

00582  
5  
Jey.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO

INTERACCIONES INTERMOLECULARES Y ASPECTOS  
TERMODINAMICOS DE LAS REACCIONES DE COMPLEJACION  
ENTRE CICLODEXTRINAS Y ALGUNOS ANTIHELMINTICOS.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:  
DOCTOR EN CIENCIAS QUIMICAS  
P R E S E N T A :  
MARIA JOSEFA } BERNAD BERNAD

ASESOR: DR. DAVID DIAZ

MEXICO, D. F.

1998



TESIS CON  
FALLA DE CUBRIM

262068



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

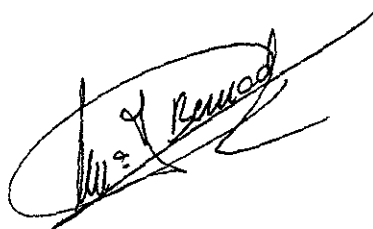
## Jurado asignado:

Presidente: Dr. Anatoli Iatsimirski  
Primer Vocal: Dra. Noráh Barba Behrens  
Segundo Vocal: Dr. Miguel Costas Basín  
Tercer Vocal: Dr. Eduardo Bárzana García  
Secretario: Dr. Guillermo Mendoza Díaz  
Segundo Suplente: Dr. Ramón Garduño Juárez

## Lugar donde se desarrolló la tesis:

Laboratorio 213 del Departamento de Química Inorgánica.  
División de Estudios de Posgrado  
Facultad de Química. U.N.A.M.

Sustentante:



M. en C. Ma. Josefa Bernad Bernad

Asesor:



Dr. David Díaz

## Dedicatorias:

---

A mi madre,

por apoyarme en todas las decisiones de mi vida y porque a pesar de la distancia siempre me animaste a seguir adelante.

A mis sobrinas, Cuca, Carmen y Almudena,

por hacerme sentir tan bien cuando estoy con vosotras.

*Y muy especialmente a Jesús,*

*por todos los momentos compartidos y los que compartiremos  
por ser parte fundamental de mi vida*

## **Agradecimientos:**

Al Dr. David Díaz por darme la oportunidad de venir a México, realizar este trabajo y por la ayuda brindada.

A Jesús Gracia Mora por ser uno de los principales motivos de esta tesis, por ayudarme siempre, por su amor, su comprensión, apoyo, confianza e inagotable paciencia.

Al Dr. Anatoli Iatsimirski por sus valiosas enseñanzas y por poder contar con él en todo momento.

A la Dra. Carmen Martínez Bordenave-Gassedat, por su amistad, ayuda y confianza.

A los miembros del jurado por sus sugerencias, valiosos comentarios y comprensión.

Al programa PADEP (proyectos 005311, 005332, 005320) por el apoyo financiero.

A la DGA, Intercambio Académico UNAM y la DGAPA por las becas concedidas para realizar este trabajo.

Al Dr. Carlos Jaime de la Universidad Autónoma de Barcelona, por permitirme hacer una estancia en su laboratorio para realizar experimentos de RMN.

Al Dr. Ramón Vicente de la Universidad Central de Barcelona, por su amabilidad y apoyo en la obtención de espectros de resonancia magnética nuclear.

Al Dr. Guillermo Mendoza de la Universidad de Guanajuato, por la realización de parte de los experimentos de resonancia magnética nuclear.

A la M. en C. Nuria Esturau Escofet, por su ayuda en la realización e interpretación de los experimentos NOESY y por ser siempre una buena amiga.

A los Laboratorios Smith-Kline and Beecham, México, a los Laboratorios Merck de México, a ARANCIA y a CERESTAR, por la donación del albendazol, praziquantel,  $\beta$  ciclodextrina y el resto de las cicloamilosas, respectivamente.

Al Dr. Jesús Guzman García, por su amabilidad, apoyo y buenos consejos en todo momento.

Al personal de Control Escolar, por su cordialidad y por hacer los trámites más sencillos.

A la Dra. Lena Ruiz Azuara por el apoyo que me brindó en mi primera estancia en México y con el que sigo contando.

A la Dra. Silvia Castillo por su amistad, su ayuda y sus acertadas sugerencias.

A Carolina Escobar Llanos por la ayuda brindada en el desarrollo de este trabajo.

A mi padre por su ejemplo.

A mi madre, por su apoyo incondicional, su cariño y su paciencia.

A Joaquín y Mamen, por poder contar siempre con ellos.

A la Familia Gracia Mora por todo su cariño y por haberme hecho sentir como en mi casa.

Y a todos aquellos que de alguna manera me ayudaron y estuvieron a mi lado en esta importante etapa de mi vida, haciendo más agradable mi estancia en México.

# ÍNDICE

Página

1. Resumen	1
2 Abstract	3
3. Introducción	5
4. Antecedentes	
4.1. Química Supramolecular	7
4.2. Ciclodextrinas	9
4.3. Antihelmínticos	14
4.4. Fuerzas intermoleculares	17
4.5. Interacciones huésped-ciclodextrina	21
4.5.1. Relación parámetros termodinámicos-interacciones intermoleculares	23
4.5.2. Interacciones electrostáticas y complejación con CDs	25
4.5.3. Influencia del disolvente en las reacciones de complejación	26
4.5.4. Interacciones intermoleculares y procesos de transferencia	27
4.5.5. LFER y fuerzas intermoleculares huésped-ciclodextrina	28
4.5.6. Otros métodos de estudio de las interacciones intermoleculares H-CD	30
4.5.7. Recapitulación	31
5. Planteamiento del problema y objetivos	32
6. Resultados y discusión	34
6.1. Violeta de genciana	
6.1.1. Resultados	
6.1.1.1. Espectroscopía electrónica UV-vis	
6.1.1.1.1. Características del espectro electrónico del CV <sup>+</sup>	36
6.1.1.1.2. Constantes de equilibrio de los complejos de inclusión entre CV <sup>+</sup> y diferentes ciclodextrinas	37
6.1.1.2. Espectroscopía de <sup>1</sup> H RMN y mecánica molecular	41
6.1.2. Discusión	
6.1.2.1. Efecto de las diferentes ciclodextrinas sobre la complejación	46
6.1.2.2. Efecto del disolvente	46
6.1.2.3. Otros aspectos termodinámicos	48
6.1.2.4. Influencia de la protonación	52
6.1.3. Conclusiones	53
6.2. Albendazol	
6.2.1. Resultados	
6.2.1.1. Espectroscopía electrónica UV-vis	
6.2.1.1.1. Características del espectro electrónico del albendazol	55
6.2.1.1.2. Constantes de equilibrio de los complejos de inclusión entre albendazol y diferentes ciclodextrinas	56
6.2.1.2. Mecánica molecular	60

6.2.2. Discusión	
6.2.2.1. Efecto de las diferentes ciclodextrinas sobre la complejación	
62	63
6.2.2.2. Efecto del disolvente	64
6.2.2.3. Otros aspectos termodinámicos	67
6.2.2.4. Influencia de la protonación	68
6.2.3. Conclusiones	
6.3. Mebendazol	
6.3.1. Resultados	
6.3.1.1. Espectroscopia electrónica UV-vis	
6.3.1.1.1. Características del espectro electrónico del mebendazol	70
6.3.1.1.2. Constantes de equilibrio de los complejos de inclusión entre mebendazol y diferentes ciclodextrinas	71
6.3.1.2. Espectroscopia de <sup>1</sup> H RMN	74
6.3.1.3. Mecánica molecular	76
6.3.2. Discusión	
6.3.2.1. Efecto de las diferentes ciclodextrinas sobre la complejación	
77	78
6.3.2.2. Efecto del disolvente	80
6.3.2.3. Otros aspectos termodinámicos	82
6.3.2.4. Influencia de la protonación	83
6.3.3. Conclusiones	
6.4. Tiabendazol	
6.4.1. Resultados	
6.4.1.1. Espectroscopia electrónica UV-vis	
6.4.1.1.1. Características del espectro electrónico del tiabendazol	84
6.4.1.1.2. Constantes de equilibrio de los complejos de inclusión entre tiabendazol y diferentes ciclodextrinas	85
6.4.1.2. Espectroscopia de <sup>1</sup> H RMN	89
6.4.1.3. Mecánica molecular	91
6.4.2. Discusión	
6.4.2.1. Efecto de las diferentes ciclodextrinas sobre la complejación	
92	93
6.4.2.2. Efecto del disolvente	95
6.4.2.3. Otros aspectos termodinámicos	97
6.4.2.4. Influencia de la protonación	98
6.4.3. Conclusiones	
6.5. Praziquantel	
6.5.1. Resultados	
6.5.1.1. Espectroscopia electrónica UV-vis	
6.5.1.1.1. Características del espectro electrónico del praziquantel	100
6.5.1.1.2. Constantes de equilibrio de los complejos de inclusión entre praziquantel y diferentes ciclodextrinas	101
6.5.1.2. Mecánica molecular	104



6.5.2. Discusión	
6.5.2.1. Efecto de las diferentes ciclodextrinas sobre la complejación	105
6.5.2.2. Efecto del disolvente	106
6.5.2.3. Otros aspectos termodinámicos	108
6.5.2.4. Influencia de la protonación	110
6.5.3. Conclusiones	110
6.6. Pamoato de pirantel	
6.6.1. Resultados	
6.6.1.1. Espectroscopia electrónica UV-vis	
6.6.1.1.1. Características del espectro electrónico del PamPit	112
6.6.1.1.2. Constantes de equilibrio de los complejos de inclusión entre PamPit y diferentes ciclodextrinas	113
6.6.1.2. Mecánica molecular	116
6.6.2. Discusión	
6.6.2.1. Efecto de las diferentes ciclodextrinas sobre la complejación	118
6.6.2.2. Efecto del disolvente	118
6.6.2.3. Otros aspectos termodinámicos	120
6.6.3. Conclusiones	122
6.7. Pamoato de pirvinium	
6.7.1. Resultados	
6.7.1.1. Espectroscopia electrónica UV-vis	
6.7.1.1.1. Características del espectro electrónico del PamPiv	124
6.7.1.1.2. Constantes de equilibrio de los complejos de inclusión entre PamPiv y diferentes ciclodextrinas	125
6.7.1.2. Mecánica molecular	129
6.7.2. Discusión	
6.7.2.1. Efecto de las diferentes ciclodextrinas sobre la complejación	130
6.7.2.2. Efecto del disolvente	131
6.7.2.3. Otros aspectos termodinámicos	133
6.7.3. Conclusiones	135
7. Conclusiones generales y perspectivas	
7.1. Conclusiones generales	136
7.2. Perspectivas	142
8. Parte experimental	
8.1. Materiales	144
8.2. Métodos	
8.2.1. Estudios de solubilidad de fase	144
8.2.2. Espectroscopia directa UV-visible	151
8.2.3. Obtención del $pK_a$ del violeta de genciana	154
8.2.4. Estudios de resonancia magnética nuclear	157
8.2.5. Mecánica molecular	157

## ABREVIATURAS

Alb	Albendazol
Meb	Mebendazol
PamPit	Pamoato de pirantel
PamPiv <sub>2</sub>	Pamoato de pirvinium
Pam <sup>2-</sup>	Ion pamoato
Pit <sup>+</sup>	Ion pirantel
Piv <sup>+</sup>	Ion pirvinium
Prazi	Praziquantel
Tiab	Tiabendazol
CV <sup>+</sup>	Cristal violeta o Violeta de genciana
CD/CDs	Ciclodextrina/ciclodextrinas, cicloamilosa (s)
HP-β-CD	β-ciclodextrina-hidroxipropilada
H	Huésped
[H ⊂ CD]	Complejo de inclusión, siendo H cualquiera de los antihelmínticos y CD cualquiera de las cicloamilosas
$K_{int}$	Constante de interacción
$K_{ap}$	Constante aparente de equilibrio
$K_{pam}$	Constante de equilibrio del pamoato con cualquier CD
$K_{piv}$	Constante de equilibrio del pirvinium con cualquier CD
D. acuosa	Disolución acuosa, regulada a pH 7.5 ó 1.8, si no se indica el pH, significa que es a pH 7.5.
25% DMSO	Mezcla DMSO/agua en relación 25/75, en volumen.
50% DMSO	Mezcla DMSO/agua en relación 50/50, en volumen.
75% DMSO	Mezcla DMSO/agua en relación 75/25, en volumen.
DMSO	Dimetil sulfóxido puro
ΔA	Diferencia de absorbancia entre la especie huésped complejada y libre
[CD]	Concentración, en mol l <sup>-1</sup> , de ciclodextrina
1:1	Estequiometría de complejo [H ⊂ CD]
1:2	Estequiometría de complejo [H ⊂ CD <sub>2</sub> ]

2:1	Estequiometría de complejo [ $H_2 \subset CD$ ]
$S_t$	Concentración total de huésped
$S_0$	Concentración libre de huésped
$L_t$	Concentración total de ciclodextrina.
$K_{a1}$ y $K_{a2}$	Constantes de acidez $CV^+/HCV^{2+}$ y $HCV^{2+}/H_2CV^{3+}$ , respectivamente
$K_d$	Constante de dimerización
$K_{2:1}$	Constante de equilibrio para complejos de estequiometría 2:1
$K_{1:2}$	Constante de equilibrio para complejos de estequiometría 1:2
$\Delta\varepsilon$	Diferencia de absorptividad molar entre huésped libre y complejo
$K_{ac1}$	Constante de acidez $CV^+/HCV^{2+}$ en presencia de HP- $\beta$ -CD
$K_{ac2}$	Constante de acidez $HCV^{2+}/H_2CV^{3+}$ en presencia de HP- $\beta$ -CD
$K_1$	Constante de complejación con $CV^+$ , Alb, Meb y Tiab.
$K_2$	Constante de complejación con $CV^{2+}$ , $AlbH^+$ , $MebH^+$ y $TiabH^+$
$K_3$	Constante de complejación con $CV^{3+}$
<i>NOE</i>	<i>Nuclear Overhauser Effect</i>
<i>NOESY</i>	<i>Nuclear Overhauser enhancement spectroscopy</i>
$\log P$	logaritmo del coeficiente de partición octanol/agua

## 1. Resumen

Las reacciones de complejación entre una serie de antihelmínticos (violeta de genciana, albendazol, mebendazol, tiabendazol, praziquantel, pamoato de pirantel y pamoato de pirvinium,) con cuatro diferentes ciclodextrinas ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, y HP- $\beta$ - CDs) se han llevado a cabo bajo diversas condiciones de reacción, haciendo variar el pH, el disolvente y la temperatura, con el fin de determinar cómo afectan estos factores al equilibrio y así, tratar de determinar el tipo de interacciones intermoleculares responsables de la complejación.

Para determinar las constantes de equilibrio y otros parámetros termodinámicos ( $\Delta S$  y  $\Delta H$ ) se usó la espectroscopía electrónica de absorción (método de espectroscopía directa y método de Higuchi y Connors, éste último sólo se empleó en disolución acuosa, a 298 K) y para conocer la posible estructura de los complejos formados en disolución, se emplearon técnicas tales como espectroscopía  $^1\text{H}$  RMN (NOE y NOESY) y cálculos de mecánica molecular.

Se determinaron 150  $K_{\text{int}}$ , en cinco medios de reacción, a 298 K por el método de espectroscopía directa; 24  $K_{\text{int}}$  en disolución acuosa, pH 7.5, a 298 K usando el método de Higuchi y Connors; 35 valores de coeficientes de solubilidad en los cinco medios de reacción, a 298 K; 215  $K_{\text{int}}$  en disolución acuosa, pH 7.5 y DMSO a 294, 302, 306 y 310 K; 10 valores de  $\text{p}K_{\text{a}}$  y 3  $K_{\text{int}}$  en disolución acuosa a pH 1.8. También, se llevaron a cabo estudios de mecánica molecular para 8 huéspedes y se logró obtener información de RMN para el violeta de genciana, el mebendazol y el tiabendazol con la  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ - CDs.

Se concluyó que la dirección de la inclusión de las moléculas huésped viene determinada por las interacciones específicas entre éstas y el disolvente, la sección de la molécula huésped que interacciona más débilmente con el disolvente es la que se incluye en la cavidad de la ciclodextrina.

También se ha observado que la relación de tamaños entre la cicloamilosa y el huésped es un factor muy importante en la selectividad de la reacción, pero, en general, no es determinante de la estabilidad del complejo formado. Por el contrario,

el efecto del disolvente, o efecto solvofóbico, juega un papel primordial en la energía de estabilización de las especies antes mencionadas, ya que casi en todos los casos estudiados, la reacción es gobernada por un factor entrópico con una mayor o menor contribución del factor entálpico. En algunos sistemas, las fuerzas de van der Waals son las responsables de la estabilidad de los productos de la reacción. A la estabilidad de los complejos formados también contribuyen factores como son la expulsión de moléculas de disolvente de la cavidad de la ciclodextrina y la reestructuración del disolvente debida a cambios en la solvatación del huésped, así como la liberación de la tensión del anillo de las CDs y la restricción de movilidad del huésped.

En los casos que se estudió el efecto de la carga en la complejación, se observó para todos ellos que la presencia de grupos cargado en la molécula huésped desfavorece considerablemente la estabilidad de estos sistemas. Para el violeta de genciana cabe destacar que se determinaron los valores del  $pK_a$  del huésped, dado que no están publicados.

Para todas las moléculas huésped estudiadas se han hecho los estudios correspondientes de mecánica molecular y se ha corroborado, en general, que la estructura de los complejos de inclusión encontrada por este método coincide con la determinada por resonancia magnética nuclear, en los casos en que ésta se pudo realizar.

## 2. Abstract

The complexation process between some anthelmintic drugs (gentian violet, albendazole, mebendazole, thiabendazole, praziquantel, pyrantel pamoate, and pyrvinium pamoate) and four different cyclodextrins ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -, and HP- $\beta$ - CDs) has been investigated under different reaction conditions, varying pH, solvent, and temperature, in order to determine the influence of these factors on the equilibrium and then, to get an idea about the intermolecular interactions which drive this phenomena.

Electronic absorption spectroscopy (direct spectroscopy and Higuchi and Connors methods) was used to determine the association constant and other thermodynamic parameters ( $\Delta S$  and  $\Delta H$ ).  $^1\text{H}$  NMR (NOE and NOESY) spectroscopy and molecular mechanics were employed to get the most probable structure of the inclusion complexes,

It was possible to determine the next parameters:

- 150 binding constants in five reaction media, at 298 K, by using the direct spectroscopy method
- 24 binding constants in aqueous solution, pH 7.5, at 298 K, by using the solubility method
- 35 solubility coefficients in the five used solvents, at 298 K
- 215 binding constants in aqueous solution, pH 7.5, and DMSO, at 294, 302, 306, and 310 K
- 10  $pK_a$  values
- 3 binding constants in aqueous solution, at pH 1.8

Also, molecular mechanics studies were accomplished for the eight guest molecules, and NMR spectra were obtained for gentian violet, mebendazole, and thiabendazole with the  $\alpha$ -,  $\beta$ -  $\gamma$ - CDs.

It was concluded that the guest inclusion orientation is probably determined by their specific interactions with the solvent, the less solvated section of the molecule will be the part included within the cyclodextrin cavity.

It has also been observed that the cyclodextrin size influences the selectivity of the complexation reaction, however it is not the most important factor for the complex stability. On the other hand, the solvent effect or solvophobic effect play a primordial role in the stabilization energy of the above mentioned species, since in our systems the inclusion phenomenon is usually mostly entropically driven with a minor or major enthalpic contribution. In some systems, van der Waals forces are the most important binding factor for the complexation. Factors such as the release of solvent molecules from the cyclodextrin cavity and the solvent restructuration by changes in the guest solvation also contribute to the stability of these compounds, as well as the release of the ring strain and the guest mobility restriction.

When effect of the charge was studied, it was observed that the presence of charged groups in the molecule decrease the system stability. The gentian violet  $pK_a$  values were determined as they have not been reported previously.

The corresponding studies of molecular mechanics have been made for all the studied guests and it has been corroborated that the found complex geometry by this method is in agreement with that determined by nuclear magnetic resonance, for the cases where NMR experiments were carried out.

### 3. Introducción

La química en los sistemas biológicos se basa principalmente en asociaciones moleculares mediante interacciones no covalentes; caben mencionar sistemas tales como antígeno/anticuerpo, enzima/sustrato y fármaco/receptor.

La comprensión de los procesos de asociación molecular es muy importante por si misma, pero además puede ser de gran utilidad en otras áreas debido a su gran selectividad y eficiencia. Procesos de separación, catálisis y tecnología farmacéutica son algunos ejemplos de las posibles áreas de aplicación.

El funcionamiento y la selectividad de estos sistemas se deben fundamentalmente a procesos de reconocimiento molecular y estos a su vez son el resultado de los diferentes tipos de interacciones intermoleculares, las cuales están determinadas por la estructura y características electrónicas de las moléculas involucradas en dichos procesos.

Debido a la complejidad de muchos procesos biológicos, se ha recurrido al estudio de estos sistemas mediante modelos moleculares más sencillos. De este modo, se puede lograr un mejor conocimiento de su química.

La química supramolecular es un área interdisciplinaria, relativamente nueva, que ha sido definida por Jean-Marie Lehn como la *química más allá de la molécula*, es decir, el área que estudia sistemas moleculares complejos que resultan de la asociación entre dos o más moléculas unidas mediante interacciones no covalentes. En los últimos veinte años, el avance de esta área ha sido muy grande debido al desarrollo de sistemas supramoleculares más o menos simples. Esto ha traído como consecuencia un mejor entendimiento de las asociaciones moleculares y una amplia variedad de aplicaciones<sup>(1)</sup>.

Entre las moléculas que han recibido mayor atención dentro de la química supramolecular se encuentran las ciclodextrinas. Estas son oligosacáridos naturales cíclicos constituidos por 6, 7 u 8 unidades de glucosa, las más abundantes, unidas entre ellas por enlaces  $\alpha$  1 $\rightarrow$ 4 glucosídicos. Sus principales características son su estructura y su carácter anfífilico, tienen forma toroidal, su cavidad tiene carácter



hidrofóbico y los bordes exteriores son hidrofílicos, lo que las hace adecuadas para actuar como especies anfitrionas en reacciones de complejación. La formación de estos complejos provoca algunos cambios en las propiedades fisicoquímicas de los huéspedes, algunos ejemplos son: la estabilización de sustancias sensibles a la luz o al oxígeno, mejora de las características de solubilidad y la optimización del proceso de disolución. Estas propiedades han hecho que las cicloamilosas sean utilizadas en diversos campos tales como farmacia, química analítica y biotecnología. Pero a pesar de los muchos trabajos realizados al respecto de estas entidades, no se han sistematizado y logrado entender completamente las interacciones intermoleculares involucradas en la formación de estos aductos<sup>(2a, 2b, 2c)</sup>.

Por otro lado, la hidatidosis y la cisticercosis son un grave problema de salud pública en muchos países<sup>(3)</sup>. Para paliar estas enfermedades, se ha estudiado un amplio grupo de fármacos denominados genéricamente como antihelmínticos, pero se ha observado que la mayoría de los que presentan actividad *in vitro* tienen una eficiencia muy baja *in vivo*, lo cual se debe principalmente a su baja solubilidad en el fluido intestinal. Para mejorar este comportamiento, las cicloamilosas suponen una buena solución, ya que pueden dar lugar a reacciones de complejación, formando así complejos solubles en medios acuosos.

De igual forma, los sistemas ciclodextrina-antihelmíntico son un buen ejemplo de sistemas supramoleculares. A partir de la reacción de complejación podemos estudiar como influyen algunos factores en el equilibrio químico y deducir cuales son las interacciones que gobiernan esta reacción y estabilizan los complejos formados.

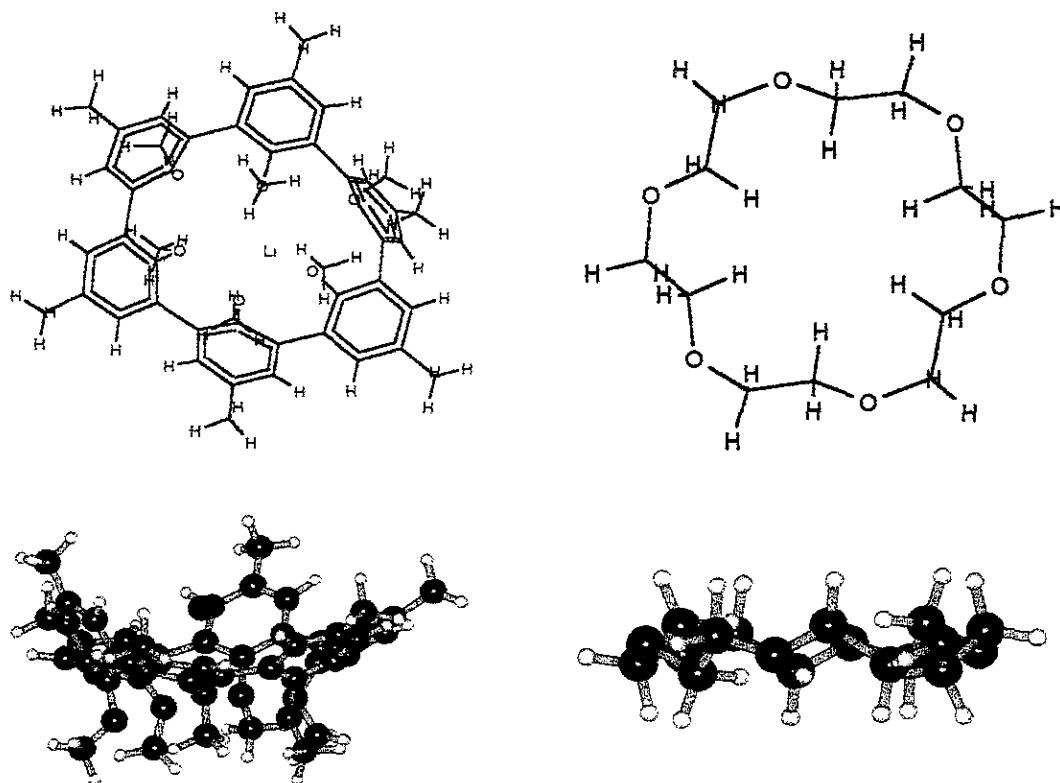
## 4. Antecedentes

### 4.1. Química supramolecular.

Durante mucho tiempo los químicos estudiaron la llamada química molecular o clásica, la química del enlace covalente. Ésta estudia las reglas que gobiernan las estructuras, propiedades y transformación de especies moleculares y la reacción química consiste en una ruptura y reorganización de estos enlaces covalentes.

En 1894, Emil Fischer estudiando la especificidad de la reacción de una enzima con un sustrato, llega a la conclusión de que para reconocerse y reaccionar ambas especies deben acoplarse como sucede con una llave y una cerradura. Así se establecían las bases de una nueva química, la de las interacciones no covalentes entre dos o más especies químicas, la llamada química supramolecular. Su objetivo es el estudio de las interacciones entre dos o más moléculas en la que una actúa como anfitrión (receptor) y otra como huésped (sustrato). Esta rama de la química es relativamente nueva e interdisciplinaria e intenta explicar muchos procesos químicos basados en las interacciones intermoleculares, incluso aquéllos que ocurren en los sistemas biológicos.

El término supermolécula aparece por primera vez a mitad de los años treinta para describir entidades muy organizadas que resultaban de la interacción de especies con su esfera de coordinación saturada<sup>(4)</sup>, pero no es hasta treinta años después que este término es usado en el sentido actual de la palabra. J. M. Lehn<sup>(5-7)</sup> definió la química supramolecular como la química más allá de la molécula, aquella que estudia entidades organizadas de alta complejidad que resultan de la interacción de dos o más especies químicas unidas por fuerzas intermoleculares. Las partes de una especie supramolecular se llamaron receptor y sustrato, siendo este último el más pequeño<sup>(6, 8)</sup>. Muchos estudios se llevaron a cabo en los años sesenta con el fin de sintetizar macrociclos específicos; destacan los trabajos llevados a cabo por J. Pedersen<sup>(9)</sup>, J.M. Lehn<sup>(10)</sup>, D. J. Cram<sup>(11)</sup> y R. D. Hancock<sup>(12, 13)</sup>. La Figura 1 muestra algunos ejemplos de los mencionados macrociclos.



Esferando

Eter corona

Figura 1: Estructuras de sistemas macrocíclicos típicos de la química supramolecular.

Las investigaciones alrededor de los sistemas supramoleculares se han ido complicando cada vez más, se han sintetizado macrociclos cada vez más complejos que tienen muchos lugares de unión. Entre otros, ciclofanos, calixarenos y tetrafenolatos forman un amplio campo de investigación en esta área de la química. Bastantes estudios sobre la estabilidad, selectividad e interacciones involucradas en este tipo de asociaciones han sido informados en los últimos veinte años<sup>(14-18)</sup>. En todos los casos comentados hasta ahora, los receptores en la formación de complejos presentan una cavidad en cuyo interior puede ser hospedado el sustrato o huésped, son los llamados endoreceptores y constituyen una amplia familia, pero también la química supramolecular cubre los llamados exoreceptores, moléculas que van a asociarse al sustrato superficie a superficie<sup>(5, 19, 20)</sup>.

Pero además de estos macrociclos sintéticos, existen también compuestos naturales capaces de formar complejos moleculares, entre ellos se encuentran las ciclodextrinas que son la base de la investigación llevada a cabo en este trabajo.

## 4.2 Ciclodextrinas

Las ciclodextrinas fueron descubiertas en 1891 por Villiers, quien las aisló como producto de degradación parcial del almidón, a partir de un cultivo de *Bacillus amilobacter*, llamó a estas sustancias celulosina y descubrió que por lo menos había dos clases diferentes. Posteriormente en 1903, Schardinger publicaba datos similares para la  $\beta$ -CD, que coincidían con los informados por Villiers, con los cuales se confirmaban como oligosacáridos cíclicos. Entre 1903 y 1911, Schardinger consiguió aislar al *Bacillus macerans*, que entre otros, produce las enzimas generadoras de las ciclodextrinas, las cicloglicosiltransferasas (CGTasa). Hasta la mitad de los años treinta, se informaron varios trabajos sobre estas dextrinas cíclicas, especialmente acerca de la llamada  $\alpha$ -dextrina de Schardinger, relativos a su tamaño, estabilidad, clasificación y algunos otros aspectos.<sup>(21, 22, 23)</sup>

Desde la mitad de los años treinta y hasta los setenta, se estableció la estructura de las CDs, se estudiaron las posibilidades de formación de complejos de inclusión, se prepararon derivados y se han usado como modelos enzimáticos. En 1938, K. Freudenberg publicó que las ciclodextrinas están constituidas por moléculas de glucosa unidas entre si por enlaces a 1 $\rightarrow$ 4 glucosídicos. Entre 1948 y 1950, K. Freudenberg y F. Cramer<sup>(24, 25)</sup> determinaron los pesos moleculares de las tres ciclodextrinas más comunes,  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ - ciclodextrinas, las cuales están constituidas por 6, 7 y 8 unidades de glucosa, respectivamente. Posteriormente, D. French *et al* realizaron los estudios pertinentes para obtener los tamaños de las CDs<sup>(26)</sup>. También, en los primeros años de esta etapa se continuó estudiando propiedades de reactividad química de estas especies, tales como oxidación e hidrólisis.<sup>(27-29)</sup>

Antes de los años cuarenta cuando se hablaba de complejos de inclusión se referían al estado sólido. En 1942, D. French comienza el estudio de interacciones en disolución acuosa empleando la  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -CDs<sup>(30)</sup>. Posteriormente, en 1948, Freudenberg ratifica que estas moléculas cíclicas pueden formar complejos de inclusión. La posibilidad de las cicloamilosas de formar dichos complejos llevó, en la década de los años cincuenta, a un estudio sistemático sobre la formación de los mismos<sup>(31-34)</sup>. D. Cram, durante la década de los 50, encontró que las cicloamilosas por si mismas manifiestan actividad catalítica en algunas reacciones de hidrólisis y

decarboxilación, entre otras. El comportamiento de las CDs como bases de Lewis fue probado, así como su efecto en reacciones ácido-base y redox<sup>(35, 36)</sup>. Se determinó su forma toroidal a partir de estudios de difracción de rayos X<sup>(37)</sup>, y se comenzó su estudio como modelo de sistemas más complicados<sup>(38)</sup>. Así, en los años 60 ya se conocía que las ciclodextrinas tienen una cavidad hidrofóbica con los bordes exteriores hidrofílicos y que sus estructuras son las mostradas en la Figura 2

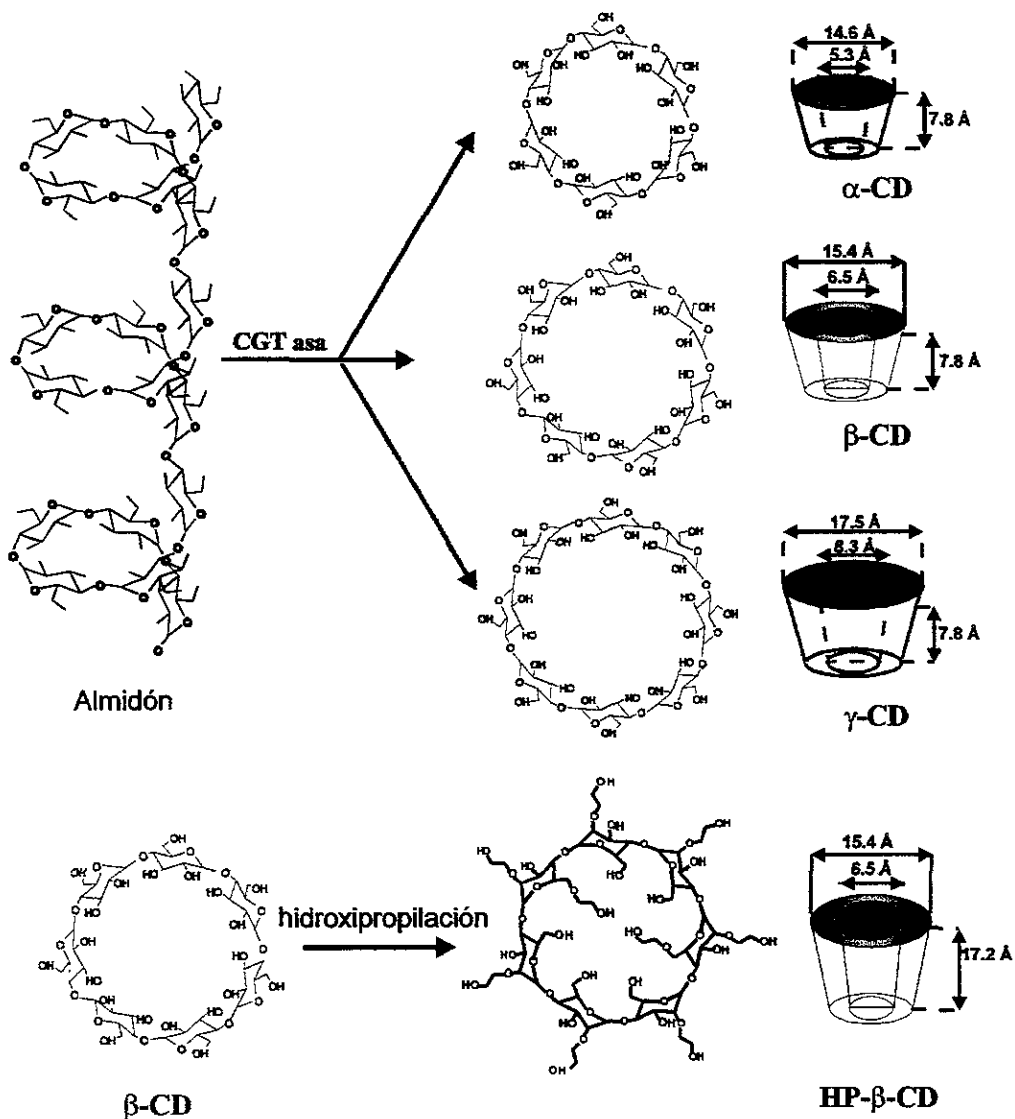


Figura 2: Origen, estructura y dimensiones de las cuatro ciclodextrinas estudiadas en este trabajo.

En general, la mayor parte de los estudios de complejos de inclusión realizados hasta la segunda mitad de los años 50 se basaron principalmente en imitar la función de las enzimas como catalizadores específicos para ciertas reacciones<sup>(39)</sup>, pero la importancia de los efectos estéricos no había sido considerada; en los años 60 se comienzan a tomar en consideración y a partir de aquí se convierte en un factor fundamental en todos los complejos de inclusión estudiados<sup>(40)</sup>. También en los años 60 se descubre la existencia en mucha menor cantidad de otras ciclodextrinas derivadas de la degradación parcial del almidón, las constituidas por 9, 10, 11, 12 y 13 unidades de glucosa, llamadas  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$ ,  $\eta$  y  $\theta$ <sup>(41, 42)</sup> y comienza el interés por saber qué factores están involucrados en la formación de los complejos, su estabilidad y estequiometría<sup>(43-45)</sup>.

Una importante aportación al conocimiento sobre la estructura de las cicloamilosas es la observación por RMN de la formación de puentes de hidrógeno intramoleculares<sup>(46)</sup> que estabilizan las estructuras de estas dextrinas cíclicas. Por otra parte, las CDs se siguen usando como modelos enzimáticos o como catalizadores<sup>(47-53)</sup> y consecuentemente se comienzan a sintetizar ciclodextrinas químicamente modificadas que puedan simular mejor los centros activos de las enzimas<sup>(54, 55)</sup>.

En 1976 Tabushi<sup>(56)</sup> logró obtener la primera CD tipo "capped" (con tapa), a partir de aquí, un buen número de ciclodextrinas modificadas han sido sintetizadas y usadas con distintas finalidades, tales como modelos enzimáticos, aumento de la superficie hidrofóbica de la cavidad o simplemente variar ciertas características no propicias para algún estudio en particular<sup>(57-68)</sup>.

Posteriormente a esta etapa, se realizaron estudios *in vivo* de la toxicidad de las CDs y comenzó un gran desarrollo en el campo de las ciclodextrinas, el número de publicaciones aumentó desde 50 antes de 1975 a 100 en 1979 y alrededor de 400 en 1987. El uso de ciclodextrinas en sistemas vivos constituye uno de los campos de aplicación más extenso de estos carbohidratos<sup>(69, 70)</sup>; paralelamente se despertó un gran interés acerca de la interacción de las ciclodextrinas con componentes celulares<sup>(71)</sup>.

Aprovechando la capacidad de las cicloamilosas para formar complejos de inclusión, fueron surgiendo paulatinamente otros campos de aplicación como son la biotecnología<sup>(72)</sup>, ciencia de los alimentos<sup>(73)</sup>, química analítica<sup>(74-76)</sup> y farmacia<sup>(77-81)</sup>.

Un importante tema de estudio concerniente con las propiedades de las ciclodextrinas ha sido el de la polaridad de su cavidad. En 1982, S. Hamai<sup>(82)</sup> estudió la complejación con ciclodextrinas del 2 metoxinaftaleno y del 1,2 dicianobenceno y concluyó que la constante dieléctrica de la cavidad es 2.21, como la del 2, 4-dioxano. Posteriormente se comparó con la del etanol, 24.3, cuando el huésped es el 1 alfa-naftil 3 dimetilamino propano<sup>(83, 84)</sup>. Más adelante, se dijo que el pireno mantenía dentro de la cavidad de las CDs una polaridad similar a la del octanol<sup>(85)</sup> e incluso se determinaron valores de 55 para la  $\gamma$ -CD y 48 para la  $\beta$ -CD<sup>(86)</sup>. En 1988, S. Hamai<sup>(87)</sup> publicó nuevos valores para la constante dieléctrica de las CDs; la permitividad eléctrica de su cavidad es parecida a la del acetato de etilo (6.02) en algunos complejos y en otros como ya S. Hamai había comentado se parece a la del 2, 4-dioxano. Probablemente, estos valores de constantes dieléctricas dependen de la diferente extensión de la parte protegida del huésped. Otros estudios del mismo autor<sup>(88)</sup> muestran que la constante dieléctrica de la cavidad de las ciclodextrinas que sienten el 1 cianonaftaleno-anisol es 20.1, semejante a la del 1-propanol. Una gran variedad de valores, entre 2.2 y 55, han sido publicados, así que, el valor de la constante dieléctrica depende del grado de penetración de la molécula huésped y de su posición dentro de la cavidad<sup>(84, 89)</sup>. Aún actualmente, se siguen publicando nuevos valores; según S. Nigam<sup>(90)</sup> la constante dieléctrica de la cavidad de las CDs se asemeja a la de una mezcla metanol agua 80:20.

En la actualidad se conocen muchas propiedades de las ciclodextrinas, las cuales son importantes en el proceso de complejación. En la Tabla I se resumen algunas de ellas.

	$\alpha$ -CD	$\beta$ -CD	$\gamma$ -CD	HP- $\beta$ -CD
<b>Peso Molecular</b> (g/mol)	973	1135	1297	1531
<b>Número de</b> <b>glucosas</b>	6	7	8	7
<b>Volumen interior</b> ( $\text{Å}^3$ )	174	262	427	
<b>Solubilidad en</b> <b>agua g/100mL</b>	14.5	1.85	23.2	>50
<b>Solubilidad en</b> <b>DMSO g/100mL</b>	27	35		
<b>Moléculas de agua</b> <b>incluidas</b>	6	11	17	$\cong 11$
<b>Momento dipolar</b> (D)	2.233	2.311	3.544	4.304
<b>pK<sub>a</sub></b>	12.3	12.2	12.1	$\cong 12.2$

Tabla I: Algunas propiedades<sup>(2b, 83 91-94)</sup> de las cuatro ciclodextrinas utilizadas en este trabajo.

En los últimos quince años las ciclodextrinas han seguido siendo motivo de estudio, debido a sus aplicaciones en muchos campos de la química y a su capacidad para formar sistemas supramoleculares y por lo tanto, facilitar el estudio de procesos más complicados mediante sistemas más sencillos. Por ejemplo, el estudio de la naturaleza de las fuerzas responsables de la formación de los complejos de inclusión.



### 4.3. Antihelmínticos

Por mucho tiempo este término fue usado para definir solamente los fármacos que tenían acción contra los parásitos que se encuentran en el tracto gastrointestinal. Sin embargo, existen muchos tipos de gusanos que penetran a otros órganos o tejidos dando lugar a enfermedades parasitarias de difícil curación. Actualmente se entiende por antihelmíntico, todo aquel principio activo que es efectivo contra cualquier infestación provocada por helmintos (gusanos). En los casos en que la infestación no tenga lugar a nivel gastrointestinal, es necesario que el fármaco alcance el sistema circulatorio y llegue al lugar de acción (cerebro, pulmón, hígado y otros órganos). En muchos casos, el paso limitante para la absorción es la solubilidad y/o la velocidad de disolución del antihelmíntico. Muchos de estos principios activos presentan actividad *in vitro*, pero *in vivo* son necesarias dosis muy grandes y largos tiempos de administración para conseguir el efecto deseado e incluso pueden no ser efectivos. Entre los antihelmínticos existe un amplio grupo que manifiestan baja solubilidad en medios acuosos, tales como el fluido intestinal o el plasma sanguíneo. Se pueden destacar: albendazol, mebendazol, pamoato de pirantel, pamoato de pirvinium, praziquantel y tiabendazol<sup>(95)</sup>. Debido al problema de baja biodisponibilidad, el pamoato de pirantel, pamoato de pirvinium y tiabendazol son usados para atacar infestaciones gastrointestinales, pero su administración conduce a efectos secundarios indeseables como es la irritación gástrica, por lo que es necesaria la búsqueda de nuevas formulaciones que prevengan estos efectos adversos. Los otros tres antihelmínticos, albendazol, mebendazol y praziquantel, representan una solución para un problema relevante en el área de salud; son medicamentos de elección en enfermedades ampliamente difundidas a nivel mundial, la hidatidosis y la cisticercosis<sup>(96-98)</sup>, pero su baja solubilidad y baja absorción<sup>(99, 100)</sup> hace que el tratamiento más efectivo contra ellas sea la cirugía y ésta no siempre proporciona el efecto deseado. La necesidad de una formulación apropiada contra estas helmintiasis es necesaria, no sólo por cuanto significa desde el punto de vista de salud humana, sino también por el problema económico que representa a nivel animal<sup>(96)</sup>.

Se han hecho algunos intentos para resolver el problema que representa la baja absorción de los antihelmínticos. Cabe destacar el caso del mebendazol donde se han

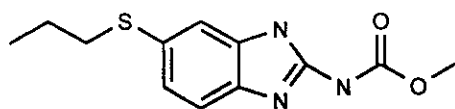
estudiado las siguientes alternativas, incorporación del principio activo en dispersiones sólidas, su administración junto con cimetidina y la disminución en el tamaño de partícula<sup>(100-102)</sup>. Aunque se ha mejorado su absorción a nivel gastrointestinal, los resultados distan de ser la solución definitiva al problema. También se ha hecho un estudio con mebendazol y  $\beta$  ciclodextrina, en donde se evalúa la velocidad de disolución de una formulación sólida preparada por distintas técnicas<sup>(103, 104)</sup>. Debido a la escasa información que ofrecen estas publicaciones no se puede determinar si las cicloamilosas son una verdadera respuesta a los problemas de solubilidad y velocidad de disolución en medios acuosos de este fármaco. Con el resto de los antihelmínticos estudiados en esta tesis, poco se ha informado con el fin de mejorar sus propiedades de solubilidad usando ciclodextrinas<sup>(105a, 105b)</sup>. Por esta razón, la complejación de estos fármacos con cicloamilosas puede ser una buena alternativa para mejorar su biodisponibilidad.

Por otro lado, no se han llevado a cabo estudios de interacciones intermoleculares con el resto de los antihelmínticos anteriormente mencionados y las ciclodextrinas. Sin embargo, han sido publicados algunos trabajos sobre la complejación entre el violeta de genciana, otro antihelmíntico gastrointestinal, y algunas ciclodextrinas. Se ha informado la formación de los complejos  $[CV_2 \subset \gamma\text{-CD}]^{2+}$  en disolución acuosa, así como la débil complejación con  $\alpha$ - y  $\beta$ -CD en este mismo medio<sup>(32, 106a, 106b)</sup>. También se ha estudiado la cinética y mecanismo de inclusión del violeta de genciana con la  $\gamma$ -CD mediante el método de *salto de temperatura*<sup>(107a, 107b)</sup>. Pero a pesar de esto, el estudio de la influencia de la temperatura sobre el equilibrio y la determinación de interacciones intermoleculares responsables de la complejación entre el cristal violeta y las ciclodextrinas, en diferentes medios, no han sido realizados.

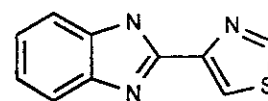
A continuación se muestran algunas propiedades fisicoquímicas de los huéspedes utilizados en este trabajo, obtenidas a partir de la bibliografía<sup>(107c, 107d, 107e)</sup>:

	Alb	Meb	PamPit	PamPiv	Prazi	Tiab	CV <sup>+</sup>
log P	3.54	3.14			3.43	2.31	
P.F.(°C)	208	288.5		215	136	304	
pK <sub>a</sub>	9.8, 2.8	10.2, 3.5	11			4.7	
Solub. agua	Insoluble	Insoluble	Insoluble	Insoluble	0.04g/100ml	Insoluble	10 <sup>-3</sup> M

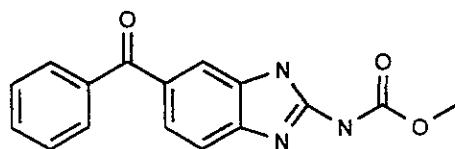
En la Figura 3 se muestran las fórmulas estructurales de los antihelmínticos seleccionados como huéspedes para estudiar el proceso de complejación con las cuatro ciclodextrinas mencionadas anteriormente.



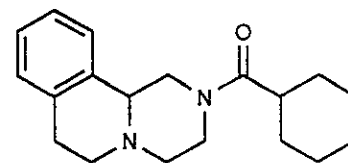
Albendazol



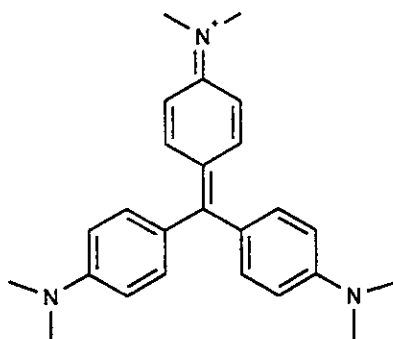
Tiabendazol



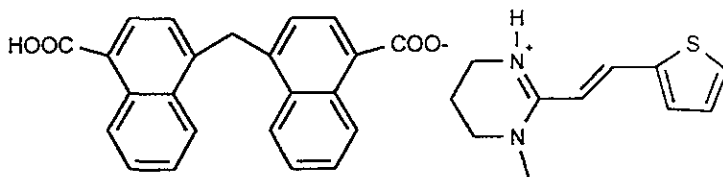
Mebendazol



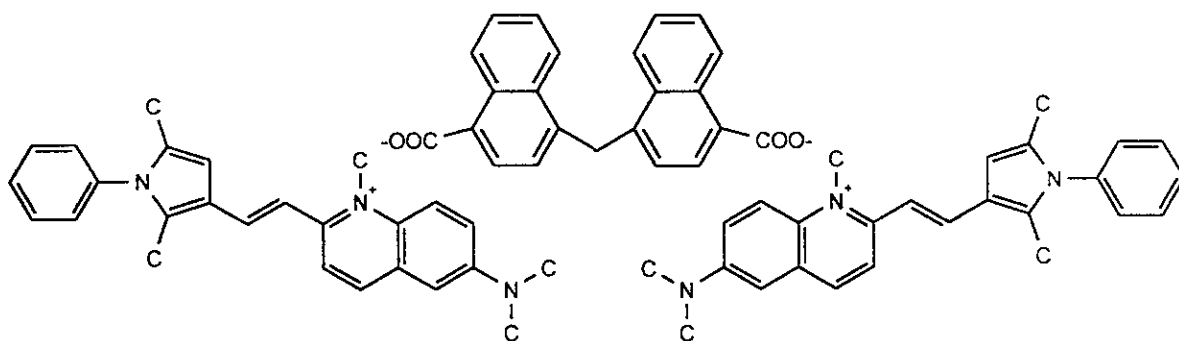
Praziquantel



Violeta de genciana



Pamoato de pirantel



Pamoato de pivinium

Figura 3: Fórmulas estructurales de los antihelmínticos utilizados como huéspedes.

#### 4.4. Fuerzas intermoleculares

Al intentar entender las propiedades de una sustancia determinada, se tiene que tomar en cuenta su estructura y que está constituida por un gran número de moléculas. Algunas de sus propiedades macroscópicas están determinadas por las interacciones que ocurren entre estas moléculas y no únicamente por las propiedades inherentes a una molécula aislada; por eso el estudio de las fuerzas intermoleculares es de gran interés. El origen de las fuerzas intermoleculares es esencialmente electrostático, pero no es hasta el inicio de la mecánica cuántica y el conocimiento de la estructura atómica que se elaboran los modelos pertinentes<sup>(108)</sup>.

Así, una vez que se conoce la distribución de la densidad electrónica alrededor de un átomo por la ecuación de Schödinger, se puede calcular la magnitud de estas interacciones en términos de la electrostática clásica<sup>(108)</sup>. Pero no es posible obtener soluciones exactas a la ecuación de Schödinger para sistemas de más de tres cuerpos y por lo tanto el estudio de este tipo de interacciones no resulta sencillo, por lo que se ha recurrido a varias aproximaciones y han dado origen a diversas clasificaciones dependiendo de las especies interactuantes y de la distancia a la que actúan dichas fuerzas. Algunas de estas clasificaciones son; fuertes y débiles, de corto, largo y medio alcance, fuerzas de Keeson, Debye, London y van der Waals<sup>(109, 110)</sup>. Pero además de todas las interacciones aquí mencionadas, se invoca frecuentemente al llamado efecto hidrofóbico<sup>(111, 112)</sup> para explicar el comportamiento de muchos sistemas en disolución. La baja solubilidad de moléculas no polares en agua y su energía libre de solubilización gobernada principalmente por el componente entrópico, son los factores principales relacionados con el efecto hidrofóbico.

La Tabla II ofrece una clasificación de las fuerzas intermoleculares en el vacío, así como la dependencia de su intensidad con la distancia y el nombre con que se conocen comúnmente<sup>(113, 114a)</sup>. Sin embargo, estas expresiones pueden ser también empleadas para explicar interacciones entre especies en disolución, aunque hay que considerar que la intensidad de estas fuerzas será bastante diferente<sup>(114b)</sup>.

En esta tabla,  $Q$  es la carga puntual de los iones,  $\epsilon_0$  es la permitividad eléctrica en el vacío,  $r$  es la distancia entre las especies interactuantes,  $\mu$  es el momento dipolar eléctrico,  $k$  es la constante de Boltzmann,  $T$  es la temperatura en K,  $\alpha_0$  es la polarizabilidad,  $h$  es la constante de Planck y  $c$  es la velocidad de la luz en el vacío.

Generalmente, en los estudios experimentales de interacciones intermoleculares se ha llegado a una clasificación más práctica de estas fuerzas. Se habla de **interacciones electrostáticas** cuando las especies interactuantes son iones o especies que tienen **un momento dipolar permanente**, mientras que se habla de **fuerzas de van der Waals** cuando la interacción es debida a **dipolos inducidos**, bien totales o parciales y son todas aquéllas **cuya dependencia de la distancia es del orden de  $1/r^6$  o menor (ver Tabla II)**. Cabe destacar que las fuerzas de van der Waals pueden ser aditivas y por lo tanto la contribución de muchas interacciones de este tipo pueden llegar a superar a interacciones en principio mucho más intensas, como la de un ion con un dipolo. Pero en algunas moléculas pueden darse otro tipo de interacciones: puentes de hidrógeno y transferencia de carga, ambas son específicas y anisótropas (dependen de la orientación), producen una atracción del orden de 50 kJ/mol y corresponde a la transferencia parcial de una partícula elemental (un protón o un electrón), ambos tipos de interacciones pueden considerarse entre las interacciones intermoleculares y los enlaces químicos formales.

También, es importante resaltar que buena parte de los trabajos realizados al respecto de interacciones intermoleculares han considerado a las especies interactuantes como esferas o puntos<sup>(115)</sup>, sin embargo se ha observado que esta aproximación puede conducir a graves errores de interpretación. Por ello es necesario considerar la estructura y las diversas orientaciones de las especies reaccionantes, así como las propiedades eléctricas del disolvente.

Tabla II: Tipos comunes de Interacciones entre átomos, iones y moléculas en el vacío<sup>(1)(6a, 1)(6b)</sup>

Tipo de interacción	Descripción gráfica	W(r)	Atribuida a	n en (W x r <sup>n</sup> )
ion/ion		$\frac{Q_1 Q_2}{4\pi\epsilon_0 r}$	Coulomb	1
ion/dipolo permanente fijo		$\frac{Q\mu \cos\theta}{4\pi\epsilon_0 r^2}$	Coulomb	2
ion/dipolo permanente rotatorio		$\frac{Q^2 \mu^2}{6(4\pi\epsilon_0)^2 K T r^4}$	Coulomb	4
dipolo permanente fijo/dipolo permanente fijo		$\frac{\mu_1 \mu_2 (2 \cos\theta_1 \cos\theta_2 - \text{sen}\theta_1 \text{sen}\theta_2 \cos\phi)}{4\pi\epsilon_0 r^3}$	Coulomb	3
dipolo permanente rotatorio/dipolo permanente rotatorio		$\frac{\mu_1^2 \mu_2^2}{3(4\pi\epsilon_0)^2 K T r^6}$	Keelson	6
ion/dipolo inducido		$\frac{Q^2 \alpha_0}{(4\pi\epsilon_0)^2 r^4}$		4
dipolo permanente fijo/dipolo inducido		$\frac{\mu^2 \alpha_0 (1 + 3 \cos^2 \theta)}{2(4\pi\epsilon_0)^2 r^6}$		6
dipolo permanente rotatorio/dipolo inducido		$-\frac{\mu^2 \alpha_0}{(4\pi\epsilon_0)^2 r^6}$	Debye	6
dipolo inducido/dipolo inducido		$\frac{3h\nu\alpha_0^2}{4(4\pi\epsilon_0)^2 r^6}$	London	6
dipolo inducido/dipolo inducido (retardado)		$-\frac{23}{8\pi^2} hc \frac{\alpha_0}{(4\pi\epsilon_0)^2 r^7}$	Casimir y Polder	7
punto de hidrógeno		Proporcional a $\frac{1}{r^2}$		≅2

Durante mucho tiempo se consideró que el disolvente era algo inerte que no intervenía en las reacciones químicas. Onsager, en 1936, investigó por primera vez el papel del medio en la reactividad química<sup>(117)</sup> considerando al disolvente como un sistema homogéneo, continuo y cuya permitividad eléctrica era constante. A partir de este momento se han llevado a cabo muchos estudios al respecto de la influencia del disolvente en la reactividad química, encontrándose que la estructura del disolvente y las interacciones específicas juegan un papel relevante en la reactividad<sup>(118a, 118b, 118c)</sup>.

W.P. Jencks<sup>(139)</sup> explicó la reactividad química en disolución en función de parámetros termodinámicos tales como  $\Delta G$ ,  $\Delta S$  y  $\Delta H$ . El proceso se explica de la siguiente forma: cuando una molécula de soluto se disuelve en el disolvente, se forma una cavidad en éste para albergar al soluto. Para ello se requiere la separación de moléculas de disolvente que están unidas o interaccionando entre sí y este paso es energéticamente desfavorable. Después, el soluto pasa a la cavidad donde interactúa con moléculas del medio de reacción, si el soluto no puede interaccionar muy favorablemente con éste, la energía libre de interacción del soluto con el disolvente será demasiado pequeña para compensar la energía desfavorable de formación de la cavidad. Así, para compensar las interacciones "rotas" al formar la cavidad, las moléculas de disolvente tenderán a colocarse de tal manera alrededor del soluto que formen el mayor número posible de interacciones entre ellas, lo cual lleva a una disminución en la entropía y la entalpía de la disolución. Pero cuando dos solutos no polares se asocian en un disolvente como el agua, estos pasos son inversos y el aumento de entropía es la mayor fuerza conductora para la interacción de moléculas no polares en agua<sup>(111, 112)</sup>.

Tradicionalmente las fuerzas intermoleculares se han estudiado mediante mecánica cuántica, y sistemas experimentales restringidos a sólidos o sistemas heterogéneos como los coloides. Más recientemente se ha comenzado a estudiar la estructura de los líquidos, las interacciones entre sustancias químicas y membranas y las interacciones huésped-anfitrión. Cabe destacar entre estos estudios, los realizados en biología molecular, donde se estudian las interacciones entre proteínas

y sustratos, antígeno y anticuerpo, fenómenos de transporte y reacciones enzimáticas entre otras. Para el estudio y entendimiento de todos estos fenómenos, así como para el diseño de receptores moleculares sintéticos es necesario un buen conocimiento de las fuerzas intermoleculares. Pero la química no está limitada a sistemas similares a los procesos biológicos, sino que es libre de crear nuevas especies e inventar procesos.

#### 4.5. Interacciones huésped-ciclodextrina.

Como ya hemos visto en la sección 4.2 acerca de las ciclodextrinas, existe hoy en día una gran cantidad de información acerca de estas moléculas, sus características, aplicaciones, modificaciones y estudio de diferentes complejos de inclusión. Sin embargo, hasta esta sección nada se ha comentado sobre el tema que en este trabajo se desarrolla: la obtención de parámetros termodinámicos ( $K_{int}$ ,  $\Delta H$  y  $\Delta S$ ) por técnicas espectroscópicas para obtener información sobre las interacciones involucradas en el proceso de complejación, así como el efecto de la carga y el disolvente para ayudarnos en ese mismo fin.

La gran importancia del estudio de las interacciones intermoleculares que rigen el proceso de complejación se debe a su similitud con las reacciones enzima-sustrato u otras de este estilo que tienen lugar en procesos biológicos; también un mejor conocimiento de las fuerzas intermoleculares ciclodextrina-huésped va a traer como consecuencia una mejora en el diseño de nuevos sistemas supramoleculares. Sin embargo, estas interacciones todavía están sujetas a controversia, por lo que se consideran las siguientes como posibles fuerzas conductoras y/o estabilizadoras en este tipo de reacciones, tomando como base la notación considerada por nosotros en la sección anterior:

- . interacciones de van der Waals<sup>(89, 119-121)</sup>
- . puentes de hidrógeno<sup>(39, 48)</sup>
- . expulsión del agua del interior de la cavidad<sup>(89, 122-125)</sup>
- . liberación de la tensión del anillo de la CD con la complejación<sup>(126-129)</sup>



- interacciones hidrofóbicas, efecto de solvatación<sup>(130-133)</sup>
- interacciones electrostáticas<sup>(134)</sup>

Aparte de estas interacciones, caben destacar los factores principales que gobiernan la complejación:

- tamaño de las ciclodextrinas
- tamaño del huésped
- efectos estéricos y electrónicos

Una gran variedad de estudios acerca de las fuerzas involucradas en la complejación han sido llevados a cabo, desde los puramente especulativos, hasta los que interpretan los parámetros termodinámicos ( $\Delta S$  y  $\Delta H$ ) como resultado de algún tipo de fuerza. También, hay trabajos en los que varían las propiedades del disolvente con la adición de sales o con el cambio del mismo, para elucidar su importancia en el fenómeno de la complejación.

En 1960, N.G. Parsonage y L.A.K. Staveley<sup>(135)</sup> comenzaron la cuantificación de los parámetros termodinámicos y su separación según la participación de algunos grupos funcionales en la energía de interacción. Posteriormente, en 1967, F. Cramer *et al*<sup>(136)</sup> estudiaron la complejación del nitrofenol y del anión nitrofenolato con las  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$ - CDs, obteniendo valores de  $\Delta H$  y  $\Delta S$  positivos, en este trabajo también se informa por primera vez sobre el efecto de sales en el medio de disolución, observando un aumento de 20 veces en la constante de estabilidad, lo que indica su acción en la estructura del agua y la importancia de las interacciones hidrofóbicas en la complejación. Por primera vez, se da importancia al cambio en la esfera de solvatación antes y después de la complejación.

También, O. Sinanoglu<sup>(137)</sup> argumenta que la energía requerida para la separación de las moléculas fuertemente interactuantes del disolvente para formar una cavidad es proporcional a la dimensión de la cavidad y la tensión superficial del disolvente, así, el  $\Delta G$  asociado con la formación del complejo entre dos moléculas en disolución es proporcional a los cambios de área superficial expuesta al disolvente. Así, al disminuir la superficie expuesta al medio, como el indol con  $\beta$ -CD; habrá un  $\Delta G$  más favorable en un disolvente con alta tensión superficial, como el

agua, que en un medio con baja tensión superficial como el etanol.

En general, no se siguió una pauta en la investigación de las interacciones intermoleculares, sino que diversos tipos de estudio fueron llevados a cabo simultáneamente.

#### **4.5.1. Relación parámetros termodinámicos-interacciones intermoleculares**

Se ha aceptado que los **parámetros termodinámicos** son muy útiles para conocer la naturaleza de las interacciones intermoleculares responsables de la complejación entre huésped y ciclodextrinas<sup>(138)</sup>. Caben destacar los importantes trabajos realizados por Jencks<sup>(139)</sup> y por W. Kauzmann<sup>(140)</sup>, que estudiaron las interacciones hidrofóbicas, concluyendo que éstas se caracterizan por un cambio entrópico favorable,  $\Delta S$  positivo, y un cambio entálpico desfavorable,  $\Delta H$  positivo o ligeramente negativo. Casi simultáneamente, se elaboró la teoría de Némethy-Scheraga<sup>(141)</sup>, relacionada con la estructura del agua y el efecto hidrofóbico y cuya principal aportación fue la correlación entre las interacciones hidrofóbicas y el cambio de la superficie lipofílica expuesta al medio durante la reacción.

