cumplen con tres de estos cuatro parámetros, ambos derivados poseen un CLogP mayor a 5 por lo tanto, es posible que cuenten con una adecuada biodisponibilidad.

Aunque el análisis realizado por Lipinski a principios de los años 90, deriva de las propiedades de un conjunto de moléculas en fase clínica II, es utilizado como marco general para la identificación de compuestos dentro de un espacio químico con potencial de fármaco (*druglike*).

El parámetro que mide el potencial como fármaco (*druglike*), se define a través de las contribuciones de diferentes propiedades moleculares y características estructurales y determina el grado de semejanza de una estructura química en particular con fármacos conocidos. El valor calculado, se basa en una lista de fragmentos y subestructuras obtenidas de 3300 fármacos registrados y 15000 sustancias químicas disponibles (Fluka).⁵⁴ Para los 5-bromotiazolidas (**6d** y **6e**) se observan valores negativos. Un valor positivo de este parámetro expresa que el derivado tiazólico cuenta con fragmentos frecuentemente presentes en fármacos comerciales.^{70,71}

Otro criterio fisicoquímico importante es la superficie polar (PSA), el cual se encuentra calculado con base en la suma de las contribuciones superficiales tabuladas de diferentes fragmentos polares. Este parámetro se puede correlacionar con la biodisponibilidad a través de un mecanismo de transporte pasivo. El procedimiento original para este parámetro, se realiza a través de las conformaciones representativas en tres dimensiones de la estructura química; sin embargo, se ha demostrado una

buena correlación del método denominado superficie polar topológica (TPSA). Para el caso de los derivados **6d** y **6e**, se encuentran dentro de los límites deseados de TPSA que va de 50 a 100 Å²; lo que sugiere cierto potencial para una adecuada absorción intestinal y permeabilidad a través de membranas celulares.^{72,73}

En la actualidad la regla de los 5 es utilizado como un filtro que selecciona las moléculas con más potencial terapéutico (activas, alta biodisponibilidad, etc.) y elimina de manera confiable las que se infiere que tendrán poco valor terapéutico por tener baja permeabilidad, inactividad o alta toxicidad. No obstante, en 2001 Lipinski y col.⁷⁴ reconocen que el modelo propuesto para predecir la biodisponibilidad oral de una nueva molécula presenta un poder de predicción del 70%. Por tanto, los autores de esta y otras reglas de predicción farmacocinéticas *in silico* similares indican que utilizar un rigor excesivo en el análisis puede ser contraproducente en la búsqueda y el desarrollo de nuevas moléculas terapéuticas.⁷⁴

CONCLUSIONES

Se logró mediante reacciones asistidas por método convencionales la obtención en fase sólida de los derivados 2-amino-4-ariltiazólicos *p*-fenil sustituidos.

Con respecto a la síntesis de los derivados tiazólicos, es posible obtener de manera sencilla, los derivados 2-amino-5-bromo-4-ariltiazólicos sin necesidad de proteger el grupo amino.

La acilación de los derivados tiazólicos se realizó con un exceso de cloruro de ácido, sin embargo, se requiere de estudios y ensayos que permitan encontrar un método de síntesis adecuado para la obtención de mejores rendimientos.

En el estudio de las relaciones estructura-actividad (SAR) de los derivados sintetizados, se analizó el efecto producido por el sustituyente presente en la posición 2 del anillo tiazólico sobre la actividad antiangiogénica, encontrándose que no existe una relación entre la estructura, lipofilia y la actividad antiangiogénica de los derivados de tipo *N*-(4-aril-2-tiazolil)-amidas.

REFERENCIAS

1. Nwaka, S.; Ridley, R. G. Virtual drug discovery and development for neglected diseases through public-private partnerships. *Nat Rev Drug Discov.* **2003**, *2*, 919-928.
2. Cedillo-Rivera, R.; *et al.* Seroepidemiology of giardiasis in Mexico. *Am J Trop Med Hyg.* **2009**, *80*, 6-10.
3. Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica, Boletín Epidemiológico, Semana 52, 2018, Vol. 35, p 20.
4. Escobedo, A. A.; *et al.* Combination therapy in the management of giardiasis: What laboratory and clinical studies tell us, so far. *Acta Tropica.* **2016**, *162*, 196-205.
5. Upcroft, A. J.; Dunn, A. L.; Wright, M. J.; Benakli, K.; Upcroft, P.; Vanelle, P. 5-Nitroimidazole Drugs Effective against Metronidazole-Resistant *Trichomonas vaginalis* and *Giardia duodenalis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* **2006**, *50*, 344-347.
6. Annadurai, S.; *et al.* Design and synthesis of 2-aminothiazole based antimicrobials targeting MRSA. *Bioorg Med Chem Lett.* **2012**, *22*, 7719-7725.
7. Berg, M.; *et al.* Design and evaluation of Trypanosoma brucei metacaspase inhibitors. *Bioorg Med Chem Lett.* **2010**, *20*, 2001-2006.
8. Walker, R. G.; *et al.* High through put screens yield small molecule inhibitors of Leishmania CRK3:CYC6 cyclin-dependent kinase. *PLoS Negl Trop Dis.* **2011**, *5*, e1033.
9. Karade, H. N.; *et al.* Design, synthesis, and antimalarial evaluation of thiazole derived amino acids. *Med Chem Res.* **2008**, *17*, 19-29.
10. Hencken, C. P.; *et al.* Thiazole, oxadiazole, and carboxamide derivatives of artemisinin are highly selective and potent inhibitors of Toxoplasma gondii. *J Med Chem.* **2010**, *53*, 3594-3601.
11. Stadelmann, B.; *et al.* Application of an in vitro drug screening assay based on the release of phosphoglucose isomerase to determine the structure-activity relationship of thiazolides against Echinococcus multilocularis metacestodes. *J Antimicrob Chemother.* **2010**, *65*, 512-519.
12. Navarrete, V. G.; *et al.* Synthesis of nitro(benzo)thiazole acetamides and in vitro antiprotozoal effect against amitochondriate parasites *Giardia intestinalis* and *Trichomonas vaginalis*. *Bioorg. Med. Chem.* **2015**, *23*, 2204-2210.
13. Koehler, V. A.; Jex, R. A.; Haydon, R. S.; Stevens, A. M; Gasser, B. R. *Giardia*/giardiasis - A perspective on diagnostic and analytical tools. *Biotechnology Advances.* **2014**, *32*, 280-289.
14. Einarsson, E.; Ma'ayeh, S.; Svard, G. S. An up-date on *Giardia* and giardiasis. *Curr. Opin. Microbiol.* **2016**, *34*, 47-52.
15. Soares, R.; Tasca, T. Giardiasis: an update review on sensitivity and specificity of methods for laboratorial diagnosis. *J. Microbiol. Methods.* **2016**, *129*, 98-102.

16. Fletcher, M. S.; Stark, D.; Harkness, J.; Ellis, J. Enteric Protozoa in the Developed World: a Public Health Perspective. *Clin. Microbiol. Rev.* **2012**, *25*, 420-449.
17. Upcroft, P.; Upcroft, A. J. Drug Targets and Mechanisms of Resistance in the Anaerobic Protozoa. *Clin. Microbiol. Rev.* **2001**, *14*, 150-164.
18. Mastronicola, D.; Falabella, M.; Forte, E.; Testa, F.; Sarti, P.; Giuffrè, A. Antioxidant defence systems in the protozoan pathogen *Giardia intestinalis*. *Mol. Biochem. Parasitol.* **2016**, *206*, 56-66.
19. Ankarklev, J.; Hultqvist, J. J.; Ringqvist, E.; Troell, K.; Svärd, G. S. Behind the smile: cell biology and disease mechanisms of *Giardia* species. *Nature Reviews.* **2010**, *8*, 413-422.
20. Escobedo, A. A.; Almirall, P.; Robertson, J. L.; Franco, M. B. R.; Hanevik, K.; Mørch, K.; Cimerman, S. Giardiasis: The Ever-Present Threat of a Neglected Disease. *Infect. Disord. Drug. Targets.* **2010**, *10*, 329-348.
21. Hamdan, I.; Al, M. Genotypes of *Giardia intestinalis* clinical isolates of gastrointestinal symptomatic and asymptomatic Saudi children. *Parasitol Res.* **2011**, *108*, 1375-1381.
22. Bahadur, V.; Mastronicola, D.; Kumar, T. H.; Kumar, Y.; Falabella, M.; Pucillo, P. L.; Sarti, P.; Giuffrè, A.; Kumar, S. B. O₂-Dependent Efficacy of Novel Piperidine- and Piperazine-Based Chalcones against the Human Parasite *Giardia intestinalis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* **2014**, *58*, 543-549.
23. Anuarios de morbilidad. Dirección general de epidemiología. Secretaría de salud. <http://www.dgepi.salud.gob.mx/anuario> (consultado octubre 2017).
24. Casanova Martínez, M. E.; Determinación de la actividad anti-giardiasica de 18 extractos de dos especies de plantas de la familia de las Celastráceas: *Crossopetalum rhacoma* y *Crossopetalum gaumeri*. Tesis licenciatura. Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, Yucatán, México, 2005.
25. Tay Zavala, J. Parasitología Médica. 7ª Ed.; Méndez Editores: México, 2002.
26. Escobedo, A. A.; Cimerman, S. Giardiasis: a pharmacotherapy review. *Expert Opin Pharmacother.* **2007**, *8*, 1885-1902.
27. Matadamas-Martínez, F.; et al. Proteomic and ultrastructural analysis of the effect of a new nitazoxanide-N-methyl-1H-benzimidazole hybrid against *Giardia intestinalis*. *Res Vet Sci.* **2016**, 171-179.
28. Pasupuleti, V.; et al. Efficacy of 5-nitroimidazoles for the treatment of giardiasis: a systematic review of randomized controlled trials. *PLoS Negl Trop Dis.* **2014**, *8*, e2733.
29. Mocelo, C. R.; Villanueva, N.C.; Cáceres, C. D.; Carballo, M. R.; Quijano, Q. R. F.; Quesadas, R. M.; Cantillo, C. Z.; Cedillo, R. R.; Moo, P. R. E.; Moujir, M. L.; Mena, R. G. J. 2-Amino-4-arylthiazole Derivatives as Anti-giardial Agents: Synthesis, Biological Evaluation and QSAR Studies. *Open Chem.* **2015**, *13*, 1127-1136.

30. Harris, C. J.; Plummer, S.; Lloyd, D. Antigiardial drugs. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **2001**, *57*, 614-619.
31. Astelbauer, F.; Walochnik, J. Antiprotozoal compounds: state of the art and new developments. *Int. J. Antimicrob. Agents.* **2011**, *38*, 118-124.
32. Upcroft, J.; Mitchell, R.; Chen, N. Upcroft, P. Albendazole Resistance in *Giardia* Is Correlated with Cytoskeletal Changes but Not with a Mutation at Amino Acid 200 in β -Tubulin. *Microb. Drug Resist.* **1996**, *2*, 303-308.
33. Rossignol, J. F. Cryptosporidium and *Giardia*: treatment options and prospects for new drugs. *Exp Parasitol.* **2010**, *124*, 45-53.
34. François, R. J. Thiazolidines: a new class of antiviral drugs. *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.* **2009**, *5*, 667-674.
35. Ayati, A.; Emami, S.; Asadipour, A.; Shafiee, A.; Foroumadi, A. Recent applications of 1,3-thiazole core structure in the identification of new lead compounds and drug discovery. *European Journal of Medicinal Chemistry.* **2015**, *97*, 699-718.
36. Müller, J.; Rühle, G.; Müller, N.; Francois, R. J.; Hemphill, A. In Vitro Effects of Thiazolidines on *Giardia lamblia* WB Clone C6 Cultured Axenically and in Coculture with Caco2 Cells. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* **2006**, *50*, 162-170.
37. Valladares, M. A.; Hernández, N. E.; Cedillo, R. R.; Moo, P. R.; Barbosa, C. E.; Orozco, C. L.; Rivera, L. J.; Navarrete, V. G. Synthesis, in vitro and in vivo giardicidal activity, and pharmacokinetic profile of a new nitazoxanide analog. *Med Chem Res*, **2014**, *23*, 3157-3164.
38. Colín, L. B. et al. Synthesis, in vitro and in vivo giardicidal activity of nitrothiazole-NSAID chimeras displaying broad antiprotozoal spectrum. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2017**, *27*, 3490-3494.
39. Carballo, M. R.; Patrón, V. J.; Castillo, C. D.; Quiñones, Q. R.; Herrera, E. A.; Moo, P. R. E.; Chalé, D. J.; Mena, R. G. J. Synthesis and in vitro antiprotozoal activity of some 2- amino-4-phenyloxazole derivatives. *Trop. J. Pharm. Res.* **2017**, *16*, 1951- 1956.
40. Morales, B. P.; Pérez, C. A.; Quintero, M. E.; Arias, T. J.; Mena, R. G. Preparation, Antimicrobial Activity, and Toxicity of 2-Amino-4-arylthiazole Derivatives. *Heteroatom Chem.* **2006**, *17*, 254-260.
41. Cáceres, C. D; Carballo, M. R.; Tzec, I. J.; Mena, R. G. Solvent-free synthesis of 2-amino-4-arylthiazoles under microwave irradiation. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 3934-3936.
42. Lidström, P.; Tierney, J.; Westman, J. Microwave assisted organic synthesis. *Tetrahedron.* **2001**, *57*, 9225-9283.
43. Kappe, C. O.; Sandler, A.; Dalliger, D. Microwave in Organic and Medicinal Chemistry; Mannhold, R., Kubinyi H., Folkers, G., Eds.; Wiley-VCH 52; Weinheim, Alemania, 2012, pp. 1-4.

44. Kappe, O.; Dallinger, D.; The impact of microwave synthesis on drug discovery. *Nature Reviews*, **2006**, 5, 51-63.
45. De la Hoz, A.; Diaz, A.; Moreno, A.; Langa, F. Cycloadditions under Microwave Irradiation Conditions: Methods and Applications. *Eur. J. Org. Chem.* **2000**, 22, 3659-3673.
46. Kabalka, G. W.; Mereddy, A. R. Microwave promoted synthesis of functionalized 2-aminothiazoles. *Tetrahedron Lett.* 2006, 47, 5171-5172.
47. Jain, K.; Bariwal, J. B. An Efficient and Rapid Synthesis of 2-Amino-4-Arylthiazoles Employing Microwave Irradiation in Water. *Green Sustainable Chem.* **2011**, 1, 36-40.
48. Graham, L. P. An Introduction to Medicinal Chemistry. 2a. ed.; Oxford University Press. 2001.
49. Thomas, G. Medicinal Chemistry. An Introduction. John Wiley and Sons, Ltd. 2002 (sin edición).
50. Malik, J. K.; Soni, H. QSAR - Application in Drug Design. *Int. J. Pharm. Res. Allied Sci.* **2013**, 2, 1-13.
51. Arnott, J. A.; Planey, S. L. The influence of lipophilicity in drug discovery and design, *Expert Opin. Drug Discov.* **2012**, 7, 1-8.
52. Lam, K.; Timmerman, H. Lead-and drug-like compounds: the rule of five revolution. *Drug Discovery Today: Technologies.* **2004**, 1, 337-341.
53. Warind, M.; Lipophilicity in drug Discovery. *Expert Opin. Drug Discov.* **2010**, 5, 235-248
54. Kattan, A.; Varma, M. Oral Absorption, Intestinal Metabolism and Human Oral Bioavailability. En Topics on Drug Metabolism, Paxton, J., Ed.; InTech: Rijeka, Croacia, 2012; pp 1-34.
55. Bondock, S.; Naser, T.; Ammar, A. Y. Synthesis of some new 2-(3-pyridyl)-4,5-disubstituted thiazoles as potent antimicrobial agents. *Eur J Med Chem.* **2013**, 62, 270-279.
56. Mohammad, H.; Mayhoub, S. A.; Ghafoor, A.; Soofi, M., Alajlouni, A. R.; Cushman, M.; Seleem, N. Discovery and Characterization of Potent Thiazoles versus Methicillin- and Vancomycin-Resistant Staphylococcus aureus. *J. Med. Chem.* **2013**, 57, 1609-1615.
57. Nava, Z. C.; Chávez, S. F.; Moo, P. R.; Chan, B. M. J.; Ortega, M. B.O.; Moreno, D. H.; Coutiño, D. D.; Hernandez, N. E.; Navarrete, V. G. 2-Acylamino-5-nitro-1,3-thiazoles: Preparation and in vitro bioevaluation against four neglected protozoan parasites. *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, 22, 1626-1633.
58. Biernasiuk, A.; Kawczyńska, M.; Berecka-Rycerz, A. et al. Synthesis, antimicrobial activity, and determination of the lipophilicity of ((cyclohex-3-enylmethylene)hydrazinyl)thiazole derivatives. *Med Chem Res.* **2019**, 28, 2023-2036.

59. Caamal-Fuentes, E. E.; et al. Anti-giardia activity and acute toxicity of a methanol extract of *Senna racemosa* bark. *J Ethnopharmacol.* **2016**, 193, 604-606
60. Villanueva Novelo, C. R. Síntesis, caracterización espectroscópica y evaluación de la actividad anti-giardiasica de derivados 2-amino-4-aril1,3-tiazólicos. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Yucatán, Mérida, México, 2007.
61. Dodson, M. R.; King, L. C.; The reaction of Acetophenone with Thiourea and Oxidizing Agents. *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, 68, 871.
62. Suárez Navarro, M.; Otazo Sánchez, E.; Piña, Ma. Del C. Introducción a la Química de los Heterociclos. Facultad de Química de la Universidad de La Habana, Cuba. 1988.
63. Esteban S., S.; Cornago R., P.; Barthelemy G., C. Química Orgánica Heterocíclica 1ª. Edición, Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED). Madrid, España, 1992.
64. Wade, L. G. Química orgánica, 5a ed.; Pearson: Madrid, 2009; pp 127-129.
65. Anslyn, V. E. Dougherty A. D. Modern physical organic chemistry. Ed.; University Science Books: 2006; pp. 671-674.
66. Arrebola, D. F.; Fernández, L. A.; Sánchez, D. L. Principales ensayos para determinar la citotoxicidad de una sustancia, algunas consideraciones y su utilidad. *Rev. Toxicol.* **2003**, 40–52.
67. Menéndez, J. C., Avendaño, C. La modificación molecular como método de búsqueda de nuevos fármacos. En Introducción a la Química Farmacéutica. Editorial McGraw-Hill-Interamericana España, 1997; pp 47-71.
68. Thomas, G. Medicinal Chemistry. An Introduction. John Wiley and Sons, Ltd. 2002 (sin edición).
69. Pink, A. R.; et al. Opportunities and challenges in antiparasitic drug discovery. *Nat Rev Drug Discov.* **2005**, 4, 727-740.
70. Sander, T.; Freyss, J.; Tosco, P.; Bergmann, D.; von Korff, M.; Rufener, C.; Hanson, R.; Kulla, C. Datawarrior, versión 4.6.0; Actelion Pharmaceuticals Ltd: Suiza, 2017.
71. Sander, T.; Freyss, J.; von Korff, M.; Rufener, C. DataWarrior: An opensource program for chemistry aware data visualization and analysis. *J. Chem. Inf. Model.* **2015**, 55, 460-473
72. Openmolecules.org.<http://www.openmolecules.org/propertyexplorer/clogp.html> (consultado en julio de 2019).
73. Ertl, P.; Rohde, B.; Selzer, P. Fast Calculation of Molecular Polar Surface Area as a Sum of Fragment-Based Contributions and Its Application to the Prediction of Drug Transport Properties. *J. Med. Chem.* **2000**, 43, 3714-3717.
74. Lipinski, C. A., Lombardo, F., Dominy, B. W., & Feeney, P. J. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings. *Adv Drug Deliv Rev.* **2001**, 46, 3-26.

ANEXOS

Espectros de Resonancia Magnética Nuclear de los derivados tiazólicos sintetizados.

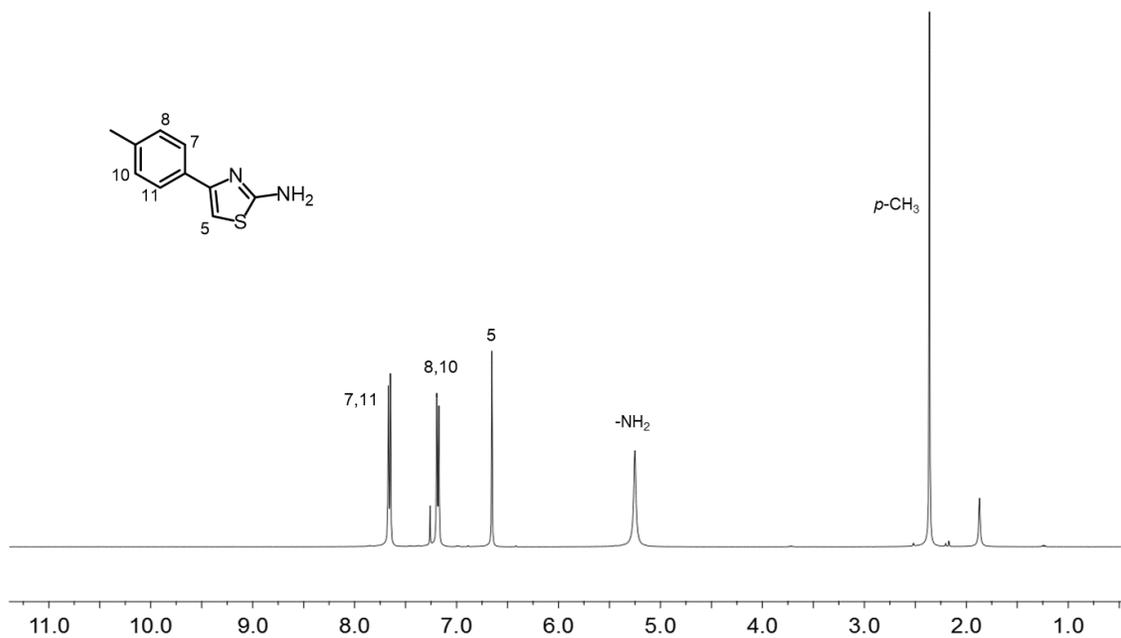


Figura 36. Espectro de RMN-¹H de 2-amino-4(4'-metilfenil)1,3-tiazol (**3a**) en CDCl₃ a 400 MHz.

