



Casa abierta al tiempo

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
**Unidad Xochimilco**

División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Departamento de Sistemas Biológicos  
Licenciatura en Químico Farmacéutico Biólogo

Informe de servicio social:

Síntesis de derivados de 3-fenil-1*H*-indazol y 2,3-difenil-2*H*-indazol como  
potenciales inhibidores de la trans-sialidasa de *Trypanosoma Cruzi*

Pertenece al proyecto genérico:

“Obtención de materias primas, principios activos, medicamentos y productos  
biológicos”

Presenta:

Luz Marina Rivera Cuahutle

Matricula: 2143060817

Asesor:

Dr. Jaime Pérez Villanueva

Laboratorio N-015 Síntesis y aislamiento de sustancias bioactivas.

Fecha de inicio: 8 de mayo del 2019

Fecha de terminación: 8 de noviembre del 2019

Octubre de 2022

## ÍNDICE

Resumen.....	3
<b>1. Introducción.....</b>	<b>4</b>
<b>2. Marco teórico.....</b>	<b>5</b>
2.1.    Ciclo de vida de <i>T. cruzi</i> .....	5
2.2.    Trans-sialidasa de <i>T. cruzi</i> .....	6
2.3.    Indazoles en el diseño de fármacos.....	6
<b>3. Antecedentes.....</b>	<b>8</b>
3.1.    Búsqueda de inhibidores de TsTc.....	8
<b>4. Planteamiento del problema.....</b>	<b>11</b>
<b>5. Objetivos.....</b>	<b>11</b>
5.1.    Objetivo general.....	11
5.2.    Objetivos específicos.....	11
<b>6. Parte experimental.....</b>	<b>11</b>
6.1.    Síntesis de los compuestos de la serie 1.....	11
6.1.1. Metodología general para el acoplamiento de Suzuki.....	12
6.1.1.1. 3-(4-Clorofenil)-1 <i>H</i> -indazol (MRC-23).....	13
6.1.1.2. 3-(4-Metoxifenil)-1 <i>H</i> -indazol (MRC-24).....	13
6.2.    Síntesis de los compuestos de la serie 2.....	14
6.2.1. Metodología general para la bromación del indazol.....	14
6.2.2. 2,3-Bis-(4-clorofenil)-1 <i>H</i> -indazol (MRC-27).....	14
6.2.3. 2,3-Bis-(4-metoxifenil)-1 <i>H</i> -indazol (MRC-29).....	15
<b>7. Resultados y discusión.....</b>	<b>15</b>
7.1.    Parte química.....	15
7.2.    Caracterización espectroscópica.....	16
<b>8. Conclusiones.....</b>	<b>18</b>
<b>9. Referencias.....</b>	<b>18</b>
<b>10. Espectros.....</b>	<b>23</b>

## RESUMEN

La enfermedad de Chagas causada por el *Trypanosoma cruzi* es un problema de salud pública muy importante. La infección es endémica en varias regiones rurales de la República Mexicana, en donde se identificaron treinta y nueve especies de triatominos, pero sólo veinte de ellos estaban infectados de manera natural por el *T. cruzi*.

Se describen dos formas de la enfermedad: la fase aguda y la crónica. La forma aguda generalmente se presenta en niños menores de 10 años y se caracteriza por fiebre elevada, escalofríos, dolor de cabeza, dolor muscular e inapetencia. La mortalidad por miocarditis en la etapa aguda es del 5-10%. Por otro lado, la fase crónica se diagnostica con más frecuencia que la aguda, afecta mayoritariamente a los individuos adultos y se manifiesta después de un período latente y asintomático prolongado tras la recuperación de la fase aguda. La enfermedad cardíaca crónica de Chagas puede producir muerte súbita por paro cardíaco o rotura ventricular.

El diagnóstico de la enfermedad de Chagas se fundamenta principalmente en el hallazgo de *T. cruzi* en la sangre o en los tejidos del individuo parasitado. Para la enfermedad de Chagas no existe ningún tratamiento totalmente eficaz. Se administra benznidazol y nifutimox. Se debe llevar a cabo el tratamiento con dosis graduales e iniciarlo con dosis más bajas para disminuir el riesgo de intolerancia. Los efectos secundarios más frecuentes son náuseas, vómitos, dolor abdominal, mareos, fiebre, cefalea y anorexia.

En general la información que se tiene sobre la enfermedad de Chagas es escasa y la relevancia de este problema aún se debate; por tanto, queda mucho por hacerse a fin de lograr un conocimiento completo y confiable sobre la enfermedad, sintomatología, la biología molecular del parásito, diagnóstico y tratamiento en contra de esta enfermedad, en el país.

Una de las principales metas en los laboratorios de investigación es encontrar nuevas moléculas con potencial actividad antiprotozoaria, tal es el caso del laboratorio de síntesis y aislamiento de sustancias bioactivas de la UAM Xochimilco donde se han usado como base heterociclos como el indazol. Por lo tanto, para contribuir con la generación de nuevos compuestos bioactivos, en el presente trabajo se reporta la síntesis cuatro derivados de 3-fenil-1*H*-indazol y 2,3-difenil-2*H*-indazol como potenciales inhibidores de la trans-sialidasa de *Trypanosoma Cruzi*.

## 1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas o tripanosomosis americana es una infección sistémica causada por el protozooario *Trypanosoma cruzi*. Es una zoonosis en la que participan un gran número de reservorios vertebrados y transmisores triatóminos. La infección se transmite a los seres humanos principalmente por las heces de insectos conocidos como vinchucas, chinches o con otros nombres, según la zona geográfica; también se puede adquirir mediante transfusión de sangre, transmisión congénita (de la madre infectada a su hijo) y órganos donados, aunque estos modos de transmisión son menos frecuentes.<sup>1</sup>

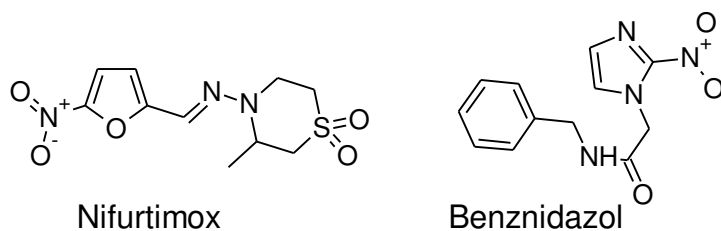
Se estima que 7 millones de personas están infectadas a nivel global, con 21 países endémicos de la enfermedad en Latinoamérica, en los que el principal mecanismo de transmisión es a través del contacto con heces de los triatóminos.<sup>2</sup> En México se estima 1.1 millones las personas infectadas, de acuerdo con las cifras oficiales, aunque existen otras estimaciones que van de 1–6 millones.<sup>3</sup>

La enfermedad se considera, de manera histórica, un severo problema de salud en áreas rurales de México, América Central y Sudamérica, con manifestaciones clínicas y características epidemiológicas variables.<sup>4</sup> Cuando una persona es infectada suelen presentarse los siguientes síntomas: fiebre, dolor de cabeza, agrandamiento de ganglios linfáticos, palidez, dolores musculares, dificultad para respirar, hinchazón y dolor abdominal o torácico en la fase aguda y trastornos cardíacos, alteraciones digestivas (típicamente, agrandamiento del esófago o del colon), neurológicas o mixtas en la fase crónica. Con el paso de los años, la infección puede causar muerte súbita o insuficiencia cardíaca por la destrucción progresiva del músculo cardíaco.<sup>5</sup>

La importancia de esta patología radica en su elevada prevalencia, su escaso tratamiento, las grandes pérdidas económicas por incapacidad laboral, y la muerte repentina de personas aparentemente sanas; además de que actualmente se encuentra dentro de la lista de las principales "enfermedades desatendidas".<sup>1</sup> Por estas razones, es de suma importancia desarrollar fármacos que estén dirigidos al tratamiento de tripanosomiasis.

Hasta la fecha se cuenta con algunas alternativas para el tratamiento de la tripanosomiasis, como lo son el benznidazol y nifurtimox, Figura 1, sin embargo, estos fármacos a menudo se toleran mal y pueden producir efectos secundarios graves en el huésped, especialmente cuando se requieren protocolos de tratamiento prolongado. En la fase aguda de la enfermedad, estos compuestos son frecuentemente ineficaces debido a las diferencias de

susceptibilidad de las cepas y son inútiles para la etapa crónica. También han sido reportados casos de resistencia a estos fármacos por parte del parásito.<sup>6-8</sup>



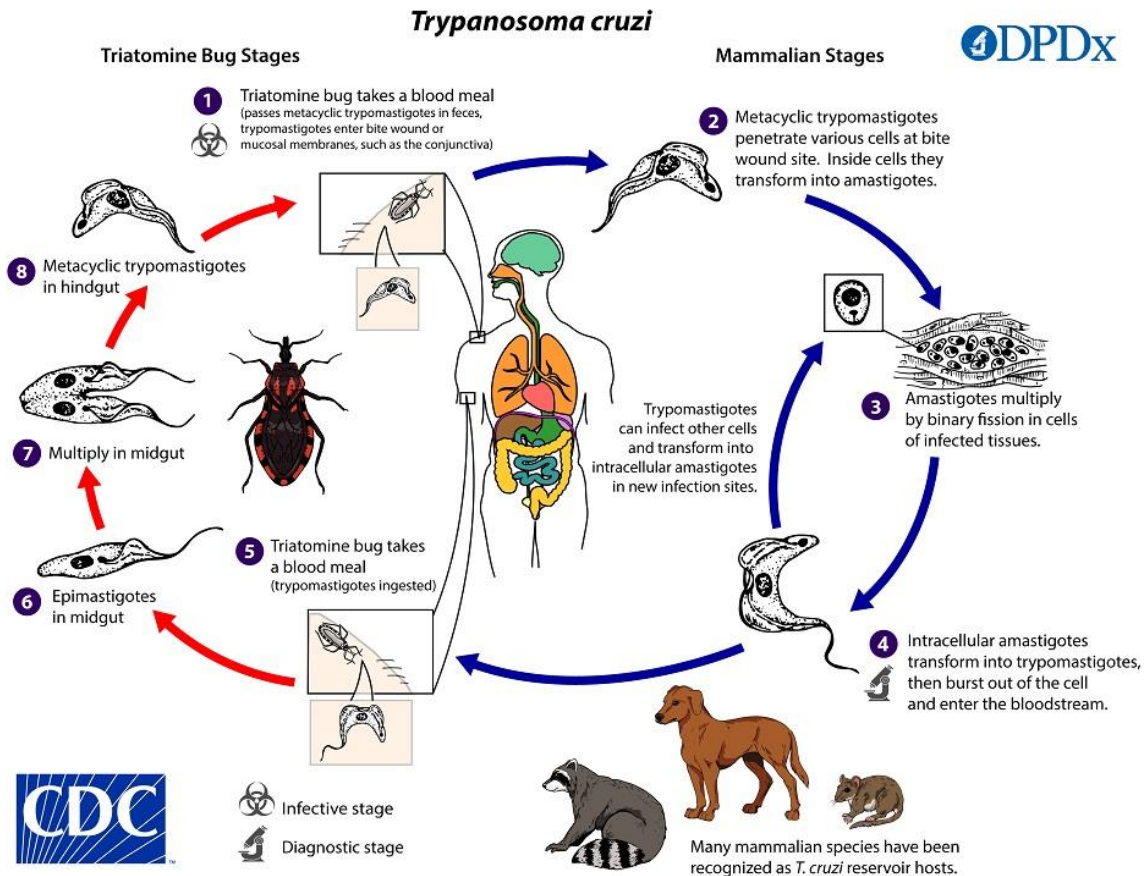
**Figura 1.** Estructura del benznidazol y nifurtimox.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Ciclo de vida de *T. cruzi*

El ciclo de vida del parásito comienza con un insecto vector triatomino infectado, también conocido como chinche besucona, que es un artrópodo hematófago. La chinche al alimentarse defeca y libera tripomastigotes en sus heces cerca del sitio de la mordedura. Esto favorece que los tripomastigotes ingresen al huésped a través de la herida de la mordedura. Posteriormente, los tripomastigotes se diferencian en amastigotes intracelulares en las células cercanas al sitio de inoculación por fisión binaria, luego se liberan a la circulación en forma de tripomastigotes que pueden infectar células de diversos tejidos y se transforman nuevamente en amastigotes intracelulares en nuevos sitios de infección.