Numerosos autores relacionaron valores de  $\Delta H$  desfavorables ( $\Delta H > 0$ ) o ligeramente favorables y valores de  $\Delta S$  positivos con una ruptura de la estructura del disolvente y se interpretaron como resultado de interacciones apolares de huéspedes no polares e indicativo de que la molécula huésped es albergada en el interior de la ciclodextrina y no solvatada por moléculas de agua<sup>(142-144)</sup>. Cabe destacar el trabajo de Bender y Komiyama<sup>(132)</sup> sobre el proceso de complejación del adamantano y la  $\alpha$ -CD, en el cual observan que hay un 70% de contribución entrópica frente a un 30% de contribución entálpica. Los valores de  $\Delta S$  favorables se atribuyen a la transferencia del huésped desde un medio de reacción polar a uno no polar, en este caso la cavidad de la CD, y en esta transferencia hay ruptura de moléculas de agua alrededor del huésped que resultan en un favorable  $\Delta S$  y un  $\Delta H$  ligeramente favorable.

Otros autores relacionaron valores de  $\Delta H$  muy favorables con las interacciones entre huésped y CD, o bien, con la formación de un mayor número de puentes de hidrógeno en el seno de la disolución, debido a las aguas expulsadas de la cavidad y al agua de solvatación de las especies interactuantes desplazada por la complejación al seno de la disolución. Un  $\Delta S$  desfavorable puede simplemente significar mayor orden después de la complejación que cuando están libres la especies interactuantes<sup>(138, 145)</sup>.

En muchos casos los parámetros termodinámicos obtenidos dictan que el proceso de complejación es conducido entálpicamente y por ello se deduce que las interacciones hidrofóbicas no son importantes en este tipo de reacciones, sino que son las fuerzas de van der Waals o las electrostáticas las interacciones mayoritarias<sup>(121, 146-152)</sup>. Los  $\Delta H$  y  $\Delta S$  negativos se interpretan como interacciones muy intensas entre huésped-ciclodextrina, con una fuerte restricción de la flexibilidad conformacional de la molécula anfitriona y pérdida de libertad en la rotación y traslación del huésped<sup>(153)</sup>. W.P. Jencks<sup>(139)</sup> interpreta estos parámetros termodinámicos de otra manera, ya que considera que  $\Delta H$  favorable y  $\Delta S$  desfavorable son indicativos de interacciones hidrofóbicas no clásicas en sistemas en los cuales las especies interactuantes manifiestan un carácter hidrofóbico<sup>(154-158)</sup>.

A las variaciones entálpicas y entrópicas de la complejación colaboran también la expulsión de agua de la cavidad (agua entálpicamente rica debido a que no forma parte de una red completa de puentes de hidrógeno) y la liberación de la tensión del anillo de las CDs (debido al anillo intramolecular de puentes de hidrógeno y a la presencia de una glucosa ortogonal)<sup>(159)</sup>. Estos parámetros,  $\Delta S$  y  $\Delta H$ , dependen del tamaño del huésped y de la cavidad de las cicloamilosas<sup>(160)</sup>. El proceso de salida de agua del interior de las CDs al seno de la disolución y la pérdida de agua de la capa de hidratación del huésped debido a su entrada en la cavidad ocurren simultáneamente y ambos procesos son endotérmicos. Sin embargo, la reconstrucción de la capa de hidratación del complejo y la formación de nuevos puentes de hidrógeno entre las moléculas de agua hacen que  $\Delta H$  sea negativa y  $\Delta S$  positiva debido a la reestructuración del disolvente y a la disminución de la movilidad

del huésped y del anfitrión<sup>(161-164)</sup>.

Simultáneamente, se publicó el trabajo de R. Lumry *et al*<sup>(165)</sup>, en el cual se correlaciona  $\Delta H$  frente a  $\Delta S$ , obteniendo una línea recta cuya pendiente fue llamada *temperatura isocrática o de compensación* ( $T_c$ ). Una  $T_c$  entre 250-320 K indica que la reacción es gobernada por fenómenos de solvatación<sup>(138, 166-168)</sup>, así que valores superiores indican que las reacciones se deben a interacciones específicas entre huésped y ciclodextrina<sup>(143, 169, 170)</sup>. La compensación puede deberse a la restricción del movimiento del huésped debido a la inclusión<sup>(171, 172)</sup> o bien a la compensación de la entalpía de solvatación ocasionada por la restricción del movimiento de las moléculas de disolvente<sup>(132, 173-175)</sup>. Se pensaba que esto sólo se manifiesta en medios de reacción sumamente ordenados como el agua<sup>(176)</sup>; sin embargo, se ha observado que también sucede en otros disolventes<sup>(177, 178)</sup>. A partir de la correlación  $\Delta H/\Delta S$  también se puede obtener información sobre la capacidad de ajuste del huésped en la cavidad del anfitrión<sup>(154, 179)</sup> o con la participación de moléculas de agua en la formación de complejos, implicando que el huésped pierde su esfera de solvatación al entrar a la cicloamilosa, mientras que las moléculas de agua de la cavidad son expulsadas<sup>(180)</sup>.

#### **4.5.2. Interacciones electrostáticas y complejación con CDs**

Para conocer el efecto de las interacciones electrostáticas en el fenómeno de inclusión, diversos autores llevaron a cabo estudios de **complejación con moléculas huéspedes y anfitriones aniónicos, catiónicos y neutros**<sup>(181-183)</sup>. En general se observa que el  $pK_a$  del huésped disminuye en presencia de las cicloamilosas, las especies cargadas son preferentemente solvatadas en medio acuoso mientras que las especies neutras predominan en disolución apolar o dentro de las ciclodextrinas. Así que las interacciones hidrofóbicas con las moléculas en su forma neutra estabilizan el complejo formado, mientras que las interacciones ion-ion pueden estabilizar la formación de complejos entre formas cargadas<sup>(145, 154, 184)</sup>. A veces se observa un comportamiento anómalo, como la inclusión de los iones amonio en la cavidad hidrofóbica de una  $\beta$ -CD sulfatada, esto se justifica como una

forma de favorecer al máximo la interacción de otros grupos del huésped con la ciclodextrina<sup>(185-187)</sup>. En esta línea de investigación destacan los trabajos llevados a cabo por Schneider *et al.*<sup>(188, 189)</sup> quienes cuantificaron que la energía con la que contribuye a la inclusión cada puente salino ion-ion es 1.3 kcal/mol. Además estudiaron la estabilización de complejos atribuida a las interacciones ion-electrones  $\pi$ <sup>(190)</sup>; también consiguieron conocer el valor de la energía con la que contribuye cada puente de hidrógeno en distintos medios de reacción; por ejemplo en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $\Delta G = -10$  kJ/mol, y en  $\text{CHCl}_3$ ,  $\Delta G = -5$  kJ/mol<sup>(191)</sup>.

#### 4.5.3. Influencia del disolvente en las reacciones de complejación

Durante mucho tiempo se ha considerado que el **disolvente** es una especie inerte, que no participa en las reacciones. Sin embargo, Siegel y Breslow en 1975<sup>(192)</sup> determinaron constantes de equilibrio para las reacciones de complejación entre  $\beta$ -CD y acetato de *m-tert*-butilfenil en DMF, DMSO y en mezclas agua/DMSO. De este trabajo y algunos otros al respecto<sup>(193-197)</sup> se concluye que el disolvente es importante en la complejación con ciclodextrinas y que, generalmente, en disolventes orgánicos las constantes de estabilidad tienden a ser menores<sup>(162, 198, 199)</sup>, probablemente debido a la estabilización de las moléculas huéspedes por su solvatación con el disolvente orgánico, o lo que es lo mismo, debido a una disminución del efecto hidrofóbico<sup>(200-204)</sup>. Sin embargo Patonay<sup>(205)</sup> determinó mayores valores de  $K_{\text{int}}$  del pireno con  $\beta$ - y  $\gamma$ -CD, en presencia del 10% de *t*-butanol que en agua pura, a igual que Breslow<sup>(55)</sup>, quien demostró que en una mezcla agua-DMSO, ciertos hidrocarburos son muy solubles y se unen más fuertemente a la  $\beta$ -CD que en la disolución acuosa al 100%. Un comportamiento semejante se observa en otros sistemas y se explica como una consecuencia de la mayor solvatación del huésped en agua que en diversos disolventes orgánicos<sup>(206-208)</sup>. En conclusión, para un conocimiento del efecto del medio de reacción, se necesita la evaluación de la solvatación y desolvatación en distintos disolventes, es decir, la proporción de huésped incluida está en relación inversa con la compatibilidad entre los huéspedes y el disolvente<sup>(207, 209, 210)</sup>.

Por otra parte, se observó que algunos disolventes orgánicos, alcoholes por ejemplo, se pueden incluir en las CDs<sup>(159, 211, 212)</sup> y en algunos casos pueden encontrarse complejos ternarios ciclodextrina-huésped-disolvente<sup>(213)</sup>. A pesar de que se conoce que el disolvente es un componente activo en las reacciones de complejación, se siguen publicando un gran número de trabajos sin tomarlo en consideración<sup>(169, 214)</sup>.

En 1984, Schneider y colaboradores<sup>(215)</sup> publicaron un trabajo basado en el papel del disolvente, en el cual se discute el hecho de que si las interacciones hidrofóbicas lipofílicas (refiriéndose a las fuerzas de van der Waals) son las predominantes, las constantes de interacción disminuyen al aumentar la cantidad de disolvente orgánico, mientras que si la interacción polar (electrostática) es la predominante, esas constantes aumentan en disolventes poco polares.

Por otra parte, algunas características de los disolventes pueden ser variadas al **adicionar distinto tipo y concentración de sales** y esto puede afectar a las reacciones de complejación que tienen lugar en esos medios<sup>(216)</sup>. Por ejemplo, al aumentar la fuerza iónica las interacciones electrostáticas se debilitan; si las interacciones ion-dipolo son dominantes en la reacción a estudiar, las constantes de interacción disminuyen al aumentar la fuerza iónica. Sin embargo, las interacciones hidrofóbicas aumentan al incrementar la fuerza iónica<sup>(182)</sup>. Si las sales producen efecto *salting-out*<sup>(40, 136, 217, 218)</sup> en las moléculas huéspedes aumentarán los valores de las constantes de unión. Pero si las sales adicionadas producen efecto *salting-in*, disminuye el efecto hidrofóbico, aumenta la solubilidad en agua del huésped y así disminuye la unión entre huésped y ciclodextrina<sup>(219-222)</sup>. Al cambiar las propiedades del medio de reacción, el equilibrio de complejación se ve afectado.

#### **4.5.4. Interacciones intermoleculares y procesos de transferencia**

Más recientemente se ha iniciado la investigación de las interacciones intermoleculares mediante el estudio de **procesos de transferencia** de la molécula huésped desde un medio de alta constante dieléctrica, como el agua, a uno de baja, como octanol, similar al interior de la ciclodextrina<sup>(223, 224)</sup>. A. Danil de Namor *et al.*<sup>(177, 225, 226)</sup>

desarrollaron esta teoría sobre la similitud entre el proceso de transferencia de agua a un disolvente orgánico con el fenómeno de complejación. Las diferencias de solvatación de un soluto entre dos disolventes vienen reflejadas por los parámetros termodinámicos de transferencia<sup>(227)</sup> y esos resultados se pueden interpretar en función de las diferentes fuerzas estabilizadoras del complejo de inclusión.

#### 4.5.5. LFER y fuerzas intermoleculares huésped-ciclodextrina

Otra fuente de información sobre fuerzas intermoleculares es la que representan las llamadas **Relaciones Lineales de Energía Libre (LFER)**, las cuales se basan en relacionar diferentes parámetros que puedan dar luz de las interacciones implicadas en la reacción estudiada.

Así, se ha demostrado una buena correlación lineal entre  $\log K_{int}$  y  $\log P$  del huésped, al aumentar la hidrofobicidad de la molécula huésped aumenta la constante de equilibrio, lo cual indica que las interacciones hidrofóbicas son muy importantes en las reacciones de complejación estudiadas en estos trabajos<sup>(211, 228-231)</sup>. De igual modo, la correlación de  $K_{int}$ ,  $\Delta H$  y  $\Delta S$  con el volumen del huésped indica la importancia de las interacciones van der Waals a medida que aumenta el volumen,  $\Delta H$  y  $\Delta S$  son más negativos a mayor es el volumen<sup>(179, 211)</sup>.

Mayor información se obtiene cuando se encuentra una relación lineal múltiple. No sólo se llega a conocer las fuerzas involucradas en la reacción de complejación, sino que también, se puede determinar la proporción con la que contribuyen. En 1983, S.F. Lin *et al*<sup>(232)</sup> estudiaron la complejación entre  $\alpha$ -CD y fenoles sustituidos en la posición 4 y encontraron que la  $K_{int}$  depende de la densidad electrónica, polarizabilidad y polaridad del sustituyente en el sitio de unión. Un aumento en la densidad electrónica y polarizabilidad del grupo funcional en la posición 4 aumenta la  $K_{int}$  cuando la complejación ocurre en disolventes polares, y una polaridad grande del sitio de unión disminuye la constante de interacción. Esta ecuación:  $\log K_{int} = -1.41 + 5.33\sigma + 0.15R_d - 0.81\mu$  muestra la relación lineal obtenida en el trabajo mencionado.  $\sigma$  es el parámetro de Hammett y se relaciona con la capacidad del sustituyente para atraer electrones,  $R_d$  es la refracción molar y se relaciona con la

polarizabilidad del sitio activo, y  $\mu$  es el momento dipolar eléctrico y se relaciona con la polaridad de la parte del huésped interactuante.

También, Yatsimirsky y Eliseev<sup>(233)</sup> realizaron estudios de relaciones lineales múltiples. Estudiaron las interacciones entre algunos pirocatecoles aniónicos con las 6deoxi- y 6amino- $\beta$ -CDs. Obtuvieron el valor de la energía libre debido a interacciones electrostáticas ( $\Delta G_{\text{int. electrostáticas}}$ ) apoyándose en los estudios de Schneider acerca de la contribución del par iónico a la energía libre total de complejación<sup>(189)</sup>. Para conocer la contribución de las interacciones hidrofóbicas graficaron  $\log K_{\text{int}} + \Delta G_{\text{int. electrostáticas}} / 2.3RT$  frente a  $\log P$  y obtuvieron la siguiente ecuación:  $\log K_{\text{int}} = a - \Delta G_{\text{int. electrostáticas}} / 2.3RT + b \log P$ . Se demuestra así que tanto las interacciones electrostáticas como las hidrofóbicas contribuyen de forma aditiva a la  $\Delta G_{\text{total}}$  de complejación.

En 1984, K.A. Connors y D.D. Pendergast<sup>(234)</sup> publicaron un trabajo sobre la complejación de la  $\alpha$ -CD con varios bencenos 1,4-disustituidos; en este estudio consideraron todas las interacciones posibles en el sistema y expresaron  $\Delta G_{\text{total}}$  tomando en consideración todos sus términos contribuyentes, así:  $\Delta G_{\text{total}} = \Delta G(DD) + \Delta G(DS) + \Delta G(SS)$ , donde DD representa la interacción disolvente-disolvente (efecto solvofóbico), DS la interacción disolvente-soluto (solvatación) y SS la interacción soluto-soluto (CD-H). Las relaciones lineales entre  $\log K_{\text{int}}$  con todas las siguientes propiedades: peso molecular, refracción molar,  $-\log S_0$  (solubilidad en los medios estudiados), momento dipolar eléctrico, tensión superficial y  $\log P$  proporcionan un amplio conocimiento cuantitativo de las fuerzas intermoleculares involucradas en este proceso de complejación. Posteriormente, se han publicado trabajos similares al de Connors y Pendergast<sup>(235-237)</sup>.

Otro parámetro que se debe tener en consideración es la tensión superficial del medio de reacción<sup>(238)</sup>. A. Orstan en sus estudios sobre el equilibrio de complejación entre la  $\beta$ -CD y el indol muestra que el aumento de la tensión superficial ocasiona un aumento de la estabilidad del complejo. La disminución del área superficial expuesta al disolvente, cuando el huésped entra en la CD, es el principal factor que propicia la formación del complejo de inclusión.



También, se han encontrado relaciones lineales que resaltan el efecto del disolvente por medio de la relación entre el  $\log K_{\text{int}}$  con  $S_p$  (parámetro de solvofobicidad) y  $E_T$  (polaridad selectiva)<sup>(239-241)</sup>. Así mismo, se expresa el efecto de las sales por medio de correlaciones del tipo Debye-Huckel.

Aparte de las *LFER* ya expuestas, Sanemasa *et al.*<sup>(242-244)</sup> estudiaron un nuevo parámetro, la energía libre de deshidratación.  $\Delta G_{\text{deshidratación}} = -RT \ln(KH)$ , donde:  $KH = p/X$ , siendo  $p$  = presión parcial de vapor del huésped y  $X$  = solubilidad en fracción molar del huésped en agua. Cuanto menor es el valor de  $\Delta G_{\text{deshidratación}}$ , más hidrofóbico es el soluto. Las gráficas de  $\Delta G_{\text{complejación}}$  frente a  $\Delta G_{\text{deshidratación}}$ , muestran la correlación entre ambos parámetros, lo cual indica la importancia de las interacciones hidrofóbicas en la reacción de complejación entre alcanos y CDs.

En resumen, una buena correlación entre diferentes parámetros experimentales ayuda a discernir, y a veces hasta a cuantificar, las interacciones intermoleculares más significativas en el proceso estudiado, en estos casos las reacciones de complejación con ciclodextrinas.

A pesar de la información que se puede obtener del estudio de las *LFER*, no son el objetivo de esta tesis. Las *LFER* pueden ser objetivos de trabajos futuros en esta línea de investigación (véase sección 7.2).

#### 4.5.6. Otros métodos de estudio de las interacciones intermoleculares H-CD

Para el estudio de interacciones intermoleculares con ciclodextrinas, se han llevado a cabo otros estudios con diferentes visiones del problema.

Por ejemplo, la primera **aproximación teórica** sobre las fuerzas responsables de la complejación fue dada a conocer por Harata<sup>(146)</sup>. Otros trabajos similares usando diferentes métodos y campos de fuerza han sido utilizados hasta nuestros días<sup>(245)</sup>.

Otra forma de estudiar interacciones intermoleculares es por **comparación de distintas moléculas huésped**. Por ejemplo, para el ciclohexano y el benceno, si el efecto hidrofóbico es el más importante, el ciclohexano se unirá más fuertemente a la CD, ya que es más hidrofóbico que el benceno y si el efecto de interacciones  $\pi$  es el

más importante el anillo bencénico se unirá mejor. También, se observó que las interacciones donador/aceptor, apilamiento  $\pi$ , pueden contribuir positivamente a la unión<sup>(246)</sup>. A veces estos estudios pueden ser complementarios al estudio de parámetros termodinámicos<sup>(247, 248)</sup> y otras veces se observa el efecto de ciertos grupos funcionales de los huéspedes en la estabilidad de los complejos de inclusión y esto puede ayudar a elucidar las fuerzas participantes en la complejación<sup>(249)</sup>.

#### **4.5.7. Recapitulación**

Muchas veces la deducción a la que se llega tras realizar numerosos estudios para conocer las interacciones intermoleculares responsables de la complejación, es que la estabilidad de un complejo depende de distintos tipos de interacciones, por ejemplo de las interacciones de van der Waals, puentes de hidrógeno, interacciones hidrofóbicas y cambios en la capa de solvatación de las especies interactuantes, en distinta medida<sup>(56, 154, 169)</sup>. Por ello, la naturaleza de las interacciones intermoleculares que llevan a la formación de los complejos sigue siendo tema de discusión, no hay un acuerdo concreto en esta área, ni siquiera en la nomenclatura usada para referirse a este tipo de complejos. En este trabajo, vamos a dividir las fuerzas intermoleculares en interacciones electrostáticas, fuerzas de van der Waals y efecto hidrofóbico, como ya se ha comentado en la sección 4.4.

Por todo lo anterior, consideramos que las ciclodextrinas son buenos objetos de estudio de las interacciones intermoleculares, por lo cual son de gran utilidad en el entendimiento de muchos procesos químicos, incluyendo muchos que ocurren en sistemas biológicos.

## 5. Planteamiento del problema y objetivos

Como se ha mencionado en las páginas anteriores, las interacciones intermoleculares no covalentes son las responsables de un gran número de procesos químicos, entre ellos muchos que tienen lugar en sistemas biológicos. También, las fuerzas intermoleculares son responsables de la selectividad y eficiencia de los mismos. Por esta razón es importante estudiar este tipo de interacciones. Sin embargo, las moléculas huéspedes y anfitrionas que intervienen en este tipo de procesos son, en muchas ocasiones, extremadamente complicadas. El estudio de las interacciones no covalentes entre huésped y anfitrión puede llevarse a cabo usando moléculas más sencillas, como son las ciclodextrinas.

Además, las cicloamilosas tienen un amplio campo de aplicaciones en áreas muy diversas, entre ellas la farmacia. Por esta razón, se seleccionaron algunos fármacos antihelmínticos como moléculas huéspedes para ayudar a resolver el problema de su baja solubilidad y su pequeña velocidad de disolución en medios acuosos, lo cual es importante, tanto para lograr una correcta formulación farmacéutica, como para optimizar su actividad en el lugar deseado del organismo.

Teniendo en cuenta lo mencionado en esta sección y los antecedentes, se han propuesto los siguientes objetivos:

- 1.- Estudiar el equilibrio de complejación entre la  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y HP- $\beta$  ciclodextrinas con los siguientes moléculas huésped: violeta de genciana, albendazol, mebendazol, tiabendazol, praziquantel, pamoato de pirantel y pamoato de pirvinium.
- 2.- Estudiar la influencia que ejerce el disolvente sobre el equilibrio de complejación, usando como medios de reacción el DMSO, agua y varias mezclas de ambos, ya que este disolvente orgánico permite mantener las condiciones de estudio en todas sus mezclas e interacciona muy débilmente con las cicloamilosas.

- 3.- A partir de mediciones espectrales determinar los valores de los parámetros termodinámicos ( $\Delta G$ ,  $\Delta S$  y  $\Delta H$ ) de estas reacciones de complejación.
  
- 4.- Determinar el efecto que el pH ejerce sobre el equilibrio de complejación en las disoluciones acuosas.
  
- 5.- Proponer la estructura más probable de los complejos formados en la disolución.
  
- 6.- Interpretar los datos experimentales en función de las interacciones intermoleculares no covalentes que gobiernan estas reacciones y estabilizan los complejos formados.
  
- 7.- Aumentar la solubilidad y disminuir los efectos adversos de estos antihelmínticos en medios acuosos (fluido intestinal simulado) por medio de su asociación con las ciclodextrinas y de este modo proponer una posible solución a su baja actividad *in vivo*.

## 6. Resultados y Discusión

En esta tesis, para obtener las constantes de equilibrio se ha usado el método de espectroscopía directa<sup>(250)</sup> o el método de solubilidad<sup>(251a, 251b)</sup> (véase sección 8), en ambos casos la propiedad que se mide es la absorbancia del huésped, en la región ultravioleta o visible del espectro electrónico<sup>(252)</sup>. Para que se puedan aplicar adecuadamente ambos métodos, es necesario que las regiones de máxima absorbancia del huésped y del anfitrión no coincidan y por lo tanto, los cambios en la intensidad y/o posición del espectro electrónico se pueden atribuir a la formación de complejos de inclusión entre ambas especies.

El método de Higuchi y Connors (método de solubilidad) sólo se ha empleado en D. acuosa, a pH 7.5 y a pH 1.8, a 298 K. Para obtener la constante de interacción mediante este método, se grafica la concentración total de huésped en función de la concentración total de cicloamilosa, gráficas que reciben el nombre de diagramas de solubilidad de fase. En el método de espectroscopía directa, se grafican las llamadas isotermas de unión, es decir, la diferencia de absorbancia con y sin ciclodextrinas vs la concentración total de ciclodextrina. A partir de todas esas representaciones, diagramas de solubilidad de fase e isotermas de unión, se puede obtener información acerca de la intensidad de interacción entre huésped y ciclodextrina y además, sobre la estequiometría del complejo formado.

Sin embargo, a partir de los experimentos realizados por espectroscopía electrónica de absorción UV-visible, poco se puede decir con respecto a la estructura de la nueva especie. Por esta razón, se recurrió a la espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protón, en particular a la bidimensional, método NOESY, con el propósito de obtener información acerca de la orientación del huésped dentro de la cavidad de la cicloamilosa<sup>(253a, 253b, 254a)</sup>. No obstante, no siempre es posible llevar a cabo estos experimentos debido a la baja solubilidad del huésped, gran proporción de agua adsorbida al DMSO o simplemente por carecer de los recursos adecuados. Por esta razón se ha recurrido a la realización de cálculos de mecánica molecular<sup>(254b-d)</sup>. Esta técnica ayuda a visualizar las estructuras moleculares más

probables de los complejos formados y da información sobre la energía de interacción de los mismos.

Se sabe que algunos parámetros termodinámicos, como  $\Delta S$  y  $\Delta H$ , son de gran utilidad en el estudio de las interacciones intermoleculares. Para obtener los valores de estas variables, se ha realizado el estudio de las  $K_{int}$ , a distintas temperaturas, en D. acuosa a pH = 7.5 y en DMSO. También, el efecto del disolvente y de la carga han sido investigados para ayudar a determinar que tipo de interacciones son las dominantes en los casos estudiados.

La exposición de resultados en el presente trabajo se ha hecho con base en cada una de las moléculas huésped. Se ha comenzado por el violeta de genciana debido a que es el antihelmíntico que proporciona mayor detalle sobre las interacciones involucradas en las reacciones de complejación con ciclodextrinas y se ha continuado en función de la información que nos da cada sistema, de más a menos. Dentro de cada huésped, se han presentado los resultados obtenidos por espectroscopía electrónica de absorción en la región UV-visible, RMN y mecánica molecular. A partir de todos ellos, se hace una discusión general teniendo en cuenta el efecto del tamaño de la cicloamilosa, el efecto del disolvente, los valores y signos de  $\Delta H$  y  $\Delta S$  y el efecto de la carga. Finalmente, se termina cada sección con un apartado de conclusiones particulares para cada molécula huésped.

Cabe mencionar que la nomenclatura de fuerzas utilizada es la que ya se ha comentado en la sección 4.4. Además, se refiere a efecto solvofóbico no clásico cuando los parámetros termodinámicos obtenidos son típicos de interacciones van der Waals y hay resultados que apoyan el hecho de que las fuerzas dominantes son el efecto solvofóbico.

También, es importante señalar que se han tomado en cuenta otros factores que propician la formación de complejos y que se pueden denominar como fuerzas conductoras de la complejación, estos son la expulsión de las moléculas de agua del interior de la cavidad de la cicloamilosa y la liberación de la tensión del anillo de la ciclodextrina. Del mismo modo, se consideran las interacciones que orientan al huésped dentro del anfitrión.

## 6.1. VIOLETA DE GENCIANA

El violeta de genciana (Figura 3, Página 16) es también conocido como cristal violeta ([4-[bis[p-(dimetilamina)fenil]metileno]-2, 5-ciclohexadieno-1-iliden]), pertenece al grupo de los colorantes derivados del trifenilmetilo, se usa como marcador biológico por su capacidad de adsorción sobre estructuras celulares; también, ha sido usado durante largo tiempo como antihelmíntico y como antiséptico de uso tópico.

Su estructura simétrica y su característico espectro de absorción electrónica pueden ser usados como valiosos utensilios en el estudio de las interacciones intermoleculares con ciclodextrinas. Presenta tres anillos bencénicos unidos entre sí por un carbono cuaternario, los tres fenilos tienen un grupo amino en la posición *para* y su estructura sugiere que existe la posibilidad de unirse a las cicloamilosas por tres sitios de unión.

### 6.1.1. Resultados

#### 6.1.1.1. Espectroscopía electrónica UV-visible

##### 6.1.1.1.1. Características del espectro electrónico del violeta de genciana

En los estudios de absorción electrónica del violeta de genciana ( $CV^*$ ) en cinco diferentes medios de reacción y a cinco diferentes temperaturas, se observa que no hay cambio en la forma del espectro. Sin embargo, se aprecia un ligero desplazamiento hacia mayores longitudes de onda (cambio batocrómico) al ir adicionando DMSO al medio de reacción.

Existen muchos estudios acerca de la posibilidad que tienen los colorantes tipo trifenilmetano de formar distintos tipos de agregados (dímeros, trímeros, tetrámeros...)<sup>(255a, 255b)</sup>. Entre éstos, cabe destacar el valor obtenido para la constante de asociación del dímero ( $CV_2^{2+}$ ),  $K_d = 680 \text{ M}^{-1(107a)}$ , en disolución acuosa, a 298 K, así como el hecho de que este proceso no ocurre en presencia de disolventes orgánicos<sup>(256a-256c)</sup>. La especie dimérica muestra un espectro electrónico de absorción

muy característico en la región visible, tiene un máximo de absorción a 540 nm y un hombro a 588 nm<sup>(257)</sup>. Sin embargo, en nuestras condiciones de trabajo (diferentes disolventes, distintas temperaturas y  $[CV^+]=5 \times 10^{-6}$  M) podemos decir, en general, que el proceso de dimerización apenas tiene lugar. Calculando el porcentaje de dímero en nuestros casos, a partir de la  $K_d$  y la ley de conservación de masa, obtenemos que sólo un 0.67% del total de violeta de genciana en la disolución se encuentra dimerizado. De tal modo que la presencia de esta especie no va a tener un efecto significativo en la formación de complejos de inclusión, excepto en el caso de la  $\gamma$ -CD en disolución acuosa que comentaremos más adelante.

#### **6.1.1.1.2. Constantes de equilibrio de los complejos de inclusión entre violeta de genciana y diferentes ciclodextrinas.**

Usando el método de espectroscopía directa, manteniendo la  $[CV^+]$  constante a  $5 \times 10^{-6}$ , se observa que los espectros electrónicos de absorción del cristal violeta en disolución acuosa, a 298 K, con y sin anfitrión, muestran que la absorción en 250 nm y 302 nm aumenta con la concentración de  $\alpha$ -CD, mientras que disminuye en 588 nm y en 542 nm. A la vez, se observa la aparición de un punto isobéptico en 476 nm, esto es una indicación de que existe más de una especie absorbente en el medio de reacción<sup>(258)</sup>. Cambios espectrales similares se observan en la formación de complejos de  $CV^+$  con la  $\beta$ - y la HP- $\beta$ -CDs. Con la  $\beta$ -CD, el punto isobéptico aparece a 490 nm y hay un desplazamiento de 8 nm hacia el rojo, en la región visible del espectro electrónico (Figura 4a). También, en el caso de la HP- $\beta$ -CD, los picos del visible se desplazan 14 nm hacia mayores longitudes de onda. Sin embargo, el comportamiento con la  $\gamma$ -CD es bastante diferente (Figura 4b). Los cambios en la región ultravioleta son similares a los observados con las otras ciclodextrinas, pero ocurre un desplazamiento sistemático del máximo de absorbancia, en la región visible, hacia menores longitudes de onda cuando aumenta la concentración de  $\gamma$ -CD. También aparecen dos puntos isobépticos en 502 nm y 518 nm. Estos cambios espectrales sugieren la interacción entre el huésped y el anfitrión.



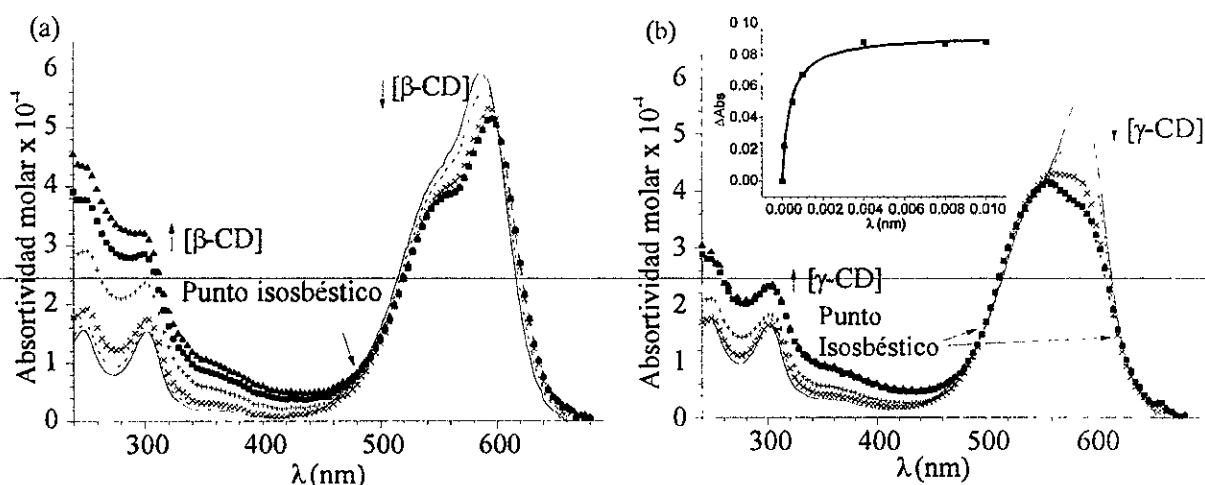


Figura 4: Espectros electrónicos de absorción del  $CV^+$  ( $[CV^+] = 5 \times 10^{-6}$  M) con diversas concentraciones de  $\beta$ -CD (a) y de  $\gamma$ -CD (b) en disolución acuosa, pH = 7.5, a 298 K: (—) 0 M; (— —)  $10^{-4}$  M; (---)  $5 \times 10^{-4}$  M; (-·-·-)  $10^{-3}$  M; (-·-·-·)  $4 \times 10^{-3}$  M; (-■-)  $8 \times 10^{-3}$  M; (-●-)  $10^{-2}$  M. La inserción en (b) muestra la isoterma de unión correspondiente al sistema  $CV^+$  con  $\gamma$ -CD en D. acuosa a 298 K.

En general, parece que los complejos también están presentes en los diferentes medios agua/DMSO, ya que se observan cambios espectrales similares a los anteriormente descritos, excepto para el caso de la  $\gamma$ -CD, cuyo comportamiento en estos disolventes se asemeja más a las otras cicloamilosas. Tampoco hay cambios significativos entre los espectros electrónicos de absorción obtenidos a diferentes temperaturas.

Como ya se ha comentado, el violeta de genciana se puede considerar como una especie tridentada, por lo tanto, en presencia de ciclodextrina, existe la posibilidad de que se una a ella por cualquiera de los tres anillos aromáticos. No obstante, si se considera el tamaño de la cavidad de la ciclohexamilosa y las dimensiones del  $CV^+$ , el complejo de estequiometría 1:1 es el más probable en disolución. Las  $K_{int}$  se obtienen a partir de la Ecuación 5 (Sección 8). Los cambios de absorbancia se han estudiado a 302, 306, 306, 308 y 310 nm, en D. acuosa a pH = 7.5, 25% DMSO, 50% DMSO, 75% DMSO y DMSO puro, respectivamente. Exceptuando en el sistema con  $\gamma$ -CD, en D. acuosa, a pH 7.5 que los cambios espectrales se han seguido a 586 nm.

El  $CV^+$  con  $\alpha$ -CD, en DMSO, a 294 K y con  $\gamma$ -CD en disolución acuosa, a las cinco temperaturas estudiadas no forma complejos de inclusión del tipo 1:1. La Ecuación 5 de la parte experimental, para complejos de estequiometría 1:1, no

describe adecuadamente el equilibrio de complejación entre  $\alpha$ -CD y el violeta de genciana, a 294 K. Teniendo en cuenta la forma de la gráfica  $\Delta A$  vs  $[\alpha\text{-CD}]$  podemos deducir la presencia de un complejo 1:2. Probablemente también existe en disolución el complejo 1:1, pero si se considera la presencia de éste, al proponer un modelo con significado físico y que ajuste a los resultados experimentales, se encuentra que su contribución al análisis de resultados no es significativa, llevándonos así a considerar solamente el complejo mayoritario, es decir, aquél formado por una molécula de huésped y dos de anfitrión, el  $[\text{CV} \subset \alpha\text{-CD}_2]^+$ . (Ecuación 6, sección 8).

Las Figuras 5 (a y b) muestran las isotermas de unión para el sistema  $\text{CV}^+$  con  $\alpha$ -CD, en diferentes medios de reacción, a 298 K y a diferentes temperaturas en disolución acuosa, respectivamente. En la Figura 5a podemos ver que la saturación se alcanza a menores  $[\alpha\text{-CD}]$  en el medio acuoso que en los otros cuatro medios de reacción utilizados. De ahí que en este medio encontremos la mayor constante de interacción. Por otro lado, cuando las curvas se vuelven asintóticas, en la Figura 5b, se observa que la  $K_{\text{int}}$  es mayor a medida que la temperatura aumenta.

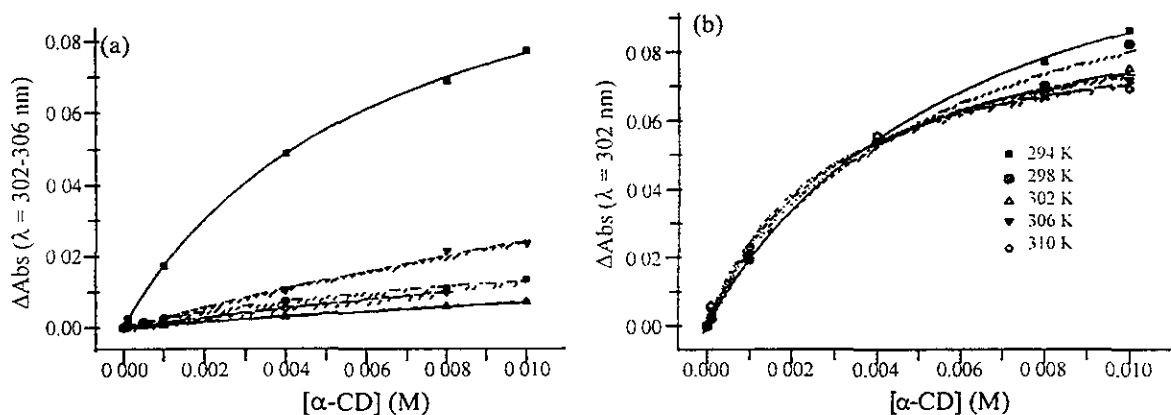


Figura 5: a) Isotermas de enlace de  $\text{CV}^+$  con  $\alpha\text{-CD}$  en los cinco diferentes medios de reacción usados, a 298 K. b) Isotermas de enlace de  $\text{CV}^+$  con  $\alpha\text{-CD}$ , en D. acuosa, a cinco diferentes temperaturas: (■) (—) D. acuosa pH = 7.5; (●) (— —) 25% DMSO; (▲) (---) 50% DMSO; (▼) (-.-.-) 75% DMSO, (◆) (-.-.-.-) DMSO.

En otro caso diferente, el cristal violeta con  $\gamma$ -CD en disolución acuosa, los cambios espectrales sugieren la presencia de dos tipos de complejos de inclusión, 1:1 y 2:1. En este caso se ha considerado que sólo tiene lugar una reacción, una molécula de huésped entra en la ciclodextrina por la parte ancha y otra por la parte estrecha, dando como resultado un dímero dentro de la cavidad,  $[\text{CV}_2 \subset \gamma\text{-CD}]^{2+}$ . En

este caso, las  $K_{int}$  se han obtenido usando la Ecuación 7 (Parte experimental, sección 8) y la inserción en 4b muestra la isoterma de unión obtenida a 298 K.

Las constantes de equilibrio para diferentes ciclodextrinas y  $CV^+$ , en diferentes medios de reacción, a 298 K, se muestran en la Tabla III. Se puede observar que a medida que aumenta la cantidad de DMSO en el medio de reacción, la constante de interacción disminuye para los sistemas con  $\alpha$ - y HP- $\beta$ - CDs. Sin embargo, para los sistemas con  $\beta$ - y  $\gamma$ - CDs, se ve que a partir de que el medio de reacción tiene 25% de DMSO los valores de las  $K_{int}$  aumentan.

CDs	Medio de reacción				
	D. acuosa	25% DMSO	50% DMSO	75% DMSO	DMSO
$\alpha$ -CD	196 $\pm$ 8	112 $\pm$ 5	9.13 $\pm$ 0.08	22.4 $\pm$ 0.6	24 $\pm$ 1
$\beta$ -CD	330 $\pm$ 70	45 $\pm$ 1	110.22 $\pm$ 0.42	150 $\pm$ 8	240 $\pm$ 50
$\gamma$ -CD	<b>7.7x10<sup>7</sup> <math>\pm</math> 2.1x10<sup>7</sup></b>	10.65 $\pm$ 0.37	34 $\pm$ 1	120 $\pm$ 10	127 $\pm$ 7
HP- $\beta$ -CD	180 $\pm$ 30	110 $\pm$ 13	33.12 $\pm$ 0.66	29 $\pm$ 4	23.5 $\pm$ 0.6

Tabla III: Constantes de equilibrio (1:1:  $M^1$  ó 2:1:  $M^2$ , en negrita) del violeta de genciana con varias CDs en diferentes medios de reacción a 298 K, obtenidas por espectroscopía electrónica de absorción (espectroscopía directa).

Para obtener los valores de las  $K_{int}$  también se usó el método de solubilidad, en disolución acuosa, regulada a pH = 7.5, a 298 K, además del método de espectroscopía directa, se estudiaron los cambios espectrales en 302 nm. En la Tabla IV se muestran los resultados obtenidos a partir de los correspondientes diagramas de solubilidad de fases para las cuatro ciclodextrinas:

CDs	buffer 7.5
$\alpha$ -CD	$160 \pm 20$
$\beta$ -CD	$350 \pm 100$
$\gamma$ -CD	$2.5 \times 10^6 \pm 0.7 \times 10^6$
HP- $\beta$ -CD	$820 \pm 50$

Tabla IV: Constantes de equilibrio ( $1:1:M^1$  ó  $2:1. M^2$  en negrita) del violeta de genciana con varias CDs en buffer acuoso pH 7.5 a 298 K, obtenidas por el método de solubilidad.

En todos los casos se obtiene un diagrama tipo  $A_L$ , según la terminología de Higuchi y Connors<sup>(259)</sup>, lo que significa que la solubilidad del violeta de genciana aumenta linealmente en función de la concentración de ciclodextrina debido a la formación de un complejo soluble de estequiometría 1:1, excepto con  $\gamma$ -CD en donde el complejo presenta estequiometría

2:1. Las constantes de interacción ( $K_{int}$ ) fueron obtenidas usando las Ecuaciones 2 y 3 (ésta última para la  $\gamma$ -CD) de la sección 8.

Se puede ver que los resultados obtenidos por ambos métodos son muy parecidos, excepto para la HP- $\beta$ -CD, lo que hace pensar que probablemente el tipo de equilibrio alcanzado sea distinto en cada uno de los métodos utilizados, esto ya ha sido informado para algunos casos<sup>(87, 260)</sup>.

En general, en todos los sistemas de reacción estudiados, consideramos que el método de obtención de constantes es aceptable, ya que la magnitud de los errores está dentro de lo informado para este tipo de sistemas<sup>(138, 242, 244)</sup>.

### 6.1.1.2. Espectroscopía de $^1H$ RMN y Mecánica Molecular

Para este trabajo se usaron técnicas de resonancia magnética nuclear, tanto monodimensional (NOE) como bidimensional (NOESY). El espectro NOESY es un estudio del Efecto Nuclear Overhauser en dos dimensiones, se genera un mapa de señales que representa las interacciones internucleares. Se observan picos negativos en la diagonal y señales que indican la interacción, tanto por distancia, como por enlace entre los átomos. Una vez determinadas las manchas que se deben a enlace, se pueden establecer qué interacciones tienen lugar a través del espacio. Un aumento en la intensidad de la interacción da lugar a un NOE positivo, mientras que una disminución en la misma es un NOE negativo.

Como ya se ha comentado anteriormente es de gran importancia conocer dónde se encuentran localizados los huéspedes con respecto a la ciclodextrina. Para ello, se han hecho estudios de NOESY ( $^1\text{H}$  NMR bidimensional), en disolución acuosa, a 298 K. El espectro NOESY (Figura 6a) muestra la interacción entre los grupos metilo del  $\text{CV}^+$  y los H(5) y H(3) de la  $\alpha$ -CD. A partir de esto, se puede decir que el  $\text{CV}^+$  se asocia con la  $\alpha$ -CD por su borde ancho. En este caso no podemos hablar de complejo de inclusión, propiamente dicho, sino de una asociación simple. El estudio de mecánica molecular proporciona la estructura representada en la Figura 6b, la cual coincide con los resultados de RMN.

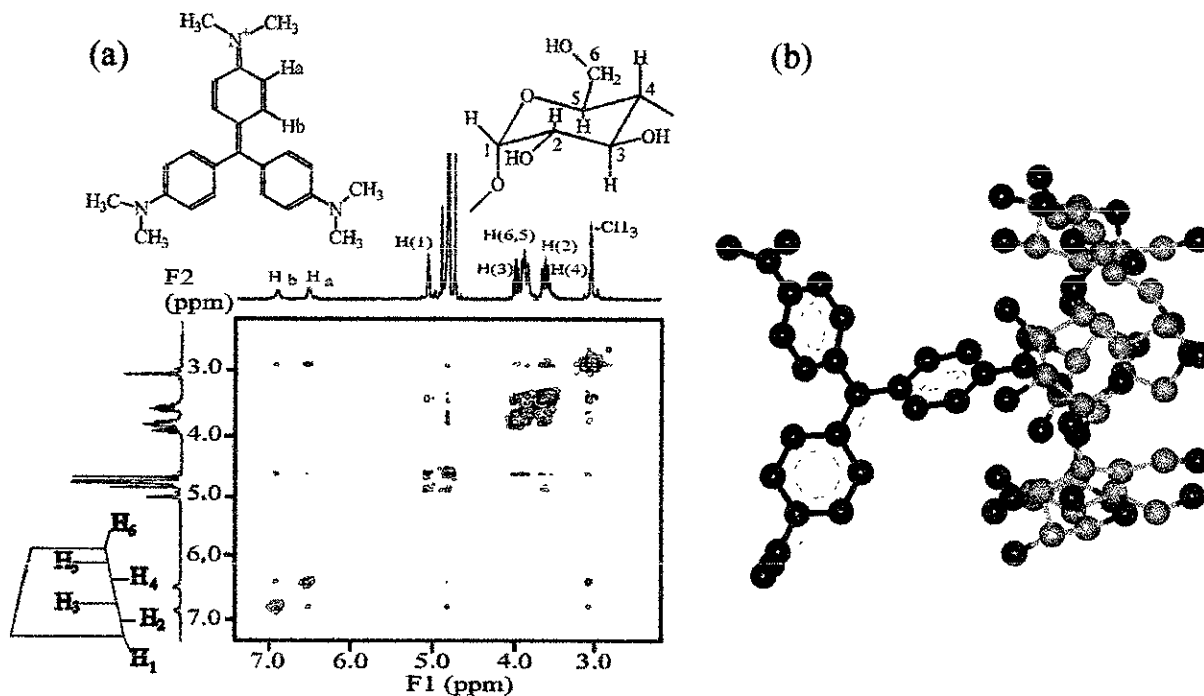


Figura 6: (a) Espectro NOESY del violeta de genciana con  $\alpha$ -CD en  $\text{D}_2\text{O}$ , a 298 K y 300 MHz. (b) Estructura propuesta para el complejo de asociación de  $\text{CV}^+$  con la ciclohexamilosa. Véase ampliación en la página 175.

En la Figura 7 observamos los resultados del espectro  $^1\text{H}$  RMN para  $\text{CV}^+$  (a),  $\beta$ -CD (b),  $\text{CV}^+$  y  $\beta$ -CD (c) y la irradiación (en el espectro (c)) de los protones del huésped situados a 6.56 p.p.m.(d) y a 7 p.p.m. (e) respectivamente, en  $\text{D}_2\text{O}$  a 298 K. Si comparamos el espectro (a) con el espectro (c) notamos que todas las señales correspondientes a los protones del huésped se desplazan hacia bajo campo. También, es importante considerar el cambio del H(5) de la  $\beta$ -CD. En el espectro (b) esta señal no aparece, sin embargo al llevar a cabo la reacción de complejación (c), esta señal aparece por debajo de la correspondiente al H(6) del anfitrión.

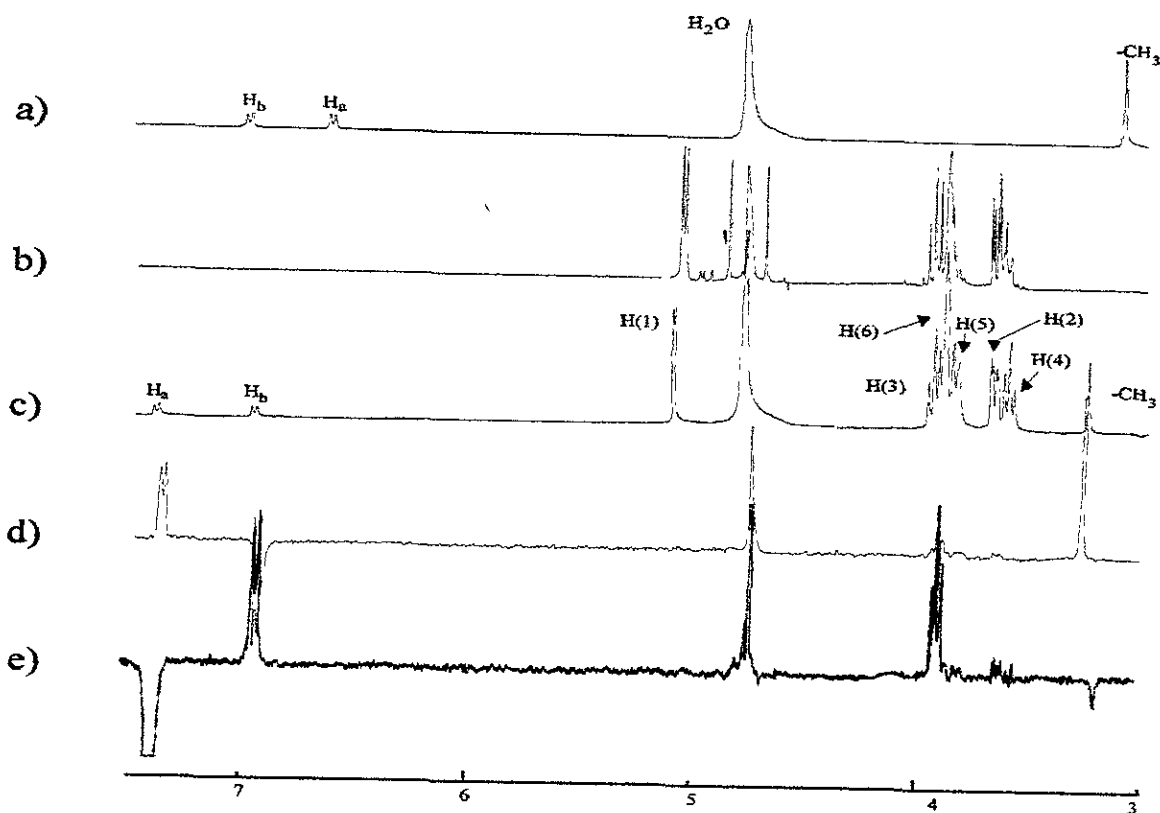


Figura 7: Espectros NOE del  $CV^+$  con  $\beta$ -CD en  $D_2O$ , a 298 K y 300 MHz. a)  $^1H$  RMN del  $CV^+$ , b)  $^1H$  RMN de la  $\beta$ -CD, c)  $^1H$  RMN del  $CV^+$  junto con la  $\beta$ -CD, d) irradiación de los protones situados en 6.56 p.p.m., e) irradiación de los protones situados en 7 p.p.m.

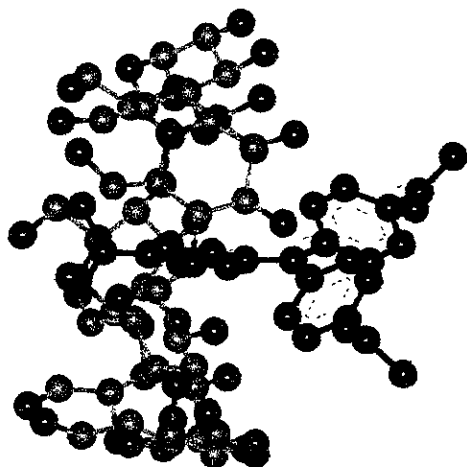


Figura 8: Estructura del complejo formado entre  $CV^+$  y  $\beta$ -CD en D. acuosa.

Al analizar la Figura 6, se aprecia que la señal en 6.56 p.p.m. corresponde al protón situado en posición *orto* con respecto al grupo amino del  $CV^+$ . Sin embargo, cuando la  $\beta$ -CD está presente, la señal debida a estos protones se ve desplazada 0.8 p.p.m. hacia menores campos (Figura 7c). De tal forma que esta señal aparece a campos más bajos que la correspondiente a los protones en *meta*. Interpretando los resultados de la

espectroscopía de  $^1\text{H}$  RMN, podemos inferir que existe interacción entre los protones en posición *meta* del huésped y los H(5) y H(3) de la  $\beta$ -CD. También, hay interacciones entre los protones en posición *orto* del  $\text{CV}^+$  y los H(6) y H(5) de la misma. Así, se puede afirmar que el huésped está incluido en la cavidad de la cicloheptamilosa por su borde más ancho, uno de los grupos fenilo está completamente insertado dentro del anfitrión. En la Figura 8 se observa la estructura obtenida por mecánica molecular y que coincide con los resultados de resonancia magnética nuclear.

En la Figura 9 se muestra el espectro de NOESY realizado para  $\text{CV}^+$  con  $\beta$ -CD en  $\text{DMSO-}d_6$ , a 298 K. El mapa de contornos indica que los grupos hidroxilo del C(2), parte ancha de la  $\beta$ -CD, y el protón anomérico de la misma manifiestan efecto NOE con los protones *orto* y *meta* del cristal violeta. También, vemos que existe interacción entre el grupo metilo y los protones internos de la cicloamilosa. Así que en este disolvente la estructura del complejo es diferente a la del complejo que se forma en disolución acuosa. En  $\text{DMSO}$ , el  $\text{CV}^+$  está más expuesto al medio de reacción.

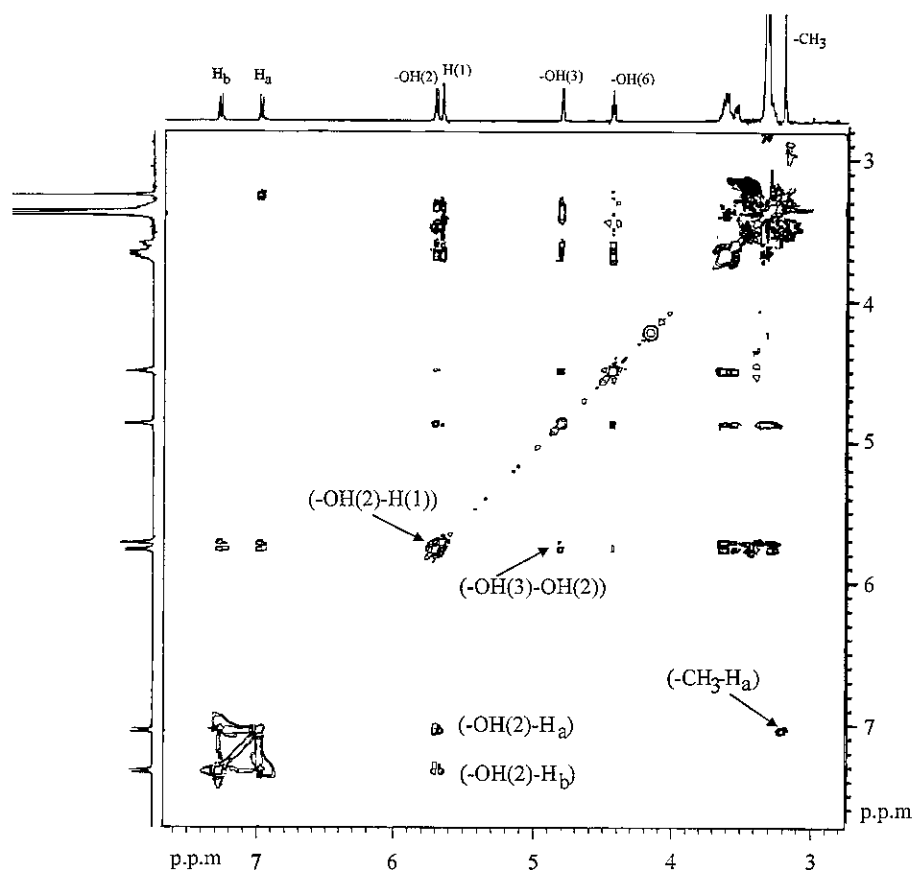


Figura 9: Espectro NOESY para violeta de genciana con  $\beta$ -CD en  $\text{DMSO-}d_6$ , a 298 K y 300 MHz.

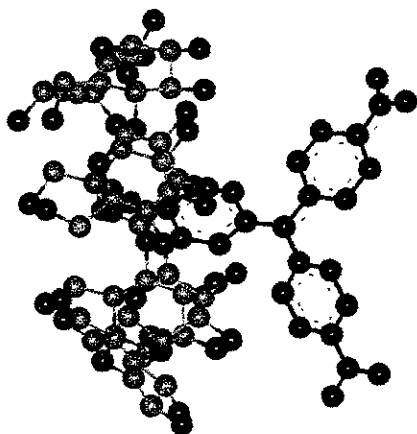


Figura 10: Estructura del complejo formado entre CV<sup>+</sup> y β-CD en DMSO

En la Figura 11a se presenta el NOESY resultante para el sistema CV<sup>+</sup> con γ-CD, en D<sub>2</sub>O a 298 K. Podemos observar la existencia de interacciones entre los grupos metilo del violeta de genciana y los H(5), H(6) y H(3) de la cicloamilosa. Este mapa de contornos sugiere que la especie dimérica está en el interior del anfitrión. La Figura 11b muestra la estructura del complejo [CV<sub>2</sub> ⊂ γ-CD]<sup>2+</sup>.

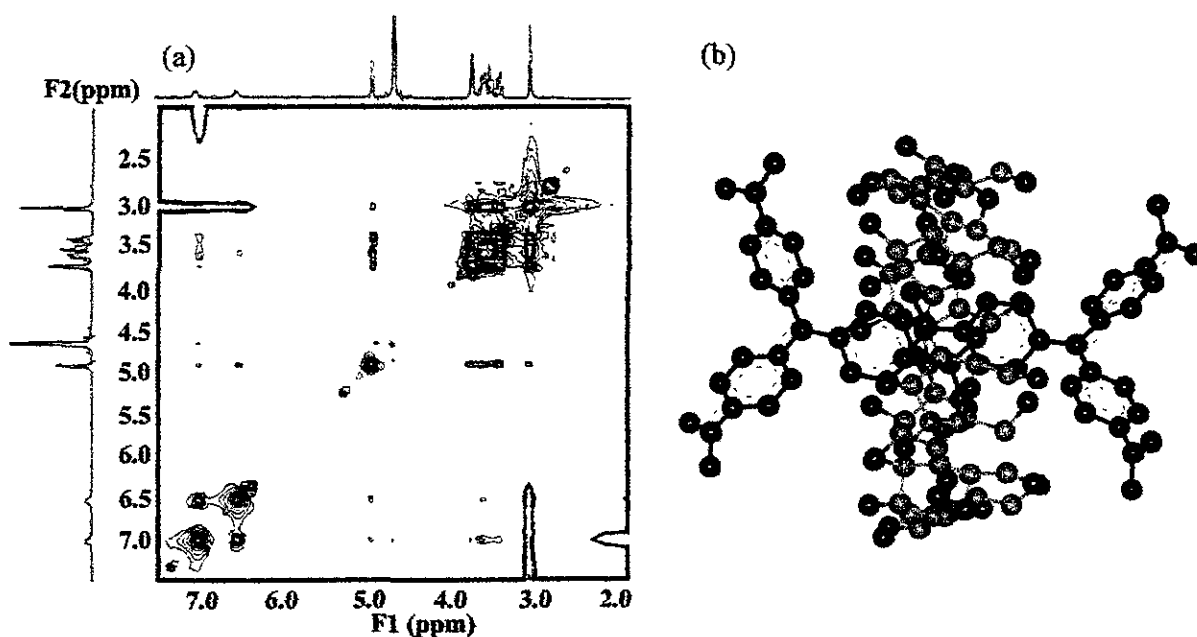


Figura 11: (a). Espectroscopía de RMN (NOESY) para cristal violeta con γ-CD en D<sub>2</sub>O, a 298 K y 300 MHz. (b). Estructura del complejo [CV<sub>2</sub> ⊂ γ-CD]<sup>2+</sup> obtenida por mecánica molecular. Véase ampliación en la página 176.

Estos resultados apoyan el hecho de la formación del complejo [CV<sub>2</sub> ⊂ γ-CD]<sup>2+</sup>, mismo que fue encontrado por espectroscopía electrónica de absorción en la región UV-visible (Figura 4b).

Lueck *et al*<sup>(261)</sup> propusieron una estructura dimérica del violeta de genciana en medio acuoso, en la cual las cargas positivas están lo más lejos posible entre ellas, consiguiendo de esta manera la mínima repulsión electrostática. La estructura del



dímero dentro de la cicloamilosa, propuesta por nosotros, coincide con la que plantearon esos autores.

## 6.1.2. Discusión

### 6.1.2.1. Efecto de las diferentes ciclodextrinas sobre la complejación

En general, el tamaño de las ciclodextrinas es un factor muy importante en el proceso de inclusión. Un caso particular es la HP- $\beta$ -CD, ya que los grupos hidroxipropilo tienen libre movimiento y confieren a la cicloheptamilosa diferentes características con respecto a su tamaño. La hidroxipropilación significa una extensión en la profundidad de la  $\beta$ -CD que ocasiona un aumento en su carácter hidrofóbico interno<sup>(56, 173, 253a, 253b)</sup>. Contrario a lo esperado, se encontró que estos sustituyentes hidroxipropilo no contribuyen al aumento de las interacciones con el CV<sup>+</sup>, sino que probablemente interfieren con el huésped por impedimento estérico.

En medio acuoso, aparentemente los cambios en los espectros UV-visible son consistentes con el orden de los valores de las  $K_{int}$ :  $\gamma$ -CD  $\gg$   $\beta$ -CD  $>$   $\alpha$ -CD  $>$  HP- $\beta$ -CD, Tabla III. Este orden coincide con la relación de tamaños CV<sup>+</sup>/CD, lo cual indica que el tamaño de la cavidad, en este estudio en particular, ejerce un grado sustancial de selectividad. Sólo la  $\gamma$ -CD puede acomodar dos moléculas de CV<sup>+</sup> en su interior. También, se sustenta esta aseveración con los resultados obtenidos por RMN y MM.

En los otros cuatro medios de reacción parece ser que la relación de tamaños no es un factor tan importante, ya que el orden de las constantes de equilibrio no siguen la misma relación que en el buffer fosfatos, pH 7.5; entonces, deben ser otros factores los que influyen mayoritariamente en la complejación del CV<sup>+</sup> con las CDs.

### 6.1.2.2. Efecto del disolvente

A partir de lo comentado en los antecedentes y a pesar de que no se han realizado muchos estudios al respecto, podemos considerar que el medio de reacción no es algo inerte, sino que juega un papel importante en la complejación<sup>(262)</sup>.

Por ello, las reacciones de complejación se han llevado a cabo en distintos medios de reacción. Se ha elegido el DMSO debido a que presenta las características adecuadas para mantener las condiciones de estudio y no representa una competencia significativa a la inclusión con los huéspedes. Se han publicado las  $K_{int}$  del DMSO con  $\alpha$ -CD y  $\beta$ -CD, las cuales son  $0.41 \text{ M}^{-1}$  y  $1.8 \text{ M}^{-1}$  respectivamente<sup>(106b, 263a y b)</sup>.

Con el fin de conocer el grado de solvatación del  $\text{CV}^+$  en los diferentes disolventes utilizados, se hicieron estudios de solubilidad (Figura 12a), véase sección experimental. Esta gráfica indica claramente que al aumentar la proporción de DMSO en el medio, la interacción entre el  $\text{CV}^+$  y el disolvente es mayor, es decir, el efecto solvofóbico disminuye.

