



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

---

FACULTAD DE QUÍMICA

**“SÍNTESIS DE (4-SULFONIL-1,2,3-TRIAZIL)BENZOIMIDAZOL-2-ONAS”**

# **TESIS**

PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRA EN CIENCIAS QUÍMICAS**

PRESENTA

**Q. ITZEL ANTONIA BERNAL EVANGELISTA**

DIRIGIDA POR:

DR. CARLOS GONZÁLEZ ROMERO.

DRA. MARÍA PAULINA AYDEÉ GRACIA FUENTES BENÍTES.

DR. JOAQUÍN TAMARIZ MASCARÚA.

TOLUCA, MÉX.

NOVIEMBRE 2018



El presente trabajo, se realizó en el Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Química de la Universidad Autónoma del Estado de México y en el Laboratorio No. 5 de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del Instituto Politécnico Nacional, bajo la dirección del Dr. Carlos González Romero, y la Dra. María Paulina Aydeé Gracia Fuentes Benítez, con la asesoría del Dr. Joaquín Tamariz Mascarúa, con el apoyo del financiamiento otorgado por la Secretaría de Investigación y Estudios Avanzados de la Universidad Autónoma del Estado de México, proyecto No. 4512/2018CI, el proyecto de investigación CONACYT (proyecto No. 178319) y de la Secretaría de Posgrado e Investigación (SIP) de IPN (Proyectos 20150917 y 20160791). Así mismo, con el apoyo económico de una beca otorgada por el CONACYT (No. 605798).

## **DEDICATORIA**

A Dios por las grandes bendiciones a lo largo de mi bella vida, por iluminar y dar sentido a este gran regalo que me ha otorgado.

A mi papí Moisés Francisco, sin él no habría sido nada, ya que me ha llenado de unas ganas inmensas de salir adelante y de compartir el amor que siempre me ha dado.

A mi mamá Jovita, quien me ha cuidado y esperado en las noches largas, quien con amor me ha educado y procurado. Quien como la mujer luchona que es, a pesar de las circunstancias, siempre ha mantenido a su familia unida.

A mi hermana Lili, quien me ha amado fielmente y a quien amo con todo el corazón! Gracias por todo hermanita, tenerte en mi vida ha sido una gran bendición. Haces magia en mi vida!

A mi hermano Uri, porque me ha cuidado y apoyado, Te adoro mi Eden. Gracias por todo tu cariño, contar contigo ha sido bellamente mágico.

Al bebé de la familia, Moi, que cuanto más crece, más lo amo, gracias por cuidarme y acompañarme siempre! Has sido el mejor guardián que he tenido.

A mi Tía Benita que ha sabido ganarse mi confianza y amor, gracias por todo su apoyo. Mi hermanita mayor, mi amiga, mi confidente, parte de mi todo.

A mi Natali Alondra, mi pequeña que me ha mostrado como es el cariño incondicional. Gracias por todos esos momentos divertidos! Gracias por tantos momentos bellos.

A Hernández, quien con su amor me ha ayudado a mantener el vuelo hacia mis metas y me ha cuidado siempre. Gracias por ser ese ángel que me ha sabido ayudar a no tirar la toalla cuando he sentido la caída libre.

A esas mujeres luchonas que me han otorgado un pedacito de su corazón, Adela y Ángeles.  
Gracias por todo su apoyo, las quiero mucho!

A mis compañeros del laboratorio, por siempre ayudarme en el transcurso de este proyecto y darme un buen ejemplo a seguir.

A Gustavo Adolfo!, por hacerme aún más divertidos los días en el laboratorio y por su ayuda para culminar este proyecto.

Al Dr. Teloxa, tal vez quisiera irte a buscar sin avisar y encontrarme contigo, llevarte al cielo y regresar en un suspiro!. Gracias por todos esos bonitos momentos y los que aún nos faltan!

A mis amigos incondicionales Gadiel, Mariana, Axel, Lupita y Manuel, son los mejores.  
Gracias por sus consejos y apoyo.

*El amor por la vida mueve cada centímetro del cuerpo,*

*Pero el amor a la vida transforma completamente tus días...*

## **AGRADECIMIENTOS**

Al Dr. Carlos Gonzáles Romero por sus consejos durante el desarrollo de este proyecto. La vida es más bella rodeada de personas extraordinarias.

A la Dra. María Paulina Aydeé Gracia Fuentes Benítes por brindarme la confianza, por todo su apoyo y por darme la oportunidad no solo de realizar este proyecto de tesis, sino de compartir experiencias enriquecedoras.

Al Dr. Joaquín Tamariz Mascarúa por la ayuda brindada para la culminación de este proyecto.

A la M. en C. María de las Nieves Zavala Segovia por su disposición en la realización de los espectros Resonancia Magnética Nuclear unidimensionales y bidimensionales.

Agradezco al Centro Conjunto de Investigación en Química Sustentable (CCIQS) UAEM-UNAM, al Instituto Politécnico Nacional y al Instituto de Química de la UNAM por la obtención de los espectro de RMN y EM.

Al Departamento de Química Orgánica de la Facultad de Química de la UAEMéx. Y al Laboratorio 5 de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN por el apoyo para la realización de este trabajo.

A CONACyT por el apoyo de una beca otorgada a través del Sistema de Posgrados Nacionales de Calidad.

A mis compañeros de laboratorio por la ayuda brindada durante el desarrollo de este trabajo de Tesis



ÍNDICE

ABREVIATURAS .....	3
RESUMEN .....	5
ABSTRACT .....	6
I. INTRODUCCIÓN .....	7
II. MARCO TEÓRICO .....	9
A.    Triazoles.....	9
➤    Métodos de Síntesis de Triazoles .....	10
B.    Heterociclos de cinco miembros.....	11
C.    Métodos de síntesis de imidazolidin-2-onas .....	13
D.    Reacción de cicloadición de Diels-Alder.....	14
E.    Sulfonas como potentes farmacóforos en la química medicinal.....	17
F.    Reacciones de Cicloadición 1,3-dípolares.....	18



III. OBJETIVOS..... 20

- Objetivo general ..... 20
- Objetivos particulares..... 20

IV. JUSTIFICACIÓN..... 21

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS ..... 22

VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL ..... 35

VIII. REFERENCIAS ..... 54

IX. ANEXO I: Espectros de RMN-<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C y EM. .... 56

X. ANEXO II: Artículo enviado..... 72



**ABREVIATURAS**

<b>AcOEt</b>	Acetato de etilo.
<b>ccf</b>	Cromatografía en capa fina.
<b>J</b>	Constante de acoplamiento.
<b><math>\delta</math></b>	Desplazamiento químico .
<b><math>\delta_H</math></b>	Desplazamiento químico de hidrógeno .
<b><math>\delta_C</math></b>	Desplazamiento químico de carbono.
<b>DBU</b>	1,8-Diazabicyclo [5.4.0] undec-7-eno.
<b>DDQ</b>	2,3-Dicloro-5,6-Diciano-1,4-Benzoquinona.
<b>DCM</b>	Diclorometano
<b>Eq.</b>	Equivalente.
<b>EM</b>	Espectrometría de masas.
<b>DEPT</b>	Experimento de Transferencia de polarización.
<b>g</b>	Gramos.
<b>Hz</b>	Hertz.
<b>h</b>	Horas.
<b>IR</b>	Infrarrojo.
<b>M<sup>+</sup></b>	Ion molecular.
<b>MHz</b>	MegaHertz.
<b>mg</b>	miligramo.
<b>mL</b>	mililitro.

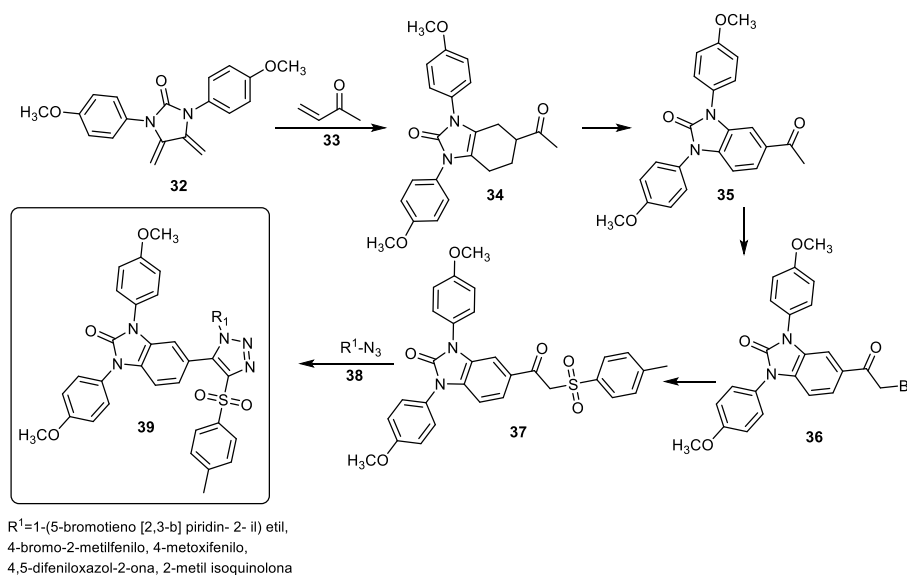




<b>mmol</b>	milimol.
<b>NBS</b>	<i>N</i> -bromosuccinimida.
<b>DMF</b>	<i>N,N</i> -dimetilformamida.
<b>m/z</b>	Relación masa/carga.
<b>P. F</b>	Punto de fusión.
<b>ppm</b>	Partes por millón
<b>RMN <sup>1</sup>H</b>	Resonancia Magnética Nuclear de Hidrógeno.
<b>RMN <sup>13</sup>C</b>	Resonancia Magnética Nuclear de Carbono-13.
<b>s</b>	Señal simple.
<b>d</b>	Señal doble.
<b>dd</b>	Señal doble de doble.
<b>t</b>	Señal triple.
<b>m</b>	Señal múltiple.
<b>q</b>	Señal cuádruple.

## RESUMEN

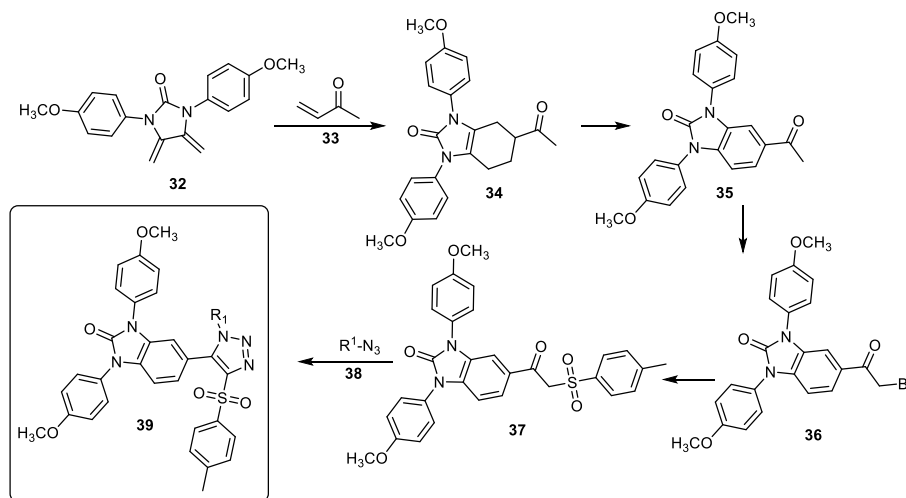
En este trabajo se describe la obtención de (4-sulfonil-1,2,3-triazil)benzoimidazol-2-onas **39** empleando reacciones de cicloadición (3+2) azida-enolato, donde se hizo reaccionar diversas azidas orgánicas con la benzoimidazol-2-ona **37**. A través de la reacción de cicloadición de Diels-Alder entre metilvinilcetona y un dieno *exo*-heterocíclico **32** se generó un carbociclo de 6 miembros con la presencia de una cetona en posición 6, formándose la correspondiente tetrahydrobenzoimidazol-2-ona **34**. Esta estructura se oxidó para llegar a formar la benzoimidazol-2-ona **35**, la cual se halogenó en posición alfa al grupo carbonilo (**36**) para poder llevar a cabo la formación de la  $\beta$ -cetosulfona **37** la cual fue activada para llevar a cabo la cicloadición (3+2) y generar el producto final **39** (Esquema 1).



**Esquema 1.** Síntesis de (4-sulfonil-1,2,3-triazil)-benzoimidazol-2-onas **39**.

## ABSTRACT

In this work the preparation of (4-sulfonyl-1,2,3-triazyl) benzimidazole-2-ones **39** using azide-enolate cycloaddition reactions, where various organic azides were reacted with benzimidazole-2-one **37**. Through the reaction of Diels-Alder cycloaddition between methyl vinyl ketone and an exo-heterocyclic diene **32**, a 6-membered carbocycle was generated with the presence of a ketone in position 6, forming the corresponding tetrahydrobenzimidazole-2-one **34**. This structure was oxidized to form the benzimidazole-2-one **35**, which was subsequently halogenated in alpha position to the carbonyl group **36** in order to be able to carry out the formation of the  $\beta$ -ketosulfone **37** which was activated to carry out the cycloaddition and generate the final product **39** (Scheme 1).

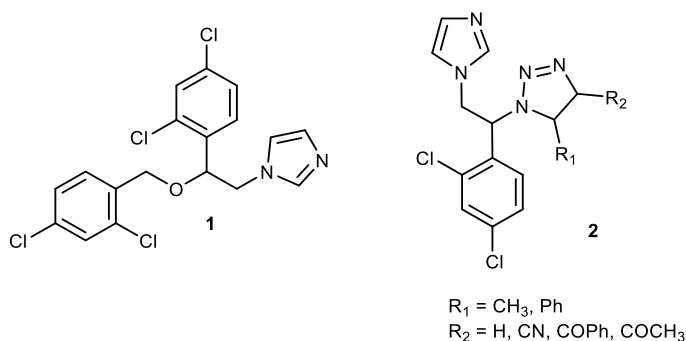


$R^1$ =1-(5-bromotieno [2,3-b] piridin- 2- il) etil,  
4-bromo-2-metilfenilo, 4-metoxifenilo,  
4,5-difeniloxazol-2-ona, 2-metil isoquinolona

**Scheme 1.** Synthesis of (4-sulfonyl-1,2,3-triazyl) -benzimidazole-2-ones **39**.

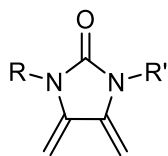
## I. INTRODUCCIÓN

Los antimicóticos del grupo de los triazoles son los más utilizados actualmente para el tratamiento de infecciones micóticas, por esta razón, el estudio de este tipo de antifúngicos ha aumentado considerablemente en relación al resto de antimicóticos. El miconazol **1** es un fármaco de uso comercial que se ha empleado para el tratamiento de estas infecciones, siendo así que se han reportado análogos triazólicos del miconazol **2** los cuales han presentado actividad antifúngica<sup>1</sup> (Figura 1).



**Figura 1.** Análogo triazólico del miconazol

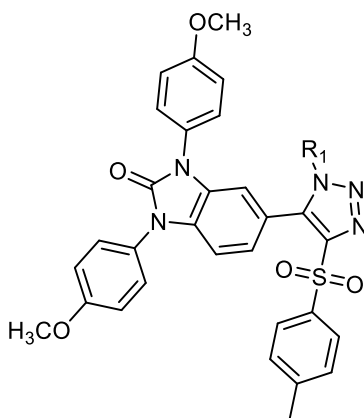
Por otro lado, los dienos del tipo 4,5-dimetilén *exo*-Imidazolidin-2-ona (Figura 2) han sido poco estudiados, sin embargo tienen un gran potencial sintético ya que a partir de ellos se pueden obtener tetrahidroimidazolonas a través de reacciones de Diels-Alder, las cuales por posterior oxidación generan las bencimidazolonas, y estas muestran una gran actividad biológica (Figura 2)



**Figura 2.** Dieno del tipo 4,5-dimetilen-*exo*-imidazolidin-2-ona

Las sulfonas son ampliamente usadas como disolventes, polímeros y agentes biofarmacéuticos. Varias moléculas de fármacos que contienen grupos sulfona se utilizan para el tratamiento de la lepra, dermatitis herpetiforme, y la tuberculosis.<sup>2</sup>

En base a lo anterior, este trabajo se centró en la obtención de derivados de (4-sulfonil-1,2,3-triazil)benzoimidazol-2-onas mediante una síntesis lineal, involucrando reacciones de cicloadición Diels-Alder y (3+2) azida-enolato.

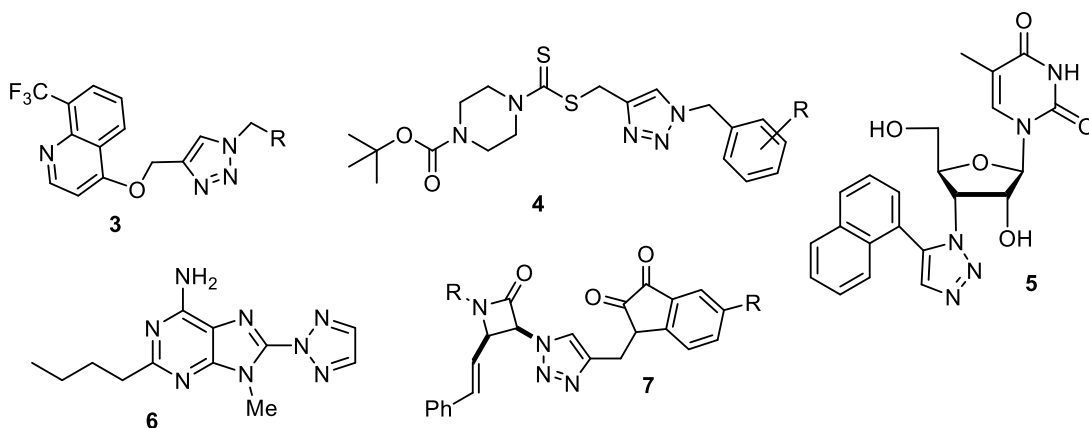


**Figura 3.** Estructura general de derivados de (4-sulfonil-1,2,3-triazil)benzoimidazol-2-onas.

## II. MARCO TEÓRICO

## A. Triazoles

Se ha descubierto que los heterociclos que contienen nitrógeno, como los 1,2,3-triazoles, han despertado gran interés desde el descubrimiento de su importante actividad biológica entre los que destacan compuestos anti-bacterianos<sup>3</sup> **3**, anti-cancerígenos<sup>4</sup> **4**, anti-VIH<sup>5</sup> **5**, para tratamiento del trastorno de Parkinson<sup>6</sup> **6** y anti-parasitarios<sup>7</sup> **7**, (Figura 4).



**Figura 4.** Ejemplos de 1,2,3-triazoles como agentes farmacológicos

Las estructuras de triazoles forman parte de una gran variedad de compuestos activos biológicamente de los cuales existen fármacos de uso comercial que contienen estos anillos y que se utilizan como antifúngicos<sup>8</sup>.

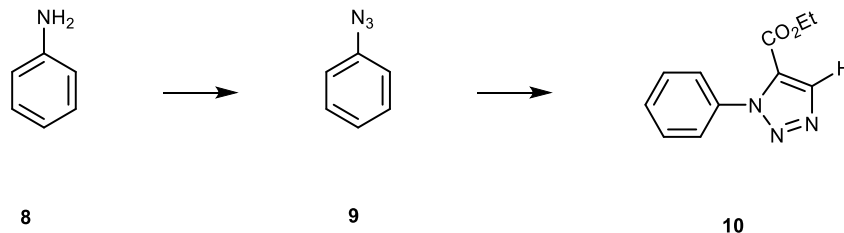
En la década de los 90's surge la familia de los triazoles con la aparición del Fluconazol, Itraconazol, Posaconazol, entre otros. Los antifúngicos triazolicos tienen el mismo mecanismo de acción que los imidazoles de similar o más amplio espectro, pero con menos efecto sobre la síntesis de esteroides humanos, siendo esto una gran ventaja. Tanto imidazoles

como triazoles inhiben el proceso de C-14  $\alpha$ -desmetilación del lanosterol de la membrana citoplasmática fúngica al unirse a la enzima C-14- $\alpha$ -desmetilasa, que lleva a la acumulación de C-14- $\alpha$ -metil esteroides y reducen la concentración de ergosterol, esencial para la integridad de la membrana citoplasmática fúngica causando que su efecto sea fungistático<sup>9</sup>.

El concepto de agente antimicótico o antifúngico incluye a aquellas sustancias que tienen la capacidad de producir una alteración en la estructura de la célula fúngica en diferentes niveles, que consiga inhibir su desarrollo alterando su viabilidad o capacidad de supervivencia, lo que facilita el funcionamiento de los sistemas de defensa del huésped<sup>9</sup>

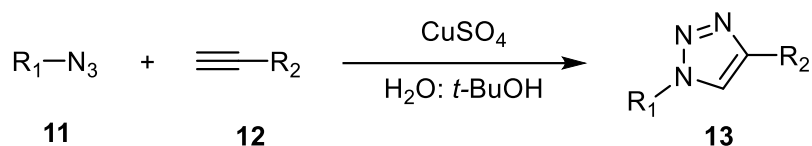
### ➤ Métodos de Síntesis de Triazoles

Existen diversos métodos de síntesis de triazoles, entre los que destacan la reacción de una anilina con azida de sodio a 0°C por 2 h para la formación de la azida aromática y posteriormente se mantiene a reflujo para la obtención de la azida en tolueno como disolvente (Esquema 2).<sup>11</sup>



**Esquema 2.** Síntesis de triazoles mediante una anilina.

En otro método se hace reaccionar una azida con un alquino empleando como catalizador una sal de cobre.<sup>12</sup>

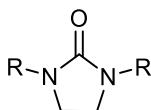


**Esquema 3.** Síntesis de triazoles mediante catálisis

### B. Heterociclos de cinco miembros.

Los heterociclos son compuestos en los que uno o más átomos de carbono del anillo son reemplazados por un heteroátomo. Dentro de los anillos de 5 miembros con dos heteroátomos, se tiene a los 1,3-azoles como el imidazol y el oxazol, mientras que el triazol tiene 3 heteroátomos; y entre los 1,2-azoles se encuentran el pirazol, el isoxazol y el isotiazol.<sup>17</sup>

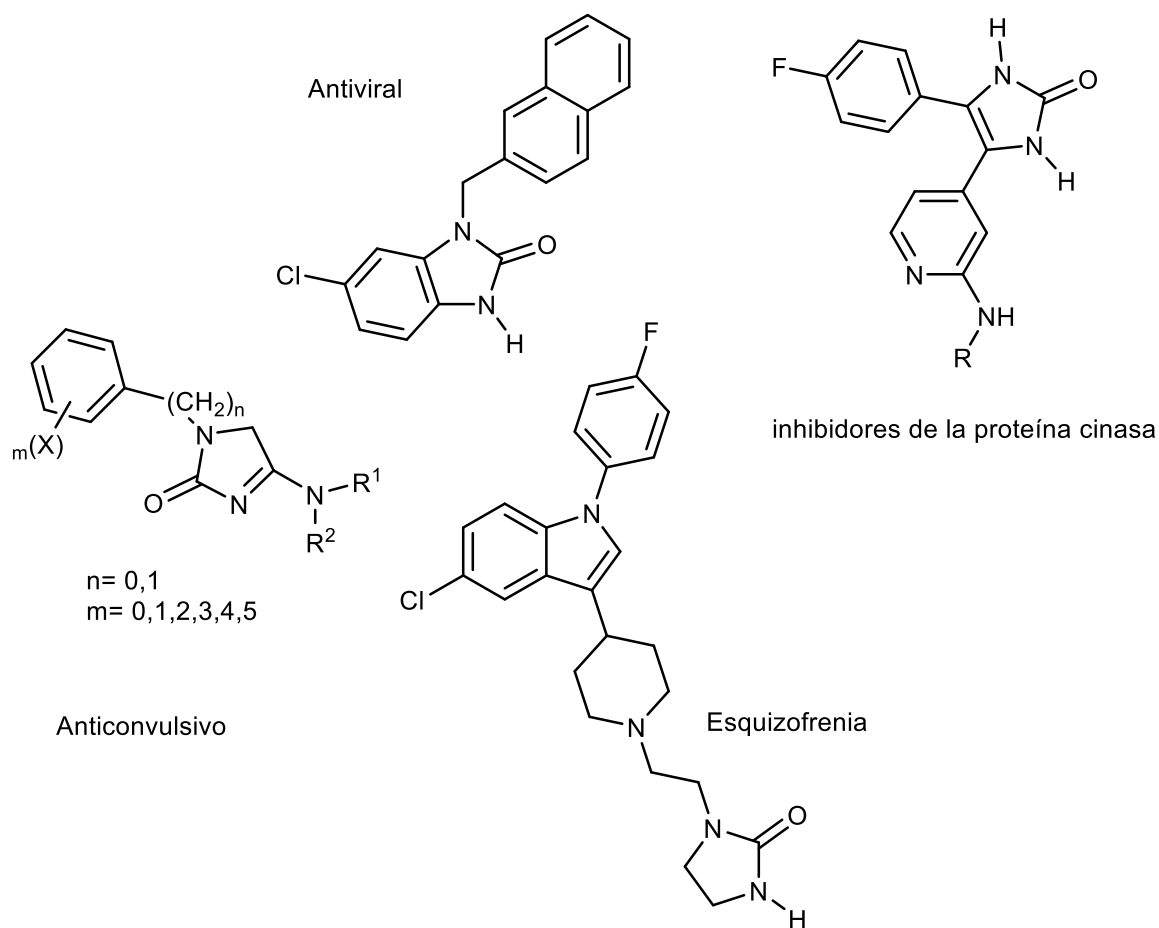
Las imidazolidin-2-onas<sup>13</sup> son compuestos de alto interés sintético cuya estructura se caracteriza por ser un heterociclo de 5 miembros conteniendo nitrógenos unido por un grupo carbonilo (Figura 5).



**Figura 5.** Núcleo base de imidazolidin-2-onas.



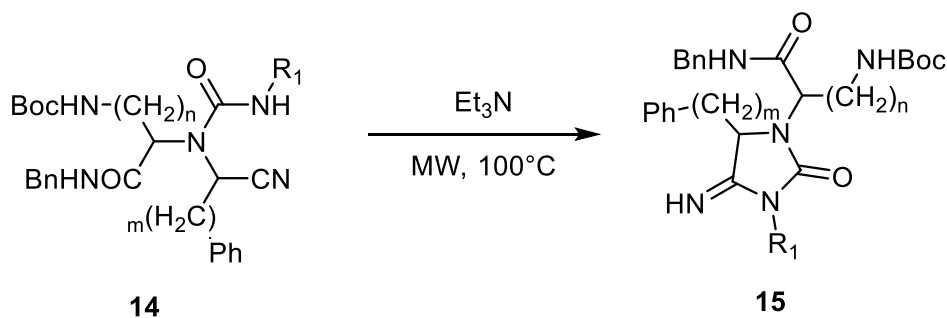
Las benzoimidazolonas o bencimidazolonas, son compuestos heterocíclicos formados por la fusión de un anillo bencénico y un imidazol y son junto con las imidazolidin-2-onas anillos que presentan una amplia variedad de actividades biológicas que van desde anticonvulsivo<sup>14</sup>, antiviral<sup>14</sup>, en el tratamiento de la esquizofrenia<sup>15</sup> e inhibidores de la proteína cinasa<sup>16</sup>. (Figura 6).