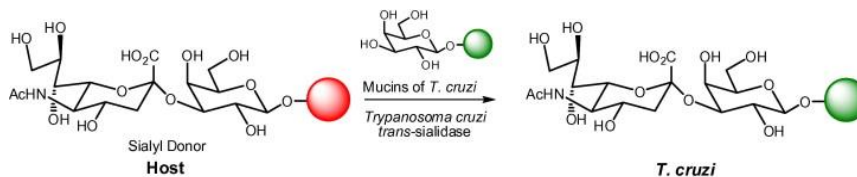
La chinche besucona adquiere el parásito al alimentarse de sangre de humanos o animales infectados. Los tripomastigotes ingeridos se transforman en epimastigotes en intestino medio del vector y los parásitos se multiplican y diferencian en tripomastigotes metacíclicos infecciosos, Figura 2.<sup>9-10</sup>



**Figura 2.** Ciclo de vida del parásito *T. cruzi* (tomado de la referencia 10).

## 2.2. Trans-sialidasa de *T. cruzi*

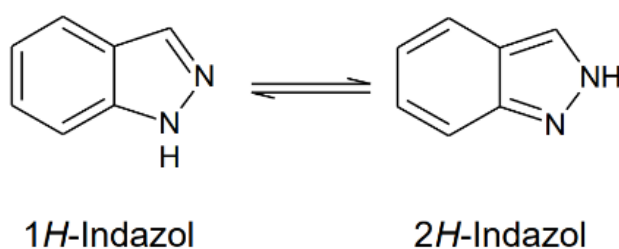
Uno de los blancos terapéuticos para el diseño de nuevos compuestos contra *T. cruzi* es la trans-sialidasa (TsTc). La superficie del tripomastigote invasor está cubierta por numerosas trans-sialidasas, cuya función principal es adquirir unidades de ácido siálico de los glicoconjugados del mamífero hospedador y transferirlos a la membrana de *T. cruzi*, brindando protección directa contra el reconocimiento por parte del sistema inmune del hospedador y la resistencia al complemento y la supervivencia inmediata de los tripomastigotes liberados al torrente sanguíneo, Figura 3.<sup>11</sup>



**Figura 3.** Mecanismo de la transferencia de ácido siálico por la TsTc (tomado de Giorgi y Lederkremer 2011).<sup>11</sup>

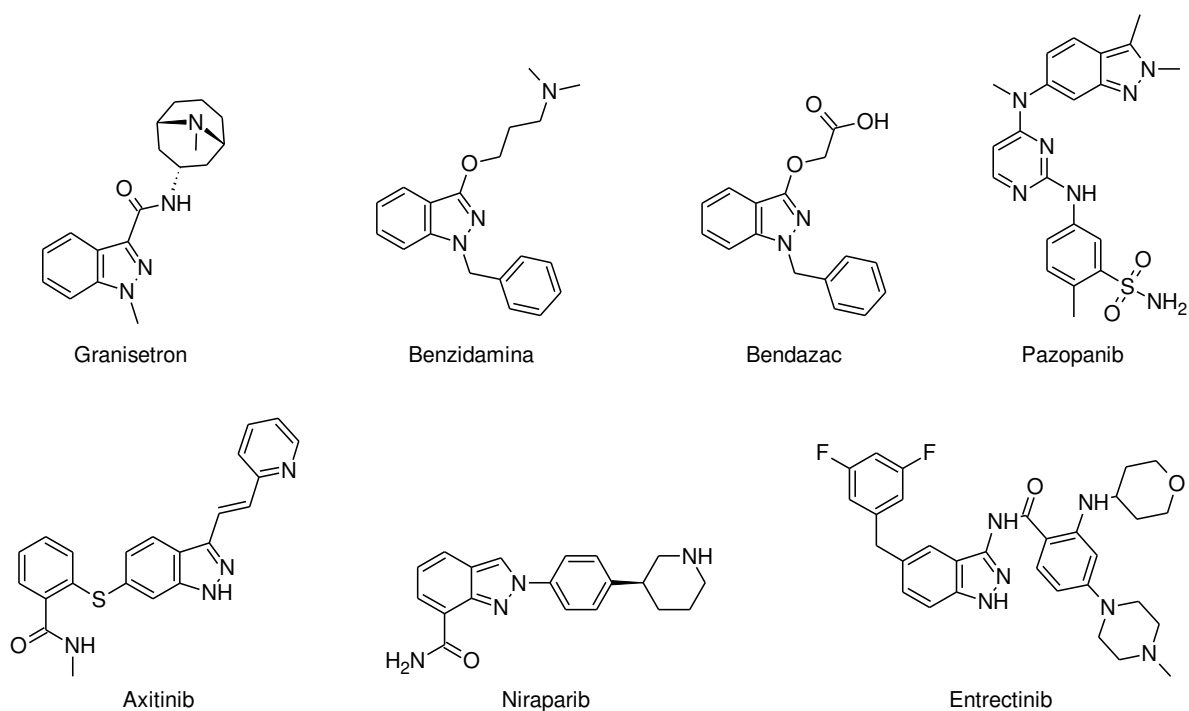
### 2.3. Indazoles en el diseño de fármacos

El indazol es un heterociclo que tiene un anillo de pirazol fusionado con un benceno con un comportamiento reactivo que se asemeja a la piridina y al pirrol. Contiene dos átomos de nitrógeno, presenta un tautomerismo anular con respecto a la posición del hidrógeno, habiendo así dos isómeros posibles, el *1H*-indazol y el *2H*-indazol; el primero es la forma predominante, debido a la diferencia de energía entre los dos.<sup>12</sup>



**Figura 4.** Formas tautoméricas del Indazol.

La síntesis de nuevos compuestos derivados del indazol, ha resultado de gran importancia debido a que se han aplicado con éxito en la industria farmacéutica para la obtención de agentes terapéuticos,<sup>13</sup> como los antiinflamatorios benzidamina y benznadac, el antiemético granisetron, los anticancerígenos niraparib y entrectinib, entre otros, **Figura 5.**<sup>14</sup> Otros derivados en investigación han sido sintetizados y se encuentra reportados con actividad antibacteriana, antiparasitaria y fungicida, teniendo como finalidad incrementar la actividad biológica, selectividad u otras propiedades para su optimización como potenciales fármacos.<sup>15</sup>



**Figura 5.** Estructuras químicas de fármacos que contienen indazol.

La obtención de estos compuestos resulta interesante y compleja, en donde algunas veces se utilizan reactivos regulados, condiciones o equipos especiales y es común obtener bajos rendimientos.<sup>16</sup> Considerando la gran importancia de las aplicaciones, así como las condiciones que engloban su obtención, surge el interés por obtener nuevos derivados de este tipo con la finalidad de utilizarse en aplicaciones específicas.<sup>17</sup> En nuestro grupo de investigación se han sintetizado y evaluado derivados de indazol con actividad citotóxica, antiinflamatoria, antiprotozoaria y antifúngica, por lo tanto, existe también interés en el desarrollo de compuestos contra *T. cruzi*.<sup>18-22</sup>

### 3. ANTECEDENTES

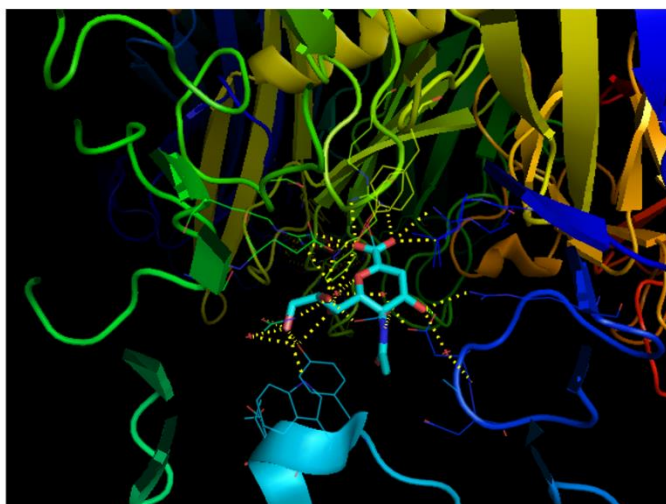
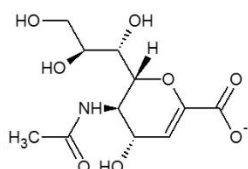
#### 3.1. Búsqueda de inhibidores de TsTc

En la actualidad se conoce la estructura cristalográfica de la enzima **TsTc** con el inhibidor DANA, Figura 6.<sup>23</sup> Sin embargo, los inhibidores conocidos son débiles, incluyendo a DANA.<sup>24</sup> Por consiguiente, se han buscado inhibidores de TsTc que incluyen derivados de ácidos benzoicos, piridinas (Tabla 1), y algunos compuestos benzofusionados.<sup>25,26</sup> Otros ácidos benzoicos han sido reportados con actividad directamente sobre dos cepas del parásito, Tabla 2.