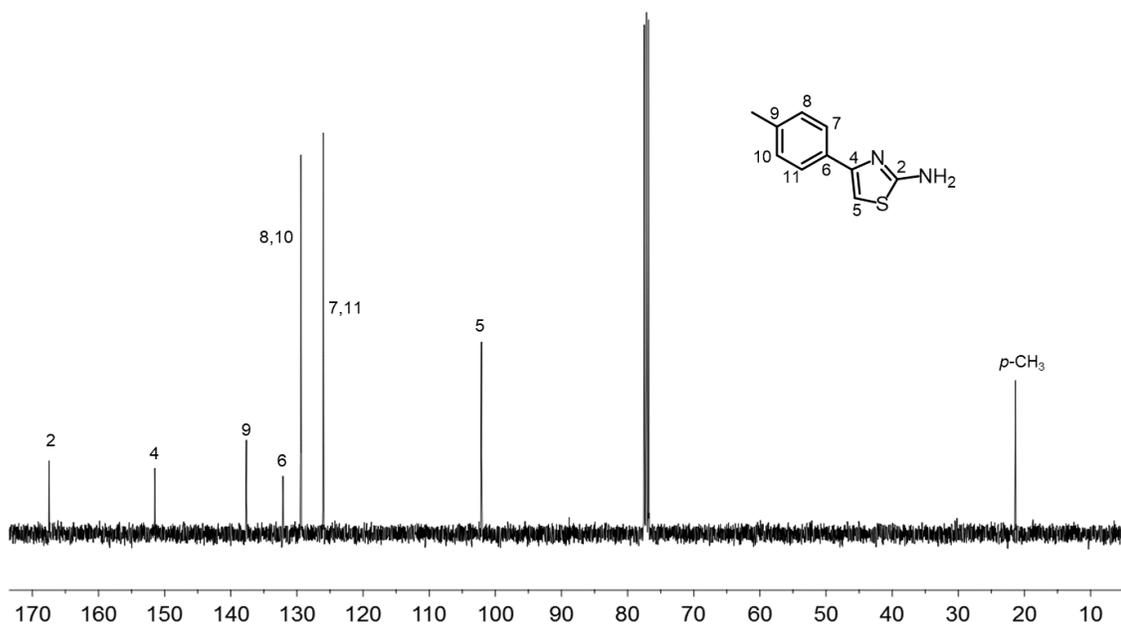


Figura 37. Espectro de RMN-¹³C de 2-amino-4(4'-metilfenil)1,3-tiazol (**3a**) en CDCl₃ a 100 MHz.

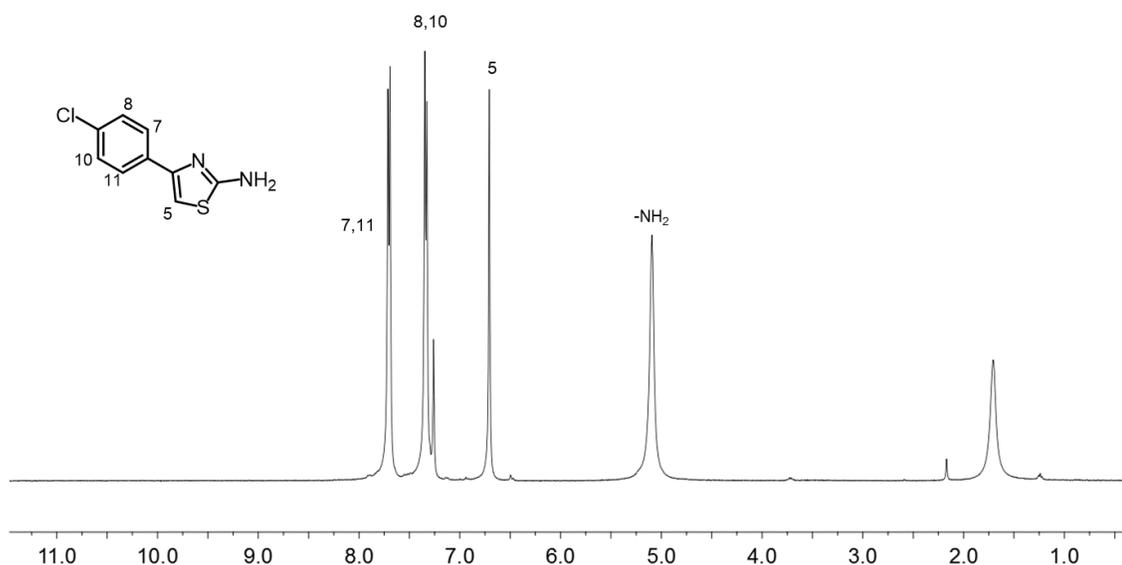


Figura 38. Espectro de RMN-¹H de 2-amino-4(4'-clorofenil)1,3-tiazol (**3b**) en CDCl₃ a 400 MHz.

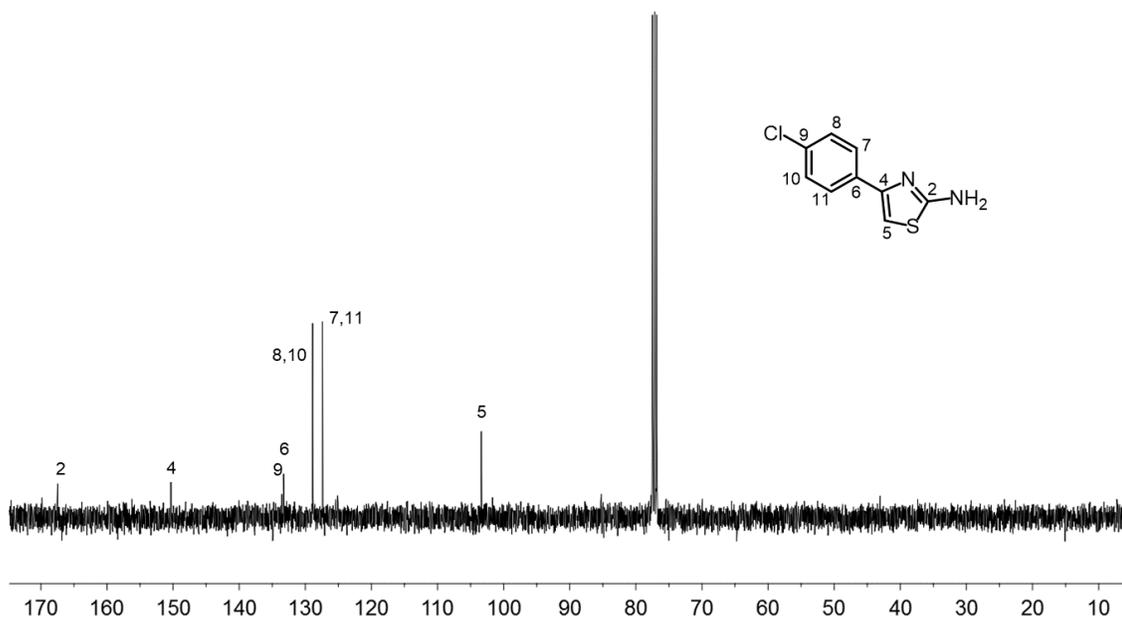


Figura 39. Espectro de RMN-¹³C de 2-amino-4(4'-clorofenil)1,3-tiazol (**3b**) en CDCl₃ a 100 MHz.

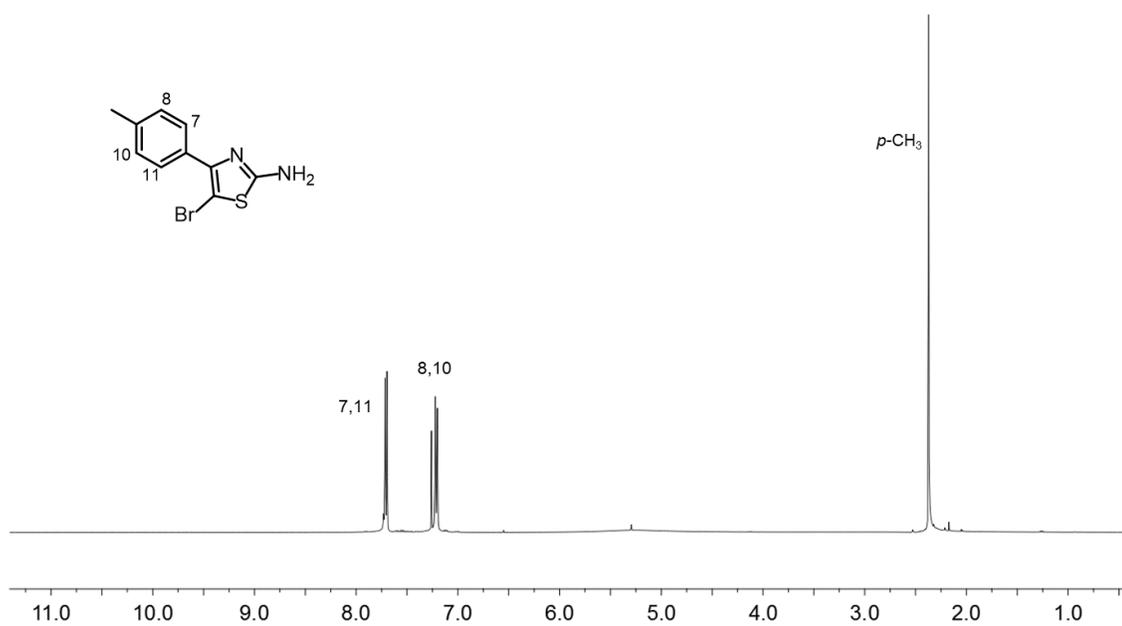


Figura 40. Espectro de RMN-¹H de 2-amino-5-bromo-4(4'-metilfenil)1,3-tiazol (**4a**) en CDCl₃ a 400 MHz.

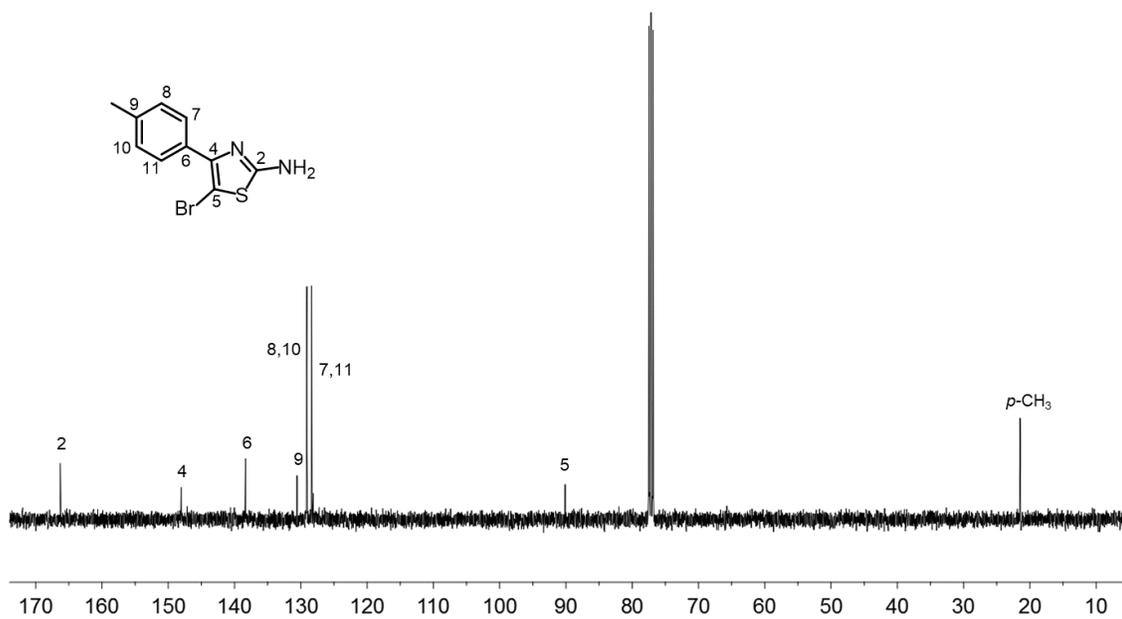


Figura 41. Espectro de RMN-¹³C de 2-amino-5-bromo-4(4'-metilfenil)1,3-tiazol (**4a**) en CDCl₃ a 100 MHz.

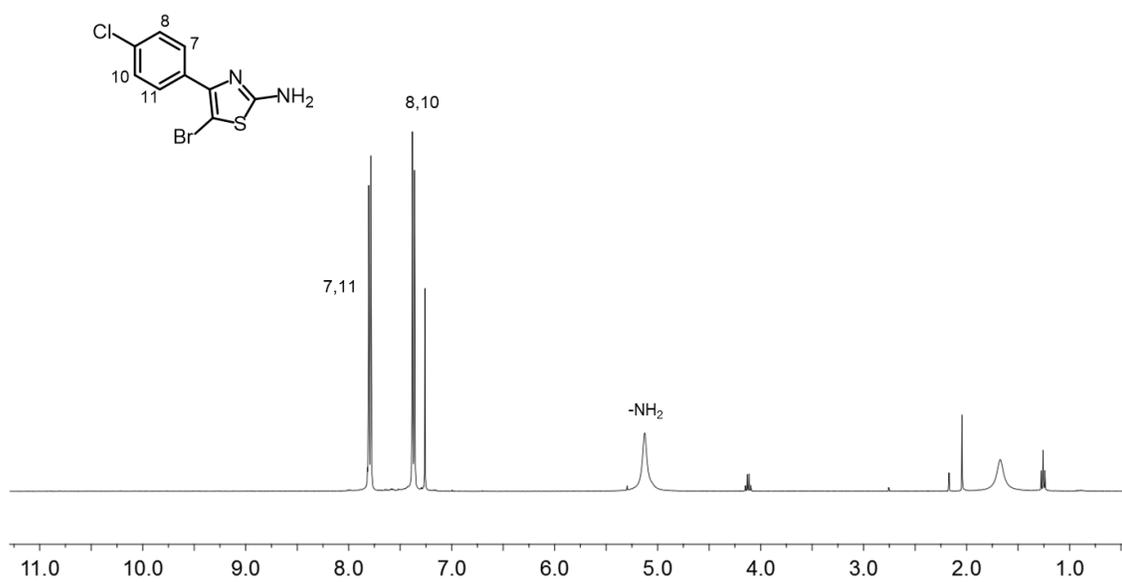


Figura 42. Espectro de RMN-¹H de 2-amino-5-bromo-4(4'-clorofenil)1,3-tiazol (**4b**) en CDCl₃ a 400 MHz.

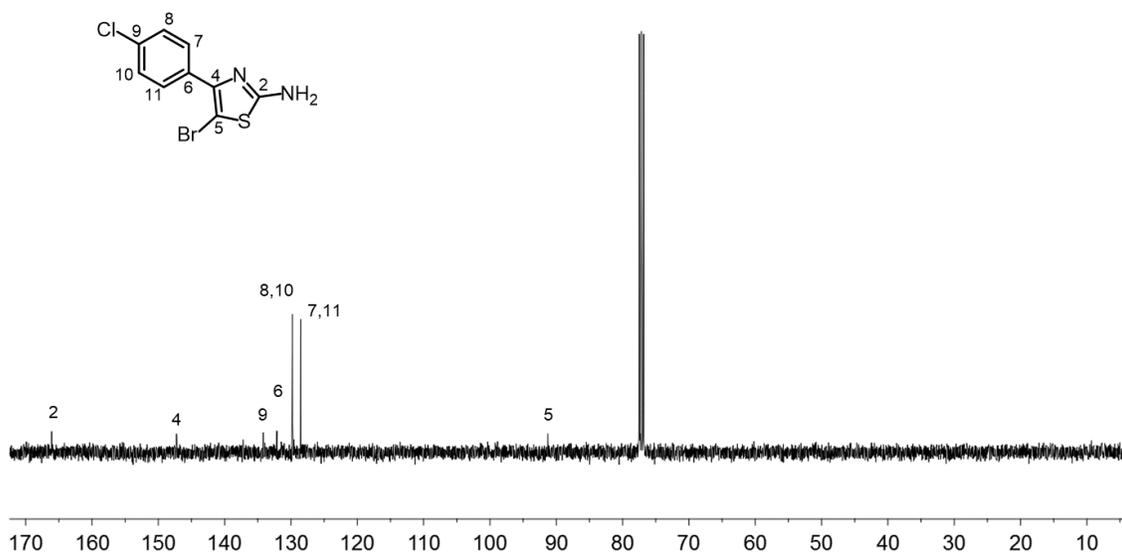


Figura 43. Espectro de RMN-¹³C de 2-amino-5-bromo-4(4'-clorofenil)1,3-tiazol (**4b**) en CDCl₃ a 100 MHz.

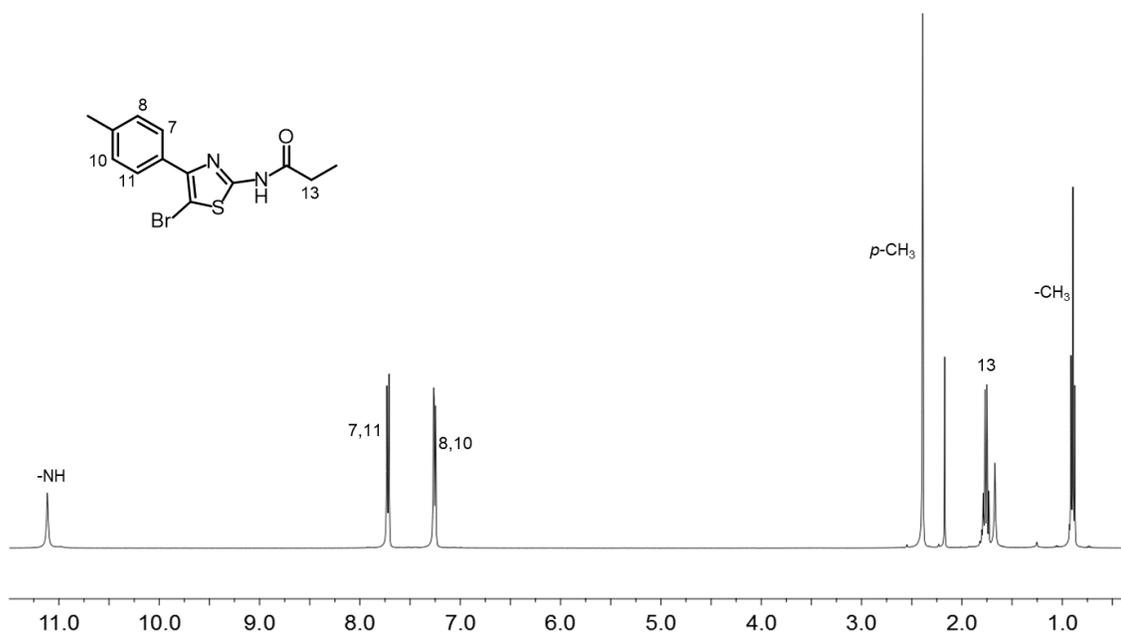


Figura 44. Espectro de RMN-¹H de *N*-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-propanamida (6a) en CDCl₃ a 400 MHz.

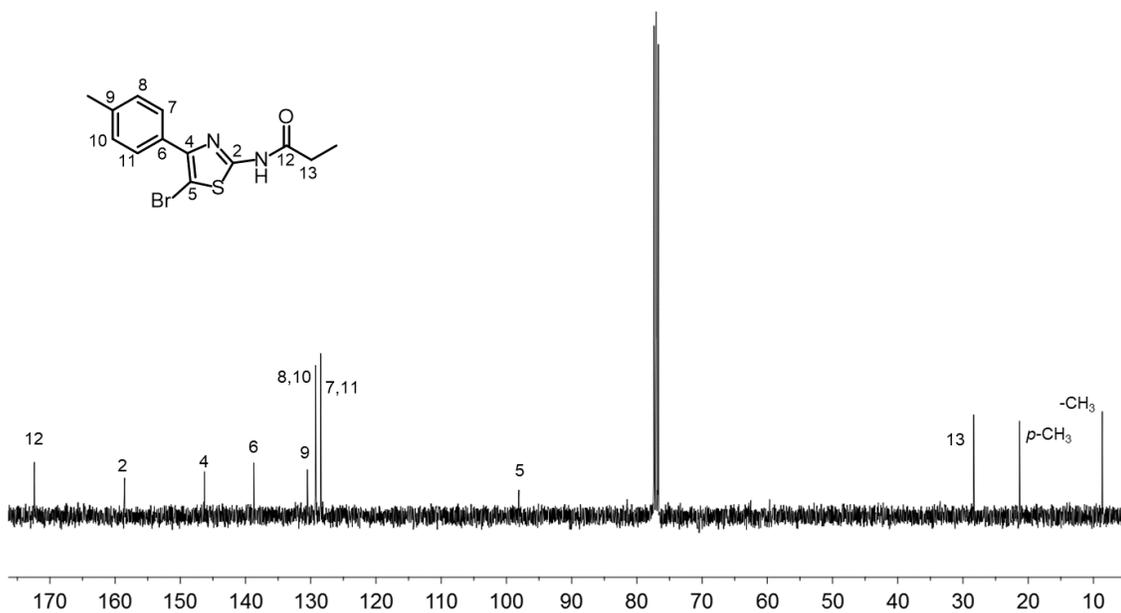


Figura 45. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-propanamida (6a) en CDCl₃ a 100 MHz.