**Figura 6.** Ejemplos de imidazolidin-2-onas con actividad biológica.

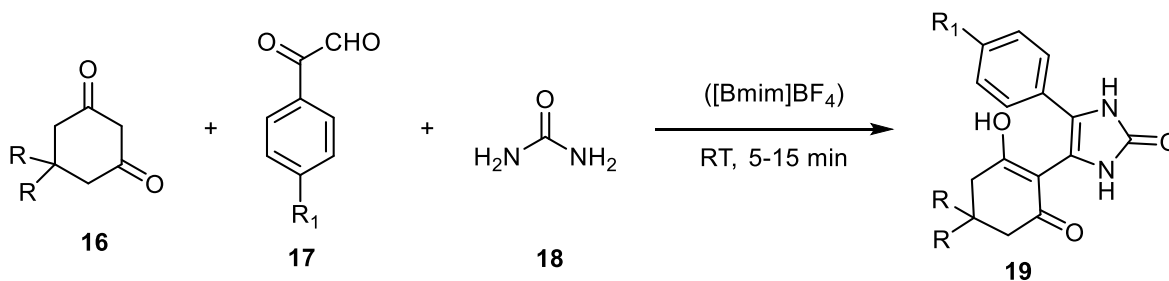
### C. Métodos de síntesis de imidazolidin-2-onas y bencimidazol-2-onas

Existen varios métodos para la preparación de las imidazolidin-2-onas, entre los que se encuentran la reacción entre un  $\alpha$ -nitriilo urea en medio básico o empleando un ácido débil, para llevar a cabo la obtención de los derivados 4-iminoimidazolidin-2-onas.<sup>18</sup>



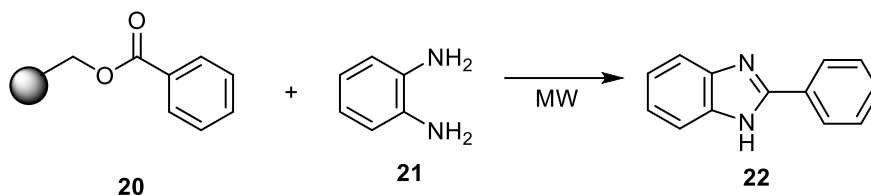
**Esquema 4.** Obtención de imidazolidin-2-onas a partir de ureas sustituidas.

Un segundo método involucra una ciclación entre 1,3-dicetonas cíclicas, aldehídos y urea usando un líquido iónico.<sup>19</sup>



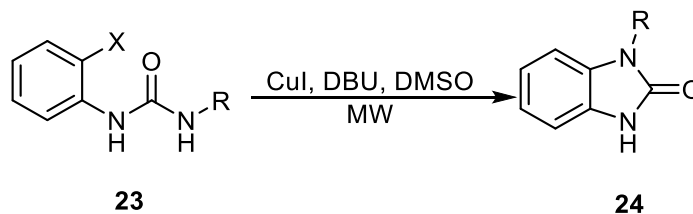
**Esquema 5.** Obtención de imidazolidin-2-onas a partir de compuestos dicarbonílicos.

Un tercer método lleva a cabo una reacción de condensación de un éster con 1,2-fenilendiamina utilizando radiación de microondas.<sup>20</sup>



**Esquema 6.** Obtención de bencimidazol-2-onas a partir de esteres.

En el último método se obtienen 1,3-dihidrobencimidazol-2-ona *N*-sustituida a partir de *N*-(2-halofenil) ureas utilizando yoduro cuproso como catalizador.<sup>21</sup>

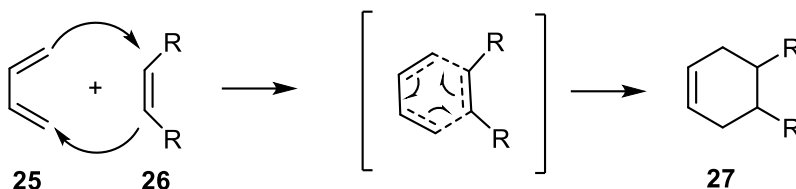


**Esquema 7.** Obtención de bencimidazol-2-onas a partir de ureas.

#### D. Reacción de cicloadición de Diels-Alder.

La reacción de adición entre alquenos o alquinos con dienos **25** se conoce como cicloadición de Diels-Alder y es de las más importantes. Los dienos son un tipo de moléculas que en su estructura contienen dos dobles ligaduras conjugadas y son ricos en electrones, conteniendo

4 electrones  $\pi$ , mientras que los dienófilos **26** son dobles o triples ligaduras que contienen 2 electrones  $\pi$ . El producto de una cicloadición de este tipo es un tetrahidrociclohexeno **27**. El mecanismo de reacción es concertado y de un solo paso como se observa en el Esquema 8

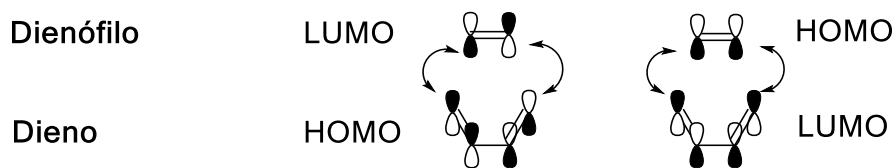


**Esquema 8.** Mecanismo de reacción para la cicloadición de Diels-Alder

Los dienos del tipo 4,5-dimetilen *exo*-imidazolidin-2-onas *N*-sustituidas se pueden utilizar con buenos resultados en reacciones de Diels-Alder <sup>22, 23</sup> utilizando fuentes de energía no convencionales como son microondas y tubos de presión a alta temperatura, mismos que resultan interesantes para la síntesis de compuestos poliheterocíclicos del tipo tetrahidrobenzoimidazol-2-onas.

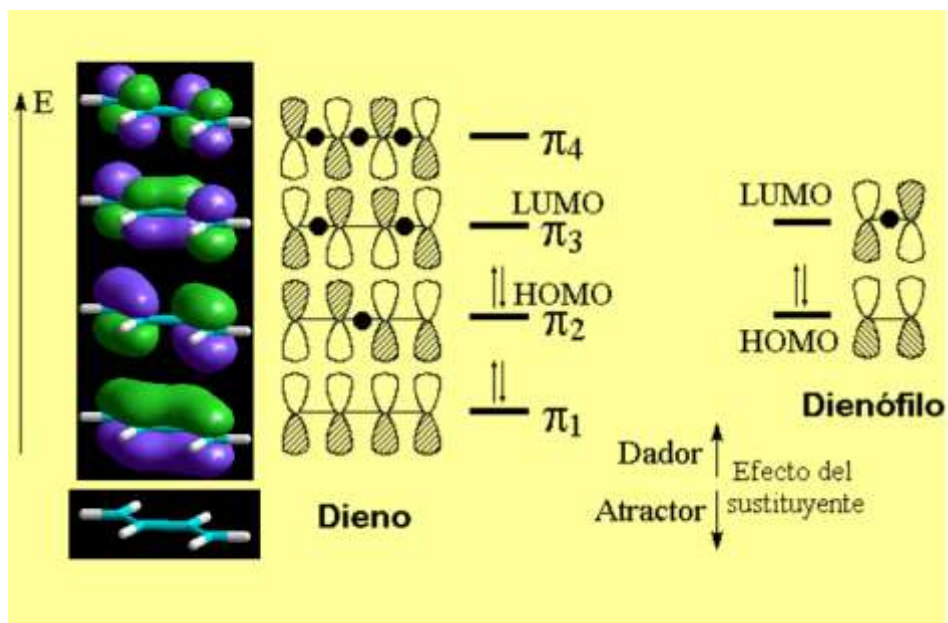
Una ventaja de la reacción Diels-Alder es que es estereoespecífica, es decir, la estereoquímica del dienófilo del que se parte se mantiene durante la reacción, obteniéndose un solo producto estereoisomérico.

La reactividad de esta reacción de cicloadición depende de la energía de separación de los orbitales de frontera HOMO (Highest Occupied Molecular Orbital) y LUMO (Lowest Unoccupied Molecular Orbital) de sus componentes, generalmente en este tipo de reacción, el orbital HOMO del dieno interacciona con el LUMO del dienófilo (Figura 7).



**Figura 7.** Interacciones HOMO/LUMO para la cicloadición de Diels-Alder.

Como en todas las reacciones la diferencia energética es importante, por lo tanto, entre más baja es la diferencia de energía entre el HOMO y el LUMO, más baja es la energía del estado de transición de la reacción, por lo tanto, puede producirse la transferencia electrónica (Figura 8). Los sustituyentes electroattractores bajan la energía entre el HOMO y el LUMO, mientras que los electrodonadores incrementan la energía.<sup>24.25.26</sup>

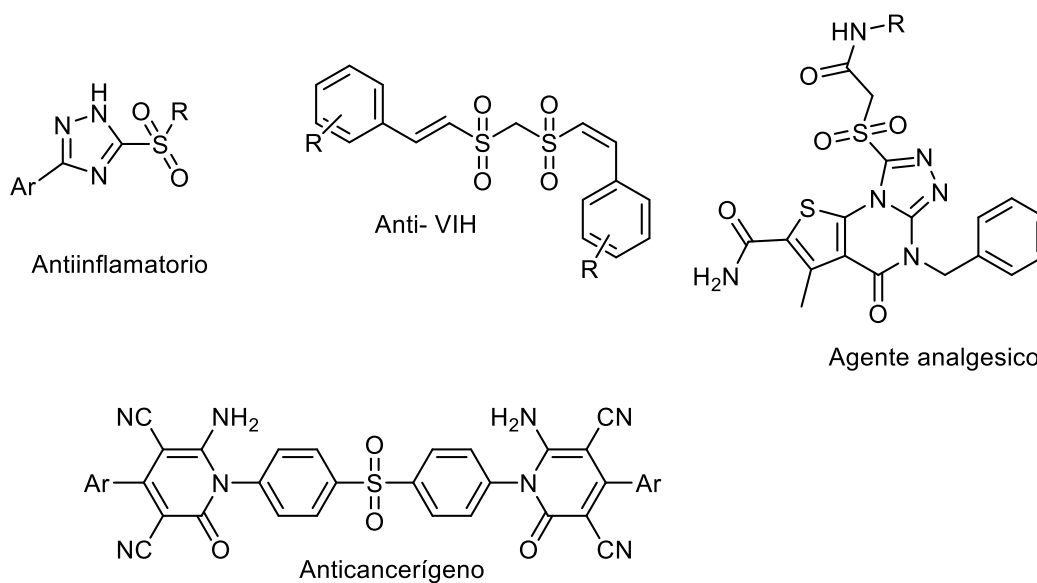


**Figura 8.** Diagrama de orbitales moleculares.

### E. Sulfonas como potentes farmacóforos en la química medicinal

Las sulfonas son compuestos químicos donde el átomo central es azufre, el cual está unido a dos oxígenos por dobles enlaces y a dos átomos de carbono por dos enlaces sencillos. Son representadas por la fórmula general  $R-SO_2-R'$ , donde R y R' son grupos orgánicos alquilo o arilo.

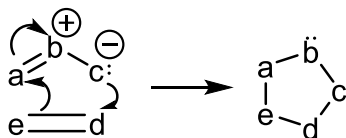
La química de sulfonas ha sido explorada por su importancia como intermedios sintéticos para la producción de una amplia gama de moléculas química y biológicamente activos. Los investigadores han determinado muchas actividades terapéuticas de compuestos que contienen una sulfona, incluyendo antibacterianos, antifúngicos, antimaláricos, inhibidores de la proteasa de cisteína, anti-VIH, anti-proliferativa, anti-cáncer, antagonista de los receptores de tiroides, antiinflamatorio, etc. (Figura 9)<sup>28</sup>.



**Figura 9.** Ejemplos de compuestos que contienen una sulfona con actividad biológica.

### F. Reacciones de Cicloadición 1,3-dipolares.

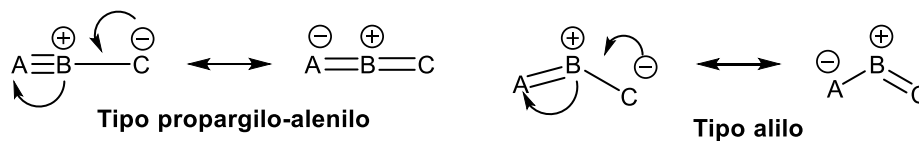
La reacción de cicloadición 1,3-dipolar o reacción de Huisgen es un método muy utilizado para la creación de sistemas heterocíclicos de cinco miembros, donde un 1,3-dipolo reacciona con un dipolarófilo (Esquema 9).<sup>29</sup>



**Esquema 9.** Reacción de cicloadición 1,3-dipolar.

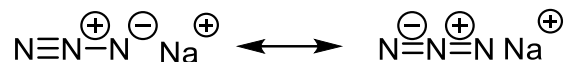
Un 1,3-dipolo se define como una especie que puede ser representada mediante una estructura octete zwitteriónica y que da lugar a cicloadiciones 1,3-dipolares con sistemas insaturados, denominados dipolarófilos, experimentando en ellas la pérdida de las cargas formales.<sup>30</sup>

Se pueden distinguir dos tipos de 1,3-dipolos que participan en estas reacciones: de tipo alilo que se caracterizan por poseer cuatro electrones en tres orbitales *p* paralelos y perpendiculares al plano del dipolo, y el átomo central puede ser N, O o S y tipo propargilo/alenilo que poseen además un orbital  $\pi$  extra ortogonal al orbital molecular del dipolo y en su caso el átomo central sólo puede ser un átomo de nitrógeno (Esquema 10).

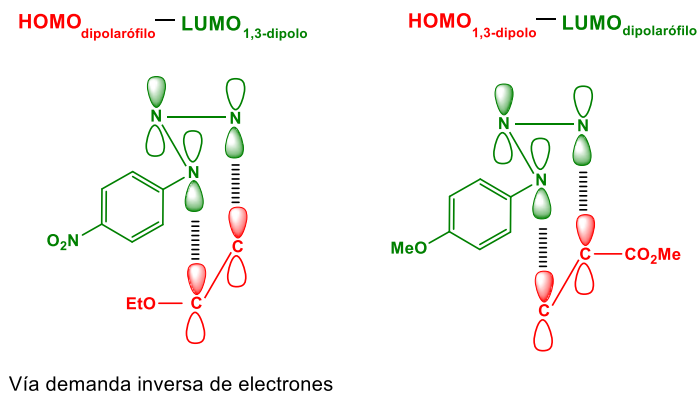


**Esquema 10.** Tipos de 1,3-dipolos.

El ozono es un derivado 1,3-dipolar de tipo alilo, mientras las azidas son del tipo propargilo/alenilo cuya descomposición se encuentra muy favorecida termodinámicamente, aunque debido a su elevada estabilidad cinética pueden ser aisladas.<sup>31</sup>



La cicloadición 1,3-dipolar está permitida en condiciones térmicas. Dependiendo de las energías relativas de los orbitales en el 1,3-dipolo y el dipolarófilo, la interacción más fuerte puede darse por interacción entre el HOMO del dipolo y el LUMO del dipolarófilo o viceversa.<sup>32</sup>



**Figura 10.** Interacciones HOMO/LUMO para la cicloadición 1,3-dipolar.





### III. OBJETIVOS

Con base en lo anteriormente mencionado, en este trabajo de investigación se plantearon los siguientes objetivos.

➤ **Objetivo general**

Preparar derivados de (4-sulfonil-1,2,3-triazolil)benzoimidazol-2-onas mediante una síntesis lineal, involucrando reacciones de cicloadición Diels-Alder y (3+2) azida-enolato.

➤ **Objetivos particulares**

- ✚ Preparar el dieno *exo*-heterocíclico derivado de imidazolidin-2-ona N-sustituida a partir de la reacción entre bisimina y trifosgeno.
- ✚ Realizar la cicloadición de Diels-Alder, entre metil vinil cetona y el dieno *exo*-heterocíclico para la obtención de tetrahidrobenzoimidazol-2-ona.
- ✚ Obtener las benzoimidazol-2-ona a través de una reacción de oxidación.
- ✚ Sintetizar mediante reacciones de cicloadición (3+2) azida-enolato derivados de (4-sulfonil-1,2,3-triazil)-benzoimidazol-2-onas.



### IV. JUSTIFICACIÓN

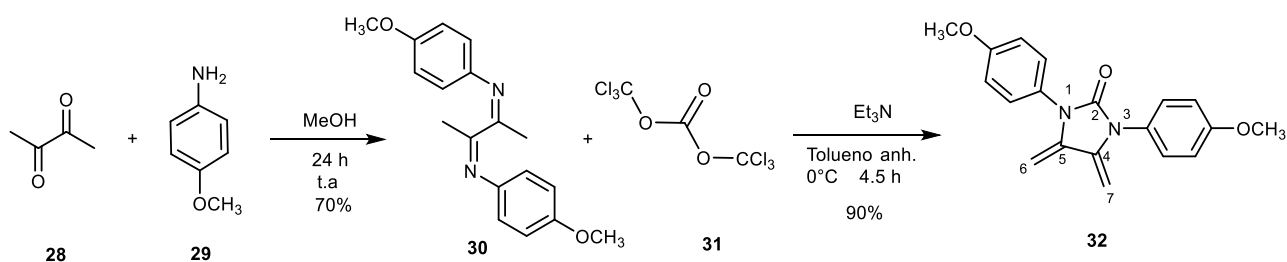
En la química orgánica siempre se ha buscado llevar a cabo la síntesis viable de compuestos novedosos que puedan ser evaluadas como posibles fármacos. Es así que la síntesis de moléculas con más de un grupo funcional biológicamente activo, es de gran interés, debido a que pueden actuar de manera conjunta los rasgos estructurales sobre dos distintos blancos biológicos o sobre uno potenciando la actividad biológica.

Las bencimidazolonas presentan una amplia variedad de propiedades farmacológicas como son antiviral, antitumorales, inhibidores de la proteína cinasa, en el tratamiento de la esquizofrenia y otros. Mientras que los triazoles son un variado grupo de compuestos que también han demostrado actividades biológicas como antifúngicos. Por otro lado, las sulfonas son compuestos que presentan una amplia variedad de actividades biológicas que va desde antiinflamatoria, anticancerígena, anti-VIH.

Por lo tanto, la formación de triazoles que incorporen una bencimidazol-2-ona y una sulfona, nos lleva a la obtención de una molécula que pudiese tener distintas aplicaciones, tanto farmacológicas como sintéticas, lo cual conduce a la generación de un nuevo conocimiento en el área de química orgánica.

### V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

En el Esquema 11 se describe la metodología utilizada para la síntesis de 4,5-dimetileno *exo*-Imidazolidin-2-ona *N*-sustituídas **32**, a partir de la *bis*-imina **30**, la cual se obtuvo al hacer reaccionar la 2,3-butanodiona (**28**) con *p*-anisidina (**29**) en metanol como disolvente durante 24 horas, observando la formación de un precipitado amarillo el cual se recolectó por filtración, obteniéndose un producto puro con un rendimiento del 71%. En el espectro de **RMN** <sup>1</sup>H (Espectro 1) para la *bis*-imina **30**, se observa una señal simple que integra para seis hidrógenos que corresponden a H-1,4 en 2.18 ppm. En 3.82 ppm, se observa una señal simple que corresponde a los hidrógenos del grupo metoxilo, mientras que los hidrógenos aromáticos se observan en 6.96-6.73 ppm. En el espectro de **RMN** <sup>13</sup>C (Espectro 2) se observa una señal a 15.4 ppm de los metilos C-1,4, a 55.4 ppm los metoxilos y los carbonos aromáticos se observan de 114.2 a 144 ppm.



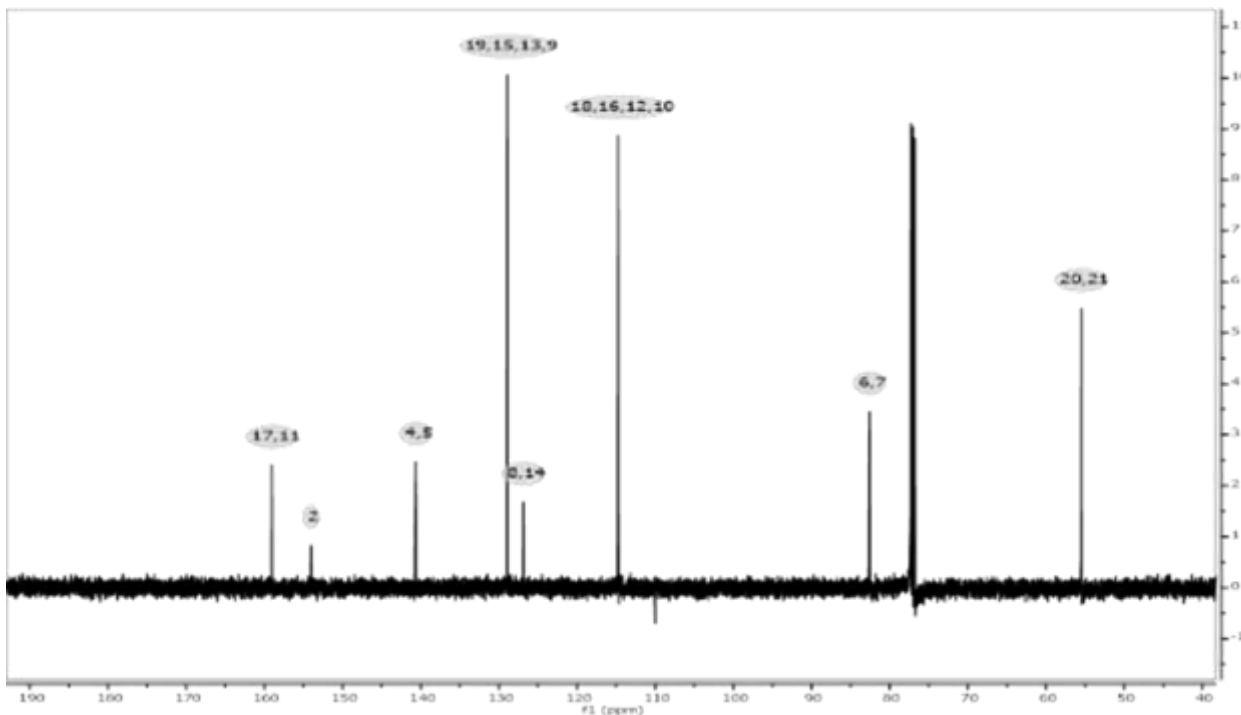
**Esquema 11.** Síntesis de 4,5-dimetileno *exo*-Imidazolidin-2-ona *N*-sustituída **32**.

Consecuentemente se hizo reaccionar la *bis*-imina **30** con trifosgeno (**31**) en presencia de una base orgánica, para liberar el trifosgeno y utilizando tolueno como disolvente a 0°C durante 4.5 horas, obteniéndose **32** en buen rendimiento (88%) (Esquema 11). Los análisis de los espectros de **RMN** <sup>1</sup>H (Espectro 4) muestran la desaparición de la señal simple en 3.82 ppm,

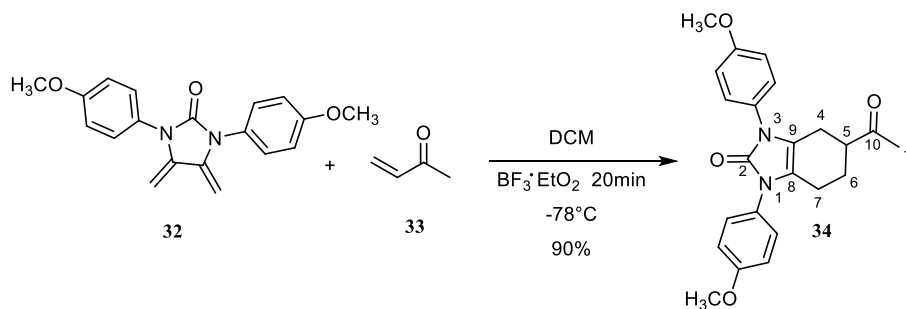


## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

de los metilos, apareciendo en cambio una señal doble, que corresponde a los hidrógenos vinílicos en 4.77 ppm como una señal doble ( $J = 2.3$  Hz) que corresponden a H-6a y H-7a, en 4.26 ppm se observa una señal doble con una  $J = 2.3$  Hz que corresponde a los H-6b y H-7b. Los hidrógenos aromáticos y los metoxilos se encuentran sin cambio apreciable. En el espectro de **RMN**  $^{13}\text{C}$  (Espectro 5), se observa a 55.5 ppm la señal de los carbonos del metoxilo; apareciendo a 82.5 ppm, los carbonos de los metilenos C-6,7. Por otro lado se aprecia la señal en 140.7 ppm corresponde a los carbonos C-4,5. El carbono del grupo carbonilo se observa a 154.0 ppm. Es de notar la desaparición de la señal de los metilos en 15.4 ppm. El compuesto se corrobora con el ion molecular  $[\text{M}/\text{Z}]^+ = 322$  en el espectro de masas (Espectro 6).



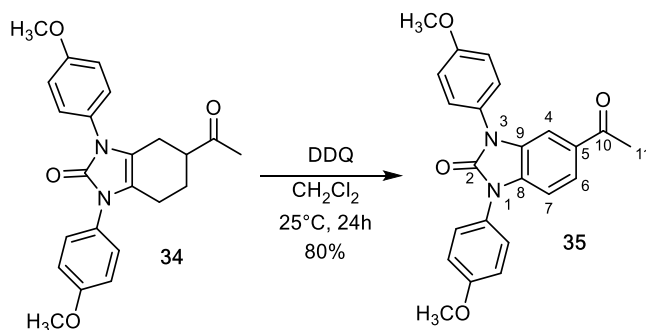
Posteriormente, se obtuvo la tetrahidrobenzoimidazol-2-ona **34** realizando la reacción de cicloadición de Diels-Alder entre el dieno imidazolidin-2-ona **32** y la metil vinil cetona (**33**) empleando un eterato de trifluoruro de boro en DCM anhidro por 20 minutos, obteniéndose el cicloaducto con un rendimiento excelente del 90% (Esquema 12). En el espectro de **RMN**  $^1\text{H}$  (Espectro 7) es de notar la señal simple a 2.13 ppm, la cual integra para 4H y corresponde al H-6b y al metilo de la cetona. Los hidrógenos de los metilenos H-4a, y H-7 se observan como una señal múltiple a campo alto, en 2.39 – 2.26 ppm, mientras que el H-6a está en 1.76 – 1.65 ppm. Por otro lado, en **RMN**  $^{13}\text{C}$  (Espectro 8) aparece una señal a 209.50 ppm (C-10) que corresponde al grupo carbonilo de la cetona. El carbono del metilo de la cetona se encuentra en 24.82 ppm (C-11) y aparecen tres señales de carbonos con hibridación  $\text{sp}^2$ , en 20.6 ppm (C-7), 22.7 ppm (C-6) y 28.3 ppm (C-4). En el Espectro 9 se observa el ion molecular  $[\text{M}/\text{Z}]^+ = 392$  lo que confirma la estructura del compuesto.



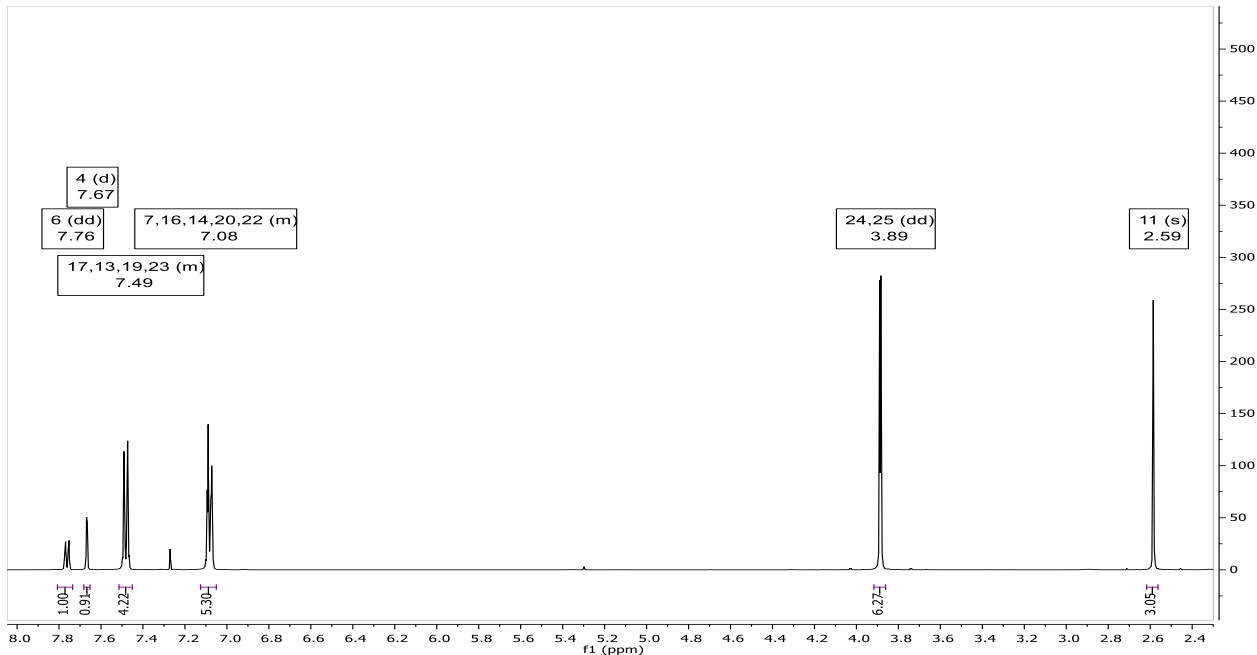
**Esquema 12.** Síntesis de tetrahidrobenzoimidazol-2-ona.