## 1MS8

- Rayos X
- Resolución 2.00 Å
- Cristal triclinico
- Estructura alterna
  
- Ligando cristalográfico: **DANA**

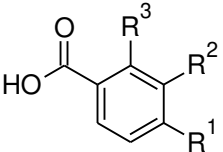


**Figura 6.** Trans-sialidaza de *T. cruzi* co-cristalizada con **DANA** (1MS8).

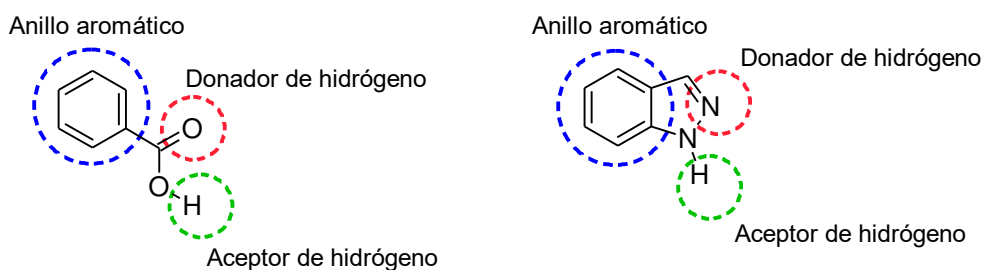
**Tabla 1.** Algunos derivados de ácido benzoico y piridin-2-carboxilato reportados contra TsTc

$R^1$	$R^2$	X	Actividad
$CH_2OH$	$NHCOCH_3$	CH	0.54
$N=C(NH_2)_2$	$CONHCH_3$	CH	0.76
$NH_2$	$NHCOCH_2Ph$	CH	1.2
$NHCOCH_3$	N-morfolinil	CH	0.58
$NH_2$	(Piridin-3-ilmetil)amino	CH	0.74
$NH_2$	$SCH_2Ph$	CH	0.70
$NHCOCH_2NH_2$	$SCH_2Ph$	CH	1.0
$NH_2$	$NHCOCH_3$	N	0.44
H	$NHCSCCH_3$	N	0.54

**Tabla 2.** Derivados de ácidos benzoicos evaluados contra dos cepas de *T. cruzi* y *TsTc*

						
R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	NINOA LC <sub>50</sub> (μM)	INC-5 LC <sub>50</sub> (μM)	% Inhib. at 1 mM
NH <sub>2</sub>	H	H	OH	0.52 ± 0.19	1.24 ± 1.0	30
NHNH <sub>2</sub>	H	H	OH	0.66 ± 0.39	0.58 ± 0.4	61
N <sub>3</sub>	H	H	OH	0.60 ± 0.46	0.47 ± 0.35	40
NO <sub>2</sub>	H	H	OH	0.47 ± 0.16	0.46 ± 0.38	43
NH <sub>2</sub>	H	H	OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	0.10 ± 0.041	0.10 ± 0.047	1
NHCOCH <sub>3</sub>	H	H	OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	0.34 ± 0.18	0.21 ± 0.1	7
NH <sub>2</sub>	NO <sub>2</sub>	H	OH	1.37 ± 0.56	0.63 ± 0.3	77
NHCOCH <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub>	H	OH	1.10 ± 0.58	0.21 ± 0.1	66
NHCOCH <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub>	H	OCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>	0.02 ± 0.012	0.22 ± 0.09	47
NHCOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> - <i>p</i> -Cl	NO <sub>2</sub>	H	OH	0.14 ± 0.08	0.0008 ± 0.0001	Not tested *
NHCOC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> -OCH <sub>3</sub>	NO <sub>2</sub>	H	OH	0.61 ± 0.3	0.43 ± 0.28	Not tested *
NH <sub>2</sub>	H	OH	OH	0.27 ± 0.10	0.26 ± 0.09	32
NHCOCH <sub>3</sub>	H	OH	OH	1.28 ± 0.26	1.28 ± 0.31	34
H	H	OH	OH	0.576 ± 0.32	0.721 ± 0.42	17
NHCOCH <sub>3</sub>	H	H	OH	1.39 ± 0.75	0.878 ± 0.55	30

En nuestro grupo de investigación se han estudiado derivados de indazol que incluyen 3-fenilindazoles y 2,3-difenilindazoles, los cuales han mostrado actividad antiprotozoaria contra *G. intestinalis*, *E. histolytica* y *T. vaginalis*; antibacteriana sobre (*E. coli*) y antifúngica sobre *C. albicans* y *C. glabrata*.<sup>20</sup> Por lo tanto, resulta interesante investigar sobre el posible efecto antiprotozoario de los derivados de indazol sobre *T. cruzi* y en particular sobre TsTc. Como se mencionó anteriormente, se conocen derivados de ácidos benzoicos con actividad inhibitoria sobre TsTc y *T. cruzi*.<sup>25,26</sup> De manera general, el ácido benzoico comparte características estructurales similares al indazol como es un anillo aromático, un donador de hidrógeno y un aceptor de hidrógeno, por los tanto, es interesante sintetizar derivados para evaluar su posible efecto sobre TsTc y *T. cruzi*.



**Figura 7.** Diseño de los compuestos.

En el presente trabajo se plantea la síntesis de dos derivados de 3-fenil-1*H*-indazol y dos derivados análogos de 2,3-difenil-2*H*-indazol como potenciales inhibidores de la trans-sialidasa de *Tripanosoma Cruzi*.

#### **4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La enfermedad de Chagas se considera, de manera histórica, un severo problema de salud en áreas rurales de México, América Central y Sudamérica, con manifestaciones clínicas y características epidemiológicas variables. Con el paso de los años, la infección puede causar muerte súbita o insuficiencia cardiaca por la destrucción progresiva del músculo cardiaco. Hasta la fecha se cuenta con algunas alternativas para el tratamiento de la tripanosomiasis, como lo son el benznidazol y nifurtimox, sin embargo, estos fármacos a menudo se toleran mal. Además, en la fase aguda de la enfermedad, estos compuestos son frecuentemente ineficaces debido a las diferencias de susceptibilidad de las cepas y son inútiles para la etapa crónica. Es por estas razones que se considera urgente la búsqueda de nuevos compuestos activos contra *T. cruzi*.

#### **5. OBJETIVOS**

##### **5.1 Objetivo general:**

Sintetizar compuestos heterocíclicos como potenciales inhibidores de la trans-sialidasa de *Tripanosoma Cruzi*

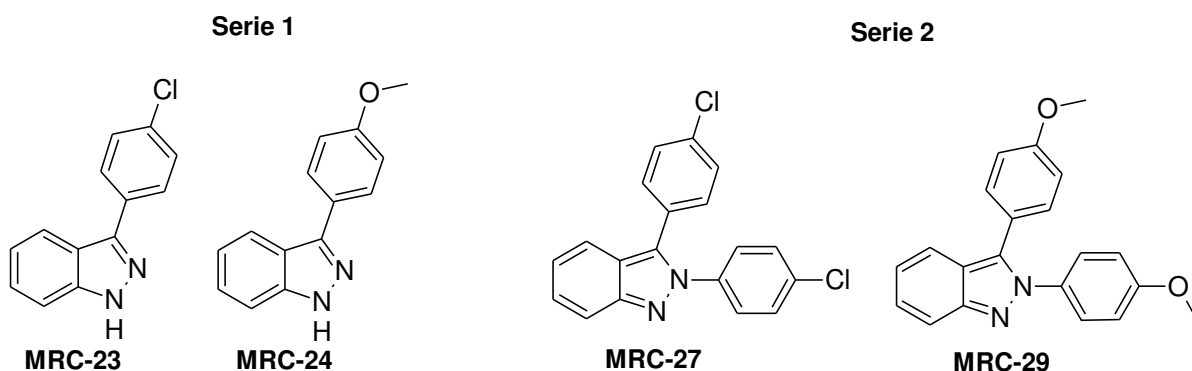
##### **5.2 Objetivos específicos:**

- Sintetizar dos derivados de 3-fenil-1*H*-indazol.
- Sintetizar dos derivados de 2,3-difenil-2*H*-indazol.
- Caracterizar la estructura de los compuestos obtenidos por métodos espectroscópicos de Infrarrojo (IR) y Resonancia Magnética Nuclear de <sup>13</sup>C y <sup>1</sup>H.

#### **6. PARTE EXPERIMENTAL**

La síntesis de los compuestos descrita en el presente trabajo se realizó en el laboratorio de Síntesis y Aislamiento de Sustancias Bioactivas del Departamento de Sistemas Biológicos

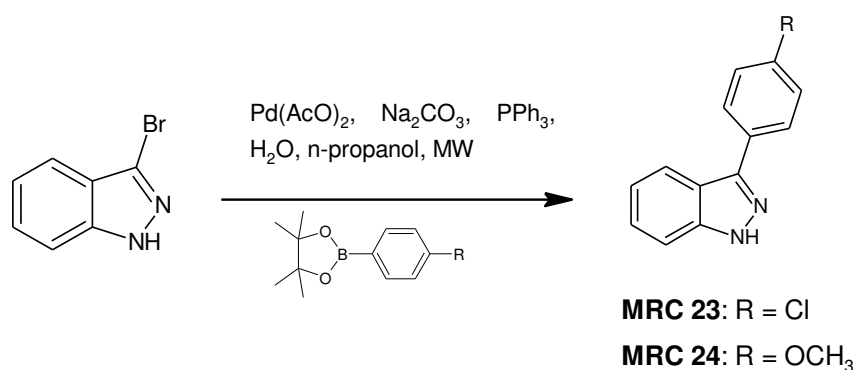
de la UAM Xochimilco. Para el desarrollo de la síntesis de los compuestos, se dividió en dos, serie 1 y 2, **Figura 8**.



**Figura 8.** Compuestos sintetizados y evaluados en este trabajo.

### 6.1. Síntesis de los compuestos de la serie 1

La síntesis general de los compuestos de la serie 1 empleando el acoplamiento de Suzuki se muestra en el Esquema 1.



**Esquema 1.** Síntesis de los compuestos de la serie 1.

#### 6.1.1. Metodología general para el acoplamiento de Suzuki

En un vial de microondas (alternativamente en un matraz bola) se colocó 3-bromo-1*H*-indazol y ácido fenilborónico o su éster pinacólico apropiadamente sustituido (1.1 eq), acetato de paladio (0.01eq.), carbonato de sodio Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1.2 eq.) y trifenilfosfina C<sub>18</sub>H<sub>15</sub>P (0.03 eq.) en 5 ml de propanol y 2 ml de agua. Se colocó el vial en un reactor de microondas

a 150 °C por 20 minutos (alternativamente se colocó el matraz de bola a reflujo por tres horas), el avance de la reacción se monitoreó por medio de una Cromatografía en Capa Fina (CCF) en placas de sílice-gel 60 F254 de la marca Merck hasta agotarse la materia prima.<sup>19,21</sup> El producto crudo se purificó por medio de cromatografía en columna usando como fase estacionaria sílica gel (MACHEREY-NAGEL) y como fase móvil Hexano: Acetato de etilo (9:1) para los compuestos **MRC-23** y **MRC-24** y (95:5) para **MRC-27** y **MRC-29**.

A los compuestos obtenidos se les determinó el punto de fusión utilizando el equipo Melting point M-565 de la marca BÜCHI, se caracterizaron mediante espectroscopia infrarroja, utilizando un espectrofotómetro infrarrojo con transformada de Fourier marca Perkin Elmer, modelo FT-IR Spectrum RX, en pastilla de KBr y Resonancia Magnética Nuclear de hidrógeno y carbono utilizando un equipo Agilent DD2 que opera a 600 MHz y 151 MHz para <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, respectivamente.

#### **6.1.1.1. 3-(4-Clorofenil)-1*H*-indazol (MRC-23)**

Siguiendo la metodología descrita anteriormente en el punto 6.1.1. empleando microondas como fuente de calentamiento se obtuvo un polvo amarillo con un rendimiento de 32.77% con un punto de fusión de 151-153°C.

IR (KBr) en cm<sup>-1</sup>: 3448.27, 3150.86, 3107.75, 2926.72, 2853.44, 2366.37, 1722.67, 1617.33, 1337.86, 1258.32, 1086.33, 1011.09, 912.20, 834.81, 748.82.

RMN <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 10.65 (s, 1H), 7.99 (dt, *J* = 8.2, 0.9 Hz, 1H), 7.95 – 7.91 (m, 2H), 7.51 – 7.48 (m, 2H), 7.47 – 7.40 (m, 2H), 7.27 – 7.23 (m, 1H).

RMN <sup>13</sup>C (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 144.69, 141.64, 134.02, 132.01, 129.06, 128.72, 126.97, 121.64, 120.87, 120.81, 110.08.