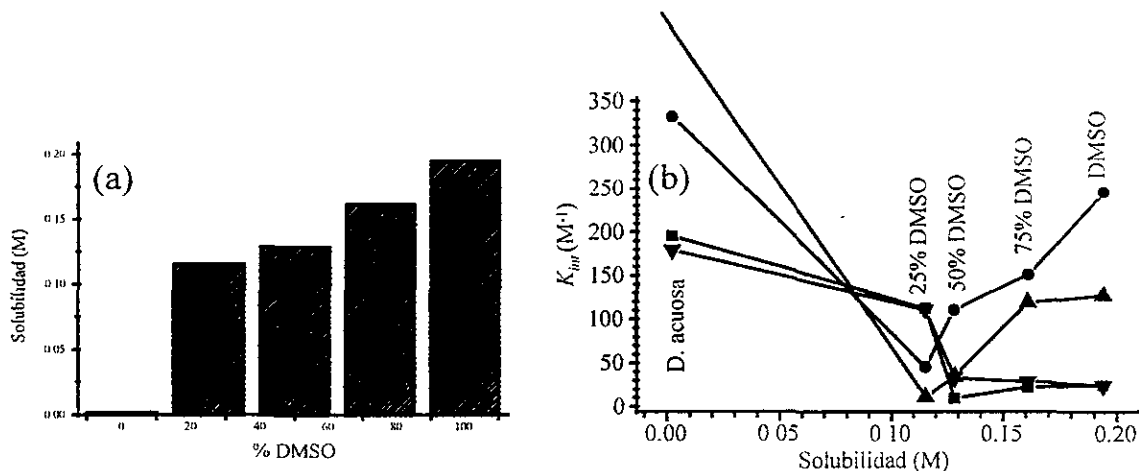


Figura 12: (a). Solubilidad del violeta de genciana en los diferentes medios empleados, a 298 K. (b). Dependencia de la constante de equilibrio con la solubilidad del  $\text{CV}^+$  en el disolvente:  $\alpha$ -CD (■),  $\beta$ -CD (●),  $\gamma$ -CD (▲) y HP- $\beta$ -CD (▼).

En la Figura 12b vemos que la  $K_{int}$  se ve afectada por el incremento de DMSO en el medio de reacción. Al aumentar la solubilidad del huésped, la  $K_{int}$  disminuye para los sistemas con  $\alpha$ -CD y HP- $\beta$ -CD. En ambos casos sugerimos la formación de complejos de asociación, es decir, no hay verdadera inclusión del huésped.

A partir de los resultados expuestos en la Figura 12, y suponiendo que la estructura de los complejos no varía dependiendo del disolvente, consideramos que los complejos formados entre el  $\text{CV}^+$  y  $\alpha$ -CD o HP- $\beta$ -CD están estabilizados principalmente por el efecto solvofóbico.

Para las otras dos cicloamilosas, el comportamiento es diferente. Los resultados obtenidos con  $\gamma$ -CD en disolución acuosa, a pH 7.5, no son comparables con los obtenidos en los otros disolventes, ya que en el primer caso obtenemos un complejo 2:1, mientras que en el resto son 1:1, probablemente debido al mayor efecto de solvatación del huésped en medios menos polares. Considerando que la solubilidad del CV<sup>+</sup> aumenta paralelamente a los valores de las  $K_{int}$  en los diferentes medios de reacción, podemos sugerir que las fuerzas van der Waals son más importantes que el efecto de disolvente. Sin embargo, esto no significa que el efecto del disolvente sea completamente insignificante. También, para este sistema se supone que la geometría del complejo formado no varía, siempre que se mantenga la estequiometría de la especie formada.

Los espectros de RMN realizados para los sistemas con  $\beta$ -CD nos muestran que la estructura de los complejos en agua y DMSO es diferente. Se sugiere que un ligero desplazamiento del CV<sup>+</sup> hacia el exterior de la ciclodextrina tiene lugar cuando hay una pequeña cantidad de DMSO en el medio, debido principalmente a una disminución del efecto solvofóbico. Se ha supuesto que la estructura de los complejos en los diferentes medios que tienen DMSO se mantiene y considerando los resultados mostrados en la Figura 12b, se puede decir que las principales fuerzas estabilizadoras de los complejos obtenidos en estas condiciones son las interacciones van der Waals entre huésped y anfitrión.

De todo lo anterior podemos deducir la gran importancia que tienen sobre la estabilidad de los diferentes compuestos formados, la superficie de contacto entre huésped y disolvente, y la intensidad de la interacción entre ellos.

### 6.1.2.3. Aspectos termodinámicos de la complejación

Para hacer una mejor discusión sobre las variables termodinámicas estudiadas, hay que considerar todos los factores participantes en la complejación. Caben destacar entre ellos: expulsión de las moléculas de disolvente del interior de la cavidad, relajación de la tensión del anillo de la cicloamilosa, profundidad de la inclusión, superficie de contacto, distancia entre la pared de la cavidad y el huésped y efecto del disolvente.

Las Tablas III y V muestran los parámetros termodinámicos ( $K_{\text{int}}$ ,  $\Delta H$  y  $\Delta S$ ) obtenidos para las reacciones de complejación estudiadas.  $\Delta H$  y  $\Delta S$  se han obtenido a partir de las  $K_{\text{int}}$  a distintas temperaturas (294, 298, 302, 306 y 310 K), utilizando el análisis de van't Hoff<sup>(264)</sup> (Figuras 13a y 13b). La Ecuación 8 (sección 8) ha sido aplicada en este análisis.

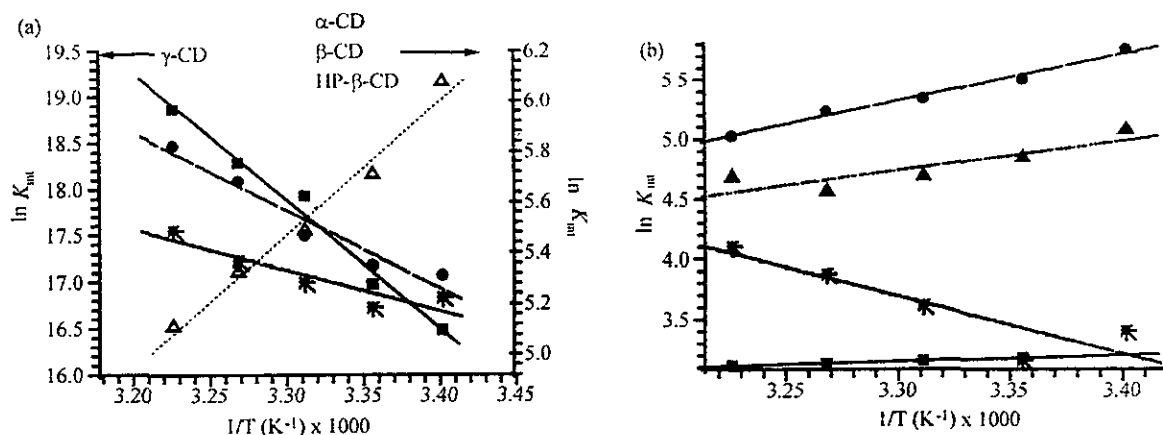


Figura 13: Análisis de van't Hoff para el sistema  $\text{CV}^+$  con diversas CDs en disolución acuosa (a) y en DMSO (b):  $\alpha$ -CD (■) (—),  $\beta$ -CD (●) (—),  $\gamma$ -CD (▲) (—) y HP- $\beta$ -CD (\*) (---). Los símbolos representan los datos experimentales y las líneas los ajustes lineales

Parámetros termodinámicos			
CDs	Medio de reacción	$\Delta H$ ( $\text{kJ mol}^{-1}$ )	$\Delta S$ ( $\text{J mol}^{-1} \text{K}^{-1}$ )
$\alpha$ -CD	Disolución acuosa	$44.37 \pm 0.05$	$184.8 \pm 0.2$
	DMSO	$-4.20 \pm 0.03$	$12.21 \pm 0.01$
$\beta$ -CD	Disolución acuosa	$14.99 \pm 0.05$	$97.5 \pm 0.2$
	DMSO	$-33 \pm 2$	$-63 \pm 8$
$\gamma$ -CD	Disolución acuosa	$-103 \pm 5$	$-195 \pm 20$
	DMSO	$-31 \pm 3$	$-64 \pm 9$
HP- $\beta$ -CD	Disolución acuosa	$13.45 \pm 0.05$	$88.8 \pm 0.2$
	DMSO	$40.04 \pm 0.17$	$162.75 \pm 0.62$

Tabla V. Parámetros termodinámicos obtenidos para el cristal violeta y diferentes ciclodextrinas en disolución acuosa, pH 7.5, y en DMSO.

Teniendo en cuenta los cinco factores que participan en la complejación, podemos discutir los parámetros termodinámicos,  $\Delta S$  y  $\Delta H$ , en base a cada uno de ellos.

Si las diferencias en el comportamiento termodinámico se debieran al *número de moléculas de disolvente que se excluyen de la cavidad*, esperaríamos un  $\Delta H$  más favorable (más negativo o menos positivo) para los complejos de  $\gamma$ -CD que para los de  $\beta$  y los de HP- $\beta$ -CDs y aún más que para los de  $\alpha$ -CD. Esto ocurre en disolución acuosa, pero si este factor fuera el que determinara si ocurre o no la complejación, encontraríamos lo mismo en DMSO; en este disolvente esto no ocurre así.

Si la *liberación de la tensión del anillo* fuera de gran importancia para la inclusión del CV<sup>+</sup>, los valores de las  $K_{int}$  y de los  $\Delta H$  serían mayores para  $\alpha$ -CD que para  $\gamma$ -CD y todavía mayores que para  $\beta$  o HP- $\beta$ -CDs. Sin embargo, nuestros resultados difieren bastante de la tendencia aquí mencionada.

Igualmente, se esperaría que la entropía de complejación fuera menos negativa cuanto mayor sea la cavidad de las CDs, ya que así el movimiento de los enlaces glucosídicos estaría menos restringido debido a la penetración del huésped. En general, en nuestros sistemas, los valores de  $\Delta S$  siguen el siguiente orden: en disolución acuosa,  $\gamma$ -CD <  $\beta$ -CD <  $\alpha$ -CD y en DMSO,  $\beta$ -CD  $\leq$   $\gamma$ -CD <  $\alpha$ -CD. Probablemente este comportamiento se deba a que *la profundidad de la inclusión, la superficie de contacto y el efecto del disolvente* siguen el orden opuesto, como se encontró en los estudios espectroscópicos y de mecánica molecular. Sin embargo, el comportamiento termodinámico de la HP- $\beta$ -CD con CV<sup>+</sup>, en DMSO, es diferente al de las otras tres cicloamilosas. Suponemos que está relacionado con la profundidad de su cavidad, las características hidrofóbicas de las cadenas hidroxipropiladas y la libertad de movimiento de estos grupos.

Teniendo en cuenta que se supone que la estructura de los complejos con  $\alpha$  y HP- $\beta$ -CDs se mantiene en los distintos disolventes, no se puede explicar el diferente comportamiento termodinámico en medio acuoso y en DMSO, debido a las diferencias en las interacciones entre huésped y anfitrión. Por lo tanto, es necesario considerar el efecto del disolvente en la complejación. En ambos medios se obtuvieron valores típicos de  $\Delta H$  y  $\Delta S$  debidos al efecto solvofóbico. Para los

complejos con  $\alpha$ -CD,  $\Delta H$  y  $\Delta S$  son mayores en el caso de la disolución acuosa y se debe a que el efecto solvofóbico es más importante en estas condiciones. Como ya se comprobó (Figura 12a), el  $CV^+$  está más solvatado en DMSO y el efecto solvofóbico es prácticamente abatido.

En cuanto a los complejos de  $\gamma$ -CD podemos decir, dada la magnitud de  $\Delta H$  y  $\Delta S$ , que las interacciones más significativas en el proceso de inclusión son aquellas resultantes de la unión entre el  $CV^+$  y la ciclooctamilosa (van der Waals). En medio acuoso, dos moléculas de huésped se encuentran en el interior de la cavidad de la  $\gamma$ -CD, según los resultados de RMN y de mecánica molecular, y por ello las fuerzas que mantienen esa estructura son más intensas en D. acuosa que en DMSO, donde hay una sola molécula de  $CV^+$  incluida. El valor negativo de  $\Delta H$  sugiere que las fuerzas estabilizadoras entre  $CV^+$  y  $\gamma$ -CD son de tipo van der Waals, junto con la expulsión de las moléculas de agua de la cavidad y la renovación de la capa de solvatación. El valor negativo de  $\Delta S$  puede deberse a la restricción de la movilidad de la cicloamilosa y a la falta de rotación y/o traslación del huésped.

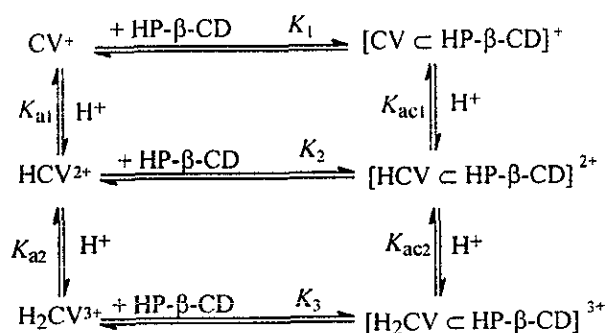
Por parte de la  $\beta$ -CD, sabemos por  $^1H$  RMN que el complejo con  $CV^+$  en D. acuosa es estructuralmente distinto al encontrado en DMSO. En el primer caso, en agua, el comportamiento se parece al de la HP- $\beta$ -CD y podemos sugerir que la fuerza estabilizadora de este compuesto es principalmente el efecto solvofóbico. Sin embargo, en DMSO, el comportamiento de la  $\beta$ -CD con el  $CV^+$  es muy parecido al de la  $\gamma$ -CD y suponemos que las interacciones de van der Waals juegan el papel más importante en la estabilización de la especie resultante de la reacción.

Adicionalmente, se han comparado los cambios entálpicos obtenidos experimentalmente con cada ciclodextrina, en D. acuosa y en DMSO, con los cambios energéticos totales o de van der Waals obtenidos a través de los cálculos de mecánica molecular. Los valores de  $\Delta H$  obtenidos a partir de los estudios experimentales y teóricos para el caso del DMSO concuerdan perfectamente y muestran la siguiente tendencia: HP- $\beta$ -CD >  $\alpha$ -CD >  $\gamma$ -CD >  $\beta$ -CD. Sin embargo, esta concordancia no es tan evidente en D. acuosa. Este comportamiento es lógico, ya que la mecánica molecular no considera la presencia del disolvente y por lo tanto, el

efecto solvofóbico no es tenido en cuenta. Así, es de esperarse que a menor importancia del efecto solvofóbico, mayor concordancia de resultados.

#### 6.1.2.4. Influencia de la protonación

El  $CV^+$  puede aceptar dos protones en sus dos grupos amino no cargados. El esquema I muestra los diferentes equilibrios que pueden ocurrir en la disolución.



Esquema I

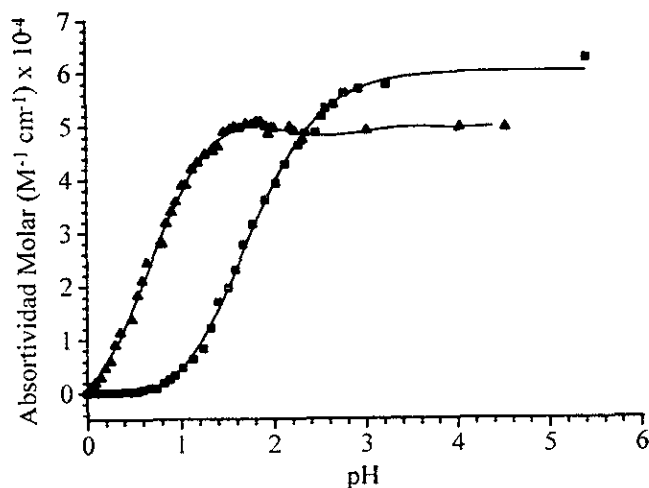


Figura 14: Valoración espectrofotométrica en D. acuosa, a 298 K, del violeta de genciana solo (■) y con HP-β-CD (▲) con HCl como ácido titulante, los cambios se siguieron a 588 nm. Los símbolos representan los datos experimentales y las líneas los ajustes lineales

Para observar la influencia del pH sobre la complejación se llevó a cabo una valoración espectrofotométrica, midiendo la absorbancia a 588 nm, del  $CV^+$  y del  $CV^+$  con HP-β-CD (Figura 14). Se determinaron los valores de  $pK_a$  correspondientes mediante las Ecuaciones 9 y 10 deducidas del esquema I (sección 8). Cuando se examinan estas curvas se aprecia que las formas no

complejadas del violeta de genciana tiene mayores valores de  $pK_a$  ( $pK_{a1} = 1.88 \pm 0.14$ ,  $pK_{a2} = 1.07 \pm 0.09$ ) que el complejo ( $pK_{ac1} = 1.14 \pm 0.11$ ,  $pK_{ac2} = 0.75 \pm 0.02$ ). Esto nos indica que la ciclodextrina estabiliza más a las formas menos protonadas del violeta de genciana.

En el intervalo de pH en el que la molécula de CV<sup>+</sup> se encuentra en su forma desprotonada, se obtienen valores mayores de  $K_{int}$ . Esto probablemente sea debido a que el carácter hidrofóbico del CV<sup>+</sup> disminuye con la protonación. También, se puede decir que el carácter básico del huésped disminuye con la complejación, o lo que es lo mismo, que la cicloamilosa estabiliza preferentemente a las formas menos ionizadas del violeta de genciana.

Este estudio, a diferentes valores de pH, muestra que todas las formas ionizadas interaccionan con la HP- $\beta$ -CD, aunque la monoionizada, CV<sup>+</sup>, interacciona más fuertemente.

A partir de estos resultados se puede aseverar que las interacciones electrostáticas entre el violeta de genciana y HP- $\beta$ -CD no cooperan significativamente en la estabilización o la formación de estos complejos de inclusión.

### 6.1.3. Conclusiones

- \* La orientación de la inclusión es probablemente determinada por las interacciones ion-dipolo entre el violeta de genciana y el disolvente, así el huésped penetra en la cavidad de la ciclodextrina por uno de los anillos bencénicos no cargado.
- \* El tamaño de la cicloamilosa es importante en la complejación, pero no es el factor dominante en este estudio de interacciones, ya que la relación de tamaños y la magnitud de las constantes no mantienen el mismo orden en todos los medios de reacción. Su mayor contribución se observa en D. acuosa.
- \* El proceso de inclusión es mayoritariamente gobernado por un factor entrópico ( $\Delta S > 0$ ) con una mayor o menor importancia del factor entálpico, por ejemplo, en el caso de los complejos  $[CV^+ \subset \alpha\text{-CD}]$  en DMSO, en donde  $\Delta H$  es negativo y  $\Delta S$  es positivo, ambos parámetros son favorables, pero la contribución entálpica es más significativa que la entrópica.



- 
- \* Respecto al comportamiento con el disolvente, se observan dos tendencias, por una parte la  $\alpha$  y la HP- $\beta$ - CDs y por otra, la  $\beta$  y la  $\gamma$ - CDs. Con las primeras, el efecto solvofóbico es la principal fuerza estabilizadora en todos los medios de reacción, mientras que una mayor importancia de las interacciones de van der Waals se observa con  $\beta$ -CD y con  $\gamma$ -CD, en todos los medios estudiados, a excepción de los complejos  $[CV \subset \beta\text{-CD}]^*$  en D. acuosa, que son estabilizados preferentemente por efecto solvofóbico.
  - \* El efecto de la carga eléctrica del huésped muestra la poca significancia de las interacciones electrostáticas entre violeta de genciana y la  $\beta$ -CD hidroxipropilada, debido a que los complejos más estables son los de las especies menos cargadas.

## 6.2.- ALBENDAZOL

El albendazol (éster metílico del ácido carbámico [5-(propiltio)-1H-benzimidazol-2-il]) es un antihelmíntico de amplio espectro (Figura 3, página 16), pertenece al grupo de los bencimidazol carbamatos, ha sido usado frecuentemente contra helmintiasis intestinales y sistémicas. No obstante su gran uso, presenta serios problemas de biodisponibilidad, lo que hace que las dosis que se administran sean excesivamente grandes. No se degrada en condiciones normales de luz, temperatura y humedad.

Este fármaco tiene dos posibles posiciones para incluirse dentro de la ciclodextrina, una por el lado del grupo carbamato y la otra por la parte del grupo propil tioéter, o bien, podría reaccionar por ambos lados a la vez. Estas características estructurales son adecuadas para el estudio de las interacciones intermoleculares entre el Alb y las cicloamilosas.

### 6.2.1. Resultados

En este caso particular, no se lograron obtener resultados satisfactorios por resonancia magnética nuclear, ya que la solubilidad del albendazol en agua es muy baja. Se intentaron realizar este tipo de estudios en los otros disolventes utilizados (25% DMSO, 50% DMSO, 75% DMSO y DMSO puro), pero la señal del agua adsorbida por el DMSO cubre las señales de H-5, H-6 y H-3 correspondientes a las ciclodextrinas. En el caso del DMSO, se consiguió obtener el mapa de contornos del NOESY, pero debido a la debilidad de las señales no se obtuvieron datos concluyentes.

#### 6.2.1.1. Espectroscopía electrónica UV-visible

##### 6.2.1.1.1. Características del espectro electrónico del albendazol

En los estudios de espectroscopía electrónica de absorción del albendazol (Alb) en cinco diferentes disolventes y temperaturas, no se observa cambio en la

forma del espectro. Sin embargo, se aprecia un ligero desplazamiento del máximo cuando se adiciona DMSO al medio de reacción, desde 296 nm en D. acuosa, hasta 300 nm en DMSO (cambio batocrómico). También, se observa una disminución en el coeficiente de extinción al aumentar la proporción del disolvente orgánico. En disolución acuosa, a pH 1.8, se observa un ligero cambio en la forma del espectro, probablemente debido a la coexistencia de la forma protonada y la neutra en la disolución.

#### **6.2.1.1.2. Constantes de equilibrio de los compuestos formados entre albendazol y ciclodextrinas.**

Los espectros electrónicos de absorción del albendazol en disolución acuosa regulada a pH 7.5 y a 298 K, con y sin  $\alpha$ -ciclodextrina, presentan un máximo en 296 nm y una forma es similar, pero hay un aumento de intensidad en toda la región ultravioleta a medida que aumenta la concentración del anfitrión. Este mismo comportamiento aparece en los estudios realizados con las otras tres ciclodextrinas y sugiere que hay interacción entre el albendazol y las CDs <sup>(265a-265d)</sup>.

En general, pareciera que la reacción de complejación también tiene lugar en los otros medios de reacción aquí estudiados (25%, 50%, 75% DMSO/agua y DMSO puro), ya que podemos ver cambios espectrales similares a los observados en disolución acuosa. Sin embargo, no podemos asegurar que las especies formadas en cada medio sean idénticas.

En disolución acuosa y en DMSO se han hecho los estudios a cinco diferentes temperaturas (294, 298, 302, 306 y 310 K) y los espectros obtenidos no difieren significativamente de los anteriormente comentados.

Las Figuras 15a y 15b ilustran los cambios observados en el espectro UV-visible del albendazol, en presencia de diferentes concentraciones de HP- $\beta$ -CD, a 298 K, en disolución acuosa regulada a pH 7.5, y la isoterma de unión obtenida a partir de los cambios de absorbancia en 296 nm, respectivamente.

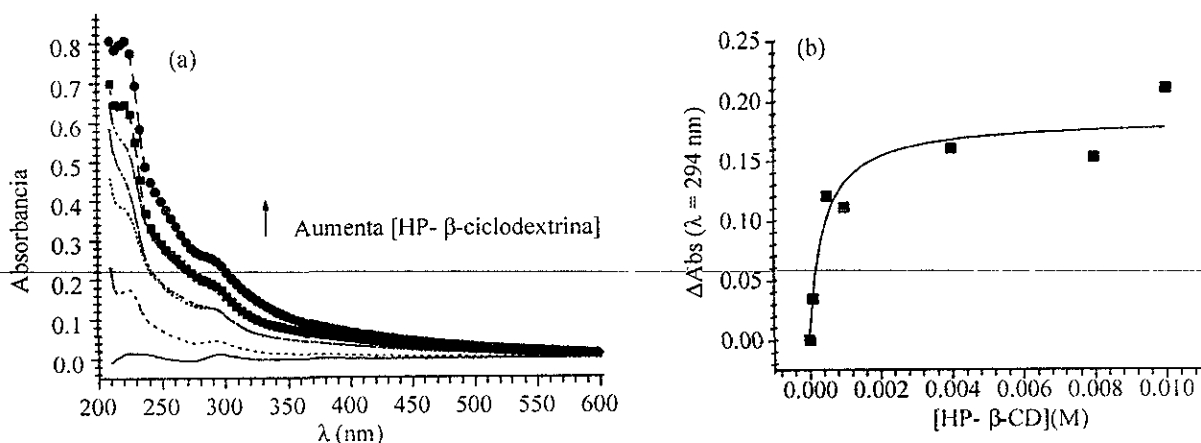


Figura 15: (a). Espectros electrónicos de absorción del albendazol ( $[Alb] = 10^{-6}$ ) con diferentes concentraciones de HP- $\beta$ -CD en disolución acuosa a 298 K: (—) 0 M; (---)  $10^{-4}$  M; (---)  $5 \times 10^{-4}$  M; (-.-.-)  $10^{-3}$  M; (-.-.-.-)  $4 \times 10^{-3}$  M; (-■-)  $8 \times 10^{-3}$ ; (-●-)  $10^{-2}$ . (b). Isotherma de unión para el sistema Alb con HP- $\beta$ -CD en D. acuosa a 298 K: (■) datos experimentales, (—) ajuste a la Ecuación 5 (sección 8).

La cavidad de las ciclodextrinas manifiesta algunas propiedades similares a las de algunos disolventes orgánicos, entonces el proceso de inclusión puede ser comparado con los cambios de solvatación debidos al proceso de transferencia desde un disolvente polar a otro no polar<sup>(225, 262)</sup>. Cuando se analizan los espectros electrónicos de absorción en disolventes de distinta polaridad, se encuentra que las bandas de absorción son modificadas por el efecto de los disolventes, estos cambios se atribuyen a las interacciones soluto-disolvente. Así, las variaciones espectrales aquí informadas pueden interpretarse en función de la transferencia del albendazol desde la disolución a la cavidad de la ciclodextrina.

Existen tres maneras de inclusión posibles para el Alb dentro de las ciclodextrinas. Sin embargo, a partir de las isothermas de unión obtenidas para todas las condiciones y ciclodextrinas estudiadas se observa que la estequiometría del complejo formado no es 1:2 ( $[Alb \subset CD_2]$ ), sino que se trata de un complejo 1:1 ( $[Alb \subset CD]$ ). Por lo tanto para la obtención de las constantes de equilibrio se ha utilizado la Ecuación 5.(véase la sección 8)<sup>(137, 252, 266)</sup>.

Las Figuras 16a y 16b muestran las isotermas de unión para el sistema albendazol con  $\beta$ -CD, en disolución acuosa y DMSO, a diferentes temperaturas, respectivamente. En la Figura 16a podemos ver que los cambios debido a la temperatura son prácticamente imperceptibles, mientras que en la Figura 16b estas variaciones ya son apreciables, lo cual se refleja en las constantes de estabilidad y consecuentemente en las otras variables termodinámicas que se presentarán más adelante.

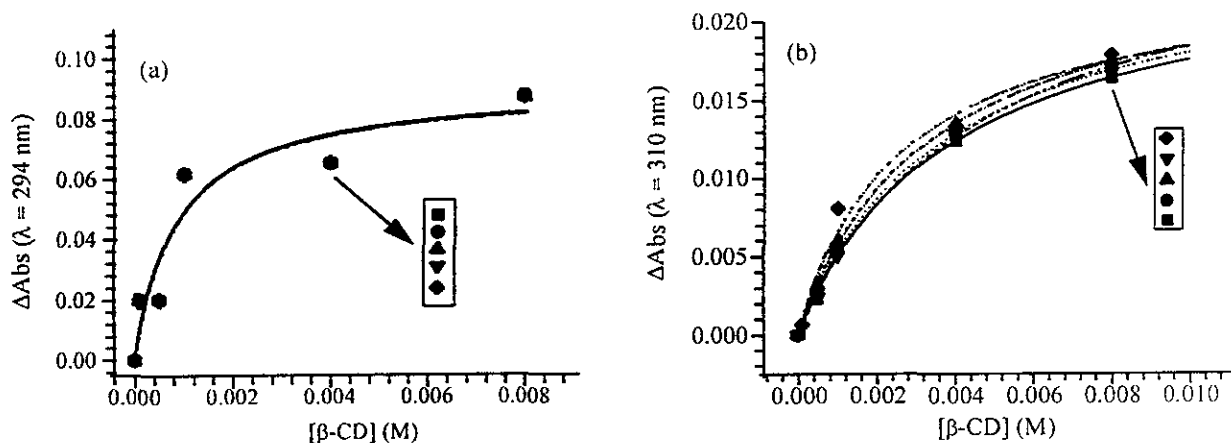


Figura 16: Isotermas de unión obtenidas para el sistema Alb ( $[Alb] = 10^{-6}$ ) con  $\beta$ -CD en D. acuosa (a) y en DMSO (b) a distintas temperaturas: (■) (—) 294 K; (●) (— —) 298 K; (▲) (---) 302 K; (▼) (-·-·-) 306 K; (◆) (-·-·-·) 310 K. Los símbolos corresponden a los resultados experimentales y las líneas a los ajustes de los mismos a la Ecuación 5.

En la Figura 17 se pueden ver los cambios debidos al disolvente utilizado como medio de reacción, en el sistema formado por albendazol y  $\gamma$ -CD, a 298 K. Se han estudiado los cambios de absorbancia en 296, 298 ó 300 nm, dependiendo del disolvente. Se observa que la saturación se alcanza a menores [CD] en disolución acuosa que en los otros cuatro medios de reacción utilizados. De ahí que en D. acuosa se haya determinado el mayor valor de la constante de interacción. Un comportamiento semejante se encontró para

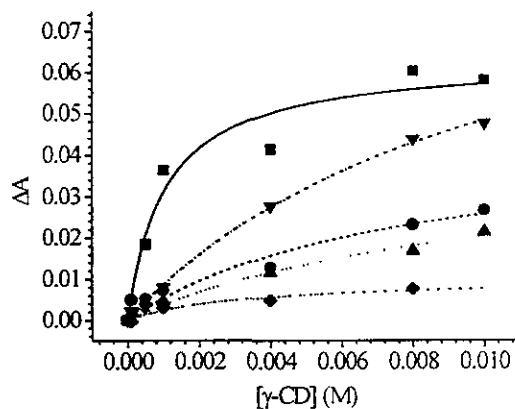


Figura 17: Isotermas de unión obtenidas para el sistema Alb ( $[Alb] = 10^{-6}$ ) con  $\gamma$ -CD a 298 K en diferentes disolventes: (■) (—) D. acuosa, 294 nm; (●) (— —) 25% DMSO, 298 nm; (▲) (---) 50% DMSO, 302 nm; (▼) (-·-·-) 75% DMSO, 306 nm; (◆) (-·-·-·) DMSO, 310 nm. Los símbolos corresponden a los resultados experimentales y las líneas a los ajustes de los mismos a la Ecuación 5.

el resto de las cicloamilosas.

Las constantes de equilibrio para el sistema albendazol con diferentes ciclodextrinas, en diferentes medios de reacción, a 298 K se muestran en la Tabla VI. En general, se observa que a medida que aumenta la cantidad de DMSO en el medio de reacción, la constante de equilibrio disminuye, pero con  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -ciclodextrinas, la constante de estabilidad aumenta en DMSO puro.

Medio de disolución

CDs	D. acuosa	25% DMSO	50% DMSO	75% DMSO	DMSO
$\alpha$ -CD	300 $\pm$ 80	114 $\pm$ 9	101 $\pm$ 5	83 $\pm$ 6	140 $\pm$ 20
$\beta$ -CD	1200 $\pm$ 400	22.1 $\pm$ 0.2	69 $\pm$ 1	44 $\pm$ 4	280 $\pm$ 2
$\gamma$ -CD	1000 $\pm$ 200	130 $\pm$ 10	101 $\pm$ 5	95 $\pm$ 2	300 $\pm$ 50
HP- $\beta$ -CD	2500 $\pm$ 700	900 $\pm$ 200	300 $\pm$ 70	150 $\pm$ 20	52 $\pm$ 3

Tabla VI: Constantes de interacción ( $M^{-1}$ ) del albendazol con varias CDs en diferentes medios de reacción a 298 K, obtenidas por el método de espectroscopía directa.

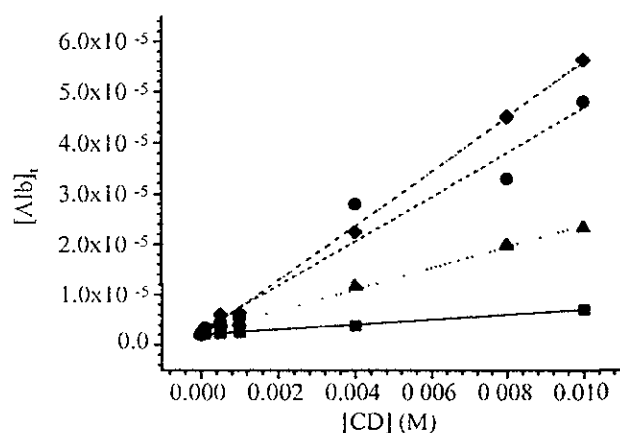


Figura 18. Diagramas de fase para el Alb con diversas CDs, en D. acuosa, a 298 K: (■) (—)  $\alpha$ -CD; (●) (---)  $\beta$ -CD; (▲) (---)  $\gamma$ -CD; (▼) (---) HP- $\beta$ -CD. Los símbolos corresponden a los resultados experimentales y las líneas a los ajustes de los mismos a la Ecuación 1 (sección 8).

Además del método de espectroscopía directa para obtener los valores de la  $K_{int}$  también se usó el método de solubilidad en disolución acuosa, a 298 K; la Tabla VII muestra los resultados obtenidos y en la Figura 18 aparecen los diagramas de fase para las cuatro ciclodextrinas. Se estudiaron los cambios de absorbancia en 296 nm.

En todos los casos se obtiene un diagrama tipo  $A_L$ , según

CD	$K_{int}$
$\alpha$ -CD	$237.5 \pm 0.3$
$\beta$ -CD	$1500 \pm 100$
$\gamma$ -CD	$910 \pm 20$
HP- $\beta$ -CD	$2600 \pm 400$

Tabla VII: Constantes de interacción del Alb con varias CDs, en D. acuosa, a 298 K, obtenidas por el método de Higuchi y Connors

la terminología de Higuchi y Connors<sup>(251a)</sup>. Esto significa que la solubilidad del albendazol en D. acuosa, pH 7.5 ( $2.08 \times 10^{-6}$  M) aumenta linealmente en función de la concentración de ciclodextrina. Además, la pendiente en todos los casos es menor que uno, lo que indica la formación de un complejo de inclusión 1:1 en cada caso,

complejo que aumenta la solubilidad del albendazol. Las constantes de interacción ( $K_{int}$ ) fueron obtenidas usando la Ecuación 1 que aparece en la parte experimental.

A partir de ambos métodos los resultados obtenidos son muy parecidos.

### 6.2.1.2. Mecánica molecular

Como ya se ha comentado anteriormente, es de gran importancia conocer donde se encuentran localizadas las moléculas huésped con respecto a la ciclodextrina, para ello se llevaron a cabo estudios de mecánica molecular, los cuales nos ayudan a apoyar los datos experimentales y a visualizar las posibles estructuras de los complejos<sup>(267a, 267b)</sup>.

En este trabajo se han considerado todas las posibles orientaciones de la molécula huésped con respecto al anfitrión. La geometría se ha optimizado para varias configuraciones del albendazol con cada ciclodextrina. En el caso de la  $\alpha$ -CD, la energía mínima se encontró cuando el grupo tiopropilo y una parte del bencimidazol por el lado del bencilo del huésped están incluidos por la parte ancha de la ciclodextrina (Figura 19a).

Los complejos formados con las otras tres ciclodextrinas muestran una estructura muy parecida entre ellos. En los tres casos, el grupo carbamato del albendazol penetra en la cavidad por la parte de los hidroxilos secundarios. Sin embargo, la profundidad de la inclusión es distinta (Figuras 19b, 19c y 19d); en particular, la superficie de contacto entre el albendazol y la HP- $\beta$ -CD es la mayor.

Consideramos que la gran magnitud de la constante de interacción para el complejo [Alb  $\subset$  HP- $\beta$ -CD] se debe mayoritariamente a este hecho.

En general, estos resultados apoyan razonablemente a los encontrados por espectroscopía electrónica de absorción.

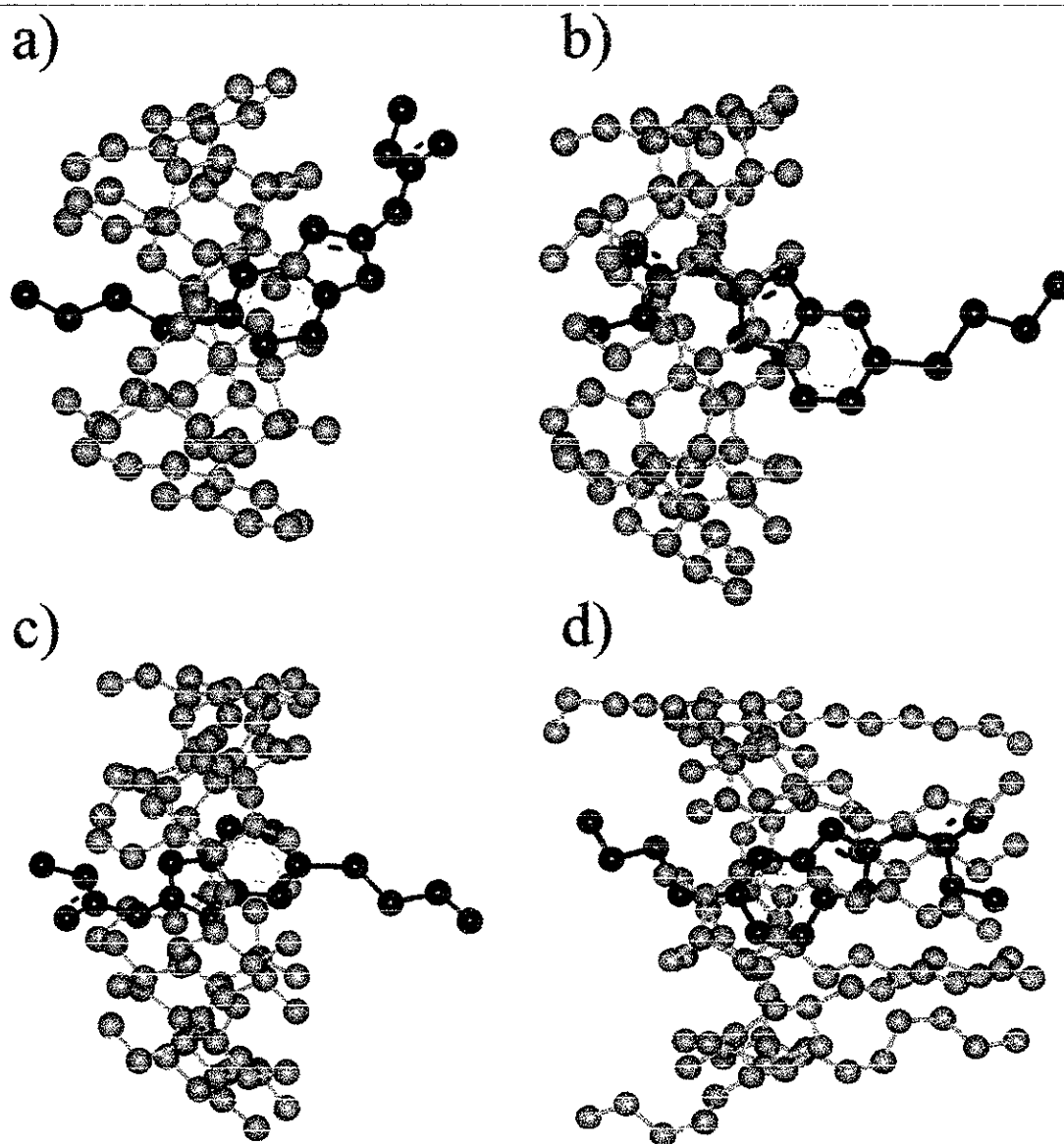


Figura 19: Posibles estructuras de los complejos de inclusión del albendazol con  $\alpha$ -CD (a),  $\beta$ -CD (b),  $\gamma$ -CD (c) y HP- $\beta$ -CD (d) obtenidas por estudios de mecánica molecular



## 6.2.2. Discusión

### 6.2.2.1. Efecto de las diferentes ciclodextrinas sobre la complejación

Como ya se ha comentado anteriormente, el tamaño de las ciclodextrinas es un factor de selección en el proceso de inclusión. El diámetro y la profundidad de la cavidad son factores que influyen en la intensidad de la interacción entre el albendazol y las diferentes ciclodextrinas.

Los estudios de espectroscopía electrónica de absorción no dan la suficiente información para saber qué grupos están incluidos o interaccionan con el anfitrión, pero considerando que el comportamiento con cada ciclodextrina es diferente, es posible sugerir que la estructura del complejo formado,  $[Alb \subset CD]$ , es diferente con cada una de las cicloamilosas.

En medio acuoso los valores de las  $K_{int}$  son consistentes con la relación de tamaños Alb/CD, en el siguiente orden: HP- $\beta$ -CD >  $\beta$ -CD >  $\gamma$ -CD >  $\alpha$ -CD, (Tabla VI), lo cual indica que el tamaño de la cavidad, en el caso particular del Alb, ejerce un grado sustancial de selectividad. A más superficie de contacto y más corta es la distancia entre la parte incluida del huésped y la cavidad de la ciclodextrinas, mayor es la interacción. Así, se puede decir que el albendazol se ajusta perfectamente en la cavidad de la  $\beta$ -CD y de la HP- $\beta$ -CD, preferentemente a ésta última ya que el tamaño del albendazol, desde el CH<sub>3</sub> del carbamato hasta el grupo CH<sub>3</sub> del tioéter, es aproximadamente 14.3 Å y se acomoda completamente a lo largo de la  $\beta$ -CD hidroxipropilada (profundidad 17.2 Å). También es importante destacar que la orientación del Alb en la  $\alpha$ -CD es diferente a la encontrada con las otras tres cicloamilosas (Figura 19), presumiblemente para conseguir mayor interacción con el interior de la cavidad, dado que es la más pequeña de todas.

En los otros cuatro medios de reacción parece ser que la relación de tamaños no es un factor determinante, ya que el orden de las constantes de equilibrio no siguen la misma tendencia que en disolución acuosa.

### 6.2.2.2. Efecto del disolvente

Como ya hemos comentado en los antecedentes, se puede afirmar que el medio de reacción no es algo inerte, sino que desempeña un papel importante en la reacción de complejación.

El albendazol es una sustancia con un carácter mayoritariamente hidrófobo, lo que hace que interaccione débilmente con medios polares y por lo tanto tienda a buscar un ambiente favorable, lo cual propicia su inclusión total o parcial en la cavidad apolar de la ciclodextrina. El sentido de la inclusión se debe a la compensación entre la interacción del Alb con el disolvente y la interacción con la cavidad del anfitrión, unido a un buen ajuste del huésped dentro de la ciclodextrina. Hablar en este caso de un momento dipolar total que gobierne el sentido de la inclusión resulta erróneo, debido a que la deslocalización de cargas requiere de un modelo molecular más complejo que considerar la molécula como una simple esfera<sup>(113-115)</sup>.

Con el fin de conocer el grado de solvatación del Alb en los diferentes disolventes utilizados, se determinaron los valores de solubilidad a 298 K. Estos valores indican que al aumentar la proporción de DMSO en el medio, la interacción entre el Alb y el disolvente es mayor, o lo que es lo mismo, el efecto solvofóbico disminuye (Gráfica insertada en la Figura 20). La Figura 20 muestra como al aumentar la solubilidad del huésped, incrementando la proporción de DMSO en el medio, la  $K_{int}$  disminuye para los sistemas con HP- $\beta$ -CD. A partir de estos resultados, y suponiendo que la estructura del complejo no varía significativamente debido al disolvente, se puede proponer que los complejos formados entre el albendazol y HP- $\beta$ -CD están estabilizados principalmente por efecto solvofóbico.

Para las otras tres cicloamilosas, el comportamiento es diferente. Los resultados son, en general, similares a los anteriores, pero cuando el disolvente es DMSO puro, la constante de equilibrio aumenta. Considerando que la solubilidad del huésped aumenta en forma inversa a la  $K_{int}$  en los diferentes medios, podemos sugerir que el efecto del disolvente en la formación de los complejos de inclusión es más dominante que las interacciones de van der Waals entre el albendazol y las

ciclodextrinas, lo que no significa que éstas últimas interacciones sean nulas. También, para estos sistemas suponemos que la estructura de los complejos formados es semejante.

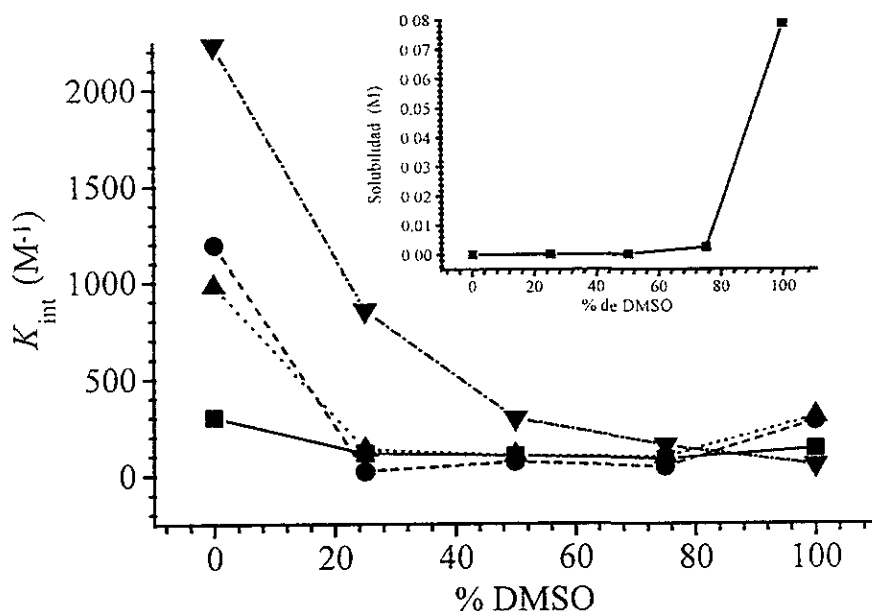


Figura 20: Variación de las  $K_{int}$  del Alb con  $\alpha$ - (■),  $\beta$ - (●),  $\gamma$ - (▲) y HP- $\beta$ - (▼) CDs, en función de la composición del medio. La inserción muestra el aumento de la solubilidad del Alb al aumentar la proporción de DMSO, a 298 K.

El cambio en las  $K_{int}$  observado en DMSO puro puede interpretarse como un cambio en la estructura del complejo. Al disminuir considerablemente el efecto solvofóbico hay un reacomodo del albendazol, de tal forma que hay mayor interacción de éste con el disolvente.

De todo lo anterior, podemos destacar la importancia que tiene el medio de reacción, ya que en estos casos su influencia sobre el equilibrio es equivalente a la de un tercer componente, que puede favorecer o no, el fenómeno de inclusión.

### 6.2.2.3. Otros aspectos termodinámicos

La Tabla VIII muestra otros parámetros termodinámicos ( $\Delta H$  y  $\Delta S$ ) obtenidos para las reacciones de complejación del Alb con  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y HP- $\beta$ - CDs.  $\Delta H$  y  $\Delta S$  se han obtenido a partir de las  $K_{int}$  a distintas temperaturas, (Figuras 21a y 21b), mediante la ecuación de van't Hoff, Ecuación 8 (parte experimental).

	$\Delta H$ (kJ/mol)		$\Delta S$ (J/mol K)	
	D. acuosa	DMSO	D. acuosa	DMSO
$\alpha$ -CD	$-1.91 \pm 0.01$	$35.4 \pm 0.2$	$41.01 \pm 0.04$	$158.2 \pm 0.5$
$\beta$ -CD	$-0.14 \pm 0.01$	$20.32 \pm 0.03$	$58.27 \pm 0.04$	$115.2 \pm 0.1$
$\gamma$ -CD	$0.900 \pm 0.002$	$11.7 \pm 0.1$	$60.24 \pm 0.01$	$86.7 \pm 0.3$
HP- $\beta$ -CD	$-3.41 \pm 0.04$	$31.65 \pm 0.08$	$53.07 \pm 0.14$	$138.9 \pm 0.3$

Tabla VIII: Algunos valores termodinámicos para las reacciones de Alb con varias cicloamilosas en disolución acuosa y en DMSO.

A partir de los resultados de la Tabla VIII, se observa una tendencia general en todos los casos estudiados, la formación de los complejos es entrópicamente favorable ( $\Delta S > 0$ ) y entálpicamente desfavorable ( $\Delta H > 0$ ) o ligeramente favorable ( $\Delta H \leq 0$ ).

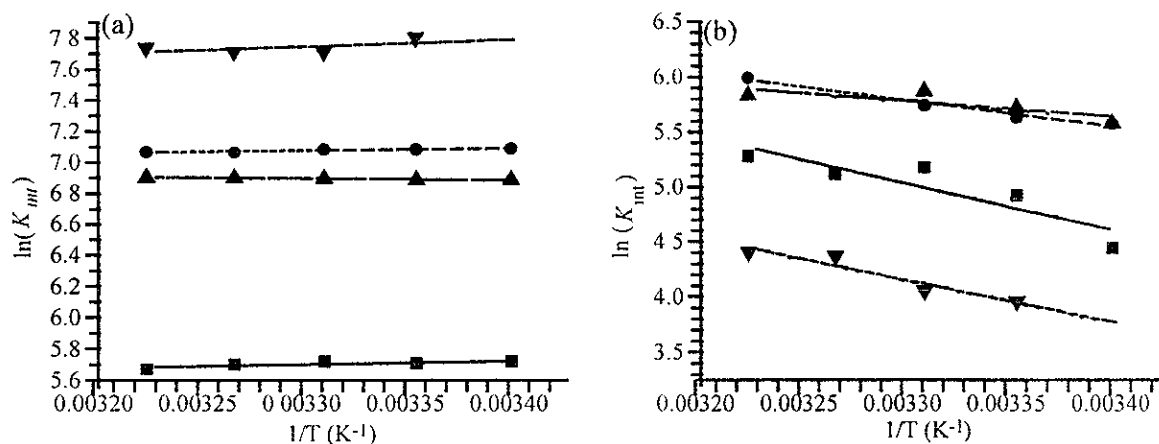


Figura 21: Gráficas de van't Hoff para las reacciones de complejación entre Alb y diversas CDs, en disolución acuosa (a) y en DMSO (b):  $\alpha$ -CD (■) (—),  $\beta$ -CD (●) (---),  $\gamma$ -CD (▲) (-.-) y HP- $\beta$ -CD (▼) (-.-.-). Los símbolos representan los datos experimentales y las líneas los ajustes lineales.

Al analizar la Tabla VIII y las Figuras 21a y b, comprobamos que los cambios entrópicos y entálpicos son similares en el caso de la D. acuosa, mientras que mayores variaciones pueden ser observadas en DMSO.

Como ya se asentó con anterioridad, hay varios factores que intervienen en el proceso de la inclusión: la exclusión de las moléculas de agua del interior de la cavidad de cicloamilosa, liberación de la tensión del anillo de la CD, la profundidad

de la inclusión del huésped en la CD, la superficie de contacto entre H y CD, la distancia interna entre ambas moléculas y el efecto del disolvente. Teniendo en cuenta todos estos factores que influyen sobre el proceso de complejación, se pueden interpretar los parámetros termodinámicos en base a cada uno de ellos.

Si las diferencias en el comportamiento termodinámico se debieran al *número de moléculas de agua o DMSO que se excluyen de la cavidad*, se esperaría un  $\Delta H$  más favorable (más negativo) para el complejo con  $\gamma$ -CD que para los complejos con  $\beta$  y HP- $\beta$ -CDs y aún más negativo que para los formados con  $\alpha$ -CD. Esto ocurre en el caso del DMSO, pero si este factor fuera el que define el proceso de complejación, encontraríamos lo mismo en disolución acuosa y esto no es cierto.

Si la *liberación de la tensión del anillo* fuera de gran importancia para la inclusión, las  $K_{nt}$  y las  $\Delta H$  serían mayores para  $\alpha$ -CD que para  $\gamma$ -CD y mayores que para  $\beta$  o HP- $\beta$ -CDs. Sin embargo, nuestros resultados difieren bastante de lo esperado.

Según Jencks<sup>(139)</sup>, cuando se refiere a la relación entre parámetros termodinámicos e interacciones intermoleculares, un  $\Delta H$  y un  $\Delta S$  desfavorables se asocian con las interacciones van der Waals o interacciones hidrofóbicas no clásicas, mientras que lo opuesto,  $\Delta S$  (+) y  $\Delta H$  (+) es típico de interacciones solvofóbicas clásicas.

Considerando lo anterior, los parámetros termodinámicos obtenidos en disolución acuosa, regulada a pH 7.5, Tabla VIII, reflejan la gran importancia del efecto solvofóbico. Esta interacción es la más importante fuerza en la estabilidad de los complejos formados entre el Alb y las CDs, tanto en D. acuosa como en DMSO puro. El resto de los factores contribuyentes en la complejación no son tan importantes en estos casos.

Por otro lado, se ha supuesto que la estructura de los complejos de Alb con HP- $\beta$ -CD se mantiene en los distintos disolventes. Entonces, no podemos explicar las diferencias en el comportamiento termodinámico en medio acuoso y en DMSO por diferencias en las interacciones entre huésped y anfitrión. En estos casos, se tiene que considerar el efecto del disolvente en la complejación, en ambos medios encontramos los  $\Delta H$  y  $\Delta S$  típicos debidos al efecto solvofóbico.

También, se han comparado los resultados de  $\Delta H$  obtenidos de forma experimental con los valores de energía total y de energía debida a las interacciones de van der Waals obtenidos por mecánica molecular. Se encontró que, de forma similar al caso del violeta de genciana, los datos experimentales y teóricos correlacionan mejor para el medio de reacción en el cual el efecto solvofóbico es menos importante, en este caso la D. acuosa. La tendencia de los valores de  $\Delta H$  observada, en D. acuosa, de mayor a menor energía es:  $\gamma$ -CD >  $\beta$ -CD >  $\alpha$ -CD > HP- $\beta$ -CD, tanto teórica como experimentalmente.

#### 6.2.2.4. Influencia de la protonación

Para conocer el efecto de la carga en la complejación, se ha estudiado el equilibrio de reacción entre albendazol y HP- $\beta$ -CD, en D. acuosa a pH 1.8, usando el método de solubilidad.

En la Figura 22 se muestran los espectros de albendazol en disolución acuosa, regulada a pH 1.8, solo y con diferentes concentraciones de HP- $\beta$ -CD, la inserción muestra el correspondiente diagrama de solubilidad de fase.

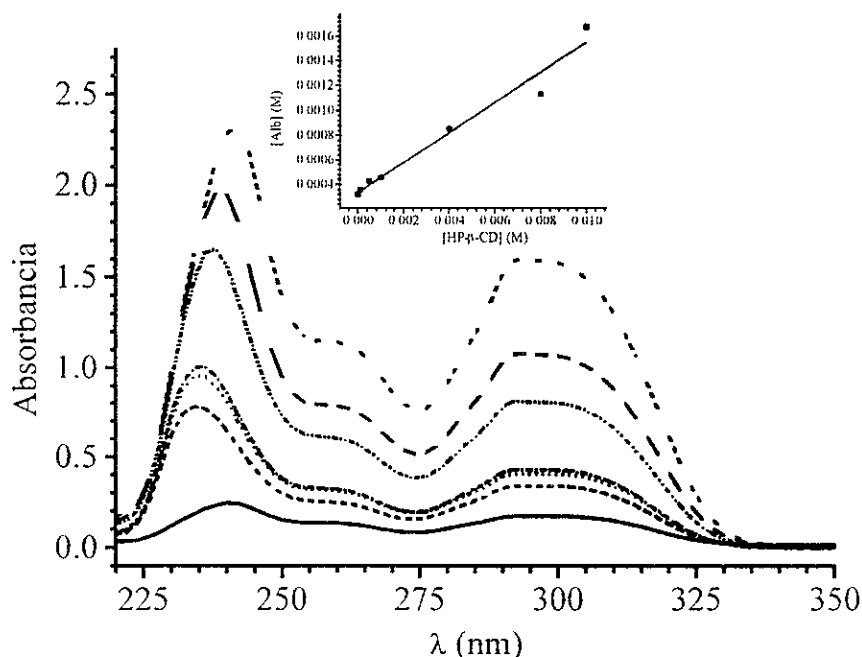
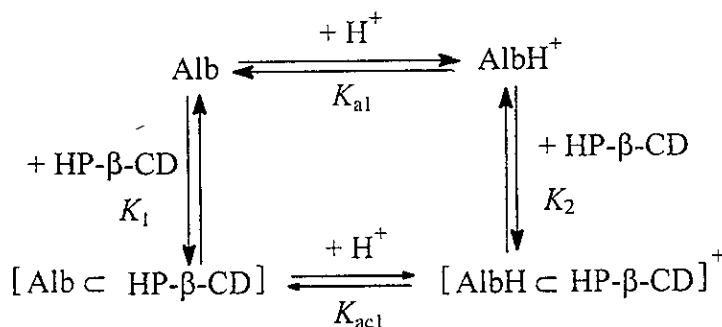


Figura 22: Espectros electrónicos de absorción del Alb con diversas concentraciones de HP- $\beta$ -CD, en disolución acuosa, a pH 1.8, a 298 K: (—) 0 M, (- -)  $10^{-4}$  M, (---)  $5 \times 10^{-4}$  M; (-·-·)  $10^{-3}$  M; (-·-·)  $4 \times 10^{-3}$  M; (— —)  $8 \times 10^{-3}$  M; (- - -)  $10^{-2}$  M. La inserción muestra el diagrama de solubilidad de fase obtenido para este sistema.

En el esquema II se muestran los posibles equilibrios que tienen lugar a pH 1.8 para el sistema Alb y HP- $\beta$ -CD. Para obtener la  $K_{int}$  se obtuvo la Ecuación 4, parte experimental.



Esquema II

A pH 1.8, el albendazol se encuentra al 49.19% como albendazol neutro y al 50.81% como forma protonada ( $\text{AlbH}^+$ ). La  $K_{int}$  del complejo con la forma cargada es  $57.58 \text{ M}^{-1}$  y el valor del  $\text{p}K_a$  varía de 2.8 (albendazol) a 1.14 (albendazol dentro de la ciclodextrina). Estos datos indican que la complejación con albendazol neutro es mayor que con albendazol protonado.

A partir de los datos aquí mostrados se puede afirmar que las interacciones electrostáticas no son importantes como fuerzas estabilizadoras en el proceso de complejación, es decir, el albendazol protonado interfiere con el proceso de complejación con la HP- $\beta$ -CD.

### 6.2.3. Conclusiones

- \* La orientación de la inclusión estará determinada por un balance de interacciones entre huésped-ciclodextrina y huésped-disolvente.
- \* El tamaño de las cicloamilosas es importante en la complejación, particularmente en D. acuosa, en la que se observa un buen ajuste entre el albendazol y la cavidad de la  $\beta$ - y la HP- $\beta$ -CDs, así como el cambio de orientación del huésped dentro de la cicloamilosa para conseguir una mayor estabilidad. Esta tendencia no es tan clara en los demás medios de reacción.

- 
- \* Los valores positivos de los cambios entrópicos sugieren que el proceso de complejación está dominado por el efecto solvofóbico, la misma conclusión se obtiene al analizar el efecto del disolvente.
  - \* El estudio del efecto de la carga sobre la complejación del albendazol con HP- $\beta$ -CD nos revela que la presencia de cargas formales en el huésped desestabiliza el complejo de inclusión.
  - \* El albendazol unido a la HP- $\beta$ -CD es la mejor opción para mejorar las características de solubilidad de este antihelmíntico e indirectamente mejorar la biodisponibilidad del mismo.



## 6.3.- MEBENDAZOL

El mebendazol (metil-5-benzoil-imidazol-2-carbamato), a igual que el albendazol, es un antihelmíntico de amplio espectro perteneciente al grupo de los bencimidazol carbamatos. El mebendazol tiene baja solubilidad en medios acuosos, lo que ocasiona una baja biodisponibilidad a nivel intestinal. Por esta razón, se usa principalmente para helmintiasis intestinales, a pesar de su gran actividad contra algunas helmintiasis sistémicas. También, el Meb provoca trastornos intestinales cuando se administra por vía oral. Es estable en condiciones normales de luz, temperatura y humedad.

La estructura del mebendazol (Figura 3, página 16) sugiere la posibilidad de incluirse en las CDs por dos sitios, por el grupo carbamato y por el grupo bencénico y por lo tanto puede dar como resultado de la reacción tres tipo de complejos:  $[\text{Meb} \subset \text{CD}_2]$ ,  $[\text{Meb}_a \subset \text{CD}]$  y  $[\text{Meb}_b \subset \text{CD}]$ , en donde a y b son las dos posibles posiciones de inclusión del huésped.

### 6.3.1. Resultados

#### 6.3.1.1. Espectroscopía UV-visible

##### 6.3.1.1.1. Características del espectro electrónico del mebendazol

Muchas sustancias manifiestan el efecto de solvatochromismo, es decir, cambia su espectro electrónico de absorción al cambiar el disolvente. Este efecto es debido a las interacciones no específicas (interacciones electrostáticas y fuerzas intermoleculares más débiles) entre soluto y disolvente. En el caso particular del mebendazol, M. Cignitti y coautores<sup>(268)</sup> investigaron el solvatochromismo de este compuesto en diferentes disolventes y encontraron que el efecto es muy notorio principalmente en dos bandas; la primera, en la región comprendida entre 240 y 270 nm, que se atribuye a las transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$ , varía al cambiar la naturaleza eléctrica del disolvente, es decir, su constante dieléctrica. La otra banda que se encuentra

alrededor de 308 se atribuye a las transiciones  $n \rightarrow \pi^*$ , los electrones de no enlace se localizan sobre los heteroátomos de la molécula.

En nuestros estudios de espectroscopía electrónica de absorción del mebendazol en diferentes medios de reacción y a cinco diferentes temperaturas, se observa que no hay cambios significativos en la forma del espectro. Sin embargo, se aprecia un ligero desplazamiento hacia mayores longitudes de onda (cambio batocrómico) al ir aumentando la proporción de DMSO del medio de reacción (va desde 312 nm a 318 nm). También, observamos que al disminuir la permitividad eléctrica del medio, es decir aumentar la proporción de DMSO, aumenta la absorptividad molar. En D. acuosa, a pH 1.8, se distinguen dos bandas, una a 236 nm y otra a 288 nm, lo cual indica que hay una gran proporción del Meb se encuentra en su forma protonada ( $\text{MebH}^+$ ).

Cuando se forma un complejo de inclusión, la molécula huésped cambia su medio ambiente eléctrico de 78.5, que es el valor de la constante dieléctrica para el agua<sup>(262)</sup>, o el que corresponda según el medio de reacción empleado, hasta aproximadamente 3, que es el valor que se ha calculado para el interior de las ciclodextrinas<sup>(82)</sup>. Así, se podría esperar un cambio en el comportamiento espectral, semejante al publicado por Cignitti<sup>(268)</sup>, debido al efecto del disolvente.