Siguiendo con la síntesis lineal, se llevó a cabo una reacción de oxidación, los compuestos cíclicos de seis eslabones, se aromatizan cuando se calientan en presencia de catalizadores de hidrogenación, como el Pt, Pd o con sustancias fácilmente reducible como Se, S, Cloranil (Tetracoloro-benzoquinona) y DDQ (Dicloro- Diciano-Quinona). En este caso, la tetrahidrobenzoimidazol-2-ona **34** se oxidó empleando DDQ en diclorometano como

disolvente para la obtención de un sólido blanco (80%) que corresponde a la benzoimidazol-2-ona **35** (Esquema 13).<sup>33</sup> Mediante **RMN** <sup>1</sup>H (Espectro 10) se puede apreciar que el número de hidrógenos aromáticos aumentó observándose entre 7.76-7.08 ppm, sin embargo los hidrógenos de los metoxilos y el metilo no presentan cambios. En **RMN** <sup>13</sup>C (Espectro 11), se puede observar la desaparición de las señales correspondientes a los carbonos de los metilenos, en su caso, aparece un aumento en el número de carbonos aromáticos (Figura 11). Mediante el ion molecular  $[M/Z]^+ = 388$  (Espectro 12) se confirma que se llevó a cabo la aromatización adecuadamente.

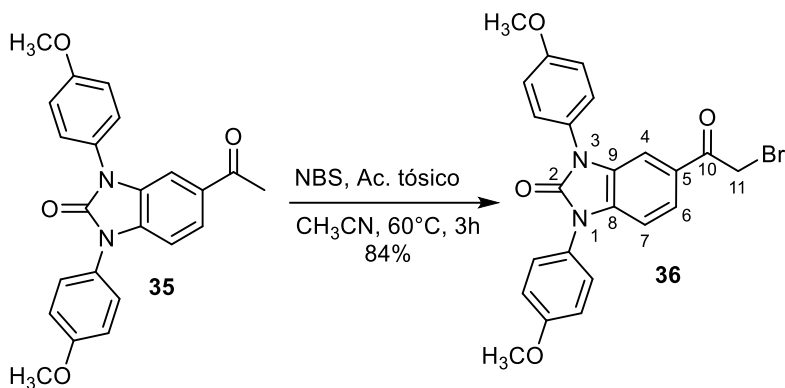


**Esquema 13.** Síntesis de benzoimidazol-2-ona **35**.



**Figura 11. Espectro de RMN de  $^1\text{H}$  de la benzoimidazol-2-ona 35.**

Una vez obtenida la benzoimidazol-2-ona **35** se procedió a la  $\alpha$ -halogenación de la metilarilcetona la cual se llevó a cabo conforme a la metodología descrita en la literatura mediante el uso de NBS como agente bromante. (Esquema 14). Se obtuvo el producto deseado como un sólido color crema, con un P.F de 54 - 57 °C, con un rendimiento del 84%. La estructura fue confirmada por **RMN  $^1\text{H}$**  (Espectro 13) por una señal simple a 4.40 ppm, que integra para los 2-H y que corresponde al metileno H-11. Mientras que en **RMN  $^{13}\text{C}$**  (Espectro 14) el carbono del metileno (C-11) aparece en 29.52 ppm. En el Espectro 15 se observa  $[\text{M}/\text{Z}]^+ = 468$  que corresponde al peso molecular del compuesto **36**.

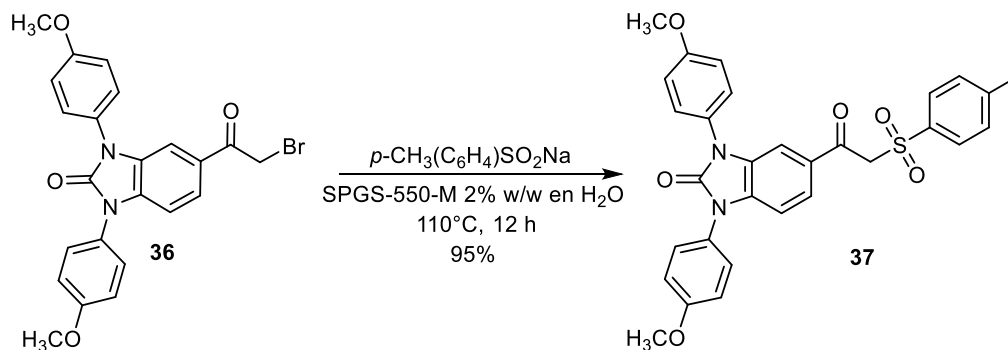


**Esquema 14.** Halogenación de benzoimidazol-2-ona **36**.

Consecutivamente conforme a una metodología sintética desarrollada por el grupo de investigación de González-Romero<sup>37</sup>, la cual es amigable con el ambiente, se sintetizó la correspondiente  $\beta$ -sulfonil cetona ( $\beta$ -cetosulfona) **37** mediante el uso de nanomicelas de segunda generación (agentes anfifílicos o surfactantes) como el SPGS-550-M (Aldrich: 776033)<sup>36</sup> en solución acuosa a partir del compuesto bromado **36** en presencia de *p*-toluensulfonato de sodio como agente de sulfonación a 110°C durante 12 horas (Esquema 14). El crudo de reacción fue purificado mediante cromatografía en columna empleando sílica gel como fase estacionaria y una mezcla Hexano/AcOEt (7:3) como fase móvil, para obtener un sólido blanco con un excelente rendimiento del 95%.

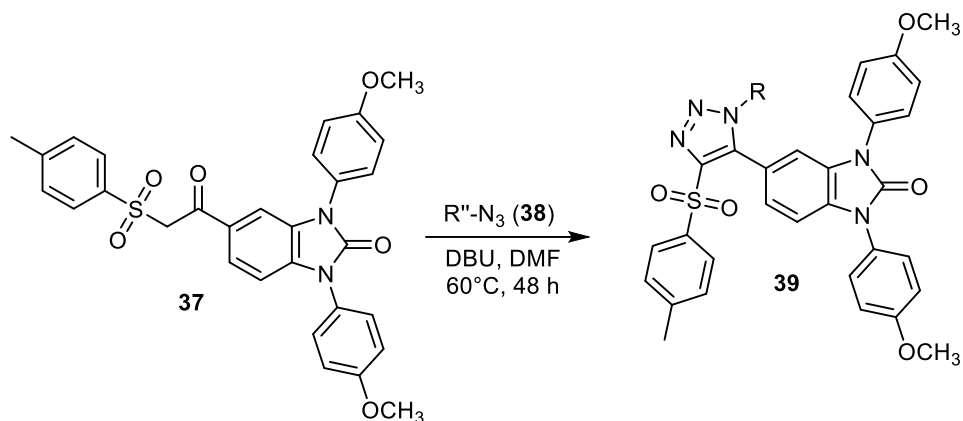
Mediante el espectro de **RMN** <sup>1</sup>H (Espectro 16) fue posible identificar a campo alto, una señal simple en 2.44 ppm que corresponde al metilo de la sulfona (H-32), así mismo, se observó un aumento en los hidrógenos aromáticos presentes en este nuevo compuesto. Por otro lado, en **RMN** <sup>13</sup>C (Espectro 17) se encuentra el C-32 a 21.144 ppm, el resto de las señales siguen sin cambio aparente. Mediante el ion molecular  $[M/Z]^+ = 542$  en el Espectro 19 se corrobora la estructura del compuesto **37**.





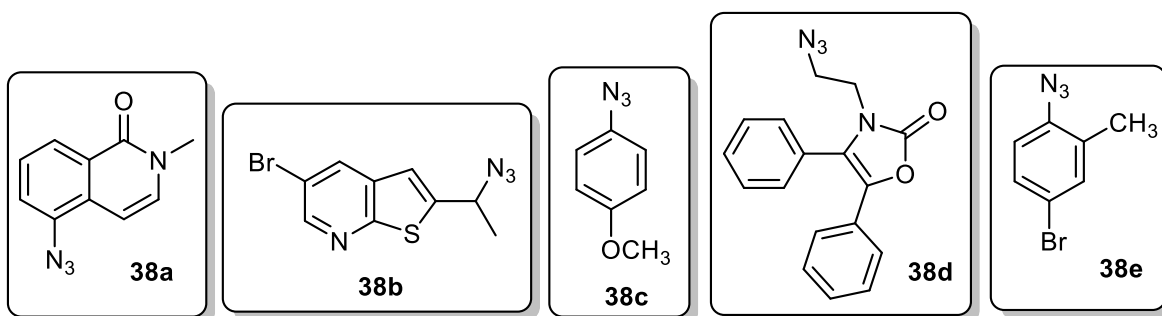
**Esquema 15.** Síntesis de la  $\beta$ -cetosulfona **37**.

Siguiendo las metodologías descritas por el grupo de investigación de González-Romero<sup>55</sup><sup>37</sup>, se llevó a cabo reacciones de cicloadición (3+2) azida-enolato para la obtención de los correspondientes 1,2,3-triazoles-1,4,5-trisustituidos mediante el uso de DBU como base, el cual permitió la activación de la correspondiente  $\beta$ -cetosulfona para llevar a cabo la subsecuente cicloadición del tipo (3+2) con distintos azido-derivados, empleando DMF como disolvente a  $60^\circ\text{C}$  por 48 h (Esquema 16). Los productos fueron purificados mediante cromatografía en columna.



**Esquema 16.** Reacciones de cicloadición (3+2) azida-enolato **39**.

Se emplearon cinco azidas para llevar a cabo la formación de los correspondientes triazoles, las cuales fueron sintetizadas por el grupo de investigación, concluyendo que estas azidas llevan a cabo la cicloadición 1,3-dipolar exitosamente (Figura 12).



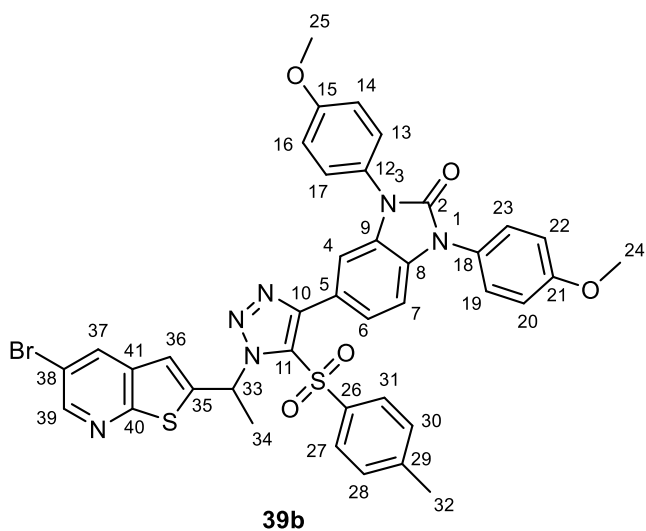
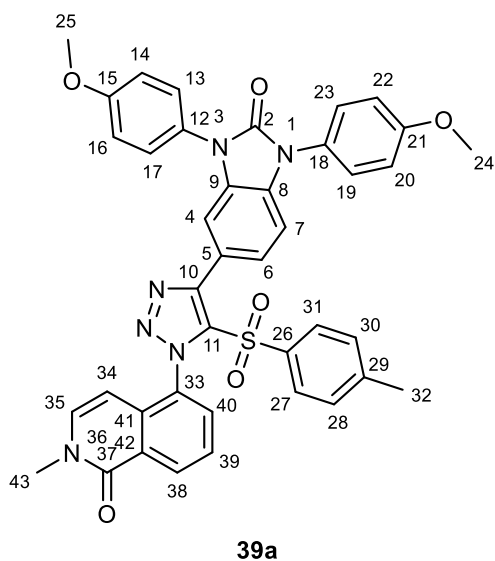
**Figura 12.** Azidas **38** utilizadas para la cicloadición 1,3-dipolar.

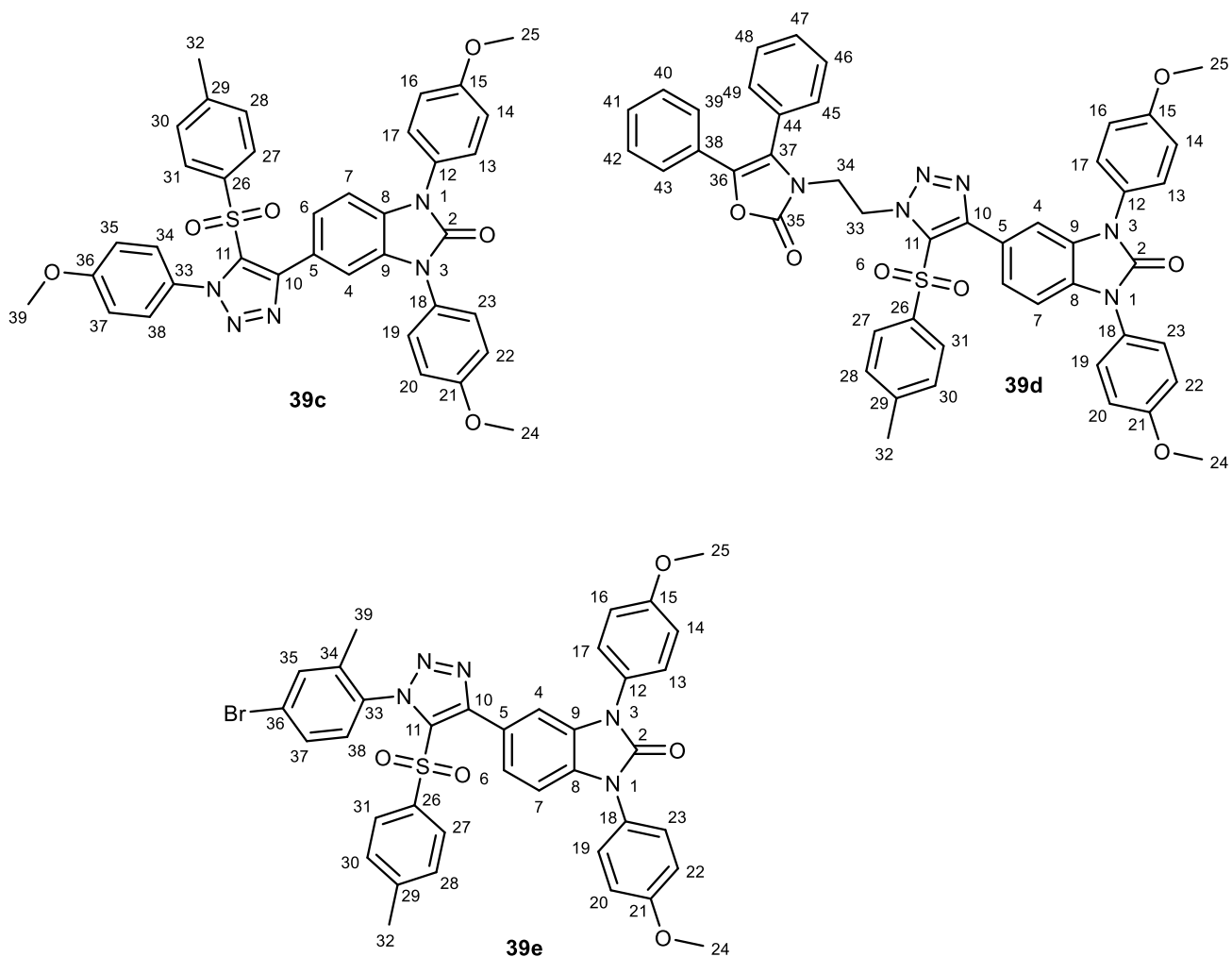
Como se puede apreciar en la Tabla 1 se obtuvieron cinco derivados de (4-sulfonil-1,2,3-triazil)benzoimidazol-2-onas **39a-e** con rendimientos de bajos a moderados. También se

aprecian los puntos de fusión de cada uno de los productos finales. Cabe destacar que una ventaja de este método es la obtención de triazoles 4, 5 sustituidos a comparación del resto de los métodos.

**Tabla 1. Rendimientos de los 1,2,3- triazoles.**

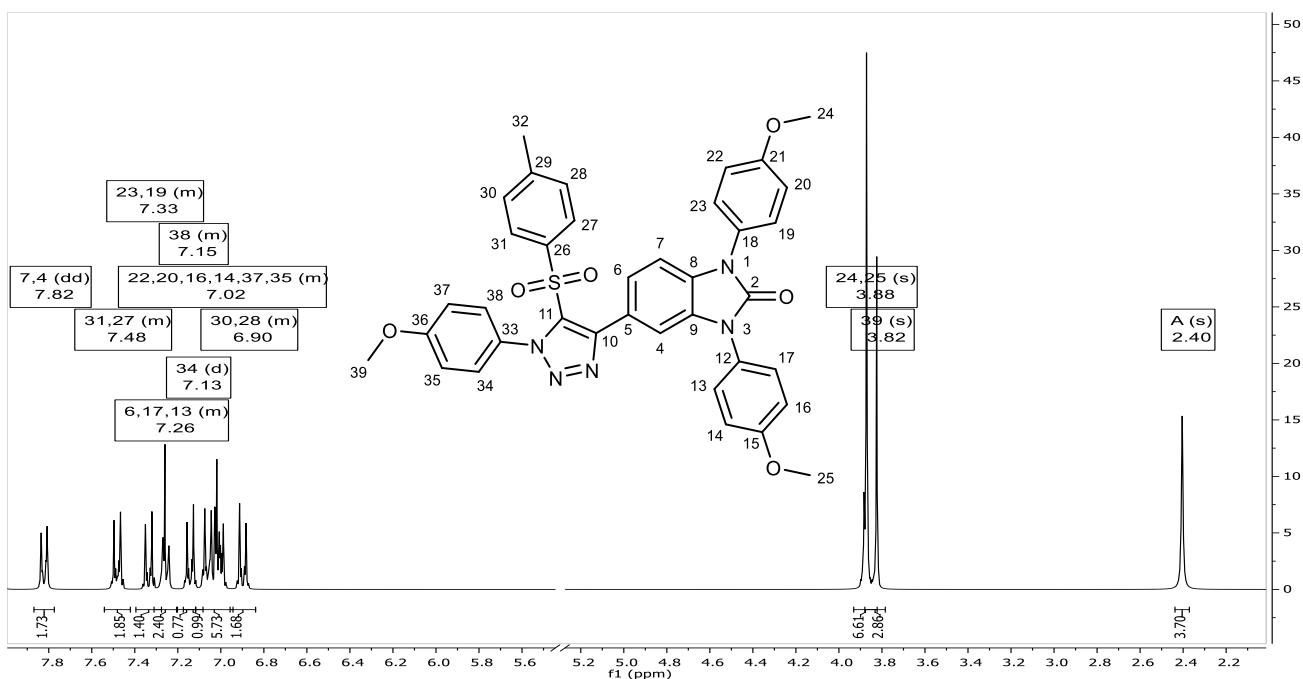
Compuesto	38 (R)	Rendimiento (%)	P. F. (°C)
<b>39a</b>	(metil isoquinolin-1-ona)	42	62 - 65
<b>39b</b>	(1-(5-bromotieno[2,3-b]piridin-2-il)etil)	52	185 - 187
<b>39c</b>	(4,5-difeniloxazol-2-ona)	53	112 - 115
<b>39d</b>	(4-metoxifenilo)	48	120 - 123
<b>39e</b>	(4-bromo-2-metilfenilo)	74	85 - 87





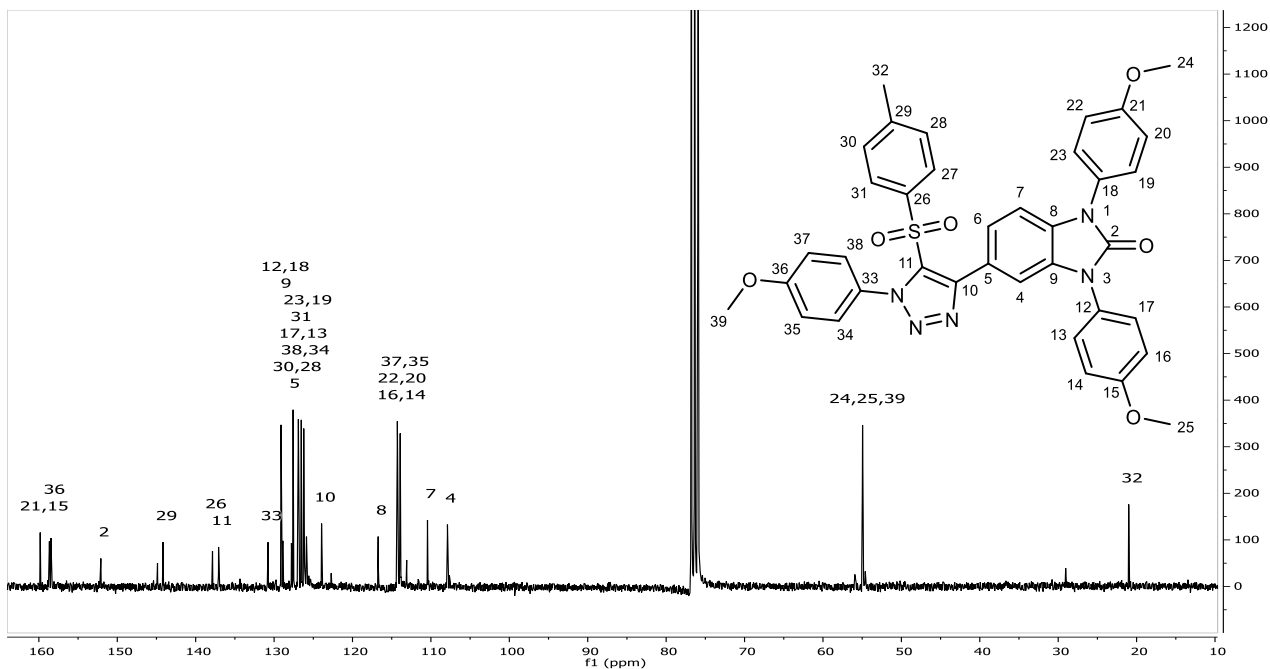
Para la elucidación de la estructura de los productos finales se utilizó la espectroscopia de  $\text{RMN}^1\text{H}$  y  $\text{RMN}^{13}$ . Se tomó como modelo el compuesto **39c** para la discusión de resultados, ya que los demás derivados mostraron desplazamientos similares en los espectros.

En la Figura 13 se muestra el espectro de **RMN-<sup>1</sup>H** (Espectro 24) del compuesto **39c** donde se aprecia el desplazamiento de los hidrógenos H-32 del grupo tosilo sin cambios, mientras que ahora tenemos tres grupos metoxilos H-24, 25, 39 en la estructura, los cuales se observan como singuletes a 3.87 y 3.82 ppm. Los H-4, 7 se encuentran a campo bajo como una señal doble a 7.82 ppm, mientras que el resto de los hidrógenos aromáticos se observan entre 6.90-7.33 ppm.



**Figura 13. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H (300 Mhz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 39c.**

En el espectro de **RMN-<sup>13</sup>C** (Espectro 25), se observa en 152 ppm el carbono correspondiente al carbonilo de la imidazolona C-2, en 123.9 ppm se encuentra el carbono ipso C-10, mientras que en 137.079 esta el C-11. El C-4 y 7 se observan a 107.89 y 110.436 ppm respectivamente, observándose que no hubo un gran cambio respecto al compuesto **38**. El carbono del metilo C-32 se observa a 21 ppm.



**Figura 14. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 39c.**

En el Espectro 26 se observa el espectro de masas por impacto electrónico donde es posible apreciar el ion molecular que corresponde al peso molecular del compuesto **39c**,  $[M/Z]^+ = 542$ .

En la Tabla 2 se observan los desplazamientos químicos correspondientes a los compuestos **39 a-e** en RMN de <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C, donde es posible apreciar que en general, los desplazamientos para el grupo metoxilo H-24 y 25 no tienen una diferencia en los cinco productos finales. La única diferencia notable es el desplazamiento de los H-4 y 7 del compuesto **39a**, donde observamos que el H-4 se desplaza a campo bajo comparado con el H-7, esto debido al grupo carbonilo de la isoquinolina presente en su estructura.



## V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

**Tabla 2. Desplazamientos químicos correspondientes a los compuesto 39a-e en RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$**

Compuesto	39a	39b	39c	39d	39e
<b>H-4, 7</b>	8.60 (d, H-4), 7.91 (d, H-7)	7.70 (m)	7.82 (m)	7.99 (d)	7.83 (d)
<b>H- 24, 25</b>	3.87 (d)	3.88 (s)	3.87 (s)	3.87 (m)	3.86 (d)
<b>H-32</b>	2.45 (s)	2.56 (d)	2.40 (s)	2.55 (d)	2.41 (s)
<b>H<sub>arom</sub></b>	7.91-6.97 (m)	8.0-7.06 (m)	7.48-6.90 (m)	7.70-7.08	7.49- 6.90 (m)
<b>C-2</b>	156.2	152.8	152.09	158.28	154.5
<b>C-10</b>	128.9	127.3	123.9	128.39	129.4
<b>C-11</b>	135.3	127.4	137.09	128.7	134.5
<b>C-12, 18</b>	130.1	127.46	129.11	127.20	132.0
<b>C-24, 25</b>	55.6	55.3	54.9	54.36	55.4
<b>C-32</b>	21.4	23.2	21.00	22.23	21.8
<b>C<sub>arom</sub></b>	110.12-138.3	107.9-176.9	107.9-159.8	106.9-126.4	110.9-144.9



### VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

La determinación de los puntos de fusión se realizó en un aparato Melt-Temp y no se encuentran corregidos.

El Tolueno anhidro se obtuvo al calentarlo a reflujo con sodio usando benzofenona como indicador.

La trietilamina se calentó a reflujo en presencia de hidróxido de potasio para posteriormente ser destilada y mantenida bajo hidróxido de potasio.

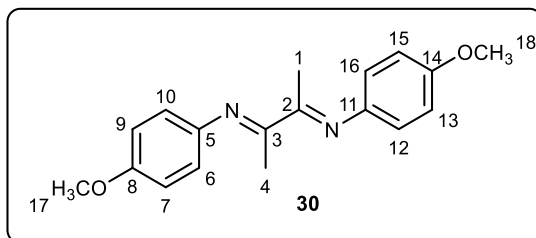
Para la cromatografía en capa fina se utilizaron cromatofolios de sílica gel ALUGRAM® SIL G/UV 254 y se revelaron con luz ultravioleta proveniente de una lámpara de luz UV Mineralight. La purificación de los compuestos se realizó por cromatografía en columna utilizando como soporte gel de sílice malla 230-400. Para el caso del dieno, el gel de sílice fue tratada previamente con 10% trietilamina.

Los espectro de resonancia magnética nuclear de Hidrógeno (**RMN <sup>1</sup>H**) a 300 o 500 MHz y de carbono 13 (**RMN <sup>13</sup>C**) a 75 o 125 MHz respectivamente, se determinaron en un espectrómetro VARIAN-INOVA 300 MHz y VARIAN MERCURY-300. Los desplazamientos químicos ( $\delta$ ) están dados en partes por millón (ppm) y se utilizó como disolvente cloroformo deuterado.

Los espectros de masas por impacto electrónico se determinaron en un Espectrómetro de masas Jeol, SX 102 A.



## I. Obtención del dieno imidazolidin-2-ona

**(E, E)-N,N'-bis(4-metoxifenil)butano-2,3-diimina (30).**

En un matraz redondo de 200 mL se colocó un agitador magnético y se disolvieron 1.542 g (12.52 mmol) de *p*-anisidina (**29**) en 50 mL de metanol, se sella el matraz. Al estar totalmente disuelto **29** se adiciona 0.49 g (5.6 mmol, 0.5 mL) de 2,3-butanodiona (**28**) con jeringa. Se mantuvo en agitación y a temperatura ambiente por 24 horas. Terminada la reacción se filtró el sólido obtenido y se hicieron lavados con metanol frío (3 x 10 mL). Se obtuvo 1.2 g (71%) de un sólido amarillo.