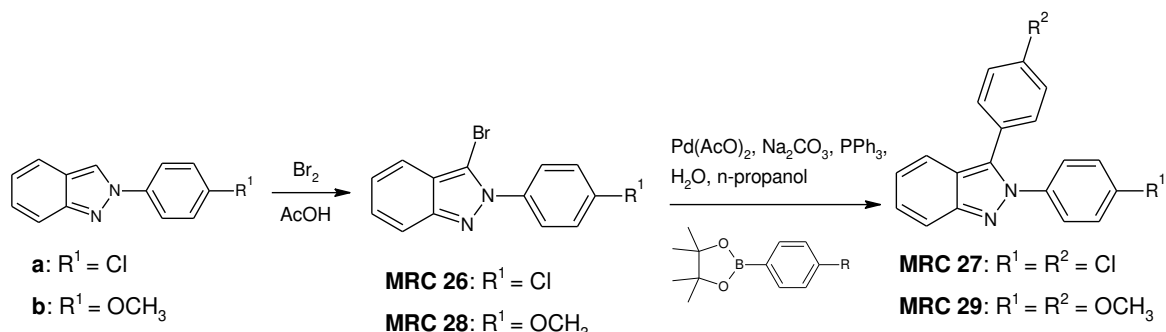
#### **6.1.1.2. 3-(4-Metoxifenil)-1*H*-indazol (MRC-24)**

De acuerdo con la metodología descrita en el punto 6.1.1. empleando microondas como fuente de calentamiento se obtuvieron cristales blancos con un rendimiento de 32.77% con un punto de fusión de 85-86°C.

IR (KBr) en cm<sup>-1</sup>: 3426.72, 3310.34, 2948.27, 2370.68, 2344.82, 1699.02, 1608.73, 1473.30, 1438.90, 1284.11, 1176.62, 1118.58, 989.59, 781.06, 707.97.

## 6.2. Síntesis de los compuestos de la serie 2

La síntesis general de los compuestos de la serie 2 se llevó a cabo empleando la bromación selectiva del indazol y el acoplamiento de Suzuki se muestra en el Esquema 2.



**Esquema 2.** Síntesis de los compuestos de la serie 2.

### 6.2.1. Metodología general para la bromación del indazol

En un matraz de bola de 50 ml se colocaron 250 mg de 2-fenil-2*H*-indazol disueltos en 5 ml de ácido acético. Posteriormente se agregó gota a gota una solución 1M de Br<sub>2</sub> en ácido acético (1 equivalente) y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 12 horas. La reacción fue monitoreada por medio de CCF. Terminada la reacción se vertió en un vaso de precipitados con agua y hielo, en agitación constante, hasta observar la formación de un precipitado blanco, que posteriormente se filtró al vacío y se dejó secar.<sup>28</sup>

Para el tratamiento de la reacción se redujo el volumen a presión disminuida, se impregnó el crudo con sílica y se separó por columna cromatográfica usando como fase móvil 95:5 (Hexano:Acetato de etilo).

### 6.2.2. 2,3-Bis(4-clorofenil)-1*H*-indazol (MRC-27)

Siguiendo la metodología descrita en el punto 6.1.1. se obtuvieron cristales translucidos con un rendimiento del 40.32% con punto de fusión de 120-124°C.

IR (KBr) en cm<sup>-1</sup>: 3422.29, 3056.13, 1893.10, 1624.59, 1500.71, 1492.25, 1402.33, 1363.50, 1299.63, 1288.05, 1094.93, 1015.49, 972.70, 832.66, 751.73. 584.00, 509.38

RMN <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.79 (dt, *J* = 8.7, 0.8 Hz, 1H), 7.65 (dt, *J* = 8.3, 0.7 Hz, 1H), 7.42 – 7.36 (m, 7H), 7.30 – 7.27 (m, 2H), 7.16 (ddd, *J* = 8.4, 6.7, 0.7 Hz, 1H).

RMN <sup>13</sup>C (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 149.10, 138.45, 134.72, 134.34, 134.11, 130.81, 129.34, 129.29, 128.05, 127.34, 127.07, 123.07, 121.81, 120.07, 117.84.

### 6.2.3. 2,3-Bis(4-metoxifenil)-1*H*-indazol (MRC-29)

De acuerdo con la metodología descrita anteriormente en el punto 6.1.1. se obtuvo un polvo blanco con rendimiento del 59.37% con un punto de fusión de 105-108°C.

IR (KBr) en cm<sup>-1</sup>: 3432.68, 2935.45, 2836.18, 1607.98, 1512.47, 1459.79, 1361.72, 1288.06, 1254.02, 1173.44, 1110.76, 1089.95, 1025.90, 834.09, 749.91, 670.55, 603.59.

RMN <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.79 – 7.76 (m, 1H), 7.70 – 7.67 (m, 1H), 7.37 – 7.27 (m, 5H), 7.11 (ddd, *J* = 8.4, 6.6, 0.7 Hz, 1H), 6.95 – 6.88 (m, 4H), 3.84 (s, 3H), 3.83 (s, 3H).

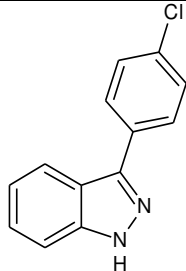
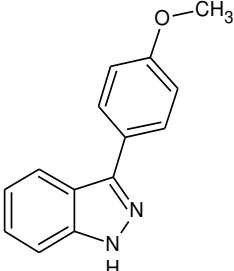
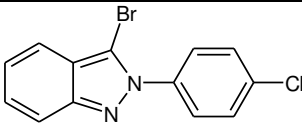
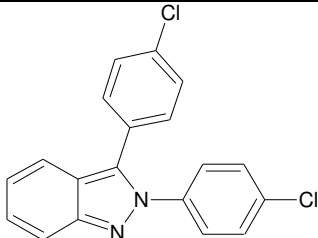
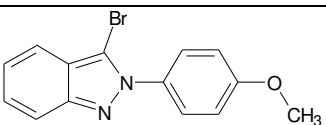
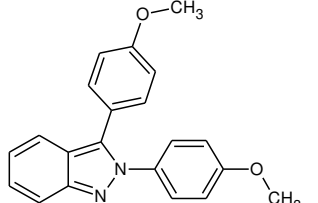
RMN <sup>13</sup>C (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 159.64, 159.39, 148.89, 135.38, 133.60, 131.07, 127.30, 126.90, 122.43, 122.17, 121.58, 120.69, 117.70, 114.40, 114.26, 55.64, 55.43.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 parte química

En Tabla 3 se muestran la clave, el nombre, las estructura, las características físicas, el rendimiento y el punto de fusión de los compuestos sintetizados. De manera general todos los compuestos se lograron sintetizar y fueron sólidos (polvo o cristales) con pureza aceptable según se observó en los espectros de resonancia y se corrobora con los puntos de fusión relativamente cerrados (igual o menos de cuatro °C). Los rendimientos de los productos fueron pobres para los compuestos 3-fenil-1*H*-indazol **MRC-23** y **MRC-24**, mientras que los 2,3-difenil-2*H*-indazoles **MRC-27** y **MRC-29** se obtuvieron en rendimientos moderados.

**Tabla 3.** Resultados de la síntesis de los compuestos

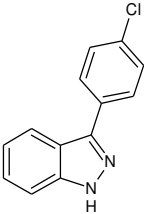
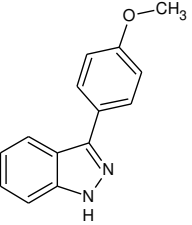
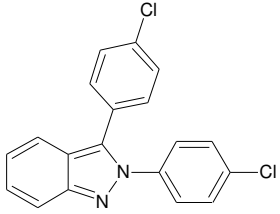
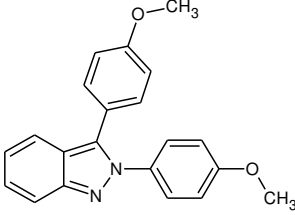
Clave	Nombre	Estructura	Características	Rendimiento	Punto de fusión
MRC-23	3-(4-clorofenil)-1 <i>H</i> -indazol		Polvo amarillo claro	33%	151-153°C
MRC-24	3-(4-metoxifenil)-1 <i>H</i> -indazol.		Cristales blancos	33%	85-86°C.
MRC-26	3-bromo-2-(4-clorofenil)-2 <i>H</i> -indazol		Polvo rosáceo	91%	ND
MRC-27	2,3-(4-clorofenil)-1 <i>H</i> -indazol.		Cristales translucidos	40%	120-124°C
MRC-28	3-bromo-2-(4-clorofenil)-2 <i>H</i> -indazol		Polvo ligeramente amarillo	90%	125-129°C
MRC-29	2,3-(4-metoxifenil)-1 <i>H</i> -indazol.		Polvo blanco	59%	105-108°C

## 7.2 Caracterización espectroscópica

La caracterización de los compuestos por resonancia magnética nuclear se desglosa en la Tabla 4.



