

38



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
 DE MEXICO
 FACULTAD DE QUÍMICA

ACCIÓN DE ANÁLOGOS ANTIPARASITARIOS
 BENZIMIDAZÓLICOS (FENBENDAZOL) CONTRA LA
 INFECCIÓN POR *Trichinella spiralis* (PARÁSITO
 EXTRAINTestinal) E *Hymenolepis nana* (PARÁSITO
 INTRAlNTESTINAL): PRUEBAS "IN VIVO"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
 QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A :

CLAUDIA FÁTIMA FARFÁN FLORES

MÉXICO, D.F.

2001

296646



DIRECTOR DE PROFESORADO
 FACULTAD DE QUÍMICA



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO

Presidente Prof: ABEL GUTIERREZ RAMOS
Vocal: Profra: ELIA BROSILA NARANJO RODRÍGUEZ
Secretario: Profr: CARLOS PEREZ MUÑOZ
1er. Suplente: Profr: HECTOR ANTONIO PONCE MONTER
2º. Suplente: Profra: LIZ JANNET MEDINA REYES

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio 1/E. Sección de Farmacología. Departamento de Farmacia. Facultad de Química UNAM.

Asesor del tema:


Dra. Elia Brosila Naranjo Rodríguez

Supervisor Técnico:


Dr. Eduardo Cortés Cortés

Sustentante:


Claudia Fátima Farfán Flores

En la presente tesis se utilizaron los compuestos sintetizados en el área de Investigación de Síntesis Orgánica Heterocíclica y Espectrometría de Masas del Instituto de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México, por el Dr. En Química Orgánica. Eduardo Cortés Cortés y la Dra. En Ciencias Biomédicas Elia Brosla Naranjo Rodríguez en el laboratorio de Farmacología de la Facultad de Químicas de la UNAM, para las pruebas de actividad biológica.

AGRADECIMIENTOS

GRACIAS:

A DIOS:

Por esta vida, todos los momentos que he pasado a lo largo de ella y por no alejarme de su lado.

A MIS PADRES:

Trino y Chave por ser mi aliento a seguir adelante, por apoyarme incondicionalmente y ser mis guías a lo largo de mi vida. Los Quiero Mucho.

A MIS HERMANOS:

Alex y Roy por estar conmigo en las buenas y en las malas y ser parte de mi vida.

A MIS TIOS:

Que con su apoyo y sus consejos han hecho que culmine una etapa más de mi vida, en especial a la tia Ceci por estar con nosotros siempre.

A MIS ABUELOS:

Monchis, Rafael, Mary y Magos que aunque algunos ya no están conmigo, contribuyeron para ser lo que ahora soy.

A TODA MI FAMILIA:

Por tolerarme y apoyarme, por sus consejos y por compartir conmigo muchos momentos.

GRACIAS:

A MIS COMPAÑEROS DE CARRERA:

Que estuvieron conmigo a lo largo de la carrera
compartiendo los momentos pesados y alegres
que se viven en esta Facultad

A MIS COMPAÑEROS DEL LABORATORIO 1-E

Luz Ma, Selene, Sandra, Martín, Alfredo, Isabel
Katía, Mariana, Alez y Ruth. por los momentos
agradables y por toda la ayuda que me brindaron.

A MIS MUCHACHOS DEL SONIDO XHEZ:

Erick, Quique, Mayito, Micky, Tavo, Cuachis, Paco, Roy,
Alex y Trino, por ser como son y por hacer de mis fines
de semana momentos agradables y felices, así como por los
consejos recibido en todos los momentos de mi vida.

A MI SEGUNDA FAMILIA:

Sra. Estela, Sr. Ricardo, Familia Ballinas López
por el apoyo brindado a lo largo de mi carrera y
por mi estancia en el Distrito, Gracias.

GRACIAS:

A LA Dra. ELIA:

Por su paciencia, apoyo y consejos a lo largo de mi estancia en el laboratorio.

AL Dr. CORTÉS:

Por su ayuda para lograr la realización de este trabajo.

AL Dr. ATONATIU:

Por sus consejos y ratos agradables, por compartir conmigo sus conocimientos y sus ratones.

AL Dr. MARCO:

Por su ayuda y paciencia que me brindó en la realización de este trabajo.

AL PERSONAL DE ICSA Pachuca:

Por todo el apoyo y las facilidades que me brindaron.

A todos los profesores que imparten clases en la Facultad de Química, por que sin ellos esta Facultad no sería la misma.