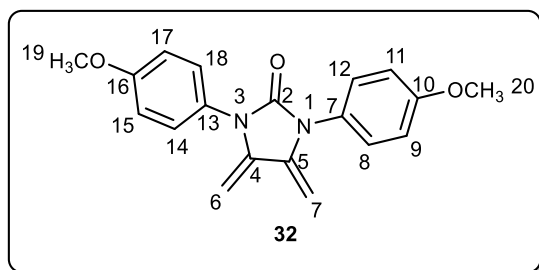
**R<sub>f</sub>**=0.50 (Hexano/ AcOEt 8:2)

**PF**= 177-178°C

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ (ppm): 2.18 (s, 6H, H-1,4), 3.82 (s, 6H, H-17, 18), 6.73-6.80 (m, 4H, H-6,10, 12,16), 6.89-6.96 (m, 4H, H-7,9, 13, 15).

**RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ (ppm): δ 15.4 (C-1,4), 55.4 (C-17,18), 114.2 (C-7, 9, 13, 15), 120.6 (C-6,10,12,16), 144.0 (C-5,11), 156.3 (C-8,14), 168.5 (C-2,3).

**I. E, [m/z]<sup>+</sup> = 296**

**1,3-bis(4-metoxifenil)-4,5-dimetilenimidazolidin-2-ona (32).**

En un matraz redondo de 500 mL equipado con agitador magnético, se adicionó 1g (3.37 mmol) de la bisimina **30** la cual fue disuelta en 200 mL de tolueno anhidro bajo atmósfera inerte. Una vez disuelta **30** se enfrió a 0 °C y se adicionó 1.0164 g (10 mmol, 1.4 mL) de trietilamina. En un vaso de precipitado de 50 mL se disolvió 1.2 g (4.04 mmol) de trifosgeno (**31**) en 10 mL de Tolueno anhidro, una vez disuelto se adiciona al matraz de reacción gota a gota. Se monitoreo el término de la reacción por cromatografía en capa fina. Terminada la reacción se concentró al vacío. El producto se purificó por cromatografía en columna, empleando sílica previamente tratada con trietilamina (10%). Se obtuvo 0.9568 g (88%) de un sólido color crema.

**R<sub>f</sub>**=0.25 (Hexano/ AcOEt 8:2)

**PF**= 174-176°C

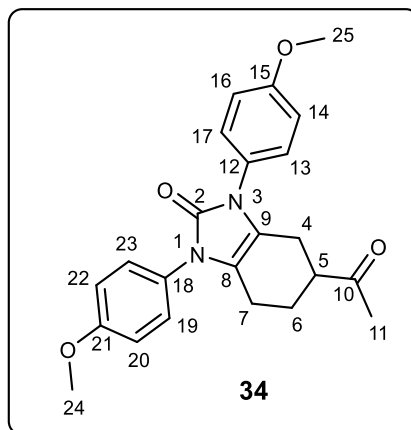
**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ(ppm): 7.34 – 7.27 (m, 4H, Ar-H), 7.03 – 6.94 (m, 4H, Ar-H), 4.77 (d, *J* = 2.3 Hz, 2H, H-6a, 7a), 4.26 (d, *J* = 2.2 Hz, 2H, H-6b, 7b), 3.84 (s, 7H, H-20,21).

**RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ (ppm): 55.5 (OCH<sub>3</sub>), 82.5 (C-6, C-7), 114.7 (C-9, 11, 15, 17), 126.9 (C-7, 13), 128.9 (C-8, 12, 14, 18), 140.7 (C-4, C-5), 154.0 (C-2), 159.1 (C-10, 16).

**I. E, [m/z]<sup>+</sup> = 322**

## II. Obtención del aducto de cicloadición Diels-Alder

## 5-acetil-1,3-bis(4-metoxifenil)-1,3,4,5,6,7-hexahidro-2H-benzo[d]imidazol-2-ona. (34)



En un matraz redondo de 10 mL equipado con agitador magnético, se adicionó 50mg (0.15 mmol) del dieno **32** se disolvieron en 5 mL de diclorometano anhidro, bajo atmósfera inerte a  $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$  empleando un baño de hielo seco y acetona. Una vez disuelto **33** se adicionó 0.037 mL (0.45 mmol, 3eq) de metilvinil cetona (**33**) y eterato de trifloruro de boro (catalítico). Se monitoreo el término de la reacción por cromatografía en capa fina. Después de 30 minutos se retiró el matraz del baño frio y se adicionaron 5 mL de una solución saturada de bicarbonato de sodio. La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a sequedad. El producto se purificó por cromatografía en columna, empleando sílica previamente tratada con trietilamina (10%). Se obtuvo 54 mg (90%) de un sólido blanco.

$R_f=0.27$  (Hexano/ AcOEt 1:1)



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

---

**PF**= 167-169°C

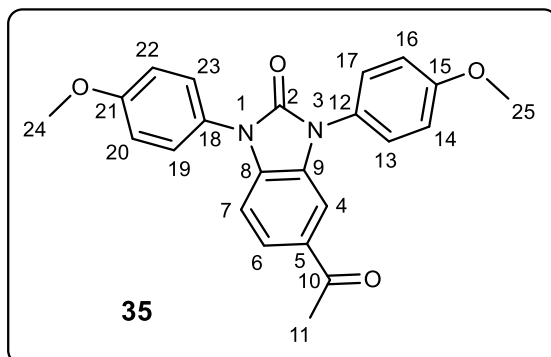
**RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ(ppm): 7.31 – 7.17 (m, 4H, H-13, 17, 19, 23), 6.94 – 6.82 (m, 4H, H-14, 16, 20, 22), 3.75 (d, *J* = 1.4 Hz, 6H, H-24, 25), 2.81 – 2.67 (m, 1H, H-4b), 2.60 – 2.46 (m, 1H, H-5), 2.39 – 2.26 (m, 3H, H-4a, 7), 2.13 (s, 4H, H-6b, 11), 1.76 – 1.65 (m, 1H, H-6a).

**RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ (ppm): 20.677 (C-7), 22.756 (C-6), 24.824 (C-11), 28.261 (C-4), 47.398 (C-5), 55.513 (C-24, 25), 114.357-114.431 (C-14, 16, 20, 22), 115.999 (C-9), 116.877 (C-8), 127.597- 127.939 (C-9, 13, 17, 23), 152.53 (C-2) 158.513 (C-15,21), 209.508 (C-10).

**I.E.**, [m/z]<sup>+</sup> = 392

### III. Obtención de la benzoimidazol-2-ona (35)

#### 5-acetil-1,3-bis(4-metoxifenil)-1,3-dihidro-2H-benzo[d]imidazol-2-ona (35).



En un matraz redondo de 20 mL previsto de un agitador magnético y septum se colocaron 50mg (0.127 mmol) de tetrahydrobenzoimidazol-2-ona (34) y 86 mg (0.378 mmol, 3eq). Bajo atmosfera inerte se adiciono 5 mL de DCM anhidro. Se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 24 horas. El crudo de reacción se purifico por cromatografía en columna, empleando alumina y sílica previamente tratada con trietilamina (10%), se empleó DCM como eluyente. Se obtuvo 40 mg (80%) de un sólido blanco.

**R<sub>f</sub>**=0.13 (Hexano/ AcOEt 8:2)

**PF**= 211-213°C

**RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ(ppm): 7.76 (dd, *J* = 8.29, 1.58 Hz, 1H, H-6), 7.67 (d, *J* = 1.52 Hz, 1H, H-4), 7.49 (m, 4H, H-17, 13, 19, 23), 7.08 (m, 5H, H-7, 16, 14, 20, 22), 3.89 (d, 6H, *J* = 2.80 Hz, H-24, 25), 2.59 (s, 3H, H-11).



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

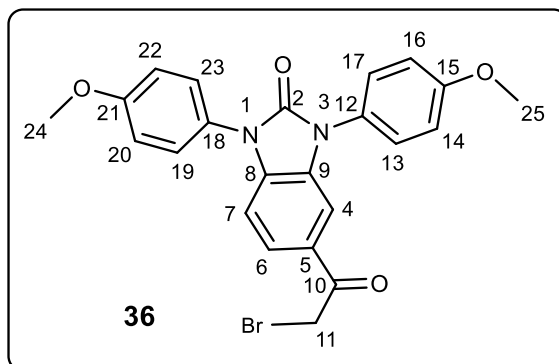
---

**RMN  $^{13}\text{C}$  (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm):** 26.58 (C-11), 55.61 (C-24, 25), 107.98 (C-7), 108.35 (C-4), 114.95-115.04 (C-14, 16, 20, 22), 123.88 (C-12, 18), 126.48 (C-6), 127.64-127.73 (C-13, 17, 19, 23), 130.21 (C-5), 131.70 (C-9), 133.83 (C-8), 153.15 (C-2), 159.34 (C-15, 21), 196.95 (C-10).

**I.E,  $[\text{m/z}]^+$  = 388**

## IV. Obtención del aducto a-halogenado.

## 5-(2-bromoacetil)-1,3-bis(4-metoxifenil)-1,3-dihidro-2H-benzo[d]imidazol-2-ona (36)



En un matraz redondo de dos bocas de 50 mL equipado con agitador magnético y septum, se colocaron 100 mg (0.0257 mmol) de la benzoimidazol-2-ona (35) y se disolvieron en 20 mL de acetonitrilo. Se colocó a reflujo a 60°C y se adicionaron 50 mg (0.28 mmol, 1.1 eq) y 49 mg (0.257 mmol, 1eq) de ácido *p*-toluenosulfónico. Después de 48 horas se retiró el matraz y se hicieron lavados con una solución saturada de bicarbonato de potasio. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna empleando como eluyente una mezcla de hexano/ acetato y sílica gel como fase estacionaria. Se obtuvo 101 mg (84%) de un sólido color crema.

**R<sub>f</sub>**=0.20 (Hexano/ AcOEt 8:2)

**PF**= 54-57°C



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

---

**RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ(ppm): 7.77 (dd, *J* = 8.42, 1.52 Hz, 1H, H-7), 7.67 (d, *J* = 1.54 Hz, 1H, H-4), 7.46 (dd, *J* = 7.50, 3.42 Hz, 4H, H-23, 19, 17, 13), 7.07 (m, 5H, H-6, 22, 20, 16, 14), 4.40 (s, 2H, H-11), 3.87 (s, 6H, H-25, 24).

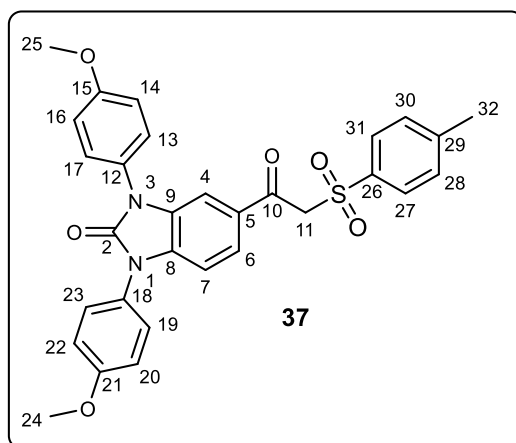
**RMN <sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ (ppm): 29.52 (C-11), 55.57 (C-24, 25), 108.16 (C-7), 109.06 (C-4), 115.00 (C-14, 16, 20, 22), 124.47 (C-6), 127.64 (C-13, 17, 19, 23), 128.13 (C-5, 17), 130.36 (C-9), 134.47 (C-8), 153.05 (C-2), 159.41 (C-15, 21), 190.34 (C-10).

**I.E, [m/z]<sup>+</sup> = 468**



V. Formación de la  $\beta$ -cetosulfona.

## 1,3-bis(4-metoxifenil)-5-(2-tosilacetil)-1,3-dihidro-2H-benzo[d]imidazol-2-ona (37)



En un tubo de presión previsto con un agitador magnético se colocaron 80 mg (0.17 mmol) del aducto  $\alpha$ -halogenado (36), 91 mg (0.51 mmol, 3eq) de *p*-toluensulfonato de sodio y una mezcla del surfactante SPGS-550-M y H<sub>2</sub>O (2:4). Se introdujo el tubo en una canastilla calentada a 110°C durante 12 horas. Terminado el tiempo de reacción se observó una solución de lechosa. El producto se extrajo con AcOEt y se secó con sulfato de sodio anhidro. Se concentró utilizando el rotavapor. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna empleando como eluyente una mezcla de hexano/ acetato y sílica gel como fase estacionaria. Se obtuvo 89 mg (95%) de un sólido blanco.

**R<sub>f</sub>**=0.15 (Hexano/ AcOEt 7:3)

**PF**= 160-162°C



## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

---

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ(ppm): 7.79 (dd, *J* = 8.39, 1.73 Hz, 1H, H-7), 7.74 (dd, *J* = 9.05, 2.26 Hz, 2H, H-27, 31), 7.65 (d, *J* = 1.69 Hz, 1H, H-4), 7.47 (m, 4H, H-13, 17, 19, 23), 7.33 (d, *J* = 8.13 Hz, 2H, H-28, 30), 7.09 (m, 5H, H-6, 14, 16, 20, 22), 4.68 (s, 2H, H-11), 3.89 (d, *J* = 1.21 Hz, 6H, H-25, 24), 2.44 (s, 3H, H-32).

**RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)** δ (ppm): 21.144 (C-32), 55.023 (C-25, 24), 63.074 (C-11), 107.621 (C-7), 108.746 (C-4), 114.429 (C-20, 22), 114.501 (C-14, 16), 124.885 (C-6), 125.623 (C-5), 127.038 (C-13, 17, 19, 23), 127.940 (C-27, 31), 129.237 (C-28, 30), 129.564 (C-8), 129.750 (C-9), 134.358 (C-18, 12), 135.147 (C-26), 144.744 (C-29), 152.472 (C-2), 158.805 (C-15), 158.922 (C-21), 186.058 (C-10).

**I.E, [m/z]<sup>+</sup> = 542**

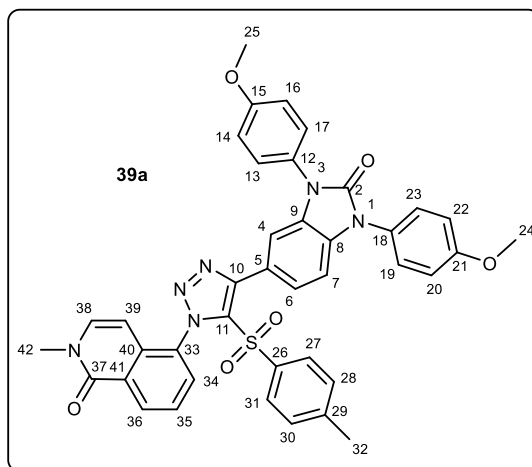


### VI. Obtención de (4-sulfonil-1,2,3-triazil)benzoimidazol-2-onas (39a-e)

#### ➤ Método general

En un matraz redondo de dos bocas de 20 mL equipado con agitador magnético y septum, se colocaron 1 equivalente de la  $\beta$ -cetosulfona **37** y 1 equivalente de la azida **38 a-e** en 2 mL de DMF. El matraz se colocó a reflujo a 60°C. Se adicionó 2 equivalentes de DBU. Después de 48 horas se retiró el matraz y se adicionaron 20 mL de salmuera y se extrajo con AcOEt (3x10 mL). La fase orgánica se secó sobre sulfato de sodio anhidro. El disolvente se evaporó a sequedad. El crudo de reacción se purificó mediante cromatografía en columna empleando como eluyente una mezcla de hexano/ acetato y sílica gel como fase estacionaria.

**5-(4-(1,3-bis(4-methoxyphenyl)-2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)-5-tosyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)-2-methylisoquinolin-1(2H)-one (39a)**



Siguiendo el método general se hicieron reaccionar 40 mg (0.073 mmol) de la  $\beta$ -cetosulfona **37**, 14 mg (0.073 mmol) de la azida **38a** y se obtuvo 22 mg (42%) de un sólido de color anaranjado.

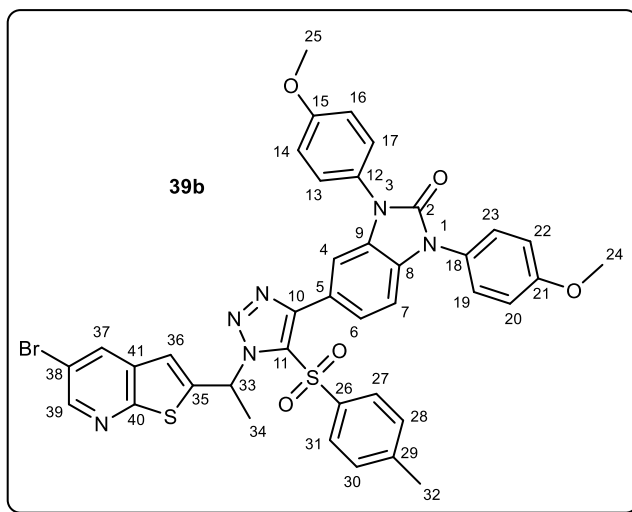
$R_f=0.16$  (Hexano/ AcOEt 2:3)

PF= 62-65°C

**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$ (ppm): 8.60 (d,  $J = 8.0$  Hz, 1H, H-4), 7.91 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H, H-7), 7.71 (dd,  $J = 5.68, 3.34$  Hz, 2H, H-17, 13), 7.47 (m, 7H, H-31, 27, 23, 19, 38, 39, 40), 7.32 (m, 1H, H-35), 7.19 (d,  $J = 8.99$  Hz, 1H, H-6), 6.97 (m, 6H, H-30, 28, 16, 14, 22, 20), 5.87 (d,  $J = 7.58$  Hz, 1H, H-34), 3.87 (d,  $J = 1.4$  Hz, 6H, H-25, 24), 3.59 (s, 3H, H-43), 2.45 (s, 3H, H-32).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  (ppm): 21.6 (C-32), 36.7 (C-42), 55.6 (C-24, 25), 105.5 (C-39), 110.12 (C-4), 113.0 (C-7), 114.4-138.9 ( $\text{C}_{\text{arm}}$ ), 144.9 (C-29), 154.6 (C-2), 159.4 (C-15, 21), 164.45 (C-37).

**5-(1-(1-(5-bromothieno[2,3-b]pyridin-2-yl)ethyl)-5-tosyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-1,3-bis(4-methoxyphenyl)-1,3-dihydro-2H-benzo[d]imidazol-2-one (39b)**



Seguendo el método general se hicieron reaccionar 40 mg (0.073 mmol) de la  $\beta$ -cetosulfona **37**, 20 mg (0.073 mmol) de la azida **38b**, y se obtuvo 30.6 mg (52%) de un sólido color amarillo.

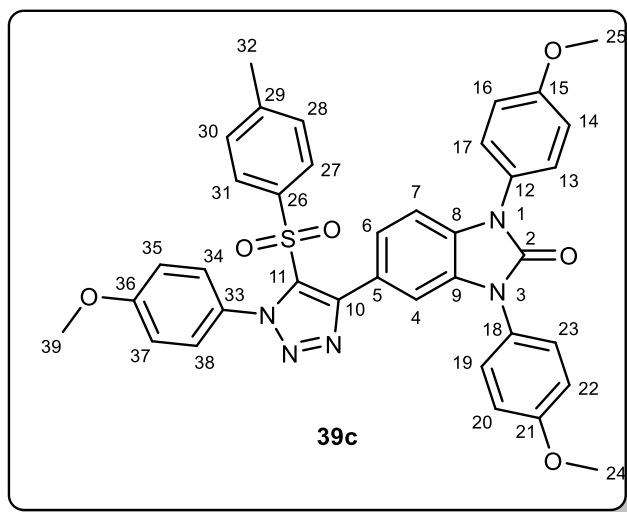
$R_f=0.10$  (Hexano/ AcOEt 2:3)

PF= 185-187°C

**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$ (ppm): 8.00 (t,  $J = 6.2$ , 6.2 Hz, 1H, H-39), 7.70 (m, 3H, H-37, 7, 4), 7.49 (m, 6H, H-31, 27, 17, 13, 19, 23), 7.06 (m, 8H, H-36, 30, 28, 6, 16, 14, 20, 22), 3.97 (d, 1H, H-33), 3.88 (s, 6H, H-25, 24), 3.49 (d,  $J = 11.7$  Hz, 3H, H-34), 2.56 (s, 3H, H-32).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  (ppm): 23.2 (C-32), 26.7 (C-34), 49.3 (C-33), 55.3 (C-24, 25), 107.9 (C-4), 108.30 (C-7), 114.565-131.891 ( $C_{\text{arm}}$ ), 152.8 (C-2), 158.8 (C-40), 166.5 (C-21), 176.9 (C-15).

**1,3-bis(4-metoxifenil)-5-(1-(4-metoxifenil)-5-tosil-1H-1,2,3-triazol-4-il)-1,3-dihidro-2H-benzo[d]imidazol-2-ona (39c)**



Siguiendo el método general se hicieron reaccionar 40 mg (0.073 mmol) de la  $\beta$ -cetosulfona **37**, 11 mg (0.073 mmol) de la azida **38c** y se obtuvo 26 mg (53%) de un sólido amarillo.

**R<sub>f</sub>**=0.23 (Hexano/ AcOEt 7:3)

**PF**= 112-115°C

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$ (ppm): 7.82 (m, 2H, H-7, 4), 7.48 (m, 2H, H-31, 27), 7.33 (m, 2H, H-23, 19), 7.26 (m, 3H, H-6, 17, 13), 7.15 (m, 1H, H-38), 7.13 (d,  $J = 2.15$  Hz, 1H, H-34), 7.02 (m, 6H, H-22, 20, 16, 14, 37, 35), 6.90 (m, 2H, H-30, 28), 3.87 (s, 6H, H-24, 25), 3.82 (s, 3H, H-39), 2.40 (s, 3H, H-32).



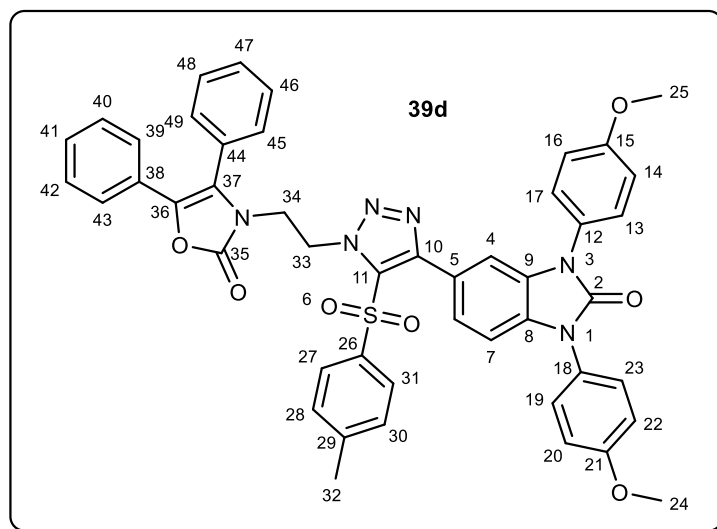
## VI. DESARROLLO EXPERIMENTAL

---

**RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm):** 21.009 (C-32), 54.928 (C-24, 25, 39), 107.890 (C-4), 110.436 (C-7), 113.915 (C-35, 37), 114.201 (C-20, 22), 114.278 (C-14, 16), 116.724 (C-8), 123.944 (C-10), 126.217 (C-19, 23), 126.532 (C-34, 38), 126.904 (C-13, 17), 126.985 (C-31), 127.575 (C-28, 30), 127.787 (C-5), 128.885 (C-9), 129.118 (C-12, 18), 130.767 (C-33), 137.079 (C-11), 137.855 (C-26), 144.164 (C-29), 152.095 (C-2), 158.657 (C-36), 159.826 (C-15, 21).

**I.E,  $[\text{m/z}]^+ = 673$**

**3-(2-(4-(1,3-bis(4-methoxyphenyl)-2-oxo-2,3-dihydro-1H-benzo[d]imidazol-5-yl)-5-tosyl-1H-1,2,3-triazol-1-yl)ethyl)-4,5-diphenyloxazol-2(3H)-one (39d)**



Seguendo el método general se hicieron reaccionar 80 mg (0.0147 mmol) de la  $\beta$ -cetosulfona **37**, 45 mg (0.0147 mmol) de la azida **38c** y se obtuvo 29 mg (48%) de un sólido amarillo.

$R_f=0.55$  (Hexano/ AcOEt 1:1)

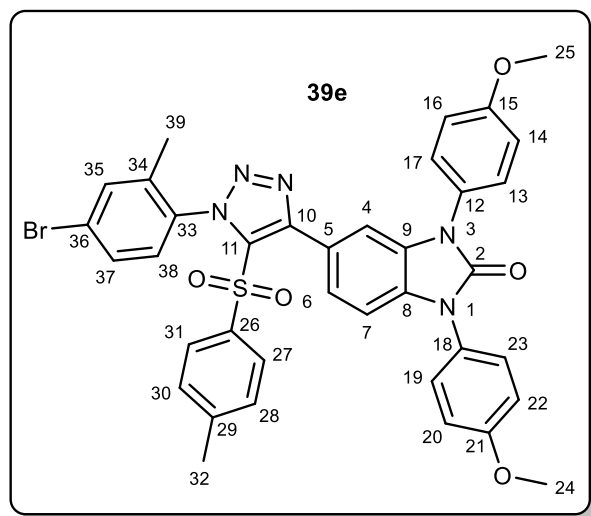
PF= 120-123 °C

**RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$ (ppm): 7.99 (d,  $J = 11.3$  Hz, 2H, H-7, 4), 7.70-7.08 (m, 12H,  $\text{H}_{\text{arom}}$ ), 3.87 (m, 8H, H-33, 25, 24), 3.50 (d,  $J = 5.71$  Hz, 2H, H-34), 2.55 (d,  $J = 9.55$  Hz, 3H, H-32).

**RMN  $^{13}\text{C}$  (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )**  $\delta$  (ppm): 22.2 (C-32), 43.8 (C-34), 48.4 (C-33), 54.4 (C-24, 25), 106.9-126.4 ( $\text{C}_{\text{arom}}$ ), 151.9 (C-35), 157.9 (C-2), 165.6 (C-21), 175.9 (C-15).



**5-(1-(4-bromo-2-methylphenyl)-5-tosyl-1H-1,2,3-triazol-4-yl)-1,3-bis(4-methoxyphenyl)-1,3-dihydro-2H-benzo[d]imidazol-2-one (39e).**



Siguiendo el método general se hicieron reaccionar 40 mg (0.073 mmol) de la  $\beta$ -cetosulfona **37**, 15 mg (0.073 mmol) de la azida **38e** y se obtuvo 40 mg (74%) de un sólido amarillo.

**R<sub>f</sub>**=0.15 (DCM/MeOH 9:1)

**PF**= 85-87°C

**RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$ (ppm): 7.83 (d, 2H, H-7, 4), 7.49 (d, 2H, H-17, 13), 7.34 (dd, 2H, H-19, 23), 7.26 (m, 2H, H-31, 27), 7.15 (dd, 2H, H-35, 37), 7.04 (m, 6H, H-6, 16, 14, 20, 22, 38), 6.90 (d, 2H, H-30, 28), 3.86 (d, 9H, H-25, 24, 39), 2.41 (s, 3H, H-32).

**RMN <sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$  (ppm): 17.6 (C-39), 21.6 (C-32), 55.3 (C-24, 25), 110.9 (C-4), 113.0 (C-7), 115.3 - 144.9 (C<sub>arom</sub>), 154.5 (C-2), 159.4 (C-15, 21).



### VII. CONCLUSIONES

- Se obtuvieron cinco derivados de (4-sulfonil-1,2,3-triazil)-benzoimidazol-2-onas mediante una síntesis lineal, involucrando reacciones de cicloadición Diels-Alder y (3+2) azida-enolato con rendimiento regulares.
- Se caracterizaron todos los productos intermediarios y finales mediante el uso de técnicas espectroscópicas unidimensionales tales como RMN  $^1\text{H}$  y  $^{13}\text{C}$ . Así como los productos intermediarios mediante espectrometría de masas.