**Tabla 4.** Elucidación estructural por RMN de las moléculas finales obtenidas.

ESTRUCTURA	Datos espectroscópicos	DISCUSIÓN
 <p><b>MRC-23</b></p>	<p>RMN <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 10.65 (s, 1H), 7.99 (dt, J = 8.2, 0.9 Hz, 1H), 7.95 – 7.91 (m, 2H), 7.51 – 7.48 (m, 2H), 7.47 – 7.40 (m, 2H), 7.27 – 7.23 (m, 1H).</p> <p>RMN <sup>13</sup>C (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 144.69, 141.64, 134.02, 132.01, 129.06, 128.72, 126.97, 121.64, 120.87, 120.81, 110.08.</p>	<p>RMN <sup>1</sup>H: Se observan todas las señales correspondientes a los protones esperados. En particular a 7.95–7.91 y 7.51–7.48, ppm se encontraron dos multipletes que corresponden al fenilo clorado sobre la posición 3 e integran para 4. Mientras que a 7.99, 7.47–7.40 y 7.27–7.23 ppm se observan las señales que corresponden al anillo de benceno fusionado. Finalmente, a 10.65 ppm se observa una señal ancha que corresponde al NH.</p> <p>RMN <sup>13</sup>C: Se observan todas las señales correspondientes a los carbonos esperados. Las señales a 144.69, 141.64, 134.02, 132.01, 120.81 tienen baja intensidad, por lo que pueden ser asociados a los cinco carbonos cuaternarios. Las señales con intensidad media a 126.97, 121.64, 120.87, 110.08 ppm corresponden a los carbonos de las posiciones 4-7 del indazol, mientras que las señales con mayor intensidad a 128.72, 129.06 ppm corresponden a los dos pares de carbonos equivalentes del anillo clorado de la posición 3.</p>
 <p><b>MRC-24</b></p>	<p>Pendiente</p>	<p>Pendiente</p>
 <p><b>MRC-27</b></p>	<p>RMN <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.79 (dt, J = 8.7, 0.8 Hz, 1H), 7.65 (dt, J = 8.3, 0.7 Hz, 1H), 7.42 – 7.36 (m, 7H), 7.30 – 7.27 (m, 2H), 7.16 (ddd, J = 8.4, 6.7, 0.7 Hz, 1H).</p> <p>RMN <sup>13</sup>C (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 149.10, 138.45, 134.72, 134.34, 134.11, 130.81, 129.34, 129.29, 128.05, 127.34, 127.07, 123.07, 121.81, 120.07, 117.84.</p>	<p>RMN <sup>1</sup>H: Se observan todas las señales correspondientes a los protones esperados. En particular a 7.30–7.27 y 7.42–7.36 ppm se encontraron dos multipletes que corresponden al fenilo clorado sobre la posición 3, mientras que en ese mismo rango 7.42–7.36 ppm se encuentran los protones del anillo sobre la posición 2 del indazol. A 7.79, 7.65 y 7.16 ppm se observan las señales que corresponden al anillo de benceno fusionado, con excepción de una que se encuentra traslapada entre 7.42–7.36 ppm.</p> <p>RMN <sup>13</sup>C: Se observan todas las señales correspondientes a los carbonos esperados. Las señales a 149.10, 138.45, 134.72, 134.34, 134.11, 121.81 y 128.05 tienen baja intensidad, por lo que pueden ser asociados a los siete carbonos cuaternarios. Las señales con intensidad media a 127.34, 123.07, 120.07 y 117.84 ppm corresponden a los carbonos de las posiciones 4-7 del indazol, mientras que las señales con mayor intensidad a 130.81, 129.34, 129.29 y 127.07 ppm corresponden a los cuatro pares de carbonos equivalentes del anillo clorado de la posición 2 y 3.</p>
 <p><b>MRC-29</b></p>	<p>RMN <sup>1</sup>H (600 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 7.79 – 7.76 (m, 1H), 7.70 – 7.67 (m, 1H), 7.37 – 7.27 (m, 5H), 7.11 (ddd, J = 8.4, 6.6, 0.7 Hz, 1H), 6.95 – 6.88 (m, 4H), 3.84 (s, 3H), 3.83 (s, 3H).</p> <p>RMN <sup>13</sup>C (151 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 159.64, 159.39, 148.89, 135.38, 133.60, 131.07, 127.30, 126.90, 122.43, 122.17, 121.58, 120.69, 117.70, 114.40, 114.26, 55.64, 55.43.</p>	<p>RMN <sup>1</sup>H: Se observan todas las señales correspondientes a los protones esperados. En particular a 7.37–7.27 y 6.95–6.88 ppm se encontraron dos multipletes que corresponden a los fenilos metoxilados sobre la posición 2 y 3 del indazol. A 7.70–7.67, 7.70–7.67 y 7.11 ppm se observan las señales que corresponden al anillo de benceno fusionado, con excepción de una que se encuentra traslapada entre 7.37–7.27 ppm. Finalmente, a 3.84 y 3.83 ppm se encuentran dos singuletes que integran para tres protones cada uno y corresponden a los metilos de los grupos metoxilo.</p> <p>RMN <sup>13</sup>C: Se observan todas las señales correspondientes a los carbonos esperados. Las señales a 159.64, 159.39, 148.89, 135.38, 133.60, 122.43 y 121.58 tienen baja intensidad, por lo que pueden ser asociados a los siete carbonos cuaternarios. Las señales con intensidad media a 126.90, 122.17, 120.69 y 117.70 ppm corresponden a los carbonos de las posiciones 4-7 del indazol, mientras que las señales con mayor intensidad a 131.07, 127.30, 114.40 y 114.26, ppm corresponden a los cuatro pares de carbonos equivalentes del anillo metoxilado de la posición 2 y 3. Finalmente, los carbonos correspondientes a los metoxilos se encuentran a 55.64, 55.43 ppm.</p>

Todos los espectros analizados concuerdan con las señales esperadas, con excepción del compuesto **MRC-24** del cual queda pendiente el espectro por falta de muestra. Por lo tanto, sobre los tres compuestos **MRC-23**, **MRC-27** y **MRC-29** se tiene certeza de su estructura. Además, los espectros no muestran señales inesperadas, por lo tanto, se puede concluir que los compuestos son puros desde un punto de vista cualitativo.

## 8. CONCLUSIONES

En el presente proyecto se lograron sintetizar de manera satisfactoria cuatro compuestos propuestos derivados de 3-fenil-1*H*-indazol y 2,3-difenil-2*H*-indazol, con rendimientos moderados, siguiendo la metodología general para el acoplamiento de Suzuki en la serie 1 y en el caso de la serie 2, primero una bromación, seguida de un acoplamiento de Suzuki.

En cuanto a la caracterización espectroscópica, se logró identificar satisfactoriamente las características estructurales esperadas para tres compuestos, de acuerdo con las estructuras propuestas.

La metodología utilizada en la síntesis de estos compuestos permitirá, seguir sintetizando más derivados de 2*H*-indazol que sean candidatos a presentar actividad antiprotozoaria.

## 9. REFERENCIAS

1. WHO. Chagas disease - American trypanosomiasis. [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)). (consultado: 14 de septiembre de 2022)
2. de Fuentes-Vicente, J. A.; Gutiérrez-Cabrera, A. E.; Flores-Villegas, A. L.; Lowenberger, C.; Benelli, G.; Salazar-Schettino, P. M.; Córdoba-Aguilar, A., What makes an effective Chagas disease vector? Factors underlying *Trypanosoma cruzi*-triatomine interactions. *Acta Tropica* **2018**, *183*, 23-31.
3. de Alba, M.; Bucio, M.; Cabrera, M.; Castillo, D.; Fernández, A.; Perera, G.; Rojo, J.; Salazar, P.; Zenteno, A., Enfermedad de Chagas en México. *Revista de la Facultad de Medicina de la UNAM* **2016**, *59*, 6-16

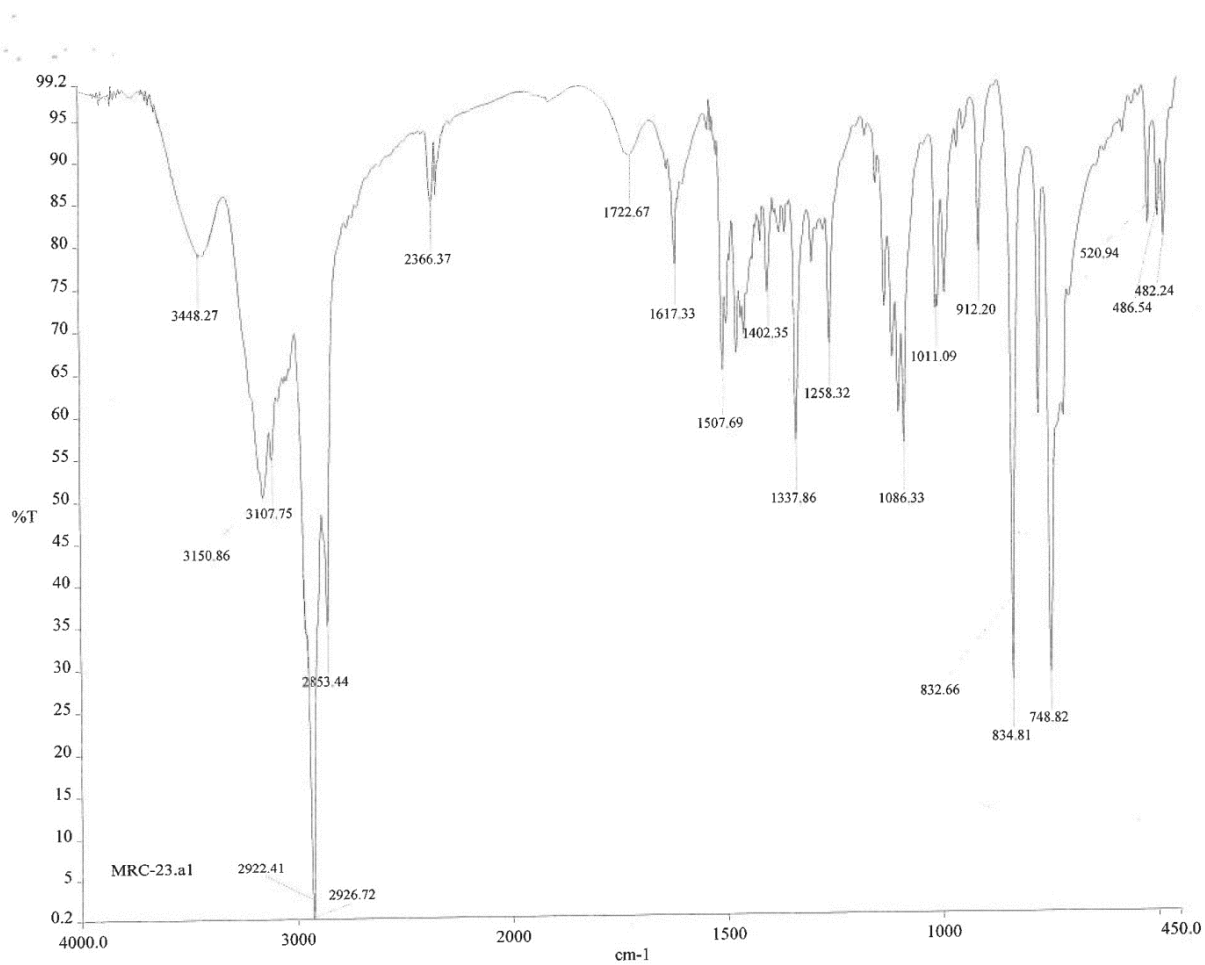
4. Ramsey, J. M.; Peterson, A. T.; Carmona-Castro, O.; Moo-Llanes, D. A.; Nakazawa, Y.; Butrick, M.; Tun-Ku, E.; de la Cruz-Félix, K.; Ibarra-Cerdeña, C. N., Atlas of Mexican Triatominae (Reduviidae: Hemiptera) and vector transmission of Chagas disease. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **2015**, *110*, 1-14.
5. [Prevención y control de la Enfermedad de Chagas 2013-2018](#). Programa Sectorial de Salud. Secretaría de Salud, Subsecretaría de Prevención y Promoción de la Salud, Centro Nacional de Programas Preventivos y Control de Enfermedades, Programa de Enfermedades Transmitidas por Vector. [http://www.cenaprece.salud.gob.mx/descargas/pdf/PAE\\_PrevencionControlEnfermedadChagas2013\\_2018.pdf](http://www.cenaprece.salud.gob.mx/descargas/pdf/PAE_PrevencionControlEnfermedadChagas2013_2018.pdf) (consultado: 14 de septiembre de 2022).
6. Díaz-Chiguer, D. L.; Márquez-Navarro, A.; Noguera-Torres, B.; de la Luz León-Ávila, G.; Pérez-Villanueva, J.; Hernández-Campos, A.; Castillo, R.; Ambrosio, J. R.; Nieto-Meneses, R.; Yépez-Mulia, L.; Hernández-Luis, F., In vitro and in vivo trypanocidal activity of some benzimidazole derivatives against two strains of *Trypanosoma cruzi*. *Acta Tropica* **2012**, *122*, 108-112.
7. Urbina, J. A., Specific chemotherapy of Chagas disease: Relevance, current limitations and new approaches. *Acta Tropica* **2010**, *115*, 55-68.
8. Laurent, J.-P.; Swindle, J., *Trypanosoma cruzi*: Sensitivity to Selective Drugs in Phylogenetically Unrelated Stocks. *Experimental Parasitology* **2000**, *94*, 60-61.
9. Pereira, Á.; Pérez, M., Tripanosomosis. Enfermedad de Chagas y enfermedad del sueño. *Offarm* **2003**, *22*, 104-111.
10. Centers for Disease Control and Prevention. American Trypanosomiasis <https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisamerican/index.html> (consultado: 14 de septiembre de 2022)
11. Eugenia Giorgi, M.; de Lederkremer, R. M., Trans-sialidase and mucins of *Trypanosoma cruzi*: an important interplay for the parasite. *Carbohydrate Research* **2011**, *346*, 1389-1393.