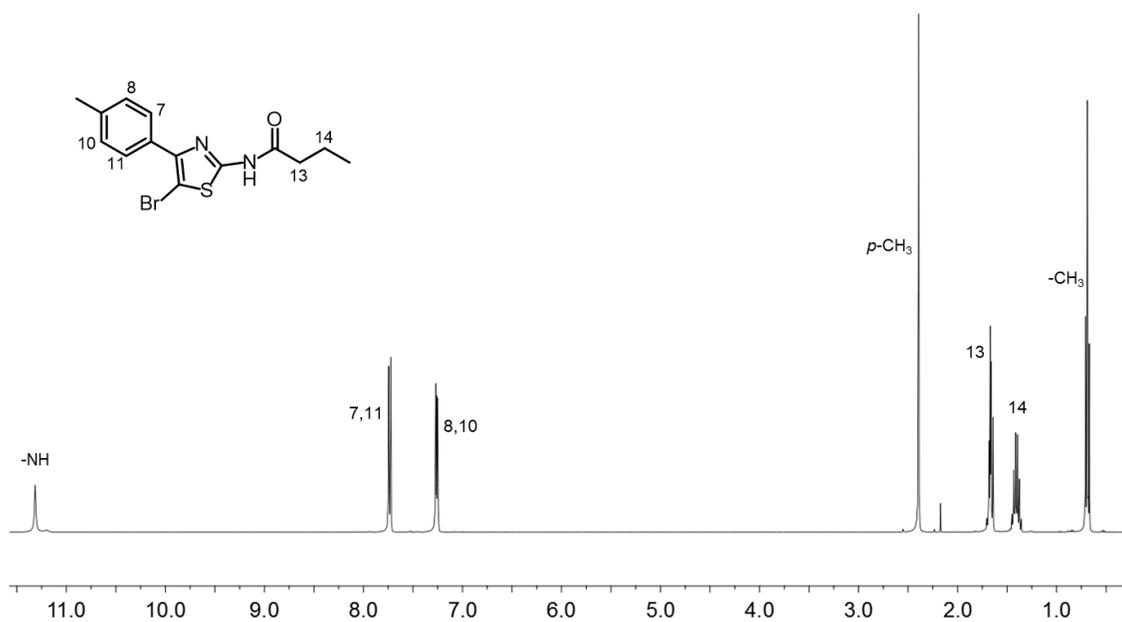


Figura 46. Espectro de RMN-¹H de *N*-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-butanamida (**6b**) en CDCl₃ a 400 MHz.

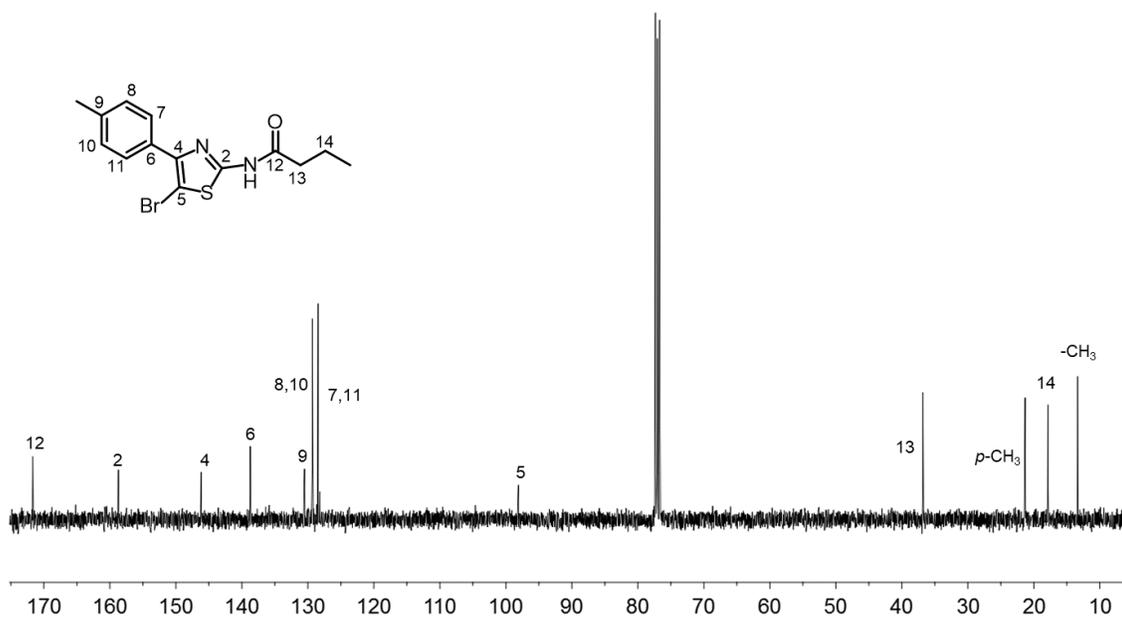


Figura 47. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-butanamida (**6b**) en CDCl₃ a 100 MHz.

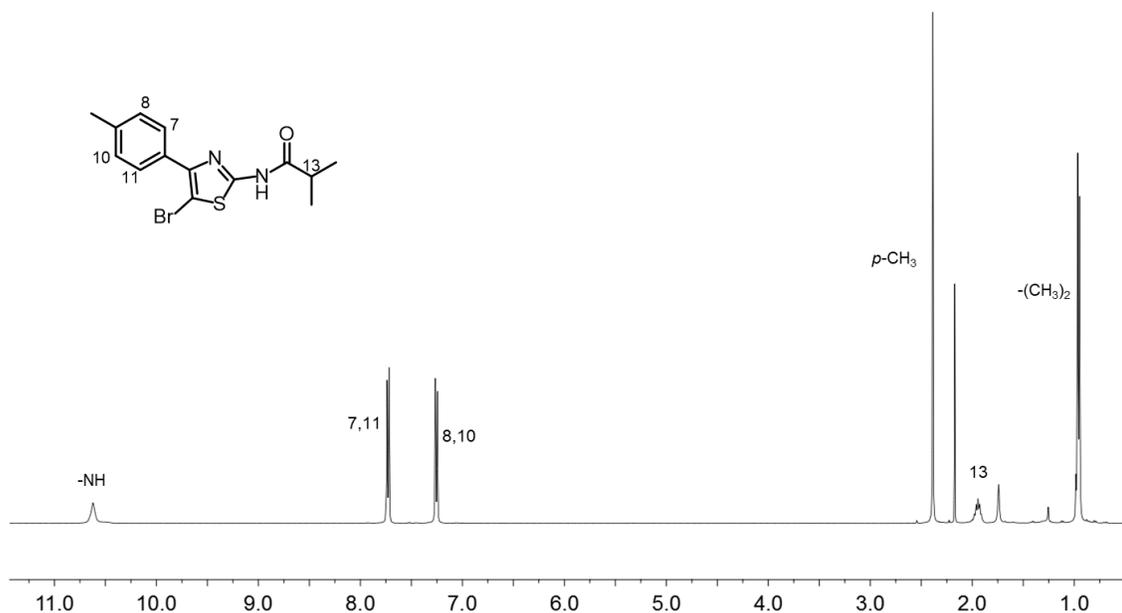


Figura 48. Espectro de RMN-¹H de *N*-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-isobutanamida (**6c**) en CDCl₃ a 400 MHz.

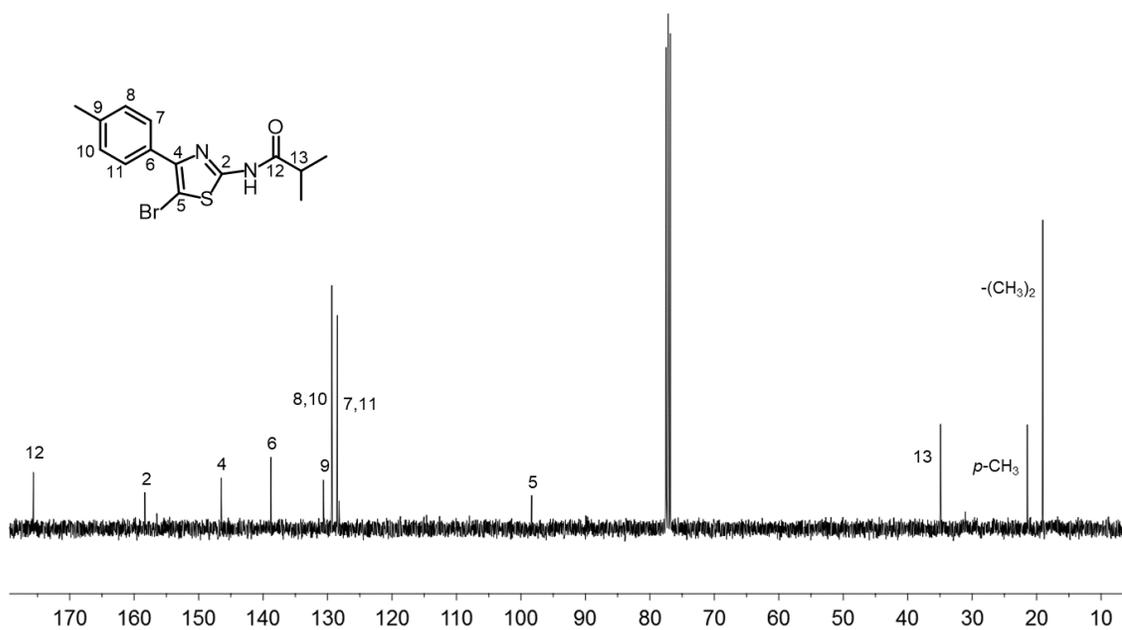


Figura 49. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-isobutanamida (**6c**) en CDCl₃ a 100 MHz.

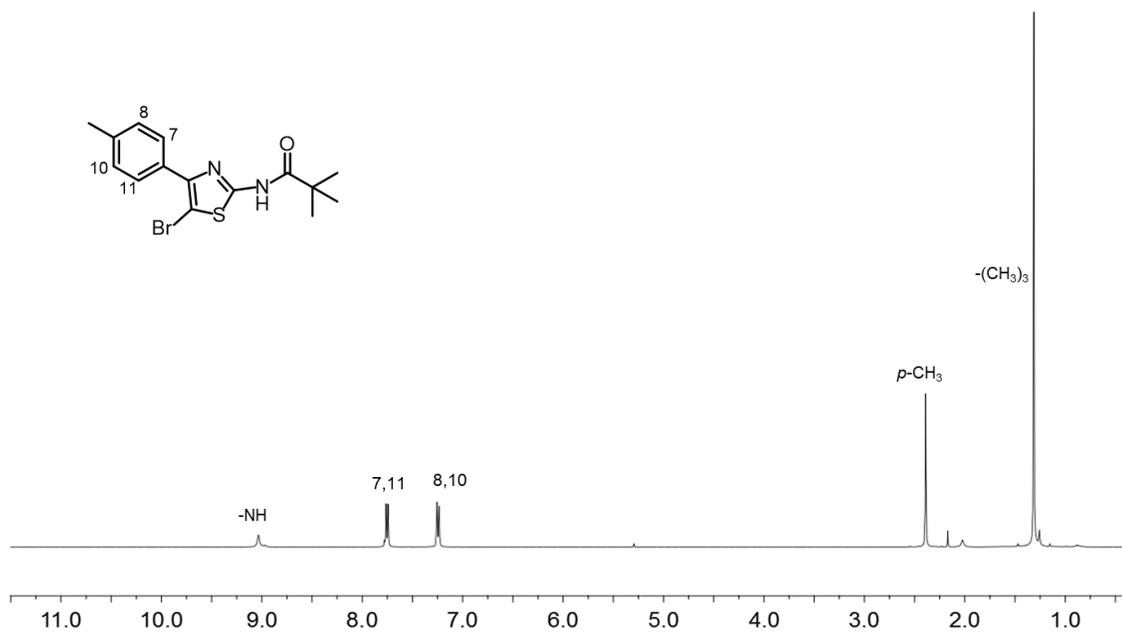


Figura 50. Espectro de RMN-¹H de *N*-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-pivaloamida (**6d**) en CDCl₃ a 400 MHz.

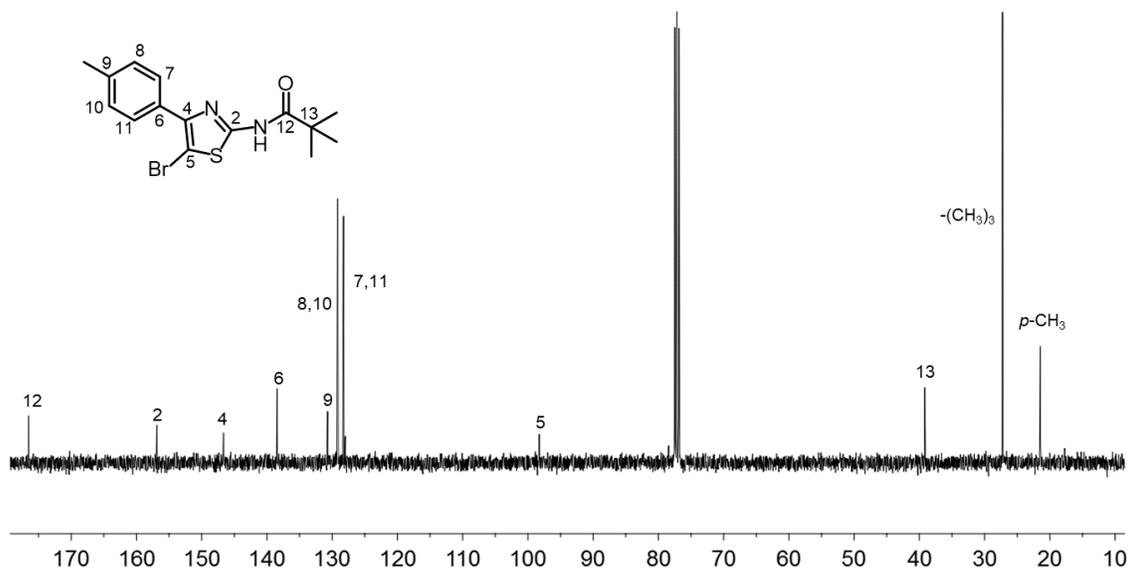


Figura 51. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-pivaloamida (**6d**) en CDCl₃ a 100 MHz.

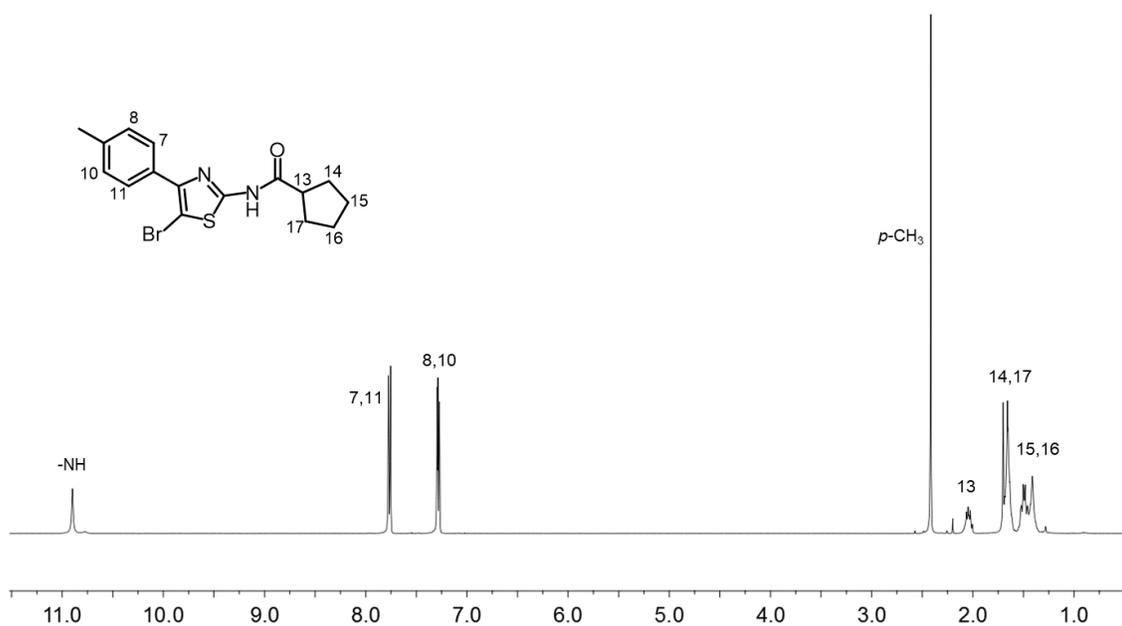


Figura 52. Espectro de RMN-¹H de *N*-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-ciclopentamida (**6e**) en CDCl₃ a 400 MHz.

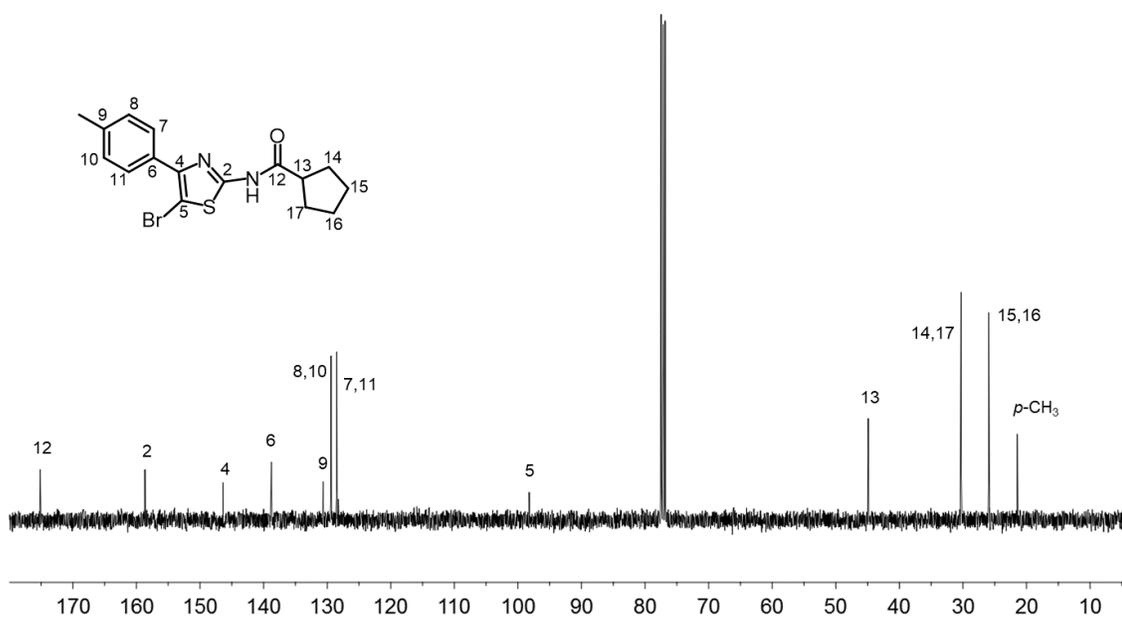


Figura 53. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-ciclopentamida (**6e**) en CDCl₃ a 100 MHz.

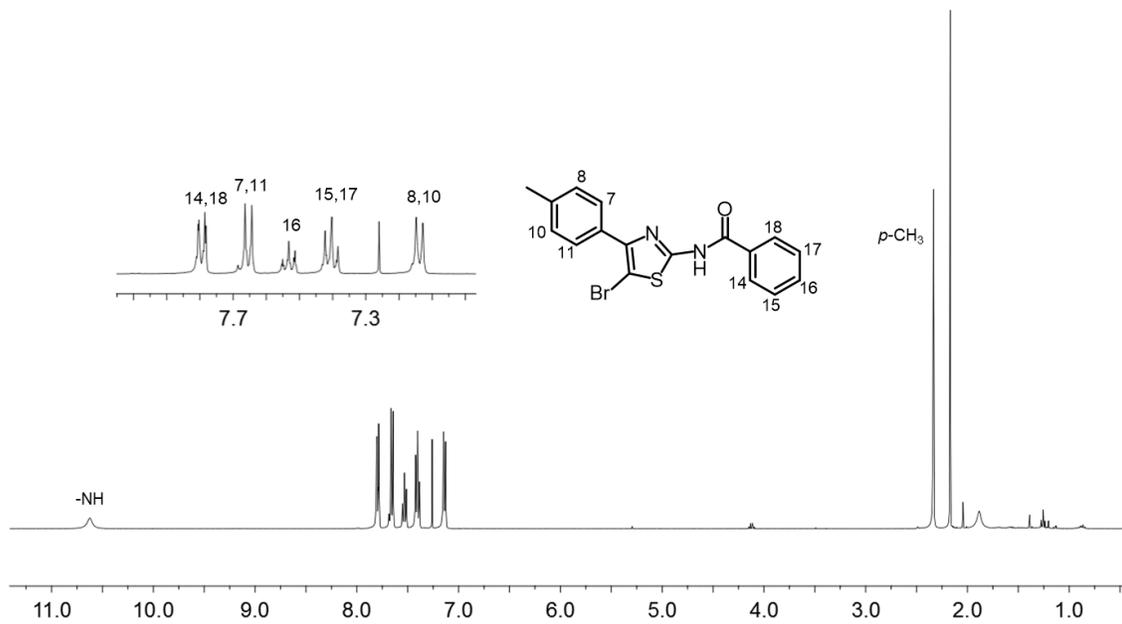


Figura 56. Espectro de RMN-¹H de *N*-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-benzamida (**6g**) en CDCl₃ a 400 MHz.