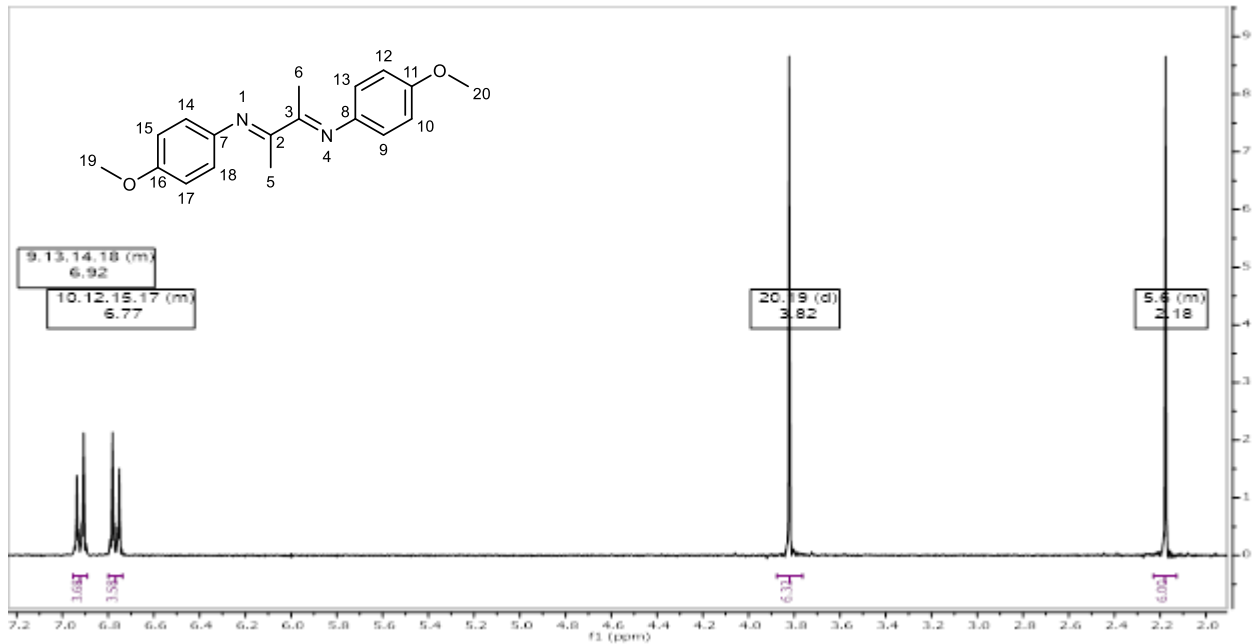
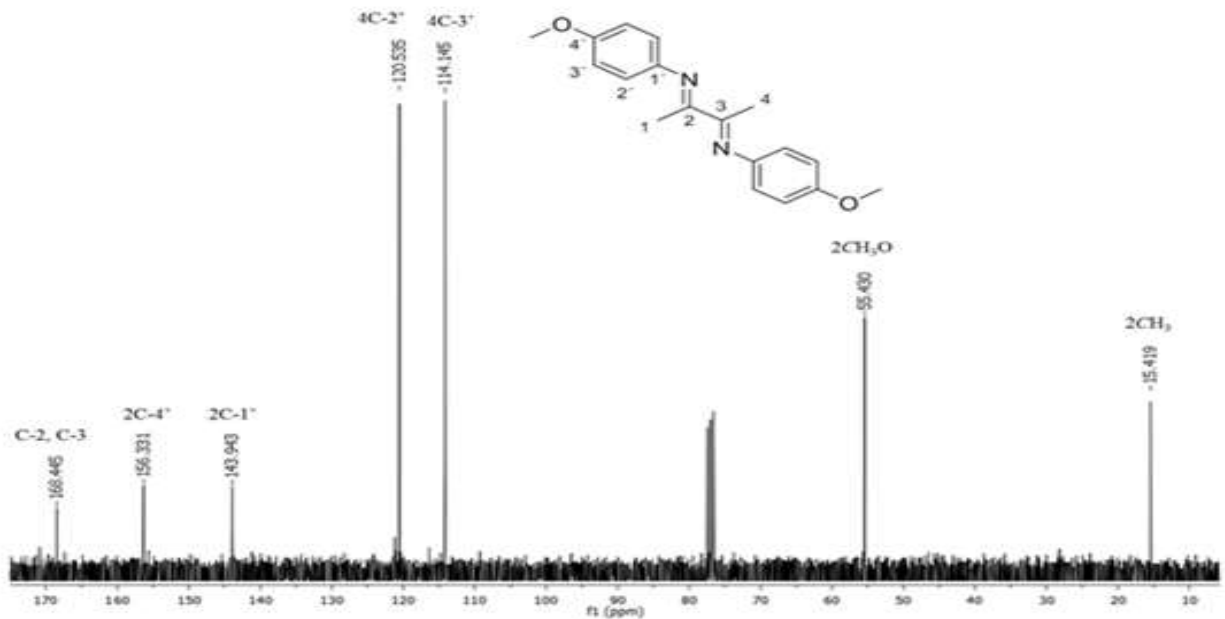


## VIII. REFERENCIAS

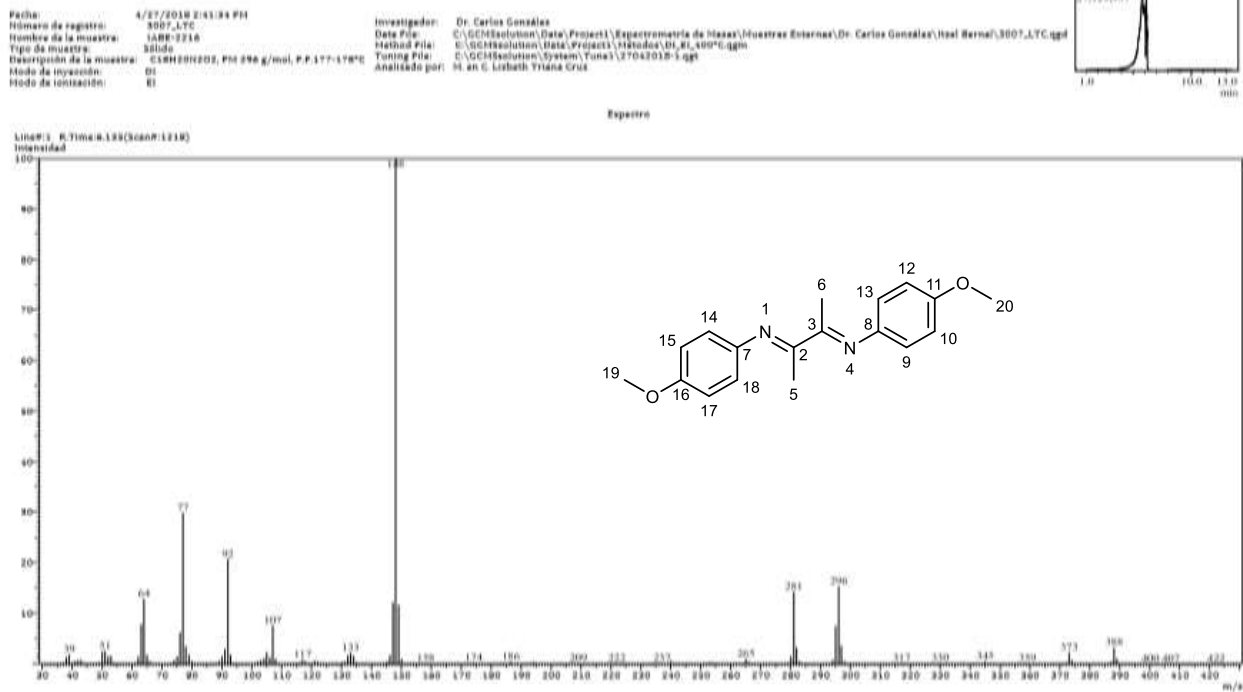
1. Gonzalez-Calderon, D. Mejía-Dionicio M. G., Morales-Reza M. A., Ramírez-Villalva A., Morales-Rodríguez M., Jauregui-Rodríguez B., Díaz-Torres E., Gonzalez-Romero C., Fuentes-Benites A. *Eur J. Med. Chem*, **2016**, *112*, 60-65.
2. Charles R. Craig, Robert E. Stitzel (2004). *Modern Pharmacology with Clinical Applications*. Hagerstwon: Lippincott Williams & Wilkins
3. Garudachari, B.; Isloor, A. M.; Satyanarayana, M. N.; Fun, H. K.; Hegde, G. *Eur. J. Med. Chem.* **2014**, *74*, 324–332.
4. Duan, Y. C.; Ma, Y. C.; Zhang, E.; Shi, X. J.; Wang, M. M.; Ye, X. W.; Liu, H. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *62*, 11–19.
5. Harold Estrada M. (1998). Modelos de Prevención en la lucha contra el VIH/SIDA. *Acta Bio*
6. Piersanti, G.; Bartocchini, F.; Lucarini, S.; Cabri, W.; Stasi, M. A.; Riccioni, T.; Borsini, F.; Tarzia, G.; Minetti, P. *J. Med. Chem.*, **2013**, *56*, 5456–5463.
7. Raj, R.; Singh, P.; Haberkern, N. T.; Faucher, R. M.; Patel, N.; Land, K. M.; Kumar, V. *Eur. J. Med. Chem.* **2013**, *63*, 897–906.
8. Johnson E.M, Szekely A, Warnock DW.. *J Antimicrob Chemother*, **1998**.;42:741-5
9. Severino, E. A.; Correia, C. R. D. *Organic letters*, **2000**, *2* (20), 3039-3042.
10. Allinger, N.; Cava, M.; Jongh, D.; Jonhson, C.; Lebel, N.; Stevens, C.,(1984) *Química Orgánica*. Reverté: Barcelona.
11. Huimin Cheng, Junting Wan, Meng-I Lin, Yingxue Liu, Xiaoyun Lu, Jinsong Liu, Yong Xu, Jianxin Chen, Zhengchao Tu, Yih-Shyun E. Cheng, Ke Ding. *J. Med. Chem.*, **2012**, *55*, 2144–2153
12. Pagliai F., Pirali T Grosso, E, Di Brisco R., Cesare G., Sorba G., and Genazzani A. *J. Med. Chem.* **2006** *49*, 467-470
13. Mukund K. Gurjar\* and Smritilekha Bera. *Organic Letters*, **2002**, *4* (21); 3569-3570
14. Lankau, Hans-Joachim; Menzer, Manfred; Unverferth, Klaus; Gewalt, Karl y Schäfer, Harry. (1998) Nuevas 1-ar(alqu)il-imidazolin-2-onas con efecto anticonvulsivo, que contienen un resto amino disustituido en posición 4 y procedimiento para su preparación. *Oficina Española De Patentes Y Marcas España*.
15. Alfonso R. Gennaro. Remington Farmacia, (2000), Volume 2. Ed. *Médica Panamerican*. Pag. 1708
16. Koch P.; Laufer S. *J. Med. Chem.*, **2010**, *53*, 4798–4802
17. Pinto, Silva A.; Cavaleiro, Elguero, J., *Eur. J. Org. Chem.*; **2003**, *4*, 747.
18. Ventosa-Andres P., Gonzalez-Vera J., García-Lopez M. T., Herranz R.; *Tetrahedron*; **2014**, *70*, 3407-3412
19. Kanakaraju S., Prasanna B., Venkatanarayana P., Chandramouli G. V. P.; *J Iran Chem Soc.*; **2012**, *9*, 933–937
20. Hee-Jong Lim, Do Myung, Ihl Young Choi Lee, and Myung Hee Jung. *J. Comb. Chem.*, **2008**, *10* (4), pp 501–503
21. Zhaoguang Li, Hongbin Sun, Hualiang Jiang, and Hong Liu. *Organic Letters*; **2008**, *10* (15), 3263–3266
22. Pinto, Silva A.; Cavaleiro, Elguero, J., *Eur. J. Org. Chem.*; **2003**, *4*, 747.



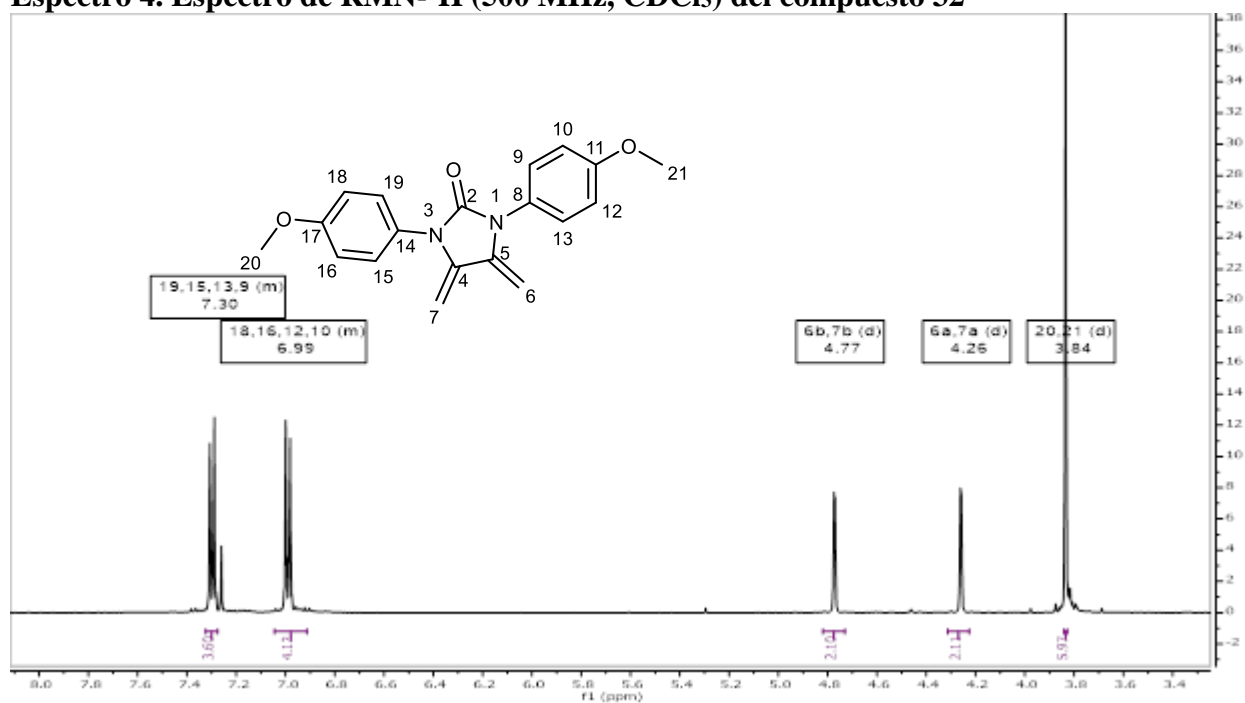
23. (a) Reyes, L.; Mendoza, H.; Vazquez, M. A.; Ortega, F.; Fuentes, A.; Miranda, R.; Tamariz, J.; Delgado, F., *Organometallics* **2008**, *27*, 4334; (b) Mandal, A.; Gómez, A.; Trujillo, G.; Méndez, F.; María de Jesús, R.; Tamariz, J., *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 4105; (c) Fuentes, A.; Martínez, R.; Jiménez, H. A.; Reyes, A.; Tamariz, J., *Monatshefte für Chemie* **2005**, *136*, 177.
24. Fringuelli, F.; Taticchi, A.; John, W.; Sons, (2002) *The Diels Alder reaction selected practical methods*. Wiley. Chichester; New York,.
25. Yurkanis, P., (2003) *Organic Chemistry*. Prentice Hall:
26. Evans, D. A.; Johnson, J. S., (1999) *Diels-Alder Reactions. Comprehensive asymmetric catalysis III*, Universidad Harvard, Cambridge, USA.
27. Crecente, O., (2009) *Síntesis orgánica asistida por microondas. Obtención de enol carbamatos, tetrahidroisoquinolinas y núcleos de dentrimeros. Aplicaciones*. Universidad de Santiago de Compostela.
28. Irshad A., Shagufta (). *Int J Pharm Pharm Sci*, **2015**, *7* (3), 19-27
29. a) A. Padwa, W. H. Pearson en *Synthetic applications of 1,3-dipolar cycloaddition chemistry toward heterocycles and natural products*, John Wiley and Sons, New York, **2003**; b) A. Hassner en *Synthesis of Heterocycles via Cycloadditions*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg, **2008**.
30. a) R. Huisgen, *Angew. Chem.* **1963**, *75*, 604-637; b) R. Huisgen, *Angew. Chem. Int. Ed.* **1963**, *2*, 565-632.
31. P. Griess, *Philos. Trans. R. Soc. London* **1864**, *154*, 667-673.
32. a) R. B. Woodward, R. Hoffmann, *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1969**, *8*, 781-853. b) S. Inagaki, H. Fujimoto, K. Fukui, *J. Am. Chem. Soc.* **1976**, *98*, 4693-4701
33. Espinoza J. C. (2015) *Diseño sintético de sistemas aminados y estudio de reactividad, Tesis de Doctorado, ENCB IPN*.
34. Bautista R., Bernal P., Herrera R., Santoyo B. M.; Lazcano-Seres M., Delgado F.; Tamariz J. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 7901-7911
35. (a) Cherry L. *Bull. Korean Chem. Soc.* **2003**, *24*(4) 407-408. (b) Rajesh H. Vekariya, Hitesh D. Patel; *Tetrahedron*, **2014**, *70* (26), 3949-3961.
36. Klumphu, P.; Lipshutz, B. H. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 888-900.
37. (a) González-Calderón D.; Santillán-Iniesta I., González-González C. A., Fuentes-Benites A., González-Romero C., *Tetrahedron Letters*, **2015**, *56*, 514-516; (b) González-Calderón D.; Aguirre-De Paz J. G., González-González C. A., Fuentes-Benites A., González-Romero C., *Tetrahedron Letters*, **2015**, *56*, 1713-1715; (c) González-Calderón D.; González-González C. A., Fuentes-Benites A., González-Romero C.; Díaz-Torres E., *Eur. J. Org. Chem.* **2016**, 668-672

IX. ANEXO I: Espectros de RMN-<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C y EM.Espectro 1. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 30Espectro 2. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 30

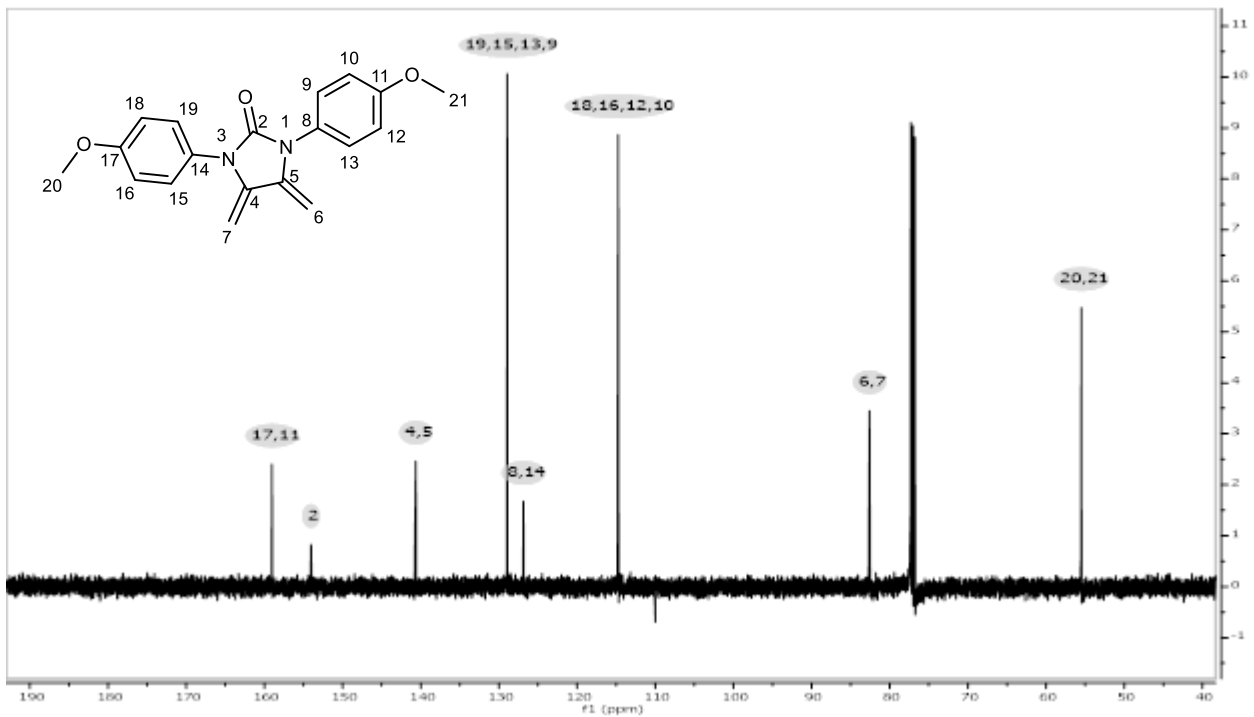
**Espectro 3. EM del compuesto 30**



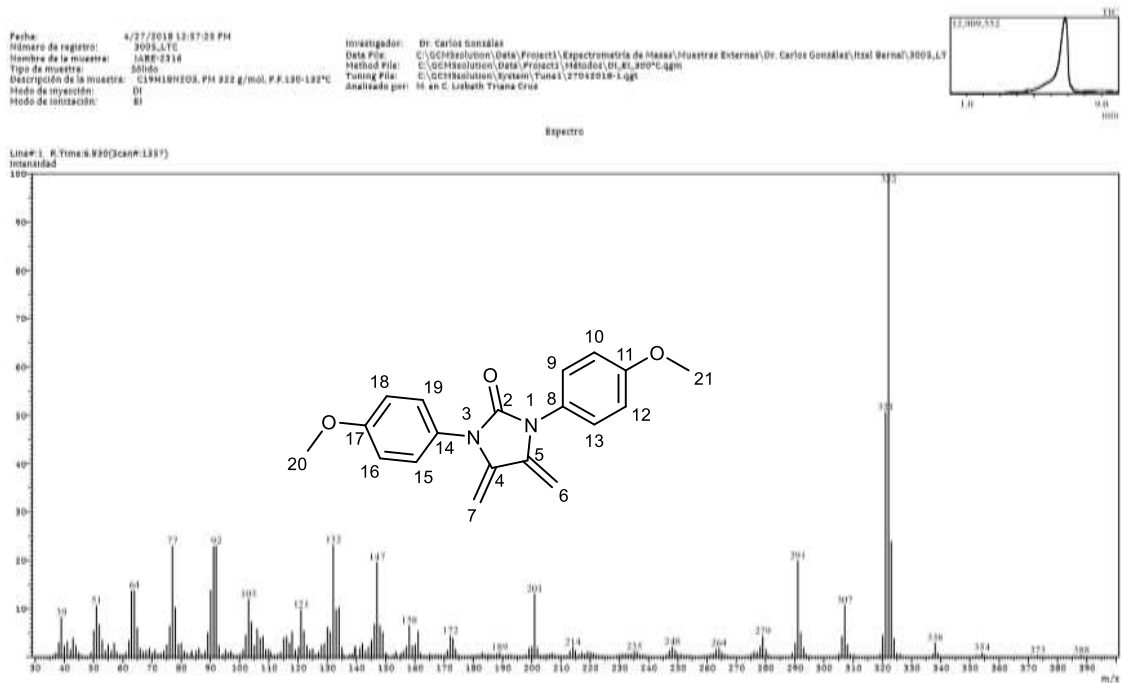
**Espectro 4. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 32**



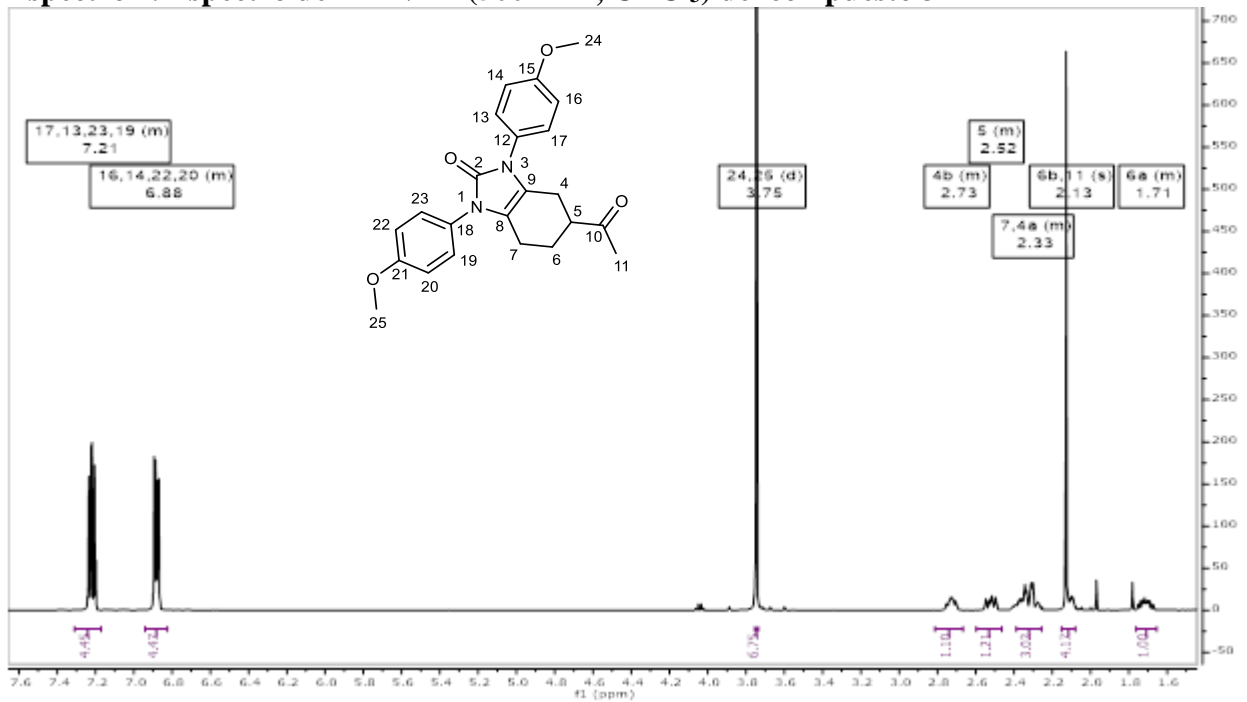
**Espectro 5. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 32**



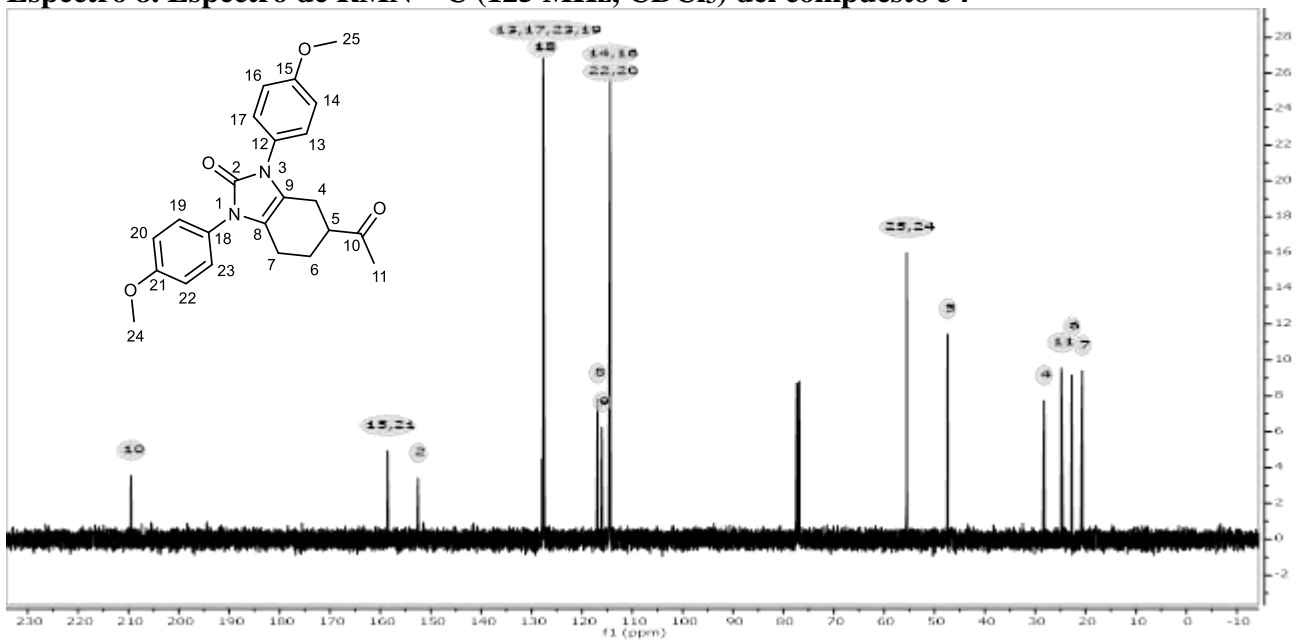
**Espectro 6. EM del compuesto 32.**



**Espectro 7. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H (500 Mhz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 34**