#### **6.3.1.1.2. Constantes de equilibrio de los compuestos formados entre mebendazol y ciclodextrinas.**

Los espectros electrónicos de absorción del mebendazol en D. acuosa, a 298 K, con y sin ciclodextrinas, muestran máximos de absorbancia a 250 nm y 312 nm. La absorción se ve incrementada al aumentar la concentración de cicloamilosa en la disolución. A diferencia de algunos otros casos publicados, no se observó desplazamiento de los máximos con la adición de la ciclodextrina<sup>(269)</sup>. En el resto de los disolventes usados como medios de reacción se advirtió también un aumento de la absorción con la concentración de anfitrión, y en todos los casos, se registró un ligero desplazamiento hacia menores longitudes de onda. Esto lo podemos ver en la Figura 23, donde se muestran los espectros obtenidos en la mezcla 25% DMSO/agua con la  $\gamma$ -CD. Todos estos cambios espectrales sugieren que hay

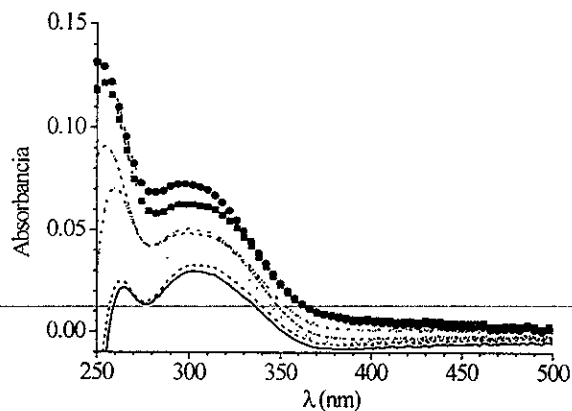


Figura 23: Espectros electrónicos de absorción del mebendazol ( $[Meb] = 10^{-6}$ ) con diferentes concentraciones de  $\gamma$ -CD, en 25% DMSO, a 298 K: (—) 0 M; (---)  $10^{-4}$  M; (···)  $5 \times 10^{-4}$  M; (-·-·-)  $10^{-3}$  M; (-·-·-·-)  $4 \times 10^{-3}$  M; (-■-)  $8 \times 10^{-3}$ ; (-●-)  $10^{-2}$ .

interacción entre Meb y CDs en todos los medios estudiados. No hemos detectado cambios espectrales distintos a los anteriores cuando los estudios se han hecho a diferentes temperaturas, en DMSO y en la disolución acuosa regulada, a pH 7.5.

En las Figuras 24a, 24b, 24c, 24d se muestra como varía el incremento de la absorbancia al aumentar la concentración de la

cicloamilosa, se presentan las isoterms de unión para las cuatro ciclodextrinas, en diferentes medios de reacción, a 298 K.

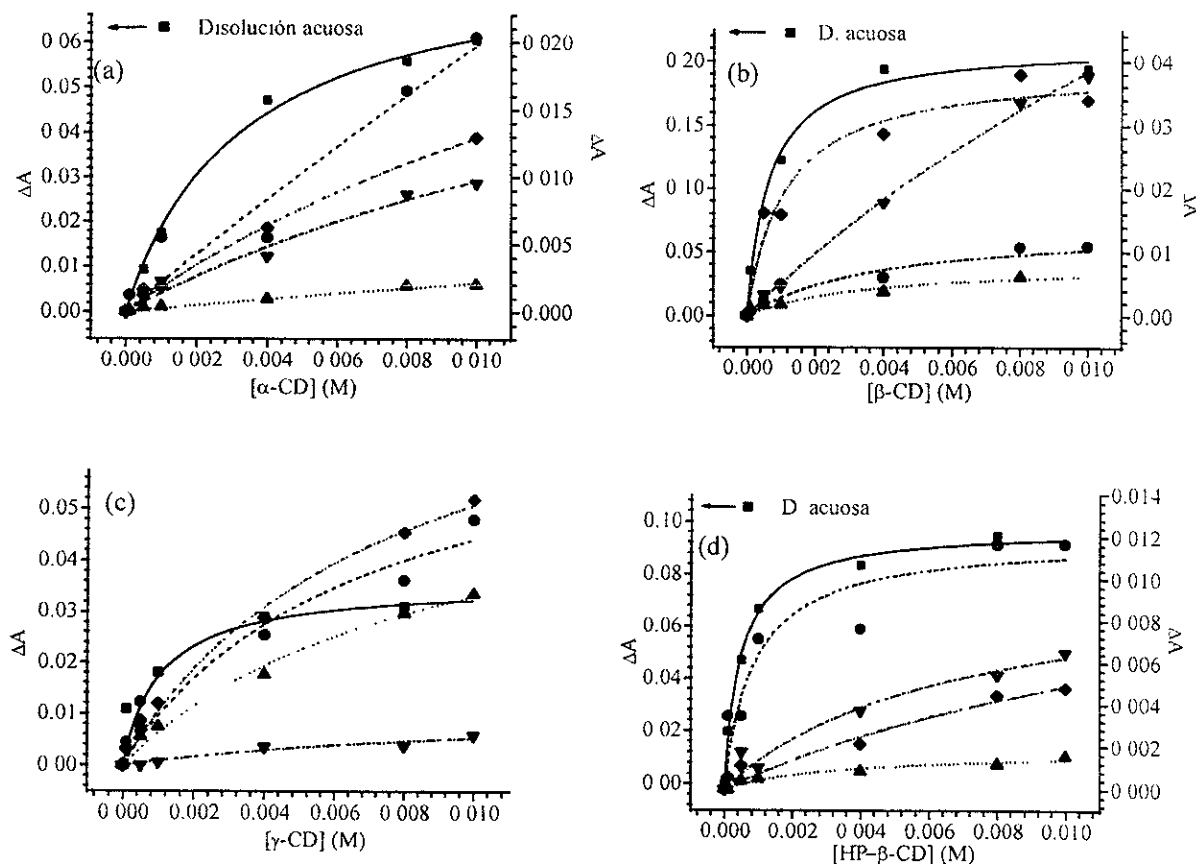


Figura 24: Isotherms de unión obtenidas para el sistema Meb con  $\alpha$ -CD (a),  $\beta$ -CD (b),  $\gamma$ -CD (c) y HP- $\beta$ -CD (d) a 298 K en diferentes disolventes: (■) (—) D. acuosa,  $\lambda = 250$  nm; (●) (---) 25% DMSO,  $\lambda = 314$  nm; (▲) (···) 50% DMSO,  $\lambda = 316$  nm; (▼) (-·-·-) 75% DMSO,  $\lambda = 318$  nm; (◆) (-·-·-·-) DMSO,  $\lambda = 322$  nm. Los símbolos corresponden a los resultados experimentales y las líneas a los ajustes de los mismos a la Ecuación 5.

Los datos se han obtenido a partir de los cambios de absorbancia en 250, 314, 316, 318 y 322 nm para los estudios en D. acuosa, 25% DMSO, 50% DMSO, 75% DMSO y DMSO, respectivamente. En las Figuras 24 vemos, en general, que la saturación se alcanza a menores concentraciones de CD en el medio acuoso que en los otros cuatro medios de reacción utilizados. De ahí que en D. acuosa se encuentran las mayores constantes de interacción con todos los anfitriones estudiados.

Las gráficas anteriores sugieren que el complejo más probable es aquél de estequiometría 1:1. La Ecuación 5 (sección 8) se ha usado para obtener las  $K_{int}^{(234)}$ , cuyos valores están expuestos en la Tabla IX:

CDs	Medio de disolución				
	D. acuosa	25% DMSO	50% DMSO	75% DMSO	DMSO
$\alpha$ -CD	310 $\pm$ 15	170 $\pm$ 15	70 $\pm$ 3	47 $\pm$ 2	47 $\pm$ 1
$\beta$ -CD	1500 $\pm$ 200	380 $\pm$ 70	290 $\pm$ 50	36.1 $\pm$ 0.6	900 $\pm$ 200
$\gamma$ -CD	900 $\pm$ 300	150 $\pm$ 20	113 $\pm$ 8	78 $\pm$ 9	115 $\pm$ 4
HP- $\beta$ -CD	2000 $\pm$ 100	1100 $\pm$ 300	290 $\pm$ 50	140 $\pm$ 16	55 $\pm$ 5

Tabla IX: Constantes de interacción ( $M^{-1}$ ) del mebendazol con varias CDs en diferentes medios de reacción, a 298 K, obtenidas por el método de espectroscopía directa.

Generalmente, con esta molécula huésped, las  $K_{int}$  disminuyen cuando se incrementa el porcentaje de DMSO en el medio de reacción. Con respecto a la temperatura, la  $K_{int}$  aumenta al incrementarse ésta, excepto cuando la  $\gamma$ -CD participa como anfitrión (véase la sección 6.3.2.3).

Adicionalmente, como en el caso del albendazol, se han obtenido las  $K_{int}$  por el método de solubilidad, éste sólo se ha empleado en la disolución acuosa, regulada a pH 7.5 y a 298 K, estudiando los cambios en 250 nm.

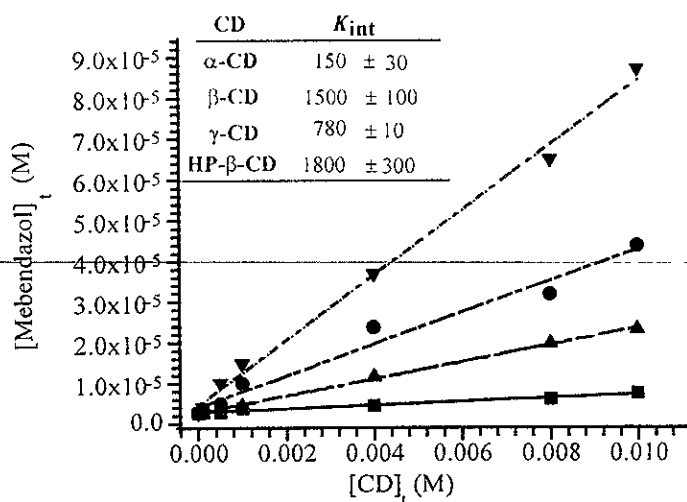


Figura 25: Diagramas de solubilidad de fase del Meb con varias CDs en disolución acuosa a 298 K.: (■) (—)  $\alpha$ -CD; (●) (---)  $\beta$ -CD; (▲) (- · - ·)  $\gamma$ -CD; (▼) (- - - -) HP- $\beta$ -CD. Los símbolos indican los resultados experimentales y las líneas los ajustes lineales.

La tabla insertada en la Figura 25 y la figura misma muestran los valores de las constantes de equilibrio obtenidos por este método y los diagramas de solubilidad de fase para las cuatro ciclodextrinas, respectivamente.

En todos los casos, la solubilidad del mebendazol ( $2.6 \times 10^{-6}$  M) aumenta linealmente en función de la concentración del anfitrión, mostrando siempre una

pendiente por debajo de la unidad. Así, el diagrama de solubilidad se puede considerar tipo  $A_L$ , según la terminología de Higuchi y Connors. Esto indica que ocurre la formación de un complejo soluble de estequiometría 1:1 en cada caso<sup>(251b)</sup>. Además, hay clara evidencia, como ya se ha comentado en este trabajo, que la intensidad de la interacción entre el huésped y el anfitrión dependen del tipo de molécula anfitriona y consecuentemente también, la magnitud de las constantes de equilibrio<sup>(270a-270c)</sup>.

Es importante hacer notar que las  $K_{int}$  determinadas en D. acuosa, a 298 K, por el método de espectroscopía directa son muy similares a las obtenidas por el método de solubilidad.

### 6.3.1.2. Resonancia Magnética Nuclear de protón

Para verificar la formación de los complejos de inclusión y establecer la ubicación de las moléculas huéspedes dentro de las ciclodextrinas, se han realizado estudios de  $^1\text{H}$  RMN bidimensional (NOESY)<sup>(271)</sup>. Debido a la baja solubilidad del Meb en  $\text{D}_2\text{O}$ , no se han podido llevar a cabo los estudios de RMN en este disolvente. La Figura 26 muestra el espectro de NOESY del Meb con la  $\gamma$ -CD, en  $\text{DMSO}-d_6$ , a 25 °C. La intersección de picos indica que los grupos hidroxilo sobre los C2 y C3, borde

ancho de la  $\gamma$ -CD, dan efecto nuclear overhauser con los protones amínicos del mebendazol. También, observamos que hay interacción entre el grupo metilo del huésped y los -OH6 y -H6 de la cicloamilosa.

Un comportamiento similar se observa con la  $\beta$ -CD, en  $\text{DMSO-}d_6$ . A partir de estos espectros se concluye que una molécula de Meb está insertada dentro de una molécula de  $\gamma$ -CD o de  $\beta$ -CD por el lado de los hidroxilos secundarios (parte ancha de estas CDs), siendo el grupo imidazólico el que se ajusta en el interior de las CDs, casi completamente (ver Fig. 27).

El espectro NOESY del Meb con  $\alpha$ -CD, en  $\text{DMSO-}d_6$ , muestra que hay interacción entre los grupos bencénicos del huésped y los -OH2 y -OH3, correspondientes a la  $\alpha$ -CD. Se puede así establecer que el mebendazol interacciona con la ciclohexamilosa por la parte de los hidroxilos secundarios.

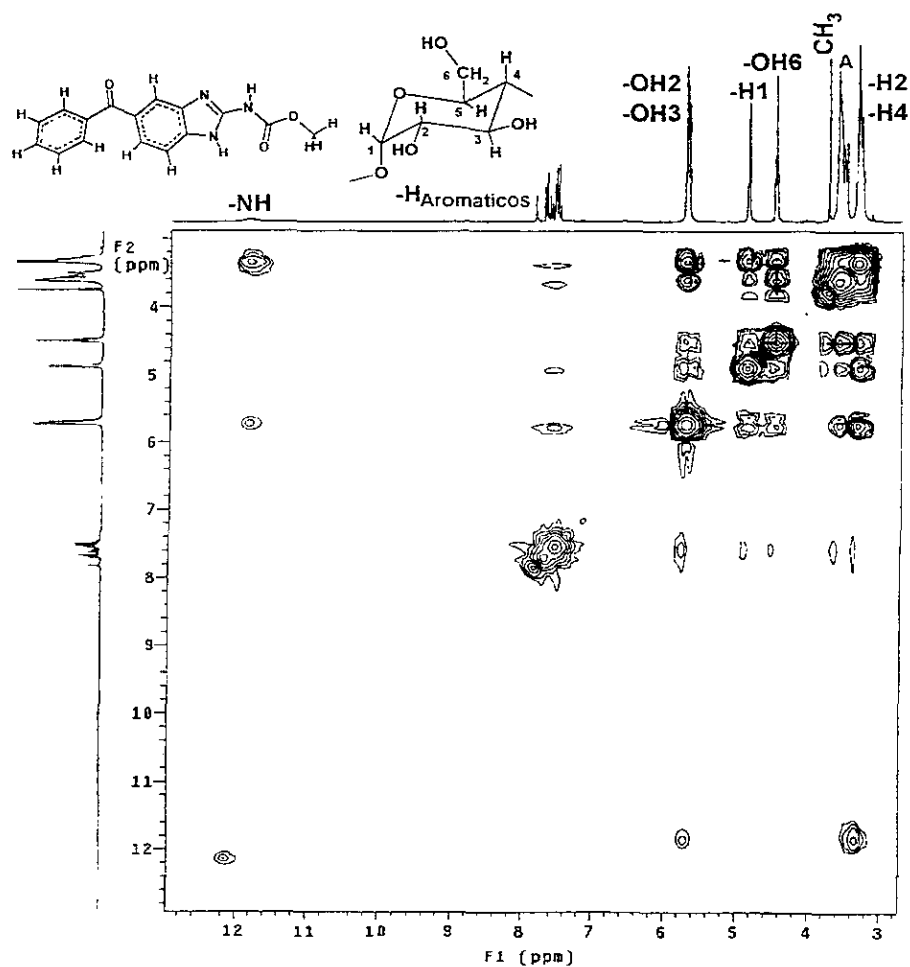


Figura 26: Espectro NOESY para el Meb con  $\gamma$ -CD en  $\text{DMSO-}d_6$ , a 298 K y 300 MHz. "A" corresponde a H6, H3 y H5 de la cicloamilosa.

### 6.3.1.3. Mecánica Molecular

Teniendo en cuenta los resultados experimentales, se realizaron cálculos de mecánica molecular para visualizar las estructuras más probables de los complejos.

Se han considerado muchas de las estructuras posibles del mebendazol con respecto a las cicloamilosas y se han optimizado varias configuraciones estructurales con cada anfitrión. En el caso de la  $\alpha$ -CD, se encontró el mínimo de energía cuando el grupo bencilo del Meb se encuentra parcialmente incluido en la cavidad por la parte más amplia (Figura 27a). El valor pequeño de la constante de equilibrio (Tabla IX) se puede explicar en función de las débiles interacciones resultantes de la pequeña superficie de contacto entre el anillo bencénico del huésped y la cicloamilosa.

Los compuestos de inclusión con las otras tres ciclodextrinas presentan una estructura muy similar entre ellos. En los tres casos, el grupo carbamato del Meb penetra en la cavidad por la parte más ancha de la CD. Pero la profundidad de la inclusión es diferente (Figuras 27b, 27c, y 27d). Se puede observar que en el caso de la ciclodextrina hidroxipropilada, el área de contacto entre Meb y CD es mayor que en el resto de los casos. Por lo tanto, el gran valor de la  $K_{int}$  para [Meb  $\subset$  HP- $\beta$ -CD], se puede explicar fácilmente. Las diferencias entre las constantes de interacción del Meb, con la  $\beta$ - y la  $\gamma$ -CDs ( $K_{int} \gamma\text{-CD} < K_{int} \beta\text{-CD}$ ) se pueden atribuir a la menor interacción en el complejo [Meb  $\subset$   $\gamma$ -CD] debido a la mayor distancia que hay entre el huésped y el anfitrión dentro de la cavidad de la  $\gamma$ -CD.

Las estructuras obtenidas por mecánica molecular están en concordancia con los resultados de  $^1\text{H}$  RMN y con las magnitudes de las constantes de interacción.

Estos resultados son muy parecidos a los obtenidos con el albendazol, este hecho no es extraño, ya que ambas moléculas son muy parecidas estructuralmente.

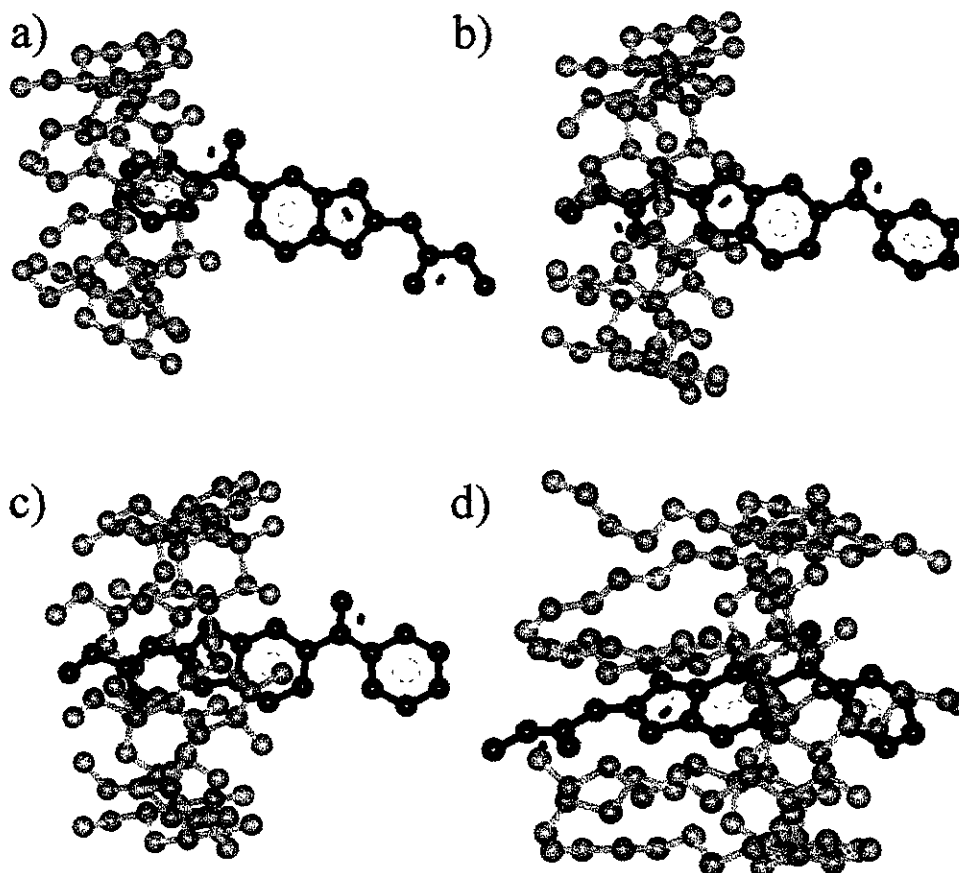


Figura 27. Estructuras probables de los complejos de inclusión del mebendazol con  $\alpha$ -CD,  $\beta$ -CD,  $\gamma$ -CD y HP- $\beta$ -CD, obtenidas por mecánica molecular.

## 6.3.2. Discusión

### 6.3.2.1. Efecto de las diferentes ciclodextrinas sobre la complejación

Se puede encontrar en la literatura una gran cantidad de estudios relacionados con la selectividad que el tamaño de la cavidad de las ciclodextrinas, manifiesta por los diferentes huéspedes. Sin embargo, su profundidad es en todos los casos igual, a excepción de sus derivados, en este trabajo se presenta el efecto de la extensión de la cavidad debido a la presencia de grupos hidroxipropilo en la  $\beta$ -CD<sup>(56, 173)</sup>. No obstante, aparte de las dimensiones de las CDs, hay otros factores que contribuyen a las magnitudes de las constantes de estabilidad; aunque es cierto que las dimensiones de la cavidad juegan un papel relevante en el inicio de la reacción de complejación.



La intensidad de la interacción entre huésped y anfitrión va a depender de la relación de tamaños entre ambos. Teniendo en cuenta las ciclodextrinas empleadas en este trabajo, se encuentra que la cavidad de la  $\alpha$ -CD es demasiado pequeña para ajustar bien al mebendazol, mientras que la  $\gamma$ -CD es demasiado grande<sup>(2a)</sup>. Por otro lado, la  $\beta$ -CD y sus derivados proporcionan un espacio ideal para un adecuado ajuste del mebendazol. La HP- $\beta$ -CD es un caso especial debido a que los grupos hidroxipropilo tienen libre movilidad y confieren a la cicloamilosa una mayor superficie de contacto con la molécula huésped, toda la molécula del mebendazol (la distancia entre el benceno y el CH<sub>3</sub> del grupo carbamato es aproximadamente 14.9 Å, y cabe perfectamente en la profunda cavidad de la HP- $\beta$ -CD).

Considerando la relación de tamaños entre el Meb y las CDs, el orden de preferencia por el Meb sería: HP- $\beta$ -CD >  $\beta$ -CD >  $\gamma$ -CD  $\cong$   $\alpha$ -CD. En la Tabla IX se puede observar que cuando se mantienen fijas las variables: pH, disolvente, temperatura y huésped, existe variación en las  $K_{int}$ , lo cual indica que el radio anular de la cavidad de las CDs influye sobre la selectividad de la complejación. Este orden de preferencia se refleja en las  $K_{int}$  obtenidas en D. acuosa y en las mezclas al 25% y 50% de DMSO, mientras que en 75% de DMSO y DMSO puro existe discrepancia al respecto del orden impuesto por la relación de tamaños, por lo cual sugerimos que otros factores participan significativamente en la complejación.

### 6.3.2.2. Efecto del disolvente

El medio de reacción es la tercera especie reactiva de nuestros sistemas de estudio, por lo tanto, son posibles diferentes interacciones, tales como: CD-CD, CD-Huésped, Huésped-Huésped, CD-Disolvente, Huésped-Disolvente y CD-Huésped-Disolvente. Teniendo en cuenta que la especie que nos interesa es el complejo de inclusión entre el huésped y el anfitrión, el sentido de la inclusión viene definida por el poder de interacción del mebendazol con el disolvente o con la cicloamilosa. Lo anterior dependerá en gran medida de los cambios en la esfera de solvatación de ambas especies para formar el complejo y de la magnitud de las interacciones con la cavidad.

La Figura 28 muestra el cambio de las  $K_{int}$  con el disolvente y la inserción exhibe el aumento de solubilidad del Meb al incorporar DMSO al medio, esto nos dice que la solvatación en este disolvente orgánico es mayor que en el agua y también que el efecto solvofóbico disminuye a medida que disminuye la polaridad del medio de reacción.

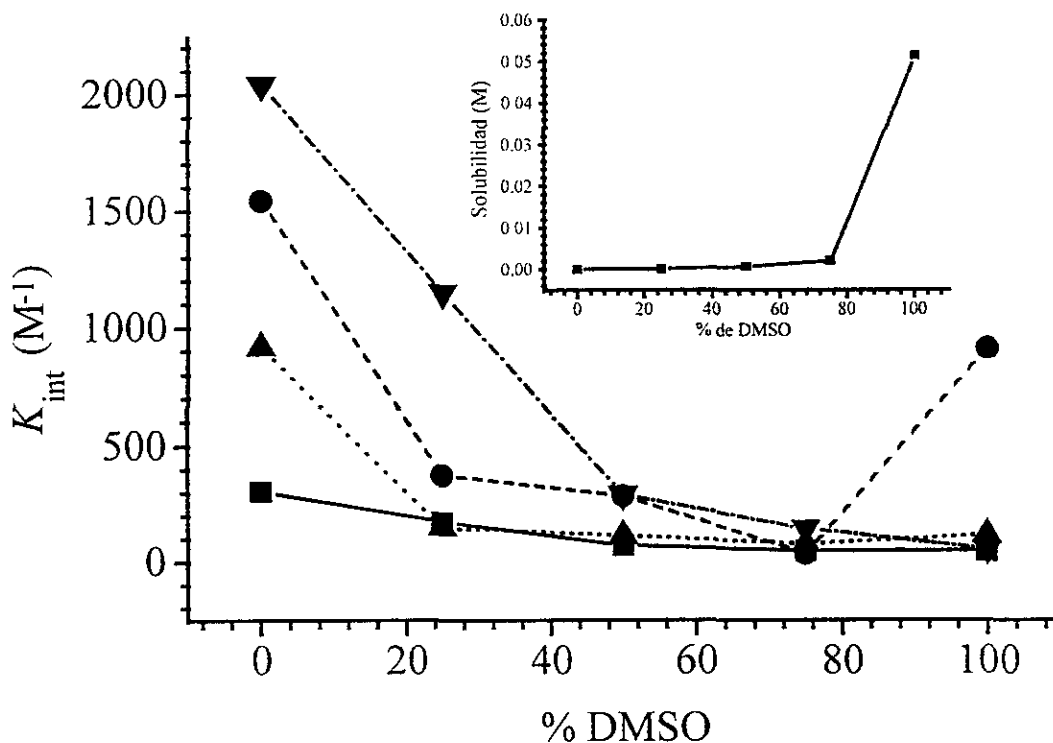


Figura 28: Variación de las constantes de equilibrio del Meb con  $\alpha$ -CD ( $\blacksquare$ ),  $\beta$ -CD ( $\bullet$ ),  $\gamma$ -CD ( $\blacktriangle$ ) y HP- $\beta$ -CD ( $\blacktriangledown$ ) en función de la composición del medio, a 298 K. La inserción representa la solubilidad del mebendazol en los distintos disolventes empleados, a 298 K.

Observamos que, en general, la  $K_{int}$  disminuye a medida que aumenta la proporción de DMSO en el medio de reacción, o lo que es lo mismo cuando disminuye el efecto solvofóbico. Así, a partir de estos resultados se puede concluir que el disolvente rige el proceso de complejación del Meb con las cuatro CDs y por lo tanto será el efecto solvofóbico la interacción predominante en estos sistemas de reacción.

Para poder comparar entre las fuerzas que predominan con cada ciclodextrina, debemos considerar que la estructura del complejo se mantiene más o menos constante, ya que si las variaciones en la superficie de contacto y por lo tanto, en la esfera de solvatación son muy importantes, nuestro sistema se convierte

ESTA TESIS NO DEBE SALIR DE LA BIBLIOTECA

en un problema con dos variables, el efecto del disolvente y las interacciones de van der Waals entre la cavidad y el huésped. Consideramos que los cambios de tendencia, puntos de inflexión, en cuanto a los cambios de las  $K_{int}$  con la proporción de DMSO en el medio se deben a cambios más pronunciados en la estructura del complejo.

### 6.3.2.3. Otros aspectos termodinámicos

En las Tablas IX y X se muestran algunos parámetros termodinámicos ( $K_{int}$ ,  $\Delta H$  y  $\Delta S$ ) para las reacciones de complejación con el mebendazol.  $\Delta H$  y  $\Delta S$  se han obtenido a partir del análisis de van't Hoff (Figuras 29a y 29b) (Ecuación 8).

	$\Delta H$ (kJ/mol)		$\Delta S$ (J/mol K)	
	D. acuosa	DMSO	D. acuosa	DMSO
$\alpha$ -CD	$10.98 \pm 0.04$	$14.47 \pm 0.07$	$84.6 \pm 0.1$	$80.7 \pm 0.2$
$\beta$ -CD	$5.10 \pm 0.01$	$15.83 \pm 0.03$	$78.19 \pm 0.03$	$109.95 \pm 0.09$
$\gamma$ -CD	$-33.50 \pm 0.04$	$-15.90 \pm 0.01$	$-55.3 \pm 0.1$	$13.85 \pm 0.02$
HP- $\beta$ -CD	$3.85 \pm 0.01$	$29.1 \pm 0.1$	$76.38 \pm 0.03$	$131.1 \pm 0.3$

Tabla X: Algunos valores termodinámicos para la reacción de complejación entre mebendazol y varias CDs, en disolución acuosa y en DMSO.

A igual que en el estudio del albendazol, también observamos que el proceso de complejación es preferentemente gobernado por un factor entrópico. Sólo la reacción con  $\gamma$ -CD tiene un comportamiento diferente, se observa que en ambos medios hay una contribución bastante significativa del factor entálpico.

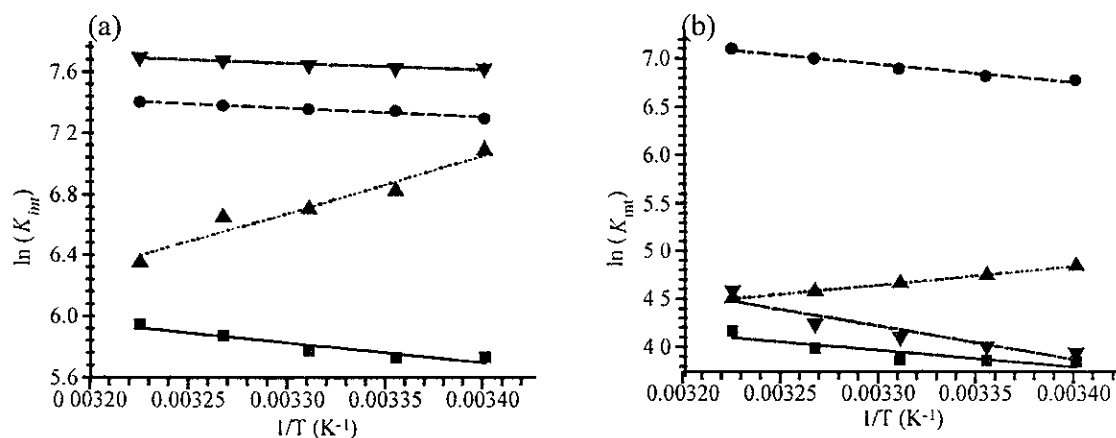


Figura 29: Cambio de la  $K_{int}$  con la temperatura de los sistemas Meb con  $\alpha$ -CD (■) (—),  $\beta$ -CD (●) (---),  $\gamma$ -CD (▲) (--) y HP- $\beta$ -CD (▼) (---) en D. acuosa, pH 7.5 (a) y en DMSO (b). Los símbolos representan los datos experimentales y las líneas los ajustes lineales.

En las figuras 29a y 29b encontramos más claramente evidenciado el comportamiento similar entre  $\alpha$ -,  $\beta$ - y HP- $\beta$ - CDs y las diferencias pronunciadas con la  $\gamma$ -CD.

Considerando todos los factores participantes en la complejación, se pueden discutir los parámetros termodinámicos en relación a cada uno de ellos. A partir de estos resultados se deduce que, ni la diferencia en el número de moléculas de agua excluidas de la cavidad, ni la liberación de la tensión del anillo son fuerzas demasiado importantes en el proceso de complejación del Meb con las CDs. En concordancia con lo anterior, el cambio entrópico mayor (más positivo) debería corresponder a la ciclooctamilosa, ya que su cavidad es la de mayor tamaño y por lo tanto, el movimiento de los anillos glicosídicos estará menos restringido por la introducción del mebendazol. Se esperaría que el  $\Delta H$  fuera más favorable (más negativo o menos positivo) para  $\gamma$ -CD que para  $\beta$  y HP- $\beta$ - CDs y aún más que para  $\alpha$ -CD, según el número de moléculas de disolvente que se excluyen de la cavidad. Sin embargo, en este trabajo se encuentra que en D. acuosa  $\Delta S$  varía así:  $\gamma$ -CD < HP- $\beta$ -CD  $\cong$   $\beta$ -CD <  $\alpha$ -CD, mientras que en DMSO:  $\gamma$ -CD <  $\alpha$ -CD <  $\beta$ -CD < HP- $\beta$ -CD, a igual que  $\Delta H$ .

Considerando que la estructura de los complejos de inclusión de Meb con HP- $\beta$ -CD en ambos disolventes es muy parecida, la diferencia en su comportamiento termodinámico no se puede explicar por las diferencias en las interacciones huésped-anfitrión, sino que las contribuciones específicas del disolvente son de gran importancia.  $\Delta S$  y  $\Delta H$  positivos son típicos de las interacciones solvofóbicas clásicas. También, para la  $\alpha$ - y la  $\beta$ - CDs encontramos valores similares de esas variables termodinámicas, por lo que también en estos sistemas podemos decir que el efecto del disolvente es la principal fuerza estabilizadora.

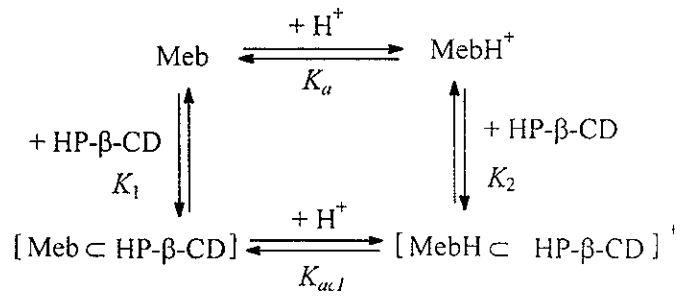
A partir del análisis de las  $K_{int}$  en función del medio de reacción, sección 6.3.2.2., deducimos en el caso de la  $\gamma$ -CD que el disolvente ejerce un importante papel en la complejación, dado que al disminuir el efecto solvofóbico, es decir, aumentar la interacción entre el huésped y el disolvente, la constante de interacción disminuye. Sin embargo, las magnitudes de  $\Delta H$  y  $\Delta S$  son típicas de interacciones tipo

van der Waals entre el huésped y la ciclooctamilosa, Jencks denominó a este tipo de fuerzas como interacciones solvofóbicas no clásicas<sup>(139)</sup>.

### 6.3.2.4. Influencia de la protonación

Se realizaron estudios de solubilidad con el mebendazol y HP- $\beta$ -CD, en disolución acuosa, a pH 1.8; de este modo la influencia de la carga sobre el proceso de inclusión se puede valorar (Figuras 30a y 30b). En estas condiciones de reacción, un

98.84% del mebendazol se encuentra protonado. Los equilibrios que pueden tener lugar en estas condiciones están indicados en el Esquema III.



Esquema III

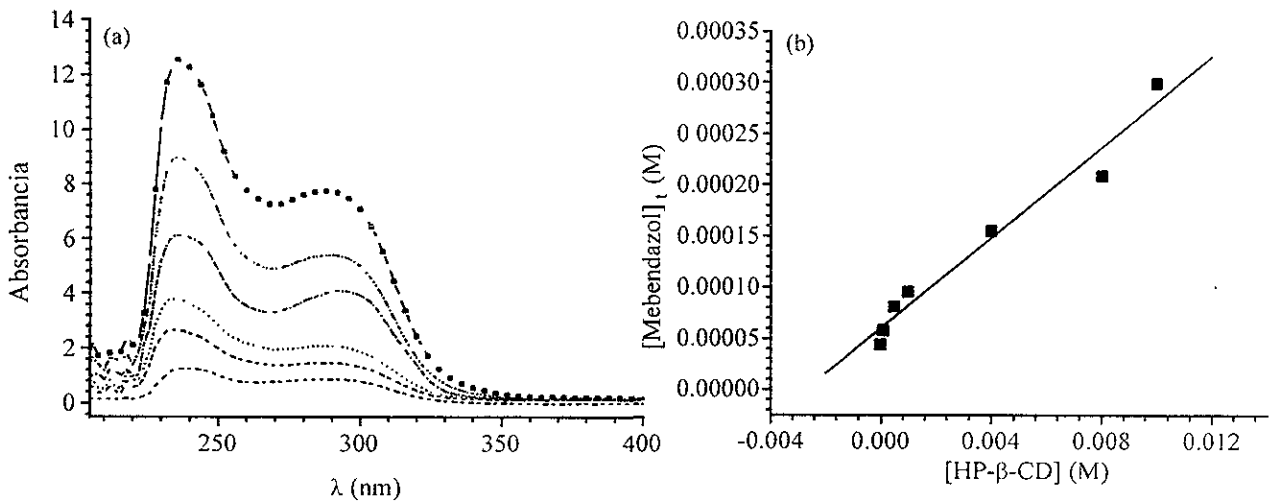


Figura 30: (a) Espectros electrónicos de absorción del mebendazol, a 298 K, con diversas concentraciones de HP- $\beta$ -CD: (—) 0 M; (---)  $10^{-4}$  M; (---)  $5 \times 10^{-4}$  M; (-·-·-)  $10^{-3}$  M; (-·-·-·)  $4 \times 10^{-3}$  M; (■)  $8 \times 10^{-3}$  M en disolución acuosa pH 1.8 y (b) diagrama de solubilidad de fases para este sistema.

La constante de interacción en este medio es  $351.5 \pm 26.6 \text{ M}^{-1}$ , obtenida a partir de la Ecuación 4. El  $pK_a$  del mebendazol varía de 3.5 a 2.8 (sección 8) en presencia de la cicloheptamilosa hidroxipropilada. Estos datos nos indican que la inclusión con la forma neutra del mebendazol es mucho mayor que con la forma catiónica. Es decir, la disminución del carácter hidrofóbico del huésped disminuye la capacidad de unión con la cicloamilosa.

En conclusión, las fuerzas electrostáticas huésped-anfitrión, no favorecen la estabilización del complejo entre el Meb y la HP- $\beta$ -CD.

### 6.3.3. Conclusiones

- \* A igual que el albendazol, la orientación del huésped dentro de la cavidad de la ciclodextrina viene definida por su capacidad de interacción con el disolvente o con el interior de las CDs.
- \* La relación de tamaños es significativa para el proceso de inclusión, al igual que con el albendazol, se observa que el mayor ajuste tiene lugar con la  $\beta$ - y la HP- $\beta$ -CDs y que los complejos con  $\alpha$ -CD varían su estructura, con respecto a los otros, para conseguir una mayor estabilidad. Este efecto es más notorio en D. acuosa que en el resto de los medios de reacción considerados.
- \* La estabilidad de los complejos de inclusión formados entre el Meb y las diferentes ciclodextrinas depende fundamentalmente del efecto solvofóbico. Esto se refleja, en general, a través de los valores positivos de  $\Delta S$  y a partir de las tendencias observadas al estudiar el cambio de la  $K_{int}$  en función de la composición del medio de reacción. Este mismo comportamiento fue observado en el caso del albendazol.
- \* También, el efecto de la carga sobre el mebendazol es semejante al comportamiento observado con el albendazol, es decir, la protonación del huésped desestabiliza el complejo.

## 6.4. TIABENDAZOL

El tiabendazol (2-(4-tiazolil) bencimidazol) es un antihelmíntico de la familia de los bencimidazoles, se absorbe rápidamente por vía oral, pero produce efectos adversos como vómitos. Es estable a condiciones normales de humedad y temperatura y es ligeramente inestable a la luz. En disolución acuosa, el tiabendazol es más soluble y se disuelve más rápidamente que el albendazol y el mebendazol, aunque se considera casi insoluble en agua.

Debido a su semejanza estructural con los otros dos bencimidazoles previamente mencionados (Figura 3, página 16), es una molécula adecuada para estudiar comparativamente las fuerzas intermoleculares con ciclodextrinas. A igual que el Alb y el Meb, tiene dos posibles zonas de interacción con las CDs, la parte bencimidazólica y el anillo tiazólico.

### 6.4.1. Resultados

#### 6.4.1.1. Espectroscopía UV-visible

##### 6.4.1.1.1. Características del espectro electrónico

Para llevar a cabo la mayor parte de los estudios de complejación hemos usado espectroscopía electrónica de absorción en la región del ultravioleta<sup>(252)</sup>. Los cambios observados en estos espectros nos sirven para obtener las  $K_{int}$  en cada medio de reacción y a cada temperatura estudiados. Antes de comenzar la discusión de los resultados es necesario analizar como varían los espectros electrónicos de absorción dependiendo del disolvente y de la temperatura. Especialmente las diferencias van a deberse a las interacciones entre soluto y disolvente que van a conferir diferentes características de polaridad a la molécula en el estado excitado, así como cambios en la simetría de los orbitales, lo cual nos va a llevar a cambios en el espectro, ya sean de intensidad o de la posición de su máximo de absorción<sup>(262)</sup>.

En el caso del tiabendazol, observamos una disminución en el coeficiente de extinción, a medida que aumenta la proporción de DMSO en el medio. También, se

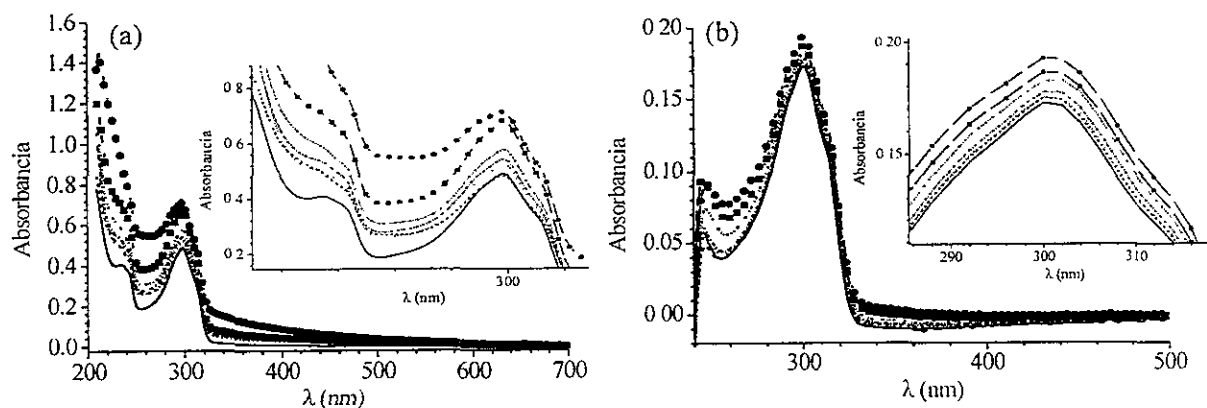
observa un ligero desplazamiento del máximo de absorbancia desde 298 nm, en disolución acuosa pura, a 300 nm en la mezcla al 25% de DMSO, 302 nm en 50% y 75% y finalmente 304 nm en DMSO al 100%. En todos los disolventes también se aprecia un hombro que sufre un desplazamiento batocrómico, desde 312 nm (en la disolución acuosa regulada a pH 7.5) hasta 318 nm en DMSO.

En disolución acuosa, regulada a pH 1.8, aparecen dos máximos de absorción, uno en 244 nm y otro en 302 nm, con un pequeño hombro en 318 nm. La forma del espectro es muy similar a la comentada hasta ahora, pero los coeficientes de extinción aumentan considerablemente. En estas condiciones, un 99.87% del total del tiabendazol se encuentra en forma protonada, así que el espectro observado pertenece a la forma catiónica,  $TiabH^+$ .

La forma de los espectros se mantiene en todos los medios de reacción y a todas las temperaturas estudiadas.

#### 6.4.1.1.2. Constantes de equilibrio de los compuestos formados entre tiabendazol y ciclodextrinas.

En la Figura 31 se muestran los espectros correspondientes al tiabendazol puro y con diferentes concentraciones de  $\beta$ -CD en los cinco medios de reacción estudiados, a 298 K (buffer acuoso a pH 7.5, DMSO y las mezclas de ambos al 25, 50 y 75%).





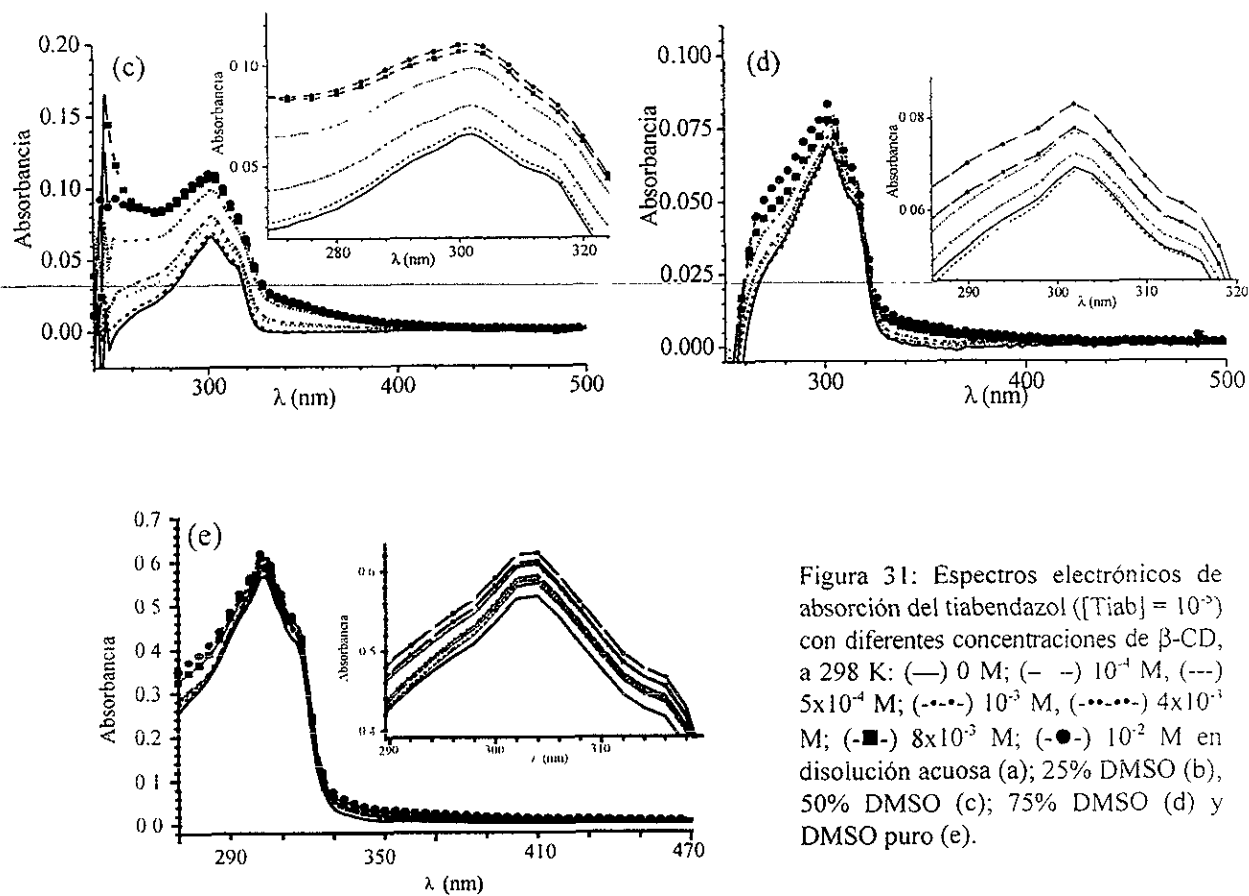


Figura 31: Espectros electrónicos de absorción del tiabendazol ( $[Tiab] = 10^{-5}$ ) con diferentes concentraciones de  $\beta$ -CD, a 298 K: (—) 0 M; (- -)  $10^{-4}$  M, (---)  $5 \times 10^{-4}$  M; (-.-.-)  $10^{-3}$  M, (-.-.-.-)  $4 \times 10^{-3}$  M; (-■-)  $8 \times 10^{-3}$  M; (-●-)  $10^{-2}$  M en disolución acuosa (a); 25% DMSO (b), 50% DMSO (c); 75% DMSO (d) y DMSO puro (e).

Como vemos en las figuras anteriores, la absorción aumenta en toda la región ultravioleta, al ir aumentando la concentración de la  $\beta$ -CD. Esto ocurre en cualquiera de los cinco medios de reacción estudiados. Para las otras tres ciclodextrinas, y a diferentes temperaturas, el comportamiento es bastante parecido. Como ya se ha mencionado en los casos anteriores, estas variaciones espectrales se atribuyen a las interacciones entre el tiabendazol y cada una de las ciclodextrinas<sup>(265b)</sup>.

Como ya se ha comentado, el tiabendazol tiene la opción de formar complejos 1:2. Sin embargo, la probabilidad de formación de un complejo de esta estequiometría es muy baja, como se puede deducir a partir de los resultados obtenidos en la isoterma de unión (Figura 32).

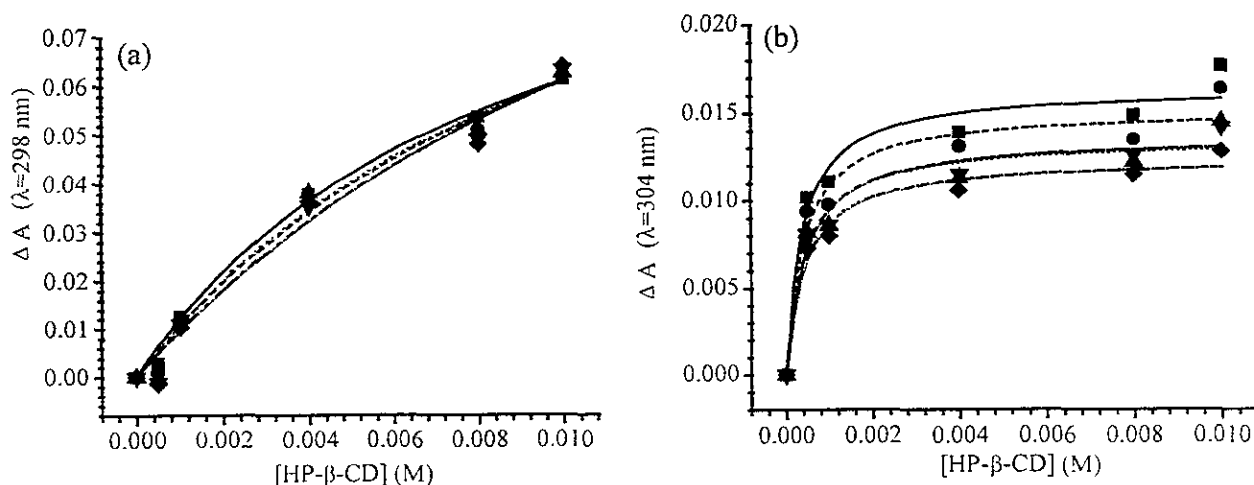


Figura 32: Isothermas de unión obtenidas para los sistemas Tiab ( $[Tiab] = 10^{-5}$ ) con HP- $\beta$ -CD en D. acuosa, pH 7.5 (a) y en DMSO (b) a distintas temperaturas: (■) (—) 294 K; (●) (— —) 298 K; (▲) (---) 302 K; (▼) (-.-.-) 306 K; (◆) (-...-.-) 310 K. Los símbolos corresponden a los resultados experimentales y las líneas a los ajustes de los mismos a la Ecuación 5 (sección 8).

En la Figura 32 se muestran los cambios de absorbancia en presencia de diferentes concentraciones de HP- $\beta$ -CD, en disolución acuosa y DMSO. En la gráfica (a) vemos como disminuye la constante de equilibrio con la temperatura, mientras que lo contrario puede sugerirse en DMSO. A igual que también resulta evidente la

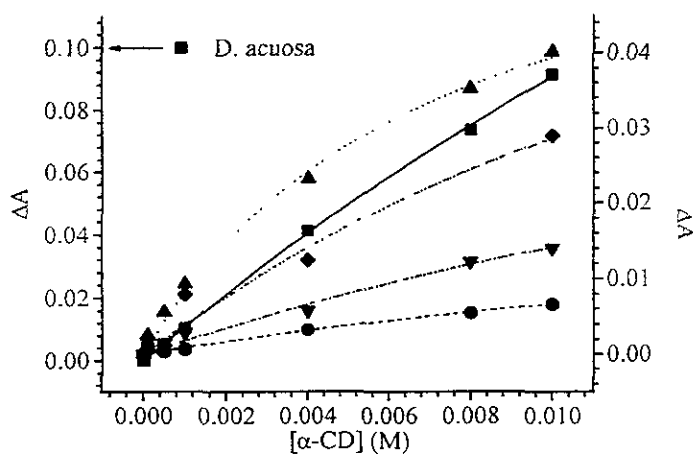


Figura 33: Isothermas de unión obtenidas para el sistema Tiab ( $[Tiab] = 10^{-5}$ ) con  $\alpha$ -CD a 298 K en diferentes disolventes: (■) (—) D. acuosa,  $\lambda = 298$  nm; (●) (— —) 25% DMSO,  $\lambda = 300$  nm; (▲) (---) 50% DMSO,  $\lambda = 302$  nm; (▼) (-.-.-) 75% DMSO,  $\lambda = 302$  nm; (◆) (-...-.-) DMSO,  $\lambda = 304$  nm. Los símbolos corresponden a los resultados experimentales y las líneas a los ajustes de los mismos a la Ecuación 5.

mayor magnitud de las  $K_m$  en el medio orgánico.

En la Figura 33, los cambios en la complejación debidos al disolvente son reflejados en las variaciones del incremento de absorbancia con la concentración de CD. Los cambios de absorbancia se han seguido a 298, 300, 302, 302 y 304 nm en D. acuosa, 25%, 50%, 75% y DMSO, respectivamente.

La mayor pendiente se observa en la curva de la mezcla al 50%, lo que indica el mayor valor de la constante de equilibrio en este medio.

A partir de las isoterma de unión de la Figura 33, se obtienen los valores de las  $K_{int}$  que se exponen en la Tabla XI.

Medio de disolución					
CDs	D. acuosa	25% DMSO	50% DMSO	75% DMSO	DMSO
$\alpha$ -CD	23.7 $\pm$ 0.5	40 $\pm$ 1	143 $\pm$ 5	50 $\pm$ 2	46 $\pm$ 4
$\beta$ -CD	49 $\pm$ 3	116 $\pm$ 7	304 $\pm$ 7	400 $\pm$ 40	1200 $\pm$ 300
$\gamma$ -CD	38 $\pm$ 4	54.3 $\pm$ 0.9	190 $\pm$ 20	130 $\pm$ 10	100 $\pm$ 20
HP- $\beta$ -CD	116 $\pm$ 7	168 $\pm$ 6	186 $\pm$ 7	310 $\pm$ 30	2500 $\pm$ 600

Tabla XI: Constantes de interacción ( $M^{-1}$ ) de tiabendazol con varias CDs en diferentes medios de reacción, a 298 K, los resultados fueron obtenidos por espectroscopía directa.

Además del método de espectroscopía directa para obtener la magnitud de la  $K_{int}$ , también, se usó el método de solubilidad en D. acuosa a 298 K.

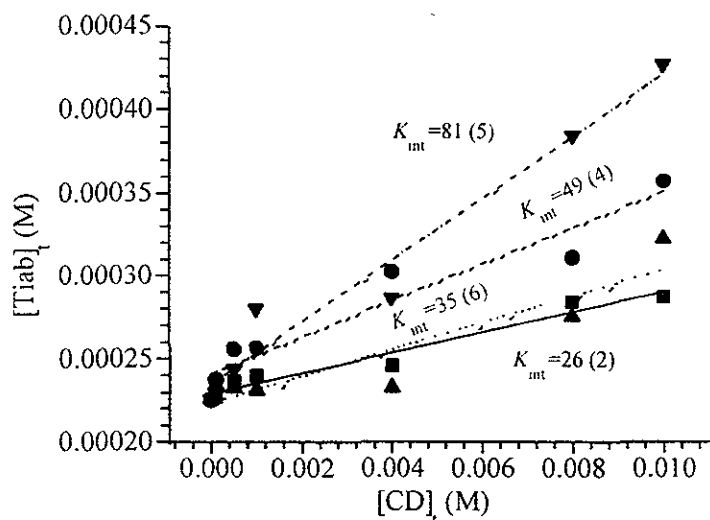


Figura 34. Diagramas de solubilidad de fase del tiabendazol y varias CDs en disolución acuosa a 25 °C: ■,  $\alpha$ -CD; ●  $\beta$ -CD; ▲  $\gamma$ -CD; ▼ HP- $\beta$ -CD. Las  $K_{int}$  se han obtenido utilizando la Ecuación 1 (sección 8).

A igual que en los capítulos anteriores, los diagramas de solubilidad de fase para las cuatro ciclodextrinas en D. acuosa, a 298 K, muestran una tendencia lineal tipo  $A_L$  según la terminología de Higuchi y Connors, lo que indica la formación de un complejo 1:1 más soluble que el huésped solo ( $2.26 \times 10^{-4}$  M) (Figura 34).

A partir de ambos métodos encontramos concordancia en los valores de las constantes de equilibrio.

#### 6.4.1.2. Resonancia magnética nuclear

Para el tiabendazol, los estudios de  $^1\text{H}$  RMN (NOESY) únicamente se han hecho en  $\text{DMSO-}d_6$ , debido a la baja solubilidad de esta molécula huésped en disolución acuosa. A partir de los mapas de contornos podremos verificar la formación de los complejos y tener una idea sobre la estructura de los complejos formados en disolución. La Figura 35 muestra el espectro de NOESY del tiabendazol con la  $\alpha$ -CD, en  $\text{DMSO-}d_6$ , a 298 K. La intersección de picos indica que los grupos hidroxilo sobre los C2 y C3, parte ancha de la  $\alpha$ -CD, dan una débil señal NOE con los protones del anillo tiazólico y se registra un efecto mayor con los protones sobre el benceno del grupo bencimidazólico. Con estos últimos también se observa una ligera interacción con los H3 del interior de la ciclohexamilosa. Es decir, el grupo bencimidazólico del tiabendazol penetra a la  $\alpha$ -CD por su lado más ancho.

El mismo tipo de estudios se hicieron con los sistemas de reacción formados por Tiab con cicloheptamilosa y con ciclooctamilosa. Un comportamiento muy parecido al de la  $\alpha$ -CD es manifestado por la  $\gamma$ -CD; así, la estructura de estos complejos debe ser similar a los  $[\text{Tiab} \subset \alpha\text{-CD}]$ . Mientras que con la  $\beta$ -CD, sólo interacciona el grupo tiazólico del huésped con los grupos externos, OH3, OH2 y H1, de la ciclodextrina. A partir de lo anterior, se deduce que la profundidad de la inclusión con este anfitrión es menor que en los casos anteriores y el sentido de la inclusión es a la inversa.

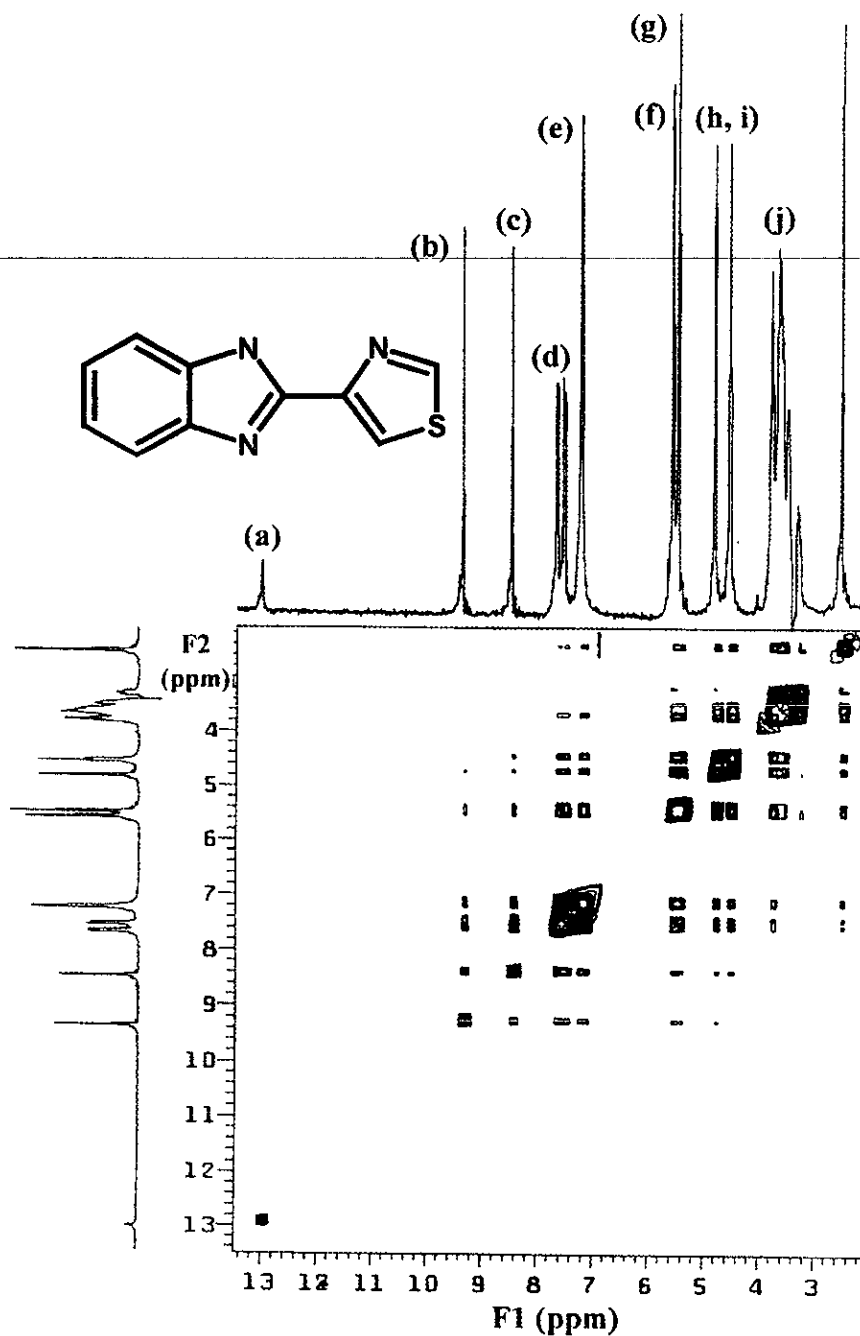





Figura 35. Espectro NOESY del tiabendazol con  $\alpha$ -CD en  $\text{DMSO-}d_6$ , a 298K y 300 MHz. Donde "a" es N-H, "b" es

"c" es , "d" es , "e" es , "f" es OH(2), "g" es OH(3), "h" es H(1), "i" es OH(6) y "j" es H(2), H(4), H(3), H(5), H(6).

### 6.4.1.3. Mecánica Molecular

Para visualizar las estructuras más probables de los complejos formados en disolución, hemos realizado estudios de mecánica molecular.

Considerando las posibles estructuras del tiabendazol con las cuatro diferentes cicloamilosas, se han optimizado todas y cada una de ellas con el fin de obtener la configuración a la cual corresponde el mínimo de energía.

Las Figuras 36a y 36c muestran las estructuras más probables de los complejos de inclusión con  $\alpha$ - y  $\beta$ -CD, las cuales no concuerdan con los resultados de  $^1\text{H}$  RMN (NOESY), Figuras 36b y 36d. Es de destacar este hecho, ya que como se ha comentado previamente, los cálculos de mecánica molecular no tienen en consideración el efecto solvofóbico y en esta molécula en particular, el grupo tiazólico tiene un carácter marcadamente solvofílico que le hace interactuar fuertemente con el disolvente. Esta característica no es contemplada en este método de cálculo y por lo tanto en algunas ocasiones produce este tipo de error. A pesar de esta limitante, el sentido de la inclusión coincide perfectamente con los resultados observados por resonancia magnética nuclear.