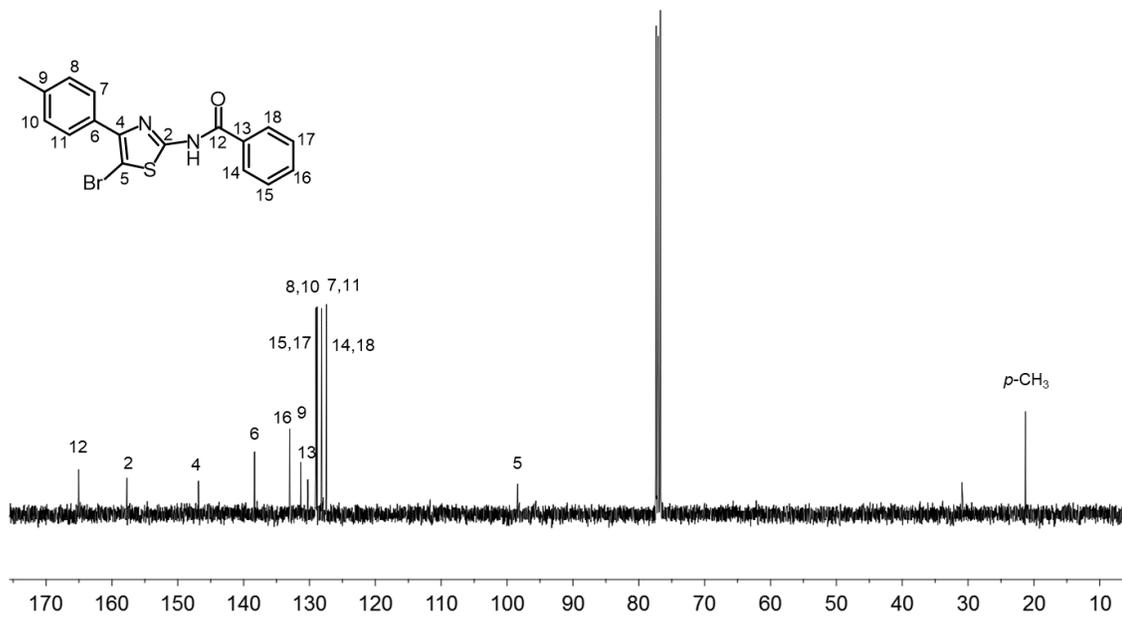


Figura 57. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(5-bromo-4-metilfenil-2-tiazolil)-benzamida (**6g**) en CDCl₃ a 100 MHz.

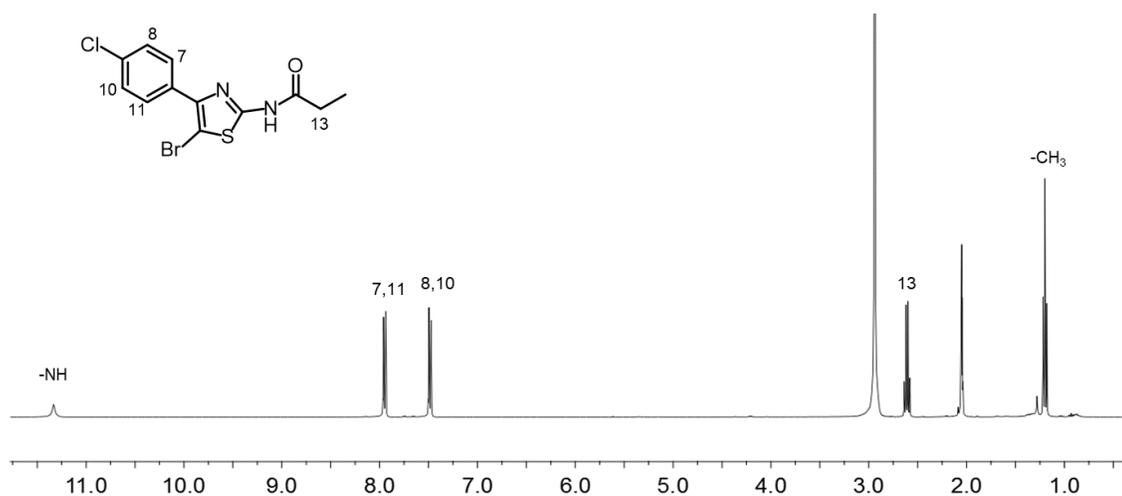


Figura 58. Espectro de RMN- ^1H de *N*-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-propanamida (**7a**) en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ a 400 MHz.

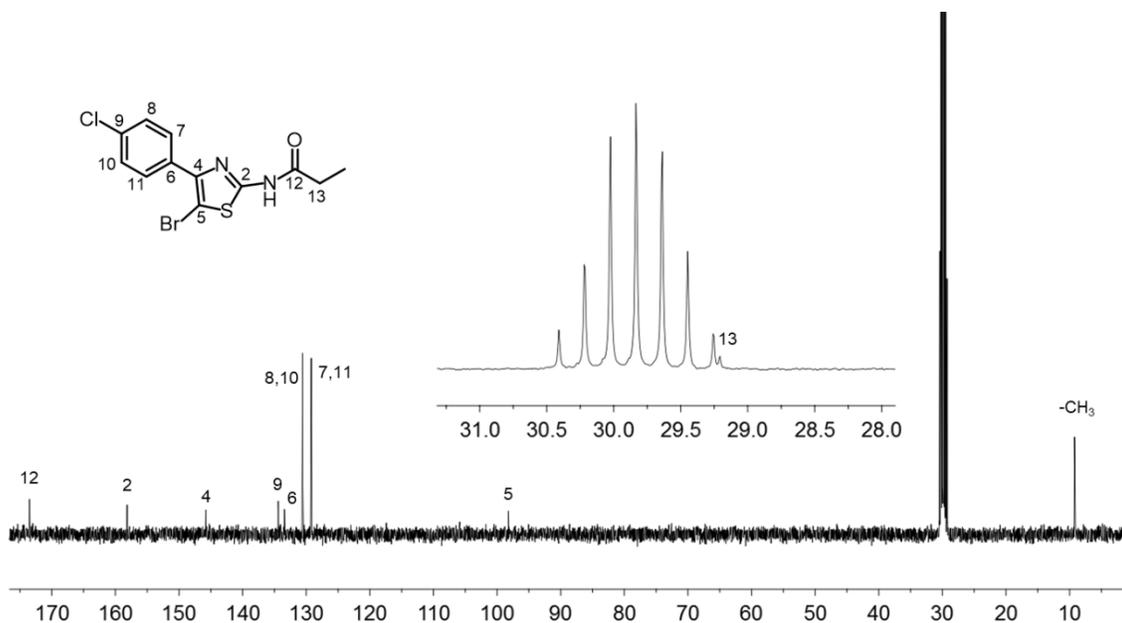


Figura 59. Espectro de RMN- ^{13}C de *N*-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-propanamida (**7a**) en $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ a 100 MHz.

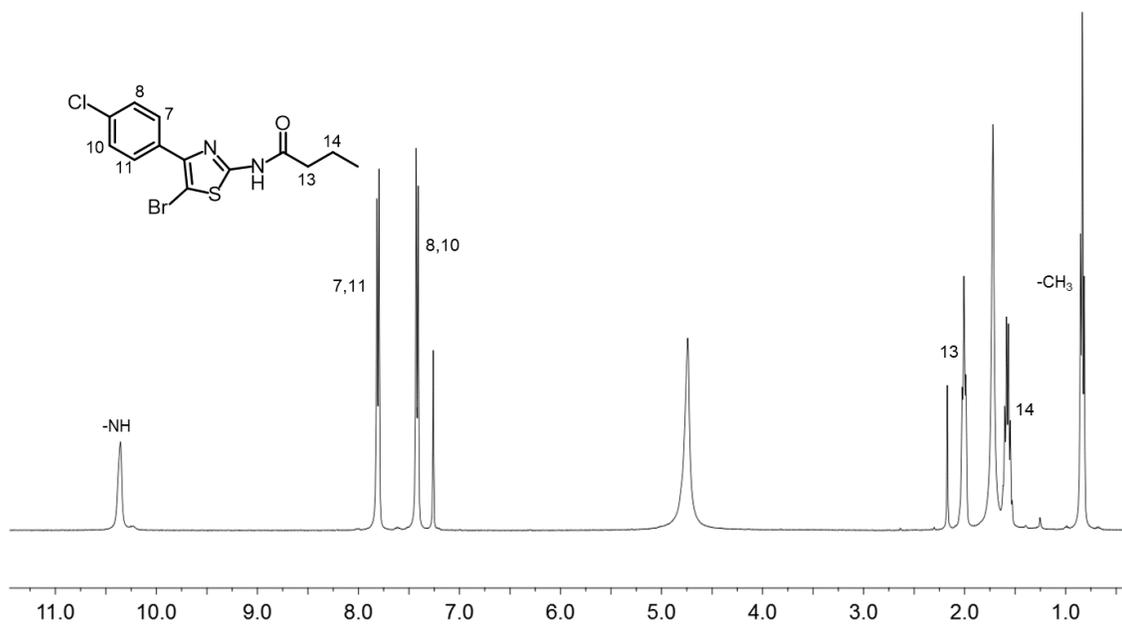


Figura 60. Espectro de RMN-¹H de *N*-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-butanamida (**7b**) en CDCl₃ a 400 MHz.

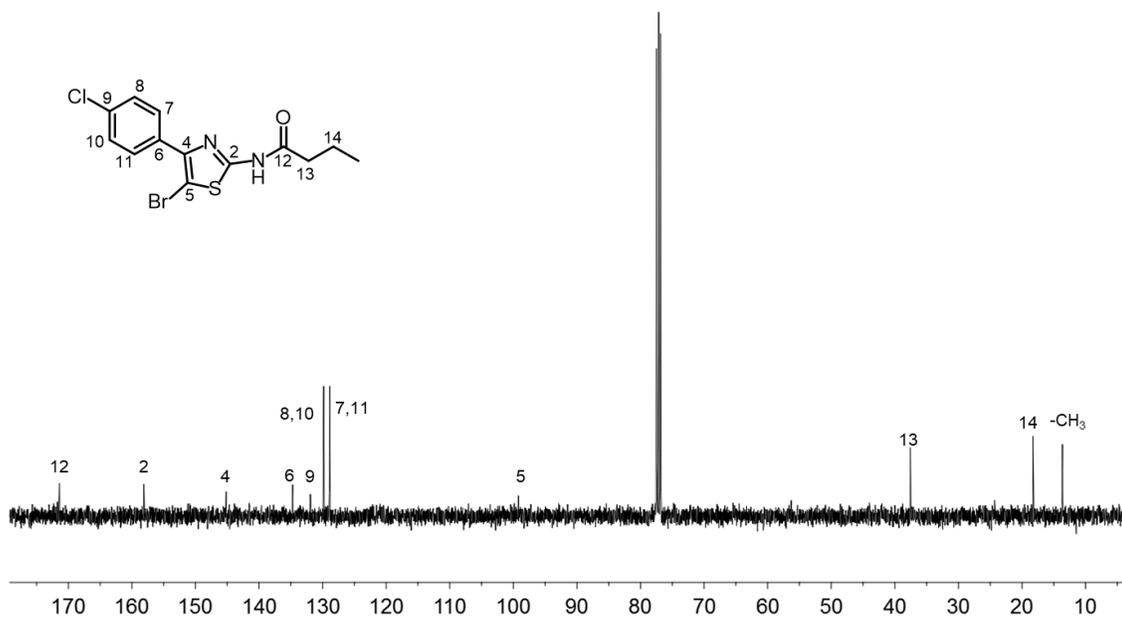


Figura 61. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-butanamida (**7b**) en CDCl₃ a 100 MHz.

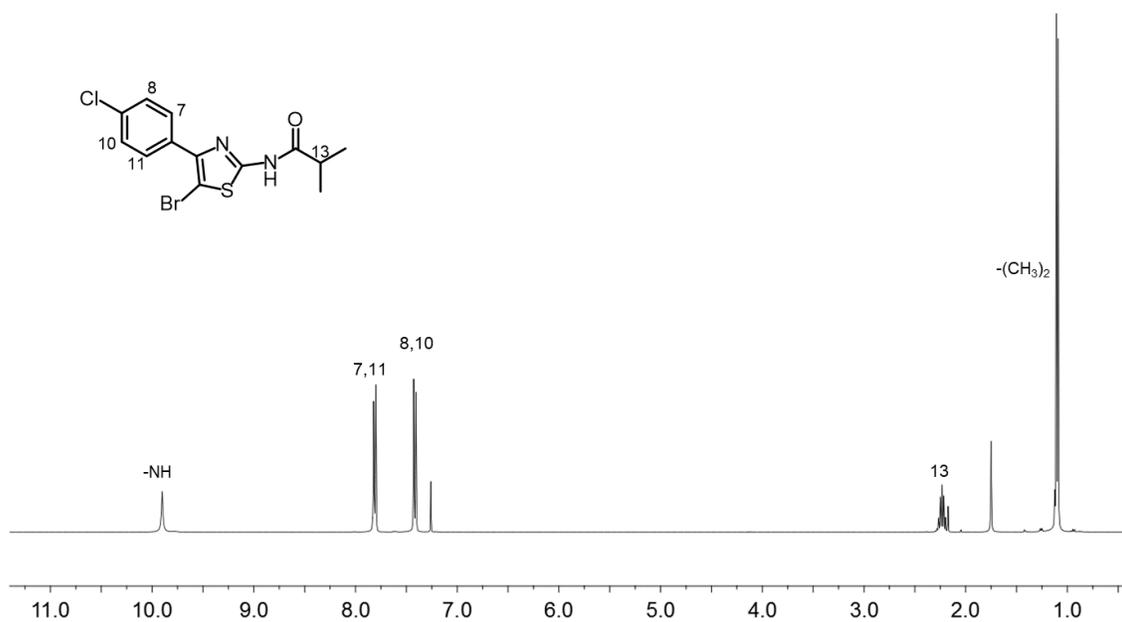


Figura 62. Espectro de RMN-¹H de *N*-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-isobutanamida (**7c**) en CDCl₃ a 400 MHz.

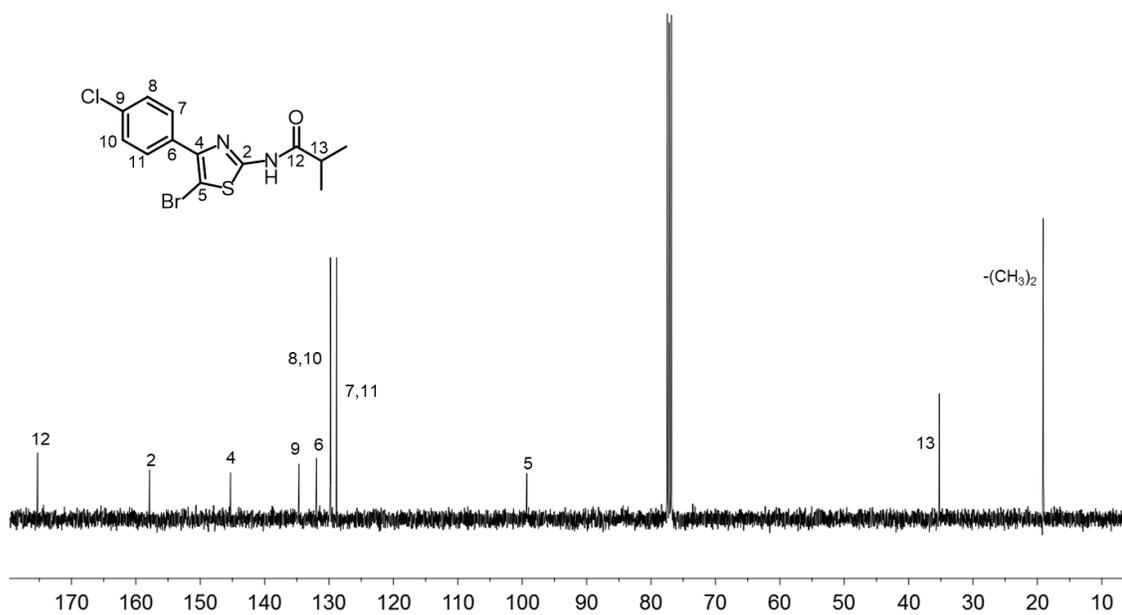


Figura 63. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-isobutanamida (**7c**) en CDCl₃ a 100 MHz.

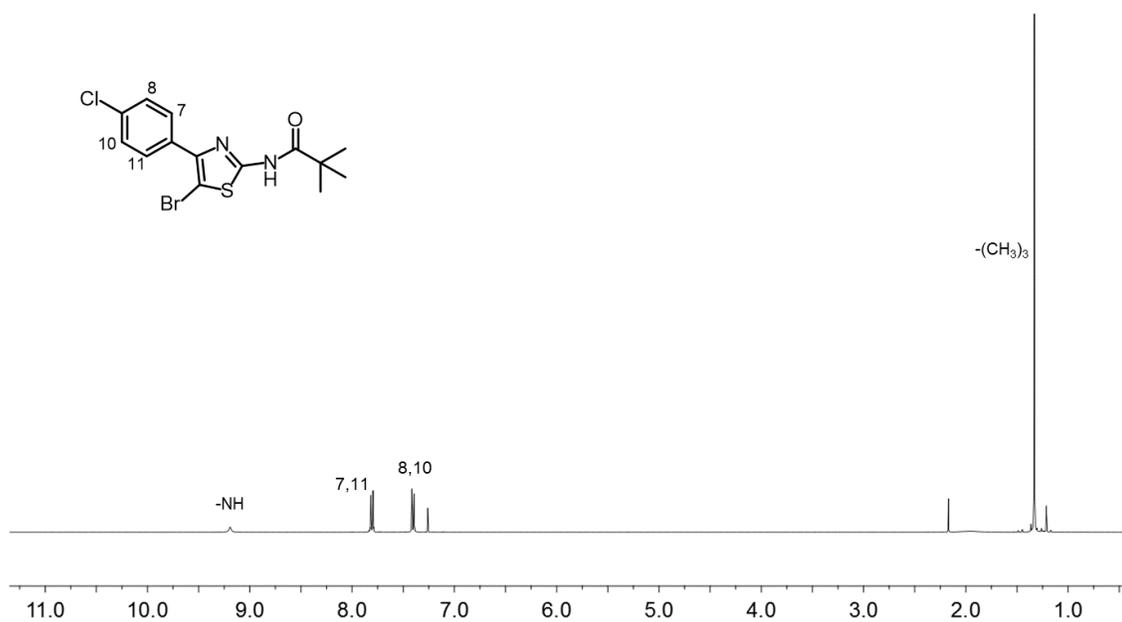


Figura 64. Espectro de RMN-¹H de *N*-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-pivaloamida (7d) en CDCl₃ a 400 MHz.

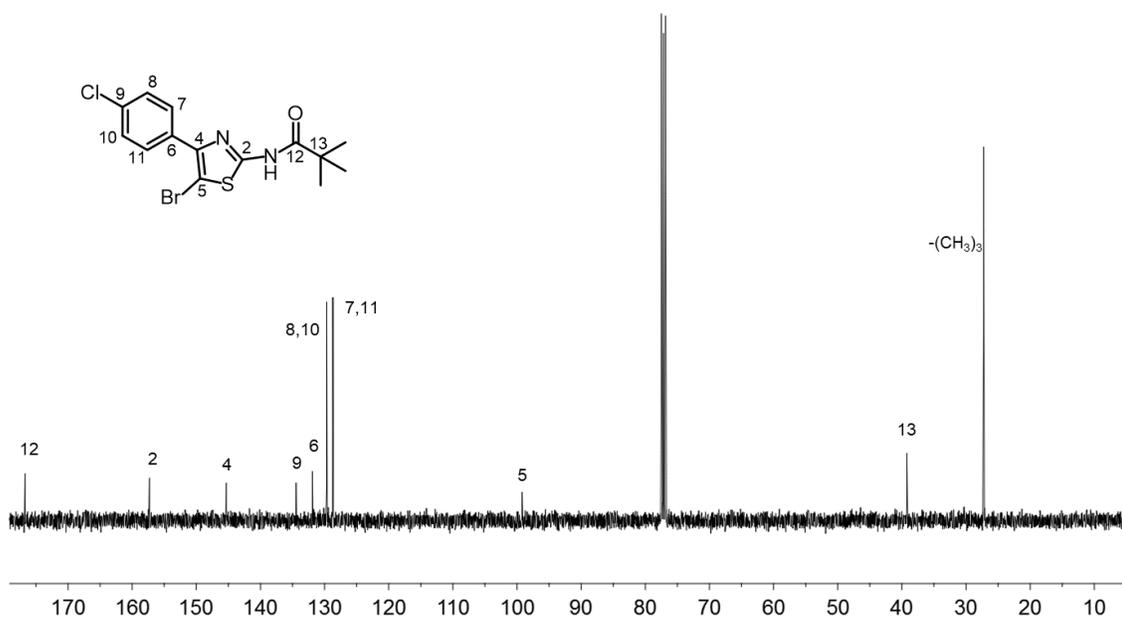


Figura 65. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-pivaloamida (7d) en CDCl₃ a 100 MHz.

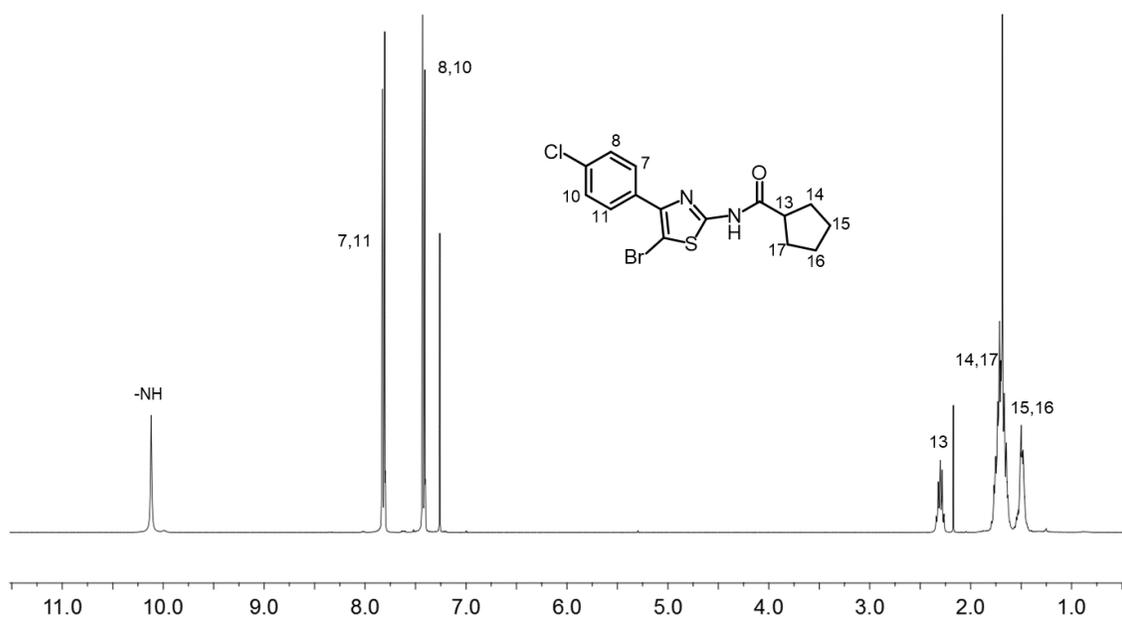


Figura 66. Espectro de RMN-¹H de *N*-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-ciclopentamida (**7e**) en CDCl₃ a 400 MHz.