**Espectro 8. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 34**

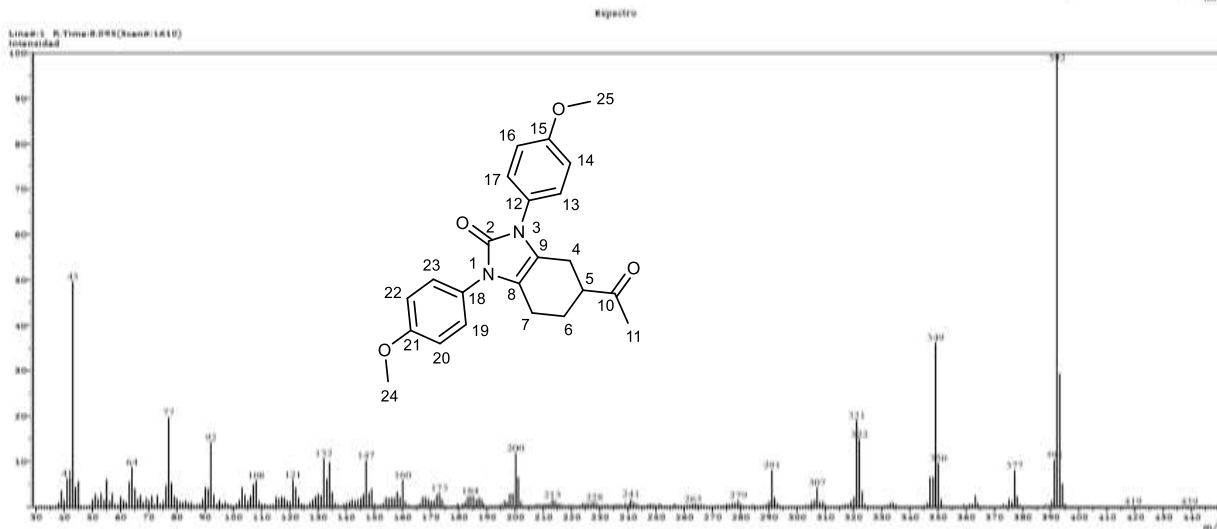
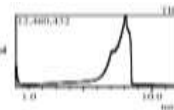




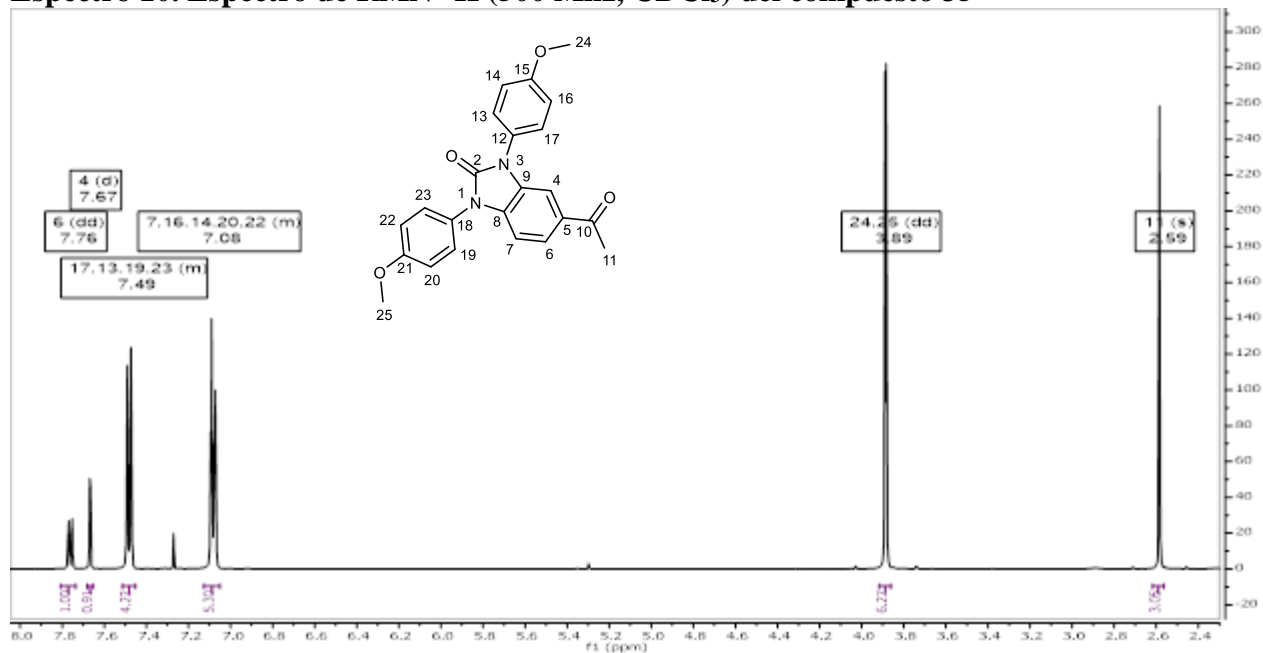
**Espectro 9. EM del compuesto 34**

Fecha: 9/14/2017 1:00:17 PM  
 Número de registro: 2751  
 Nombre de la muestra: 1400-1302  
 Tipo de muestra: Sólido  
 Descripción de la muestra: C<sub>23</sub>H<sub>23</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, P1889 g/mol, P.F. 336-140°C  
 Modo de ionización: EI  
 Modo de ionización: EI

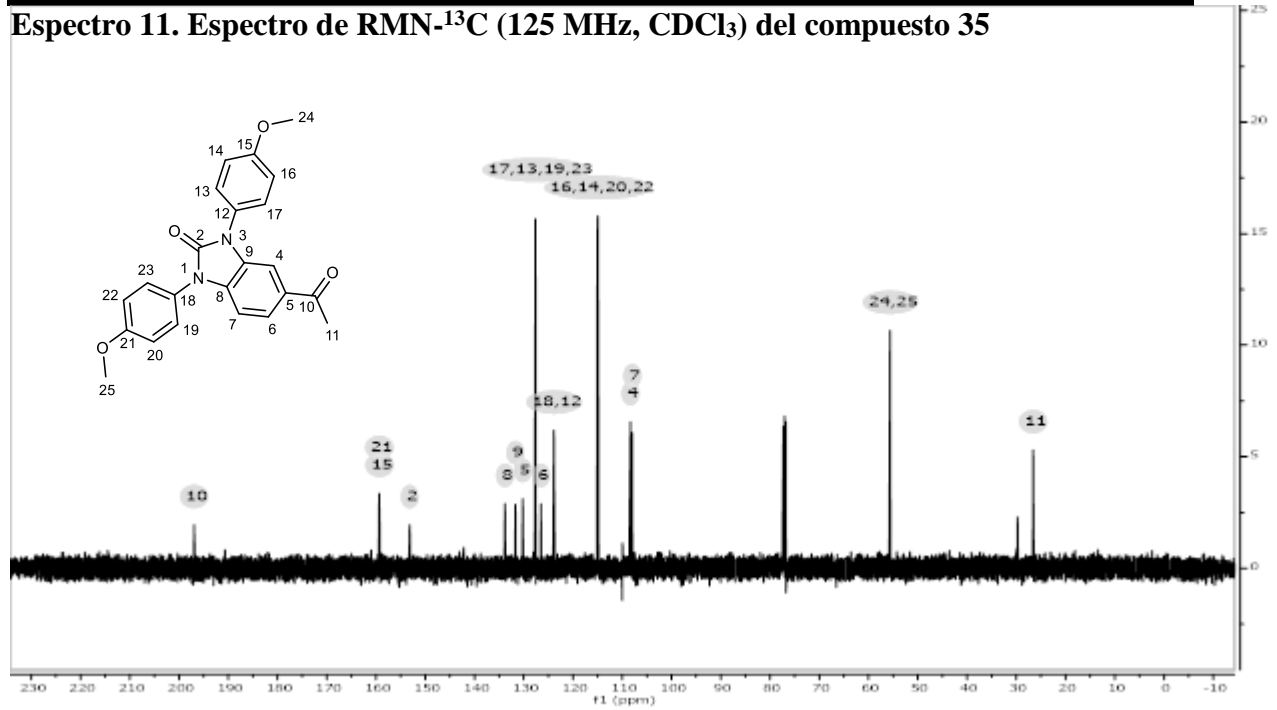
Investigador: Dr. Carlos González R.  
 Ruta File: C:\GORE\Software\Bios Project\1\Espectrometría de Masas\Muestras Internas\Dr. Carlos González\Anal. Bernal\2751\_1302.qgd  
 Method File: C:\GORE\Software\Bios Project\1\Bios\MS1\MS1.M  
 Tuning File: C:\GORE\Software\Bios Project\1\Bios\MS1\MS1.M  
 Analizado por: M. en C. Lisseth Triana Cruz



**Espectro 10. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H (500 Mhz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 35**



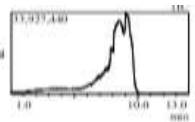
**Espectro 11. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 35**



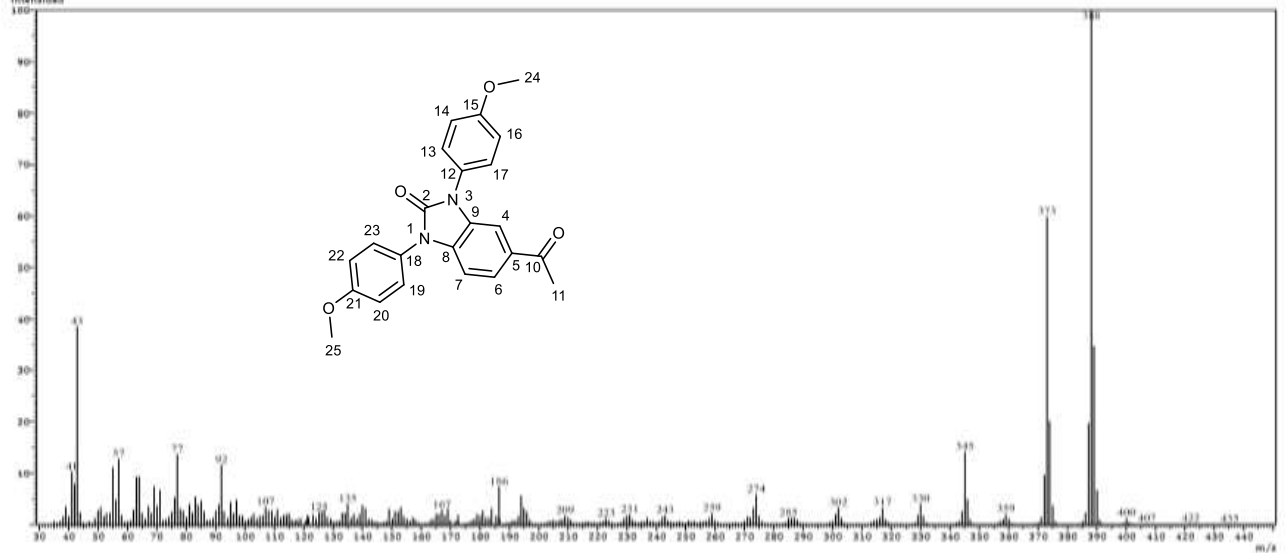
**Espectro 12. EM del compuesto 35.**

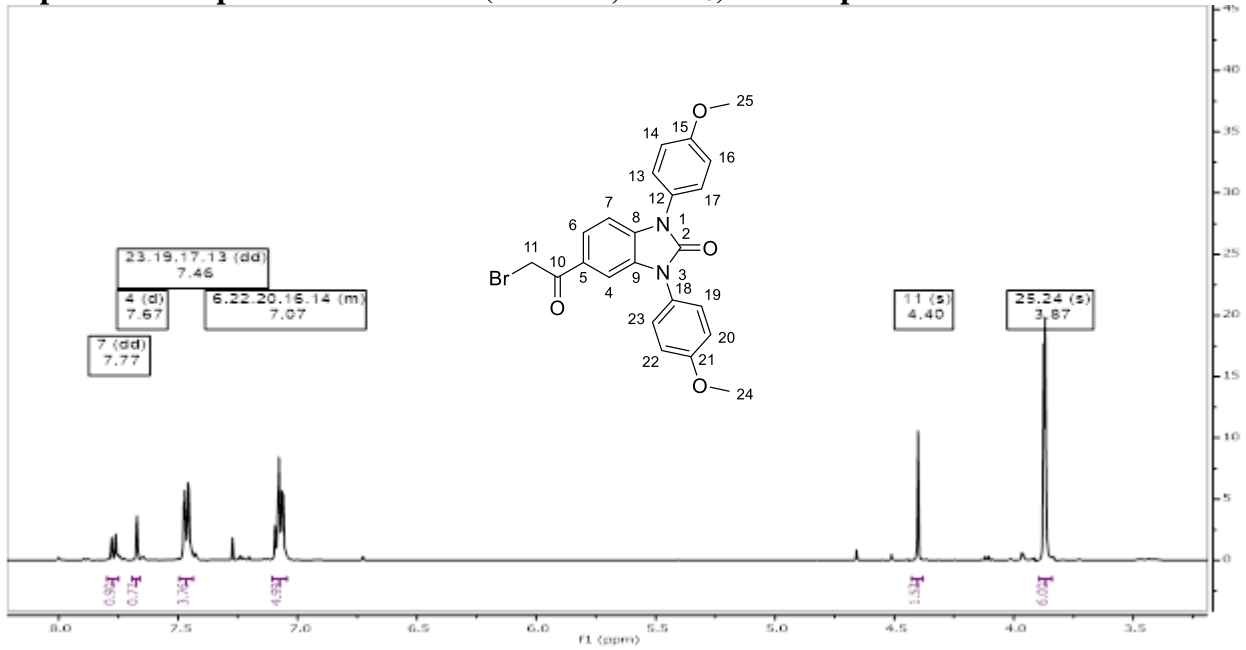
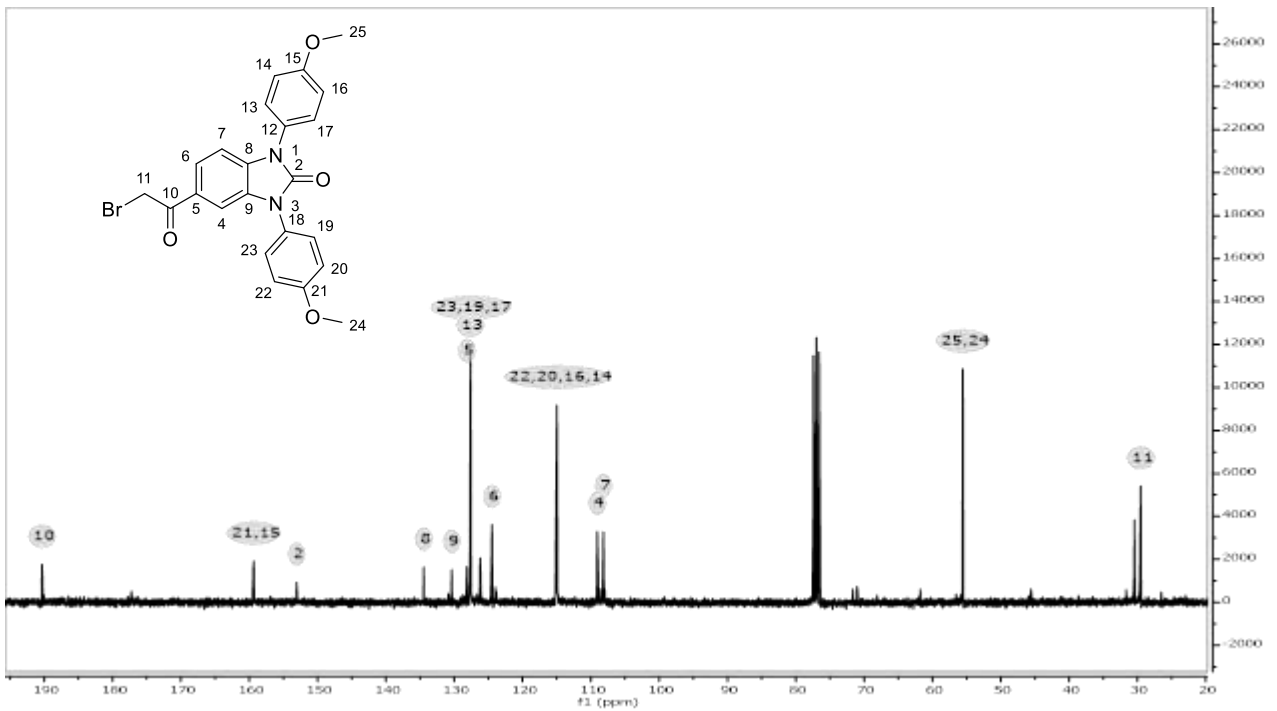
Fecha: 4/27/2018 1:31:37 PM  
 Número de registro: 3008.LTC  
 Nombre de la muestra: IABR-0203  
 Tipo de muestra: Sólido  
 Descripción de la muestra: C<sub>23</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, PM 386 g/mol, P.F. 211-213°C  
 Modo de ionización: EI  
 Modo de detección: EI

Investigador: Dr. Carlos González  
 Data File: C:\GCISolution\Data\Project1\Experimentos de Masas\muestras Externas\Dr. Carlos González\Izal Barón\3008.LTC.d  
 Method File: C:\GCISolution\Data\Project1\Methodos\DC\_EI\_400°C.d  
 Tuning File: C:\GCISolution\System\Yunai\17042018-L.d  
 Analizado por: M. en C. Leobeth Triana Cruz



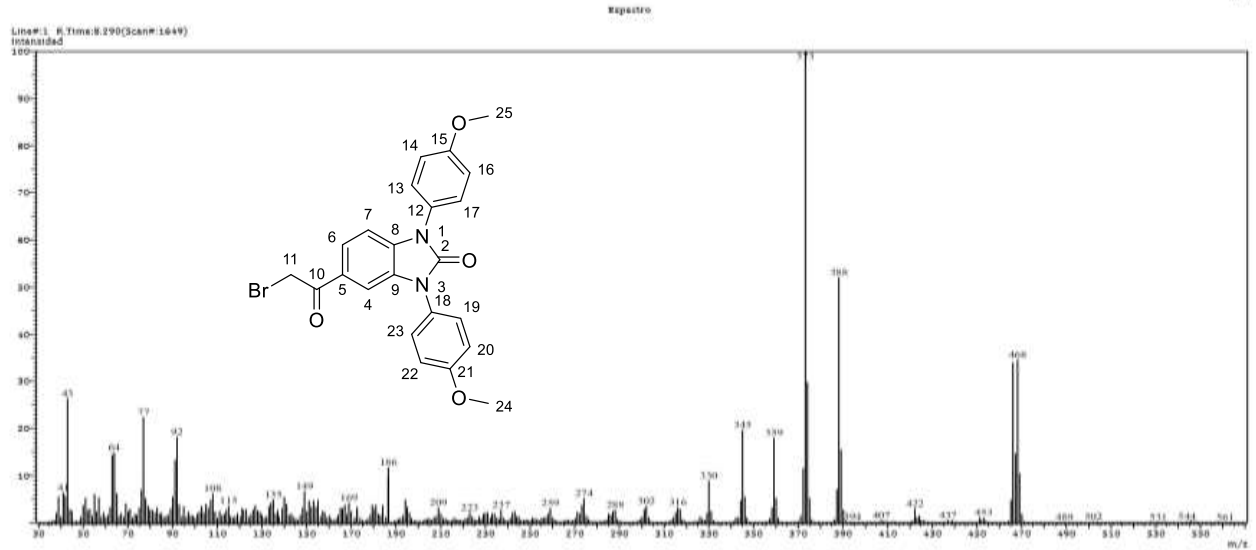
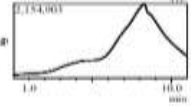
Linea 1: B.Tima V.043(Scan:1800)  
 Intensidad



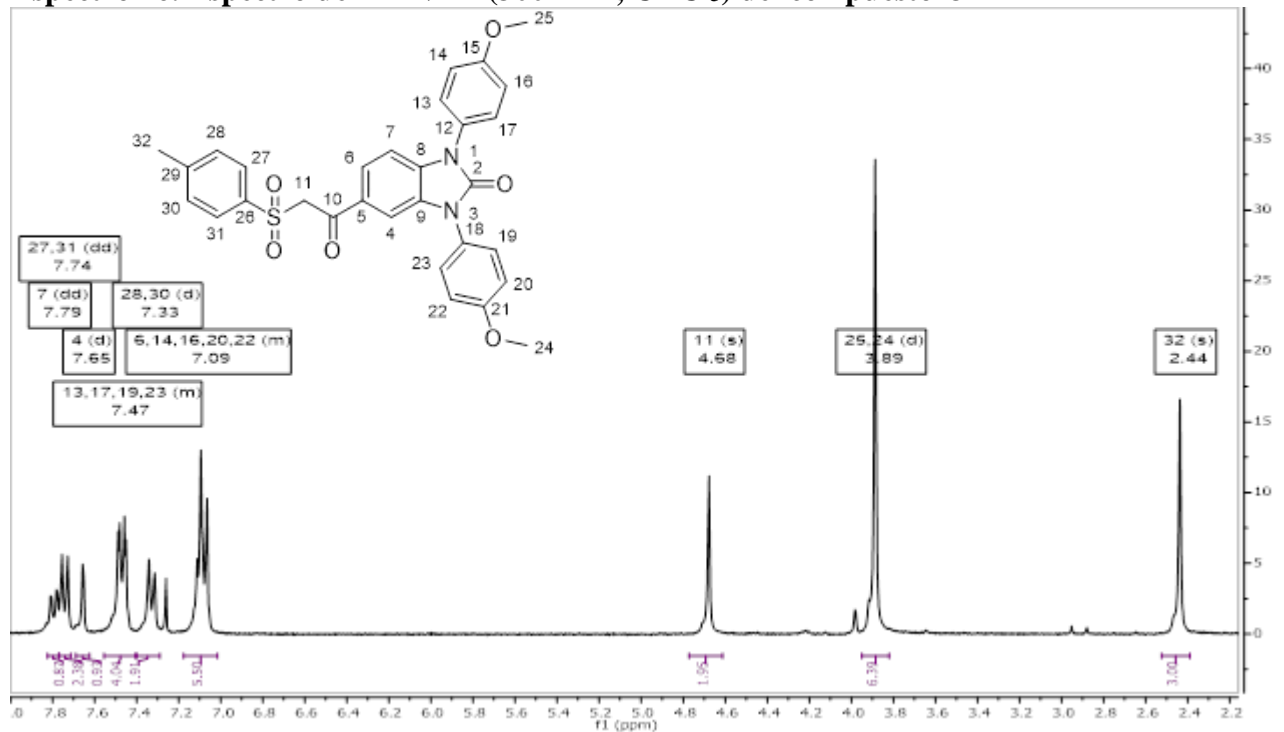
**Espectro 13. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H (500 Mhz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 36****Espectro 14. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 36**

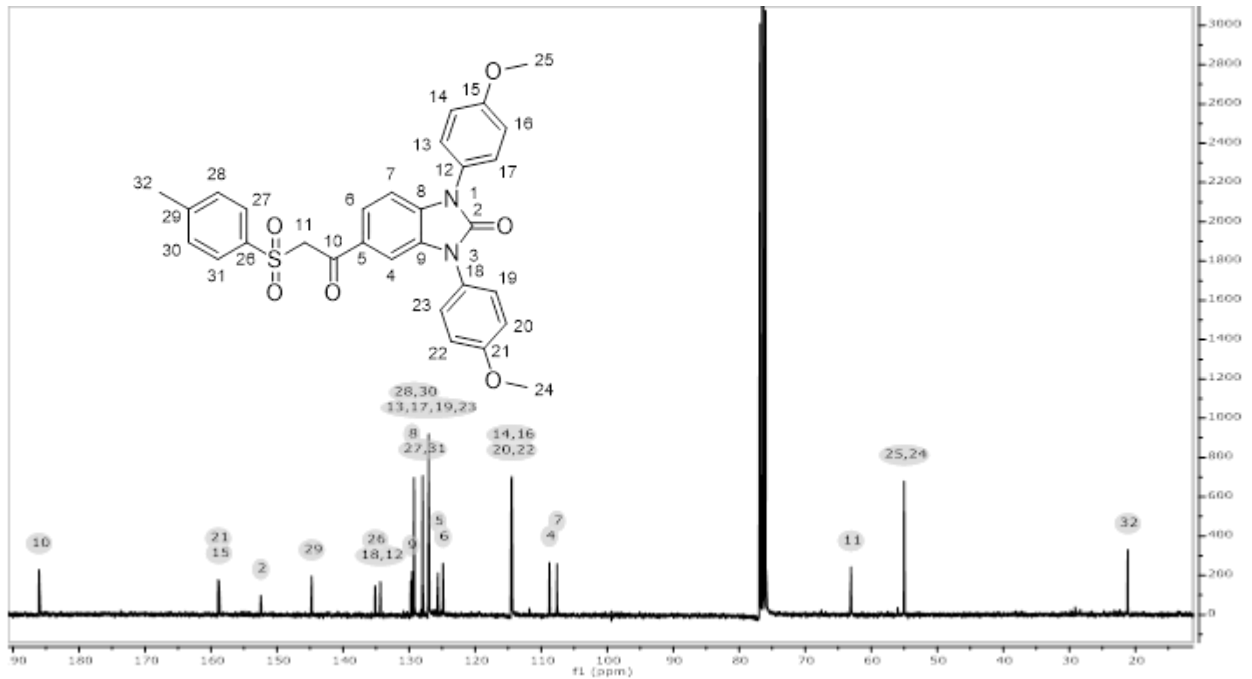
**Espectro 15. EM del compuesto 36.**

Fecha: 4/27/2018 11:05:44 AM  
 Número de registro: 2004\_LTC  
 Nombre de la muestra: IAR-140W  
 Tipo de muestra: Sólido  
 Descripción de la muestra: C39H31BrN2O4, Pst 486 g/mol, P.F. 34-37°C  
 Modo de ionización: EI  
 Investigador: Dr. Carlos González  
 Data FIC: C:\GCMResolution\Data\Project1\Espectrometría de Masas\Muestras Externas\Dr. Carlos González\Izal Bernal\2004\_LTC.qd  
 Method File: C:\GCMResolution\Data\Project1\Métodos\DI\_EI\_250°C.qm  
 Tuning File: C:\GCMResolution\System\Tuning\17542038-3.qd  
 Analizado por: Ft. an C. Lizbeth Triana Cruz

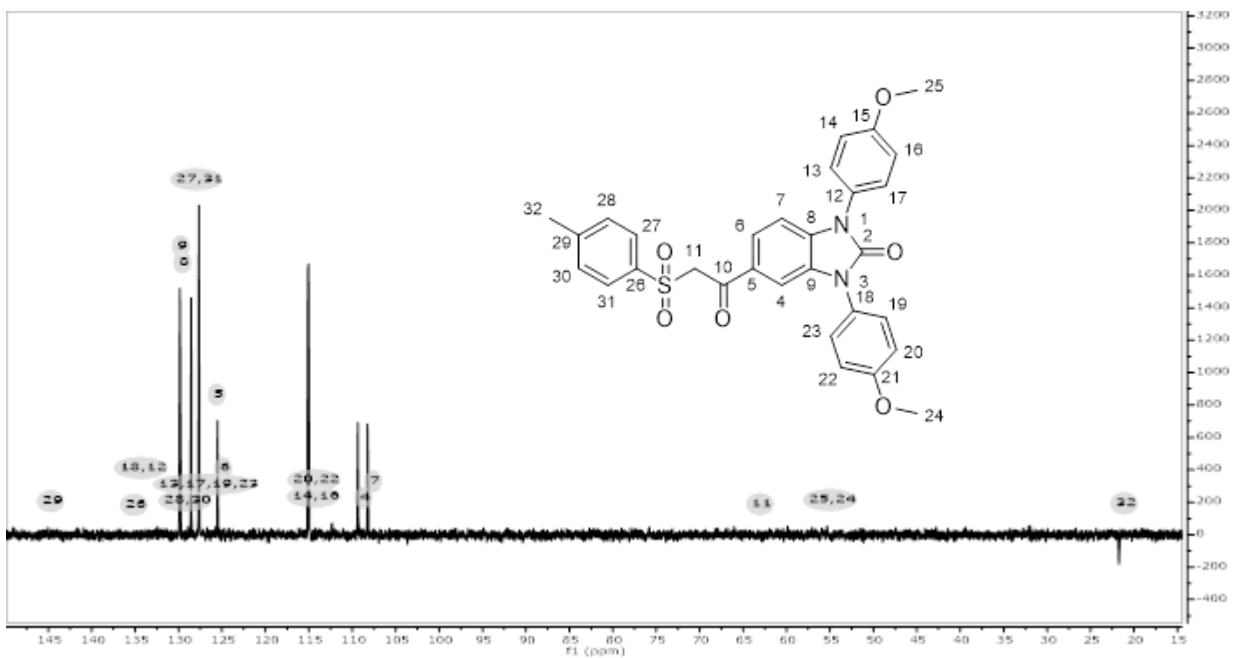


**Espectro 16. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H (300 Mhz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 37**



Espectro 17. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 37.