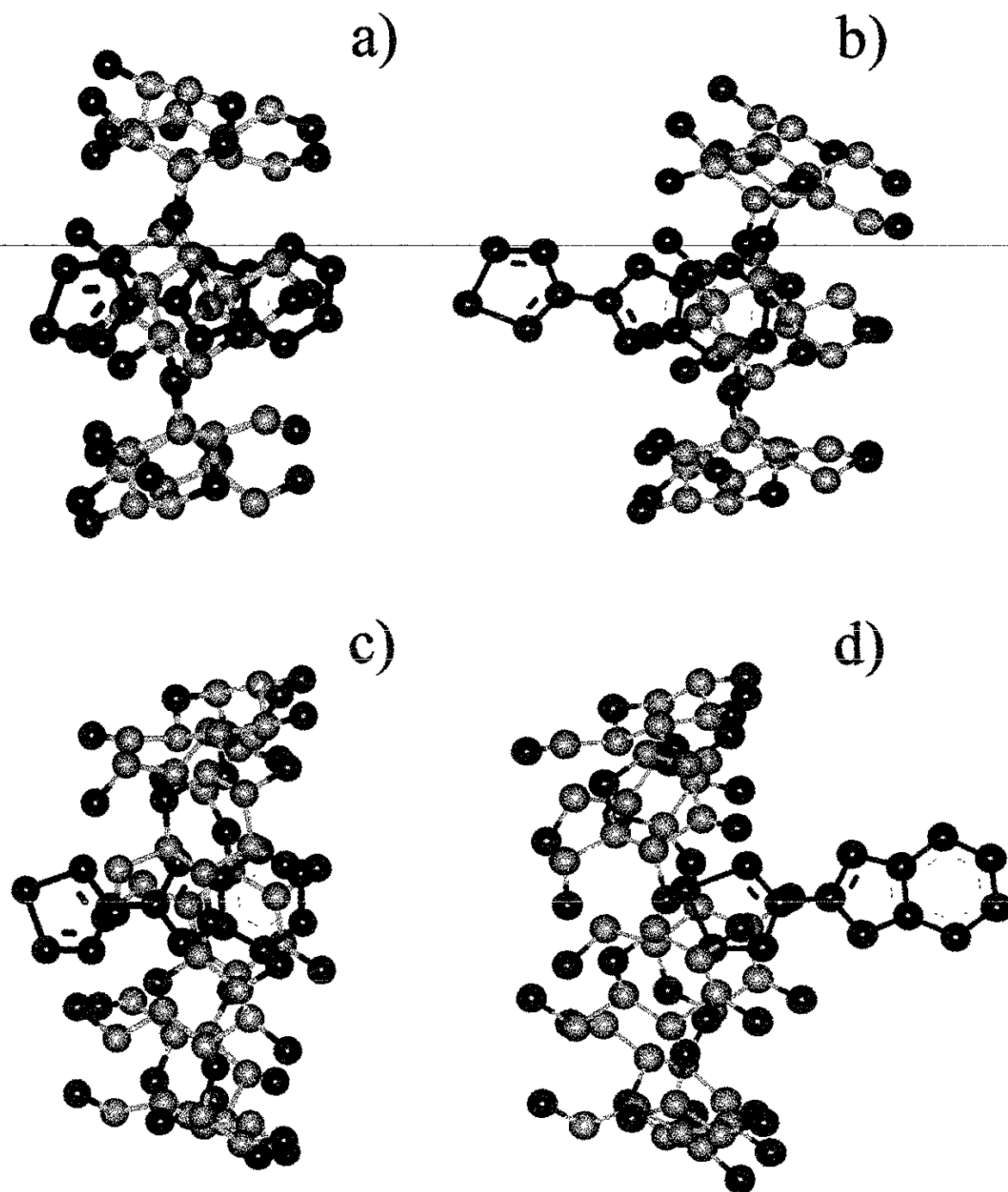


Figura 36. Estructuras calculadas por mecánica molecular para los sistemas de tiabendazol y las ciclodextrinas. (a)  $\alpha$ -CD y (c)  $\beta$ -CD; y estructuras obtenidas a partir de RMN para los mismos sistemas. (b)  $\alpha$ -CD y (d)  $\beta$ -CD.

## 6.4.2. Discusión

### 6.4.2.1. Efecto de las diferentes ciclodextrinas sobre la complejación

Como cabe esperar, el diámetro de la cavidad de las diferentes cicloamilosas es un primer factor que influye en la selección por el huésped y por lo tanto, va a actuar sobre la estabilidad de la especie formada<sup>(153, 224)</sup>. La HP- $\beta$ -CD tiene mayor profundidad que las otras tres cicloamilosas, esto va a propiciar un mejor ajuste con el Tiab debido a una mayor superficie de contacto entre ellos y también, una mayor posibilidad de unión debido a la libre movilidad de sus grupos hidroxipropilados que confieren a la cavidad una mayor amplitud<sup>(153)</sup>.

En cuanto a la relación de tamaños se refiere, se espera que la HP- $\beta$ -CD acomode perfectamente al tiabendazol, debido a las dimensiones de su cavidad. La siguiente cicloamilosa que tiene mayor afinidad por el tiabendazol es la  $\beta$ -CD, seguida por la  $\gamma$ - y finalmente por la  $\alpha$ -CDs. Considerando en todos los casos que la inclusión ocurriera por el lado de los hidroxilos secundarios y por el grupo bencimidazólico del huésped. Sin embargo, por estudios de RMN y mecánica molecular se conoce que no con las cuatro ciclodextrinas la inclusión ocurre siguiendo el mismo sentido, sino que hay un reacomodo en función de los otros factores involucrados (efecto del disolvente y superficie de contacto entre el huésped y el anfitrión).

### 6.4.2.2. Efecto del disolvente

El proceso de inclusión depende de la competencia entre la ciclodextrina y el disolvente por el huésped. El sentido de la inclusión será diferente subordinado a la interacción entre el tiabendazol y los diferentes medios de reacción utilizados, y a la magnitud de las fuerzas entre este antihelmíntico y las diferentes cicloamilosas.



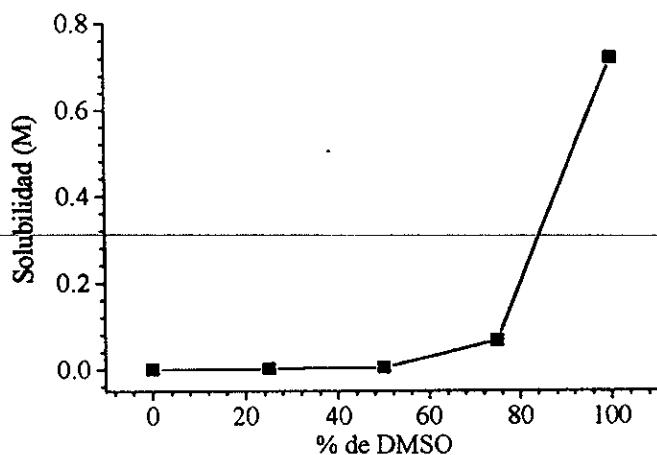


Figura 37: Solubilidad del tiabendazol en diferentes disolventes, a 298 K.

En la Figura 37 se observa la variación de la solubilidad del tiabendazol con el disolvente. Al aumentar el carácter hidrofóbico del medio también aumenta la solubilidad, del tiabendazol, lo que indica que la solvatación del huésped es mayor a medida que aumenta la proporción de DMSO en el medio. Se puede decir que el

efecto solvofóbico disminuye también en ese orden.

En las Figuras 38a y 38b se ve como cambian los valores de las  $K_{int}$  dependiendo del disolvente en el que tenga lugar la reacción.

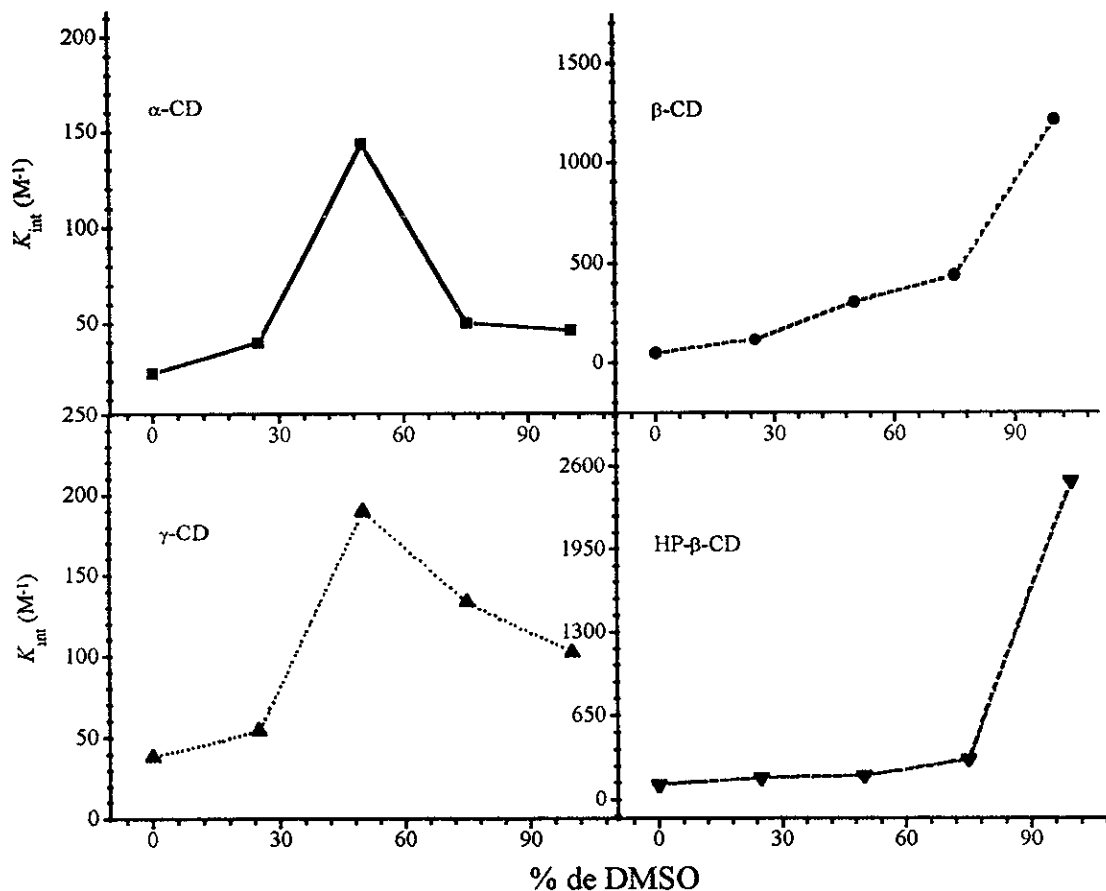


Figura 38: Variación de las constantes de equilibrio del Tiab con  $\alpha$ -CD (■),  $\beta$ -CD (●),  $\gamma$ -CD (▲) y HP- $\beta$ -CD (▼) en función de la composición del medio, a 298 K.

Se manifiestan dos diferentes comportamientos en las gráficas de la Figura 38,  $\alpha$ - y  $\gamma$ - CDs exhiben una tendencia común, mientras que  $\beta$ - y HP- $\beta$ - CDs muestran otra inclinación. Para los complejos formados por Tiab y  $\alpha$ - o  $\gamma$ - CDs, vemos un cambio en el comportamiento de las  $K_{int}$ , a partir de la mezcla al 50% de DMSO. En la primera parte de la gráfica se muestra como las  $K_{int}$  aumentan a la vez que la proporción de DMSO, o lo que es lo mismo, a la vez que la solubilidad del tiabendazol y por lo tanto en sentido opuesto al efecto solvofóbico. Mientras que en la segunda parte de esa misma gráfica, las constantes disminuyen al aumentar la cantidad de DMSO en el medio. A partir de estos resultados se puede decir que el disolvente rige el proceso de complejación en la segunda porción de la curva, mientras que en la primera parte las interacciones van der Waals entre huésped y anfitrión superan los cambios debidos al disolvente.

Para los complejos formados con el Tiab y la  $\beta$ - o la HP- $\beta$ - CDs, un aumento de la  $K_{int}$  con la disminución del efecto solvofóbico sugiere la mayor intensidad de las interacciones huésped-anfitrión.

Es razonable suponer que la estructura de los complejos de inclusión se mantiene invariable, a pesar del cambio de medio, únicamente cuando una inflexión aparece en las gráficas, se presume que se debe a un cambio en la estructura del complejo.

Por lo tanto, se puede considerar al disolvente como el tercer componente de la reacción, ya que su papel es de gran importancia en la formación de complejos [Tiab  $\subset$  CD].

#### 6.4.2.3. Otros aspectos termodinámicos

A partir de los valores de  $K_{int}$ ,  $\Delta H$  y  $\Delta S$  de complejación del Tiab con las cuatro CDs, se puede llevar a cabo un análisis de las interacciones intermoleculares que gobiernan las reacciones de formación de esos complejos de inclusión. La constante de estabilidad depende del grado de interacción entre las especies reactivas y los cambios entálpicos y entrópicos pueden ayudarnos a dilucidar las fuerzas involucradas en la reacción<sup>(139)</sup>.

La Tabla XII exhibe estos parámetros termodinámicos para las reacciones de complejación con el tiabendazol.

	$\Delta H$ (kJ/mol)		$\Delta S$ (J/mol K)	
	D. acuosa	DMSO	D. acuosa	DMSO
$\alpha$ -CD	$39.6 \pm 0.1$	$-29.06 \pm 0.04$	$158.4 \pm 0.4$	$-65.3 \pm 0.1$
$\beta$ -CD	$-34.36 \pm 0.03$	$8.57 \pm 0.03$	$-83.2 \pm 0.1$	$88.2 \pm 0.1$
$\gamma$ -CD	$46.46 \pm 0.05$	$86.2 \pm 0.2$	$186.6 \pm 0.2$	$328.9 \pm 0.6$
HP- $\beta$ -CD	$-32.71 \pm 0.09$	$-6.86 \pm 0.03$	$-70.8 \pm 0.3$	$41.92 \pm 0.09$

Tabla XII: Algunos valores termodinámicos para la reacción de complejación entre tiabendazol y varias CDs, en disolución acuosa y en DMSO.

Los valores de  $\Delta H$  y  $\Delta S$  se han obtenido a partir de la variación de la constante de interacción con respecto a la temperatura (Figura 39) siguiendo la Ecuación 8 (sección 8).

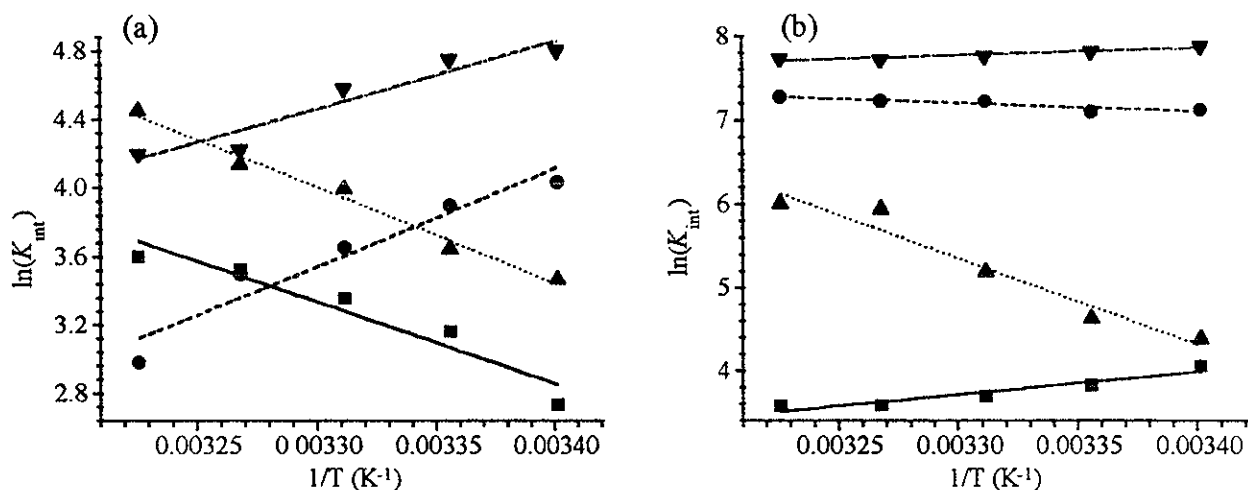


Figura 39: Constantes de equilibrio en función de la temperatura para los sistemas Tiab con  $\alpha$ -CD (■) (—),  $\beta$ -CD (●) (---),  $\gamma$ -CD (▲) (-.-) y HP- $\beta$ -CD (▼) (-.-) en D. acuosa (a) y en DMSO (b). Los símbolos representan los datos experimentales y las líneas los ajustes lineales

En D. acuosa se aprecian dos comportamientos diferentes, por un lado  $\alpha$ - y  $\gamma$ -CDs presentan valores favorables de entropía ( $\Delta S > 0$ ) y desfavorables de entalpía ( $\Delta H > 0$ ), mientras que  $\beta$ - y HP- $\beta$ -CDs muestran valores desfavorables de entropía ( $\Delta S < 0$ ) y favorables de entalpía ( $\Delta H < 0$ ). Así, se puede decir que las interacciones huésped-anfitrión del tipo van der Waals son las responsables de la formación de

los complejos de Tiab con las  $\beta$ - y HP- $\beta$ - CDs <sup>(2c, 139, 173, 272)</sup>. Sin embargo, la formación de los complejos del tiabendazol con las  $\alpha$ - y  $\gamma$ - CDs, según estos parámetros termodinámicos, está regida por el efecto solvofóbico.

Por otra parte, en DMSO, la formación del complejo [Tiab  $\subset$   $\alpha$ -CD] involucra un factor entrópico desfavorable y lo contrario ocurre con el factor entálpico (interacciones van der Waals), cuando según el efecto del disolvente parece que la mayor fuerza estabilizadora es el efecto solvofóbico, esto se puede explicar como efecto solvofóbico no clásico. También, el complejo [Tiab  $\subset$   $\gamma$ -CD] es estabilizado por el efecto solvofóbico, en este caso los valores de  $\Delta H$  y  $\Delta S$  son positivos. Por otro lado, el complejo con la HP- $\beta$ -CD muestra valores de  $\Delta H$  y  $\Delta S$  favorables ( $\Delta H < 0$  y  $\Delta S > 0$ ); lo cual indica que existe una contribución notoria del efecto solvofóbico y de las interacciones de van der Waals. En el caso de la  $\beta$ -CD, los valores de  $\Delta H$  y  $\Delta S$  son característicos del efecto solvofóbico.

Para los complejos de tiabendazol, de acuerdo a las discusiones hechas para las moléculas huésped analizadas previamente y comparando los resultados obtenidos para este huésped, se puede decir que aunque la liberación de la tensión del anillo y la exclusión de las moléculas de agua son factores participantes en la complejación del Tiab, no son los dominantes.

#### 6.4.2.4. Influencia de la protonación

Para conocer el efecto de la carga en el proceso de complejación del tiabendazol con HP- $\beta$ -CD, se determinaron los valores de la  $K_{int}$  en disolución acusa, regulada a pH 1.8, por medio del método de Higuchi y Connors, usando la Ecuación 4 (sección 8). Bajo estas condiciones, un 99.87% del huésped se encuentra en su forma protonada. Los equilibrios que en este sistema pueden ocurrir son semejantes a los que ya se han mostrado para otros huéspedes como el albendazol o el mebendazol. También el mismo modelo ha sido utilizado para obtener la constante de equilibrio de la forma cargada.

La  $K_{int}$  del complejo [TiabH<sup>+</sup>  $\subset$  HP- $\beta$ -CD] es  $7.80 \pm 0.87$ , más de 10 veces menor que la de [Tiab  $\subset$  HP- $\beta$ -CD]. Esto nos indica que las ciclodextrinas tienen mayor

afinidad por especies neutras. La carga de las especies en disolución aumenta la capacidad de interacción con los disolventes polares y muy probablemente este es un factor que desfavorece la complejación. También se observa variación en los valores del  $pK_a$  del huésped, de 4.7 en su forma no incluida, a 3.68 en su forma acomplejada, lo que nos señala que la cicloamilosa disminuye la basicidad del tiabendazol o lo que es lo mismo que estabiliza más eficientemente a la forma neutra que a la forma protonada.

Por lo anterior se puede concluir que en este estudio en particular, la carga es un factor desfavorable para el proceso de inclusión y por lo tanto, las fuerzas electrostáticas no favorecen la interacción con la cavidad apolar de las CDs, sino con el disolvente.

### 6.4.3. Conclusiones

- \* Se obtuvieron los valores de las  $K_{int}$  en todos los medios de reacción estudiados, a 298 K y también, se determinaron en DMSO y D. acuosa a cinco diferentes temperaturas. Además, también se obtuvo información estructural por RMN, mientras que los resultados obtenidos por MM no fueron concluyentes.
- \* A partir de los resultados obtenidos por RMN y MM se encontró que la orientación del Tiab dentro de la cavidad difiere entre  $\alpha$ - y  $\gamma$ - CDs con respecto a  $\beta$ - y HP- $\beta$ - CDs. Por lo tanto, se demuestra que el tamaño de la cavidad, junto con la interacción con el disolvente determinan el sentido de la inclusión. También, las ciclodextrinas que muestran mayor superficie de contacto con el huésped,  $\gamma$ - y HP- $\beta$ - CDs, presentan valores de  $K_{int}$  mayores que las obtenidas con  $\alpha$ - y  $\beta$ - CDs, esto ocurre en todos los medios estudiados y por lo tanto se deduce la importancia del tamaño en este estudio.
- \* A partir del estudio de la influencia del medio de reacción, se distinguen dos tendencias claras, los complejos de  $\alpha$ - y  $\gamma$ - CDs por un lado y los de  $\beta$ - y HP- $\beta$ - CDs por otro. En el primer caso un cambio de comportamiento es observado a partir de que el medio tiene 50% de DMSO o más. Este cambio de tendencias se asocia con variaciones estructurales de los complejos formados, a las cuales se

debe que en unos casos sean las interacciones van der Waals y en otros el efecto solvofóbico, las fuerzas que estabilizan primordialmente a la especie formada. Para el segundo grupo, existe una tendencia ascendente de las  $K_{int}$  conforme aumenta la proporción de DMSO en el medio; este es un claro indicio de la mayor participación de las interacciones van der Waals entre el Tiab y la  $\beta$ - y HP- $\beta$ - CDs en la reacción. Similar comportamiento es observado a partir de los resultados de  $\Delta H$  y  $\Delta S$ . A pesar de la semejanza estructural que existe entre el Alb, el Meb y el Tiab, para este último no se ha encontrado un comportamiento similar.

- \* La ionización de la molécula huésped desfavorece el proceso de inclusión. Esto ocurre también en los huéspedes previamente comentados, CV<sup>+</sup>, Alb y Meb.

## 6.5.- PRAZIQUANTEL

El praziquantel (2-(Ciclohexilcarbonil)-1, , 3, 6, 7, 11b-hexahidro-4H-pirazinol [2, 1-a] isoquinolin-4-uno) es un antihelmíntico relativamente nuevo. A igual que algunos de los huéspedes analizados con anterioridad tiene baja solubilidad en medios acuosos, debido a lo cual no es muy efectivo para helmintiasis sistémicas. Al administrarlo vía oral provoca dolor abdominal.

Al analizar la estructura del praziquantel (Figura 3, página 16), se puede pensar en la posibilidad de la interacción con la ciclodextrina por dos sitios diferentes, por el anillo ciclohexano o por el fenilo, o bien por ambos a la vez, lo que originaría un complejo de estequiometría 1:2.

### 6.5.1. Resultados

A pesar de la importancia de los estudios de RMN para determinar la estructura más probable de los complejos de inclusión en disolución, no se pudo obtener información a partir de esta espectroscopía, debido a la baja solubilidad del praziquantel en D<sub>2</sub>O. En los otros medios de reacción utilizados, el agua adsorbida al DMSO cubre las señales de mayor interés en los espectros de <sup>1</sup>H RMN.

#### 6.5.1.1. Espectroscopia UV-visible

##### 6.5.1.1.1. Características del espectro electrónico del praziquantel

Para la determinación de los valores de las  $K_{int}$  se han utilizado dos métodos basados en cambios en el espectro electrónico de absorción del praziquantel en la región ultravioleta. Por ello, es de gran importancia conocer las características del mismo en ausencia de las ciclodextrinas, a distintas temperaturas y en los diferentes medios estudiados.

En el espectro del praziquantel se observa la típica banda ancha de absorción, la cual tiene varios picos simulando máximos, este tipo de bandas aparecen debido a transiciones vibracionales (véase la Figura 40). Los máximos se

encuentran a 264 y 270 nm en disolución acuosa, regulada a pH 7.5, cuando se incrementa el porcentaje de DMSO en el medio de reacción, la forma del espectro se mantiene, pero hay un ligero desplazamiento de los máximos hacia mayores longitudes de onda (se mantiene en 264 nm hasta que el disolvente es DMSO puro y este pico aparece en 266 nm y el segundo máximo se desplaza hasta 274 nm). Por otro lado, el coeficiente de extinción disminuye al incrementarse la proporción de DMSO.

#### 6.5.1.1.2. Constantes de equilibrio de los compuestos formados entre praziquantel y ciclodextrinas.

El comportamiento espectroscópico del praziquantel con las diferentes ciclodextrinas es muy similar en todos los casos, tanto en disolución acuosa, como en los otros cuatro medios utilizados y a las cinco temperaturas estudiadas (en DMSO y disolución acuosa, regulada a pH 7.5). La forma del espectro no varía con el incremento de la concentración de las cicloamilosas; los máximos de absorbancia no se desplazan debido a la presencia del anfitrión, solamente se observa un aumento de la absorbancia del espectro en la región ultravioleta a medida que aumenta la cantidad de ciclodextrina en la disolución. Estos cambios espectrales sugieren que ocurre la interacción entre las dos especies en disolución<sup>(273)</sup>.

En la siguiente figura se muestran los espectros obtenidos para el praziquantel con diferentes concentraciones de HP- $\beta$ -CD, a 298 K, en D. acuosa y en la mezcla al 50% de DMSO:

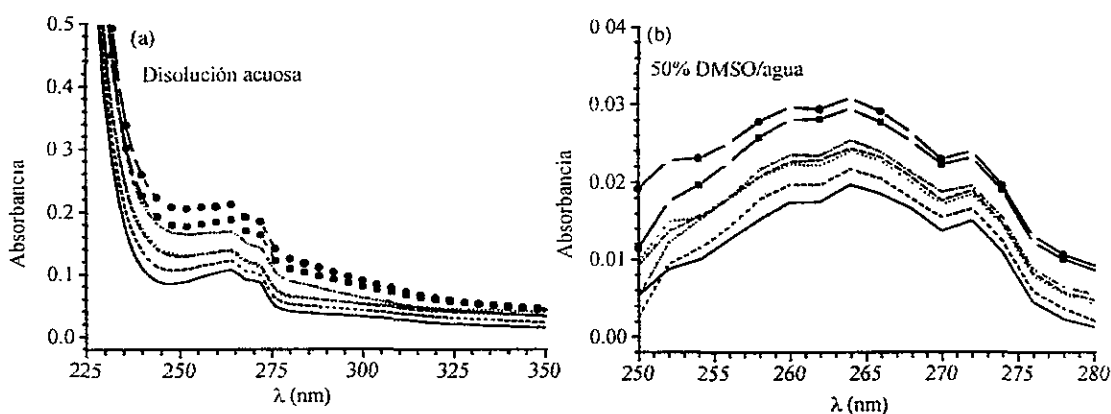


Figura 40: Espectros electrónicos de absorción del praziquantel ( $[Prazi] = 10^{-5}$  M) con diferentes concentraciones de HP- $\beta$ -CD en D. acuoso (a) y en 50% DMSO a 298 K: (—) 0 M; (---)  $10^{-4}$  M; (---)  $5 \times 10^{-4}$  M; (----)  $10^{-3}$  M; (-·-·-·-)  $4 \times 10^{-3}$  M; (-■-)  $8 \times 10^{-3}$  M; (-●-)  $10^{-2}$  M.



Al analizar los resultados de espectroscopía directa, graficando  $\Delta A$  vs  $[CD]$ , para obtener las isothermas de unión, se puede concluir que sólo un complejo 1:1 se ha formado, a pesar de la posibilidad de formarse un complejo 1:2<sup>(252)</sup>. Por ello, para obtener las constantes de equilibrio, la Ecuación 5 es usada (sección 8) en todas las condiciones estudiadas. La dirección de la inclusión está determinada por el dipolo eléctrico del praziquantel, de la cicloamilosa y del disolvente, por lo tanto se favorece aquella posición de complejación en donde estén optimizadas al máximo las interacciones entre huésped y anfitrión y entre huésped y disolvente (sección 6.5.2.2).

En la determinación de las constantes de equilibrio del proceso de complejación del Prazi con las CDs, se han seguido los cambios del espectro de absorción electrónica, en 264 nm en D. acuosa y en 274 nm, en los otros medios de reacción<sup>(238, 250, 265a)</sup>.

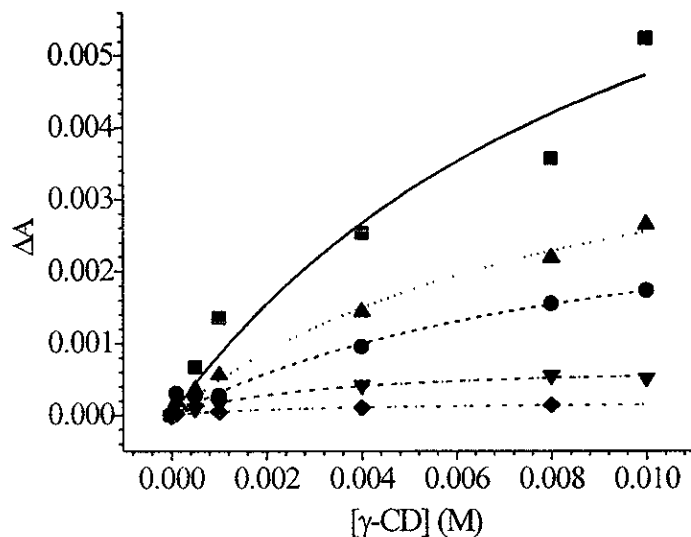


Figura 41: Isothermas de unión obtenidas para el sistema Prazi ( $[Prazi] = 10^{-5}$  M) con  $\gamma$ -CD, a 298 K, en diferentes disolventes, a 298 K: (■) (—) D. acuosa, pH = 7.5,  $\lambda = 264$  nm; (●) (—) 25% DMSO,  $\lambda = 274$  nm; (▲) (—) 50% DMSO,  $\lambda = 274$  nm; (▼) (—) 75% DMSO,  $\lambda = 274$  nm; (◆) (—) DMSO,  $\lambda = 274$  nm. Los símbolos muestran los resultados experimentales y las líneas los ajustes de los mismos a la Ecuación 5

La Figura 41 muestra las isothermas de unión para el sistema praziquantel con  $\gamma$ -CD en los cinco medios de reacción en los que se trabaja, a 298 K. Cabe destacar que hay un aumento de la pendiente, lo que significa que se alcanza la saturación a menores concentraciones de  $\gamma$ -CD, al incrementar la proporción del disolvente orgánico, lo cual implica un aumento de la constante de estabilidad. Con

el resto de las cicloamilosas la variación debida al disolvente es distinta como se describe en la sección 6.5.4.

Los valores de las constantes de estabilidad obtenidas para todos los sistemas de reacción con praziquantel, a 298 K, se muestran en la Tabla XIII.

CDs	Medio de disolución				
	D. acuosa, pH = 7.5	25% DMSO	50% DMSO	75% DMSO	DMSO
$\alpha$ -CD	90 $\pm$ 10	70 $\pm$ 2	35 $\pm$ 1	127 $\pm$ 2	200 $\pm$ 30
$\beta$ -CD	290 $\pm$ 70	9.00 $\pm$ 0.06	13.8 $\pm$ 0.3	28.3 $\pm$ 0.7	100 $\pm$ 10
$\gamma$ -CD	100 $\pm$ 10	103 $\pm$ 9	170 $\pm$ 20	320 $\pm$ 20	330 $\pm$ 40
HP- $\beta$ -CD	380 $\pm$ 70	260 $\pm$ 50	174 $\pm$ 8	470 $\pm$ 60	500 $\pm$ 80

Tabla XIII: Constantes de interacción ( $M^{-1}$ ) del praziquantel con varias CDs en diferentes medios de reacción, a 298 K, obtenidas por el método de espectroscopía directa.

De la misma forma, como en los casos de las moléculas huéspedes anteriormente analizadas, se usó el método de solubilidad en disolución acuosa a 298 K para obtener la  $K_{int}$ . La Figura 42 muestra los diagramas de fase para las cuatro ciclodextrinas y en la tabla insertada se observan los resultados obtenidos:

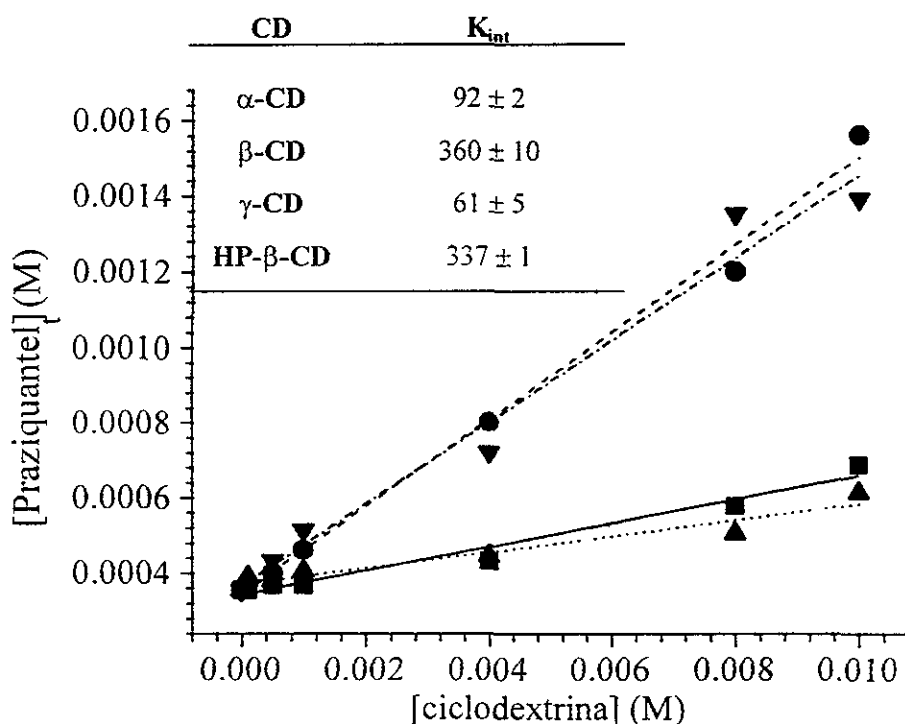


Figura 42: Diagramas de solubilidad de fase del praziquantel con algunas CDs en D. acuosa, pH = 7.5, a 298 K.: (■) (—)  $\alpha$ -CD; (●) (— · —)  $\beta$ -CD; (▲) (- - -)  $\gamma$ -CD; (▼) (- · - · -) HP- $\beta$ -CD. Los símbolos indican los resultados experimentales y las líneas los ajustes al modelo matemático propuesto, Ecuación 1 (sección 8).

En estos casos, con el praziquantel y todas las ciclodextrinas se obtienen diagramas tipo  $A_L$ . Es decir, se forman complejos de inclusión solubles, lo que lleva a un aumento lineal de la solubilidad del huésped en D. acuosa, pH 7.5, a 298 K (la solubilidad del Prazi cuando no hay CD es  $3.6 \times 10^{-4}$  M) a medida que aumenta la concentración del anfitrión. Las constantes de equilibrio se han obtenido usando la Ecuación 1, (ver parte experimental).

En general, se puede observar que los valores de las  $K_{int}$  obtenidas por ambos métodos son del mismo orden, concluyendo que la suposición relacionada con el tipo de complejo de inclusión formado es acertada, se trata de un complejo 1:1, [Prazi  $\subset$  CD].

### 6.5.1.2. Mecánica molecular

En el caso del praziquantel no se han podido llevar a cabo los estudios correspondientes de resonancia magnética nuclear, únicamente se han realizado cálculos de mecánica molecular que ayudan a generar una representación estructural bastante razonable de los complejos formados, así como apoyar las explicaciones que se desprenden de los datos obtenidos experimentalmente a partir de la espectroscopía electrónica de absorción.

Inicialmente se optimizan las estructuras de todas las especies a estudiar por separado, el praziquantel y cada una de la cuatro ciclodextrinas. Posteriormente, se consideran las posibilidades de interacción entre huésped y anfitrión y se van acercando paulatinamente siguiendo el eje central de la cicloamilosa, cada una de estas posiciones es minimizada y comparada su energía con la de ambas especies por separado, con el fin de encontrar la estructura más favorable energéticamente.

Los resultados obtenidos corresponden a los mostrados en la Figura 43

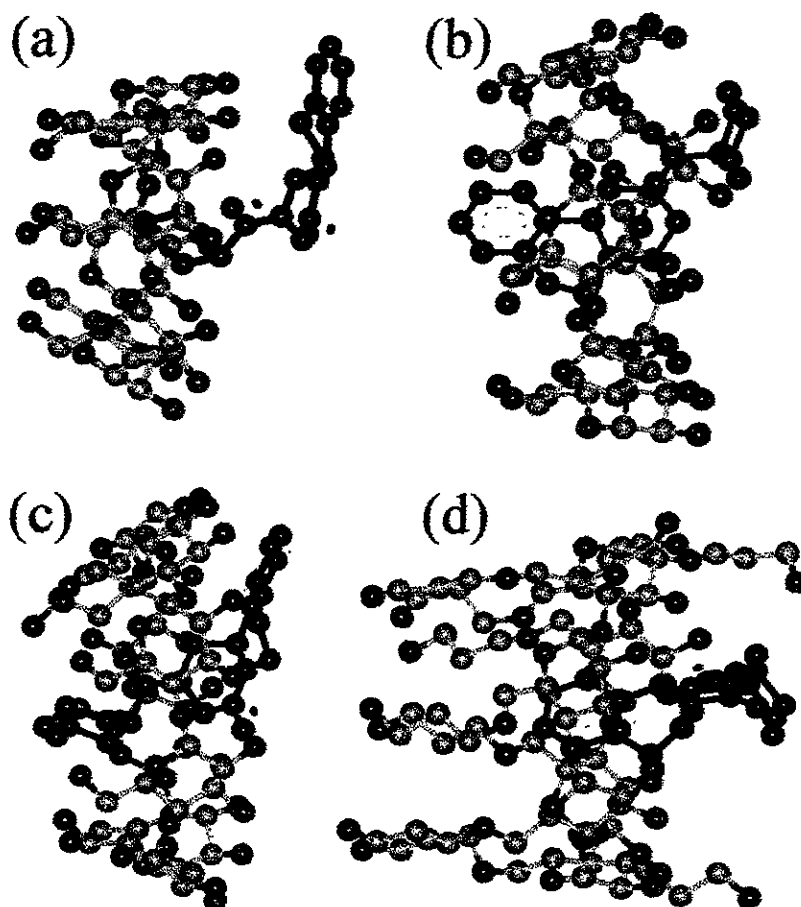


Figura 43: Estructuras de mínima energía del praziquantel con  $\alpha$ -CD (a),  $\beta$ -CD (b),  $\gamma$ -CD (c) y HP- $\beta$ -CD (d) obtenidas por mecánica molecular.

## 6.5.2. Discusión

### 6.5.2.1. Efecto de las diferentes ciclodextrinas sobre la complejación

El primer factor determinante del tipo de interacción entre praziquantel y cualquiera de las ciclodextrinas va a ser la relación de tamaños entre ellos. Considerando que existen dos lugares de unión tanto para la cicloamilosa como para el huésped, hay que considerar que la interacción que tiene lugar es el resultado de dos factores principales: tamaños adecuados de las especies reaccionantes y su interacción con el disolvente.

La mayor constante en todos los disolventes estudiados corresponde a la HP- $\beta$ -CD, lo cual puede ser un indicativo de mayor interacción debido a la extensión de

su cavidad hidrofóbica<sup>(253a)</sup>. Para los complejos del Prazi con la  $\alpha$ -CD y con la  $\gamma$ -CD, la inclusión tiene lugar por el ciclohexano y por la boca ancha de la CD (según los cálculos de MM), mientras que para la  $\beta$ - y la HP- $\beta$ - CDs ocurre por el anillo bencénico y a través del mismo lado de la cicloamilosa. Aquí se manifiesta la gran selectividad debido al tamaño de la cavidad de estos anfitriones. Los complejos de Prazi con  $\beta$ - y HP- $\beta$ - CDs tienen estructuras similares, aunque hay una mayor superficie de contacto entre el Prazi y la CD hidroxipropilada debido a su mayor profundidad y ésta puede ser la razón por la que la HP- $\beta$ -CD muestra la mayor  $K_{int}$ . De igual modo, la  $\gamma$ -CD ofrece mayor superficie de contacto al praziquantel que la  $\alpha$ -CD y esto se refleja en el valor relativamente grande de su  $K_{int}$ . Esto ocurre en todos los disolventes estudiados.

#### 6.5.2.2. Efecto del disolvente

A partir de los resultados obtenidos por espectroscopía electrónica de absorción, no hay duda del papel relevante que el disolvente desempeña en las reacciones de complejación. Manteniendo fijos el huésped y el anfitrión, se aprecia una gran diferencia en los valores de las constantes de equilibrio al comparar los resultados obtenidos en los diversos medios de reacción (Tabla XIII).

Para determinar el grado de solvatación del praziquantel en cada uno de los disolventes empleados, se realizaron estudios de solubilidad, a 298 K. Los resultados, así obtenidos, indican el carácter preferentemente hidrófobo del praziquantel, su solubilidad aumenta a mayor proporción de disolvente orgánico presente en el medio (Figura 44a). Esto también puede interpretarse en términos de efecto solvofóbico, éste va a ser menor en las mezclas más ricas en DMSO, las interacciones disolvente-disolvente van a disminuir y por ello las interacciones huésped-disolvente van a verse incrementadas<sup>(111)</sup>.

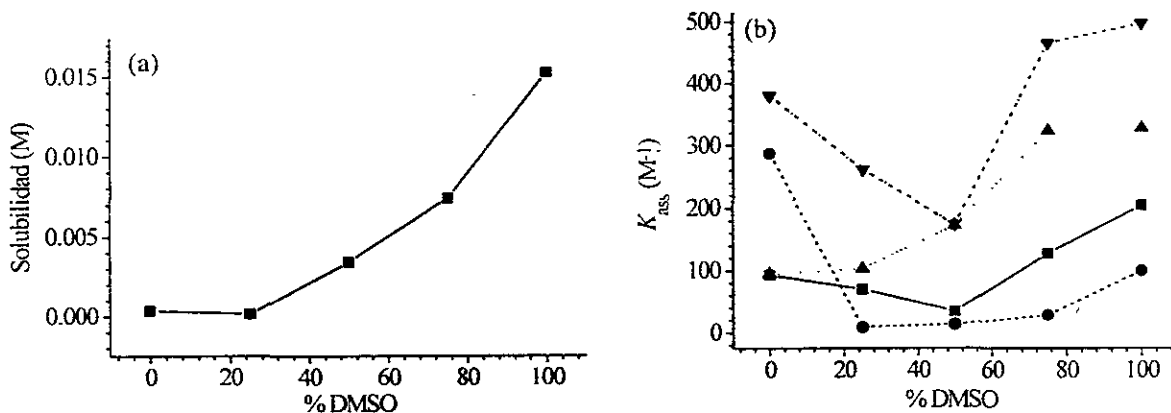


Figura 44:(a). Solubilidad del Prazi en los cinco disolventes estudiados, a 298 K. (b). Variación de las constantes de equilibrio en función de la composición del disolvente:  $\alpha$ -CD (■),  $\beta$ -CD (●),  $\gamma$ -CD (▲) y HP- $\beta$ -CD (▼).

En la Figura 44b se observa la variación de los valores de las constantes de formación de los complejos [Prazi  $\subset$  CD], en función de la proporción de DMSO en el medio de reacción. Se observa para los complejos con  $\alpha$ -CD y HP- $\beta$ -CD que la constante disminuye al ir aumentando la cantidad del disolvente orgánico en el medio, hasta alcanzar el 50% y a partir de esa mezcla comienza a aumentar. Este comportamiento puede explicarse por el papel relevante que desempeña inicialmente el efecto solvofóbico, ya que al disminuir éste, también disminuye la constante. Sin embargo, en la segunda parte de la serie, es razonable suponer que hay un cambio en la estructura del complejo. Quizá ocurre un desplazamiento del praziquantel hacia el exterior de la cavidad debido a la mayor solvatación en este medio, o bien un cambio en el sitio de unión para favorecer la interacción con el disolvente y con la cicloamilosa de forma simultánea. Por lo tanto, el aumento de la constante indica que las interacciones de van der Waals gobiernan la inclusión del Prazi en estos disolventes. Así mismo, está el caso de los complejos de inclusión con la  $\beta$ -CD, cuyo comportamiento se asemeja bastante al de los complejos formados con las dos ciclodextrinas anteriores, sólo que el posible cambio estructural del complejo tiene lugar a partir de que el medio tiene un 25% de DMSO.

El comportamiento de los complejos de inclusión del Prazi con la  $\gamma$ -CD no se asemeja a los anteriormente comentados, ya que la  $K_{int}$  aumenta conforme la solvatación del huésped se incrementa. Tal comportamiento parece indicativo de la

mayor importancia de las interacciones de van der Waals a medida que aumenta la proporción del disolvente orgánico en el medio.

### 6.5.2.3. Otros aspectos termodinámicos

En la Tabla XIV se exhiben los valores de  $\Delta S$  y  $\Delta H$  obtenidos a partir de la dependencia de las  $K_{int}$  con la temperatura (Ecuación 8, sección 8), mediante un análisis de van't Hoff (Figura 45).

	$\Delta H$ (kJ/mol)		$\Delta S$ (J/mol K)	
	D. acuosa	DMSO	D. acuosa	DMSO
$\alpha$ -CD	$7.57 \pm 0.02$	$-2.70 \pm 0.01$	$62.98 \pm 0.05$	$35.08 \pm 0.03$
$\beta$ -CD	$18.71 \pm 0.03$	$36.01 \pm 0.07$	$110.2 \pm 0.1$	$159.8 \pm 0.2$
$\gamma$ -CD	$21.93 \pm 0.04$	$8.40 \pm 0.01$	$111.5 \pm 0.2$	$76.22 \pm 0.04$
HP- $\beta$ -CD	$8.64 \pm 0.02$	$-42.01 \pm 0.03$	$78.38 \pm 0.07$	$-89.2 \pm 0.1$

Tabla XIV: Cambios entálpicos y entrópicos para las reacciones del praziquantel con las diversas CDs estudiadas en D. acuosa, pH 7.5, y en DMSO, obtenidos a partir de la Figura 45.

En todos los casos en D. acuosa, la formación de los complejos es favorable entrópicamente ( $\Delta S > 0$ ) y desfavorable entálpicamente ( $\Delta H > 0$ ). Sin embargo, en DMSO, la reacción es favorable entrópicamente ( $\Delta S > 0$ ) y desfavorable ( $\Delta H > 0$ ) o ligeramente favorable ( $\Delta H \leq 0$ ) entálpicamente, excepto en los sistemas de reacción con HP- $\beta$ -CD, en los cuales el factor entálpico es favorable ( $\Delta H < 0$ ) y el factor entrópico desfavorable ( $\Delta S < 0$ ).

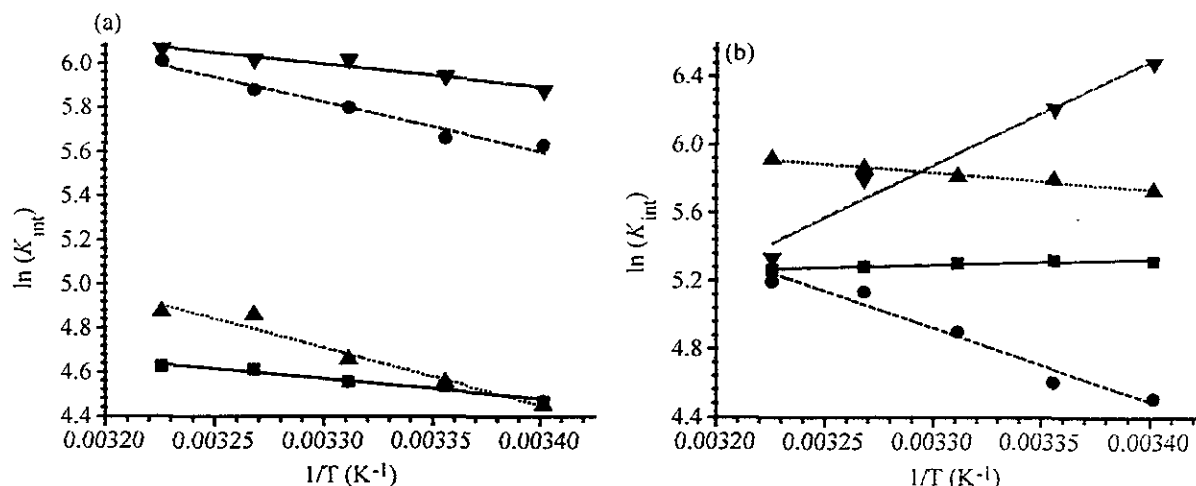


Figura 45: Gráficas de van't Hoff para los sistemas Prazi con  $\alpha$ -CD (■) (—),  $\beta$ -CD (●) (---),  $\gamma$ -CD (▲) (···) y HP- $\beta$ -CD (▼) (-·-) en disolución acuosa, pH 7.5 (a) y en DMSO (b). Los símbolos representan los datos experimentales y las líneas los ajustes lineales

A partir de la gráfica 45 y de la Tabla XIV se aprecian dos patrones de comportamiento muy parecidos para los complejos de Prazi con  $\alpha$ - y HP- $\beta$ -CDs y los complejos con  $\beta$ - y  $\gamma$ -CDs, en D. acuosa. Por el contrario, en DMSO, hay patrones de comportamiento muy diferentes para los complejos formados con las cuatro CDs.

Como ya se ha comentado en los antecedentes y en las secciones correspondientes a otras moléculas huéspedes, hay una serie de factores que intervienen en la energía de complejación, participando en el valor total de  $\Delta S$  y  $\Delta H$  (véase la sección 6.1.2.3). Teniendo en cuenta esos factores que influyen en el proceso de complejación, podemos interpretar los parámetros termodinámicos en base a cada uno de ellos.

Si el número de moléculas de agua que se excluyen de la cavidad y la liberación de la tensión del anillo de las CDs fueran los factores dominantes en el proceso de complejación del Prazi, se obtendría un valor más negativo de  $\Delta H$  para la formación de complejos con  $\gamma$ -CD que con  $\beta$  y HP- $\beta$ -CDs y más aún que con  $\alpha$ -CD. Con el praziquantel, este comportamiento ocurre en el caso de la D. acuosa, pero si este factor fuera el que define el proceso de complejación, encontraríamos lo mismo en DMSO. La cantidad de agua que saldría de la cavidad de la CD no se refleja en las mediciones espectrales.



En función de los signos de los valores termodinámicos y de su magnitud, concluimos que en disolución acuosa, la fuerza dominante es el efecto solvofóbico y que el comportamiento de los complejos de Prazi con  $\beta$ - y  $\gamma$ - CDs se parece entre sí, así como comportamiento de los complejos con  $\alpha$ - y HP- $\beta$ - CDs.

En DMSO se observa la importancia de las interacciones de van der Waals en el sistema con HP- $\beta$ -CD y en menor proporción en el sistema con  $\alpha$ -CD. Sin embargo, para los complejos con  $\beta$ - y  $\gamma$ -CD parece ser que de nuevo el efecto del disolvente es el factor dominante en la complejación.

#### 6.5.2.4. Influencia de la protonación

Dados los valores de  $pK_a$  del praziquantel (-0.7 y -2.66, obtenidos teóricamente usando el programa ACD LABS, Advanced Chemistry Development Inc., 1994-1997, Toronto, ON, Canadá) parece difícil protonar los grupos amino susceptibles, por este motivo no se llevaron a cabo los estudios correspondientes para determinar la influencia de la carga en el proceso de complejación del Prazi con las cuatro CDs.

#### 6.5.3. Conclusiones

- \* Por medio de los estudios de espectroscopía electrónica de absorción, en la región ultravioleta, se lograron determinar los valores de  $K_{int}$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta S$  y solubilidad, inicialmente planteados.
- \* Por MM se logró determinar que la orientación más probable del Prazi sigue una tendencia muy similar a la del Tiab. Es decir, la  $\alpha$ - y  $\gamma$ - CDs incluyen al huésped por el grupo ciclohexano, mientras que la  $\beta$ - y HP- $\beta$ - CDs lo incluyen por el grupo benceno. Así, el sentido de la complejación viene dado por la selección de tamaño y las interacciones dipolo<sub>Prazi</sub>-dipolo<sub>disolvente</sub>. Además, los valores de  $K_{int}$  son mayores a medida que es mayor la superficie de contacto entre huésped y anfitrión. De nuevo se concluye que la relación de tamaños es muy importante en todos los medios de reacción estudiados.

- \* A partir del estudio de la influencia del disolvente y de los valores de  $\Delta H$  y  $\Delta S$ , se concluye que en D. acuosa, el efecto solvofóbico es la principal fuerza estabilizadora, mientras que las interacciones de van der Waals son las dominantes en los demás disolventes.

## 6.6.- PAMOATO DE PIRANTEL

El pamoato de pirantel (Figura 3, página 16), también conocido como emboato de pirantel, (sal de 1-metil-2-[2-(tienil) etenil]-1, 4, 5, 6-tetrahidropirimidina con ácido 4, 4'-metilenebis [3-hidroxi-2-naftóico] es un antihelmíntico ligeramente soluble en medios acuosos y que presenta problemas de absorción a nivel gastrointestinal.

El pamoato de pirantel es una sal, se disocia en la disolución y podemos encontrarnos, simultáneamente, con dos equilibrios con las ciclodextrinas; uno con el pamoato y otro con el pirantel.

### 6.6.1. Resultados

En los estudios de espectroscopía electrónica de absorción, en la región UV-vis, se observan los cambios debidos a la concentración de las cicloamilosas a 236, 278, 288 y 360 nm, ya que estos son más significativos y se ha observado que el estudio en diferentes máximos no lleva a cambios en la magnitud de la constante calculada<sup>(272)</sup>. Cabe mencionar que en el caso particular del pamoato de pirantel, las constantes de interacción son constantes aparentes, debido a que existen varias posibilidades de complejación, ya sea por el anión pamoato o por el catión pirantel y mediante la espectroscopía electrónica de absorción no es posible discernir entre dichas constantes, este tipo de discusión ya ha sido observada con anterioridad en la bibliografía<sup>(106b, 253a, 274)</sup>. Los resultados relacionados con la influencia de la protonación no son satisfactorios y por esta razón están ausentes en este capítulo.

#### 6.6.1.1. Espectroscopía electrónica de absorción

##### 6.6.1.1.1 Características del espectro electrónico

Teniendo en cuenta que el pamoato de pirantel es una sal, cuyo anión y catión tienen tamaño y grupos funcionales adecuados para incluirlos dentro de la cavidad de las ciclodextrinas, es importante tratar de distinguir las bandas de absorción correspondientes a cada uno de los iones, de este modo se puede

diferenciar la inclusión de cada una de las especies por separado. Por esta razón, se decidió hacer un estudio espectral comparativo con el pamoato de pirvinium. Sin embargo, parece ser que todas las bandas de absorción que aparecen en el espectro del pamoato de pirantel también se observan en el pamoato de pirvinium, por lo cual se supone que las bandas correspondientes al catión están camufladas. (Figura 46).

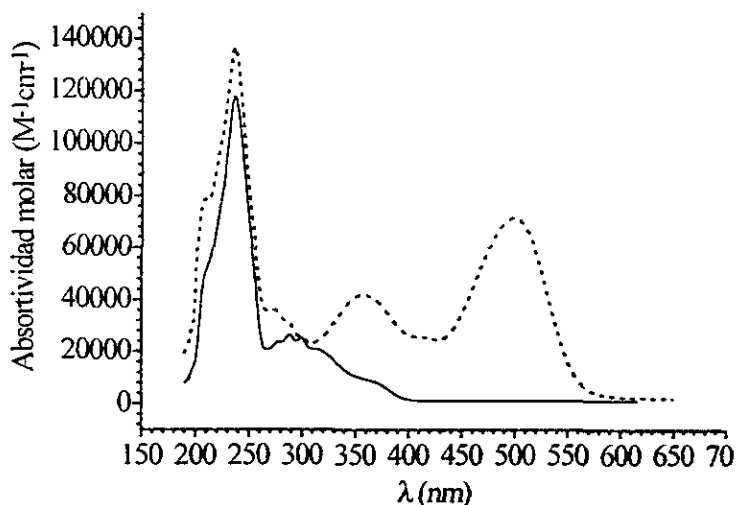


Figura 46: Espectro de absorción electrónica del pamoato de pirantel (—) en comparación con el del pamoato de pirvinium (---) en D. acuosa, pH 7.5, a 298 K.

En el espectro del pamoato de pirantel, se ven varios picos en D. acuosa a 298 K, en 236 nm, 278 nm, 288 nm y 300 nm. También, aparecen dos hombros a 314 nm y 360 nm. Con respecto a los otros disolventes, vemos que hay un ligero desplazamiento hacia el rojo (2 nm) a medida que

aumenta la proporción de DMSO en el medio, también se ve que los hombros son cada vez menos los más orgánicos. No hay cambio significativo en la forma del espectro, ni en la posición de los picos cuando se varía la temperatura.

#### 6.6.1.1.2. Constantes de equilibrio de los compuestos formados entre pamoato de pirantel y ciclodextrinas.

Los espectros de absorción del pamoato de pirantel en ausencia y presencia de ciclodextrinas no cambian significativamente, sólo se observa un ligero aumento de intensidad en todas las bandas, a medida que aumenta la concentración de las distintas cicloamilosas, tanto en la región ultravioleta como visible. En todos los disolventes y temperaturas estudiados, el comportamiento anterior es común. Esas pequeñas variaciones espectrales sugieren que ocurre la reacción de complejación entre pamoato de pirantel y CDs<sup>(208, 265c)</sup>.

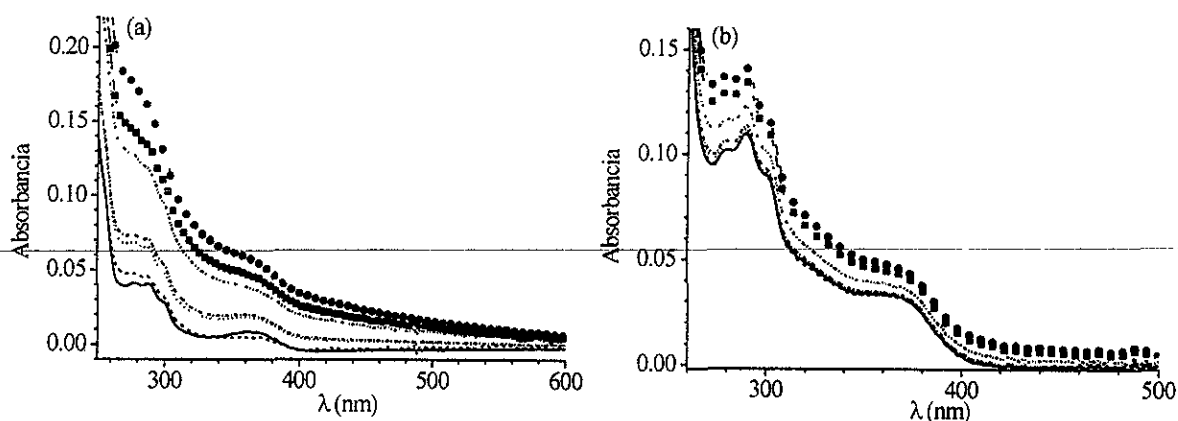


Figura 47: Espectros electrónicos de absorción del pamoato de pirantel ( $[PamPit] = 10^{-6} M$ ) con diferentes concentraciones de  $\alpha$ -CD en D. acuosa, pH 7.5 (a) y en 25% DMSO (b) a 298 K: (—) 0 M; (- -)  $10^{-4} M$ ; (---)  $5 \times 10^{-4} M$ ; (-·-·-)  $10^{-3} M$ ; (-·-·-·-)  $4 \times 10^{-3} M$ ; (-■-)  $8 \times 10^{-3} M$ ; (-●-)  $10^{-2} M$ .

En las Figura 47 se muestran las variaciones espectrales debidas a la  $\alpha$ -CD en D. acuosa y en la mezcla al 25% de DMSO. En ambos casos se comprueba el aumento de la absorbancia a medida que aumenta la concentración de la ciclohexamilosa. Debido a que se ha observado un aumento del coeficiente de extinción al disminuir la polaridad del disolvente, se puede suponer que este aumento de absorbancia en presencia del anfitrión se debe al cambio de solvatación ocasionado por el proceso de transferencia desde un medio polar como el agua, o cualquiera de los medios utilizados, a otro menos polar como es la cavidad de la ciclodextrina<sup>(225, 275)</sup>.

Ya se ha comentado que el pamoato de pirantel puede interactuar con las CDs de varias formas, pero debido a la imposibilidad para discernir que especie es la incluida, se han determinado valores de constantes aparentes que corresponden a complejos 1:1. Las  $K_{ap}$  se han obtenido utilizando la Ecuación 5 de la parte experimental<sup>(253a, 254, 276)</sup>.

La Figura 48 muestra las isotermas de unión obtenidas para la reacción entre pamoato de pirantel y HP- $\beta$ -CD en los diferentes medios de reacción estudiados, a 298 K. Estos resultados corresponden a 280 nm y no se han encontrado cambios significativos con respecto a los estudios llevados a cabo en otras longitudes de onda. Lo cual nos indica que el modelo aplicado de constante aparente, 1:1, es adecuado para la interpretación de nuestros datos<sup>(272)</sup>.

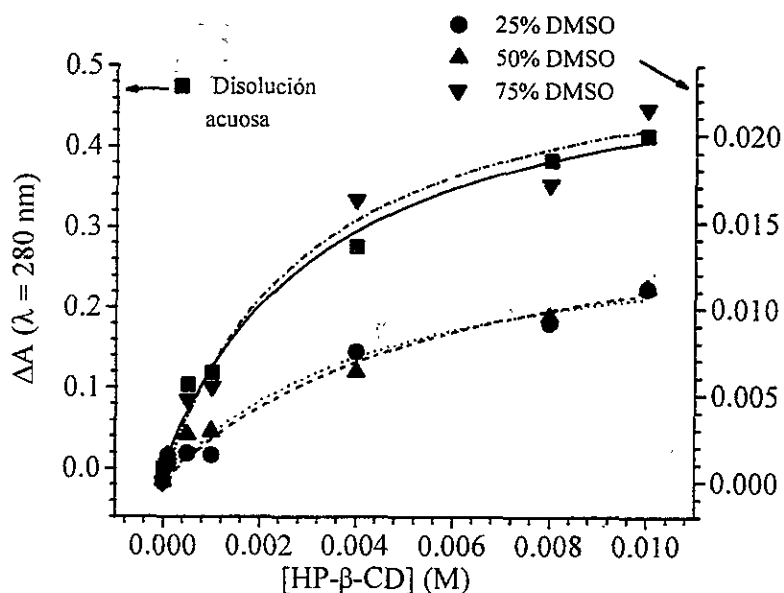


Figura 48: Isotermas de unión obtenidas para el sistema PamPit ( $[PamPit] = 10^{-6}$  M) con HP- $\beta$ -CD, a 298 K, en diferentes disolventes: (■) (—) D. acuosa; (●) (— · —) 25% DMSO; (▲) (---) 50% DMSO; (▼) (-·-·-) 75% DMSO. Los símbolos corresponden a los resultados experimentales y las líneas a los ajustes de los mismos.