12. Shafakat Ali, A. N.; Dar, A. B.; Pradhan, V.; Farooqui, M., Chemistry and Biology of Indoles and Indazoles: A Mini-Review. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry* **2013**, *13*, 1792-1800.
13. Moreira, V. M. A.; Vasaitis, T. S.; Njar, V. C. O.; Salvador, J. A. R., Synthesis and evaluation of novel 17-indazole androstene derivatives designed as CYP17 inhibitors. *Steroids* **2007**, *72* (14), 939-948.
14. Rodríguez-Villar, K.; Yépez-Mulia, L.; Cortés-Gines, M.; Aguilera-Perdomo, J. D.; Quintana-Salazar, E. A.; Olascoaga Del Angel, K. S.; Cortés-Benítez, F.; Palacios-Espinosa, J. F.; Soria-Arteche, O.; Pérez-Villanueva, J., Synthesis, Antiprotozoal Activity, and Cheminformatic Analysis of 2-Phenyl-2H-Indazole Derivatives. *Molecules* **2021**, *26* (8), 2145.
15. Teixeira, F. C.; Ramos, H.; Antunes, I. F.; Curto, M. J. M.; Duarte, M. T.; Bento, I., Synthesis and Structural Characterization of 1- and 2-Substituted Indazoles: Ester and Carboxylic Acid Derivatives. *Molecules* **2006**, *11* (11), 867-889.
16. Sawant, D.; Kumar, R.; Maulik, P. R.; Kundu, B., Unprecedented SnCl<sub>2</sub>-Mediated Cyclization of Nitro Arenes via N-N Bond Formation. *Organic Letters* **2006**, *8* (8), 1525-1528.
17. Kaur, M.; Kumar, R., A Minireview on the Scope of Cadogan Cyclization Reactions Leading to Diverse Azaheterocycles. *Asian Journal of Organic Chemistry* **2022**, *11* (6), e202200092.
18. Pérez-Villanueva, J.; Hernández-Campos, A.; Yépez-Mulia, L.; Méndez-Cuesta, C.; Méndez-Lucio, O.; Hernández-Luis, F.; Castillo, R., Synthesis and antiprotozoal activity of novel 2-[[2-(1H-imidazol-1-yl)ethyl]sulfonyl]-1H-benzimidazole derivatives. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **2013**, *23* (14), 4221-4224.
19. Pérez-Villanueva, J.; Matadamas-Martínez, F.; Yépez-Mulia, L.; Pérez-Koldenkova, V.; Leyte-Lugo, M.; Rodríguez-Villar, K.; Cortés-Benítez, F.; Macías-Jiménez, A. P.; González-Sánchez, I.; Romero-Velásquez, A.; Palacios-Espinosa, J. F.; Soria-Arteche, O., Synthesis and Cytotoxic Activity

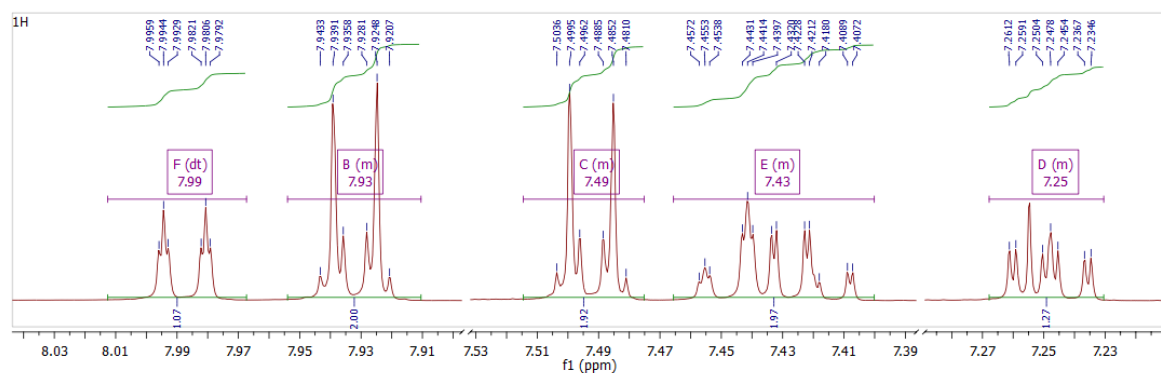
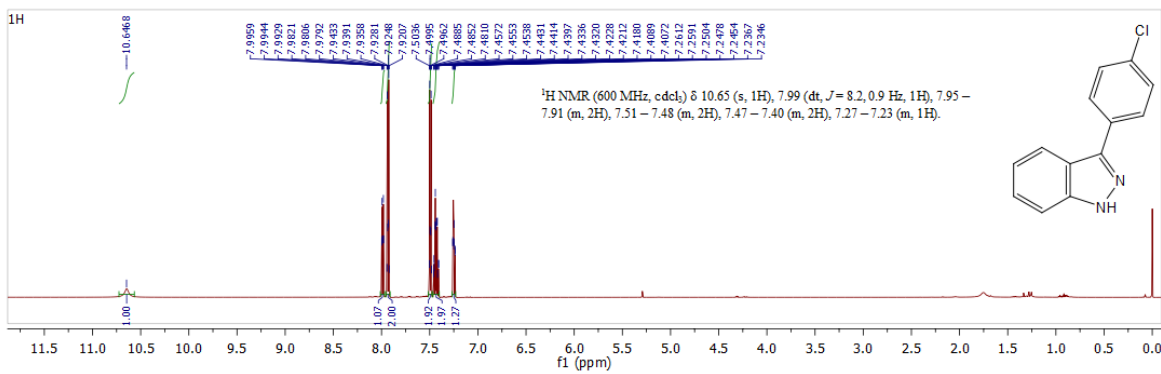
- of Combretastatin A-4 and 2,3-Diphenyl-2H-indazole Hybrids. *Pharmaceuticals* **2021**, *14* (8), 815.
20. Pérez-Villanueva, J.; Yépez-Mulia, L.; González-Sánchez, I.; Palacios-Espinosa, J. F.; Soria-Arteche, O.; Sainz-Espuñes, T. D. R.; Cerbón, M. A.; Rodríguez-Villar, K.; Rodríguez-Vicente, A. K.; Cortés-Gines, M.; Custodio-Galván, Z.; Estrada-Castro, D. B., Synthesis and Biological Evaluation of 2H-Indazole Derivatives: Towards Antimicrobial and Anti-Inflammatory Dual Agents. *Molecules* **2017**, *22* (11), 1864.
21. Rodríguez-Villar, K.; Hernández-Campos, A.; Yépez-Mulia, L.; Sainz-Espuñes, T. d. R.; Soria-Arteche, O.; Palacios-Espinosa, J. F.; Cortés-Benítez, F.; Leyte-Lugo, M.; Varela-Petrissans, B.; Quintana-Salazar, E. A.; Pérez-Villanueva, J., Design, Synthesis and Anticandidal Evaluation of Indazole and Pyrazole Derivatives. *Pharmaceuticals* **2021**, *14* (3), 176.
22. Rodríguez-Villar, K.; Yépez-Mulia, L.; Cortés-Gines, M.; Aguilera-Perdomo, J. D.; Quintana-Salazar, E. A.; Olascoaga Del Angel, K. S.; Cortés-Benítez, F.; Palacios-Espinosa, J. F.; Soria-Arteche, O.; Pérez-Villanueva, J., Synthesis, Antiprotozoal Activity, and Cheminformatic Analysis of 2-Phenyl-2H-Indazole Derivatives. *Molecules* **2021**, *26* (8), 2145.
23. Buschiazzo, A.; Amaya, M. a. F.; Cremona, M. a. L.; Frasca, A. C.; Alzari, P. M., The Crystal Structure and Mode of Action of Trans-Sialidase, a Key Enzyme in Trypanosoma cruzi Pathogenesis. *Molecular Cell* **2002**, *10* (4), 757-768.
24. Neres, J.; Bryce, R. A.; Douglas, K. T., Rational drug design in parasitology: trans-sialidase as a case study for Chagas disease. *Drug Discovery Today* **2008**, *13* (3), 110-117.
25. Neres, J.; Bonnet, P.; Edwards, P. N.; Kotian, P. L.; Buschiazzo, A.; Alzari, P. M.; Bryce, R. A.; Douglas, K. T., Benzoic acid and pyridine derivatives as inhibitors of Trypanosoma cruzi trans-sialidase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* **2007**, *15* (5), 2106-2119.
26. Kashif, M.; Moreno-Herrera, A.; Villalobos-Rocha, J. C.; Noguera-Torres, B.; Pérez-Villanueva, J.; Rodríguez-Villar, K.; Medina-Franco, J. L.; De Andrade,

- P.; Carvalho, I.; Rivera, G., Benzoic Acid Derivatives with Trypanocidal Activity: Enzymatic Analysis and Molecular Docking Studies toward Trans-Sialidase. *Molecules* **2017**, *22* (11), 1863.
27. Kashif, M.; Moreno-Herrera, A.; Lara-Ramirez, E. E.; Ramírez-Moreno, E.; Bocanegra-García, V.; Ashfaq, M.; Rivera, G., Recent developments in trans-sialidase inhibitors of *Trypanosoma cruzi*. *Journal of Drug Targeting* **2017**, *25* (6), 485-498.
28. Waalwijk, P. S.; Cohen-Fernandes, P.; Habraken, C. L., Indazole studies. 3. The bromination of 2-phenyl-2H-indazole. Formation and structure determination of mono-, di-, and tribromo-2-phenyl-2H-indazoles. *The Journal of Organic Chemistry* 1984, *49* (18), 3401-3403.

## 10. ESPECTROS

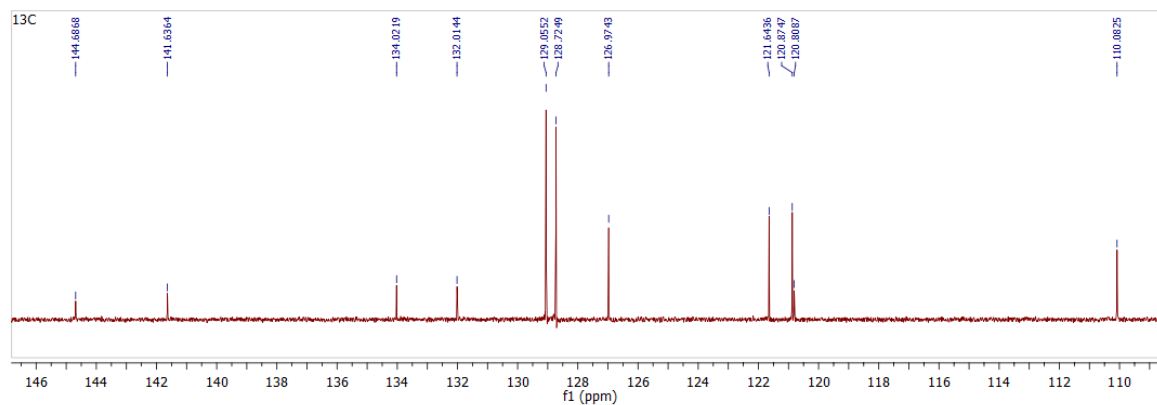
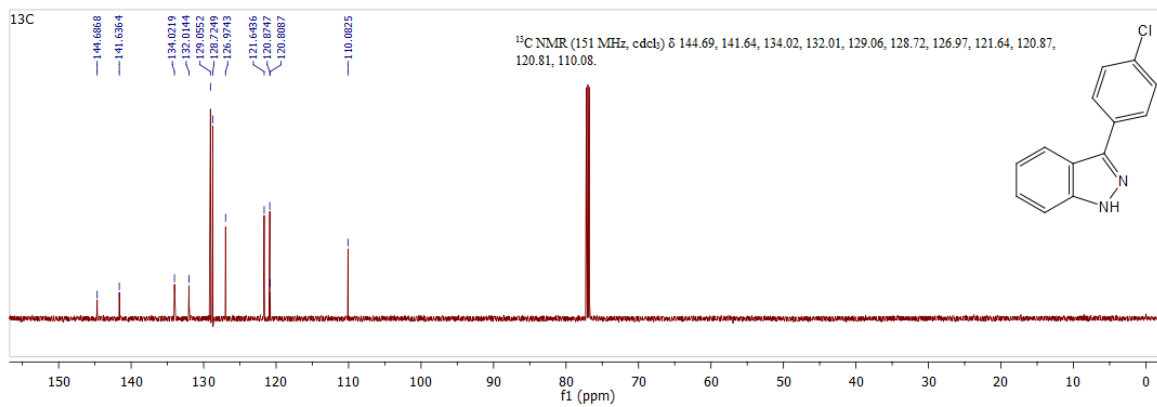