Espectro 18. DEPT del compuesto 37.

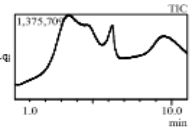




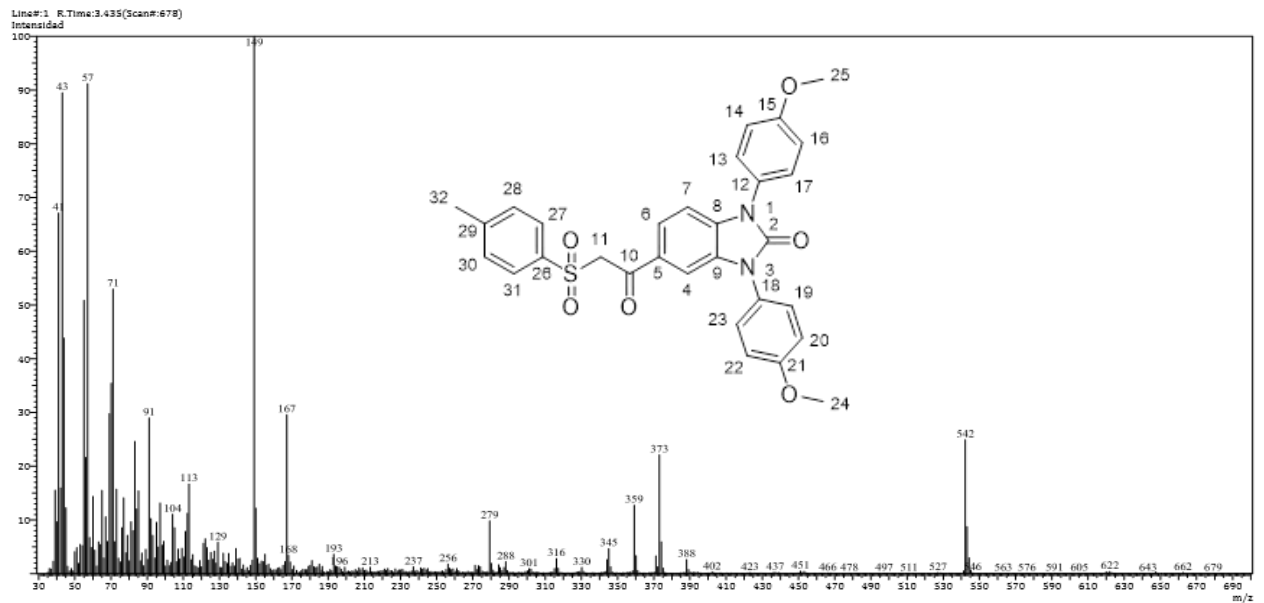
### Espectro 19. EM del compuesto 37

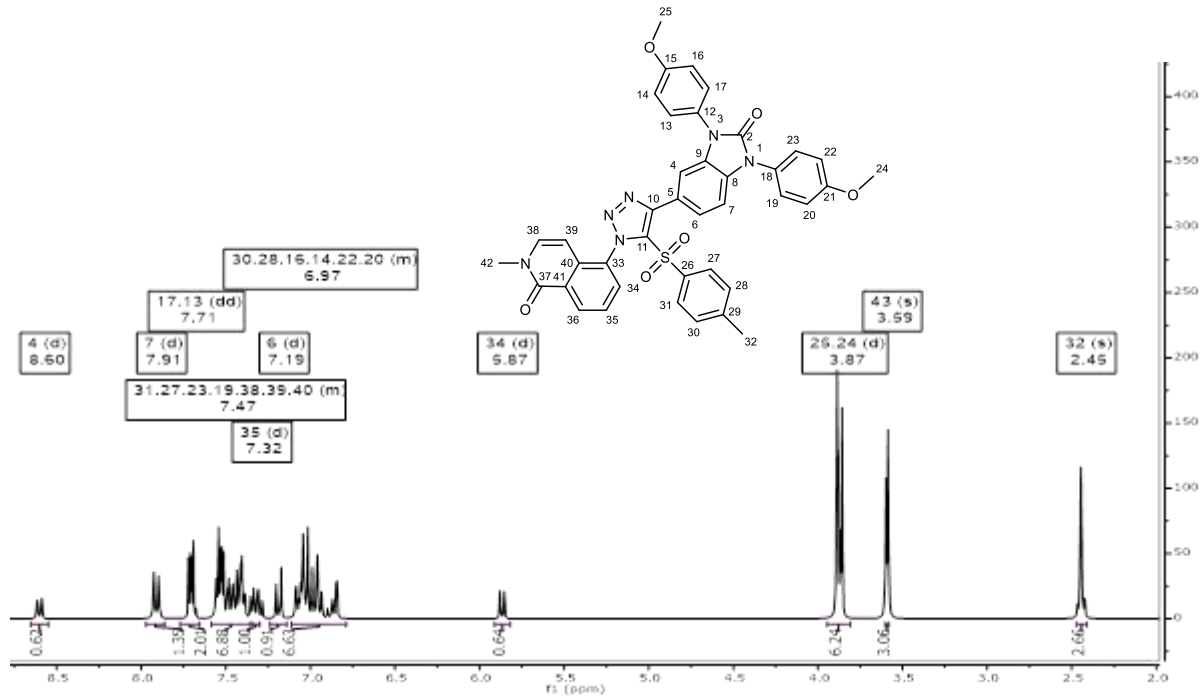
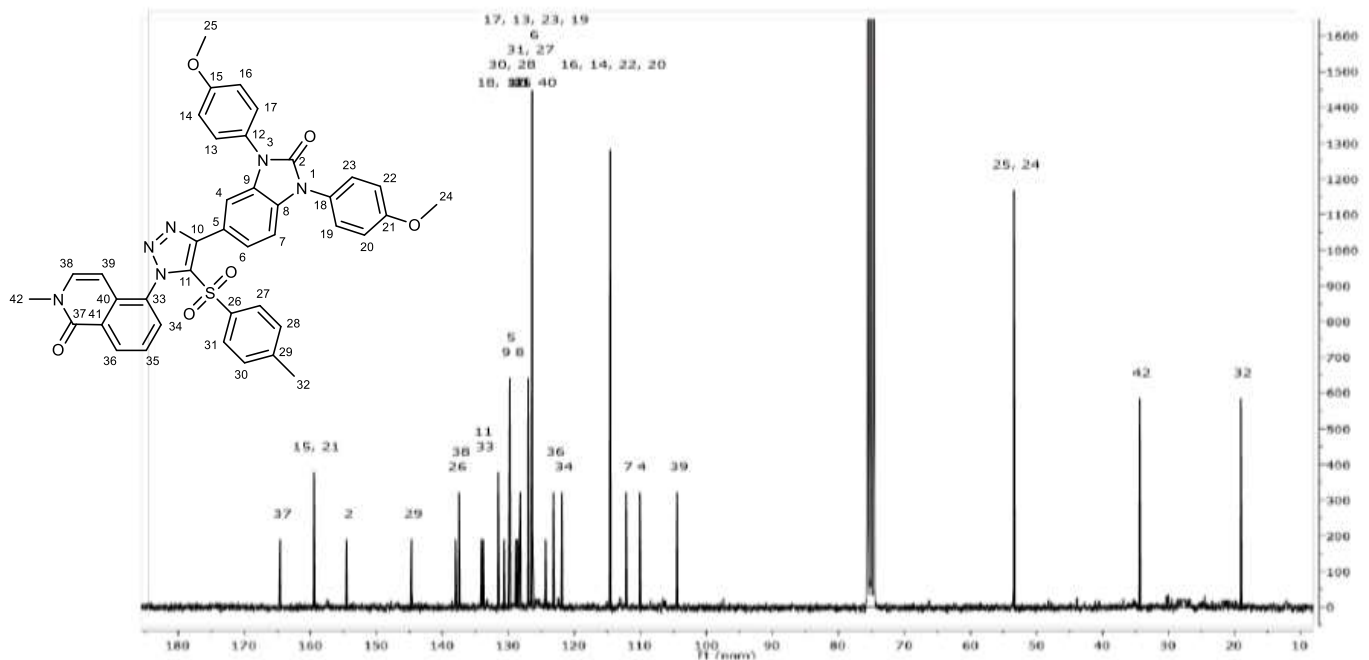
Fecha: 9/27/2017 1:43:01 PM  
Número de registro: 2720  
Nombre de la muestra: IABE-1117  
Tipo de muestra: Sólido  
Descripción de la muestra: C<sub>30</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>, FM 542 g/mol, P.F. 160-162°C  
Modo de inyección: EI  
Modo de ionización: EI

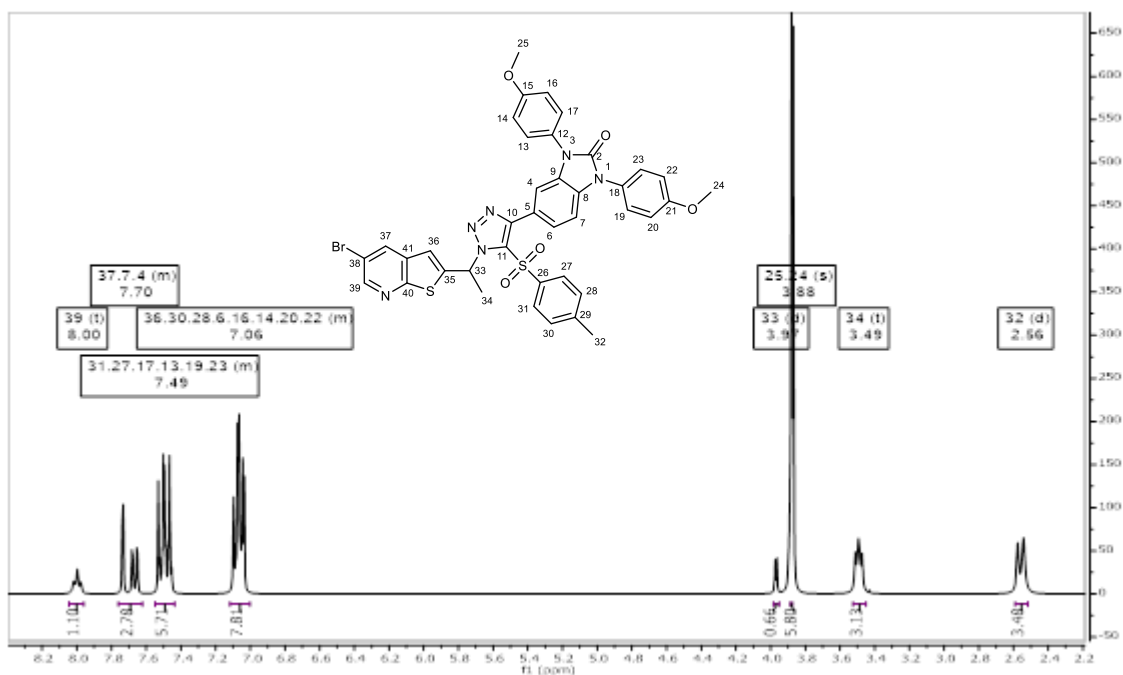
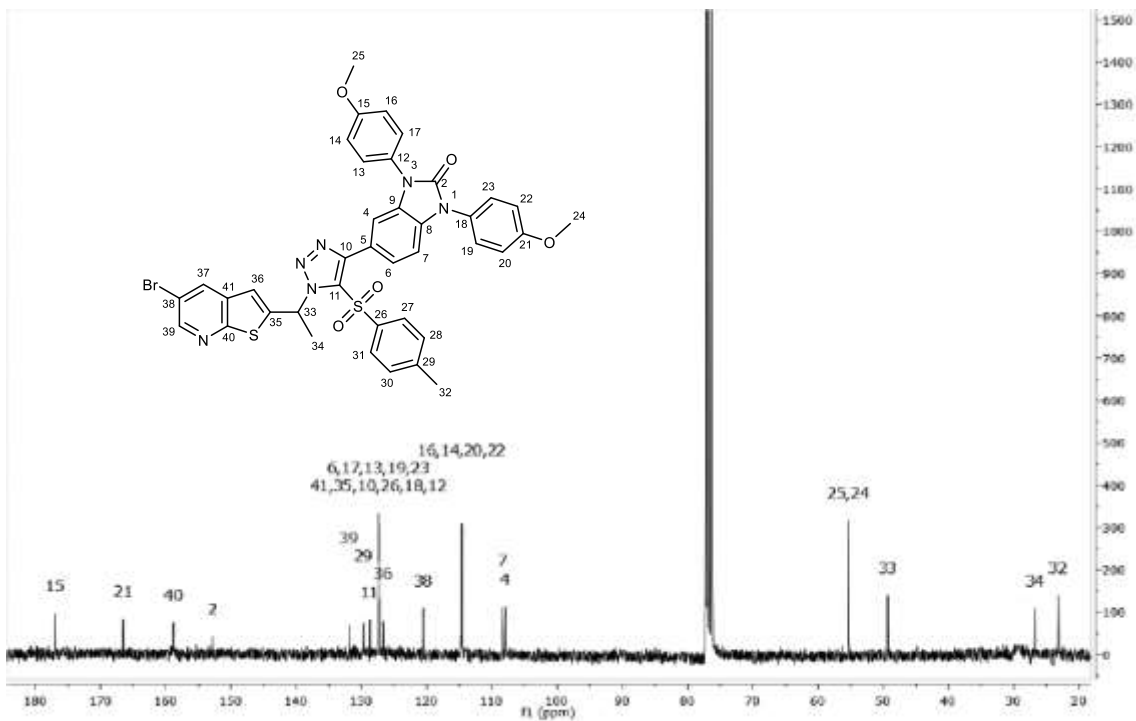
Investigador: Dr. Carlos González R.  
Data File: C:\GCMSolution\Data\Project1\Espectrometría de Masas\Muestras Externas\Dr. Carlos González\ttzel Bernal\2720\_LTC.g  
Method File: C:\GCMSolution\Data\Project1\Métodos\DI\_EI\_300°C.qgm  
Tuning File: C:\GCMSolution\System1\Tune1\27092017-1.qgt  
Analizado por: M. en C. Lizbeth Triana Cruz



Espectro

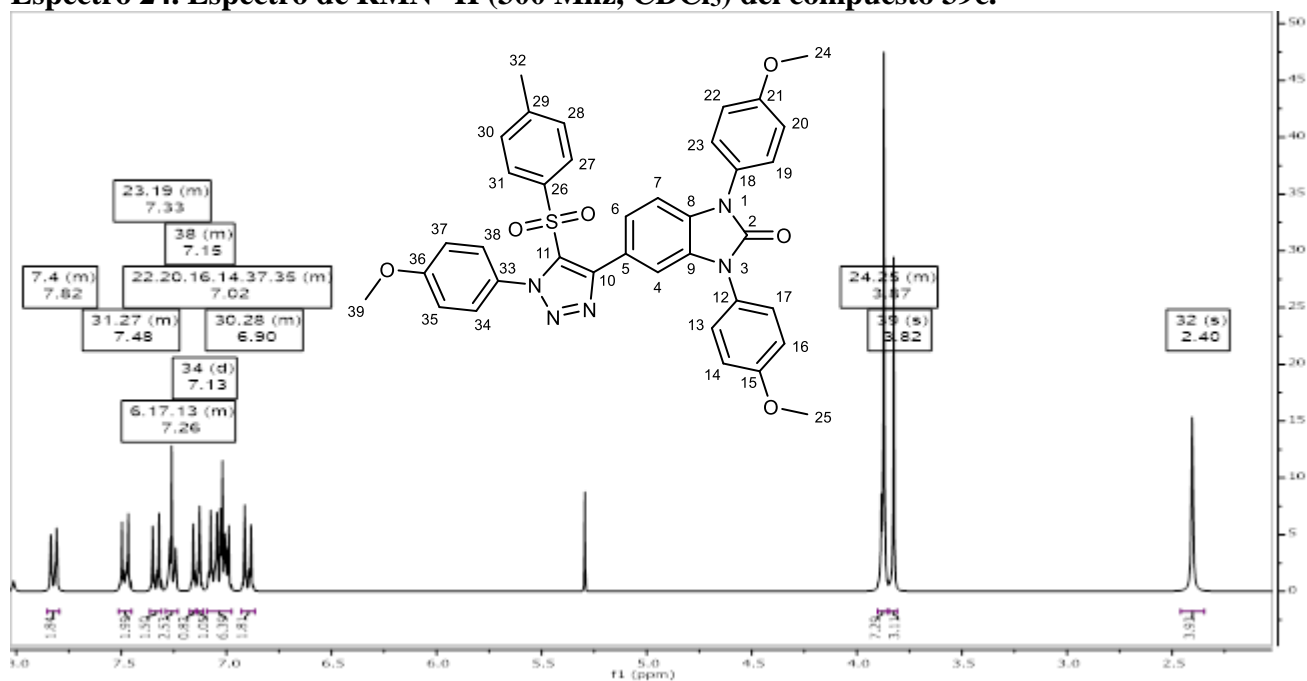


**Espectro 20. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H (300 Mhz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 39a****Espectro 21. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 39a.**

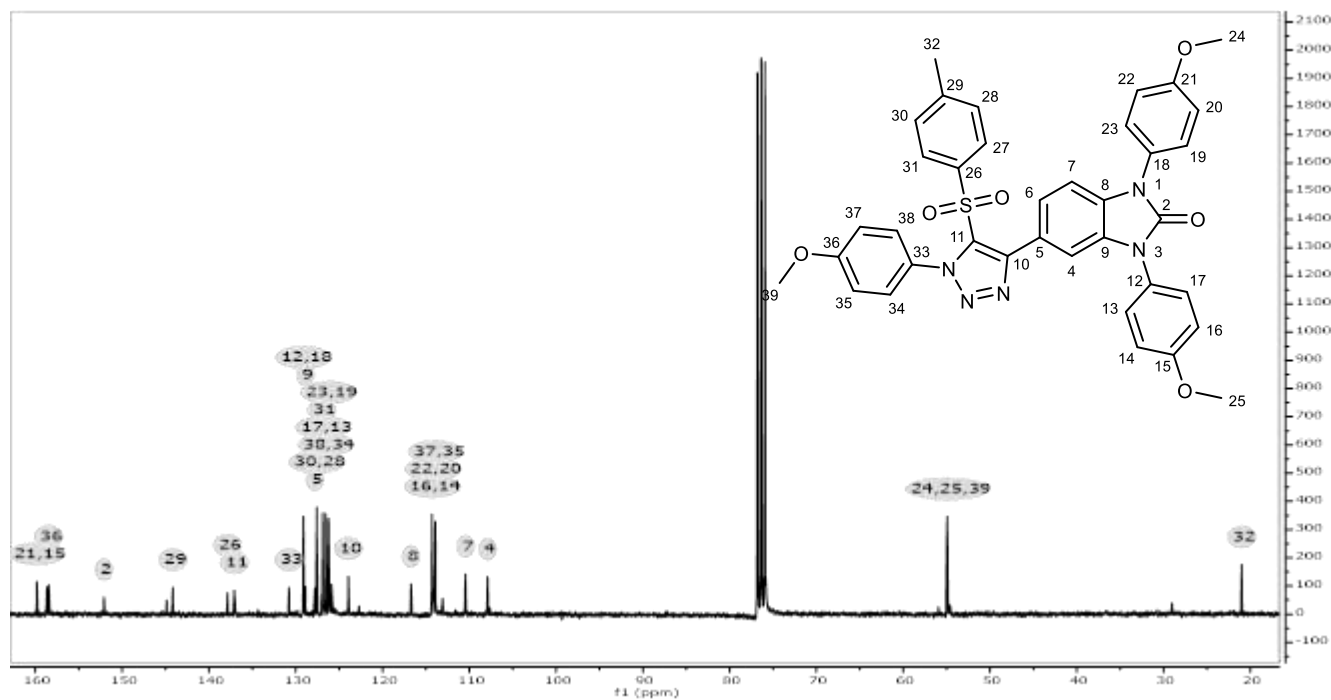
**Espectro 22. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H (300 Mhz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 39b**

**Espectro 23 . Espectro de RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 39b**




**Espectro 24. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H (300 Mhz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 39c.**



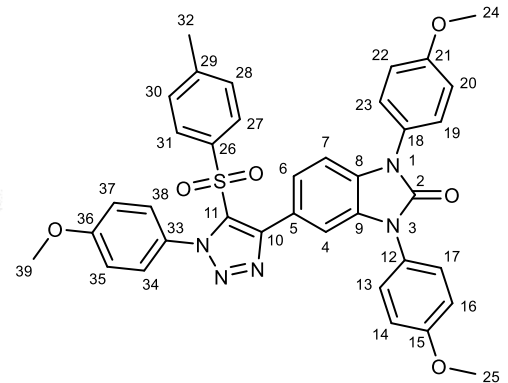
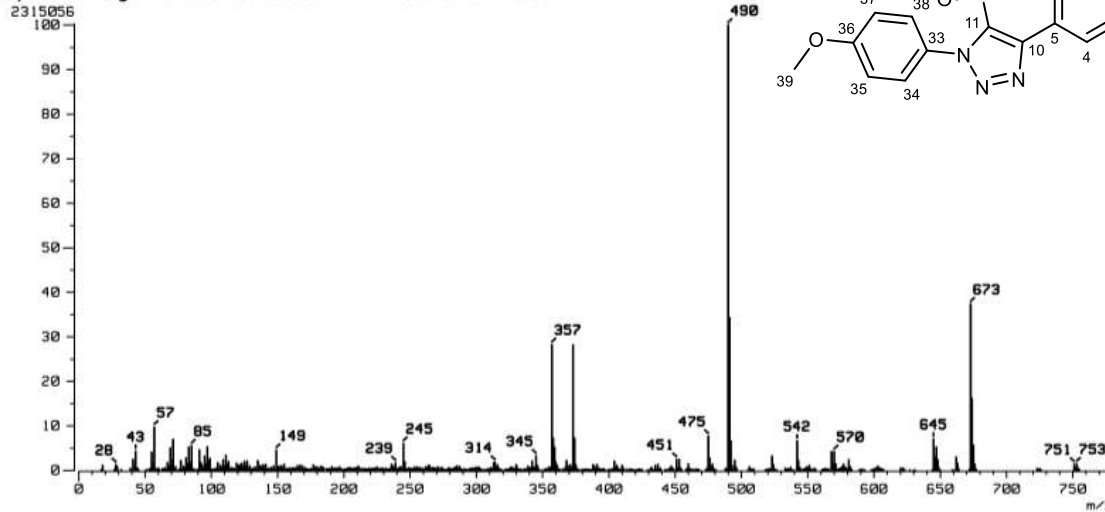
**Espectro 25. Espectro de RMN-13C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 39c**



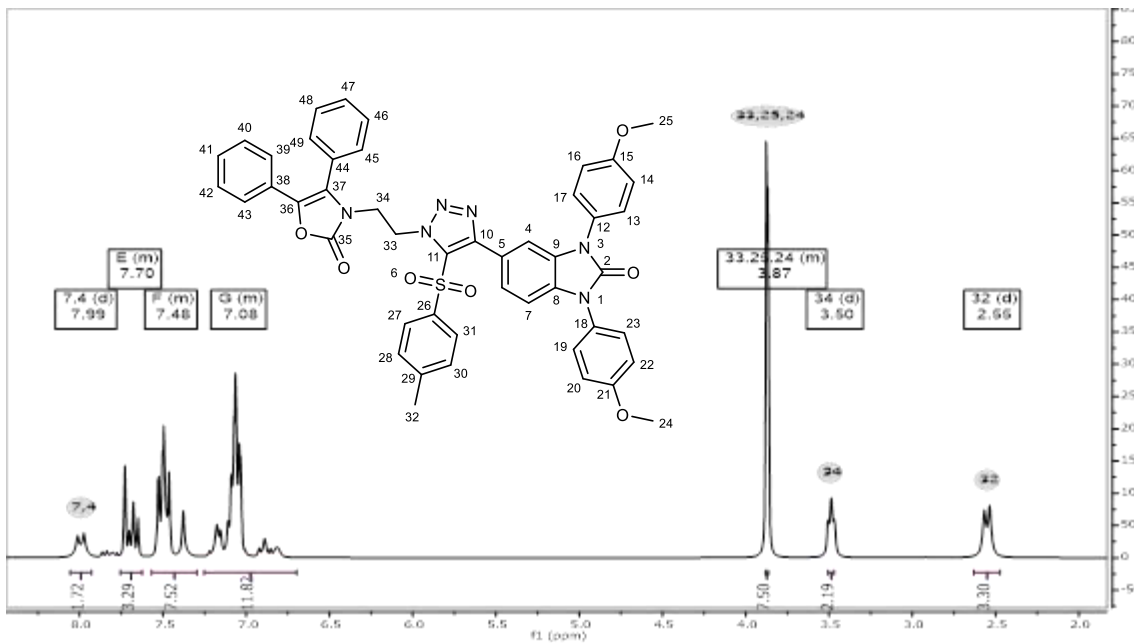


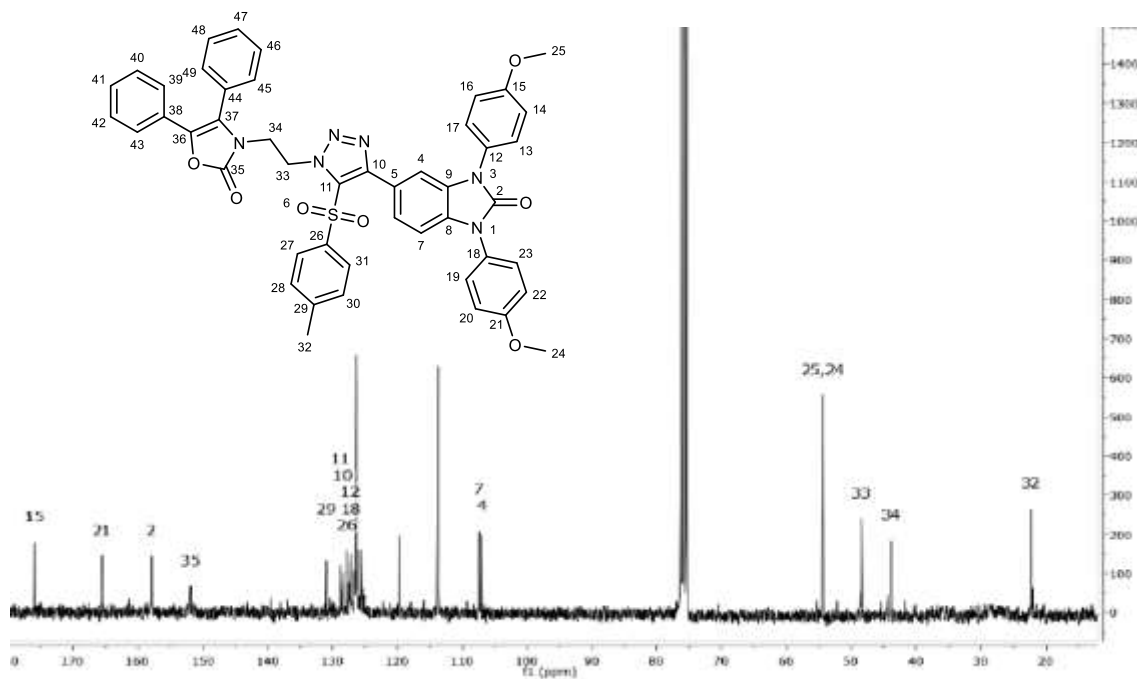
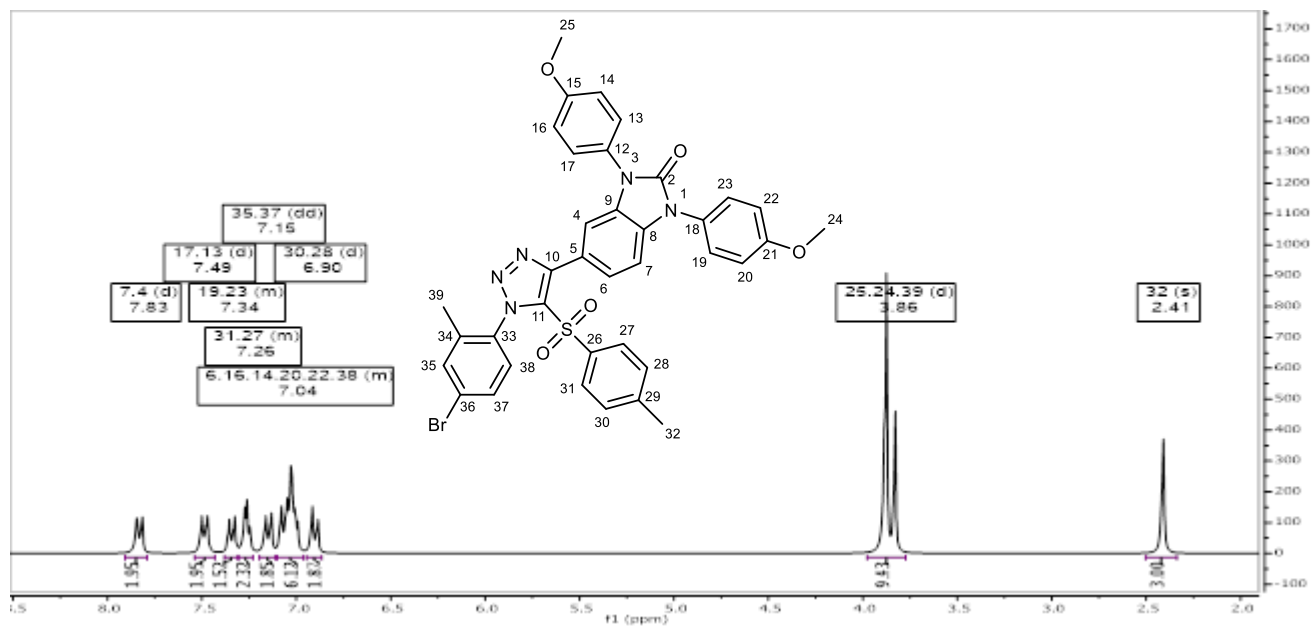
Espectro 26. EM del compuesto 39c