En la Tabla XV se presentan los valores de las  $K_{ap}$  en diferentes medios de reacción, a 298 K.

CDs	Medio de disolución				
	D. acuosa	25% DMSO	50% DMSO	75% DMSO	DMSO
$\alpha$ -CD	$120 \pm 7$	$12.4 \pm 0.2$	$18.8 \pm 0.4$	$61 \pm 5$	$150 \pm 30$
$\beta$ -CD	$56 \pm 6$	$155 \pm 6$	$280 \pm 40$	$180 \pm 20$	$110 \pm 20$
$\gamma$ -CD	$300 \pm 40$	$94 \pm 1$	$23 \pm 2$	$76 \pm 3$	
HP- $\beta$ -CD	$231 \pm 5$	$16 \pm 20$	$134 \pm 7$	$340 \pm 40$	

Tabla XV: Constantes aparentes de interacción ( $M^{-1}$ ) del pamoato de pirantel con varias CDs en diferentes medios a 298 K, obtenidas por el método de espectroscopía directa.

Se puede apreciar que en la tabla XV no aparecen los valores de las constantes con  $\gamma$ -CD y HP- $\beta$ -CD en DMSO, probablemente debido a la gran

interacción que el PamPit tiene con el DMSO (véase estudios de solubilidad, Figura 50), lo que hace que los complejos de inclusión entre el huésped y la ciclodextrina sean poco estables y por lo tanto no detectables.

Igualmente, se han determinado los valores de las  $K_{ap}$  para complejos 1:1, en D. acuosa y 298 K para los sistemas formados por el PamPit y las CDs, usando el método de Higuchi y Connors<sup>(254a)</sup>. Los resultados aparecen en la Tabla XVI.

Para la cuatro cicloamilosas se detecta la formación de un complejo soluble

CD	$K_{ap}$
$\alpha$ -CD	$123 \pm 8$
$\beta$ -CD	$22 \pm 1$
$\gamma$ -CD	$310 \pm 27$
HP- $\beta$ -CD	$211 \pm 17$

Tabla XVI: Constantes aparentes de interacción ( $M^{-1}$ ) del PamPit con varias CDs en D. acuosa a 298 K, obtenidas a partir del método de solubilidad (Higuchi y Connors).

1:1 que incrementa la solubilidad del pamoato de pirantel de forma lineal al ir aumentando la concentración de ciclodextrina, ya que los diagramas de fase obtenidos son tipo  $A_L$ , según la terminología de Higuchi y Connors.

En general, se puede considerar que los valores de las  $K_{ap}$  obtenidas por ambos métodos son del mismo orden de magnitud.

### 6.6.1.2. Mecánica molecular

Se han hecho los estudios de mecánica molecular considerando los iones pamoato y pirantel por separado, debido a que es posible que ambos formen complejos de inclusión con las ciclodextrinas. De este modo se puede tener una representación gráfica de manera aproximada, de la estructura más probable que tiene este antihelmíntico encapsulado en una cicloamilosa<sup>(267a, 277)</sup>.

Tanto el pamoato, como el pirantel se encuentran en disolución en su forma iónica, así, el grupo funcional cargado estará preferentemente solvatado, en comparación con el resto de la molécula. Por lo tanto, se puede afirmar que la inclusión tendrá lugar de tal manera que se favorezcan las interacciones ion-dipolo entre el huésped y el disolvente. La estructura se ha optimizado para diversas configuraciones de estos huéspedes dentro de la cavidad y se ha encontrado que las configuraciones de mínima energía son las que se muestran en las Figuras 49 y 49'.

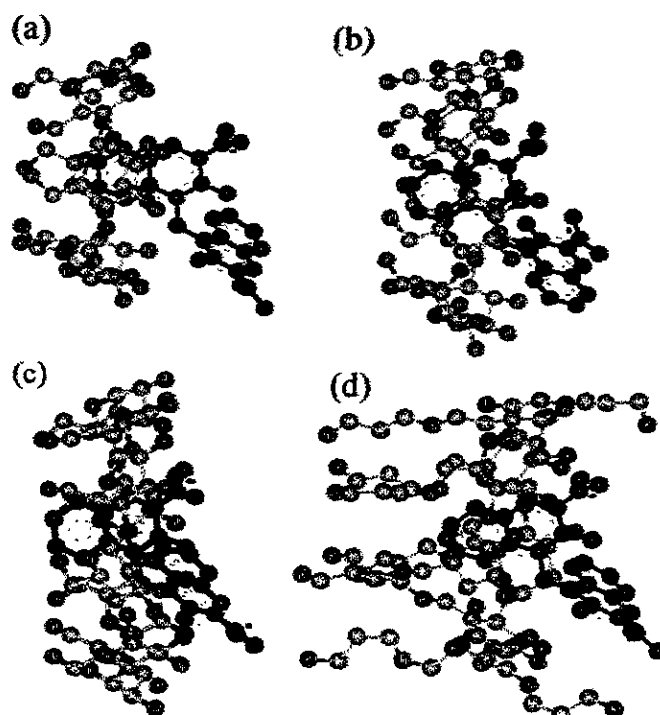


Figura 49. Estructuras de mínima energía obtenidas por mecánica molecular, para el ion pamoato encapsulado en las diferentes ciclodextrinas. (a)  $\alpha$ -CD, (b)  $\beta$ -CD, (c)  $\gamma$ -CD y (d) HP- $\beta$ -CD

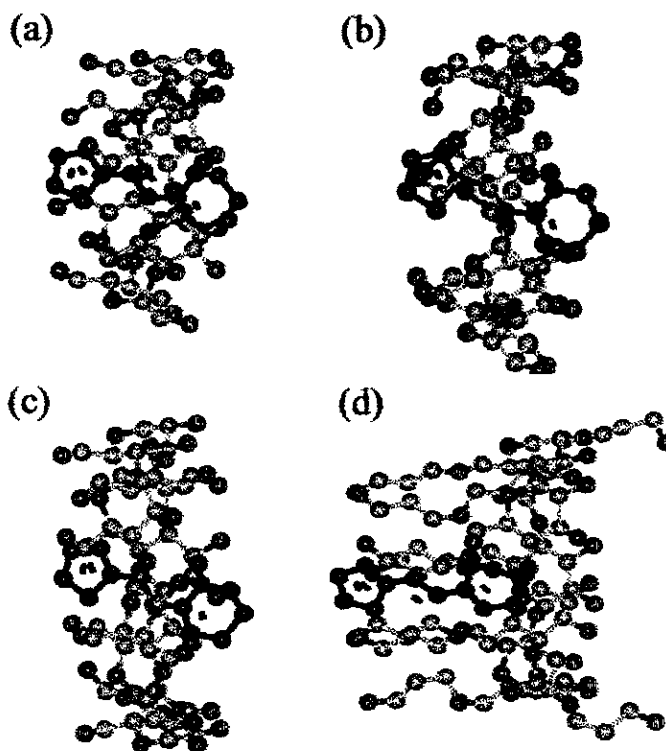


Figura 49'. Estructuras de mínima energía obtenidas por mecánica molecular, para el ion pirantel encapsulado en las diferentes ciclodextrinas. (a)  $\alpha$ -CD, (b)  $\beta$ -CD, (c)  $\gamma$ -CD y (d) HP- $\beta$ -CD



## 6.6.2. Discusión

### 6.6.2.1. Efecto de las diferentes ciclodextrinas sobre la complejación

Aunque ya es conocida la influencia del tamaño de la cavidad de las CDs en la complejación<sup>(270b)</sup>, es difícil en el caso del PamPit hacer una discusión en forma detallada acerca de este factor, dado que estamos haciendo referencia a constantes de equilibrio aparentes en las cuales están involucradas las constantes de inclusión del pirantel y del pamoato.

Como se ha comentado en la sección de mecánica molecular, sólo la orientación de inclusión probable puede ser considerada para cada uno de los iones componentes de la sal pamoato de pirantel, ya que no contamos con resultados experimentales para cada uno de los iones por separado.

### 6.6.2.2. Efecto del disolvente

A partir de los resultados que aparecen en la Tabla XV, no hay duda acerca del papel que el disolvente juega en la complejación del PamPit con las CDs, ya que manteniendo el mismo huésped y el mismo anfitrión se observan grandes variaciones en los valores de las constantes aparentes de interacción, no atribuibles a errores experimentales, si se toma en cuenta la magnitud de los cambios.

Teniendo en cuenta el carácter predominantemente hidrófobo del ion pamoato y del ion pirantel, en cuanto a superficie se refiere, cabe suponer que su interacción con los medios de reacción empleados no será muy favorable y esta interacción tenderá a ser optimizada mediante su transferencia a un medio más adecuado como es la cavidad de una cicloamilosa, ocasionando una inclusión total o parcial del huésped mencionado.

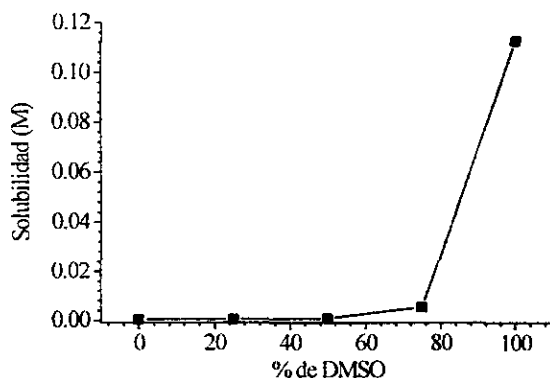


Figura 50: Solubilidad del pamoato de pirantel en los distintos disolventes empleados, a 298 K.

DMSO en el medio, aumenta la solubilidad, lo cual apoya lo comentado anteriormente sobre el carácter preferentemente lipofílico de esta sal. También es una muestra de la disminución del efecto solvofóbico al aumentar la proporción de disolvente orgánico, a pesar de que el DMSO también se considera un disolvente organizado, que interactúa fuertemente consigo mismo<sup>(278a-278c)</sup>.

En la Figura 51 se muestra la variación que sufre la constante aparente de equilibrio con el incremento de DMSO en el medio de reacción.

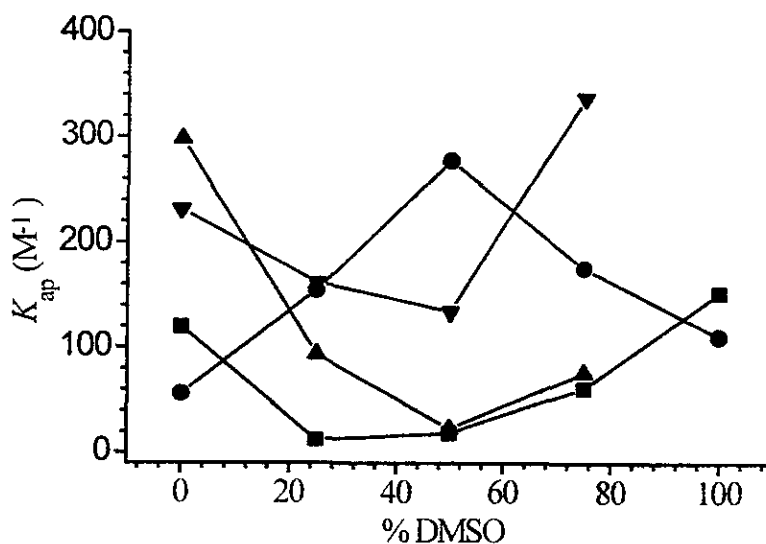


Figura 51: Constantes aparentes de equilibrio del pamoato de pirantel, a 298 K, con  $\alpha$ -CD (■),  $\beta$ -CD (●),  $\gamma$ -CD (▲) y HP- $\beta$ -CD (▼) en función de la composición del medio de reacción.

En la Figura 51 se observa que las  $K_{ap}$  para los complejos de  $\alpha$ -,  $\gamma$ - y HP- $\beta$ -CDs con PamPit muestran una tendencia semejante, en donde aparece un punto de inflexión en la proporción de DMSO que corresponde al 50%. Mientras que los valores de las  $K_{ap}$  para la formación de complejos con  $\beta$ -CD inicialmente se incrementan y posteriormente decrecen; la tendencia general es contraria a este último patrón de comportamiento, hay una disminución de la  $K_{ap}$  al disminuir el efecto solvofóbico y posteriormente un aumento de la constante aparente de equilibrio al aumentar la solubilidad del huésped. Para  $\alpha$ -,  $\gamma$ - y HP- $\beta$ -CDs, la primera parte de la gráfica se puede explicar en función de las interacciones solvofóbicas como fuerzas predominantes de la complejación en esos medios y posteriormente, a partir de la mezcla al 50% de DMSO, el comportamiento pareciera deberse a interacciones propias huésped-anfitrión, probablemente van der Waals. Para la  $\beta$ -CD, concluiríamos que en el primer tramo de la gráfica, la complejación se debe a interacciones de van der Waals entre huésped y anfitrión, mientras que en el segundo podríamos hablar de interacciones solvofóbicas.

Consideramos que el punto de inflexión coincide con un cambio significativo en la estructura de los complejos formados. Este mismo comportamiento ha sido ya observado en otros sistemas de reacción<sup>(106b)</sup>.

Cabe mencionar para el PamPit que debido a que no conocemos las constantes de equilibrio individuales para cada especie iónica, sólo se puede especular acerca de su comportamiento en los diferentes medios.

### 6.6.2.3. Otros aspectos termodinámicos

Como ya se ha mencionado en este trabajo y además, está bien establecido en la bibliografía,  $\Delta S$  y  $\Delta H$  son parámetros que se pueden interpretar en función de las interacciones intermoleculares involucradas en la complejación. Estos valores han sido obtenidos a partir de la variación de las constantes aparentes de equilibrio con la temperatura, por medio de un análisis de van't Hoff, usando la Ecuación 8 (sección 8) (Figura 52).

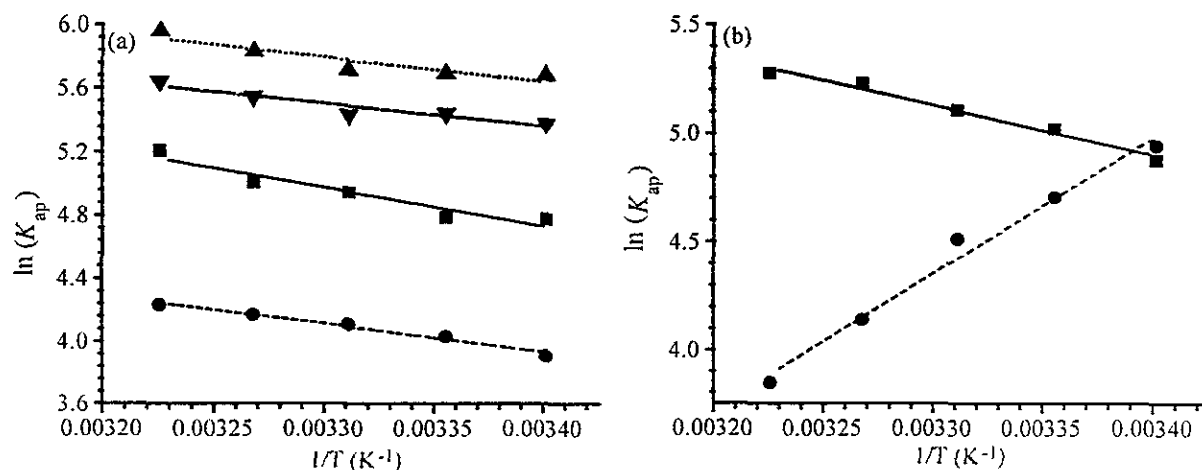


Figura 52: Análisis de van't Hoff para los sistemas PamPit con  $\alpha$ -CD (■) (—),  $\beta$ -CD (●) (---),  $\gamma$ -CD (▲) (--) y HP- $\beta$ -CD (▼) (-.-) en disolución acuosa (a) y en DMSO (b). Los símbolos representan los datos experimentales y las líneas los ajustes lineales

En la Tabla XVII, se muestran los valores de  $\Delta H$  y  $\Delta S$  de la complejación entre pamoato de pirantel y algunas ciclodextrinas en disolución acuosa y en DMSO.

	$\Delta H$ (kJ/mol)		$\Delta S$ (J/mol K)	
	D. acuosa	DMSO	D. acuosa	DMSO
$\alpha$ -CD	$20.5 \pm 0.1$	$19.07 \pm 0.02$	$109.0 \pm 0.2$	$105.54 \pm 0.08$
$\beta$ -CD	$14.83 \pm 0.02$	$-52.23 \pm 0.06$	$83.09 \pm 0.06$	$-136.2 \pm 0.2$
$\gamma$ -CD	$13.02 \pm 0.05$		$91.1 \pm 0.2$	
HP- $\beta$ -CD	$11.92 \pm 0.04$		$85.06 \pm 0.13$	

Tabla XVII: Valores termodinámicos para la reacción de complejación entre pamoato de pirantel y varias CDs, en disolución acuosa y en DMSO.

Debido a que no se pudieron obtener las  $K_{ap}$  con  $\gamma$ - y con HP- $\beta$ - CDs, no se tienen herramientas para poder obtener los valores de  $\Delta H$  y  $\Delta S$  en DMSO.

En general observamos que en todos los casos estudiados, la formación de los complejos es favorable entrópicamente ( $\Delta S > 0$ ) y desfavorable entálpicamente ( $\Delta H > 0$ ).

Tomando en cuenta los resultados de la Tabla XVII y la Figura 52, se aprecia que los cambios entrópicos y entálpicos son bastante similares en el caso de la D. acuosa, mayores variaciones de estos parámetros ocurren en DMSO.

Como ya hemos comentado, son seis los factores principales que intervienen en el proceso de la inclusión: exclusión de las moléculas de agua del interior de la

cavidad de cicloamilosa, liberación de la tensión del anillo, profundidad de la inclusión, superficie de contacto y distancia interna entre ambas moléculas y efecto del disolvente<sup>(2c)</sup>.

En el caso de los sistemas de PamPit, cuando se consideran estos seis factores, observamos que si las diferencias en el comportamiento termodinámico, valores de  $\Delta H$  y  $\Delta S$ , se debieran al número de moléculas de agua o DMSO que se excluyen de la cavidad,  $\Delta H$  para  $\gamma$ -CD sería más favorable que para  $\beta$  y HP- $\beta$ -CDs y aún más favorable que para  $\alpha$ -CD. Esta tendencia es seguida por los complejos de PamPit, por lo cual podemos decir que este factor participa ampliamente en la reacción de complejación. Lo mismo podemos afirmar para el caso de la liberación de la tensión del anillo de las CDs, este factor también contribuye considerablemente en las reacciones estudiadas.

Considerando el criterio de W.P. Jencks<sup>(139)</sup> acerca del signo de los valores de los cambios entrópicos y entálpicos, se puede afirmar que en la mayor parte de los estudios con PamPit, las interacciones más importantes son las solvofóbicas, y esto concuerda en gran medida con lo expresado en la sección 6.6.2.2. En el caso particular de la  $\beta$ -CD, en DMSO, 75% y 50% DMSO, se puede hablar de efecto solvofóbico no clásico.

Los valores de  $\Delta H$  y  $\Delta S$  correspondientes a la  $\alpha$ -CD, en DMSO no concuerdan con lo esperado tras el estudio del efecto del disolvente, estos valores son muy parecidos a los obtenidos en D. acuosa. Así, la explicación más razonable es este caso, es la compensación entre  $\Delta H$  y  $\Delta S$ , debida a un posible cambio estructural del complejo de inclusión ocasionado por el medio de reacción.

### 6.6.3. Conclusiones

- \* Se determinaron constantes de interacción aparentes para la mayoría de los sistemas con pamoato de pirantel. Se concluye que el modelo de reacción planteado (formación de un complejo tipo [PamPit  $\subset$  CD]) es adecuado para la interpretación de resultados, ya que hemos observado resultados muy semejantes obtenidos por dos métodos diferentes.

- \* Los valores positivos de  $\Delta S$  son indicativos de la mayor influencia del efecto solvofóbico en la complejación de este huésped en D. acuosa, 25 % DMSO y 50% DMSO, mientras que las interacciones van der Waals, la expulsión del disolvente de la cavidad y la liberación de la tensión del anillo son factores que contribuyen de manera significativa en las reacciones de complejación en los otros medios (75% DMSO y DMSO).

## 6.7.- PAMOATO DE PIRVINIUM

El pamoato de pirvinium (sal de 6-(dimetilamino)-2-[2-(2, 5-dimetil-1-fenil-1H-pirrol-3-yl) etenil] -1-metilquinolinium con ácido 4,4'-metilenebis[3-hidroxi-2-naftóico]) (Figura 3, página 16) es un antihelmíntico prácticamente insoluble en agua, por lo que se absorbe poco a nivel gastrointestinal e irrita provocando vómitos. Es estable a condiciones normales de calor, luz y temperatura.

### 6.7.1. Resultados

Para determinar los valores de las  $K_{int}$  del anión pamoato en D. acuosa, pH 7.5, se han seguido los cambios espectrales de absorbancia a 278, 288, 300 y 360 nm, mientras que para hallar las correspondientes  $K_{int}$  atribuidas al catión pirvinium se ha estudiado la variación de absorbancia a 468 nm. En los distintos disolventes, el estudio se ha hecho a los máximos correspondientes.

En los estudios de complejación del PamPiv<sub>2</sub> no se han llevado a cabo estudios de RMN, debido a su baja solubilidad en D. acuosa y a la debilidad de las interacciones entre este huésped y las CDs en DMSO. Tampoco, se obtuvieron resultados concluyentes de las  $K_{int}$  por el método de Higuchi y Connors, ni de la influencia de la protonación..

#### 6.7.1.1. Espectroscopía electrónica de absorción

##### 6.7.1.1.1. Características del espectro electrónico

El pamoato de pirvinium es una sal formada por una parte aniónica, el pamoato, y otra catiónica, el pirvinium, en relación 1pamoato:2pirvinium. Ambas especies iónicas presentan características estructurales adecuadas para poderse incluir en la cavidad de las cicloamilos, por ello el discernimiento de las bandas del espectro electrónico del PamPiv<sub>2</sub> en bandas del anión y del catión ayuda en la determinación de los valores de las constantes de equilibrio para cada una de las dos especies iónicas. Si comparamos los espectros electrónicos de absorción de los

pamoatos de pirantel y de pirvinium, observamos una banda en 498 nm, en el caso del pamoato de pirvinium, que se puede atribuir al catión pirvinium (Figura 46). En disolución acuosa a 298 K, aparecen bandas de absorción cuyos máximos están en 236, 278, 288 y 300 nm, un par de bandas anchas en 358 y en 498 nm. Estas bandas aparecen también en los medios de reacción que contienen DMSO, pero la banda a 236 está cubierta por la absorción del DMSO puro, los tres picos más pequeños se mantienen inamovibles y las bandas en el visible se desplazan hasta 364 y 506 nm, respectivamente, al ir aumentando la proporción del DMSO en el medio. También se aprecia una disminución de la absorptividad molar con la polaridad del disolvente.

A las diferentes temperaturas estudiadas no se ha observado ningún cambio significativo en el espectro electrónico de absorción del pamoato de pirvinium.

#### **6.7.1.1.2. Constantes de equilibrio de los compuestos formados entre pamoato de pirvinium y ciclodextrinas.**

En la sección anterior se ha reseñado la forma de los espectros electrónicos de absorción del pamoato de pirvinium, en los diferentes medios de reacción estudiados. Estos espectros se ven afectados por la adición de las diferentes ciclodextrinas al medio de reacción. Para todos los anfitriones vemos que en disolución acuosa hay un aumento de la intensidad de absorbancia, en todo el espectro, a medida que se aumenta la concentración de las cicloamilosas en la disolución; sólo con la HP- $\beta$ -CD no se han podido obtener datos de constantes de equilibrio debido a las erráticas variaciones observadas en el espectro electrónico. En los demás disolventes vemos como aumenta la absorbancia en la región del ultravioleta, a la vez que disminuye en la región del visible. En ciertos casos los cambios son tan pequeños que no es posible la obtención de la  $K_{int}$ . El mismo comportamiento se observa a distintas temperaturas. Esas variaciones espectrales sugieren que existen interacciones entre el pamoato de pirvinium y las diferentes CDs<sup>(272)</sup>.



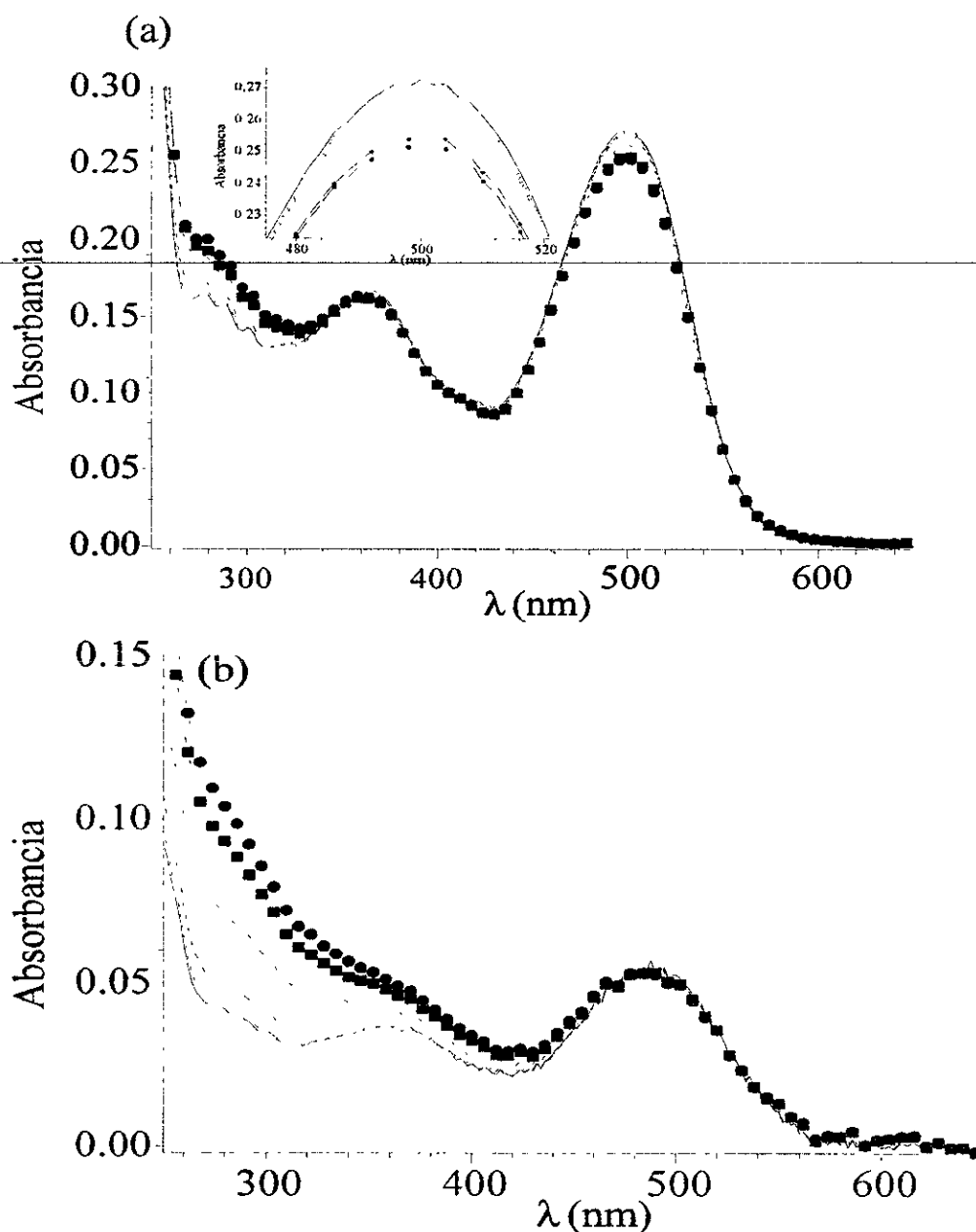


Figura 53: Espectros electrónicos de absorción del pamoato de pirvinium ( $[PamPiv_2] = 10^{-6} \text{ M}$ ) con diferentes concentraciones de  $\beta$ -CD en 50% DMSO (a) y HP- $\beta$ -CD (b) en 25% DMSO a 298 K: (—) 0 M; (— —)  $10^{-4} \text{ M}$ ; (---)  $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ ; (-·-·-)  $10^{-3} \text{ M}$ ; (-····-)  $4 \times 10^{-3} \text{ M}$ ; (-■-)  $8 \times 10^{-3} \text{ M}$ ; (-●-)  $10^{-2} \text{ M}$ .

En la Figura 53 se ilustran los cambios en el espectro electrónico de absorción debido a la adición de  $\beta$ -CD a la disolución de pamoato de pirvinium, en 50% de DMSO y a la adición de HP- $\beta$ -CD, en 25% de DMSO, respectivamente. La Figura 53b ayuda a entender porqué no es posible determinar los valores de las  $K_{int}$  entre el pirvinium y la HP- $\beta$ -CD, en la mezcla al 25% de DMSO, los cambios en el espectro son insignificantes en la región visible.

Si se examinan las estructuras del pamoato y del pirvinium se puede suponer que la inclusión de cada una de estas especies puede tener lugar por dos sitios de unión, equiparables para el pamoato (dos grupos naftil iguales) y diferentes para el pirvinium (grupo bencil y amina ternaria), o bien por ambos sitios a la vez, para el pamoato y por los dos sitios a la vez, para el pirvinium. Sin embargo, al graficar  $\Delta A$  frente a la concentración de cicloamilosa, la curva resultante se ajusta a la Ecuación 5 (sección 8) correspondiente a la formación de un complejo de estequiometría 1:1.

En el esquema IV se muestra el posible equilibrio de complejación.



Esquema IV

donde  $K_{\text{pam}}$  es la constante de equilibrio para la complejación del pamoato y  $K_{\text{piv}}$  para el pirvinium.

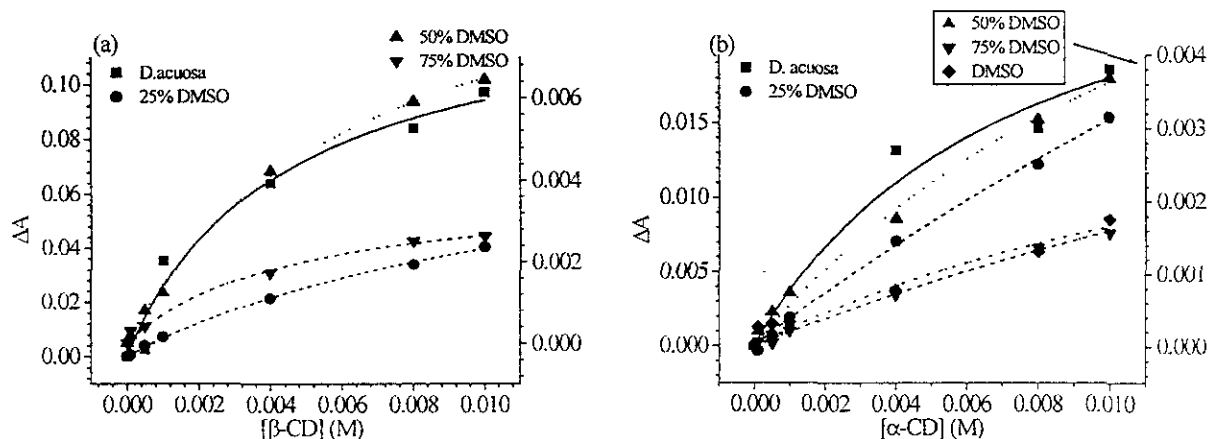


Figura 54: Isothermas de unión para el sistema pamoato de pirvinium ( $[\text{PamPiv}_2] = 10^{-6}$  M) con  $\beta$ -CD (pamoato (a) y pirvinium (b)) a 298 K en diferentes disolventes: (■) (—) D. acuosa, pH 7.5,  $\lambda_{\text{pam}} = 276$  nm,  $\lambda_{\text{piv}} = 468$  nm; (●) (---) 25% DMSO,  $\lambda_{\text{pam}} = 278$  nm,  $\lambda_{\text{piv}} = 488$  nm; (▲) (---) 50% DMSO,  $\lambda_{\text{pam}} = 290$  nm,  $\lambda_{\text{piv}} = 500$  nm; (▼) (-·-·-) 75% DMSO,  $\lambda_{\text{pam}} = 290$  nm,  $\lambda_{\text{piv}} = 506$  nm; (◆) (-·-·-) DMSO,  $\lambda_{\text{pam}} = 304$  nm,  $\lambda_{\text{piv}} = 506$  nm. Los símbolos corresponden a los resultados experimentales y las líneas a los ajustes de los mismos a la Ecuación 5.

En la Figura 54 vemos las isothermas de unión para el sistema pamoato (a) y pirvinium (b) con  $\beta$ -CD en los diferentes disolventes estudiados. Las longitudes de onda seguidas en este estudio han sido: 276 y 468 nm en D. acuosa, 278 y 488 nm en 25% DMSO, 290 y 500 nm en 50% DMSO, 290 y 506 nm en 75% DMSO y 304 y 506 nm en DMSO, para el pamoato y el pirvinium, respectivamente. Está claro que el comportamiento de ambas moléculas es diferente entre si, por lo cual creemos que

es adecuado el considerar las bandas del espectro por separado para conocer las constantes de equilibrio de cada una de las moléculas componentes de la sal.

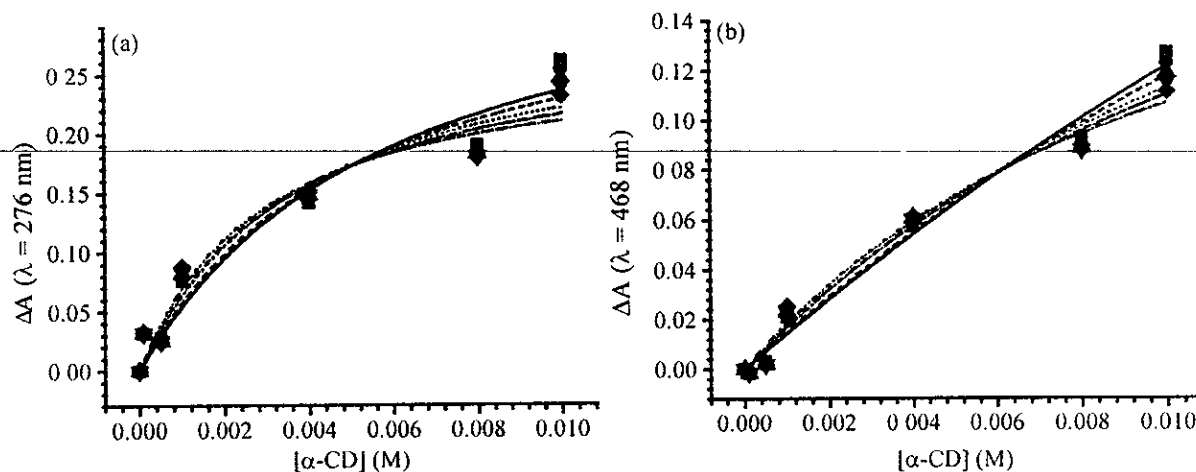


Figura 55: Isotermas de unión obtenidas para el sistema Pam<sup>2-</sup> (a) y Piv<sup>+</sup> (b) con  $\alpha$ -CD en disolución acuosa, pH 7.5, a distintas temperaturas: (■) (—) 294 K; (●) (---) 298 K; (▲) (---) 302 K; (▼) (-.-.-) 306 K; (◆) (-.-.-.-) 310 K. Los símbolos corresponden a los resultados experimentales y las líneas a los ajustes de los mismos a la Ecuación 5 (sección 8).

En la Figura 55 vemos el distinto comportamiento del pamoato y del pirvinium con  $\alpha$ -CD en D. acuosa a las diferentes temperaturas estudiadas. En ambos casos se observa un aumento de la constante de equilibrio a medida que aumenta la temperatura<sup>(211, 253a, 279)</sup>.

En la Tabla XVIII se presentan las constantes de interacción para el anión pamoato con las cuatro ciclodextrinas estudiadas a 298 K.

CDs	Medio de disolución				
	D. acuosa	25% DMSO	50% DMSO	75% DMSO	DMSO
$\alpha$ -CD	200 $\pm$ 30	12.21 $\pm$ 0.04	188 $\pm$ 6	390 $\pm$ 40	1300 $\pm$ 400
$\beta$ -CD	240 $\pm$ 30	78 $\pm$ 1	157 $\pm$ 4	220 $\pm$ 15	
$\gamma$ -CD	230 $\pm$ 20	13.17 $\pm$ 0.06	163 $\pm$ 15	320 $\pm$ 40	
HP- $\beta$ -CD	160 $\pm$ 20	60.9 $\pm$ 0.8	115 $\pm$ 4	150 $\pm$ 10	

Tabla XVIII: Constantes de interacción ( $M^{-1}$ ) del ion pamoato con varias CDs en diferentes medios a 298 K, obtenidas por el método de espectroscopía directa.

Las constantes de interacción correspondientes el pirvinium con las diferentes ciclodextrinas, a 298 K, se muestran en la Tabla XIX.

CDs	Medio de disolución				
	D. acuosa	25% DMSO	50% DMSO	75% DMSO	DMSO
$\alpha$ -CD	32 $\pm$ 1	74 $\pm$ 2	59 $\pm$ 3	11.9 $\pm$ 0.2	24.9 $\pm$ 0.8
$\beta$ -CD	140 $\pm$ 20	22.8 $\pm$ 0.4	67 $\pm$ 3	25.6 $\pm$ 0.5	55 $\pm$ 5
$\gamma$ -CD	280 $\pm$ 20		11.6 $\pm$ 0.1	48 $\pm$ 2	
HP- $\beta$ -CD			14.7 $\pm$ 0.5	7.6 $\pm$ 0.1	

Tabla XIX: Constantes de interacción ( $M^{-1}$ ) del pirvinium con varias CDs en diferentes medios a 298 K, obtenidas por el método de espectroscopía directa.

A igual que en los estudios con PamPit, se observa que no todos los valores de  $K_{int}$  han podido ser obtenidos, se supone que se debe a las débiles interacciones entre Pam<sup>2-</sup> o Piv<sup>+</sup> con la  $\gamma$ - y HP- $\beta$ - CDs.

#### 6.7.1.1.2. Mecánica molecular

Para hacernos una idea de la posible estructura de los complejos formados se recurre a los cálculos de mecánica molecular, los estudios de cada uno de los aniones de la sal se hacen por separado, pero considerando que son especies cargadas eléctricamente.

Se considera un eje central a través de la cavidad de la ciclodextrina, sobre el cual vamos a ir desplazando a cada uno de los huéspedes y pasando de un lado a otro de la cavidad, cada una de las posiciones se optimiza para conocer a que energía corresponde y finalmente se considera como posible estructura aquella configuración de mínima energía en comparación con el huésped y el anfitrión por separado.

Los resultados para el anión pamoato dianiónico son prácticamente iguales que para el monoaniónico y ya están representados en la Figura 49 y las posibles estructuras obtenidas con el catión pirvinium son ilustradas en la Figura 56.

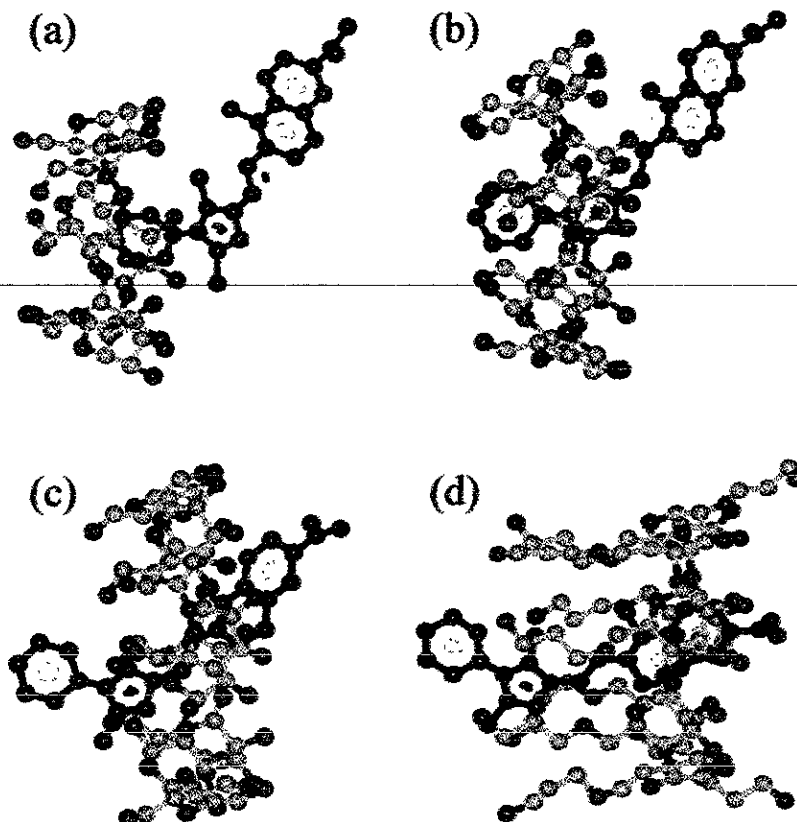


Figura 56. Estructuras de mínima energía calculadas mediante mecánica molecular para los complejos de inclusión del ion pirvinium con las ciclodextrinas. (a)  $\alpha$ -CD, (b)  $\beta$ -CD, (c)  $\gamma$ -CD y (d) HP- $\beta$ -CD.

## 6.7.2. Discusión

### 6.7.2.1. Efecto de las diferentes ciclodextrinas sobre la complejación

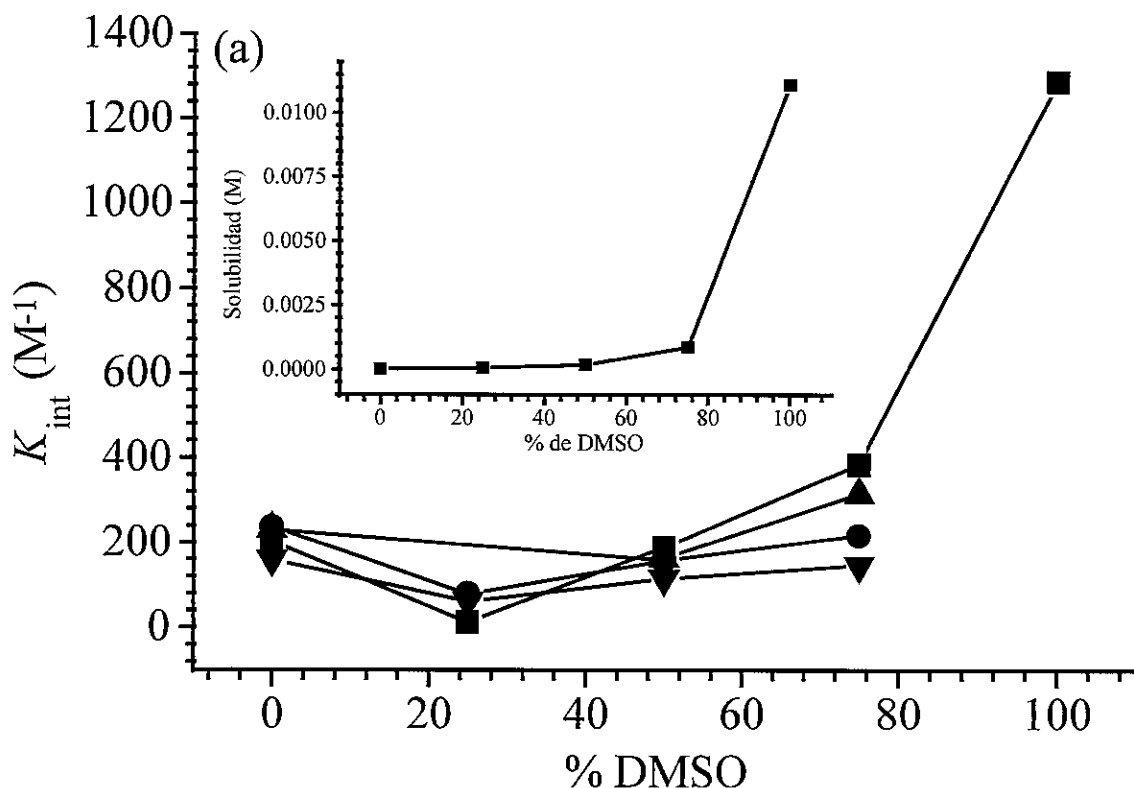
No cabe duda que el tamaño de la cavidad va a funcionar como un primer factor de selección en el proceso de inclusión, ya que dependiendo de la relación de tamaños entre huésped y cavidad del anfitrión va a tener, o no, lugar la inclusión<sup>(265a, 265b, 270a)</sup>. Sin embargo, al comparar los resultados obtenidos, tanto para el pamoato, como para el pirvinium y las diferentes ciclodextrinas, se observa que es difícil sacar un patrón común de comportamiento referido a este factor, lo que indica que a pesar de la selectividad que el tamaño desempeña en la complejación, existen otros factores mucho más importantes en la determinación de la estabilidad de la nueva especie formada. También hay que considerar la complejidad inherente a estos

sistemas de reacción y adicionalmente, los valores pequeños de las constantes de interacción.

### 6.7.2.2. Efecto del disolvente

A partir de los resultados obtenidos por medio de la espectroscopía electrónica de absorción, el disolvente es un factor importante en las reacciones estudiadas, ya que a pesar de mantener el mismo huésped y el mismo anfitrión, observamos cambios significativos en el comportamiento de complejación, en los distintos medios de reacción.

Se han llevado a cabo estudios de solubilidad con el fin de conocer el grado de solvatación de los huéspedes en los disolventes de trabajo y posteriormente se ha correlacionado el porcentaje de DMSO con las constantes de equilibrio, estos resultados se muestran gráficamente en la Figura 57.



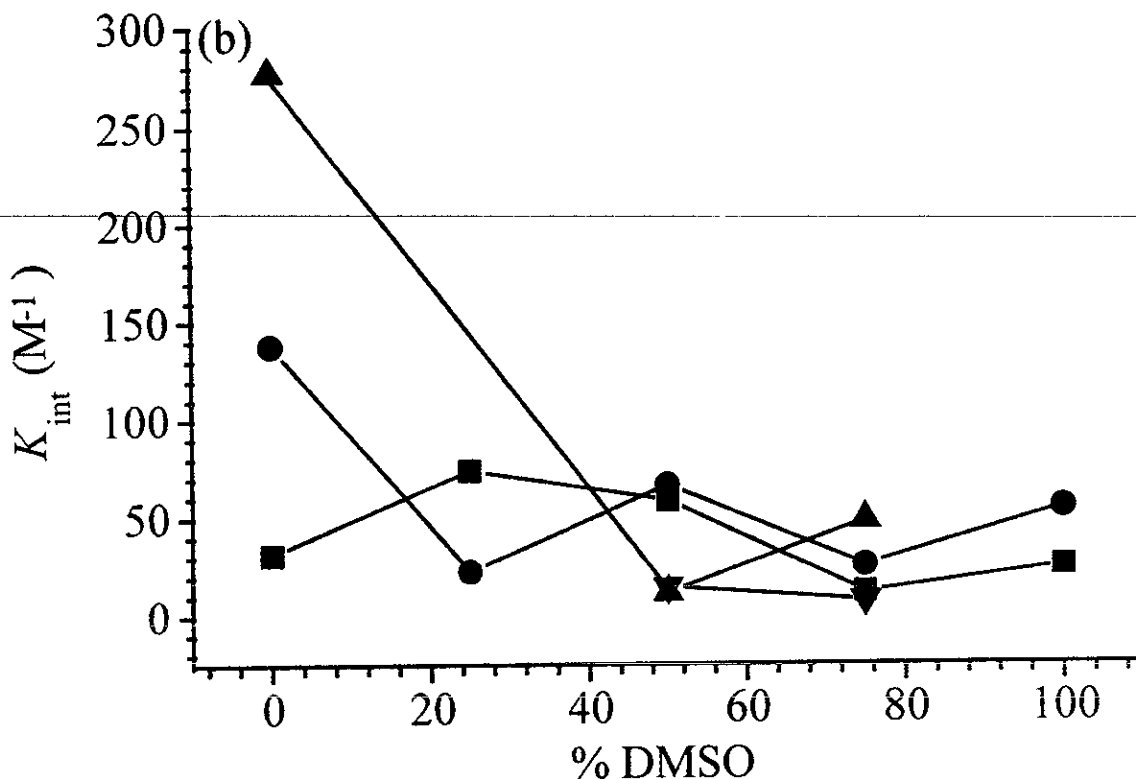


Figura 57: Constantes de equilibrio del pamoato (a) y pirvinium (b) con  $\alpha$ -CD (■),  $\beta$ -CD (●),  $\gamma$ -CD (▲) y HP- $\beta$ -CD (▼) en función de la composición del medio, a 298 K. La inserción en (a) representa la solubilidad del pamoato de pirvinium en los distintos disolventes empleados.

Es importante hacer constar el carácter principalmente hidrofóbico del pamoato de pirvinium, a pesar de ser especies iónicas. Esto se ve en la inserción de la Figura 57a. El aumento la solubilidad al incrementar la proporción de DMSO en el disolvente, es también indicativo de una disminución en las interacciones disolvente-disolvente, o lo que es lo mismo, una disminución del efecto solvofóbico. Por su carácter iónico, cabe pensar que el grupo cargado se verá preferentemente solvatado por el disolvente que interaccionando con el interior de la cavidad de la CD, de lo que se deduce que la inclusión tendrá lugar de tal modo que se favorezcan al máximo las interacciones con el disolvente y con el anfitrión, es decir, la orientación de la complejación vendrá gobernada por las interacciones ion-dipolo entre huésped y disolvente<sup>(280a y b)</sup>.

Para los procesos de inclusión que involucran al ion pamoato, se observa, en general, que en disolución acuosa y 25% DMSO la complejación viene regida por las interacciones solvofóbicas, dado que las constantes de equilibrio y el efecto

solvofóbico disminuyen paralelamente. Sin embargo, para el resto de los medios de reacción, las interacciones de van der Waals juegan un papel esencial en la inclusión del ion pamoato.

Es difícil juzgar el papel del disolvente en las reacciones de complejación entre CDs y el catión pirvinium, puesto que no hay tendencias claras y además, las variaciones en los valores de las constantes son muy pequeños, excepto con la  $\gamma$ -CD, en donde las interacciones de van der Waals son relevantes.

### 6.7.2.3. Otros aspectos termodinámicos

Las Tablas XX y XXI muestran los parámetros termodinámicos ( $\Delta H$  y  $\Delta S$ ) obtenidos para las reacciones de complejación entre pamoato y pirvinium con una serie de ciclodextrinas. Estos valores se han obtenido mediante un análisis de van't Hoff (Ecuación 8) a partir de los cambios de las  $K_{int}$  con la temperatura (Figura 58).

	$\Delta H$ (kJ/mol)		$\Delta S$ (J/mol K)	
	D. acuosa	DMSO	D. acuosa	DMSO
$\alpha$ -CD	34.65 $\pm$ 0.04	13.34 $\pm$ 0.04	160.5 $\pm$ 0.1	104.53 $\pm$ 0.02
$\beta$ -CD	18.48 $\pm$ 0.01		107.49 $\pm$ 0.05	
$\gamma$ -CD	8.34 $\pm$ 0.09		72.9 $\pm$ 0.1	
HP- $\beta$ -CD	0.95 $\pm$ 0.03		45.1 $\pm$ 0.1	

Tabla XX: Valores termodinámicos para la reacción de complejación entre pamoato y varias CDs, en disolución acuosa y en DMSO.

	$\Delta H$ (kJ/mol)		$\Delta S$ (J/mol K)	
	D. acuosa	DMSO	D. acuosa	DMSO
$\alpha$ -CD	70.6 $\pm$ 0.1	-31.13 $\pm$ 0.03	265.6 $\pm$ 0.5	-77.55 $\pm$ 0.09
$\beta$ -CD	23.30 $\pm$ 0.03		119.1 $\pm$ 0.1	
$\gamma$ -CD	-23.83 $\pm$ 0.02		-33.1 $\pm$ 0.1	

Tabla XXI: Valores termodinámicos para la reacción de complejación entre pirvinium y algunas CDs, en disolución acuosa y en DMSO.



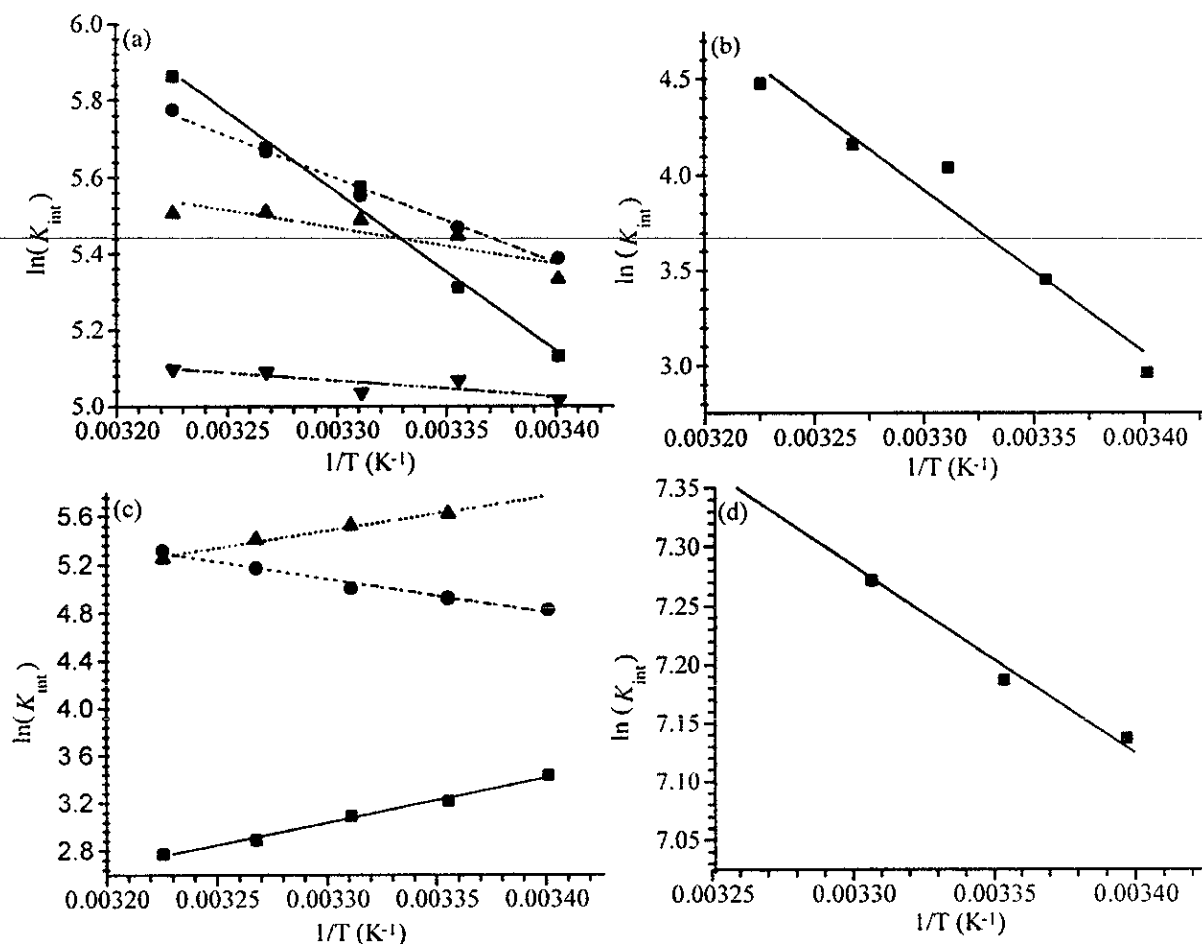


Figura 58: Análisis de van't Hoff para los sistemas ion Pamoato (a y b) e ion Pirvinium (c y d) con  $\alpha$ -CD (■) (—),  $\beta$ -CD (●) (---),  $\gamma$ -CD (▲) (--) y HP- $\beta$ -CD (▼) (---) en disolución acuosa (a y c) y en DMSO (b y d). Los símbolos representan los datos experimentales y las líneas los ajustes lineales

En la mayor parte de los sistemas estudiados en esta sección, observamos que la formación de los complejos es favorable entrópicamente y desfavorable entálpicamente. Para poder hacer un análisis de estos valores termodinámicos, hay que considerar los distintos factores que intervienen en el proceso de la inclusión: exclusión de las moléculas de agua del interior de la cavidad de, liberación de la tensión del anillo, profundidad de la inclusión, superficie de contacto y distancia interna entre ambas moléculas y efecto del disolvente<sup>(2c)</sup>.

Tanto la exclusión de las moléculas del disolvente, como la liberación de la tensión del anillo, parecen ser factores importantes en la complejación del pamoato con las diferentes ciclodextrina, ya que las tendencias observadas en las variables termodinámicas están de acuerdo con lo esperado si estos factores jugaran un papel importante.  $\Delta H$  es más favorable para HP- $\beta$ -CD que para  $\gamma$  y  $\beta$ -CDs y más que para

$\alpha$ -CD. Basándonos en los signos de  $\Delta S$  y  $\Delta H^{(139)}$ , se puede concluir que en general las reacciones con pamoato y las diversas cicloamilosas son gobernadas por interacciones solvofóbicas.

Para las reacciones de complejación con el pirvinium podemos concluir que con  $\alpha$ - y  $\beta$ - CDs la reacción es principalmente gobernada por el efecto del disolvente, dado que tanto  $\Delta S$  como  $\Delta H$  son positivos. Sin embargo, con  $\gamma$ -CD las interacciones dominantes son las fuerzas de van der Waals, ya que se caracterizan por valores negativos del factor entrópico y entálpico. Además en consideración a las tendencias observadas por las diferentes ciclodextrinas, también se concluye que la tensión del anillo y la liberación del disolvente de la cavidad de la cicloamilosa son factores importantes. En DMSO, parece ser que las interacciones entre huésped y anfitrión juegan el papel más importante en la reacción de complejación.

### 6.7.3. Conclusiones

- \* Fue posible obtener por separado los valores de las  $K_{int}$  atribuidas al  $Pam^{2-}$  y al  $Piv^+$ , mediante espectroscopía directa.
- \* Se han determinado las  $K_{int}$  para todos los sistemas con el ion pamoato a excepción de los sistemas con  $\beta$ -,  $\gamma$ - y HP- $\beta$ - CDs en DMSO. En el caso del pirvinium, la debilidad de las interacciones representan un problema serio para la determinación de los parámetros termodinámicos y su interpretación.
- \* Se concluye que la relación de tamaños es un factor selectivo pero que no interviene substancialmente en la estabilidad de los complejos formados.
- \* El ion pamoato parece mostrar una combinación de fuerzas estabilizadoras, tanto el efecto solvofóbico como las interacciones de van der Waals participan notoriamente en la complejación.
- \* Los complejos del ion pirvinium con ciclodextrinas están estabilizados por efecto solvofóbico, con excepción de los formados con la  $\alpha$ -CD en DMSO y con la  $\gamma$ -CD en D. acuosa.

## 7. Conclusiones generales y perspectivas

### 7.1. Conclusiones generales

Se estudiaron siete moléculas huéspedes con cuatro ciclodextrinas en cinco medios de disolución, a 298 K. También, en DMSO y en D. acuosa regulada a pH 7.5, se llevaron a cabo estudios de espectroscopía directa para conocer los valores de  $\Delta S$  y  $\Delta H$ . En general, se puede decir que se han obtenido una gran parte de los valores de las constantes de inclusión que se planearon inicialmente, así como de los otros parámetros termodinámicos. También, los estudios de RMN y de MM nos han dado suficiente información para conocer la estructura más probable de los complejos de inclusión formados.

En resumen, se determinaron 150  $K_{int}$ , en cinco medios de reacción, a 298 K por el método de espectroscopía directa; 24  $K_{int}$  en D. acuosa, pH 7.5, a 298 K usando el método de Higuchi y Connors; 35 valores de coeficientes solubilidad en los cinco medios de reacción, a 298 K; 215  $K_{int}$  en D. acuosa, pH 7.5 y DMSO a 294, 302, 306 y 310 K; 10 valores de  $pK_a$  y 3  $K_{int}$  en D. acuosa a pH 1.8. También, se llevaron a cabo estudios de mecánica molecular para 8 moléculas huésped y se logró obtener información de RMN para el violeta de genciana, el mebendazol y el tiabendazol con la  $\alpha$ -,  $\beta$ - y  $\gamma$ -CDs.

Analizando los resultados obtenidos en función de los diferentes parámetros involucrados en el proceso de complejación se puede llegar a las siguientes conclusiones generales:

- \* Todos los antihelmínticos forman complejos de inclusión con las ciclodextrinas a todas las condiciones de reacción estudiadas; sólo los pamoatos han presentado algunas excepciones. Todos los complejos de inclusión formados presentan estequiometría 1:1, a excepción del  $[CV_2 \subset \gamma\text{-CD}]^{2+}$  en D. acuosa, pH 7.5 y del  $[CV \subset \alpha\text{-CD}]^+$  en D. acuosa, a 294 K.
- \* Se ha encontrado que el Alb y el Meb son los que más afinidad tienen por las ciclodextrinas, seguidos por el Tiab, Pam<sup>2+</sup>, Prazi, PamPit, CV<sup>+</sup> y finalmente el

pirvinium. Cabe destacar que el tiabendazol se incluye muy fuertemente en DMSO, pero en D. acuosa presenta baja afinidad por las cicloamilosas.

- \* Las ciclodextrinas que forman complejos más estables son la HP- $\beta$ - y la  $\beta$ - CDs, mientras que el general de los huéspedes se acomplejan débilmente con la  $\gamma$ - y la  $\alpha$ - CDs.
- \* En cuanto a los medios de reacción, los mayores valores de constantes se encuentran en los disolventes puros, seguidos por la mezcla al 25% y finalmente por las mezclas al 50% y 75% de DMSO.
- \* La orientación del huésped dentro de la cavidad de la cicloamilosa viene dirigida, principalmente, por una competencia entre las interacciones huésped-disolvente y las interacciones huésped-CD. Se ve beneficiada la posición de mínima energía que favorece al máximo ambas interacciones. La sección de la molécula huésped que interacciona más débilmente con el disolvente es la parte que se incluye.
- \* En la formación de los complejos de inclusión, se puede hablar de los factores que dirigen la complejación y de las fuerzas que estabilizan las especies formadas. La liberación de la tensión del anillo, la expulsión de las moléculas de disolvente de la cavidad de la cicloamilosa y la relación de tamaños entre huésped y anfitrión participan significativamente en la formación de los complejos, pero no son los factores predominantes en la estabilización de los mismos.
- \* Al estudiar el efecto del disolvente, en general se observa que las  $K_{int}$  disminuyen a medida que disminuye el efecto solvofóbico en el medio, lo que nos indica la gran importancia que este tipo de interacciones tiene en el proceso de complejación. Aunque también, en algunos casos se puede contemplar la importancia de las fuerzas de van der Waals en la estabilización de los complejos de inclusión.
- \* La conclusión anterior se apoya también en los valores positivos de  $\Delta S$  y  $\Delta H$ , indicativos de efecto solvofóbico, obtenidos a partir de los estudios de las  $K_{int}$  a diferentes temperaturas.
- \* Al estudiar la influencia de la carga, se deduce que la presencia de grupos cargado en la molécula desfavorece considerablemente la estabilidad de estos

sistemas, probablemente debido a que se favorece la interacción con el disolvente.

En este trabajo se ha aportado conocimiento acerca de las interacciones intermoleculares existentes entre las ciclodextrinas y algunos antihelmínticos, se ha observado la gran influencia que ejerce el disolvente en la estabilidad de los complejos de inclusión. También, se ha comprobado que algunos factores tradicionalmente considerados muy importantes para favorecer la estabilidad, participan de forma negativa a este fenómeno.

Por otro lado, se ha logrado adaptar y aplicar una metodología adecuada para trabajar con errores muy pequeños en la determinación de los valores de algunos parámetros termodinámicos relacionados con este tipo de reacciones, ya que son sistemas sumamente complicados en su manejo.

Además, se ha demostrado en este estudios que las ciclodextrinas son una buena alternativa para mejorar las características de solubilidad en agua de algunos fármacos tan importantes como son el albendazol, mebendazol, tiabendazol y otros.