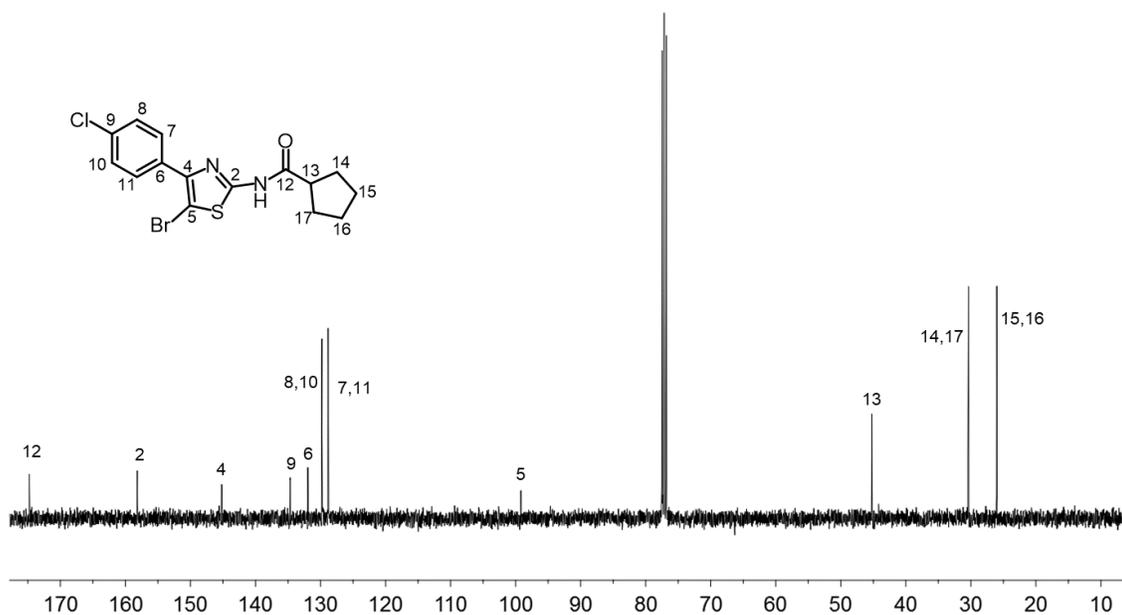


Figura 67. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-ciclopentamida (**7e**) en CDCl₃ a 100 MHz.

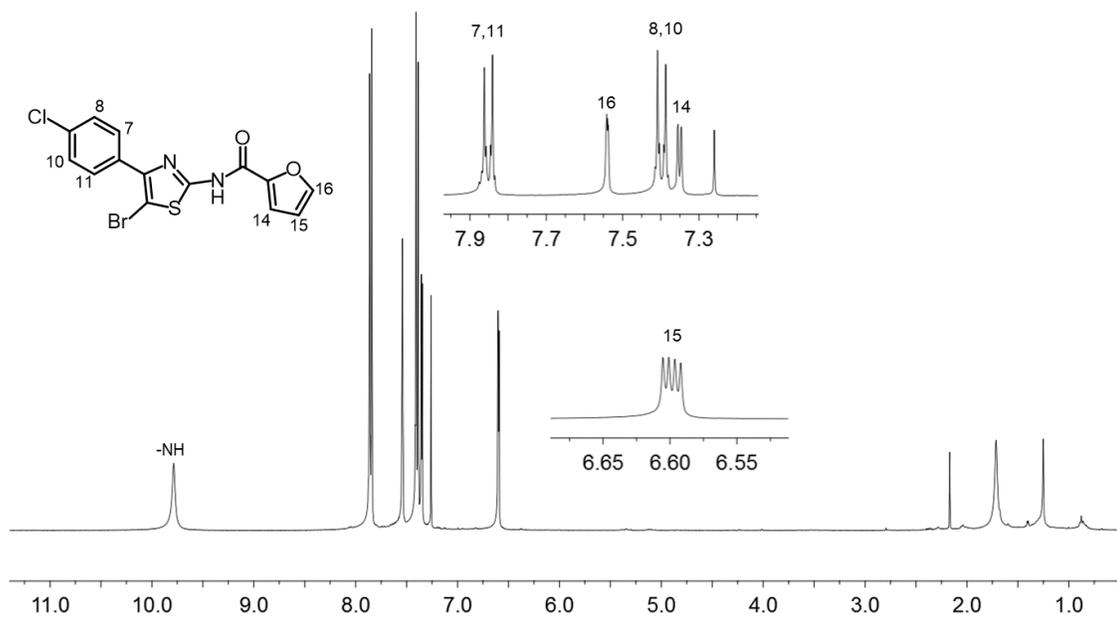


Figura 68. Espectro de RMN-¹H de *N*-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-furamida (**7f**) en CDCl₃ a 400 MHz.

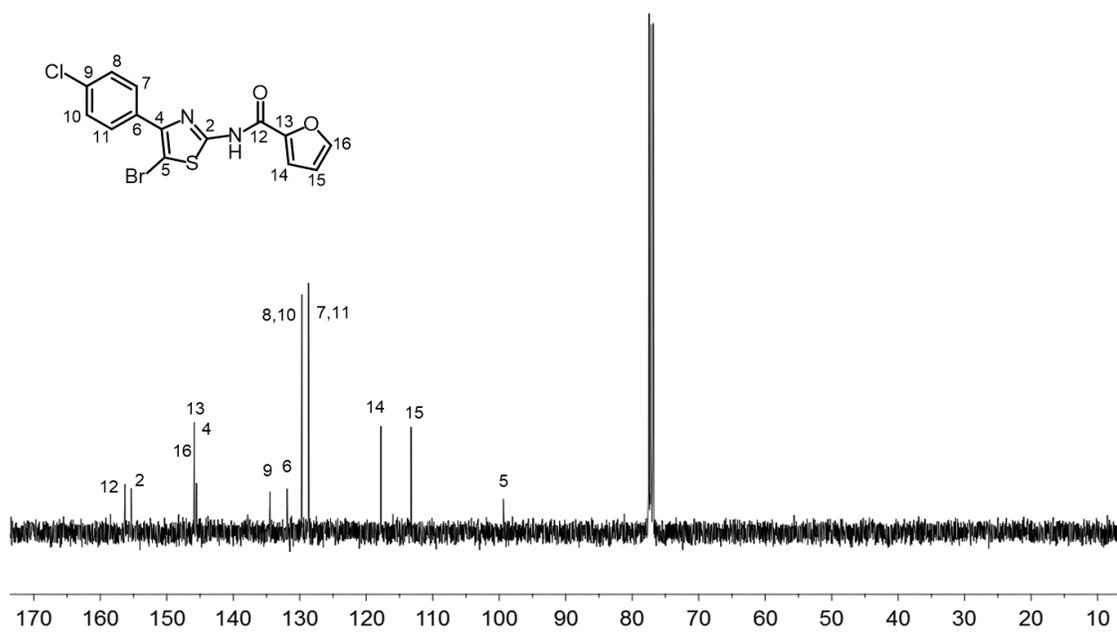


Figura 69. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-furamida (**7f**) en CDCl₃ a 100 MHz.

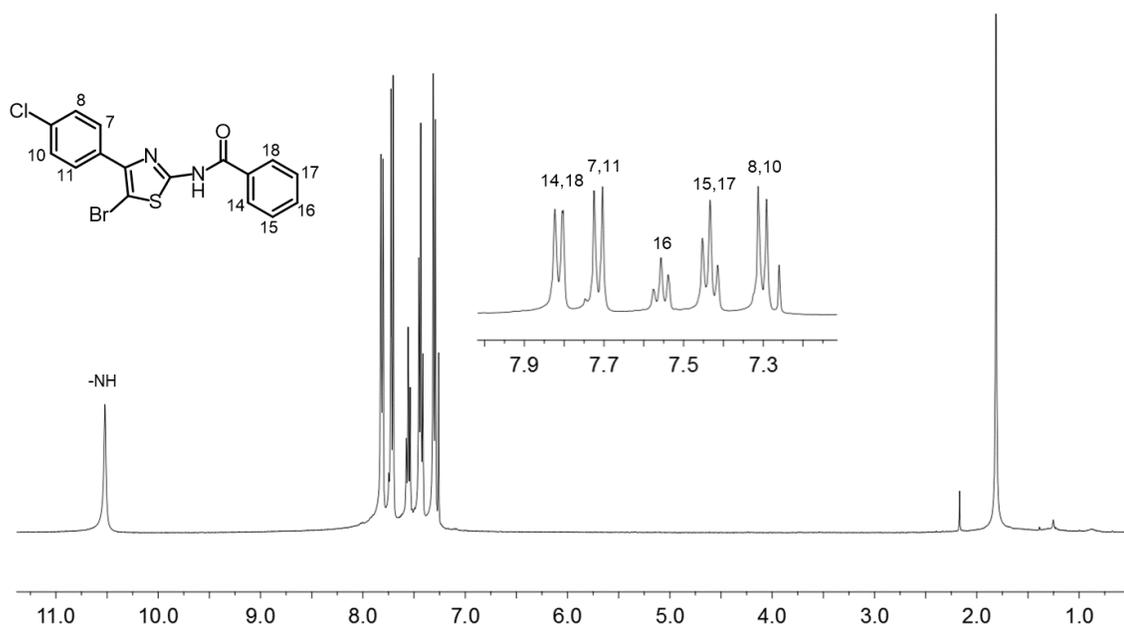


Figura 70. Espectro de RMN-¹H de *N*-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-benzamida (**7g**) en CDCl₃ a 400 MHz.

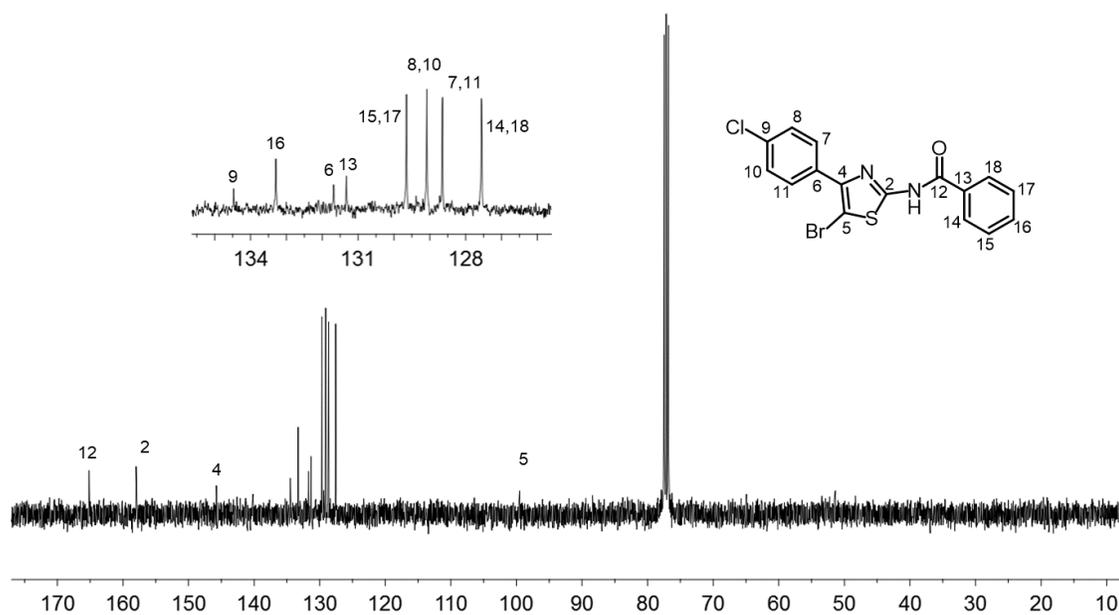


Figura 71. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(5-bromo-4-clorofenil-2-tiazolil)-benzamida (**7g**) en CDCl₃ a 100 MHz.

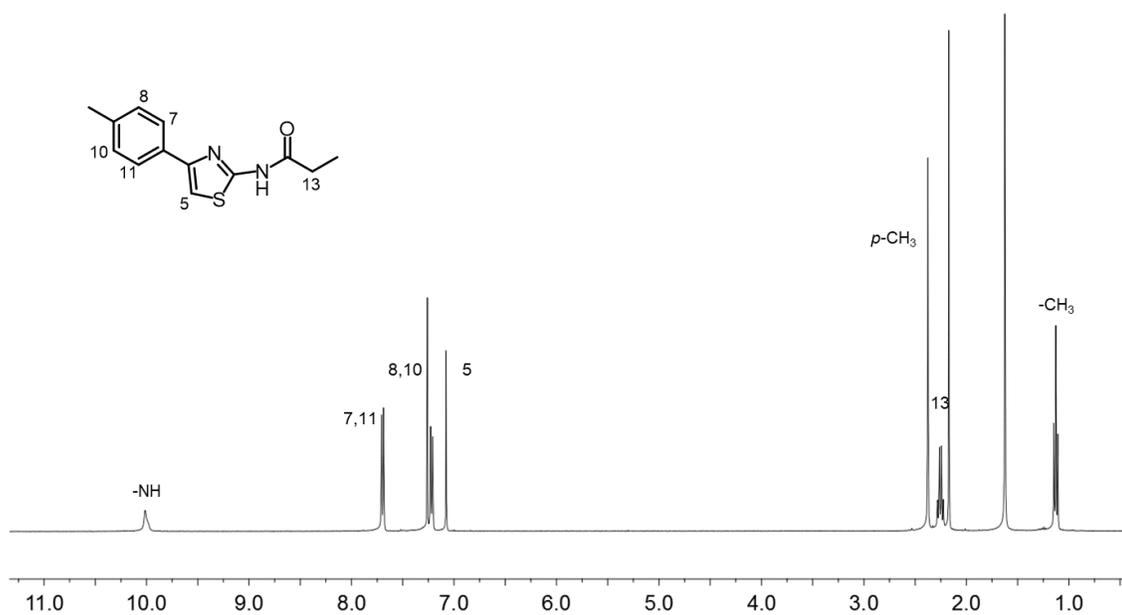


Figura 72. Espectro de RMN-¹H de *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-propanamida (**8a**) en CDCl₃ a 400 MHz.

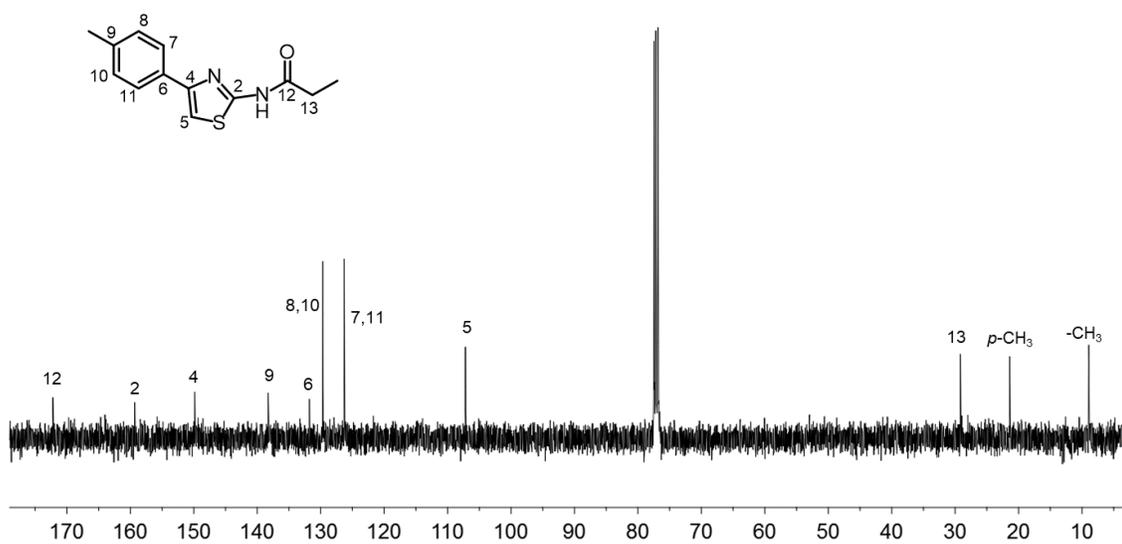


Figura 73. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-propanamida (**8a**) en CDCl₃ a 100 MHz.

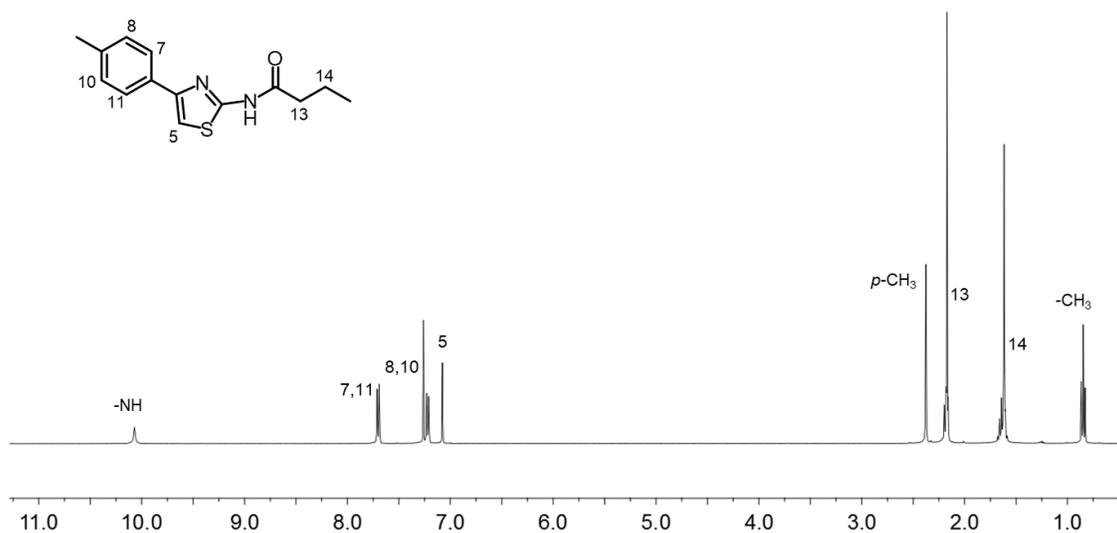


Figura 74. Espectro de RMN-¹H de *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-butanamida (**8b**) en CDCl₃ a 400 MHz.

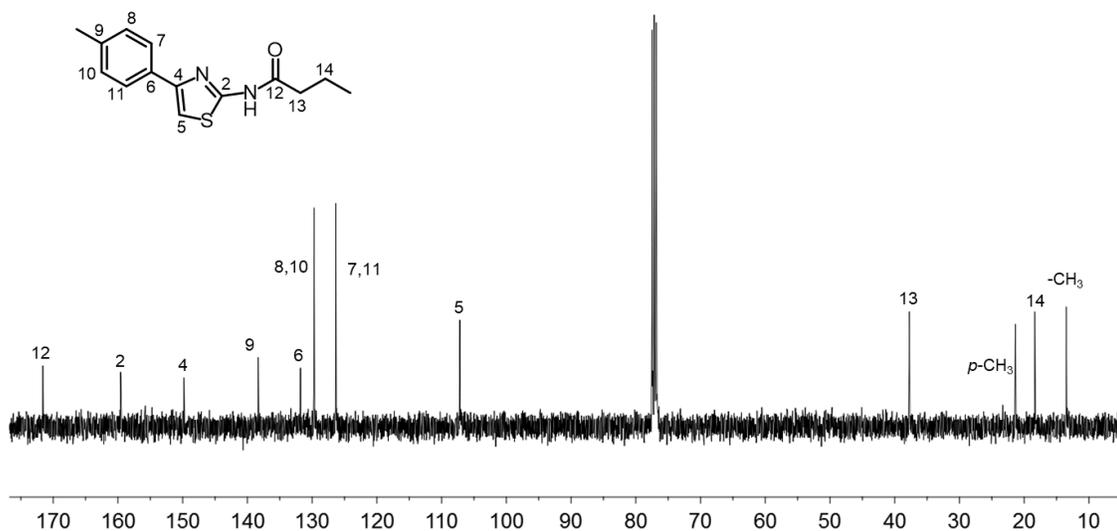


Figura 75. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-butanamida (**8b**) en CDCl₃ a 100 MHz.