**Espectro 1.** Espectro de IR de **MRC-23**.

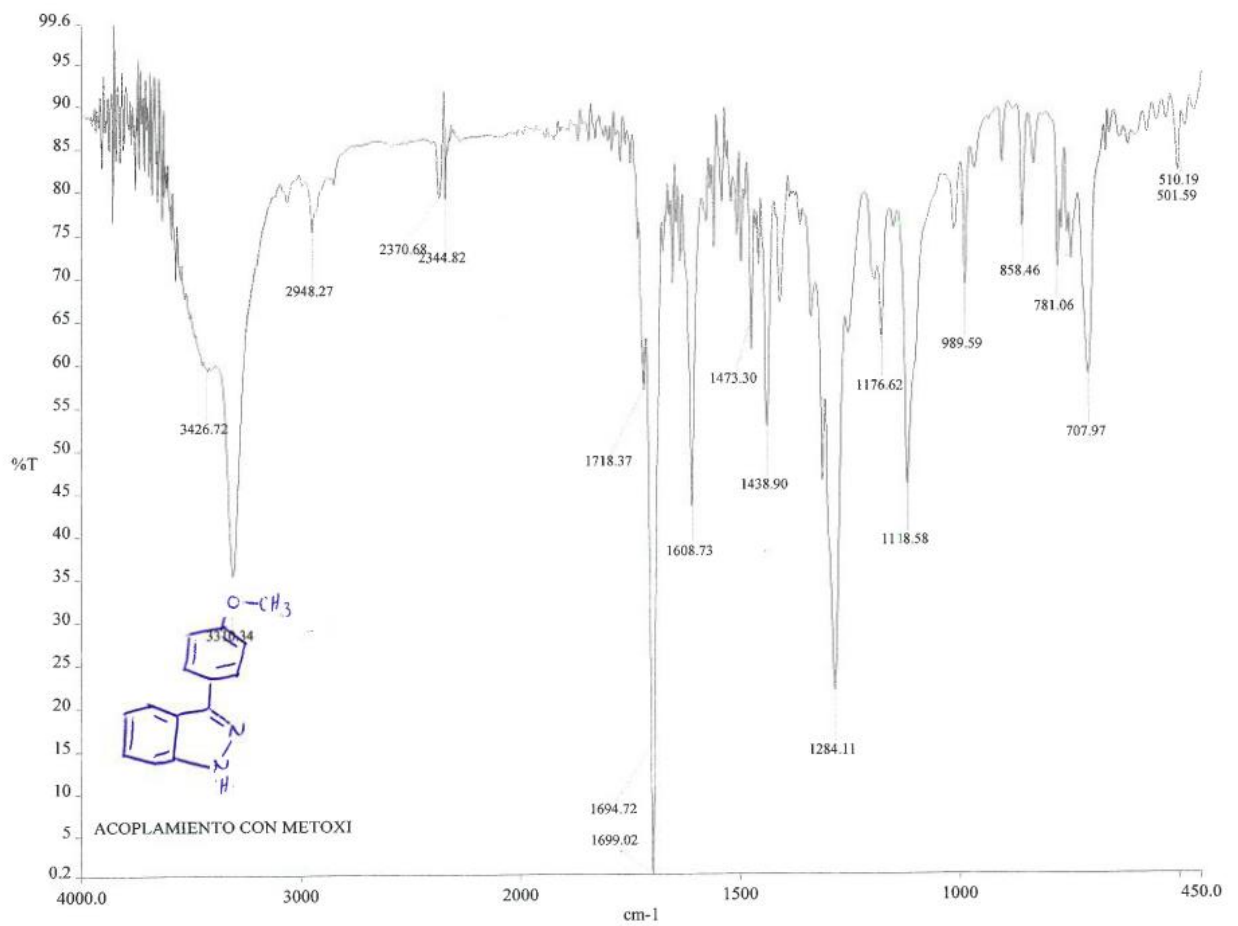


**Espectro 2. Espectro de RMN <sup>1</sup>H de MRC-23.**

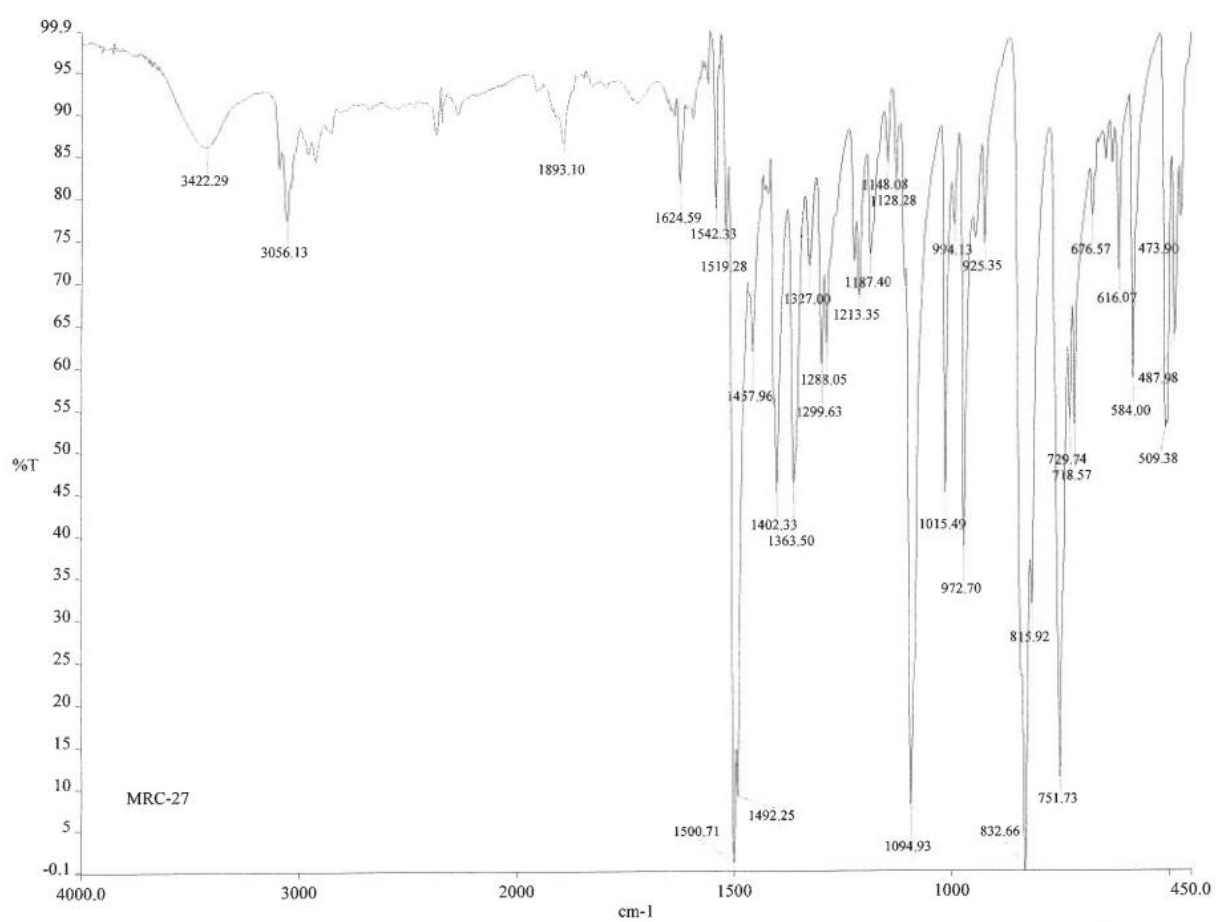




**Espectro 3.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C de **MRC-23**.

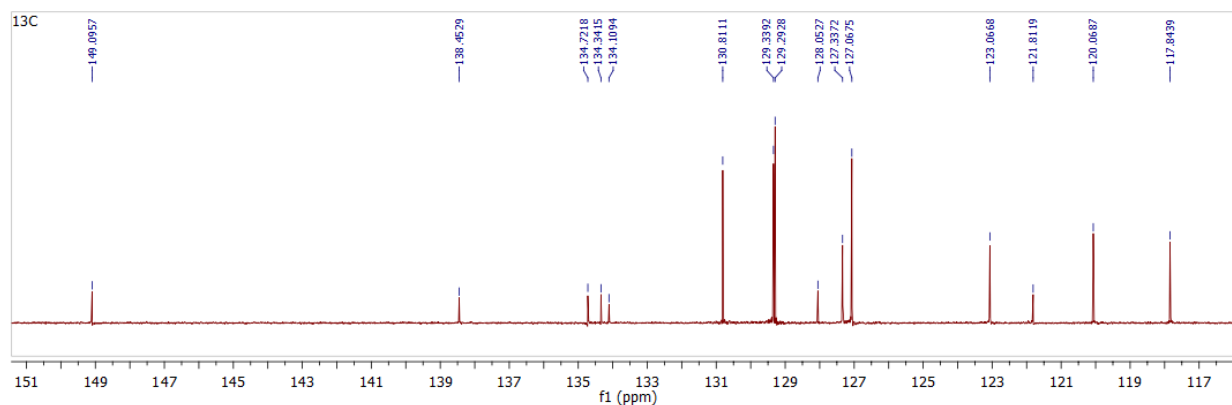
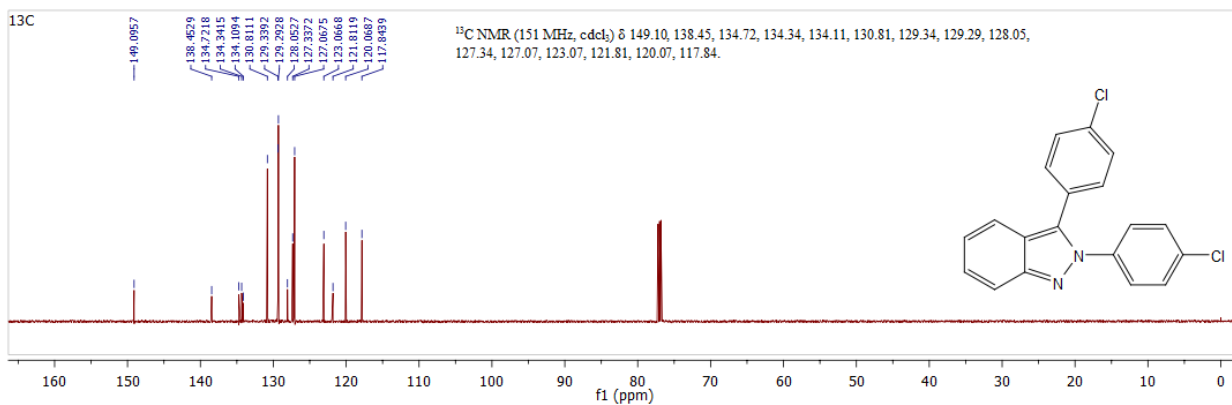