A continuación, se muestran tres gráficas que resumen una gran parte de los resultados obtenidos. La primera gráfica muestra las  $K_{int}$  con los 8 huéspedes y las 4 CDs, en los cinco medios de reacción, a 298 K. En la segunda y tercera gráficas están representados los valores de  $\Delta H$  y  $\Delta S$  obtenidos en D.acuosa, pH 7.5 y DMSO, para todos los huéspedes con las cuatro cicloamilosas utilizadas.

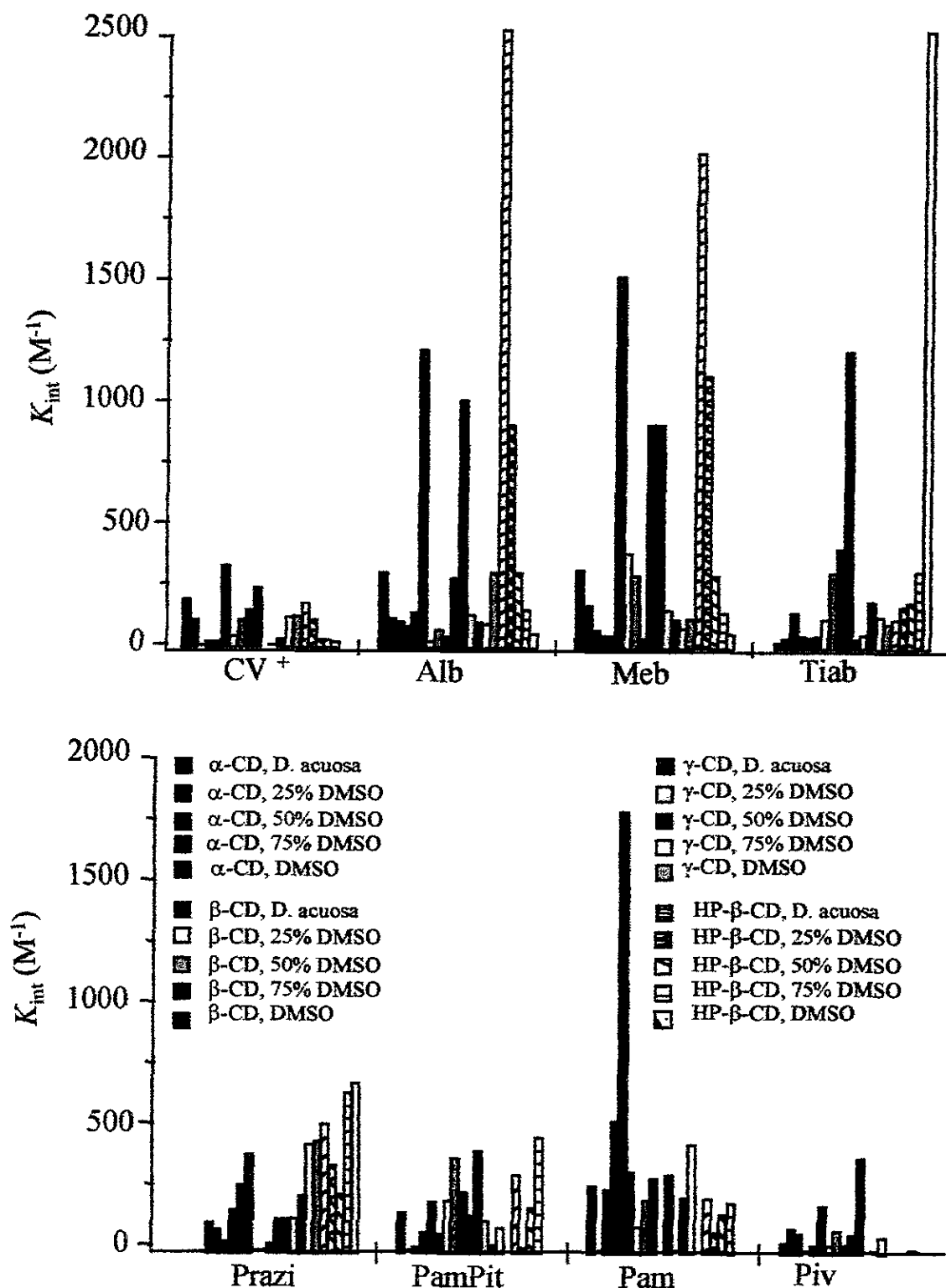


Figura 59: Valores de las  $K_{int}$  para todas las moléculas huésped con todas las ciclodextrinas, en los cinco medios de reacción, a 298 K. El valor de la  $K_{int}$  del complejo  $[CV_2 \subset \gamma\text{-CD}]^{2+}$  no aparece en esta figura, debido a su gran valor.

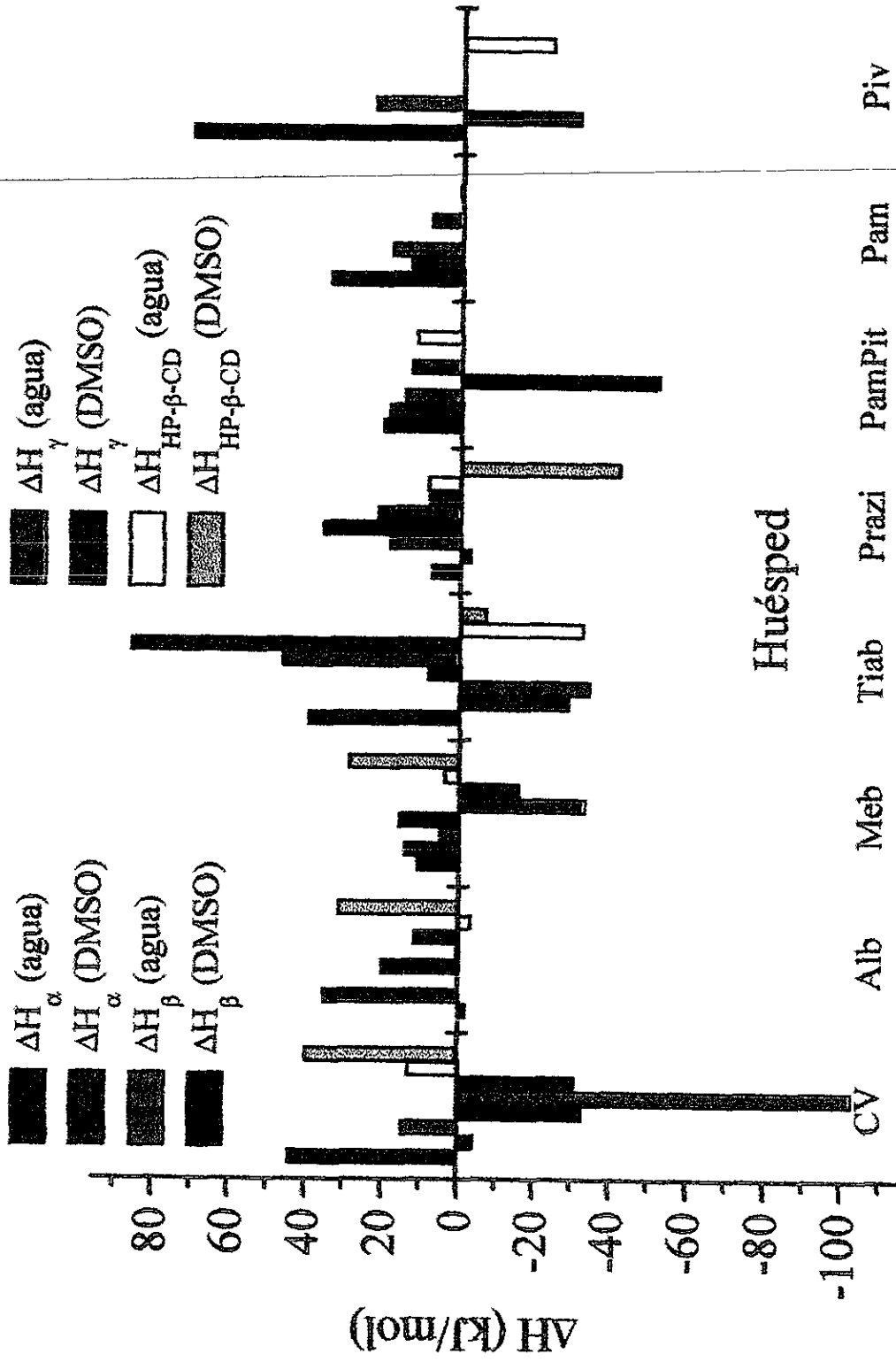


Figura 60: Valores de ΔH para todos los sistemas estudiados.

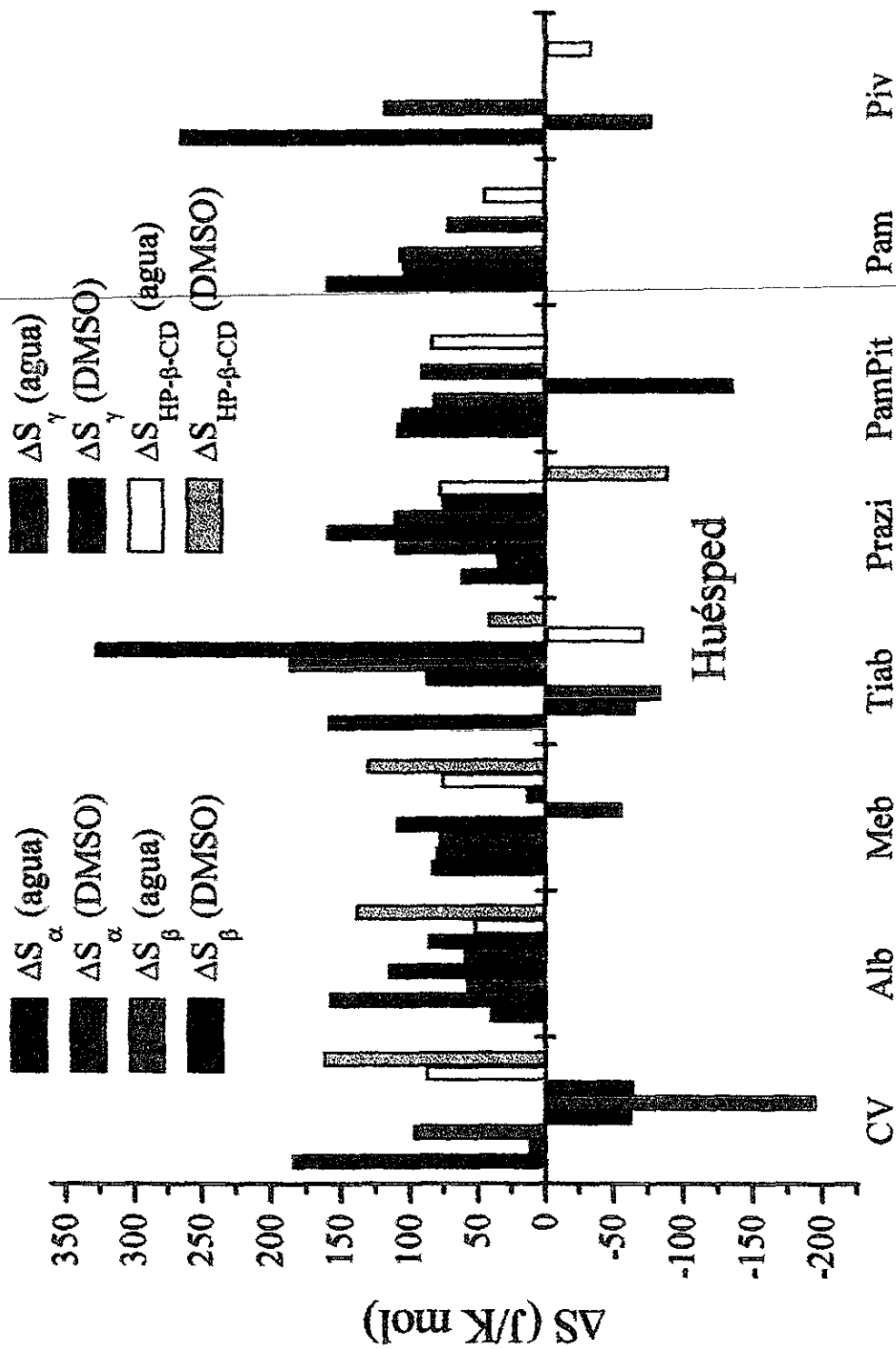


Figura 61: Valores de los cambios entrópicos de las reacciones de complejación de todos los antihelmínticos estudiados con las cuatro ciclodextrinas.



Las figuras anteriores muestran claramente el comportamiento general de los antihelmínticos con las cuatro CDs estudiadas. Cabe destacar la distinta afinidad de los huéspedes por las cicloamilosas, así como el comportamiento general en base a los valores de  $\Delta H$  y  $\Delta S$ . En las Figuras 60 y 61 se observa que la mayoría de los procesos de complejación estudiados son regidos por  $\Delta H$  y  $\Delta S$  positivos, lo cual es indicativo de la gran influencia del disolvente en las reacciones de complejación.

## 7.2. Perspectivas

Se considera que en el presente trabajo se ha logrado recopilar e interpretar una gran cantidad de información, sin embargo, todavía falta concluir algunos estudios. También, se planea iniciar algunos trabajos dentro de esta línea de investigación, entre ellos se sugiere:

1) Para conocer con seguridad el comportamiento del pamoato de pirantel y el pamoato de pirvinium en las reacciones de complejación con CDs, se propone realizar estudios comparativos con el ácido pamoico, el pirantel y el pirvinium. Hacer estudios de RMN para todos los casos a estudiar, así como estudios de espectroscopía UV-visible para estos tres huéspedes no estudiados en su forma neutra.

2) Al iniciar este trabajo se consideró la niclosamida como otro antihelmíntico a estudiar. Hasta el momento, se han llevado a cabo estudios de espectroscopía UV-visible y de mecánica molecular y se han determinado las constantes aparentes de equilibrio y los valores aparentes de  $\Delta H$  y  $\Delta S$ . Sin embargo, la interpretación de los resultados obtenidos en función de los posibles equilibrios ácido-base no se han concluido. Por ello, se propone finalizar este análisis de resultados, usando un modelo matemático que considere la existencia de complejos de inclusión con la forma ácida y la forma básica de la niclosamida

- 3) Realizar un estudio más detallado de resonancia magnética nuclear, obteniendo por espectros NOESY estructuras más exactas de los complejos de inclusión formados en disolución.
  
- 4) Estudiar más profundamente el efecto del disolvente, considerando medios de reacción que difieran significativamente en sus características fisicoquímicas (polaridad, capacidad de formar puentes de H, tensión superficial y otras). En este estudio se contempla la posibilidad de formación de complejos de inclusión en fase gaseosa. También, se proponen estudios de LFER para cuantificar que propiedades del medio participan más notoriamente, correlacionando los valores de  $\Delta G$  de complejación con algunos parámetros propios del disolvente empleado (momento dipolar, número aceptor o donador y tensión superficial, entre otros).
  
- 5) Conociendo la estructura de los distintos complejos en diferentes disolventes, llevar a cabo relaciones lineales de energía libre que relacionen valores termodinámicos de complejación ( $\Delta G$ ,  $\Delta H$ ,  $\Delta S$ ) con las características de la parte incluida y de la parte en contacto con el medio. De este modo se conocerá el efecto de la parte externa del huésped sobre el proceso de complejación.
  
- 6) Se plantea, en general, la mejora de ciertas características inadecuadas de fármacos (solubilidad, efectos adversos y estabilidad), ya sea por su formulación con ciclodextrinas o con polímeros tipo polivinilpirrolidona, polietilenglicol, carboximetilcelulosa y otros más. Inicialmente, se proyecta trabajar en la mejora de las características de solubilidad del albendazol y del mebendazol mediante la formación de complejos de inclusión, su estudio en estado sólido y disolución, investigación de las posibles formulaciones eficaces y de las interacciones entre los diferentes excipientes usados, tanto en la formulación como una vez administrados al organismo, ya sea humano o animal.

## 8. Parte experimental

### 8.1 Materiales

Todas las sustancias utilizadas fueron grado RA.

NaCl y NaOH fueron suministrados por Mallinckrodt (Paris, KY, USA).

Albendazol fue donado por los Laboratorios Smith-Kline and Beecham, México.

Citrato de sodio,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , mebendazol, pamoato de pirvinium, pamoato de pirantel y tiabendazol fueron comprados a Sigma (St. Louis, MO, USA).

Praziquantel fue donado por Laboratorios Merck, México.

Violeta de genciana (96% de pureza), HCl, standard volumétrico, disolución 1.029 N en agua,  $\text{D}_2\text{O}$  (99.9 átomo % D),  $\text{DMSO-d}_6$  (99.9 átomo % D) y  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  fueron comprados a Aldrich (Milwaukee, WI, USA), y se usaron tal y como se recibieron.

$\alpha$ ,  $\gamma$ , y HP- $\beta$  ciclodextrinas (grado de sustitución = 9) fueron regaladas por Cerestar (Hammond, IL, USA) y se han usado como se recibieron.  $\beta$ -ciclodextrina, proporcionada por ARANCIA (Edo. México), fue purificada por lavados sucesivos con distintos disolventes, metanol, eter, etanol, acetona y posteriormente se recristalizó desde agua<sup>(281)</sup>.

### 8.2 Métodos

#### 8.2.1 Estudios de solubilidad de fases

Este método se atribuye a Higuchi y Connors<sup>(251a, 277)</sup>.

Consiste en determinar el coeficiente de solubilidad de los distintos antihelmínticos en una disolución acuosa, 0.1 M de buffer fosfatos  $\text{NaH}_2\text{PO}_4/\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , pH 7.5, a 298 K y una fuerza iónica constante de  $[\text{NaCl}] = 0.1 \text{ M}$ . Simultáneamente se prepararon disoluciones (pH=7.5, T=298 K y I=0.1M NaCl) de las distintas ciclodextrinas con diferentes concentraciones (0,  $10^{-4}$ ,  $5 \times 10^{-4}$ ,  $10^{-3}$ ,  $4 \times 10^{-3}$ ,  $8 \times 10^{-3}$  y  $10^{-2} \text{ M}$ ) y a cada una de ellas se les agrega un exceso del correspondiente

huésped. Estas disoluciones se mantienen con agitación en un baño termostatado, a 298 K, durante 72 horas, tiempo en el que se asegura se ha alcanzado el equilibrio. Posteriormente, se filtran las disoluciones (bien usando filtros Millipore de 2.5 cm de diámetro y 0.45  $\mu$  de tamaño de poro, o bien al vacío). Cabe destacar que este proceso conlleva a errores significativos en el cálculo de las  $K_{int}$  y se determina la concentración total de las moléculas huéspedes mediante espectroscopía electrónica de absorción en la región UV-visible. En este método se considera que el valor del coeficiente de extinción del huésped y del complejo de inclusión es igual. Los valores de solubilidad de los huéspedes, en ausencia de ciclodextrinas, obtenidos por este método son los usados en la sección de efecto del disolvente correspondiente a cada molécula huésped.

El equipo de espectroscopía empleado fue un espectrofotómetro de arreglo de diodos Hewlet Packard 8452A, con una precisión fotométrica de  $\pm 0.005$  UA y una señal de ruido  $< 0.0002$  UA, equipado con un sistema Peltier HP 8909OA para controlar la temperatura.

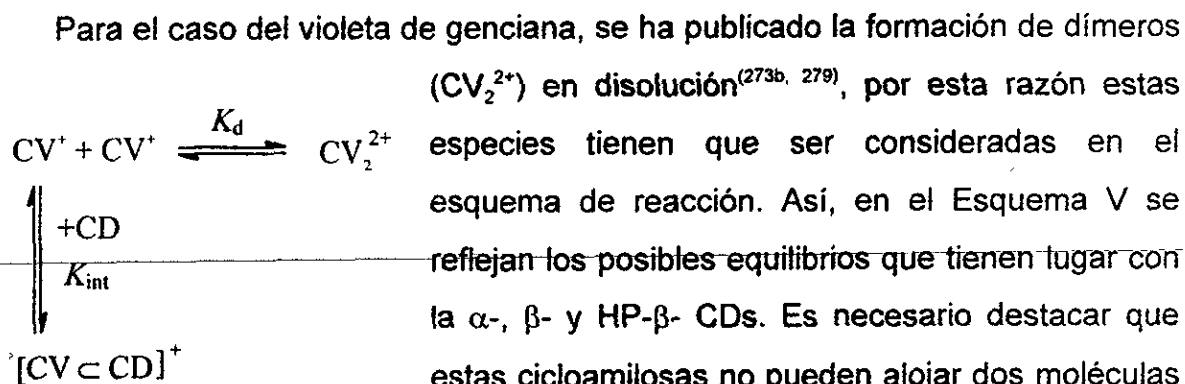
Este mismo procedimiento se ha seguido con todas las moléculas huésped con HP- $\beta$ -CD en una disolución acuosa, 0.1 M de buffer citrato, pH 1.8, fuerza iónica 0.1 M de NaCl.

La ecuación publicada para complejos de estequiometría 1:1 es la siguiente<sup>(251a, 277)</sup>:

$$S_t = S_0 + \frac{K_{int} S_0 [CD]_t}{1 + K_{int} S_0}$$

Ecuación I

En esta ecuación,  $S_t$  es la concentración total de huésped,  $S_0$  es la concentración libre de huésped,  $K_{int}$  es la constante de asociación y  $[CD]_t$  es la concentración total de ciclodextrina.



Esquema V

$$K_{int} = \frac{[CV \subset CD]^+}{[CV^+][CD]}$$

(a)

$$K_d = \frac{[CV_2^{2+}]}{[CV^+]^2}$$

(b)

$$(c) \quad [CD]_t = [CD] + [CV \subset CD]^+$$

donde  $[CD]_t$  es la concentración total de ciclodextrina,  $[CD]$  es la concentración de ciclodextrina libre y  $[CV \subset CD]^+$  es la concentración del complejo de inclusión del violeta de genciana.

se substituye  $[CV \subset CD]^+$  por su valor en (a) y se obtiene (d)

$$(d) \quad [CD]_t = [CD] + K_{int}[CV^+][CD] = [CD](1 + K_{int}[CV^+])$$

así,

$$[CD] = \frac{[CD]_t}{1 + K_{int}[CV^+]}$$

$$(e) \quad [CV^+]_t = [CV^+] + 2[CV_2^{2+}] + [CV \subset CD]^+$$

siendo  $[CV^+]_t$  la concentración total del violeta de genciana,  $[CV^+]$  la concentración del monómero libre de violeta de genciana,  $[CV_2^{2+}]$  la concentración del dímero del violeta de genciana y  $[CV \subset CD]^+$  la concentración del complejo de inclusión del monómero del violeta de genciana

se reemplaza  $[CV_2^{2+}]$  por su valor en (b) y  $[CV \subset CD]^+$  por su valor en (a) y se obtiene

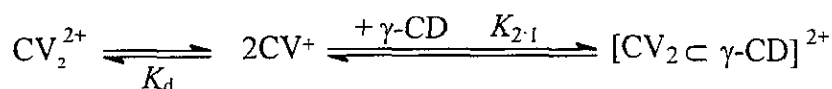
$$(f) \quad [CV^+]_t = [CV^+] + 2K_d[CV^+]^2 + K_{int}[CD][CV^+]$$

y finalmente se sustituye [CD] por su valor en (d) para obtener la Ecuación 2.

$$[CV^+]_t = [CV^+] + 2K_d[CV^+]^2 + \frac{K_{int}[CV^+][CD]_t}{1 + K_{int}[CV^+]}$$

Ecuación 2

La  $\gamma$ -CD puede incluir dos moléculas de violeta de genciana, el Esquema VI muestra los equilibrios que hemos considerado en disolución y a partir de los cuales se ha llevado a cabo el siguiente desarrollo matemático:



Esquema VI

$$K_{2,1} = \frac{[CV_2 \subset \gamma\text{-CD}]^{2+}}{[CV^+]^2[\gamma\text{-CD}]}$$

(a)

$$K_d = \frac{[CV_2^{2+}]}{[CV^+]^2}$$

(b)

$$(c) \quad [\gamma\text{-CD}]_t = [\gamma\text{-CD}] + [CV_2 \subset \gamma\text{-CD}]^{2+}$$

donde  $[CV_2 \subset \gamma\text{-CD}]^{2+}$  es la concentración del complejo de inclusión del dímero del violeta de genciana.

se sustituye  $[CV_2 \subset \gamma\text{-CD}]^{2+}$  por su valor en (a) y se obtiene (d)

$$(d) \quad [\gamma\text{-CD}]_t = [\gamma\text{-CD}] + K_{2,1}[CV^+]^2[\gamma\text{-CD}] = [\gamma\text{-CD}]\left(1 + K_{2,1}[CV^+]^2\right)$$

así,

$$[\gamma\text{-CD}] = \frac{[\gamma\text{-CD}]_t}{1 + K_{2,1}[CV^+]^2}$$

$$(e) \quad [CV^+]_t = [CV^+] + 2[CV_2^{2+}] + 2[CV_2 \subset \gamma\text{-CD}]^{2+}$$

reemplazando  $[CV_2^{2+}]$  por su valor en (b) y  $[CV_2 \subset \gamma\text{-CD}]^{2+}$  por su valor en (a) y se obtiene

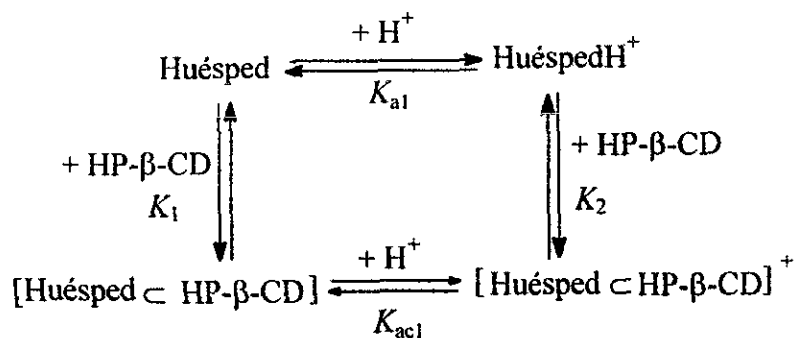
$$(f) \quad [CV^+]_t = [CV^+] + 2K_d[CV^+]^2 + 2K_{2,1}[\gamma - CD][CV^+]^2$$

y finalmente se sustituye  $[\gamma - CD]$  por su valor en (d) para obtener la Ecuación 3.

$$[CV^+]_t = [CV^+] + 2K_d[CV^+]^2 + \frac{2K_{2,1}[CV^+]^2[CD]_t}{1 + K_{2,1}[CV^+]^2}$$

Ecuación 3

En D. acuosa, a pH = 1.8, hay que considerar los diferentes equilibrios posibles, el esquema siguiente los muestra para todos aquellos huéspedes (albendazol, mebendazol y tiabendazol) en los que consideramos un sitio para la protonación:



Esquema VII

donde  $K_{a1}$  y  $K_{ac1}$  son las constantes de acidez para las reacciones sin y con ciclodextrina, y  $K_1$  y  $K_2$  son las constantes de interacción para CD con huésped sin protonar y protonado, respectivamente.  $K_{a1}$  y  $K_1$  son valores previamente conocidos.

El desarrollo matemático utilizado para obtener la expresión que vamos a usar en la obtención de la constante de interacción con la forma protonada es el siguiente:

Se parte del siguiente esquema general de complejación:



donde  $S_0$  es el huésped libre protonado ( $SH^+$ ) y no protonado (S), L es la ciclodextrina libre y  $SL_t$  son los complejos de inclusión con la forma protonada ( $SH^+L$ ) y sin protonar (SL).

Se sabe que:

$$K_{\text{int}} = \frac{[\text{SL}_t]}{[\text{S}_0][\text{L}]} \quad \text{De donde: } [\text{SL}_t] = K_{\text{int}} [\text{S}_0][\text{L}]$$

(a)

$$(b) \quad [\text{L}_t] = [\text{L}] + [\text{SL}_t]$$

siendo  $[\text{L}_t]$  la concentración total de CD.

sustituyendo  $[\text{SL}_t]$  por su valor obtenido a partir de (a)

$$(c) \quad [\text{L}_t] = [\text{L}] + (K_{\text{int}} [\text{S}_0][\text{L}]) = [\text{L}](1 + K_{\text{int}} [\text{S}_0])$$

y de aquí:

$$[\text{L}] = \frac{[\text{L}_t]}{1 + K_{\text{int}} [\text{S}_0]}$$

$$(d) \quad [\text{S}_t] = [\text{S}_0] + [\text{SL}_t] \quad \text{y (e)} \quad [\text{S}_0] = [\text{S}] + [\text{SH}^+]$$

reemplazando  $[\text{S}_0]$  por su valor en (e) y  $[\text{SL}_t]$  por su valor obtenido en (a)

$$(f) \quad [\text{S}_t] = [\text{S}] + [\text{SH}^+] + K_{\text{int}} [\text{S}_0][\text{L}] = [\text{S}] + [\text{SH}^+] + K_{\text{int}} ([\text{S}] + [\text{SH}^+])[\text{L}]$$

y sustituyendo  $[\text{L}]$  por su valor obtenido en (c) y de nuevo  $[\text{S}_0]$  por su valor en (c)

$$(g) \quad [\text{S}_t] = [\text{S}] + [\text{SH}^+] + \frac{K_{\text{int}} ([\text{S}] + [\text{SH}^+]) [\text{L}_t]}{1 + K_{\text{int}} ([\text{S}] + [\text{SH}^+] )}$$

A partir del Esquema VII:

$$(h) \quad K_{a1} = \frac{[\text{S}][\text{H}^+]}{[\text{SH}^+]} \quad \therefore \quad [\text{SH}^+] = \frac{[\text{S}][\text{H}^+]}{K_{a1}}$$

si se reemplaza en (g) el valor de  $[\text{SH}^+]$  por su valor a partir de (h)

$$(i) \quad [\text{S}_t] = [\text{S}] + \frac{[\text{S}][\text{H}^+]}{K_{a1}} + \frac{K_{\text{int}} \left( [\text{S}] + \frac{[\text{S}][\text{H}^+]}{K_{a1}} \right) [\text{L}_t]}{1 + K_{\text{int}} \left( [\text{S}] + \frac{[\text{S}][\text{H}^+]}{K_{a1}} \right)} = [\text{S}] + \frac{[\text{S}][\text{H}^+]}{K_{a1}} + \frac{K_{\text{int}} [\text{S}] [\text{L}_t] \left( 1 + \frac{\text{H}^+}{K_{a1}} \right)}{1 + K_{\text{int}} [\text{S}] \left( 1 + \frac{\text{H}^+}{K_{a1}} \right)}$$

Por otro lado:



$$(j) \quad K_{int} = \frac{[SL_t]}{[S_0][L]} = \frac{[SL] + [SH^+L]}{([S] + [SH^+])[L]}$$

$$(k) \quad \text{A partir del Esquema VII} \quad K_1 = \frac{[SL]}{[S][L]} \quad K_2 = \frac{[SH^+L]}{[SH^+][L]}$$

(l) A partir de (j) y de (k) a partir de (h)

$$K_{int} = \frac{K_1[S_0][L] + K_2[SH^+][L]}{([S] + [SH^+])[L]} = \frac{K_1[S] + K_2 \frac{[S][H^+]}{K_{a1}}}{[S] + \frac{[S][H^+]}{K_{a1}}}$$

Sacando factor común [S]

$$(m) \quad K_{int} = \frac{[S] \left( K_1 + K_2 \frac{[H^+]}{K_{a1}} \right)}{[S] \left( 1 + \frac{[H^+]}{K_{a1}} \right)} = \frac{\left( K_1 + K_2 \frac{[H^+]}{K_{a1}} \right)}{\left( 1 + \frac{[H^+]}{K_{a1}} \right)}$$

y substituyendo  $K_{int}$  en la expresión (i), la ecuación resultante es

$$(n) \quad [S_t] = [S] + \frac{[S][H^+]}{K_{a1}} + \frac{\left( K_1 + K_2 \frac{[H^+]}{K_{a1}} \right) [S][L] \left( 1 + \frac{[H^+]}{K_{a1}} \right)}{1 + \frac{\left( K_1 + K_2 \frac{[H^+]}{K_{a1}} \right) [S] \left( 1 + \frac{[H^+]}{K_{a1}} \right)}{\left( 1 + \frac{[H^+]}{K_{a1}} \right)}}$$

Resumiendo:

$$(ñ) \quad [S_t] = [S] + \frac{[S][H^+]}{K_{a1}} + \frac{\left( K_1 + K_2 \frac{[H^+]}{K_{a1}} \right) [S][L_t]}{1 + \left( K_1 + K_2 \frac{[H^+]}{K_{a1}} \right) [S]}$$

Y así se obtiene la Ecuación 4:

$$[S_t] = [S] + \frac{[S][H^+]}{K_{a1}} + \frac{K_{ap} [S][L_t]}{1 + K_{ap} [S]}$$

Ecuación 4

en donde:

$$K_{ap} = K_1 + K_2 \frac{[H^+]}{K_{a1}}$$

Según la terminología de Higuchi y Connors se observan diagramas de solubilidad de fase tipo A o tipo B. En esta tesis, todos los diagramas obtenidos han sido tipo A. El tipo de diagrama de fase A lo presentan sistemas en que el complejo formado es soluble y no forma precipitado; dentro de éste podemos encontrar  $A_L$ , que se obtiene cuando existe una relación lineal entre la concentración total de huésped y la de ciclodextrina (los complejos tienen una dependencia de primer orden con la concentración total de cicloamilosa);  $A_p$ , que presenta una desviación positiva (los complejos formados tienen más de una molécula de ligando) y  $A_N$  que muestran una desviación negativa (representa una disminución de la solubilidad dependiente de la concentración de ciclodextrina).

### 8.2.2. Método de espectroscopía directa UV-visible

Este método<sup>(145, 254)</sup> consiste en preparar una disolución de huésped a concentración constante (entre  $10^{-6}$  y  $10^{-5}$  M para los diferentes antihelmínticos;  $10^{-6}$  M para el Alb, Meb, Prazi, PamPit y PamPiv;  $5 \times 10^{-6}$  M para el CV<sup>+</sup> y  $10^{-5}$  M para el Tiab y el Prazi; basándonos en las curvas de calibración realizadas previamente con todas las moléculas huésped en todos los medios de reacción utilizados) y posteriormente adicionarle varias concentraciones de CDs a esta misma

disolución (de  $1 \times 10^{-4}$  a  $1 \times 10^{-2}$  M). Las muestras se mantienen a 298 K y su espectro electrónico de absorción se obtiene antes de las 24 horas y se repite 32 veces, es decir, el valor de absorbancia resultante es un promedio y por eso se pueden obtener valores de  $K_{int}$  de aproximadamente 10 con bajo error y alta reproducibilidad, estas medidas se hacen en el mismo espectrofotómetro especificado en la sección 8.2.1. En este método se hace una aproximación, se considera que la concentración de ciclodextrina libre tras la complejación y la concentración total de la misma es igual.

En el caso del  $CV^+$ , debido a su gran capacidad para adsorberse a las superficies de vidrio y sílica<sup>(273a, 273b)</sup>, se tuvo especial cuidado en el lavado de la celda, para evitar que hubiera error por este motivo.

Cabe destacar que las ciclodextrinas no interfieren con las medidas espectroscópicas de ninguno de los huéspedes estudiados, dado que no absorbe en la misma región que los antihelmínticos utilizados.

A partir de los datos espectroscópicos obtenidos en presencia y ausencia de ciclodextrinas, se representa  $\Delta A = (A_{total} - A_{CD} - A_H)$  frente a la  $[CD]_0$ , para obtener las llamadas isothermas de unión. Según la estequiometría del complejo formado, estas gráficas vendrán definidas por distintas ecuaciones, así, si el complejo presenta estequiometría 1:1 ( $[Huésped] \subset CD$ ), la ecuación 5 define este comportamiento:

$$\Delta A = \frac{K_{int} [S_t] [CD] \Delta \epsilon}{1 + K_{int} [CD]}$$

Ecuación 5

Mientras que si lo que encontramos es un complejo 1:2 ( $[Huésped] \subset CD_2$ ):

$$\Delta A = \frac{K_{1:2} [S_t] [CD]^2 \Delta \epsilon}{1 + K_{1:2} [CD]^2}$$

Ecuación 6

o un complejo 2:1 ( $[Huésped_2] \subset CD$ ):

$$\Delta A = \frac{(\epsilon_{Cl} - 2\epsilon_H) \left( 1 + 4K_{2:1} [\gamma - CD] [CV^+] - \sqrt{1 + 8K_{2:1} [\gamma - CD] [CV^+]} \right)}{8K_{2:1} [\gamma - CD]}$$

Ecuación 7

El desarrollo matemático para llegar a la Ecuación 7 es el siguiente:

A partir del Esquema VII, sabemos los siguientes datos

$$K_{2:1} = \frac{[CV_2 \subset \gamma - CD]^{2+}}{[CV^+]^2 [\gamma - CD]} \quad [CV^+]_t = [CV^+] + 2[CV_2 \subset \gamma - CD]^{2+} \quad (b)$$

(a)

En (b) se sustituye el complejo de inclusión por el valor obtenido a partir de (a) y

$$(c) \quad [CV^+]_t = [CV^+] + 2K_{2:1}[CD][CV^+]^2$$

y resolviendo esta ecuación cuadrática para el violeta de genciana libre,  $[CV^+]$ , se obtiene

$$(d) \quad [CV^+] = \frac{-1 \pm \sqrt{1 + 8K_{2:1}[CD][CV^+]_t}}{4K_{2:1}[CD]}$$

Por otro lado, la absorbancia para el  $CV^+$ , en ausencia de ciclodextrina es

$$(e) \quad Abs_i = \varepsilon_H [CV^+]_t$$

y la absorbancia para el violeta de genciana en presencia de ciclodextrina es

$$(f) \quad Abs_f = \varepsilon_H [CV^+] + \varepsilon_{Cl}[CV_2 \subset \gamma - CD]^{2+}$$

donde  $\varepsilon_{Cl}$  es la absortividad molar del complejo de inclusión

sustituyendo en (f) el valor de  $[CV^+]$  por su expresión en (d) y  $[CV_2 \subset \gamma - CD]^{2+}$  por su expresión en (a), se obtiene

$$(g) \quad Abs_f = \varepsilon_H \left( \frac{-1 \pm \sqrt{1 + 8K_{2:1}[CD][CV^+]_t}}{4K_{2:1}[CD]} \right) + \varepsilon_{Cl} K_{2:1} [CD] [CV^+]^2$$

y reemplazando de nuevo el valor de  $[CV^+]$ , se obtiene

$$(h) \quad Abs_f = \varepsilon_H \left( \frac{-1 \pm \sqrt{1 + 8K_{2:1}[CD][CV^+]_t}}{4K_{2:1}[CD]} \right) + \varepsilon_{Cl} K_{2:1} [CD] \left( \frac{-1 \pm \sqrt{1 + 8K_{2:1}[CD][CV^+]_t}}{4K_{2:1}[CD]} \right)^2$$

$$(i) \quad \Delta A = Abs_f - Abs_i$$

desarrollando completamente (h) y restándole la expresión en (e), se obtiene la Ecuación 7.

A partir de los valores de las constantes de equilibrio obtenidos a distintas temperaturas, se pueden realizar estudios de algunos valores termodinámicos, para lo cual se llevan a cabo análisis de van't Hoff, los cuales se rigen por la siguiente ecuación:

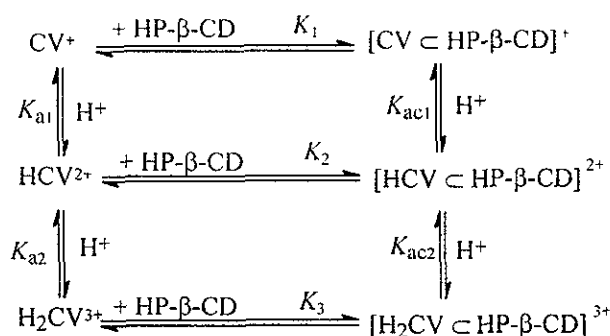
$$\ln K_{\text{int}} = \frac{\Delta S}{R} + \frac{\Delta H}{R T}$$

Ecuación 8

### 8.2.3. Obtención del pK<sub>a</sub> del violeta de genciana

Los valores de pK<sub>a</sub> del CV<sup>+</sup> y sus complejos de inclusión con HP-β-CD fueron obtenidos por valoración espectrofotométrica con HCl 0.1 N y los valores de pH se adquirieron usando un pHmetro Orion 710A con un electrodo ROSS de cuerpo de vidrio, Modelo 8102BN, 0-14 pH.

Las ecuaciones utilizadas para obtener dichos valores son las siguientes y se han obtenido a partir del esquema I (Sección 6.1.).



Esquema I

El desarrollo matemático seguido para obtener los valores de los PK<sub>a</sub> del CV<sup>+</sup> en ausencia de ciclodextrina, se expone a continuación:

(a) 
$$[\text{CV}]_t = [\text{CV}^+] + [\text{HCV}^{2+}] + [\text{H}_2\text{CV}^{3+}]$$

(b) 
$$K_{a2} = \frac{[\text{HCV}^{2+}][\text{H}^+]}{[\text{H}_2\text{CV}^{3+}]}$$

$$(c) \quad K_{a1} = \frac{[CV^+][H^+]}{[HCV^{2+}]}$$

sustituyendo las concentraciones de las formas dicatiónica y tricatiónica por las expresiones obtenidas a partir de (b) y (c), se obtiene:

$$(d) \quad [CV]_t = [CV^+] + \frac{[CV^+][H^+]}{K_{a1}} + \frac{[CV^+][H^+]^2}{K_{a2}K_{a1}}$$

y la absorbancia total es:

$$(e) \quad Abs_t = \varepsilon_{CV^+} [CV^+] + \varepsilon_{HCV^{2+}} [HCV^{2+}] + \varepsilon_{H_2CV^{3+}} [H_2CV^{3+}]$$

sustituyendo de igual forma que se hizo en (d), tenemos que:

$$(f) \quad Abs_t = \varepsilon_{CV^+} [CV^+] + \varepsilon_{HCV^{2+}} \frac{[CV^+][H^+]}{K_{a1}} + \varepsilon_{H_2CV^{3+}} \frac{[CV^+][H^+]^2}{K_{a2}K_{a1}}$$

y para poder hacer una representación gráfica de absorbividad molar observada frente a  $[H^+]$ , se desarrolla la siguiente expresión:

$$(g) \quad \varepsilon_{obs} = \frac{Abs_t}{[CV]_t} = \frac{\varepsilon_{CV^+} [CV^+] + \varepsilon_{HCV^{2+}} \frac{[CV^+][H^+]}{K_{a1}} + \varepsilon_{H_2CV^{3+}} \frac{[CV^+][H^+]^2}{K_{a2}K_{a1}}}{[CV^+] + \frac{[CV^+][H^+]}{K_{a1}} + \frac{[CV^+][H^+]^2}{K_{a2}K_{a1}}}$$

a partir de la cual y sacando factor común, se llega a la Ecuación 9.

$$\varepsilon_{obs} = \frac{\varepsilon_{CV^+} + \left( \varepsilon_{HCV^{2+}} + \frac{\varepsilon_{H_2CV^{3+}} [H^+]}{K_{a2}} \right) \frac{[H^+]}{K_{a1}}}{1 + \frac{[H^+]}{K_{a1}} \left( 1 + \frac{[H^+]}{K_{a2}} \right)}$$

Ecuación 9

Para obtener los  $PK_a$  del violeta de genciana incluido en la HP- $\beta$ -CD, se llevó a cabo el siguiente desarrollo matemático:

$$(h) [CV]_t = [CV^+] + [HCV^{2+}] + [H_2CV^{3+}] + [CV^+ \subset CD] + [HCV^{2+} \subset CD] + [H_2CV^{3+} \subset CD]$$

$$(i) \quad K_1 = \frac{[CV \subset CD]^+}{[CV^+][CD]}$$

$$(j) \quad K_2 = \frac{[HCV \subset CD]^{2+}}{[HCV^{2+}][CD]}$$

$$(k) \quad K_3 = \frac{[H_2CV \subset CD]^{3+}}{[H_2CV^{3+}][CD]}$$

En la expresión (h) se ponen las concentraciones de las formas dicatiónica y tricatiónica en función de la forma monocatiónica, usando (b), (c), (j) y (k), obteniendo:

$$(l) \quad [CV]_t = [CV^+] + \frac{[CV^+][H^+]}{K_{a1}} + \frac{[CV^+][H^+]^2}{K_{a1}K_{a2}} + K_1[CV^+][CD] + K_2 \frac{[CV^+][H^+]}{K_{a1}}[CD] + K_3 \frac{[CV^+][H^+]^2}{K_{a1}K_{a2}}[CD]$$

y la absorbancia total es

$$(m) \quad Abs_t = \varepsilon_{CV^+} [CV^+] + \varepsilon_{HCV^{2+}} [HCV^{2+}] + \varepsilon_{H_2CV^{3+}} [H_2CV^{3+}] + \varepsilon_{(CV \subset CD)^+} [CV \subset CD]^+ + \varepsilon_{(HCV \subset CD)^{2+}} [HCV \subset CD]^{2+} + \varepsilon_{(H_2CV \subset CD)^{3+}} [H_2CV \subset CD]^{3+}$$

se sustituye de igual forma que se ha hecho en la expresión (e) y posteriormente se divide (m) entre (l) para dar la absortividad molar observada y cuya forma simplificada es la Ecuación 10.

$$\varepsilon_{bs} = \frac{\varepsilon_{CV^+} + \frac{[H^+]}{K_{a1}} (\varepsilon_{HCV^{2+}} + \varepsilon_{(HCV \subset CD)^{2+}} K_2 [CD]) + \frac{[H^+]^2}{K_{a2} K_{a1}} (\varepsilon_{CV^+} + \varepsilon_{(H_2CV \subset CD)^{3+}} K_3 [CD]) + \varepsilon_{(CV \subset CD)^+} K_1 [CD]}{1 + \frac{[H^+]}{K_{a1}} (1 + K_2 [CD]) + K_1 [CD] + \frac{[H^+]^2}{K_{a2} K_{a1}} (1 + K_3 [CD])}$$

Ecuación 10

#### 8.2.4. Estudios de RMN

Los estudios de  $^1\text{H}$  RMN se han hecho usando como disolvente  $\text{DMSO-}d_6$ , y en algunos casos  $\text{D}_2\text{O}$ , ya que la solubilidad de algunos huéspedes en disolución acuosa es demasiado baja. Los espectros han sido colectados en un espectrómetro Varian 300 MHz, los espectros 1D  $^1\text{H}$  RMN se colectaron usando una frecuencia de 299.95 Mz, con un pulso de  $45^\circ$  (6.7 ms), 3.002 s de tiempo de adquisición y a 298 K. El número de transientes adquiridos fue dependiente de la sensibilidad de la muestra entre 32 y 128. Los experimentos 2D NOESY (Nuclear Overhauser Effect Spectroscopy) se colectaron en el mismo espectrofotómetro, equipado con una sonda de banda ancha interrumpida (*broad band switchable probe*) y un tiempo de adquisición de 0.187 s. Se hicieron dos pulsos falsos al principio de cada experimento para alcanzar el estado estacionario. Un pulso de  $90^\circ$  de  $13.5 \mu\text{s}$  y 32 barridos fueron hechos para cada uno de los 128 incrementos y un tiempo de retardo entre cada barrido de 2 s, con un tiempo de mezcla de 100 ms. El pulso de presaturación para la supresión de la banda del agua se aplicó durante 1.5 s al inicio de cada barrido durante el tiempo de retardo y el pico de agua residual fue filtrado digitalmente, con un filtro de 135 Hz. La transformada de Fourier fue llevada a cabo con una función de ampliación de señal ( $\text{lb} = -1.82 \text{ Hz}$ ) y una apodización Gaussiana de 0.078 s para la segunda dimensión, y para la primera dimensión la función de ampliación de señal fue de  $\text{lb} = -1.91 \text{ Hz}$  y una apodización Gaussiana de 0.079 s. Las gráficas se hicieron basadas en el modo absoluto.

#### 8.2.5. Mecánica molecular

Los estudios de mecánica molecular fueron llevados a cabo para apoyar los datos experimentales en cuanto a las características estructurales de los complejos de inclusión. Las estructuras del huésped y el anfitrión y sus posibles complejos se optimizaron con el programa Hyperchem (1995 Hypercube Inc.), usando mecánica molecular con el campo de fuerzas MM2 y el optimizador conjugado de gradiente. El criterio de convergencia fue  $0.1 \text{ Kcal/mol \AA}$  en gradiente de energía (véase sección 6.5.1.2).



La mecánica molecular es un método que utiliza a la mecánica clásica para determinar la estructura de una molécula y algunas de sus propiedades. Este método considera que los átomos interactúan unos con otros y describe estas interacciones con una serie de funciones analíticas. El método determina la energía total del sistema en estudio como la suma de contribuciones individuales que se calculan por separado, éstas por lo general son la energía de enlace, angular, torsional, de van der Waals, electrostáticas, etc. Cada función analítica que representa a cada una de estas contribuciones energéticas tiene una serie de parámetros que deben de ser estimados experimentalmente, así que dependiendo del tipo de compuestos de los cuales se determinaron estos parámetros y del tipo de funciones analíticas usadas, se tendrá un "campo de fuerzas" adecuado para una familia de moléculas. N.L. Allinger introdujo el campo de fuerzas MM2 que es adecuado para muchas moléculas relativamente pequeñas y posee una gran variedad de tipos de enlace.

## 9. Bibliografia

- 1.-Frontiers in Supramolecular Organic Chemistry and Photochemistry. Schneider H.J. and Dürr H, eds.; VCH, Weinheim, Germany, (1991).
- 2.-(a). Szejtli J., Cyclodextrin Technology. Kluwer Academic. Publisher, Dordrech, (1988). (b) Bender M.L. and Komiyama M, Cyclodextrin Chemistry, Springer-Verlag, Berlin, (1977). (c) Bergeron R.J., ~~Inclusion Compounds. Physical Properties and Applications~~ Atwood J.L., Davies J.E.D. and McNicol D.D. Eds.; Academic Press, London, (1984), Vol 3.
- 3 - The Biology of Echinococcus, Ed. J.D Smith, Allen and Unwin, London (1984).
- 4.- Wolf K.L., Wolf R., **Supermolecules**. *Angew. Chem.*, **61**, (1949), 191 (C.A.:4485b, Vol. 43, 1949)
- 5.- Lehn J.M., **Supramolecular Chemistry-Scope and Perspectives. Molecules, Supermolecules, and Molecular Devices**, *Angew. Chem Int. Ed. Eng.*, **27**, (1988), 89.
- 6.- Lehn J.M., **Cryptates: Inclusion Complexes of Macropolycyclic Receptor**. *Pure Appl. Chem.*, **50**, (1978), 871.
- 7.- Lehn J.M., **Supramolecular Chemistry: Receptors, Catalyst, and Carriers**. *Science* , **227**, (1985), 849.
- 8.- Lehn J.M., Simon J. and Wagner J., **Molecule Receptors. I. Mesomolecules. Polyoxapolyazo-Macropolycyclic Systems**. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **12**, (1973), 621.
- 9.- Pedersen C.J., **Cyclic Polyethers and their Complexes with Metal Salts**. *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, (1967), 7017.
- 10.- Dietrich B., Lehn J.M.and Sauvage J.P., **Diaza-Polyoxa-Macrocycles et Macrobicycles**. *Tetrahedrom Lett.*, (1969), 2885.
- 11.- Cram D.J., **Preorganization. From Solvents to Spherands**. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl* , **25**, (1986), 1039.
- 12.- Hancock R.D and Martell A.E., **Macrocycles and their Selectivity for Metal Ions on the Basis of Size**. *Pure and Appl. Chem.*, **58**, (1986), 1445.
- 13.- Hancock R.D. and Martell A.E., **Ligand Design for Selective Complexation of Metal Ions in Aqueous Solution**. *Chem. Rev.*, **89**, (1989),1875.
- 14.- Kotzyba-Hibert F., Lehn J.M.and Vierling P., **Multisite Molecular Receptors and Co-Systems Ammonium Cryptates of Macrotricyclic Structures**. *Tetrahedrom Letters*, (1980), 941
- 15.- Schneider H.J., Guttus D. and Schneider U, **Host/Guest Complexes with Water-Soluble Macrocyclic Polyphenolates Including Induced Fit and Simple Elements of a Proton Pump**. *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, (1988), 6449.
- 16.- Hosseini M.W., Blacker A.J. and Lehn J.M, **Multiple Molecular Recognition and Catalysis. Nucleotide Binding and ATP Hydrolysis by a Receptor Molecule Bearing an Anion Binding Site, an Intercalator Group, and a Catalysis Site**. *J. Chem. Soc. Chem. Commun.*, (1988), 596.
- 17.- Vincenti M., **Host-Guest Chemistry in the Mass Spectrometer**. *J Mass Spectrometry*, **30**, (1995), 925.
- 18.- Lehn J. M., **La Química Supramolecular**. *Mundo Científico*, **2**, (1982), 20.
- 19.- Buvári Á. and Barcza L.,  **$\beta$ -CD Complexes of Different Type with Inorganic Compounds**. *Inorganic Chim. Acta*, **33**, (1979), L179.
- 20.- Blyshak L.A., Warner I.M and Patonay G., **Evidence for Non-Inclusional Association between  $\alpha$ -CD and Polynuclear Aromatic Hydrocarbons**. *Anal. Chim. Acta.*, **232**, (1990), 239.
- 21.- Ulmann M., Trogus C. and Hess K., **The  $\alpha$ -Dextrin of F. Schardinger**. *Ber.*, **65B**, (1932), 682. (C. A.: 3486, Vol. 26, 1932)
- 22.- Ulmann M., **The Molecular Size of the  $\alpha$ -Dextrin of Schardinger ( $\alpha$ -di and  $\alpha$ -tetraamylose). Osmotic Studies on Dilute Solutions of Polymeric Carbohydrates**. *Biochem. Z.*, **251**, (1932), 458. (C. A.: 5477, Vol. 26, 1932)
- 23.- Hess K., Trogusand C. and Ulmann M., **The  $\alpha$ -Dextrin of F. Schardinger**. *Z. Physik Chem.*, **B21**, (1933), 1. (C.A.: 3199, Vol.27,1933)

- 24.- Freudenberg K. and Cramer F., **Constitution of the Schardinger Dextrins  $\alpha$ ,  $\beta$ , and  $\gamma$** . *Z. Naturforsch.*, **3b**, (1948), 464. (C.A.: 1036g, Vol.44, 1949)
- 25.- Freudenberg K. and Cramer F., **Schardinger Dextrins from Starch**. *Chem. Ber.*, **83**, (1950), 296. (C.A.: 9924h, Vol.44, 1950)
- 26.- French D., Knapp D.W. and Pazur J.H., **Studies on the Schardinger Dextrins. VI. The Molecular Size and Structure of the  $\gamma$ -Cyclodextrin**. *J. Am. Chem. Soc.*, (1950), 5150.
- 27.- Freudenberg K. and Rapp W., **Starch and the Schardinger Dextrins**. *Ber.* **69B**, (1936), 2041. (C.A.: 8172, Vol. 30, 1936)
- 28.- Myrbäck K. and Järneström T., **Schardinger Dextrins. I. Oxidation of the  $\beta$ -Dextrins with Metaperiodic Acid. Acid Hydrolysis**. *Arkiv Kemi*, (1949), 129. (C.A.:6986h, Vol. 43, 1949)
- 29.- Myrbäck K. and Järneström T., **Schardinger Dextrins. II. Calculation of the Acid Hydrolysis**. *Arkiv Kemi*, (1949), 161. (C.A.: 7906e, Vol. 43, 1949)
- 30.- French D. and Rundle R.E., **The Molecular Weight of the Schardinger Alpha and Beta Dextrins**. *J. Am. Chem. Soc.*, **64**, (1942), 1651.
- 31.- Cramer F., **Occlusion Compounds**. *Angew.Chem.*, **64**, (1952), 437. (C.A.: 9953e, Vol.46, 1952)
- 32.- Broser W. and Lautsch W., **Equilibrium and Heat of Formation of the Occlusion Compound from  $\beta$ -Dextrin and Crystal Violet in Aqueous Solution**. *Naturwissenschaften*, **40**, (1952), 220. (C.A.: 1779h, Vol 48, 1954)
- 33.- Broser W. and Bahr Ch., **Oxidation-Reduction Reactions in Cyclodextrin Inclusion Compounds**. *Z. Naturforsch*, **10B**, (1955), 121. (C.A.: 11370b, Vol49, 1955)
- 34.- Cramer F. and Martin F., **Occlusion Compounds. XI. Regularities in the Formation of Adducts of Cyclodextrin**. *Chem. Ber.*, **90**, (1957), 2561. (C.A.: 18244, Vol. 52, 1958)
- 35.- Broser W. and Lautsch W., **Inclusion Compounds and Compounds with Enclosures in Solution**. *Z. Naturforsch*, **8b**, (1953), 711. (C.A.: 5613e, Vol48, 1954)
- 36.- Cramer F., **Occlusion Compounds. V. Basic Catalysis by Intramolecular Hollow Spaces**. *Chem. Ber.*, **86**, (1953), 1576. (C.A.: 8004g, Vol48, 1954)
- 37.- James W.M., French D. and Rundle R.E., **The Schardinger Dextrins. IX. Structure of the Cyclohexaamylose-Iodine**. *Acta Cryst.*, **12**, (1959), 385. (CA 14625e, vol 53, 1959)
- 38.- Thoma J.A. and French D., **Studies on the Schardinger Dextrins. X. The Interaction of Cyclohexaamylose, Iodine, and Iodide. Part I. Spectrophotometric Studies**. *J. Am. Chem. Soc.*, **80**, (1958), 6142.
- 39.- Cramer F. and Dietsche W., **Occlusion Compounds. XVI. Stereospecific Reactions with Inclusion Compounds**. *Chem. Ber.*, **92**, (1959), 1739. (C.A.: 4485b, Vol. 54, 1960)
- 40.- Schlenk J. and Sand D.M., **The Association of  $\alpha$ - and  $\beta$ -Cyclodextrins with Organic Acids**. *J. Am. Chem. Soc.*, **83**, (1961), 2312.
- 41.- Pulley A.O. and French D., **Schardinger Dextrins. XI. Isolation of New Schardinger Dextrins**. *Biochem Biophys. Research Commun.*, **5**, (1931), 11. (CA 17722b, Vol55, 1961)
- 42.- French D. and Pulley A.O., **The Schardinger Dextrins XII. The Molecular Size and Structure of the  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$ -, and  $\eta$ -Dextrins**. *Arch. Biochem. Biophys.*, **111**, (1965), 153. (CA: 5937h, Vol 63, 1965)
- 43.- Lach J.L. and Chin T.F., **Interaction of Pharmaceuticals with Schardinger Dextrins. III**. *J. Pharm. Sci.*, **53**, (1964), 69.
- 44.- Pauli W.A. and Lach J.L., **Interaction of Pharmaceuticals with Schardinger Dextrins. V**. *J. Pharm. Sci.*, **54**, (1965), 1745.
- 45.- Lach J.L. and Pauli W.A., **Interaction of Pharmaceutical with Schardinger Dextrins. VI**. *J. Pharm. Sci.*, **55**, (1966), 32.
- 46.- Casu B., **Structure of Amylose and Cyclodextrins**. *Chim. Ind.*, **48**, (1966), 921. (CA: 18825v, Vol.66, 1967)
- 47.- Hennrich N. and Cramer F., **Catalytic Action of Cyclodextrins in the Fission of Pyrophosphates**. *Chem. Ind.*, **31**, (1961), 1224. (CA: 12997g, Vol. 62, 1965)

- 48.- Cramer F. and Kampe W., **Inclusion Compounds. XVII. Catalysis of Decarboxylation by Cyclodextrins. A Model for the Mechanics of Enzymes.** *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, (1965), 1115.
- 49.- Hennrich N. and Cramer F., **Inclusion Compounds. XVIII. The Catalysis of Decarboxylation by Cyclodextrins. A Model Reaction for the Mechanism of Enzymes.** *J. Am. Chem. Soc.*, **87**, (1965), 1121.
- 50.- Paton R.M. and Kaiser E.T., **Detection of a Michaelis Complex by Spin Labeling in Model Enzyme System.** *J. Am. Chem. Soc.*, **92**, (1970), 4723.
- 51.- Breslow R., **Enzyme Models.** *Advan. Chem. Ser.*, **100**, (1971), 21. (C.A: 120632g, Vol.74, 1971)
- 52.- Breslow R. and Schmuck C., **Goodness of Fit in Complexes between Substrates and Ribonuclease Mimics: Effects on Binding, Catalytic Rate Constants, and Regiochemistry.** *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, (1996), 6601.
- 53.- Ogino K., Azuma H., Tamiya H. and Tagaki W., **Inclusion Effects of Cyclodextrins on the Catalytic Activity of 3-endo-dimethylaminomethyl-1, 7, 7-trimethylnorbornan-2-endo-amine for the Decarboxylations of Oxalacetate.** *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, (1996), 2005.
- 54.- Emert J. and Breslow R., **Modification of the Cavity of  $\beta$ -CD by Flexible Capping.** *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, (1975), 670.
- 55.- Breslow R., **Adjusting the Lock and Adjusting the Key in Cyclodextrin Chemistry.** *Adv. in Chem. Series. Biomimetic Chemistry*, **191**, (1980), 1.
- 56.- Tabushi I., Shimokawa K., Shimizu N., Shirakata H. and Fujita K., **Capped Cyclodextrins.** *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, (1976), 7855.
- 57.- Breslow R., Doherty J.B., Guillot, G., and Lipsey C.,  **$\beta$ -Cyclodextrinylbisimidazole, a Model for Ribonuclease.** *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, (1978), 3227.
- 58.- Tabushi Y., Shimizu N., Sugimoto T., Shiozuka M., and Yamamura K., **Cyclodextrins Flexibly Capped with Metal Ion.** *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, (1977), 7100.
- 59.- Rideout D.C. and Breslow R., **Hydrophobic Acceleration of Diels Alder Reaction.** *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, (1980), 7816.
- 60.- Venanzi C.A., Carol A., Canzius P.M., Zhang Z. and Bunce J.D., **A Molecular Mechanism Analysis of Molecular Recognition by Cyclodextrin Mimics of  $\alpha$ -Chymotrypsin.** *J. Comp. Chem.*, **10**, (1989), 1038. (C.A: 158765u, Vol. 112, 1990)
- 61.- Kobayashi S., Nakashima N. and Arahira M., **Production and some Properties of Branched Cyclomalto-Oligosaccharides.** *Carbohydr. Res.*, **192**, (1989), 223.
- 62.- Parrot-Lopez H., Ling Ch-Ch., Zhang P., Baszkin A., Albrecht G., DeRango C. and Coleman J.W., **Self-Assembling of the Amphiphilic Cationic per-6-Amino- $\beta$ -Cyclodextrin 2,3-di-O-Alkyl Ethers.** *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, (1992), 5479.
- 63.- Fujita K., Yamamura H., Egashira Y. and Imoto T., **A Complete Set of 6<sup>A</sup>-Azido-6<sup>A</sup>-Deoxy-6<sup>X</sup>-O-Sulfonyl- $\beta$ -Cyclodextrins.** *Tetrahedron Lett.*, **33**, (1992), 3511.
- 64.- Mielcarek J., **Inclusion Compounds of Nifedipine and other 1,4-Dihydropyridine Derivatives with Cyclodextrins. III. Photochemical Stability of the Inclusion Compounds Formed by Nifedipine with  $\beta$ -Cyclodextrins.** *Acta. Pol. Pharm.*, **51**, (1994), 443. (CA 144423w, Vol 123, 1995)
- 65.- Hosseini M.W., **La Catálisis Supramolecular.** *Mundo Científico*, **9**, (1989), 246.
- 66.- D'Souza V.T., Lu X.L., Ginger R.D. and Bender M.L. **Thermal and pH Stability of  $\beta$ -Benzyme.** *Proc Natl Acad Sci. USA*, **84**, (1987), 673.
- 67.- Petter R.C. and Salek J.S., **Cooperative Binding by an Amphipathic Host.** *J. Am. Chem. Soc.*, **109**, (1987), 7897.
- 68.- RC Petter, JS Salek, CT Sikorski, G Kumaravel y FT Lin., **Cooperative Binding by Aggregates Mono-6-(Alkylamino)- $\beta$ -Cyclodextrins.** *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, (1990), 3860.
- 69.- K Uekama, T Fujinaga, F Hirayama, M Otagiri, M Yamasaki, **Inclusion Complexations of Steroid Hormones with Cyclodextrins in Water and in Solid Phase.** *Int. J. Pharm.*, 1982, **10**, 1

- 70.- Torres-Lavandeira J.J., Echezarreta-Lopez M., Santana-Penin L. and Vila-Jato J.L., **Glibornuride- $\beta$ -Cyclodextrin Inclusion Complexes. Preparation, Structural Characterization, and in Vitro Dissolution Behavior.** *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **39**, (1993), 255.
- 71.- Szejtli J., Cserhaty T. and Szogyi M., **Interactions between Cyclodextrins and Cell-Membrane Phospholipids.** *Carbohydr. Polym.*, **6**, (1986), 35. (CA: 161936r, Vol. 104, 1986)
- 72.- Ohmori H. and Yamamoto Y.,  **$\beta$ -Cyclodextrins a Substitute for Fetal Calf Serum in the Primary Antibody Response in Vitro.** *Eur. J. Immunol.*, **17**, (1987), 79. (CA: 174219a, Vol. 106, 1987)
- 73.- Hicks K.B., Sapers G.M. and Seib P.A., **Inhibition of Enzymic Browning of Fruit and Vegetable Juices with Cyclodextrins.** U.S. Pat. US 141,857, 15Sept1988, Appl11, Jan. 1988, Avail. NTIS Order No. PAT-APPL-7-141857). (CA: 193344g, Vol. 111, 1989)
- 74.- Sybilska D. and Jurczak J., **Comparative studies of the ability of cyclomalto-hexaose, -heptaose, and -octaose to form inclusion complexes with isomers of some hydrocarbons under the conditions of gas-liquid chromatography.** *Carbohydr. Res.*, **192**, (1989), 243.
- 75.- Glod B.K., Alexander P.W., Chen Z.L. and Haddad P.R., **Thermodynamic Investigation of Sample Retention Mechanism in Ion-Exclusion Chromatography with Inclusion Compound in the Mobile Phase.** *Analytica Chim. Acta.*, **306**, (1995), 267.
- 76.- Botella S.M., Martin M.A., Del Castillo B., Menéndez J.C., Vazquez L. and Lerner D.A., **Analytical Applications of Retinoid-Cyclodextrin Inclusion Complexes. 1. Characterization of a Retinal-beta-Cyclodextrin Complex.** *J. Pharm. and Biomed. Anal.*, **14**, (1996), 909.
- 77.- Duchene D., Vaution C. and Glomot F., *Pharmaceutical Technology, Drug Stability*, Ed. MH Rubinstein, (1989), Ellis Horwood.
- 78.- Duchene D. and Wouessidjewe D., **Physicochemical Characteristics and Pharmaceutical Uses of Cyclodextrin Derivatives, Part I.** *Pharm. Tech.*, (1990), 26.
- 79.- Duchene D. and Wouessidjewe D., **Physicochemical Characteristics and Pharmaceutical Uses of Cyclodextrin Derivatives, Part II.** *Pharm. Tech.*, (1990), 22.
- 80.- Szejtli J., **Cyclodextrins in Drug Formulations, Part I.** *Pharm. Tech.*, (1991), 36.
- 81.- Puglisi G., Ventura C.A., Fresta M., Vandelli M.A., Cavallaro G. and Zappala M., **Preparation and Physico-Chemical Study of Inclusion Complexes between Idebenone and Modified beta-Cyclodextrins.** *J. Incl. Phenom. Molec. Recog. Chem.*, **24**, (1996), 193.
- 82.- Hamai S., **Association of Inclusion Compounds of  $\beta$ -Cyclodextrin in Aqueous Solution.** *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **55**, (1982), 2721.
- 83.- Cox G S., Turro N.J., Yang N.C. and Chen M., **Intramolecular Exciplex Emission from Aqueous  $\gamma$ -CD Solutions.** *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, (1984), 422.
- 84.- Heredia A., Requena G. and García-Sánchez F., **An Approach for the Estimation of the Polarity of the  $\beta$ -CD Internal Cavity.** *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, (1985), 1814.
- 85.- Street Jr. K.W., **Cyclodextrin Cavity Polarity and Chromatographic Implications.** *J. Liq. Chromatogr.*, **10**, (1987), 655.
- 86.- Street Jr. K.W. and Acree Jr. W.E., **Estimation of the Effectivite Dielectric Constant of Cyclodextrin Cavities Based on the Fluorescence Properties of Pyrene-3-Carboxaldehyde.** *Appl. Spectrosc.*, **42**, (1988), 1315.
- 87.- Hamai S., **Association of Inclusion Complexes in the Systems of b-CD-Aniline Sodium 1-Pyrenesulfonate and Pyrene.** *J. Phys. Chem.*, **92**, (1988), 6140.
- 88.- Hamai S., **Association Modes of a 1:1 Inclusion Compound of b-CD with 1-Cyanonaphtalene in Aqueous Solutons: Self-Association, Association with Alcohols, and Association with a 1:1  $\beta$ -CD-Anisole Inclusion Compounds.** *J. Phys. Chem.*, **94**, (1990), 2595.
- 89.- VanEtten R.L., Sebastian J.F., Clowees G.A. and Bender M.L., **Acceleration of Phenyl Ester Cleavage by Cycloamyloses. A Model for Enzymic Specificity.** *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, (1967), 3242.
- 90.- Nigam S. and Durocher G., **Spectral and Photophysical Studies of Inclusion Complexes of some Neutral 3H-Indoles and their Cations and Anions with Beta-cyclodextrin.** *J. Phys. Chem.*, **100**, (1996), 7135.