ÍNDICE

INDICE GENERAL.....	i
LISTA DE ABREVIATURAS.....	iv
I.- INTRODUCCIÓN.....	1
II.- ANTECEDENTES	4
II.1.- <i>Trichinella spiralis</i>	5
II.2.- <i>Hymenolepis nana</i>	13
II.3.- Fármacos antihelmínticos	21
II.4.- Mebendazol	23
II.5.- Albendazol	26
II.6.- Fenbendazol	29
II.7.- Tiabendazol	31
III.- JUSTIFICACIÓN	34
IV.- OBJETIVOS	36
IV.1.- Objetivo General	37
IV.2.- Objetivos Particulares	37
V.- HIPÓTESIS.....	38
VI.- MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS	40
VII.- METODOLOGÍA Y DIAGRAMAS	45
VII.1.- Pruebas de solubilidad de compuestos	46

VII.2.- Pruebas de Toxicidad de disolventes	47
VII.3.- Prueba de bioensayo para <i>Artemia salina</i>	49
VII.4.- Infección a ratones con <i>Trichinella spiralis</i>	51
VII.5.- Digestión de tejido muscular de ratones y conteo de larvas de <i>Trichinella spiralis</i> para infección general.....	53
VII.6.- Infección general a ratones con <i>Trichinella spiralis</i>	56
VII.7.- Tratamiento a ratones infectados con <i>Trichinella spiralis</i>	57
VII.8.- Digestión del tejido muscular de ratones y conteo final de larvas de <i>Trichinella spiralis</i>	58
VII.9.- Infección a ratones con <i>Hymenolepis nana</i>	59
VII.10.- Tratamiento a ratones infectados con <i>Hymenolepis nana</i>	60
VII.11.- Conteo final de <i>Hymenolepis nana</i>	61
VIII.- RESULTADOS	62
VIII.1.- Pruebas de solubilidad de compuestos	63
VIII.2.- Pruebas de Toxicidad de disolventes	64
VIII.3.- Prueba bioensayo para <i>Artemia salina</i>	64
VIII.4.- Digestión del tejido muscular de ratones y conteo de larvas de <i>Trichinella spiralis</i> para infección general.....	70
VIII.5.- Registro de lotes de ratones y tratamientos empleados en el proyecto ·	71
VIII.6.- Evaluación de lotes de ratones empleados como controles negativos	73
VIII.7.- Digestión del tejido muscular de ratones infectados con <i>Trichinella spiralis</i> y conteo final de larvas	76
VIII.8.- Conteo final de <i>Hymenolepis nana</i>	82

IX.- ANÁLISIS DE RESULTADOS	87
X.- CONCLUSIONES	95
XI.- BIBLIOGRAFÍA	98
XII.- ANEXOS	103
XII 1.- Anexo 1 “Propiedades de los vehículos “.....	104
XII 2.- Anexo 2 “Claves, estructuras y características de los análogos benzimidazólicos”	105
XII 3.- Anexo 3 “Ruta general de síntesis de los compuestos análogos benzimidazólicos”	107
XII 4.- Anexo 4 “Patrón de fragmentación de los compuestos análogos benzimidazólicos”	109
XII 4.- Anexo 5 “Espectros de estudios de los compuestos análogos benzimidazólicos”	110

LISTA DE ABREVIATURAS

T. spiralis	<i>Trichinella spiralis</i>
H.nana	<i>Hymenolepis nana</i>
ATP	Trifosfato de Adenosina
Larvas/g	Larvas por gramo de músculo
W	Intensidad de luz (Watts)
rpm	Revoluciones por minuto
ppm	Partes por millón
Ctrl (+)	Control positivo
Ctrl (-)	Control negativo
CL50	Concentración Letal 50
DL50	Dosis Letal 50
IP	Intraperitoneal
ES	Extremidad superior
EI	Extremidad inferior
CPS	Coproparasitoscópico

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades parasitarias helmínticas producen daños severos, generalmente en los países con poco desarrollo socioeconómico, éstas se presentan por falta de cultura médica, condiciones climáticas y sanitarias deficientes, afectando principalmente a niños, en esta población en la República Mexicana las parasitosis helmínticas con más alto porcentaje son ascariasis, enterobiasis, himenolepiasis y teniasis, entre otras. De estas infecciones los parásitos se alojan dentro del intestino y desarrollan la infección y otros se alojan fuera del intestino para desarrollarla, la mayoría de las parasitosis son transmitidas a través de los huevecillos en la tierra, defecación al aire libre, agua contaminada, verduras regadas con aguas negras o mal lavadas, carnes crudas o mal cocidas y animales domésticos parasitados. Este tipo de infecciones produce en el humano síntomas como náuseas, vómito, dolor abdominal y diarrea, los cuales pueden incrementarse o variar dependiendo del tipo de parásito y de la magnitud de la infección. Para el tratamiento de estas enfermedades existe en el mercado una gran lista de medicamentos de uso antiparasitario de los cuales las sustancias activas más comunes con la propiedad antiparasitaria son el Albendazol (Zental, Vermin-plus, Vermilan), Mebendazol (Vermicol, Vermox), Tiabendazol (Mintezol), Fenbendazol (Axilur, Panacur, Safe Guard), Metronidazol. Químicamente la mayoría de estos fármacos son del grupo de los benzimidazoles, los cuales se absorben rápidamente por vía oral, se metabolizan por el hígado y son eliminados por la orina principalmente, sus reacciones secundarias son leves , pero, presentan efectos teratogénicos y mutagénicos serios por lo cual están contraindicados en mujeres embarazadas y hembras preñadas. Su principal mecanismo de acción lo realizan inhibiendo la fumarato reductasa, una enzima clave en la producción de ATP en condiciones anaerobias, produciendo así la inhibición de los microtúbulos citoplásmicos de