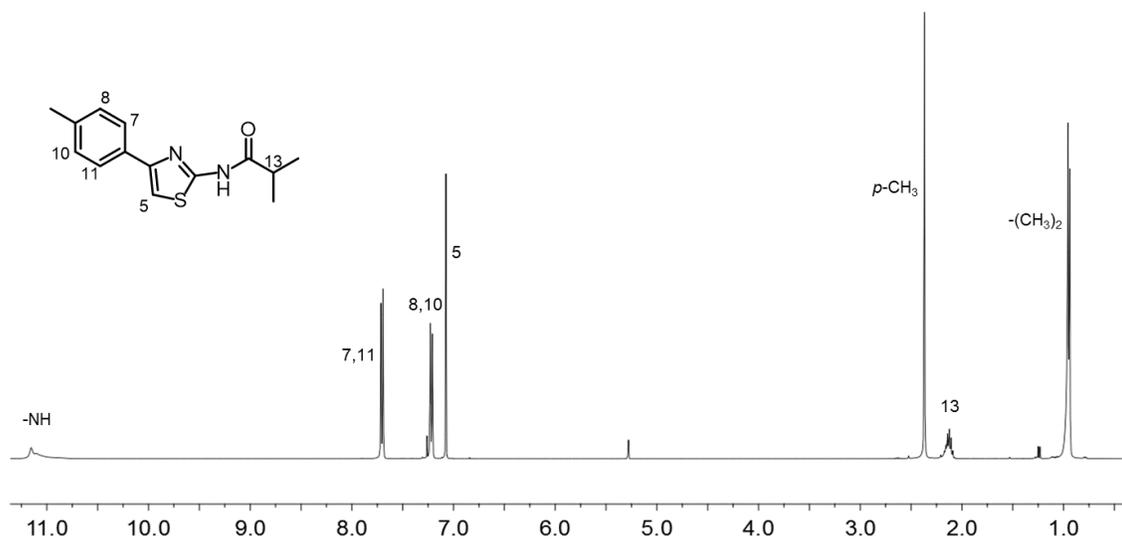


Figura 76. Espectro de RMN-¹H de *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-isobutanamida (**8c**) en CDCl₃ a 400 MHz.

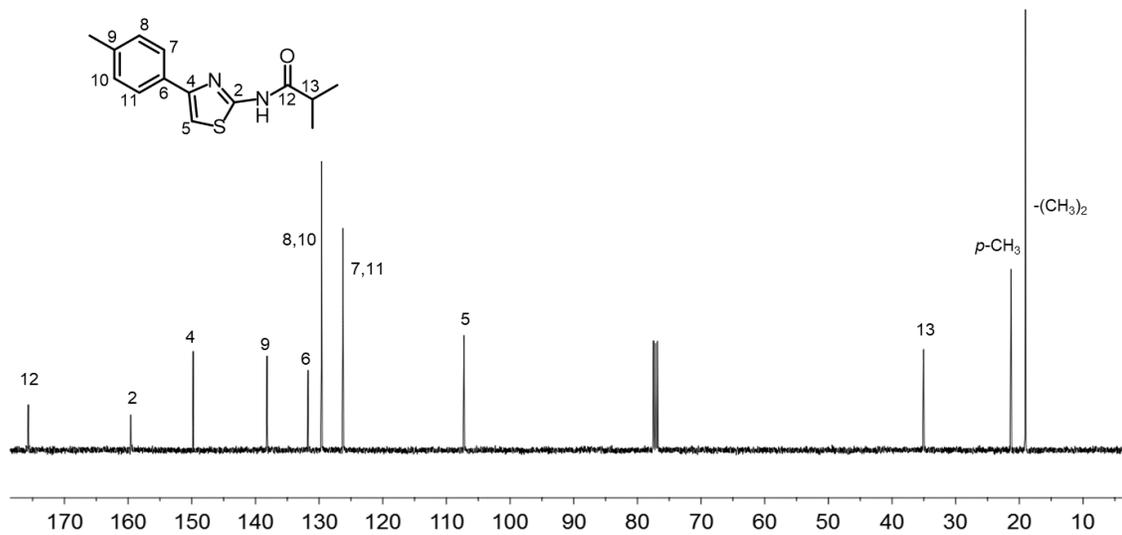


Figura 77. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-isobutanamida (**8c**) en CDCl₃ a 100 MHz.

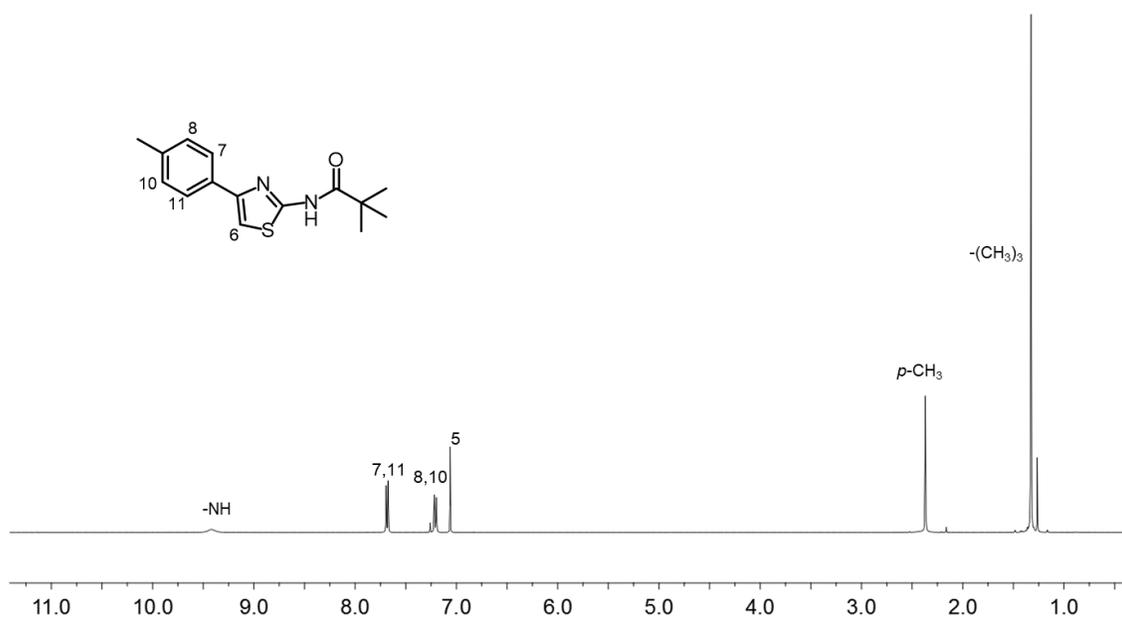


Figura 78. Espectro de RMN-¹H de *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-pivaloamida (**8d**) en CDCl₃ a 400 MHz.

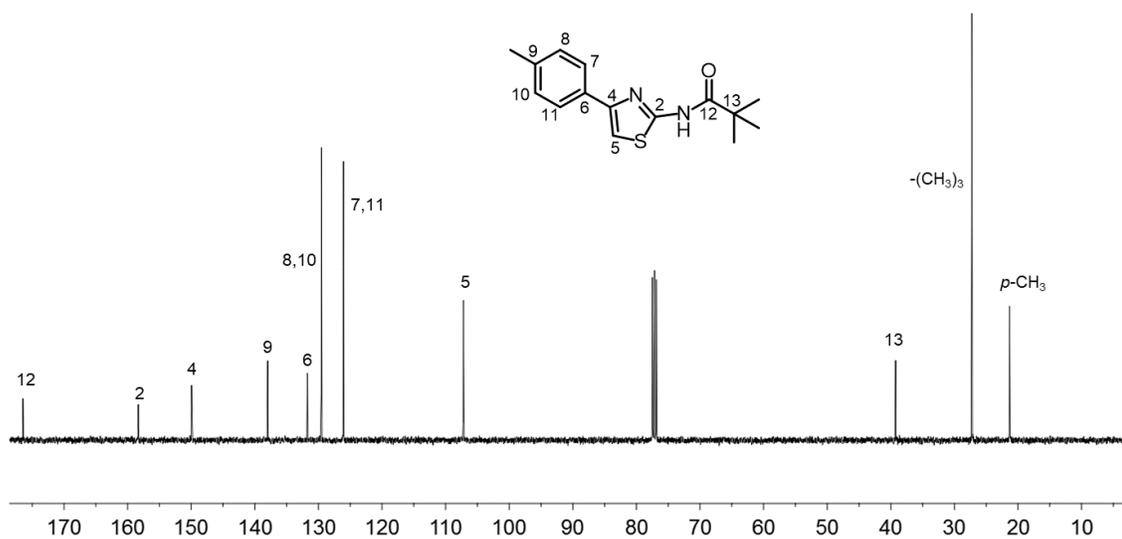


Figura 79. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-pivaloamida (**8d**) en CDCl₃ a 100 MHz.

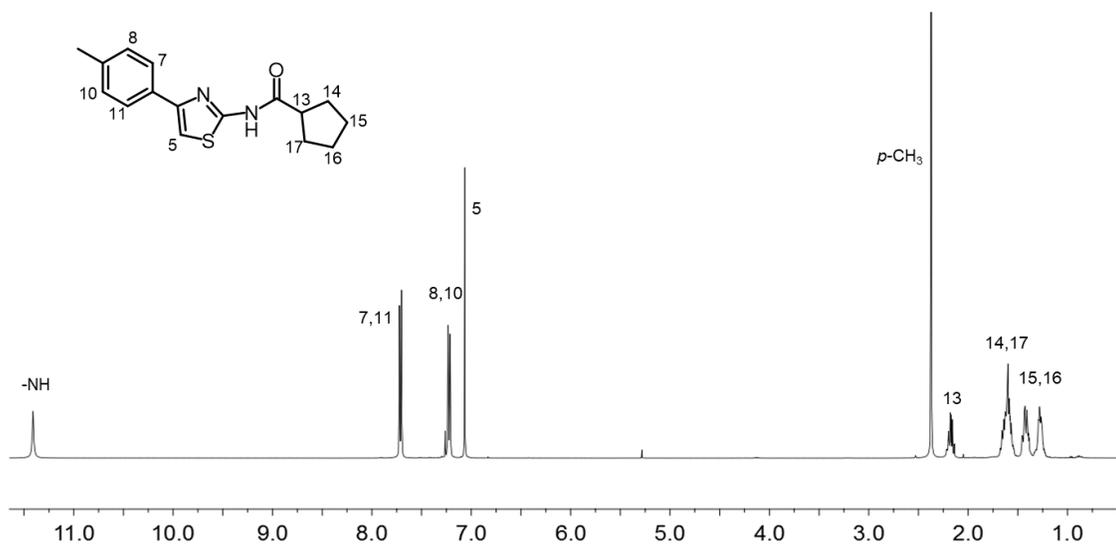


Figura 80. Espectro de RMN-¹H de *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-ciclopentamida (**8e**) en CDCl₃ a 400 MHz.

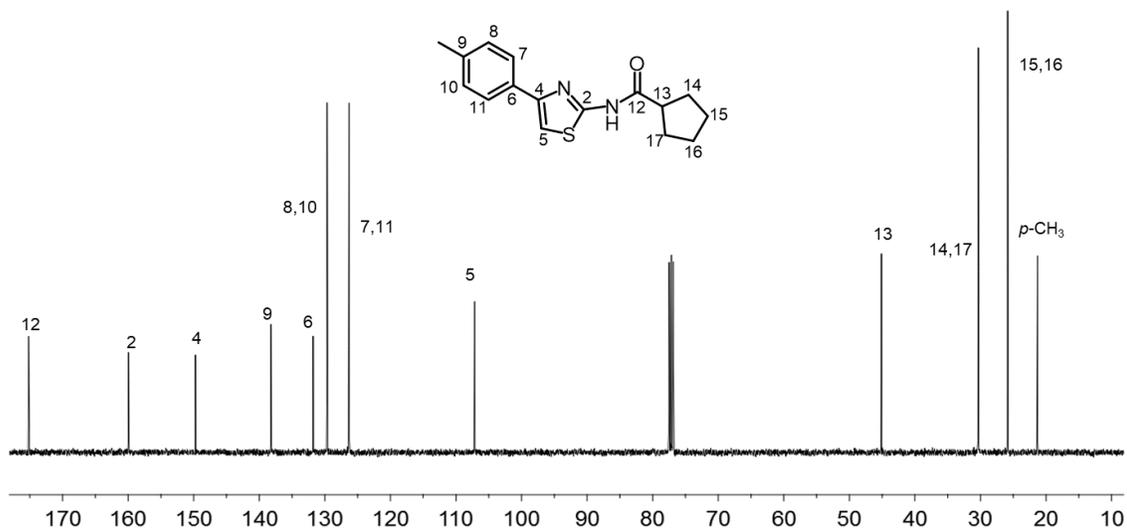


Figura 81. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-ciclopentamida (**8e**) en CDCl₃ a 100 MHz.

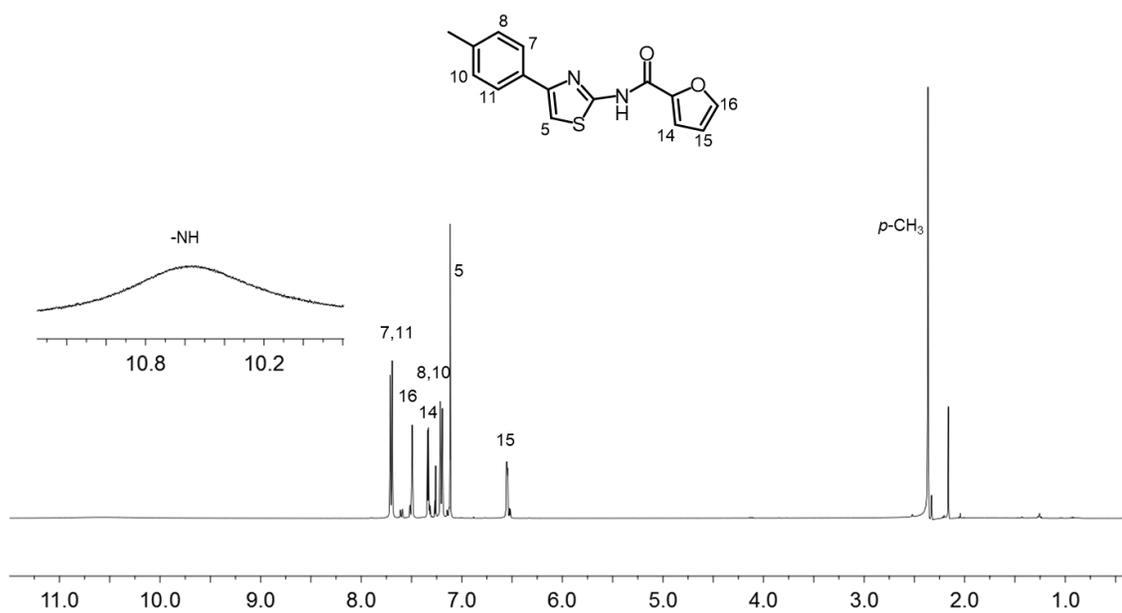


Figura 82. Espectro de RMN-¹H de *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-furamida (**8f**) en CDCl₃ a 400 MHz.

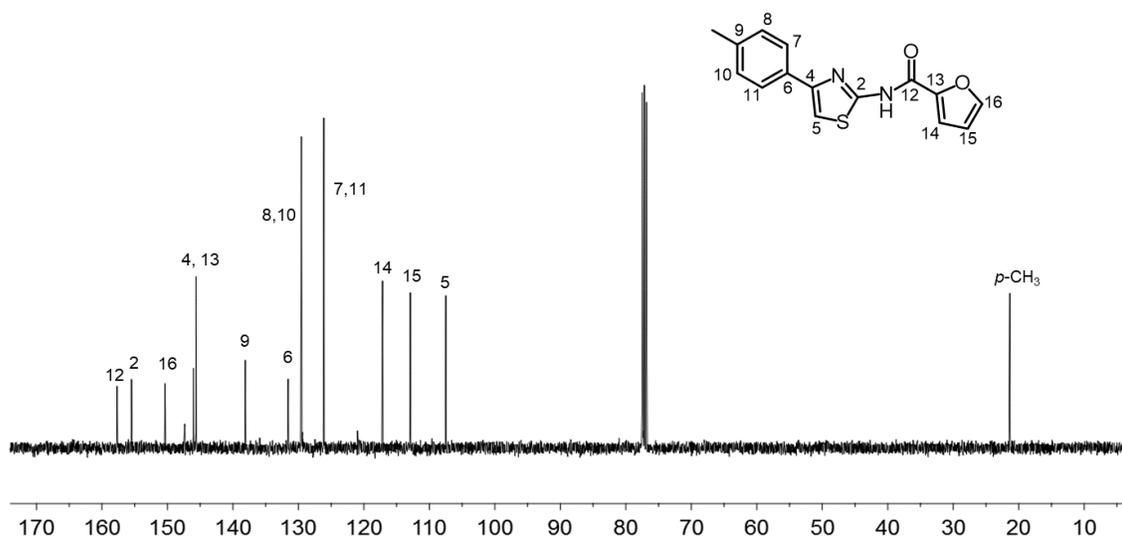


Figura 83. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-furamida (**8f**) en CDCl₃ a 100 MHz.

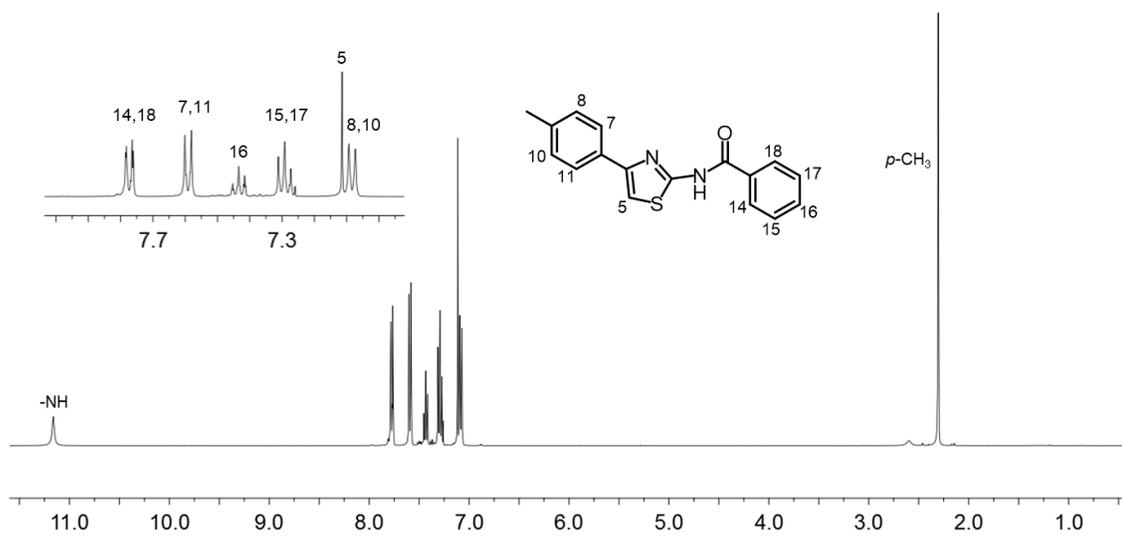


Figura 84. Espectro de RMN-¹H de *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-benzamida (**8g**) en CDCl₃ a 400 MHz.

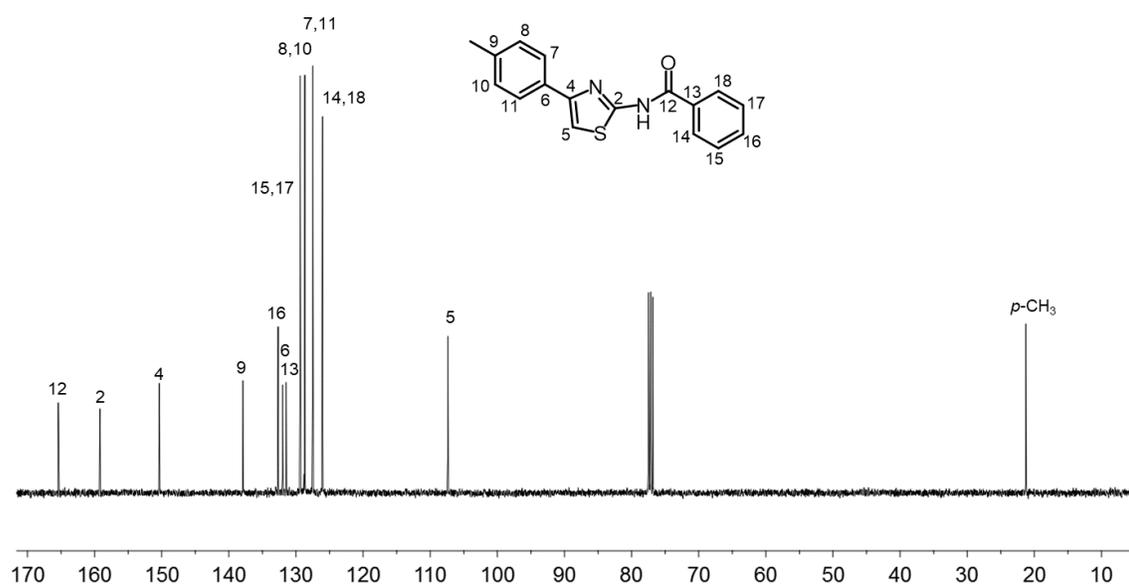


Figura 85. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-benzamida (**8g**) en CDCl₃ a 100 MHz.

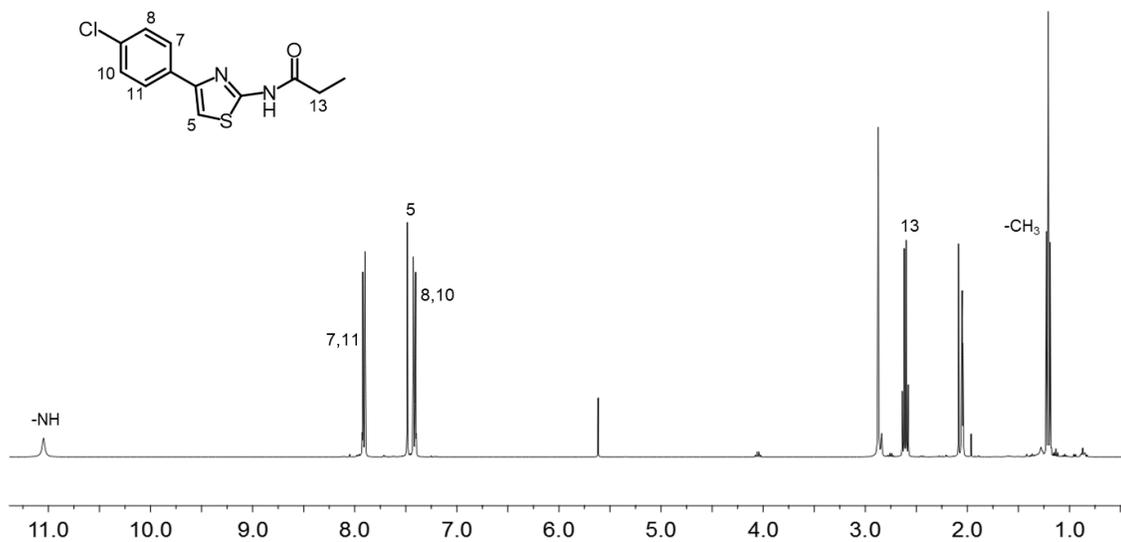


Figura 86. Espectro de RMN-¹H de *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-propanamida (**9a**) en (CD₃)₂CO a 400 MHz.