- 91.- Gelb R.I., Schwartz L.M., and Laufer D.A., **Acid Dissociation of Cyclooctaamylose**. *Bioorg Chem.*, **11**, (1982), 274.
- 92.- Szejtli J., **The Metabolism, Toxicity and Biological Effects of Cyclodextrins**. *Topics in Pharm Sci.*, (1987), 151.
- 93.- Atwood J.L., *Encyclopedia of physical Science and technology*, vol6, (1987), Academic Press Inc. 583-594.
- 94.- Coleman A.W., Nicolis J., Keller N. and Dalbiez J.P., **Aggregation of Cyclodextrins: an Explanation of the Abnormal Solubility of  $\beta$ -Cyclodextrin**. *J. Inc. Phenom. Molec. Recog. Chem.*, **13**, (1992), 139.
- 95.- Martindale, *The Extra Pharmacopea*, 29 Ed., Ed. by James FF Reynolds, London, the pharmaceutical press. (1989).
- 96.- Davis A., Pawlowski Z.S. and Dixon H., **Multicentre Clinical Trials of Benzimidazolecarbamates in Human Echinococcosis**. *WHO Bulletin.*, **64**, (1986), 383.
- 97.- Sharma S., **Drugs for Parasitic Diseases**. *Drugs of today*, **25**, (1989), 249.
- 98.- Walchshofer N., Delabre-Defayolle Y., Paris J. and Petavy A.F., **In Vivo Morphological Damage Induced by a New Benzimidazole Prodrug in Echinococcus Multilocularis Metacestodes**. *J. Pharm. Sciences.* **79**, (1990), 606.
- 99.- Edwards G. and Breckenridge A.M., **Clinical Pharmacokinetics of Anthelmintic Drugs** *Clinical Pharmacokinetics*, **15**, (1988), 67.
- 100.- Gemmel M.A., Johnstone P.D. and Oudemans G., **Significance of Particle Size of Mebendazole in the Treatment of Tapeworm Infections**. *J. Pharm. Pharmacol.*, **37**, (1985), 659.
- 101.- Bekhti A. and Pitrotte J., **Cimetidine Increases Serum Mebendazole Concentrations. Implications for Treatment of Hepatic Hidatid Cyst** *Br. J. Clin. Pharmac.*, **24**, (1987), 390.
- 102.- Chiba Y., Kohri N., Iseki K. and Miyazaki K., **Improvement of Dissolution and Bioavailability for Mebendazole, an Agent for Human Echinococcosis, by Preparing Solid Dispersions with P.E.G.** *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, (1991), 2158.
- 103.- Kata M. and Papp L., **Study of Products Containing Mebendazole and  $\beta$ -CD**. *Pharmazie*, **42**, (1987), 67.
- 104.- Chun I.K. and Park I.S., **Solubilization and Dissolution Enhancement of Benzimidazole Anthelmintic Drugs by Cyclodextrin Complexation**. *Yakhak Hoechi*, (1993), 37. (CA: 280014d, Vol 120, 1994)
- 105.- (a). Bassani V.L., Krieger D., Duchene D. and Wouessidjewe D., **Enhanced water-solubility of Albendazole by Hydroxypropyl-beta-Cyclodextrin Complexation**. *J. Inc. Phen. Molec. Recog. Chem.*, **25**, (1996), 149. (b). El-Arini S.K. and Kocova S., **Dissolution Properties of Praziquantel- $\beta$ -Cyclodextrin Systems**. *Pharm. Dev. Tech.*, **1**, (1996), 307
- 106.- (a). Hirai H., Toshima N. and Uenoyama S., **Inclusion Complex Formation of  $\gamma$ -CD. One Host-Two Guest Complexation with Water-Soluble Dyes in Ground State**. *Bull. Chem. Soc. Jpn* **58**, (1985), 1156. (b). Matsui Y., Ogawa K., Mikami S., Yoshimoto M. and Mochida K., **Binding and Catalytic Properties of Charged  $\beta$ -cyclodextrin**. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **60**, (1987), 1219.
- 107.- (a). Schiller R.L., Coates J.H. and Lincoln S.F., **Kinetic and Equilibrium Studies of Crystal Violet-Cyclodextrin Inclusion Complexes**. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. 1*, **80**, (1984), 1257, (b). Sasaki M., Nishimura I., Sugimoto N. and Sugano T., **Inclusion Kinetics of Crystal Violet into  $\gamma$ -Cyclodextrin**. *Chem. Express*, **4**, (1989), 65. (c). *Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*. Ed. by C.O. Wilson, O. Gisvold, and R.F. Doerge. J.B. Lippincott Company, Philadelphia, (1977). (d). *Comprehensive Medicinal Chemistry*, vol 6 Ed. by C.J. Draytor, Pergamon Press, Oxford, U.K., (1990). (e). *The Merck Index*, 12 Ed., Merck and Co., Inc., (1996).
- 108.- Rigby M., Smith B.E., Wakeman W.A. and Maitland G.C., *The forces between molecules*, Claredon, Oxford, (1986).
- 109.- Webster B., *Chemical Bonding Theory*, Blackwell, Oxford, (1990), pp243.

- 110.- Hueheey J., *Inorganic Chemistry-Principles of Structure and Reactivity*, 3rd ed., Harper and Row, New York, (1983).
- 111.- Tanford C., *The Hydrophobic effect. Formation of Micelles and Biological Membranes*, Wiley Interscience Publication, New York, 1980.
- 112.- Muller N., **Search for a Realistic View of Hydrophobic Effects**. *Acc. Chem. Res.*, **23**, (1990), 23.
- 113.- Díaz Peña M., *Fuerzas Intermoleculares*, Ed. Chesneau E.V., General Secretariat of the Organization of American States, Washington D.C., 1979.
- 114.- (a). Hobza P. and Zahradnik R., *Intermolecular Complexes*, Ed. Elsevier, Tokyo, 1988. (b). Díaz D., Vargas-Baca, Y., and Gracia-Mora J., *b-Cyclodextrin Inclusion Complexes with Iodine*. *J. Chem. Educ.*, **71**, (1994), 708.
- 115.- Feynman R.P., **Forces in Molecules**. *Phys. Rev.*, **56**, (1939), 340. (C.A.: 8065<sup>6</sup>, Vol. 33, 1939)
- 116.- (a). Maitland G.C., Rigby M., Smith E.B. and Wakeham W.A. *Intermolecular forces. Their origin and determination*. Clarendon Press. Oxford, New York, (1987). Ed. by Breslow R., Goodenough J.B., Halpern J. and Rowlinson J.S. (b) Peral Fernández F., *Asociaciones moleculares*, Universidad Nacional de Educación a Distancia (UNED), Madrid, (1992).
- 117.- Onsager L., **Electric Moments of Molecules in Liquids**. *J. Am. Chem. Soc.*, **58**, (1936), 1486.
- 118.- (a). Soper A.K. and Luzar A., **Orientation of Water Molecules around Small Polar and Nonpolar Groups in Solution: A Neutron Diffraction and Computer Simulation Study**. *J. Phys. Chem.*, **100**, (1996), 1357. (b) D. Eagland, **La Estructura del Agua**, *Mundo Científico*, **19**, (1989), 38. (c). Lai J.T.W., Lau F.W., Robb D., Westh P., Nielsen G., Trandum C., Hvidt A. and Koga Y., **Excess Partial Molar Enthalpies, Entropies, Gibbs Energies, and Volumes in Aqueous Dimethylsulphoxide**. *J. Sol. Chem.*, **24**, (1995), 89.
- 119.- Broser W., **Cyclodextrin Inclusion Compounds in Solution**, *Z. Naturforsch*, **8b**, (1953), 722..
- 120.- Lopata A., Darvas F., Stadler-Szake A., and Szejtli A., **Quantitative structure-stability relationship among Inclusion Complexes of Cyclodextrins. Part 2. Steroid Hormones**. *QSAR Strategies Des. Bioact. Compd. Proc. Eur. Symposium Quant. Structur. Act. Relat. 5th*, 1984 (Pub. 1985), 353.
- 121.- Bergeron R., Channing M.A., Gibeily G.J. and Pillor D.M., **Disposition Requirements for Binding in Aqueous Solution of Polar Substrates in the Cyclohexaamylose Cavity**. *J. Am. Chem. Soc.*, **99**, (1977), 5146.
- 122.- Saenger W., Noltemeyer M., **Topography of Cyclodextrin Inclusion Complexes, VII, X-Ray Analysis of  $\alpha$ -Cyclodextrin. KryptonPentahydrate. On the Inclusion Mechanism of the Model Enzyme.**, *Chem. Ber.*, **109**, (1976), 503.
- 123.- Bergeron R. and Rowan R., **The Molecular Disposition of Sodium-p-Nitrophenolate in the Cavities of Cycloheptaamylose and Cyclohexaamylose in Solution**. *Bioorg Chem*, **5**, (1976), 425. (C.A.: 116736z, Vol. 86, 1976)
- 124.- Bergeron R. and Channing M A., **The Molecular Disposition of p-Nitrophenol and Sodium-p-Nitrophenolate in the Cyclohexaamylose cavity**. *Bioorg Chem.*, **5**, (1976), 437.
- 125.- Bergeron R. and McPhie P., **Circular Dichroism Studies on the Structure of p-Nitrophenolate Cycloamylose Complexes**. *Bioorg Chem.*, **6**, (1977), 465.
- 126.- Manor P.C. and Saenger W., **Water Molecule in Hydrophobic Surroundings. Structure of  $\alpha$ -Cyclodextrin Hexahydrate (C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>)<sub>6</sub>·6H<sub>2</sub>O**. *Nature (London)*, **237**, (1972), 392.
- 127.- Manor P.C. and Saenger W., **Topography of Cyclodextrin Inclusion Complexes. III. Crystal and Molecular Structure of Cyclohexaamylose Hexahydrate, the (H<sub>2</sub>O)<sub>2</sub> Inclusion Complex**. *J. Am. Chem. Soc.*, **96**, (1974), 3630.
- 128.- Saenger W. and Noltemeyer M., **X-Ray Structure Analysis of the  $\alpha$ -Cyclodextrin-Krypton Inclusion Complex. A Noble Gas in Organic Matrix**. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.*, **13**, (1974), 552.
- 129.- Hingerty B. and Saenger W., **Topography of Cyclodextrin Inclusion Complexes. 8. Crystal and Molecular Structure of the  $\alpha$ -Cyclodextrin-Methanol-Pentahydrate Complex. Disorder in a Hydrophobic Cage**. *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, (1976), 3357.
- 130.- Nemethy G. and Scheraga H.A., **Structure of Water and Hydrophobic Bonding in Proteins. I. A Model for the Thermodynamic Properties of Liquid Water**. *J. Chem. Phys.*, **36**, (1962), 3382.

- 131.- Wshnia A. and Lappi S.J., **Effector-Modulated subunit Associations in a Model Hydrophobic System.** *J mol. Biol.*, **82**, (1974), 77.
- 132.- Komiyama M. and Bender M.I., **Importance of Apolar Binding in Complex Formation of Cyclodextrins with Adamantanecarboxylate.** *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, (1978), 2259.
- 133.- Gelb R.I., Schwartz L.M. and Laufer D.A., **The Complexation Chemistry of Cyclohexaamyloses: Adducts with 1-Adamantanecarboxylic Acid and Anion.** *Bioorg. Chem.*, **9**, (1980), 450.
- 134.- Casu B. and Rava L., **Physicochemical Properties of Inclusion Complexes (Compounds). I. Dissociation Constants in Aqueous Solution of Inclusion Complexes (Compounds) of  $\alpha$ -Cyclodextrin with Substituted Benzoic Acids.** *Ric. Sci.*, **36**, (1966), 733. (CA: 32418w, Vol 66, 1967)
- 135.- Parsonage N.G. and Staveley L.A.K., **Thermodynamic Properties of Clathrates. II. Heat Capacity and Entropy of Methane in Methane-Quinol Clathrates.** *Mol. Phys.*, **3**, (1960), 59 (CA: 16157h, Vol. 54, 1960)
- 136.- Cramer F., Saenger W. and Spatz H.Ch., **Inclusion Compounds. XIX. The Formation of Inclusion Compounds of  $\alpha$ -CD in Aqueous Solutions. Thermodynamic and Kinetic.** *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, (1967), 14.
- 137.- Sinanoglu, O., **Molecular Associations in Biology**, Pullman B., Ed: Academic: New York, (1968), 427.
- 138.- Lewis E.A. and Hansen L.D., **Thermodynamics of Binding of Guest Molecules to Alpha and Beta Cyclodextrins.** *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 2*, (1973), 2081.
- 139.- Jencks W.P., **Catalysis in Chemistry and Enzimology.** Dover Publications, New York, (1987)
- 140.- Kauzmann W., **Some Factors in the Interpretation of Protein Denaturalization.** *Adv. Protein. Chem.*, **14**, (1959), 1.
- 141.- Nemethy G. and Scheraga H.A., **The Structure of Water and Hydrophobic Bonding in Proteins. III. The Thermodynamic Properties of Hydrophobic Bonds in Proteins.** *J. Phys. Chem.*, **66**, (1962), 1773.
- 142.- Lammers J.N.N.N., **Properties of Cycloamyloses. IX. Specific Inclusion Compound Formation of Cyycloamylose Derivatives with Hexane and 2,3-Dimethylbutane in Aqueous Solution.** *Recl. Trav. Chim. Pays Bas*, **91**, (1972), 1163. (CA: 152478q, Vol. 77, 1972)
- 143.- Atherton N.M. and Strach S.J., **Association of Di-t-butyl Nitroxide with Schärldinger Dextrins.** *J. Chem. Soc. Faraday 1*, **71**, (1975), 357.
- 144.- Ueda H. and Perrin J.H., **A Microcalorimetric Investigation of the Binding of Flurbiprofen to Cyclodextrins.** *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **4**, (1986), 107. (CA: 29905w, Vol. 105, 1986)
- 145.- Connors K.A. and Rosanske T.W., **Trans-Cinnamic Acid- $\alpha$ -CD System as Studied by Solubility, Spectral, and Potentiometric Techniques.** *J Pharm. Sci.*, **66**, (1980), 173.
- 146.- Harata K., **The Structure of the Cyclodextrin Complex. III. The Crystal Structure of the  $\alpha$ -Cyclodextrin-Sodium Benzenesulfonate Complex.** *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **49**, (1976), 2066.
- 147.- Tan X. and Lindenbaum S., **Studies on Complexation between  $\beta$ -CD and Bile Salts.** *Int. J. Pharm.*, **74**, (1991), 127.
- 148.- Nishijo J., Yasuda M., Nagai M. and Ohno E., **Interaction of 6-p-Toluidinylnaphtalene-2-sulfonate with  $\alpha$ -CD** *Chem. Pharm. Bull.*, **40**, (1992), 2591.
- 149.- El-Mahrook G.M., Al-Angary A.A. and Gouda M.W., **Interaction os Carbamazepine with Cyclodextrins.** *Pharm. Ind.*, **55**, (1993), 1129.
- 150.- El-Mahrook G.M., Al-Angary A.A. and Al-Meshal M A., **Modified  $\beta$ -Cyclodextrin-Lorazepam Inclusion Complexation.** *Pharm. Ind.*, **56**, (1994), 1080.
- 151.- Nishijo J., Nagai M., Yasuda M., Ohno E. and Ushiroda Y., **Interaction of 6-p-Toluidinyl Sulphonate with  $\beta$ -CD.** *J. Pharm. Sci.*, **84**, (1995), 1420.
- 152.- Aki H., Haraguchi T., Niiya T., Goto Y. and Yamamoto M., **Multiple Modes for Inclusion Complexation between Phenobarbital and 2-Hydroxypropyl-beta-Cyclodextrin in Aqueous Solution.** *J. Pharm. Soc. Jap.*, **116**, (1996), 803.



- 153.- Harata K., Tsuda K., Uekama K., Otagiri M. and Hirayama F., **Complex Formation of Hexakis (2, 3, 6-tri-O-Methyl)  $\alpha$ -CD with Substituted Benzenes in Aqueous Solution.** *J Incl. Phenom.*, **6**, (1988), 135.
- 154.- Cromwell G.C., Bystrom K. and Eftink M.R., **Cyclodextrin-Adamantanecarboxylate Inclusion Compounds: Studies of the Variation in Cavity Size.** *J. Phys. Chem.*, **89**, (1985), 326.
- 155.- Eftink M.R., Andy M.L., Bystrom K., Perlmutter H.D. and Kristol D.S., **Cyclodextrin Inclusion Complexes: Studies of the Variation in the Size of Alicyclic Guest.** *J. Am Chem. Soc.*, **111**, (1989), 6765.
- 156.- Valsami G.N., Macheras P.E. and Koupparis M.A., **Binding Studies of Ions with Cyclodextrins Using Ion-Selective Electrodes.** *J. Pharm. Sci.*, **79**, (1990), 1087.
- 157.- Zhang B. and Breslow R., **Enthalpic Domination of the Chelate Effect in Cyclodextrin Dimers.** *J Am Chem Soc.*, **115**, (1993), 9353.
- 158.- Barone G., Castronuovo G., Di Ruocco V., Elia V. and Giancola C., **Inclusion Compounds in Water: Thermodynamics of the Interaction of Cyclomaltohexaose with Aminoacids at 25 °C.** *Carbohydr. Res.*, **192**, (1989), 331.
- 159.- Fujiwara H., Harakawa H., Murata S. and Sasaki Y., **Entropy Changes in the Inclusion Complex Formation of  $\alpha$ -CD with Alcohols as studied by the Titration Calorimetry.** *Bull Chem Soc Jpn.*, **60**, (1987), 3891.
- 160.- Menard F.A., Dedhiya M.G. and Rhodes C.T., **Physico-chemical Aspects of the Complexation of some Drugs with Cyclodextrins.** *Drug Dev. Ind. Pharm.*, **16**, (1990), 91.
- 161.- Gelb R.I., Lee B.T. and Zompa L.J., **Hexacyclen Complexes of Anions. 2. Binding Forces, Structures, and Selectivity.** *J. Am. Chem. Soc.*, **107**, (1985), 909.
- 162.- Ferguson S.B., Seward E.M., Diederich F., Sanford E.M., Chou A., Inocencio-Szweda P. and Knobler C.B., **Strong Enthalpically Driven Complexation of Neutral Benzene Guest in Aqueous Solution.** *J. Org. Chem.*, **53**, (1988), 5593.
- 163.- Andini S., Castronuovo G., Elia V. and Gallotta E., **Inclusion Compounds in Water: Calorimetric and Spectroscopic Studies of the Interaction of  $\alpha$ -CD with Alkanols at 25 °C.** *Carbohydr. Res.*, **217**, (1991), 87.
- 164.- Hallén D., Schön A., Shehatta I. and Wadso I., **Microcalorimetric Titration of  $\alpha$ -CD with some Straight-Chain Alkan-1-ols at 288.15, 298.15 and 308.15.** *J. Chem. Soc. Faraday Trans. 88*, (1992), 2859.
- 165.- Lumry R. and Rajender S., **Enthalpy-Entropy Compensation Phenomena in Water Solutions of Proteins and Small Molecules: a Ubiquitous Property of Water.** *Biopolymers*, **9**, (1970), 1125. (C.A.: 113628m, Vol. 73, 1970)
- 166.- Rekharsky M.V., Goldberg R.N., Schwarz F.P., Tewari Y.B., Ross P.D., Yamashoji Y. and Inoue Y., **Thermodynamic and NMR Study of the Interaction of  $\alpha$ - and  $\beta$ - Cyclodextrins with Model Substances Phenethylamine, Ephedrine and Related Substances.** *J Am. Chem. Soc.*, **117**, (1995), 8830.
- 167.- Irwin P.L., Bruillette J.N. and Hicks K.B., **Cyclomaltoheptaose (Beta-cyclodextrin) and Hydroxyethyl-Substituted Beta-cyclodextrin Inclusion Complex Formation with Chlorogenic Acid: Solvent Effects on Inclusion Complex Stability.** *Carbohydr. Res.*, **269**, (1995), 201.
- 168.- Irwin P.L., King G. and Hicks K.B., **Polymerized Cyclomaltoheptaose (beta-cyclodextrin, beta-CDen) Inclusion Complex Formation with Chlorogenic Acid: Solvent Effects on Thermochemistry and Enthalpy Entropy Compensation.** *Carbohydr. Res.*, **282**, (1996), 65.
- 169.- Gelb R.I., Schwartz L.M., Cardelino B., Fuhrman H.S., Johnson R.F. and Laufer D.A., **Binding Mechanism in  $\alpha$ -CD Complexes.** *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, (1981), 1750.
- 170.- Gelb R.I., Schwartz L.M., Radeos M. and Laufer D.A., **Cycloamylose Complexation of Inorganic Anions.** *J Phys. Chem.*, **87**, (1983), 3349.
- 171.- Behr J.P. and Lehn J.M., **Molecular Dynamics of  $\alpha$ -Cyclodextrin Inclusion Complexes.** *J. Am. Chem. Soc.*, **98**, (1976), 1743.

- 172.- Irwin P.L., Pfeffer P.E., Doner L.W., Sappers G.M., Brewster J.D., Nagahashi G. and Hicks K.B., **Binding Geometry, Stoichiometry, and Thermodynamics of Cyclomalto-Oligosaccharide (Cyclodextrin) Inclusion Complex Formation with Chlorogenic Acid, the Major Substrate of Apple Polyphenol Oxidase.** *Carbohydr. Res.*, **256**, (1994), 13.
- 173.- Inoue Y., Liu Y., Tong L.H., Shen B.J. and Jin D.S., **Calorimetric Titration of Inclusion Complexes with Modified  $\beta$  Cyclodextrins. Enthalpy-Entropy Compensation in Host-Guest Complexation: From Ionophore to Cyclodextrin and Cyclophane.** *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, (1993), 10637.
- 174.- Inoue Y., Hakushi T., Liu Y., Tong L.H., Shen B.J. and Jin D.S., **Thermodynamics of Molecular Recognition by Cyclodextrins.1. Calorimetric Titration of Inclusion Complexation of Naphtalenesulfonates with  $\alpha$ ,  $\beta$ , and  $\gamma$  Cyclodextrins: Enthalpy-Entropy Compensation.** *J. Am. Chem. Soc.*, **115**, (1993), 475.
- 175.- Junquera E., Laynez J., Menéndez M., Sharma S. and Penadés S., **Thermodynamic of  $\alpha$ -Cyclodextrin-p-Nitrophenyl Glycoside Complexes. A Simple System to Understand the Energetics of Carbohydrates Interactions in Water.** *J. Org. Chem.*, **61**, (1996), 6790
- 176.- Criss C.M. and Salomon M., **Thermodynamic of Ionic Solvation and its Significance in Various Systems.** *J. Chem. Ed.*, **53**, (1976), 764.
- 177.- Danil de Namor A.F., Traboulsi R. and Lewis D.F.V., **Host Properties of Cyclodextrins toward Anion Constituents of Antigen Determinants. A Thermodynamic Study in Water and in N,N DMF.** *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, (1990), 8442.
- 178.- Smithrud D.B., Wyman T.B. and Diederich F., **Enthalpically Driven Cyclophane-Arene Inclusion Complexation: Solvent-Dependent Calorimetric Studies.** *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, (1991), 5420.
- 179.- Harata K., **Temperature Effects on Cyclodextrin Spectra of  $\beta$ -CD Complexes with 2-Substituted Naphtalenes.** *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **52**, (1979), 1807.
- 180.- Saenger W., **Cyclodextrin Inclusion Compounds in Research and Industry.** *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **19**, (1980), 344.
- 181.- Connors K.A. and Lipari J.M., **Effect of Cycloamyloses on Apparent Dissociation Constants of Carboxylic Acids and Phenols: Equilibrium Analytical Selectivity Induced by Complex Formation.** *J. Pharm. Sci.*, **65**, (1976), 379.
- 182.- Matsui Y. and Mochida K., **The Microenvironmental Effect of Cyclodextrin on the Acid Dissociation of Some Azo Dyes in Aqueous Solutions.** *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **51**, (1978), 673
- 183.- Kotake Y. and Janzen E.G., **Effect of pH and Salt Concentration on Bimodal Inclusion of a Nitroxide by Cyclodextrins.** *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, (1989), 7319.
- 184.- Buvári A. and Barcza L., **Complex Formation of Phenol, Aniline, and their Nitro Derivatives with  $\beta$ -Cyclodextrin.** *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, (1988), 543
- 185.- Miyagawa H., Nishioka T. and Fujita T., **Analysis of Hydrophobic Effect in the Complex Formation of Beta-cyclodextrin-mono-(6-deoxy-6-sulfonate) with Quarternary Ammonium Ions.** *Bull. Inst. Chem. Res. Kyoto Univ.*, **64**, (1986), 94. (CA:7460m, Vol 107, 1987)
- 186.- Tabushi I. and Mizutani T., **Nature of Force Field Operating in Molecular Recognition by Cyclodextrins. Contribution of Nonpolar and Polar Interactions.** *Tetrahedron*, **43**, (1987), 1439.
- 187.- Okimoto K., Rajewski R.A., Uekama K., Jona J.A. and Stella V.J., **The Interaction of Charged and Uncharged Drugs with Neutral (HP-beta-Cyclodextrin) and Anionically Charged (SBE7-beta-CD) Beta-Cyclodextrins.** *Pharm Res.*, **13**, (1996), 256.
- 188.- Schneider H.J., Blatter T., Kramer R., Kumar S., Schneider U. and Theis Y., **Host-Guest Chemistry. Part 22. Host-Guest Binding Mechanisms: Experimental Approaches.** *J. Incl. Phenom. Mol. Recog.*, (1988), 65.
- 189.- Schneider H.J. and Theis Y., **Additivities of Electrostatic and Hydrophobic Interactions in Host-Guest Complexes.** *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **28**, (1989), 753.

- 190.- Schneider H.J. and Blatter T., **Modification of Hydrophobic and Polar Interactions by Charged Groups in Synthetic Host-Guest Complexes.** *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, **27**, (1988), 1163.
- 191.- Schneider H. J., Juneja R.K. and Simova S., **Solvent and Structural Effects on Hydrogen Bonds in some Amines and Barbiturates. An Additive Scheme for the Stability of Corresponding Host-Guest Complexes.** *Chem. Ber.*, **122**, (1989), 1207.
- 192.- Siegel B. and Breslow R., **Lypophobic Binding of Substrates by Cyclodextrins in Non Aqueous Solvents.** *J. Am. Chem. Soc.*, **97**, (1975), 6869.
- 193.- Takeda Y., **A Conductance Study of Alkaly Metal Ion-18-Crown-6-Complexes in N,N, DMF.** *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **54**, (1981), 3133.
- 194.- Gerasimowicz W.V. and Wojcik J.F., **Azo-Dye- $\alpha$ -Cyclodextrin Adduct Formation.** *Bioorg. Chem.*, **11**, (1982), 420 (C.A.: 133087d, Vol. 98, 1982).
- 195.- Kosugi Y. and Motozato Y., **Application of Magnetic Resonance. XXII.  $^{13}\text{C}$ -NMR of Piperidine-Cyclodextrin Inclusion Compounds.** *Nippon Kagaku, Kaishi*, (1983), 202. (CA: 197486v, Vol. 98, 1983).
- 196.- Harada A. and Takahashi S., **Complex Formation of Cyclodextrins in Alcohol Solutions.** *Chem. Lett.*, (1984), 2089.
- 197.- Richmond M. D., Hurtubise M. J., **Analytical Characteristics of  $\beta$ -CD/Salt Mixtures in RoomTemperature Solid-Surface Luminescence Analysis.** *Anal. Chem.*, **61**, (1989), 2643.
- 198.- Martin J.V., TurmineM., Letellier P. and Hemery P., **Study of  $\beta$ -Cyclodextrin dodecyltrimethylammonium Bromide Complex in Water-Isopropanol Mixtures.** *Electrochim. Acta*, **40**, (1995), 2749.
- 199.- Klein C.T., Kohler G., Mayer B., Mraz K., Reiter S., Viernstein H., Wolschann P., **Solubility and Molecular Modeling of Triflumizole-beta-cyclodextrin Inclusion Complexes.** *J. Incl. Phenom. Molec. Recog. Chem.*, **22**, (1995), 15.
- 200.- Hashida Y. and Matsui K., **Complexation of Arenediazonium Ions with a Macrocyclic Polyether. The Stability Constants for the Complexes.** *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **53**, (1980), 551.
- 201.- Tabushi Y., Kuroda J. and Mizutani T., **Artificial Receptors for Amino Acids in Water. Local Environmental Effect on Polar Recognition by 6A-Amino-6B-Carboxy- and 6B-Amino-6A-Carboxy- $\beta$ -Cyclodextrins.** *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, (1986), 4514.
- 202.- Opallo M., Kobayashi N. and Osa T. **The Complexation of 2,3-Anthracenedicarboxylate by  $\beta$ - and  $\gamma$ - cyclodextrins in Mixed Solvent Systems as Studied by Induced Circular Dichroism. The Role of Cosolvent Hydrophobicity.** *J. Incl. Phenom. Molec. Recog. Chem.*, **6**, (1989), 413.
- 203.- Mulski M.J., Connors K.A., **Solvent Effects on Chemical Processes. 9. Energetic Contributions to the Complexation of 4-Nitroaniline with  $\alpha$ -Cyclodextrin in Water and in Binary Aqueous-Organic Solvents.** *Supramol. Chem.*, **4**, (1995), 271. (CA: 228686x, vol 123, 1995).
- 204.- Tachibana M., Furusawa M. and Kiba N., **Application of Solvent Extraction and Synchronomus Spectrofluorimetry for the Determination of the Formation Constant for a 1:1 Complex of Carbazole with Beta-Cyclodextrin in Water-Dimethyl Sulfoxide Medium.** *J. Incl. Phenom. and Molec. Recog. Chem.*, **22**, (1995), 313.
- 205.- Patonay G., Fowler K., Shapira A., Nelson G. and Warner I.M., **Cyclodextrin Complexes of Polyaromatic Hydrocarbons in the Presence of Aliphatic Alcohols.** *J. Incl. Phenom.*, **5**, (1987), 717.
- 206.- Schmidtchen F.P., **Formation of Inclusion Complexes with Anions in Solution.** *Chem. Ber.*, **114**, (1981), 597.
- 207.- Izatt R.M., Bradshaw J.S., Nielsen S.A., Lamb J.D. and Christensen J.J., **Thermodynamic and Kinetic Data for Cation-Macrocycle Interaction.** *Chem. Rev*, **85**, (1985), 271.
- 208.- Hamai S., **Hydrogen Bonding Inclusion Complexes of Heptakis (2, 3, 6-tri-O-methyl)- $\beta$ -CD with Chlorophenols in Organic Solvents.** *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **65**, (1992), 2323.
- 209.- Donze C., Chatjigakis A. and Coleman A.W., **Co-solvent Modulation of the Inclusion Selectivity of  $\beta$ -CD.** *J. Incl. Phenom. Mol. Recog. Chem.*, **13**, (1992), 155.
- 210.- Danil de Namor A.F., Blackett P.M., Cabaleiro M.C. and AlRawl M.A. **Cyclodextrin-Monosacharide Interactions in Water.** *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **90**, (1994), 845.

- 211.- Matsui Y. and Mochida K., **Binding Forces Contributing to the Association of Cyclodextrins with Alcohol in an Aqueous Solution.** *Bull Chem Soc Jpn.*, **52**, (1979), 2808.
- 212.- Huan J., Catena G.C., Bright F.V., **Fluorescence-Based Investigations of Alcohol Co-solvent on the Nature of Cyclodextrin Inclusion Complexation.** *App. Spectrosc.*, **46**, (1992), 606.
- 213.- Liao Y. and Bohne C., **Alcohol Effect on Equilibrium Constant and Dissociation Dynamic of Xanthone-CD Complexes.** *J. Phys. Chem.*, **100**, (1996), 734.
- 214.- Otagiri M., Miyaji T., Uekama K. and Ikeda K., **Inclusion Complexation of Barbiturates with  $\beta$ -Cyclodextrin in Aqueous Solution.I. Spectroscopic Study on the Mode of Interaction** *Chem Pharm Bull*, **24**, (1976), 1146.
- 215.- Schneider H.J., Philippi K. and Pohlmann J., **Structure and Solvent Dependence in the Complexation of Lipophilic Substrates in a Water-Soluble Azacyclophane.** *Angew Chem. Int. Ed. Engl.*, **23**, (1984), 908.
- 216.- Gafni A. and Cohen Y., **Complexes of Macrocycles with Gamma-Cyclodextrin as Deduced from NMR Diffusion Measurements.** *J. Org. Chem.*, **62**, (1997), 120.
- 217.- Mochida K., Kagita A., Matsui Y. and Date Y., **Effects of Inorganic Salts on the Dissociation of a  $\beta$ -Cyclodextrin Complex with an Azodye in an Aqueous Solution** *Bull Soc Chem. Jpn.*, **46**, (1973), 3703. (C.A.: 59113u, Vol. 80, 1973)
- 218.- Sarkar N., Das K., Nath D. and Bhattacharyya K., **Salt Effect on the Hydrophobic Binding of p-Toluidino Naphtalene Sulphonate with Cyclodextrins.** *Chem. Phys. Lett.*, **218**, (1994), 492.
- 219.- Kuharsky R.A. and Rossky P.J., **Solvation of Hydrophobic Species in Aqueous Urea Solution: A Molecular Dynamic Study.** *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, (1984), 5794.
- 220.- Rekharsky M.V., Menykina E.V., Eliseev A.V. and Yatsimirsky A.K. **Thermodynamics of Molecular Recognition of Nitrogen Heterocycles.** *Thermochim. Acta*, **202**, (1992), 25.
- 221.- Breslow R. and Halfon S., **Quantitative Effects of Antihydrophobic Agents on Binding Constants and Solubilities in Water.** *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **89**, (1992), 6916
- 222.- Godinez L.A., Patel S., Cris C.M. and Kaifer A.E., **Calorimetric Studies on the Complexation of Several Ferrocene Derivatives by Alpha- and Beta-cyclodextrin. Effects of Urea on the Thermodynamic Parameters.** *J. Phys. Chem.*, **99**, (1995), 17449.
- 223.- Bergeron R.J., Channing M.A. and McGovern K.A., **Dependence of Cyclodextrin-Substrate Binding on Charge.** *J. Am. Chem. Soc.*, **100**, (1978), 2878.
- 224.- Kotake Y. and Janzen E.G., **Recognition Ability of Cyclodextrin for Alkyl Groups in Nitroxides as Studied by Electron Spin Resonance.** *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, (1989), 5138
- 225.- Danil de Namor A.F., Traboulssi R. and Lewis D.F.V., **Complexation of Cyclodextrins with Anion Constituents of Antigen Determinants in Water and N,N DMF. A Thermodynamic Study.** *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, (1990), 751.
- 226.- Danil de Namor A.F., **Thermodynamic of Host-Guest Interactions: Solubility Enhancements.** *Pure and Appl. Chem.*, **62**, (1990), 2121.
- 227.- Takagi S., Fujisawa M. and Kimura T., **Enthalpy and Entropy Changes on Molecular Inclusion of 1,3-Butanediol into  $\alpha$  and  $\beta$  Cyclodextrin Cavities in Aqueous Solutions.** *Thermochim. Acta*, **183**, (1991), 289.
- 228.- Fujita T., Iwasa J. and Hansch C.,  **$\rho$ ,  $\sigma$ ,  $\pi$  Analysis: Method for the Correlation of Biological Activity and Chemical Structure.** *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, (1964), 1616.
- 229.- Hansch C. and Coats E.,  **$\alpha$ -Chymotrypsin: Case Study of Substituent Constants and Regression Analysis in Enzymic Structure-Activity Relations.** *J Pharm Sci.*, **59**, (1970), 731.
- 230.- Leo A., Hansch C. and Elkins D., **Partition Coefficients and their Uses.** *Chem. Rev.*, **71**, (1971), 525.
- 231.- Hansch C., Leo A. and Nikaitani D., **On the Additive-Constitutive Character of Partition Coefficients.** *J. Org. Chem.*, **37**, (1972), 3090.
- 232.- Lin S.F. and Connors K.A., **Complex Formation between  $\alpha$ -CD and 4-Substituted Phenols Studied by Potentiometric and Competitive Spectrophotometric Methods.** *J. Pharm. Sci.*, **72**, (1983), 1333.

- 233.- Yatsimirsky A.K. and Eliseev A.V., **Contribution of Electrostatic and Hydrophobic Interactions to the Host-Guest Complexation of Pyrocatecholate Anions with Cationic Cyclodextrins.** *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, (1991), 1769.
- 234.- Connors K.A. and Pendergast D.D., **Microscopic Binding Constants in Cyclodextrin Systems: Complexation of  $\alpha$ -CD with Symetric 1,4-Disubstituted Benzenes.** *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, (1984), 7607.
- 235.- Buvári A. and Barcza L., **The Effect of Hydrogen Bonds on the Inclusion Complex Formation of  $\beta$ -CD.** *Acta Chim. Hung.*, **126**, (1989), 455.
- 236.- Connors K.A., Mulski M.J. and Paulson A., **Solvent Effects on Chemical Processes. 2. Binding Constants of Methyl Orange with  $\alpha$ -CD in Binary Aqueous-Organic Solvents.** *J. Org. Chem.*, **57**, (1992), 1794.
- 237.- King G. and Barford R.A., **Calculations of Association Free Energies. Separation of Electrostatic and Hydrophobic Contributions.** *ACS Symp. Ser.*, **574**, (1994), 172.
- 238.- Orstan A. and Alexander Ross J.B., **Investigation of the  $\beta$ -CD-Indole Inclusion Compounds by Absorption and Fluorescence Spectroscopies.** *J. Phys. Chem.*, **91**, (1987), 2739.
- 239.- Schneider H.J., Kramer R., Simova S. and Schneider U., **Solvent and Salt Effects on Binding Constants of Organic Substrates in Macrocyclic Host Compounds. A General Equation Measuring Hydrophobic Binding Contribution.** *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, (1988), 6442.
- 240.- Ferguson S.B., Sandford E.M., Seward E.M. and Diederich F., **Cyclophane-Arene Inclusion Complexation in Protic Solvents: Solvent Effects versus Electron Donor-Acceptor Interactions.** *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, (1991), 5410.
- 241.- Solovov V.P., Strakhova N.N., Raevsky O.A., Rudiger V. and Schneider H.J., **Supramolecular Chemistry. 60. Solvent Effects on Crown Ether Complexations.** *J. Org. Chem.*, **6**, (1996), 5221.
- 242.- Sanemasa I., Osajima T. and Deguchi T., **Association of C5-C9 Normal Alkanes with Cyclodextrin in Aqueous Medium.** *Bull Chem Soc Jpn.*, **63**, (1990), 2814.
- 243.- Takuma T., Deguchi T. and Sanemasa I., **Association of Halobenzenes with Cyclodextrins in Aqueous Medium.** *Bull Chem Soc Jpn.*, **63**, (1990), 1246.
- 244.- Takuma T., Deguchi T. and Sanemasa I., **Association of Symmetrical p-Dihalobenzenes with Cyclodextrins in Aqueous Medium.** *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **64**, (1991), 480.
- 245.- Lichtenthaler F.W. and Immel S., **Towards Understanding Formation and Stability of Cyclodextrin Inclusion Complexes: Computation and Visualization of their Molecular Lipophilicity Patterns.** *Starch-Starke*, **48**, (1996), 145.
- 246.- Shepodd T.J., Petti M.A. and Dougherty D.A., **Molecular Recognition in Aqueous Media: Donor-Acceptor and Ion-Dipole Interactions Produce Tight Binding for Highly Soluble Guest.** *J. Am. Chem. Soc.*, **110**, (1988), 1983.
- 247.- Diederich F., Smithrud D.B., Sandford E.M., Wyman T.B., Ferguson S.B., Carcanague D.R., Chao I. and Houk K.N., **Solvent Effects in Molecular Recognition.** *Acta Chem Scan.*, **46**, (1992), 205.
- 248.- Rudiger V., Eliseev A., Simova S., Schneider H.J., Blandamer M.J., Cullis P.M. and Meyer A.J., **Conformational, Calorimetric and NMR Spectroscopic Studies on Inclusion Complexes of Cyclodextrins with Substituted Phenyl and Adamantane Derivatives.** *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2*, (1996), 2119.
- 249.- Rekharsky M.V., Mayhew M.P., Goldberg R.N., Yamashoji Y. and Inoue Y., **Thermodynamic and Nuclear Magnetic Resonance Study of the Reactions of Alpha- and Beta-cyclodextrin with Acids, Aliphatics Amines, and Cyclic Alcohols.** *J. Phys. Chem.*, **101**, (1997), 87.
- 250.- Wong A.B., Ling S.F. and Connors K.A., **Stability Constants for Complex Formation between  $\alpha$ -CD and some Amines.** *J. Pharm. Sci.*, **72**, (1983), 388.
- 251.- (a) Ramírez López J., Cerezo-Galán A. and Rodríguez Galán I.C., **Aspectos Cinéticos de Complejos de Inclusión con Cyclodextrinas.** *Cienc. e Ind. Farm.*, **6**, (1987), 325. (b) Mueller B.W. and Albers E., **Complexation of Dihydropyridine Derivatives with Cyclodextrins and 2-Hydroxypropyl- $\beta$ -Cyclodextrin in Solution.** *Int. J. Pharm.*, **79**, (1992), 273.

- 252.- Connors K.A., **Binding Constants. The Measurements of Molecular Complex Stability.** Wiley, New York, 1987.
- 253.- (a) Breslow R., Bory P. and Hersh C.L., **Reversing the Selectivity of Cyclodextrin Bisimidazole Ribonuclease Mimics by Changing the Catalyst Geometry.** *J. Am. Chem. Soc.* **102**, (1980), 2115. (b) Bettinetti G., Melani F., Mura P., Monnanni R. and Giordano F., **Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Study of Naproxen Interaction with Cyclodextrins in Solution.** *J. Pharm. Sci.*, **80**, (1991), 1162.
- 254.- (a) Lehmann J., Kleinpeter E. and Krechl J., **<sup>1</sup>H NMR Spectroscopy as a Probe of Intermolecular Interactions in  $\beta$ -CD Inclusion Compound.** *J. Incl. Phenom. Molec. Recogn. Chem.*, **10**, (1991), 233. (b) Gelb R.I., Schwartz L.M., Johnson R.F. and Laufer D.A., **The Complexation Chemistry of Cyclohexaamylose with Formic, Acetic, and Benzoic Acids and their Conjugate Bases.** *J. Am. Chem. Soc.*, **101**, (1979), 1869. (c) Djedaini F., Lin S.Z., Perty B. and Wouessidjewe D., **High-Field NMR Techniques for the Investigation of a  $\beta$ -Cyclodextrin Indomethacin Inclusion Complexes.** *J. Pharm. Sci.*, **79**, (1990), 643. (d) Jaime C., Redondo J., Sanchez-Ferrando F. and Virgili A., **Solution Geometry of  $\beta$ -CD-1-Bromoadamantane Host-Guest Complex as Determined by <sup>1</sup>H NMR Intermolecular NOE and MM2 Calculations.** *J. Org. Chem.*, **55**, (1990), 4773.
- 255.- (a) Sheppard S.E. and Geddes A.L., **Effect of Solvents upon the Absorption Spectra of Dyes. IV. Water as Solvent: A Common Pattern.** *J. Am. Chem. Soc.*, **66**, (1944), 1995. (b) Stork W.H.J., Lippits G.J.M. and Mandel M., **Association of Crystal Violet in Aqueous Solutions.** *J. Phys. Chem.*, **76**, (1972), 1772.
- 256.- (a) Yariv S., Ghosh D.K., and Hepler L.G.J., **Metachromasy in Clay Mineral Systems: Adsorption of Cationic Dyes Crystal Violet and Ethyl Violet by Kaolinite from Aqueous and Organic Solutions.** *J. Chem. Soc. Faraday Trans.* **87**, (1991), 1201. (b) Green M.D., Patonay G., Ndou T., and Warner I.M., **Spectroscopic Effects of Organized Media on a Cyanine Dye/Phenanthrene Derivative.** *Appl. Spectroscopy*, **46**, (1992), 1724. (c) Lueck H.B., McHale J.L., and Edwards W.D., **Symmetry-Breaking Solvent Effects on the Electronic Structure and Spectra of a Series of Triphenylmethane Dyes.** *J. Am. Chem. Soc.*, **114**, (1992), 2342
- 257.- Schubert M. and Levine A., **A Qualitative Theory of Metachromasy in Solution.** *J. Am. Chem. Soc.* **77**, (1955), 4197.
- 258.- Cohen M.D. and Fischer E., **Isosbestic Points.** *J. Chem. Soc.*, (1962), 3044.
- 259.- Higuchi T. and Connors K.A., **Phase Solubility Techniques.** *Adv. Anal. Chem. Instr.*, **4**, (1965), 117. (C.A.:6292h, Vol. 63, 1965)
- 260.- Barcza L. and Buvári-Barcza A., **Complex Formation of Cyclomalto-Octaose with Tetrabromophenolphthalein and some Related Compounds.** *Carbohydr. Res.*, **192**, (1989), 103.
- 261.- Lueck H.B., Rice B.L., and McHale J.L., **Aggregation of Triphenylmethane Dyes in Aqueous Solution: Dimerization and Trimerization of Crystal Violet and Ethyl Violet.** *Spectrochim. Acta*, **48A**, (1992), 819.
- 262.- Reichardt C. **Solvents and Solvent Effects in Organic Chemistry**, VCH, Weinheim, Germany, (1990).
- 263.- (a) Gelb R.I., Schwarz L.M., Radeos M., Edmonds R.B. and Laufer D.A., **Cyclohexaamylose Complexation with Organic Solvent Molecules.** *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, (1982), 6283. (b) Tee O.S., Mazza C., Lozano-Hemmer R. and Giorgi J.B., **Ester Cleavage by Cyclodextrins in Aqueous/DMSO mixtures. Substrate Binding versus Transition State Binding.** *J. Org. Chem.*, **59**, (1994), 7602.
- 264.- Glasstone S., **Termodinámica para Químicos**, 5ª Ed., Aguilar S.A., Madrid, (1978).
- 265.- (a) Yorozu T., Hoshino M. and Imamura M., **Fluorescence Studies of Pyrene Inclusion Complexes with  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and  $\gamma$ -Cyclodextrins in Aqueous Solutions. Evidence for Formation of Pyrene Dimer in  $\gamma$ -Cyclodextrin Cavity.** *J. Phys. Chem.*, **86**, (1982), 4426. (b) Brown S.E., Coates J.H., Easton C.J., Lincoln S.F., Luo Y. and Stephens A.K.W., **Cyclodextrin Inclusion Complexes of Two Non-Steroidal Antiinflammatory Drugs and of an Analgesic Drug.** *Aust. J. Chem.*, **44**, (1991), 855. (c) Hamai S., **Inclusion Complexes of  $\gamma$ -CD with Coronene in**

- Aqueous Methanol.** *J. Inc. Phenom. Molec. Recog. Chem.*, **11**, (1991), 55. (d). Husain N., Ndou T.T., Muñoz de la Peña A. and Warner I.M., **Complexation of Doxorubicin with  $\beta$  and  $\gamma$  Cyclodextrins.** *App. Spectrosc.*, **46**, (1992), 652.
- 266.- Benesi H.A. and Hildebrand J.H., **A Spectrophotometric Investigation of the Interaction of Iodine with Aromatic Hydrocarbons.** *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, (1949), 2703.
- 267.- (a). Jaime C., Redondo J., Sánchez-Ferrando F. and Virgili A.,  **$\beta$ -Cyclodextrin Inclusion Complex with Adamantane. Intermolecular  $^1\text{H}$  NOE Determinations and Molecular Mechanism Calculations.** *J. Molec. Structure*, **248**, (1991), 317. (b). Ivanov P.M., Salvatierra D. and Jaime C., **Experimental (NMR) and Computational (MD) Studies on the Inclusion Complexes of 1-Bromoadamantane with  $\alpha$ -,  $\beta$ -, and  $\gamma$ -Cyclodextrins.** *J. Org. Chem.*, **61**, (1996), 7012.
- 268.- Cignitti M., Soccorsi L., Cotta-Ramusino M. and Pagnozzi G., **On the Electronic Absorption Spectra of Mebendazole in Various Solvents.** *Gazzetta Chimica Italiana*, (1991), 121.
- 269.- Suzuki M., Takai H., Tanaka K., Narita K., Fujiwara H. and Ohmori H., **Visible and C-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectra of Azo Dyes and their Complexes with Cyclomalto-oligosaccharides.** *Carbohydr. Res.*, **288**, (1996), 75.
- 270.- (a). Dyllick-Brenzinger R. and Roberts J.D., **Chiral Recognition by  $^{15}\text{H}$  NMR Spectroscopy, 8-Benzyl-5, 6, 7, 8-Tetrahydroquinoline.** *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, (1980), 1166. (b). Kano K., Takenoshita Y. and Ogawa T., **Fluorescence Quenching of Pyrene and Naphtalene in Aqueous Cyclodextrin Solutions. Evidence of Three-Component Complex Formation.** *J. Phys. Chem.*, **86**, (1982), 1833. (c). González-Blanco C., Moro M.E., Velazquez M.M. and Rodriguez L.J., **Binding of Dibenzepin to Cyclodextrins and Anionic Surfactants in Aqueous Solution.** *Il Farmaco*, **47**, (1992), 623.
- 271.- Redondo J., Frigola J., Torrens A. and Lupón P.,  **$^1\text{H}$  NMR Chiral Analysis of Benzhidrylamine Derivatives Using  $\beta$ -CD. Solution Geometry of Host-Guest Complexes as Determined by  $^1\text{D}$  NOE and ROESY Experiments.** *Mag. Res. Chem.*, **33**, (1995), 104.
- 272.- Tawarah K.M., **A Thermodynamic Study of the Inclusion Processes of  $\alpha$  and  $\beta$  Cyclodextrins with the Acid Forms of Methyl Orange and Methyl Yellow.** *J. Incl. Phenom. Molec. Recog. Chem.*, **14**, (1992), 195.
- 273.- Turro N.J., Okubo T. and Chung C., **Inclusional Association of a Fluorescence Detergent with Cyclodextrins. Microscopic Environment of the Interior of  $\alpha$ -CD. Pressure effects.** *J. Am. Chem. Soc.*, **104**, (1982), 3954.
- 274.- Deranleau D.A., **Theory of the Measurement of Weak Molecular Complexes. Consequences of Multiple Equilibria.** *J. Am. Chem. Soc.*, **91**, (1969), 4050.
- 275.- Moriguchi Y., Sakata K., Kobiro K. and Tobe Y., **Acid Dissociation Behavior of 2,3- and 2, 3, 9, 10-methyl- or Cyclohexyl-Substituted Cyclams, their Complexation Behavior with Copper(II) and the Axial Solvent Interaction Effect on the Ligand-Field Spectrum of their Complexes.** *J. Coord. Chem.*, **42**, (1997), 143.
- 276.- Schuette J.M., Ndou T., Muñoz de la Peña A., Greene K.L., Willianson C.K. and Warner I.M., **Characterization of the  $\beta$ -CD/Acridine Complex.** *J. Phys. Chem.*, **95**, (1991), 4897.
- 277.- VanHelden S.P., Van Drooge M.J., Claessens A.J., Jansen A.C.A. and Janssen L.H.M., **A Molecular Modelling Study of the Distorsion of  $\alpha$ -CD in Complexes with Guest Molecules.** *Carbohydr. Res.*, **215**, (1991), 251.
- 278.- (a). Qian X.Q., Han B.X., Liu Y., Yan H.K. and Liu R.L., **Vapor Pressure of Dimethyl Sulphoxide and Water Binary System.** *J. Solut. Chem.*, **24**, (1995), 1183. (b). Meade M., Waghorne W.E. and Symons M.C.R., **Spectroscopic Study of the Solvation of Dimethyl Sulfoxide in Aqueous Acetonitrile and Acetone Solvent Systems.** *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **92**, (1996), 4395. (c). Westh P. and Koga Y., **Intermolecular Interactions in 2-butoxyethanol-DMSO- $\text{H}_2\text{O}$ .** *J. Phys. Chem.*, **100**, (1996), 433. (d). Soper A.K., **Neutron Scattering Studies of Solvent Structure in System of Chemical and Biological Importance.** *Faraday Discuss.*, (1996), 41. (e). Danilov V.I., Zheltovsky N.V., Slyusarchuk O.N., Poltev V.I. and Alderfer J.L., **The Study of the Stability of Watson-Crick Nucleic Acid Base Pairs in**

- Water and Dimethyl Sulphoxide: Computer Simulation by the Monte Carlo Method.** *J. Biomolec. Struct. Dynamics.*, **15**, (1997), 69.
- 279.- Rekharsky M.V., Schwarz F.P., Tewari Y.B. and Goldberg R.N. **A Thermodynamic Study of the Reactions of Cyclodextrins with Primary and Secondary Aliphatic Alcohols with D and L-Phenyl Alanine and L-Phenyl Alanineamine.** *J. Phys. Chem.*, **98**, (1994), 10282.
- 280.- (a) Kano K., Ishimura T. and Negi S., **Mechanism for Binding to the Flexible Cavity of Permethylated Alpha-cyclodextrin.** *J. Incl. Phenom. Molec. Recog. Chem.*, **22**, (1995), 285.  
(b) Kano K., Kato Y. and Kodera M., **Mechanism for Chiral Recognition of Binaphthyl Derivatives by Cyclodextrins.** *J. Chem. Soc. Perkin Trans.2*, (1996), 1211.
- 281.- French D., Levine M.L., Pazur J.H., and Norberg E., **Studies on the Schardinger Dextrins. The Preparation and Solubility Characteristics of Alpha, Beta, and Gamma Dextrins.** *J. Am. Chem. Soc.*, **71**, (1949), 353.



## 10. Anexo 1

Artículos obtenidos a partir de esta tesis aceptados para publicación:

**1.- “Solubility,  $^1\text{H}$  NMR and Molecular Mechanics of Mebendazole with Different Cyclodextrins”.**

Ma. Josefa Bernad Bernad, Jesús Gracia-Mora, Carolina Marta Escobar Llanos, and David Díaz

Drug Development and Industrial Pharmacy, aceptado para publicación el 27 de Noviembre de 1997.

**2.- “Complexation and Solubility Behavior of the Albendazole with some Cyclodextrins”**

Ma. Josefa Bernad Bernad, Jesús Gracia-Mora, Carolina Marta Escobar Llanos, and David Díaz.

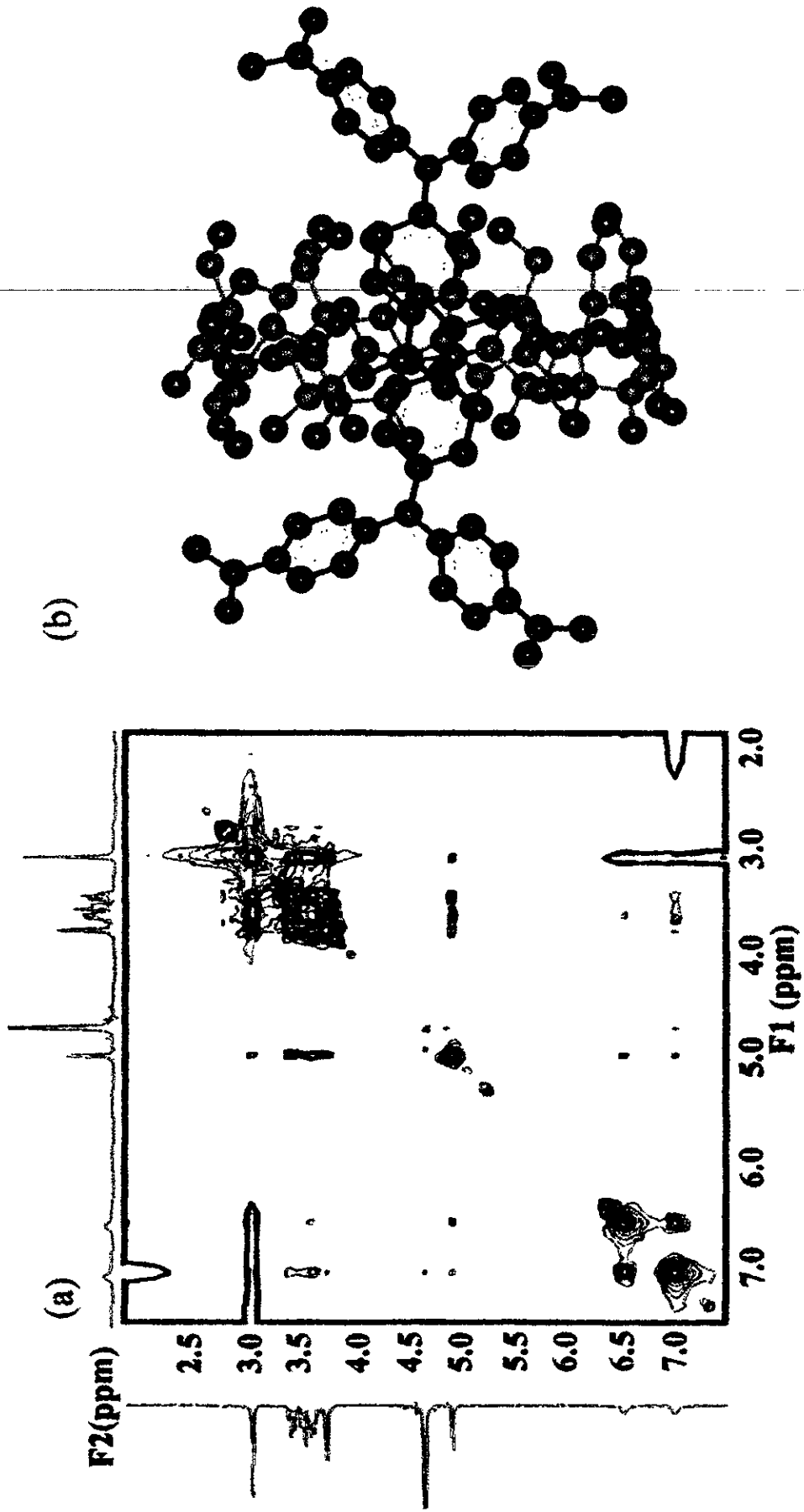
Pharmaceutical Development and Technology, aceptado para publicación el 9 de Diciembre de 1997.

**3.-“Molecular Interactions and Thermodynamic Aspects of the Complexation Reaction between Gentian Violet and Several Cyclodextrins”.**

M.J. Bernad, J. Gracia-Mora, D. Díaz, and G. Mendoza-Díaz.

J. Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, aceptado con correcciones el 5 de Mayo de 1998.





Ampliación de la Figura 11.