las células tegumentarias e intestinales de los parásitos, agotando los depósitos de glucógeno, lo que disminuye la formación de ATP necesario para la supervivencia y la reproducción del parásito, por lo cual es necesario desarrollar nuevos medicamentos con los menores efectos adversos y con mejor o igual actividad farmacológica, por lo que nuestro objetivo principal es la realización de un estudio para evaluar el efecto antiparasitario de compuestos análogos de benzimidazoles y poder determinar su efectividad tomando como referencia los compuestos existentes en el mercado (32, 13,10).

II. ANTECEDENTES

La incidencia de enfermedades producidas por organismos helmintos es muy alta a nivel mundial y el estudio de los mismos ha presentado algunas limitantes, debido a que presentan características diferentes, algunos son de infección intrainestinal y algunos lo son de infección extraintestinal por lo cual solo se puede coincidir en que la infección proviene del consumo de larvas o huevecillos por el humano o el animal, debido a diversos factores, esto se presenta comúnmente en niños de poblaciones de bajo nivel socioeconómico y que habitan en un territorio con un clima cálido o templado el cual es propicio para la procreación de los parásitos. En este caso se tomarán dos tipos de parásitos que presentan características de infección diferente ya que uno se instala en músculo tal es el caso de *Trichinella spiralis* que produce triquinosis y otro en el intestino para establecer su infección tal es el caso de *Hymenolepis nana* que produce himenolepiasis(32).

II.1 *Trichinella spiralis*

Trichinella spiralis, es un helminto de localización extraintestinal que excreta formas vivas parásitas por vía digestiva y tienen como hábitat definitivo el músculo esquelético (28).

CLASIFICACIÓN (21).

Phyllum :	Aschelminthes.
Sinónimo:	Trichina spiralis.
Clase:	Nemátoda.
Superfamilia:	Trichinelloidea.
Género y Especie:	<i>Trichinella spiralis</i> .

La triquinosis es una parasitosis producida por *Trichinella spiralis*, es un padecimiento transmitido por alimentos contaminados por larvas de *Trichinella spiralis*, la principal fuente de infección es el tejido muscular de algunos mamíferos. *Trichinella spiralis* es un protozoo que puede tener muchos hospederos como roedores de campo, zorros, ratas, perros, gatos, cobayos, cerdos, cualquier carnívoro y omnívoro siendo el más importante como fuente de infección el cerdo por la cercanía con el humano y porque el consumo de su carne es más frecuente por el hombre (17, 18).

La morfología de *Trichinella spiralis* es variada, el macho tiene de 1.2 a 1.4 mm. de longitud por 40 a 60 micras de diámetro, es más delicado en la parte anterior que en la posterior y presenta una boca pequeña, orbicular, sin papilas, presenta también una curvatura ventral y dos apéndices caudales lobulares, su periodo de vida es de una semana, la hembra presenta 2 mm. de longitud por 150 micras de grosor, presenta un solo ovario con vulva en la quinta parte anterior ventral y un extremo posterior romo, redondeado y su periodo de vida es de 4 a 6 semanas; en la larva de *Trichinella spiralis* sus dimensiones son 100 por 6 micras de diámetro enquistadas al nacer, tienen una cápsula elíptica de 400 por 250 micras con la larva enroscada de 1 mm de longitud, también presenta una punta lanceolar en su extremidad anterior y tiene la habilidad de crecer poco hasta que penetra en una fibra muscular donde alcanza el tamaño de un adulto, su periodo de vida es de hasta 2 años. Figura No.1 (14, 17, 18).