**Espectro 4. Espectro de IR de MRC-24.**

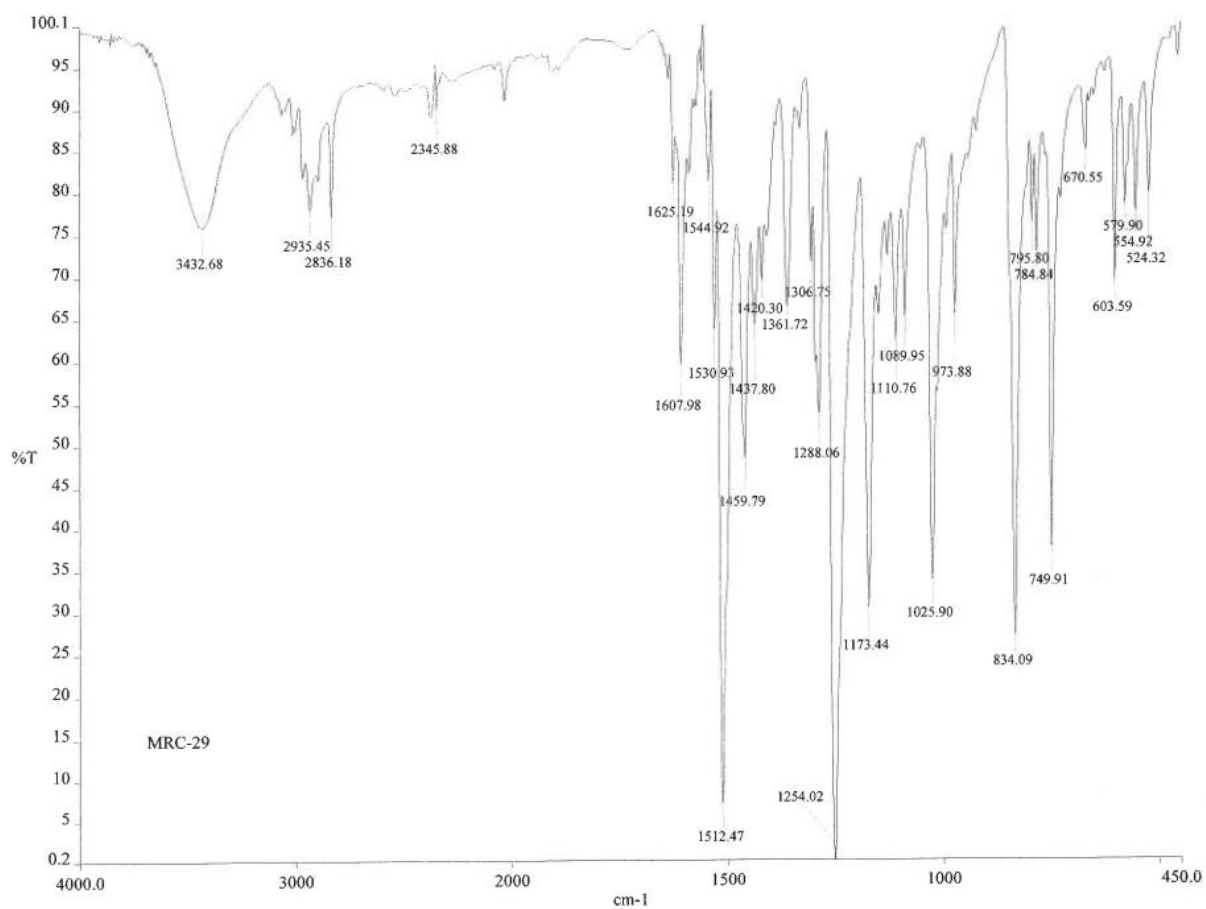


**Espectro 5.** Espectro de IR de **MRC-27**.

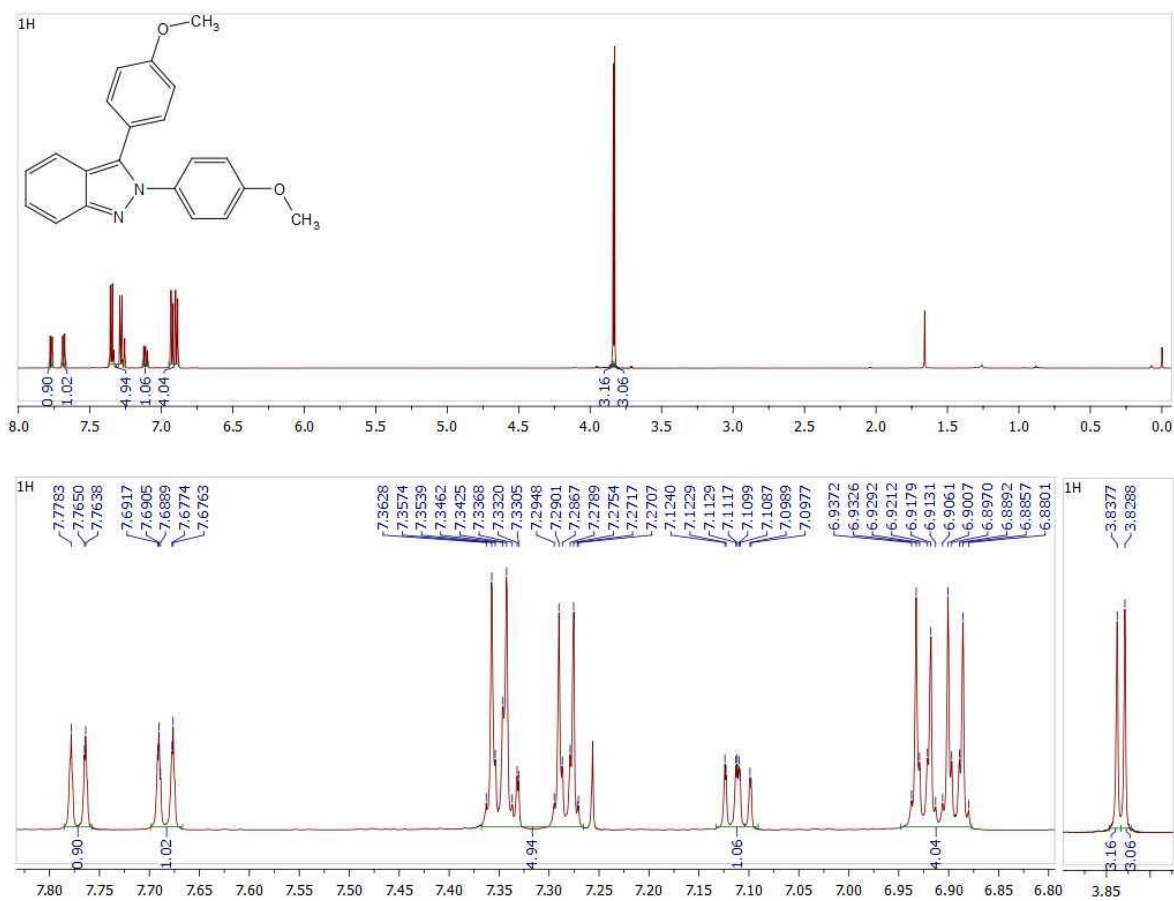




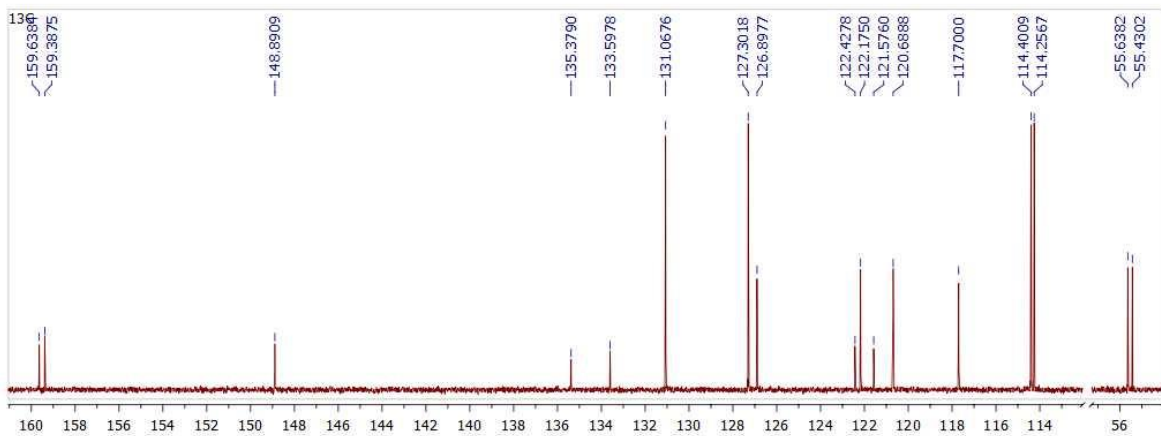
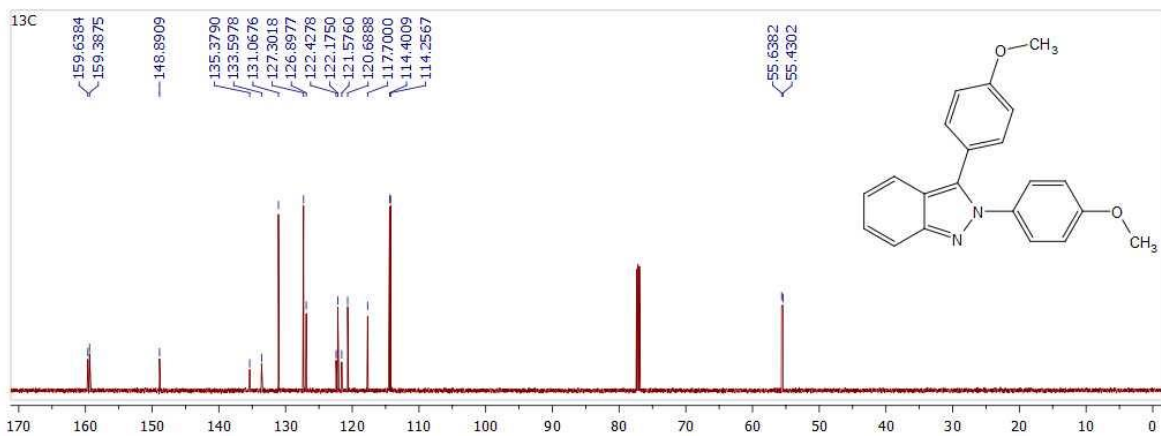
**Espectro 7.** Espectro de RMN <sup>13</sup>C de **MRC-27**.



**Espectro 8.** Espectro de IR de **MRC-29**.



**Espectro 9. Espectro de RMN  $^1\text{H}$  de MRC-29.**



**Espectro 10. Espectro de RMN  $^{13}\text{C}$  de MRC-29.**