[ Mass Spectrum ]  
Data : Dr-Miranda-Luis-056 Date : 19-Oct-2018 10:40  
Sample : 2265 IRBET3 Jeol SX102FA  
Note : Operadoras Carmen Garcia Javier Perez  
Inlet : Direct Ion Mode : EI+  
Spectrum Type : Normal Ion [MF-Linear]  
RT : 0.84 min Scan# : (14,18)  
BP : m/z 490.0000 Int. : 220.14  
Output m/z range : 0.0000 to 780.1187 Cut Level : 0.00 %



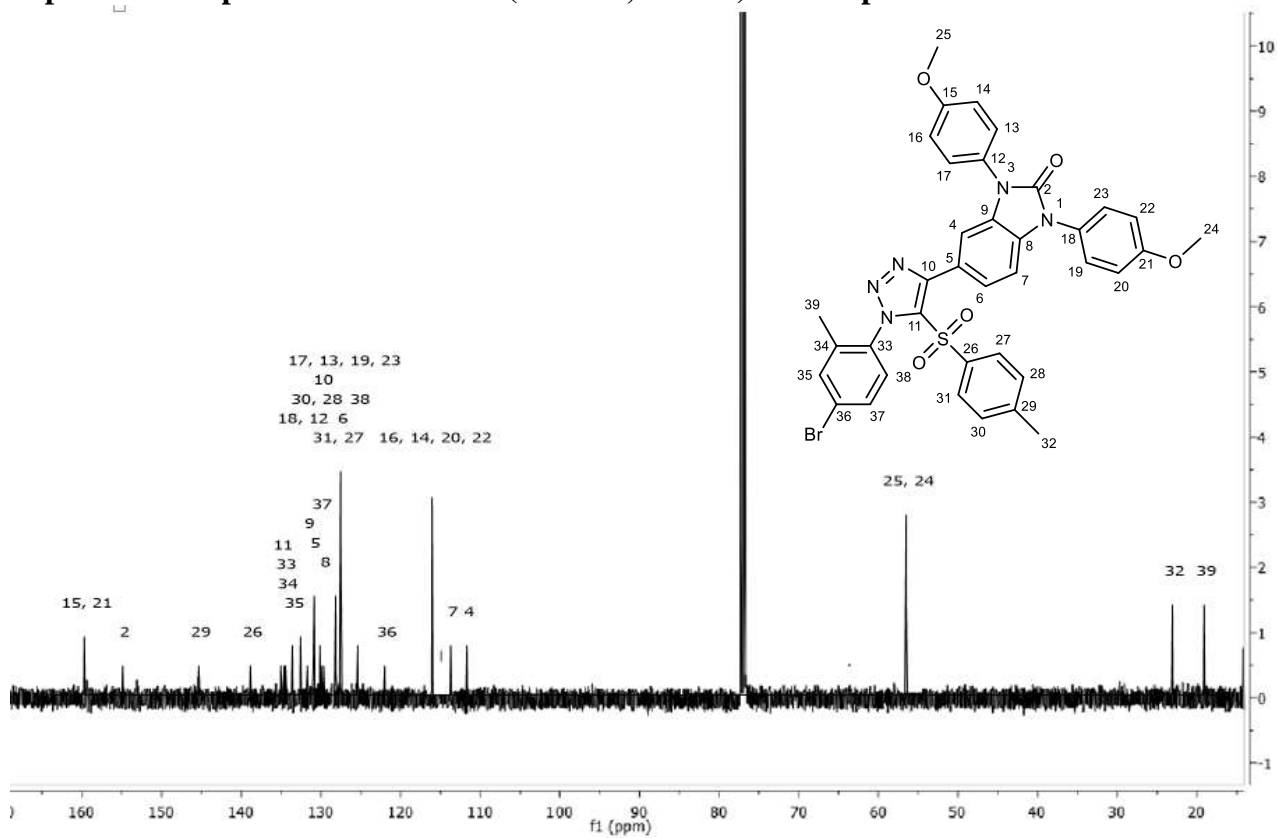
Espectro 27. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H (300 Mhz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 39d.



**Espectro 28. Espectro de RMN-<sup>13</sup>C (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 39d**

**Espectro 29. Espectro de RMN-<sup>1</sup>H (300 Mhz, CDCl<sub>3</sub>) del compuesto 39e.**




**Espectro 30. Espectro de RMN-13C (75 MHz, CDCl3) del compuesto 39e**



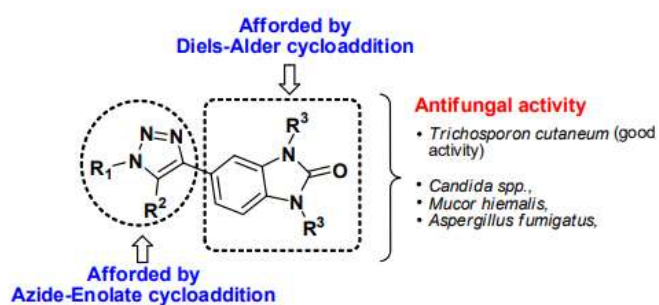
## X. ANEXO II: Artículo enviado.

European Journal of Medicinal Chemistry

## Graphical Abstract

## Synthesis of (4-sulfonyl-1,2,3-triazyl)benzimidazol-2-ones and the evaluation of their antifungal activity

Bernal-Evangelista, Itzel A.; Ramirez-Villalva, Alejandra; González-Calderón Davir, Gonzalez-Romero, Carlos; Tamariz, Joaquin; Jauregui-Rodríguez, Bertha; Fuentes-Benites, Aydeé



## SHORT COMMUNICATION

## Synthesis of (4-sulfonyl-1,2,3-triazyl)benzimidazol-2-ones and the evaluation of their antifungal activity

Itzel A. Bernal-Evangelista<sup>a</sup>, Alejandra Ramirez-Villalva<sup>a</sup>, Davir González-Calderón<sup>a</sup>, Carlos Gonzalez-Romero<sup>a</sup>, Joaquín Tamariz<sup>b</sup>, Bertha Jauregui-Rodriguez<sup>c</sup> and Aydeé Fuentes-Benites<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>Departamento de Química Orgánica, Facultad de Química, Paseo Colón/Paseo Tollocan s/n, Universidad Autónoma del Estado de México, Estado de México, C.P. 50120, México.

<sup>b</sup>Departamento de Química Orgánica, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN, Prolongación Carpio y Plan de Ayala S/N, Ciudad de México C.P.11340, México

<sup>c</sup>Departamento de Microbiología, Facultad de Química, Universidad Autónoma del Estado de México, Paseo Colón/Paseo Tollocan s/n, Toluca, Estado de México 50120, México

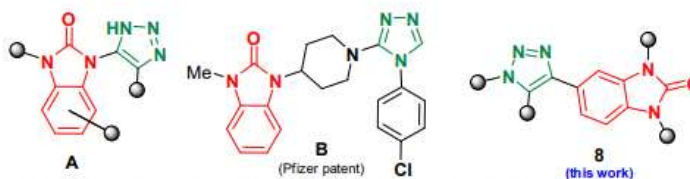
**ABSTRACT:** Derivatives of (4-sulfonyl-1,2,3-triazyl)-benzimidazol-2-ones were obtained through a linear synthesis involving Diels-Alder and (3+2) azide-enolate cycloaddition reactions. The evaluation of the antifungal activity was carried out on three species of filamentous fungi and five species of *Candida spp.* The efficiency and breadth of the study revealed that compounds **8c** and **8d** have excellent anti-fungal activity against *Trichosporon cutaneum*.

**Keywords:** Antifungal; Benzimidazol-2-ones; 1,2,3-Triazoles; Sulfones; Azide-Enolate Cycloaddition; Diels-Alder Cycloaddition

## 1. Introduction

There is an ongoing search for new antifungals due to the growing resistance of infectious agents to available drugs [1]. Three structures are herein considered to form a series of compounds with possible antifungal activity.

The structures of *triazoles* form part of a great variety of biologically active compounds [2], including some commercial antifungal drugs (e.g. itraconazole, fluconazole, miconazole among others). On the other hand, *sulfones* are another important class of organic compounds with diverse biological activities [3] and its pharmacology [4] is very well recognized due to its prominent presence among U.S. FDA approved antibiotic pharmaceuticals (e.g. Amprenavir and Sulfamethoxazole). Finally, the presence of *benzimidazol-2-ones* cores in commercial drugs (e.g. Droperidol and Pimozide) have led this heterocyclic rings on the study of a wide variety of biological activities [5], particularly as antifungal agents [6]. In consequence, the synthesis [7] and biological evaluation [8] of *triazolylbenzimidazolones* (e.g. **A** and **B** Scheme 1) have been previously explored. The aim of the current study was to obtain a series of novel derivatives of (4-sulfonyl-1,2,3-triazil)-benzimidazol-2-ones **8** and evaluate their antifungal activity.



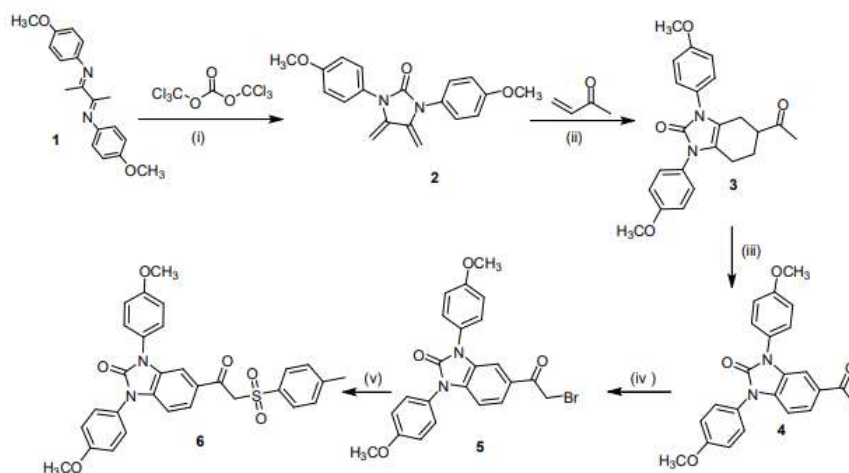
**Scheme 1.** Triazolylbenzimidazolones **A** and **B** have been reported previously. Novel series of these compounds (under antifungal perspectives) have been achieved by the latest synthetic methodologies.

## 2. Chemistry

Under our ongoing research programs, focused on the development of novel methodologies for the construction of benzimidazol-2-ones and 1,2,3-triazoles scaffolds, we rationalized using our synthetic strategies in order to build triazolylbenzimidazolones blocks. The acetyl benzimidazol-2-one **4** was achieved in three steps, including a Diels-Alder cycloaddition, according our very recent reports [9]. The *exo*-heterocyclic diene **2** (90%) was first synthesized from the closure of bisimine **1** with triphosgene. Then a Diels-Alder cycloaddition was carried out between diene **2** and a methyl vinyl ketone to afford tetrahydrobenzoimidazol-2-one **3** (88%), which was oxidized to furnish acetyl benzimidazol-2-one **4** (91%). The acetyl group is now an available site to apply our synthetic strategy to afford a 1,2,3-triazole core involving an azide-enolate cycloaddition as we have described in literature [10]. Compound **4** underwent a nucleophilic substitution by the bromide ion to form compound **5** (%). Subsequently, the  $\beta$ -ketosulfones **5** were synthesized by using an aqueous nanomyllar

\* Corresponding author. Tel.: +52 722 217 5109x113; fax: +52 722 217 3890; e-mail: [mpagfuentesb@uaemex.mx](mailto:mpagfuentesb@uaemex.mx) (Aydeé Fuentes Benites)

medium with a surfactant SPGS-550-M [11] and sodium *p*-toluenesulfinate. Finally, five (4-sulfonyl-1,2,3-triazyl) - benzimidazol-2-ones derivatives, compounds **8a-e**, were synthesized through an efficient 1,3-dipolar cycloaddition of azides and benzoimidazolones in the presence of enolates prepared *in situ* (by action of DBU as the base) from Ketones **6** (Table 1).



**Scheme 2.** Reagents and conditions: (i) Et<sub>3</sub>N (1.0 eq.) toluene, 0°C, 4 h, N<sub>2</sub>. (ii) BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -78°C, 30 min, N<sub>2</sub>. (iii) DDQ (2.0 eq.), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, r.t., 12 h, N<sub>2</sub>. (iv) NBS (1.1 eq.), TsOH·H<sub>2</sub>O (1.0 eq.) MeCN, 60°C, 15 h. (v) SPGS-550-M aq. (2% w/w), *p*-Tol-SO<sub>2</sub>Na (1.5 eq.), r.t., 12 h.



### 3. Microbiology

Compounds **8a-e** were tested for their *in vitro* activity against three filamentous fungi: *Aspergillus fumigatus* ATCC-16907, *Trichosporon cutaneum* ATCC-28592, and *Mucor hiemalis* ATCC-8690. By employing standardized microbiological methods developed by the CLSI, the effect of these compounds was also assessed against five yeast specimens: *Candida albicans* ATCC-10231, *Candida utilis* ATCC-9226, *Candida parapsilopsis* ATCC-22019, *Candida glabrata* ATCC-34138, and *Candida krusei* ATCC-14243. The sensitivity of the filamentous microorganisms was evaluated by the microdilution M38-A method [12], and that of the yeast fungi with the M27-A3 method [13].

Regarding antifungal activity, the test compounds were compared to itraconazole, the standard antifungal drug. The minimum inhibitory concentration (MIC) values, expressed in micrograms per milliliter, were determined for **8a-e** and the reference drug by using 96-well plates and MOPS (3-[*N*-morpholino]propanesulfonic acid buffered RPMI-1640 medium, Sigma-Aldrich).

### 4. Results and discussion

In the antifungal activity assay (Table 2), **8b** and **8c** showed moderate activity against *C. parapsilopsis* (MIC 4 and 8  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , respectively). The activity of **8d** (MIC = 2  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) was much better than that of itraconazole (MIC = 8  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Additionally, **8c** (MIC = 4  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) exhibited better activity than the standard drug against *Trichosporon cutaneum*. These findings can also be expressed as the ‘sensitivity’ parameters of yeasts, according to the breakpoints described in the M27-A3 document (Table 3). In general, most of the species of *Candida spp* were resistant to the compounds presently studied.

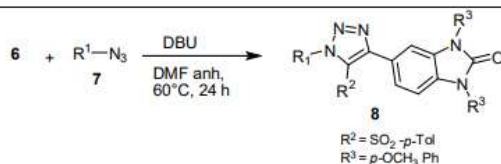
### 5. Conclusion

Five derivatives of (4-sulfonyl-1,2,3-triazyl)-benzimidazol-2-ones (**8a-e**) were synthesized in regular yields. The synthetic process involved Diels-Alder and (3 + 2) azide-enolate cycloaddition reactions. *In vitro* assays demonstrated that **8d** is the most efficient antimicrobial agent against *Trichosporon cutaneum*.

### Acknowledgments

We gratefully acknowledge the financial support from the Secretaría de Investigación y Estudios Avanzados/UAEMéx (project no. 3804/2014/CID) and CONACYT-Mexico (postgraduate scholarship no. 605798). We also thank N. Zavala-Segovia and L. Triana-Cruz (CCIQS UAEMéx– UNAM) for technical support.

**Table 1.** Synthesis of benzimidazol-2-ones linked to 1,2,3-triazoles to form compounds **8a-e** from azides **7** by coupling with active ketone **6**.



Entry <sup>a</sup>	Azide	Triazole <sup>b</sup> (yield %)
1	<b>7a</b> R <sup>1</sup> = 1- (5-bromothieno [2,3-b] pyridin-2-yl) ethyl	44
2	<b>7b</b> R <sup>1</sup> = 4-methoxy-2-methylphenyl	56
3	<b>7c</b> R <sup>1</sup> = 4-methoxyphenyl	74
4	<b>7d</b> R <sup>1</sup> = 4,5-diphenyloxazol-2-one	67
5	<b>7e</b> R <sup>1</sup> = 2-methyl isoquinolone	52

<sup>a</sup> Reaction conditions: To a solution of compounds **6** (1.0 eq.) and **7** (1.0 eq.) in DMF an., DBU (2.0 eq.) was added. The reaction mixture was stirred at 60 °C for 24 h.

<sup>b</sup> Confirmed by <sup>1</sup>H-NMR, <sup>13</sup>C-NMR.



**Table 2.** *In vitro* antifungal activity of the synthesized compounds (MIC,  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ).

Compound	<i>C. alb</i>	<i>C. uti</i>	<i>C. kru</i>	<i>C. gla</i>	<i>C. par</i>	<i>M. hie</i>	<i>T. cut</i>	<i>A. fum</i>
<b>8a</b>	16	16	16	16	4	16	8	16
<b>8b</b>	16	16	16	16	4	16	16	16
<b>8c</b>	16	16	16	16	8	16	4	16
<b>8d</b>	16	16	16	16	16	16	2	16
<b>8e</b>	16	16	16	16	4	16	4	16
<b>Standard<sup>a</sup></b>	0.03	0.25	0.25	1	0.06	4	8	1

Abbreviations: *C. alb.*, *Candida albicans*; *C. uti.*, *Candida utilis*; *C. kru.*, *Candida krusei*; *C. gla.*, *Candida glabrata*, *C. par.*, *Candida parapsilosis*; *M. hie.*, *Mucor hiemalis*; *A. fum.*, *Aspergillus fumigatus*; *T. cut.*, *Trichosporon cutaneum*. <sup>a</sup> Intraconazole.

**Table 3.** Determination of the sensitivity of yeast: Susceptible (S), dose-dependent sensitive (SDD) and resistant (R).

Compound	<i>C. alb</i>	<i>C. uti</i>	<i>C. kru</i>	<i>C. gla</i>	<i>C. par</i>
<b>8a</b>	R	R	R	R	R
<b>8b</b>	R	R	R	R	R
<b>8c</b>	R	R	R	R	R
<b>8d</b>	R	R	R	R	R
<b>8e</b>	R	R	R	R	R
<b>Standard<sup>a</sup></b>	S	SDD	SDD	R	S

Abbreviations: *C. alb.*, *Candida albicans*; *C. uti.*, *Candida utilis*; *C. kru.*, *Candida krusei*; *C. gla.*, *Candida glabrata*, *C. par.*, *Candida parapsilosis*; *M. hie.* <sup>a</sup> Intraconazole

## References

- (a) N. P. Wiederhold, Antifungal resistance: current trends and future strategies to combat, *Infection and Drug Resistance*, 10 (2017) 249–259. (b) D. Sanglard, Emerging Threats in Antifungal-Resistant Fungal Pathogens, *Front. Med.* 3 (2016), 11 pages. DOI: 10.3389/fmed.2016.00011. (c) D. S. Perlin, R. Rautemaa-Richardson, A. Alastruey-Izquierdo, The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management, *Lancet Infect. Dis.* 17 (2017), 12: 383–392. DOI: 10.1016/S1473-3099(17)30316-X.

2. (a) A. Massarotti, S. Aprile, V. Mercalli, E. Del Grosso, G. Grossa, G. Sorba, G.C. Tron, Are 1,4- and 1,5-disubstituted 1,2,3-triazoles good pharmacophoric groups? *ChemMedChem* 9 (2014) 2497-2508. DOI: 10.1002/cmdc.201402233; (b) S.G. Agalave, S.R. Maujan, V.S. Pore, Click Chemistry: 1,2,3-Triazoles as Pharmacophores, 6 (2011) 2696-2718. DOI: 10.1002/asia.201100432; (c) C.H. Zhou, Y. Wang, Recent researches in triazole compounds as medicinal drugs, *Curr. Med. Chem.* 19 (2012) 239-280. DOI: 10.2174/092986712803414213. **As antifungals:** (d) Z. Jiang, J. Gu, C. Wang, S. Wang, N. Liu, Y. Jiang, C. Sheng, Design, synthesis and antifungal activity of novel triazole derivatives containing substituted 1,2,3-triazole-piperidine side chains, *Eur. J. Med. Chem.* 82 (2014) 490-497. DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.05.079. (e) S. Mishra, M. Kaur, S. Chander, S. Murugesan, L. Nim, D. S. Arora, P. Singh, Rational modification of a lead molecule: Improving the antifungal activity of indole - triazole - amino acid conjugates, *Eur. J. Med. Chem.* 155 (2018) 658-669. DOI: 10.1016/j.ejmech.2018.06.039. (f) S. N. Darandale, N. A.Mulla, D. N. Pansare, J. N. Sangshetti, D. B.Shinde, A novel amalgamation of 1,2,3-triazoles, piperidines and thieno pyridine rings and evaluation of their antifungal activity, *Eur. J. Med. Chem.* 65 (2013) 527-532. DOI: 10.1016/j.ejmech.2013.04.045. (g) X. L. Wang, K. Wan, C. H. Zhou, Synthesis of novel sulfanilamide-derived 1,2,3-triazoles and their evaluation for antibacterial and antifungal activities, *Eur. J. Med. Chem.* 45 (2010) 4631-4639. DOI: 10.1016/j.ejmech.2010.07.031.
3. A. Irshad, Shagufta, Sulfones : an Important Class of Organic Compounds with Diverse Biological Activities, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 7 (2015), 3: 19-27.
4. E. Scholar, Sulfones, in: S.J. Enna, D. B. Bylund (Ed.), *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*, Elsevier, 2007, 3 pages, ISBN 9780080552323, DOI:10.1016/B978-008055232-3.61014-1
5. (a) N.A.Zhukova, V.A.Mamedov, Advances in the synthesis of benzimidazol-2-ones, *Russ. Chem. Rev.* 86 (2017), 10, 968- 997, DOI: 10.1070/RCR4749, and references therein. (b) V. A.Mamedov, N. A. Zhukova, Recent Advances in the Synthesis of Benzimidazol-2-ones via Rearrangements, *Progress in Heterocyclic Chemistry*, 29 (2017), 43 pages. DOI: 10.1016/B978-0-08-102310-5.00001-1, and references therein.
6. B. K. Karale, S. S. Rindbe, and M. A. Rode, Synthesis and Biological Activities of Some Benzimidazolone Derivatives, *Indian J Pharm Sci.* 77 (2015), 2: 230-236.
7. L. Bertelli, G. Biagi, V. Calderone, I. Giorgi, O. Livi, V. Scatoni, P. L. Barili, 1-(1,2,3-triazol-4-yl)-benzimidazolones, a new series of heterocyclic derivatives, *J. Heterocyclic Chem.* 37 (2000), 1169-1176. DOI: 10.1002/jhet.5570370525
8. (a) R. Palín, J. K. Clark, L. Evans, A. K. Houghton, P. S. Jones, A. Prosser, G. Wishart, K. Yoshizumi, Structure-activity relationships and CoMFA of N-3 substituted phenoxypropyl piperidine benzimidazol-2-one analogues as NOP receptor agonists with analgesic properties, *Bioorg. Med. Chem.* 16 (2008), 6: 2829-2851. DOI: 10.1016/j.bmc.2008.01.005 (b) J. S. Bryans, et al. Compounds Useful In Therapy. WO 2008/0188478; United States Patent Application 20080188478, Kind Code A1; Pfizer Inc.Pub. date August 7, 2008.
9. R. Bautista, P. Bernal, R. Herrera, B. M. Santoyo, J. M. Lazcano-Seres, F. Delgado, J. Tamariz, Synthesis and Diels-Alder Cycloadditions of exo-Imidazolidin-2-one Dienes, *J. Org. Chem.* 76 (2011) 7901-7911. DOI: 10.1021/jo201335y
10. A. Ramirez-Villalva, D. González-Calderón, R. I. Rojas-García, C. González-Romero, J. Tamariz-Mascarúa, M. Morales-Rodríguez, N. Zavala-Segovia, A. Fuentes-Benites, Synthesis and antifungal ctivity of novel oxazolidin-2-one-linked 1,2,3-triazole derivatives, *Med. Chem. Commun.*, 8 (2017) 2258-2262. DOI: 10.1039/c7md00442g. **See Supplementary Material therein.**
11. Sigma-Aldrich catalog number: 776033
12. (a) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), Document M38-A2: Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Filamentous Fungi, Approved Standard, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 2nd edn, 2002; (b) A. L. Barry, An overview of the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and its impact on antimicrobial susceptibility tests, in *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*, ed. R. Schwalbe, L. Steele-Moore and A. C. Goodwin, CRC Press Taylor & Francis Group, Florida, 2007, pp. 1-6, ISBN: 9780824741006; (c) A. Espinel-Ingroff and E. Canton, Antifungal susceptibility testing of filamentous fungi, in *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*, ed. R. Schwalbe, L. Steele-Moore and A. C. Goodwin, CRC Press Taylor & Francis Group, Florida, 2007, pp. 209-241, ISBN: 9780824741006
13. (a) Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), M27A3: Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts, Approved Standard, Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, 3rd edn, 2008, ISBN: 1-56238-666-2; (b) A. Espinel-Ingroff and E. Cantón, Antifungal susceptibility testing of yeasts, in *Antimicrobial Susceptibility Testing Protocols*, ed. R. Schwalbe, L. Steele-Moore and A. C. Goodwin, CRC Press Taylor & Francis Group, Florida, 2007, pp. 173-208, ISBN: 9780824741006; (c) A. W. Fothergill, Antifungal Susceptibility Testing: Clinical Laboratory and Standards Institute (CLSI) methods, in *Interactions of Yeasts, Moulds, and Antifungal Agents, How to Detect Resistance*, ed. G. S. Hall, Springer Science-Business Media, 2012, pp. 65-74, DOI: 10.1007/978-1-59745-134-5\_2; (d) M. A. Pfaller and D. J. Diekema, *J. Clin. Microbiol.*, 2012, 50, 2846-2856; (e) M. C. Arendrup, G. Garcia-Effron, C. LassFlörl, A. G. López, J. L. Rodriguez-Tudela, M. Cuenca-Estrella and D. S. Perlin, *Antimicrob. Agents Chemother.* 54 (2010) 426-439. DOI:10.1128/AAC.01256-09.