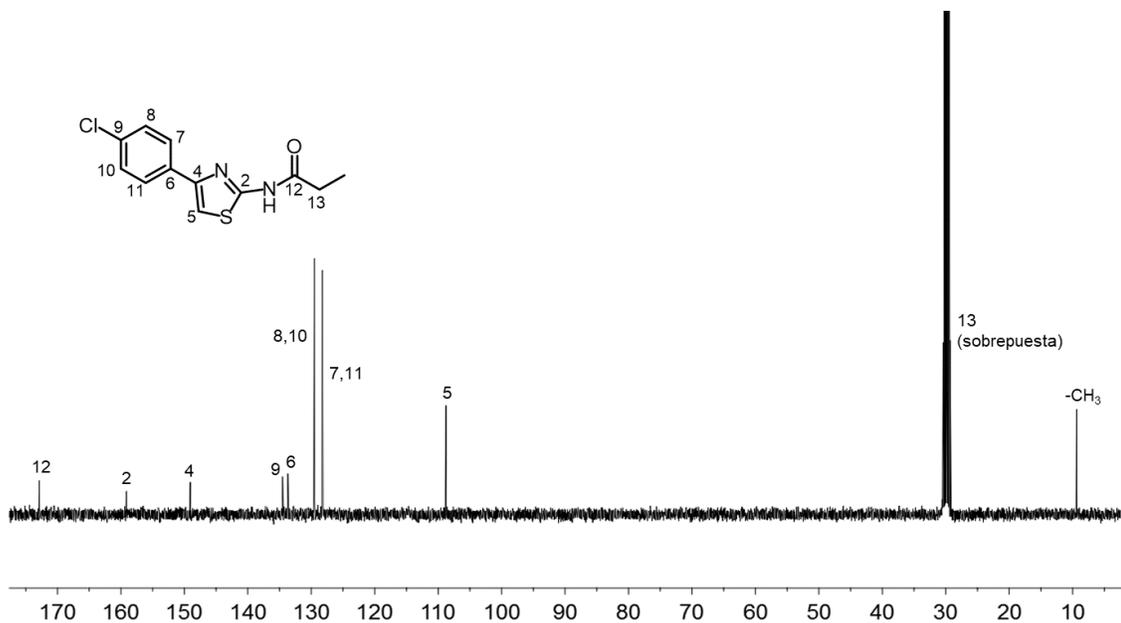


Figura 87. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-propanamida (**9a**) en (CD₃)₂CO a 100 MHz.

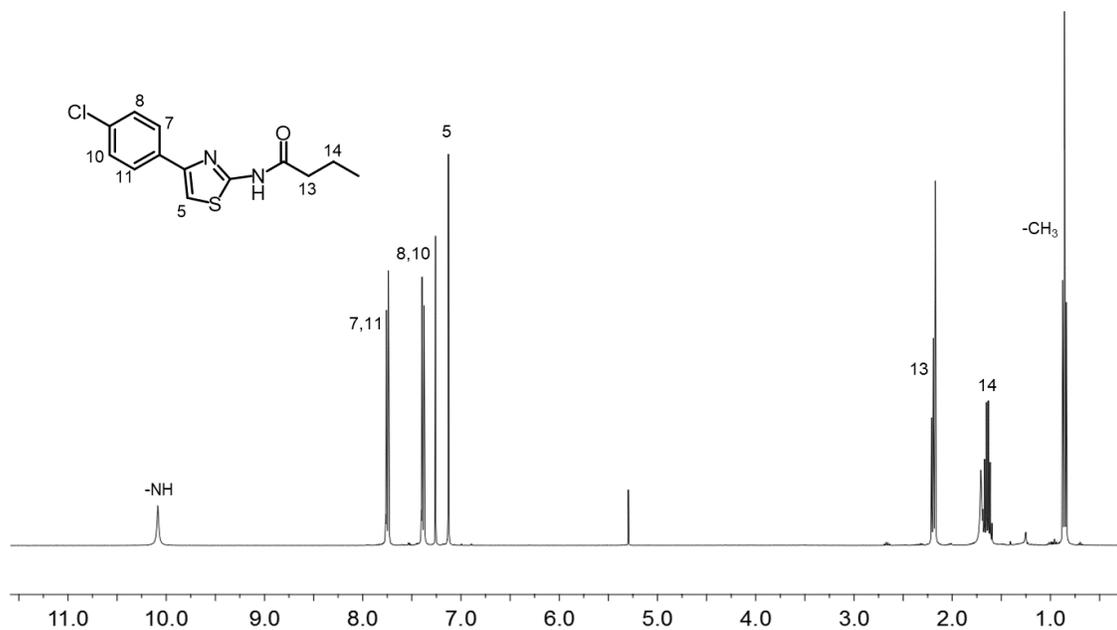


Figura 88. Espectro de RMN-¹H de *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-butanamida (**9b**) en CDCl₃ a 400 MHz.

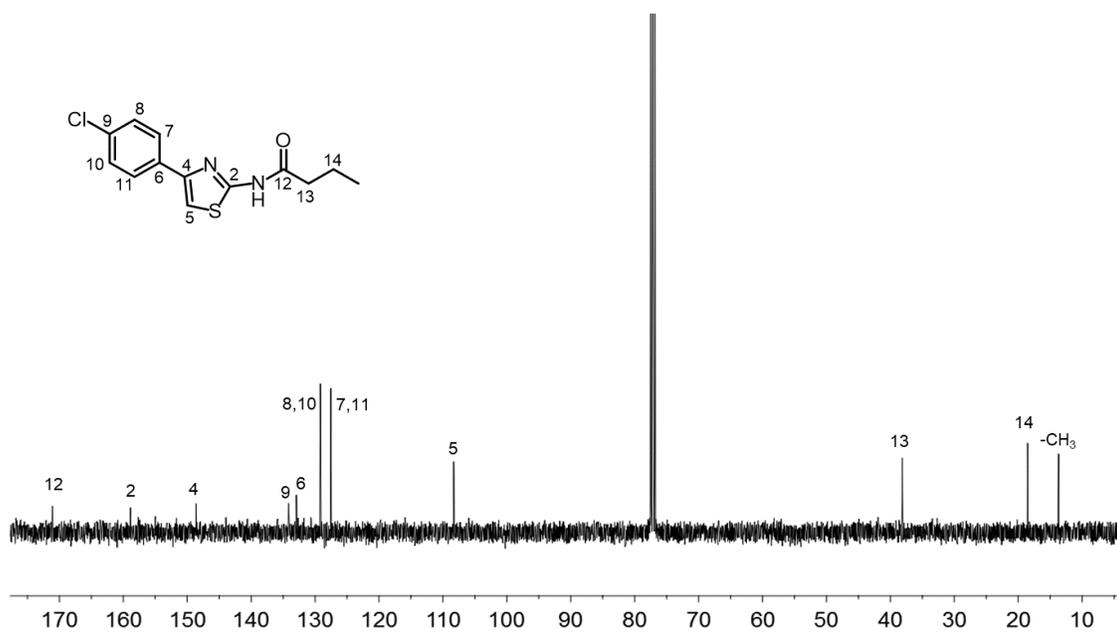


Figura 89. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-butanamida (**9b**) en CDCl₃ a 100 MHz.

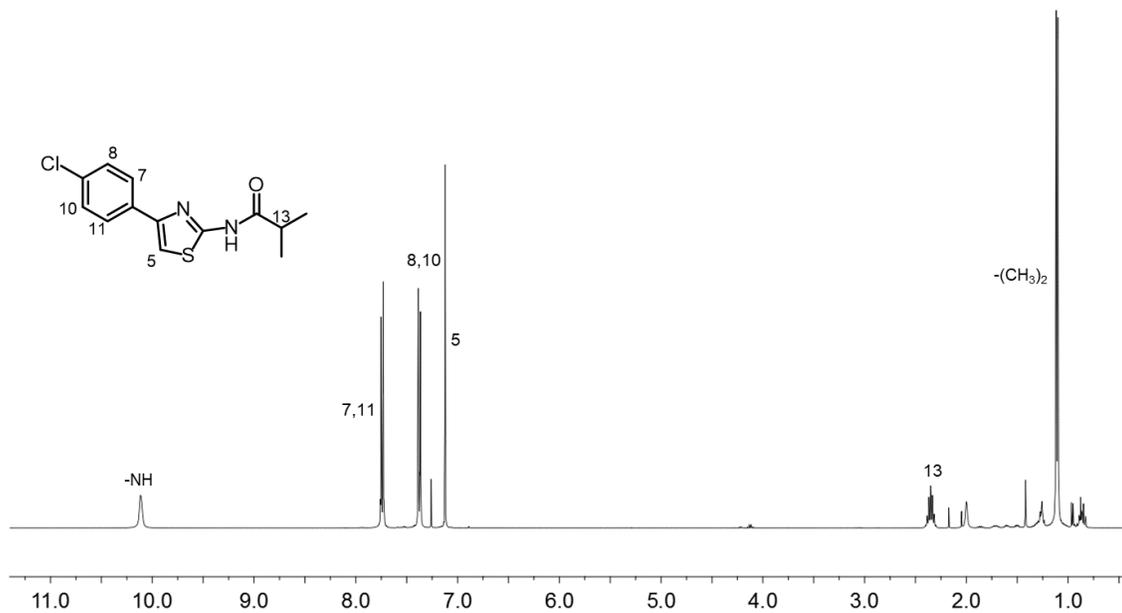


Figura 90. Espectro de RMN-¹H de *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-isobutanamida (**9c**) en CDCl₃ a 400 MHz.

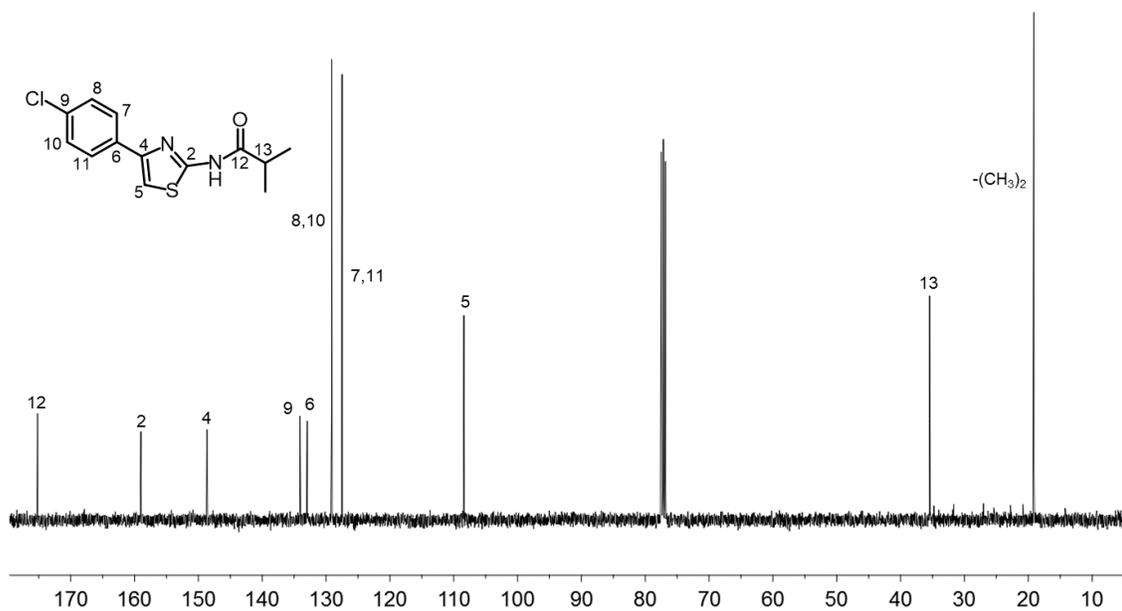


Figura 91. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-isobutanamida (**9c**) en CDCl₃ a 100 MHz.

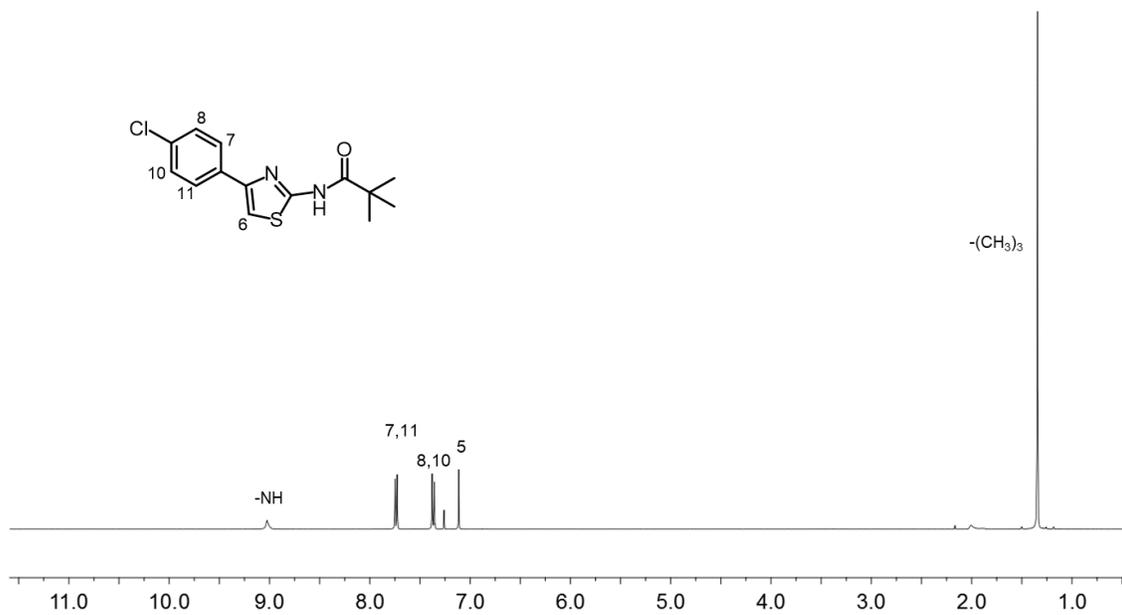


Figura 92. Espectro de RMN-¹H de *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-pivaloamida (**9d**) en CDCl₃ a 400 MHz.

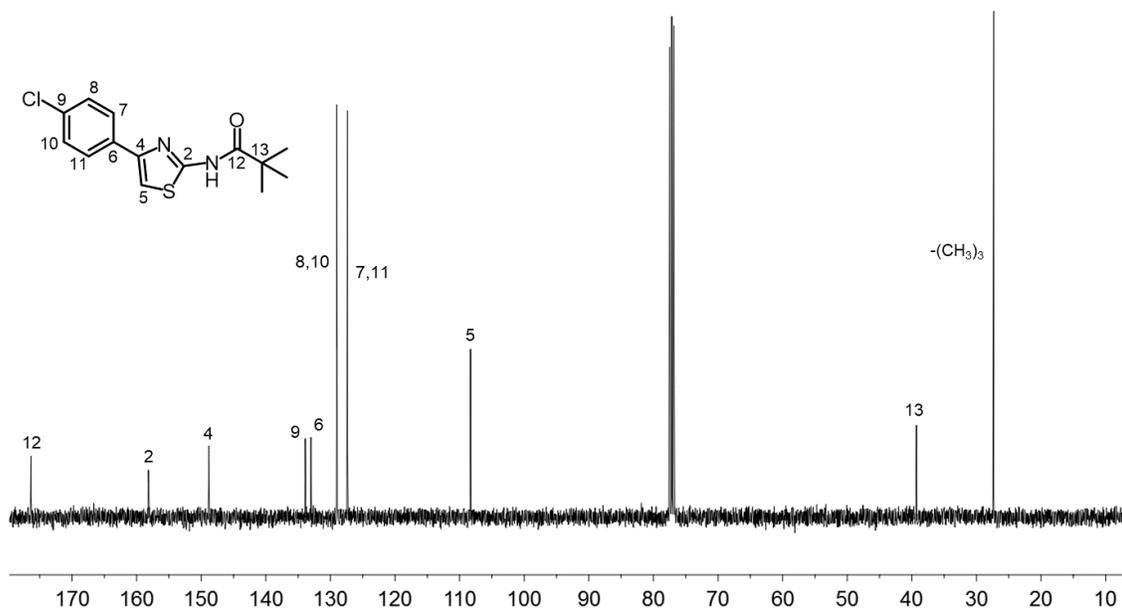


Figura 93. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-pivaloamida (**9d**) en CDCl₃ a 100 MHz.

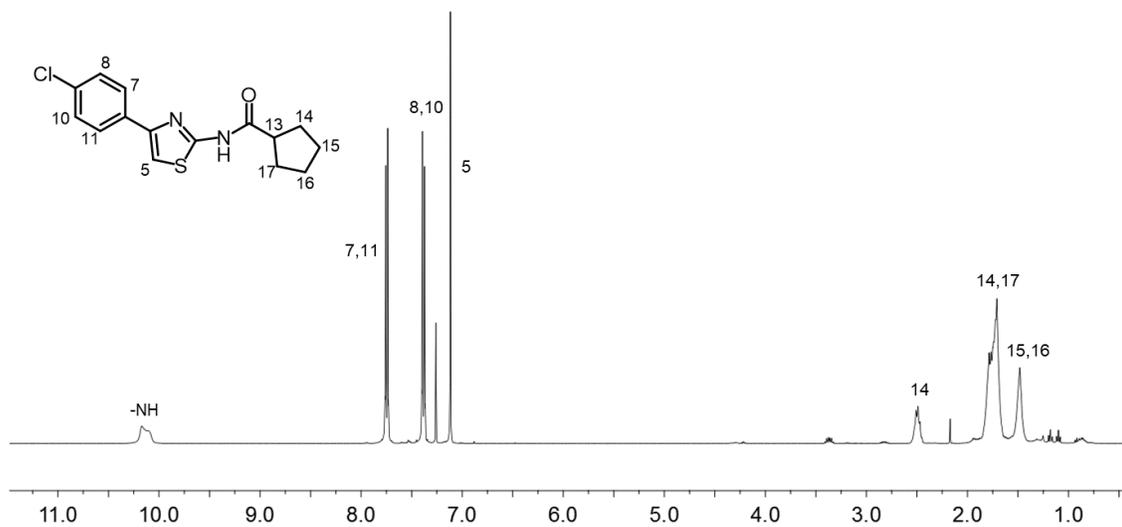


Figura 94. Espectro de RMN-¹H de *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-ciclopentamida (**9e**) en CDCl₃ a 400 MHz.

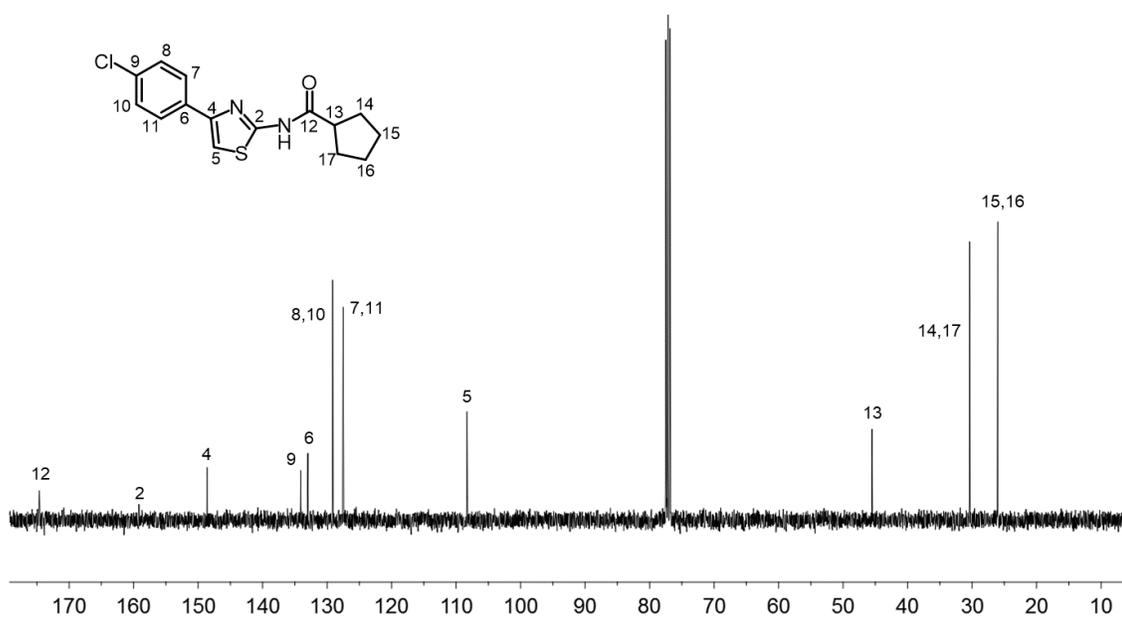


Figura 95. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-ciclopentamida (**9e**) en CDCl₃ a 100 MHz.

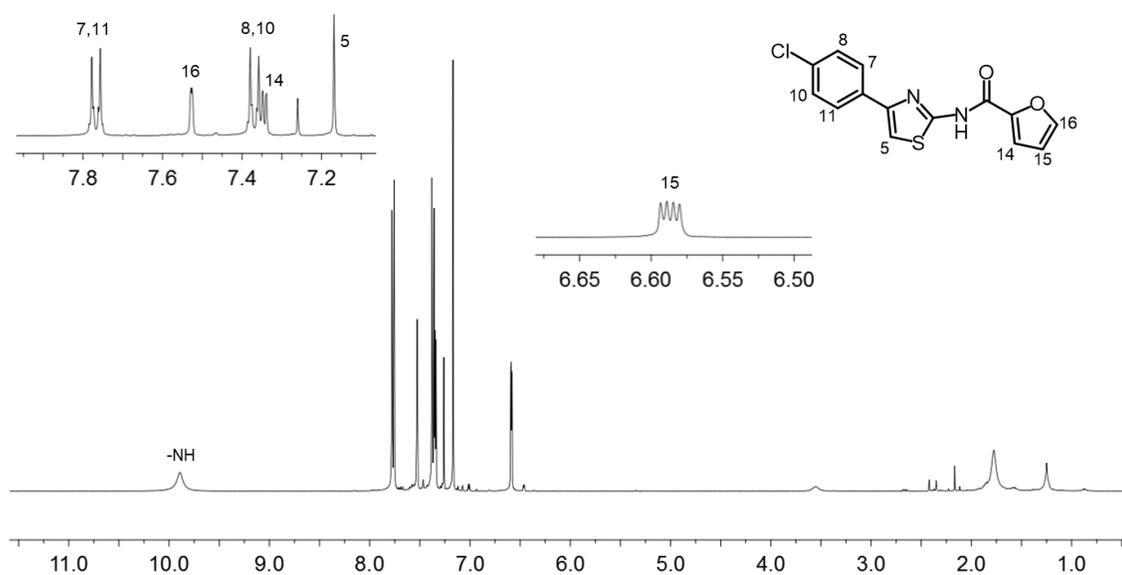


Figura 96. Espectro de RMN-¹H de *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-furamida (**9f**) en CDCl₃ a 400 MHz.

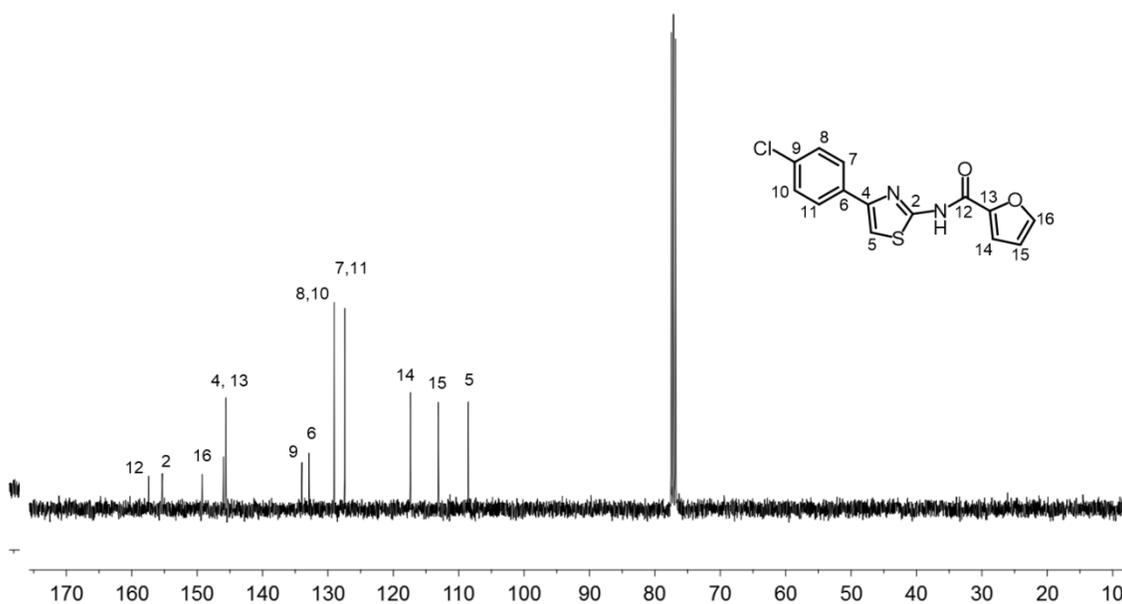


Figura 97. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-furamida (**9f**) en CDCl₃ a 100 MHz.

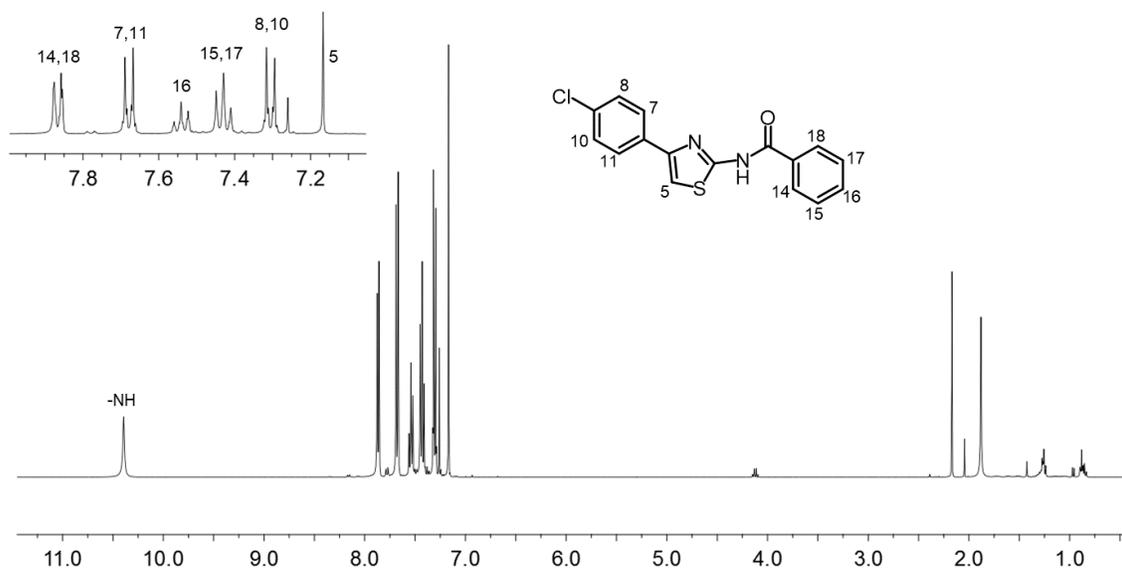


Figura 98. Espectro de RMN-¹H de *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-benzamida (**9g**) en CDCl₃ a 400 MHz.

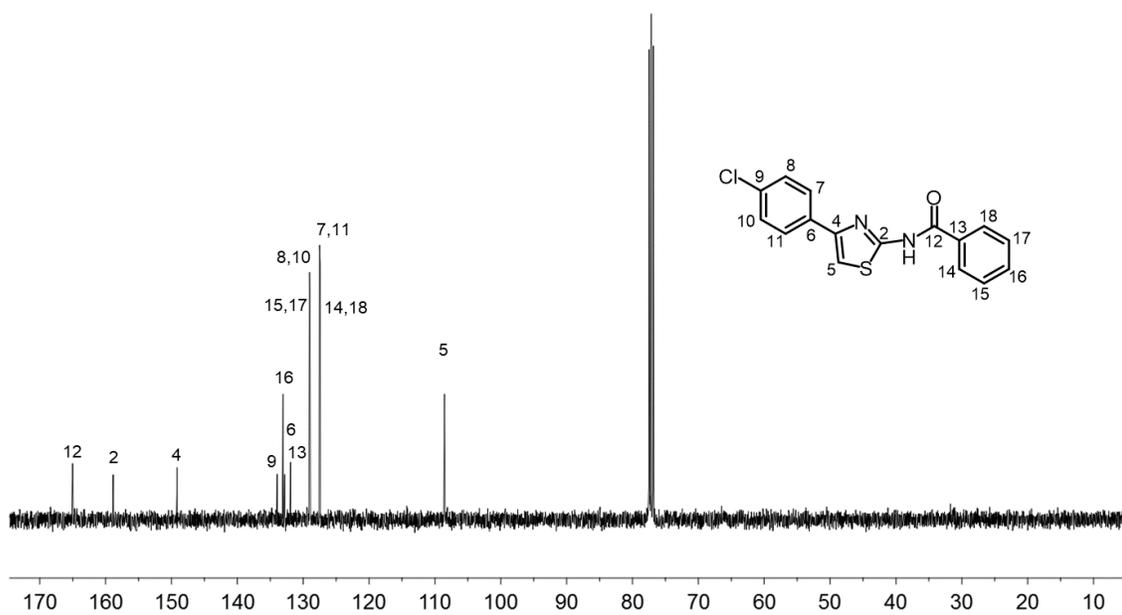


Figura 99. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-benzamida (**9g**) en CDCl₃ a 100 MHz.

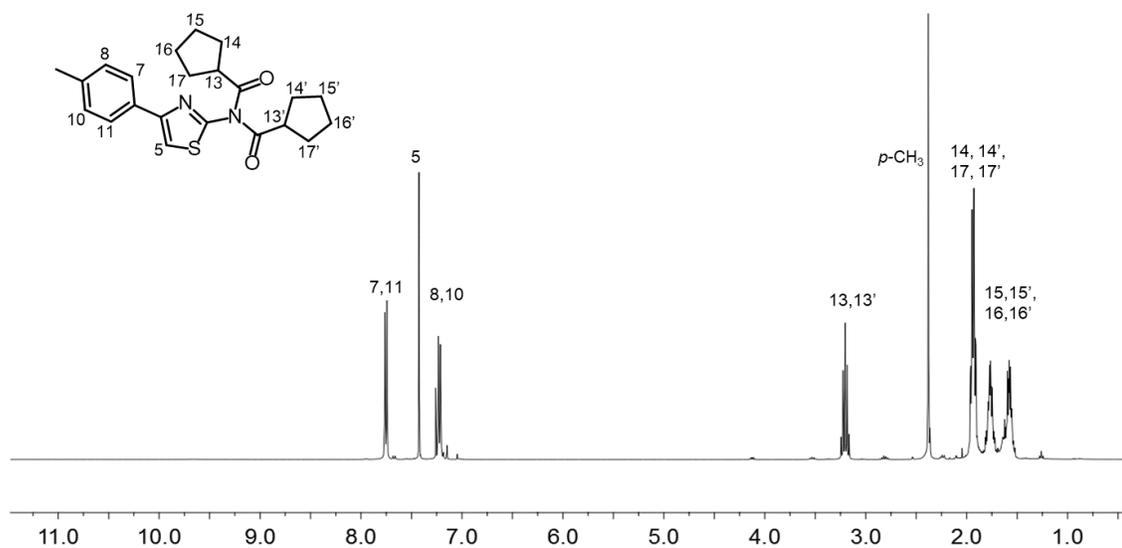


Figura 100. Espectro de RMN-¹H de *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-dicropentamida (**8e***) en CDCl₃ a 400 MHz.

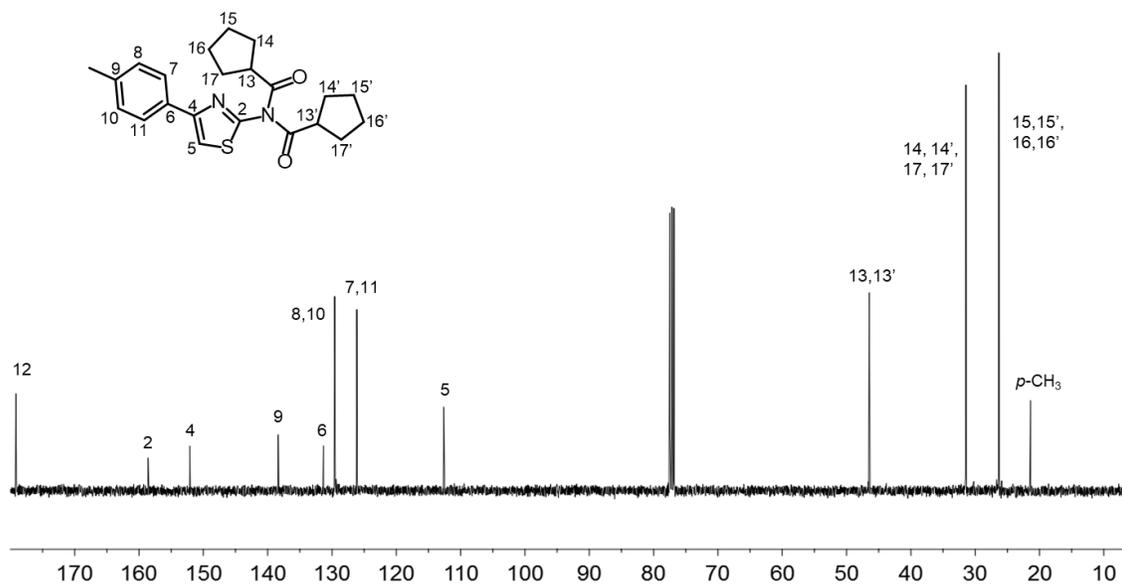


Figura 101. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(4-metilfenil-2-tiazolil)-dicropentamida (**8e***) en CDCl₃ a 100 MHz.

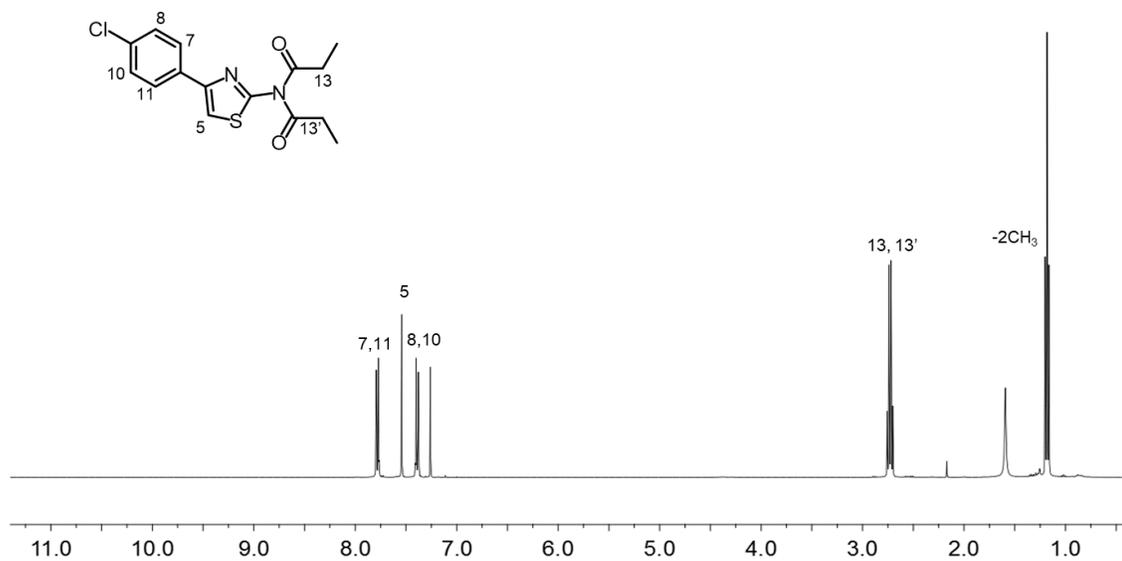


Figura 102. Espectro de RMN- ^1H de *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-dipropanamida (**9a***) en CDCl_3 a 400 MHz.

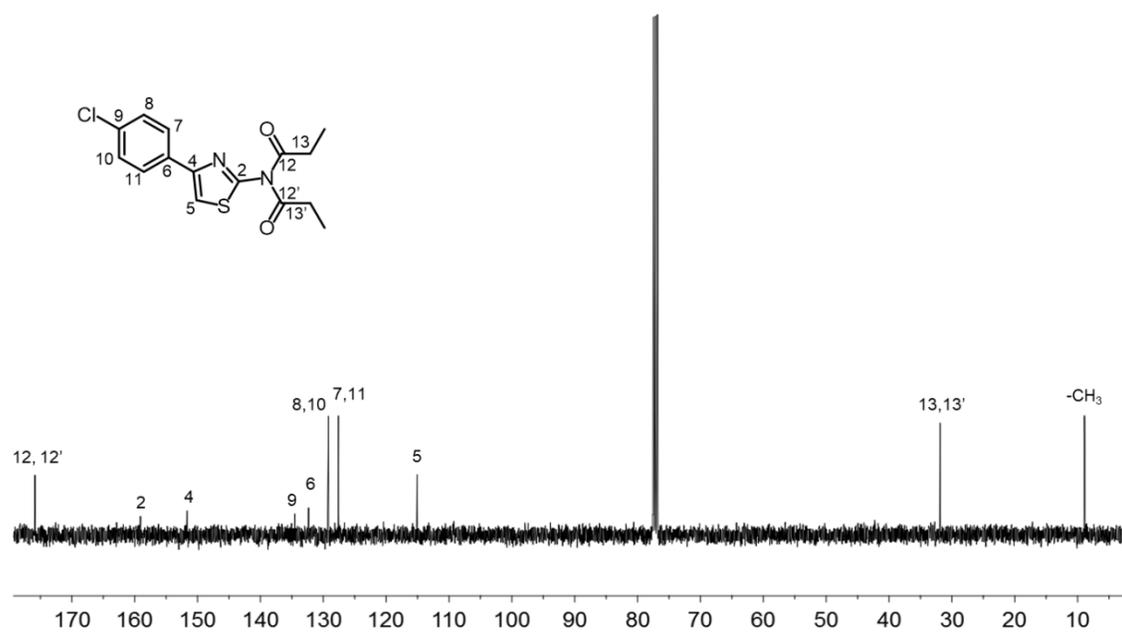


Figura 103. Espectro de RMN- ^{13}C de *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-dipropanamida (**9a***) en CDCl_3 a 100 MHz.

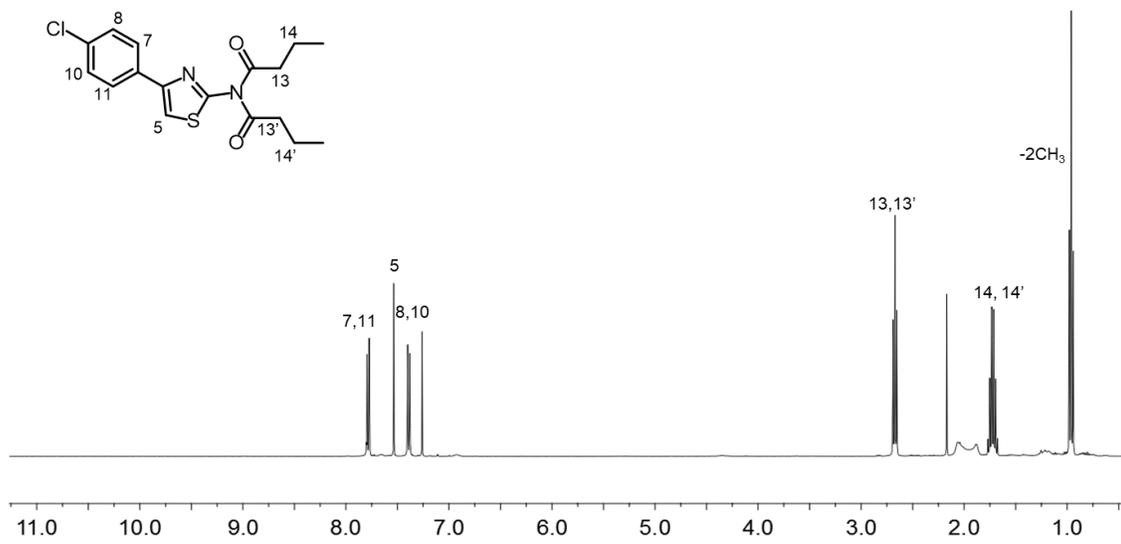


Figura 104. Espectro de RMN-¹H de *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-dibutanamida (**9b***) en CDCl₃ a 400 MHz.

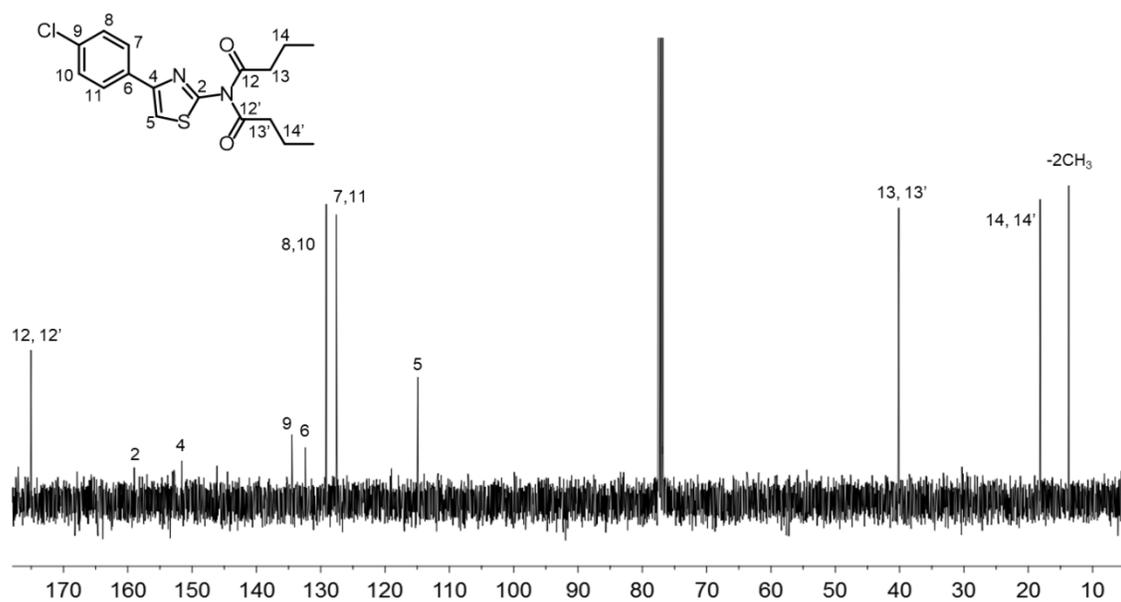


Figura 105. Espectro de RMN-¹³C de *N*-(4-clorofenil-2-tiazolil)-dibutanamida (**9b***) en CDCl₃ a 100 MHz.