El ciclo vital del parásito comienza cuando el hombre ingiere carne cruda o poco cocida infectada con quistes de *Trichinella spiralis*, éstos quedan libres en el estómago y unas horas después de salidas las larvas de los quistes en el duodeno, invaden la mucosa duodenal y yeyunal, aquí se desarrollan y al cabo de 3-5 días se convierten en

gusanos diminutos y filiformes adultos (machos y hembras); al principio los gusanos adultos pueden alojarse en las criptas glandulares, después las hembras penetran en las vellosidades, en la estroma interglandular, en las capas profundas de la pared intestinal o aun en los ganglios linfáticos mesentéricos. Después de la fecundación, las hembras comienzan a depositar larvas, la mayoría de estas llegan a los linfáticos intestinales o a las vénulas mesentéricas y se distribuyen por todo el cuerpo. La postura de las larvas se realiza durante 4 semanas o más, es decir durante el tiempo de vida de las hembras (cada hembra deposita al menos 1500 larvas, aunque no todas llegan a convertirse en organismos encapsulados). Las larvas migran a las cavidades derechas del corazón y a los pulmones, de donde pasan después a la circulación arterial, donde se les encuentra entre el 9º y el 20º día. Pueden alojarse en diversos tejidos, incluso en el miocardio, en el encéfalo, en el líquido cefalorraquídeo y en las cavidades corporales, donde vuelven a penetrar en el torrente circulatorio y por último en los músculos estriados, donde se enquistan. Figura No.2 (8, 14, 17, 18).

Existen 3 ciclos principales de mantenimiento del parásito: 1) de cerdo a cerdo, en zonas donde se acostumbran alimentarlos con desperdicios; 2) de rata a rata, con la presencia o ausencia de infección de cerdos; 3) selvática, mantenida por los animales carnívoros u omnívoros salvajes.

FIGURA No.1: Representación esquemática de *Trichinella spiralis*: A) Hembra adulta; B) Macho adulto; C, D, E) Extremos anterior y posterior del macho y la hembra; F) Larva joven; G) Larva en el músculo (17).

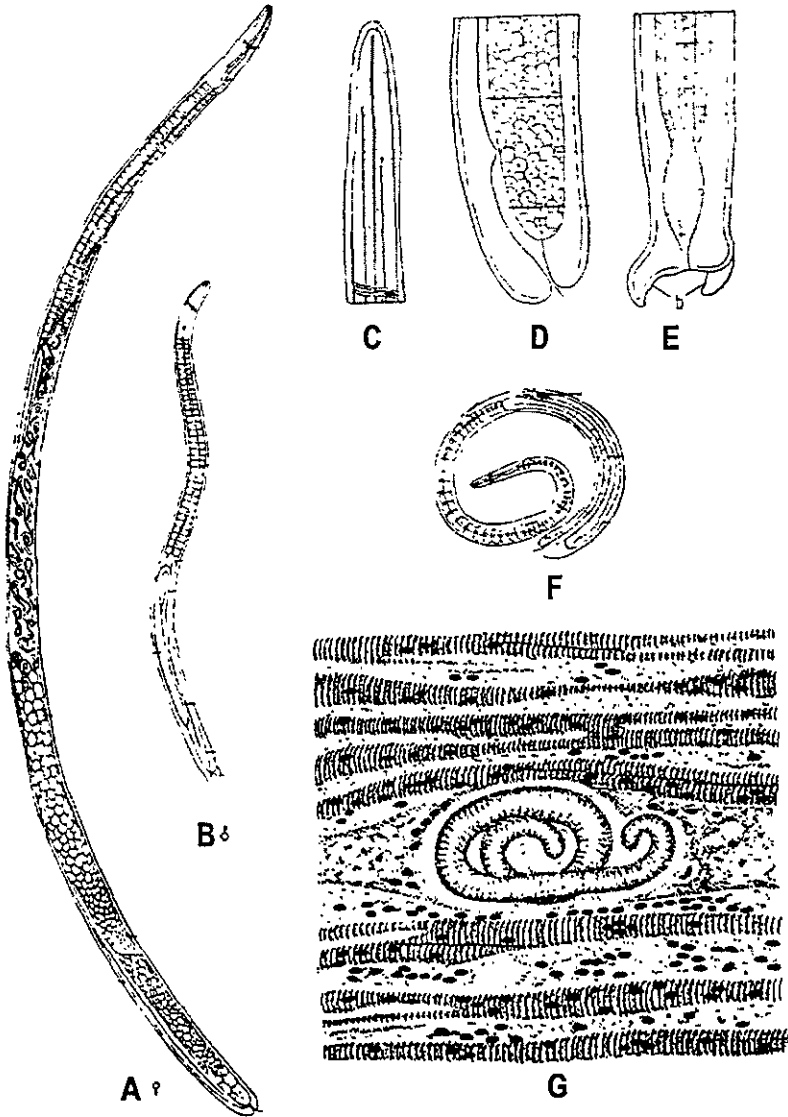
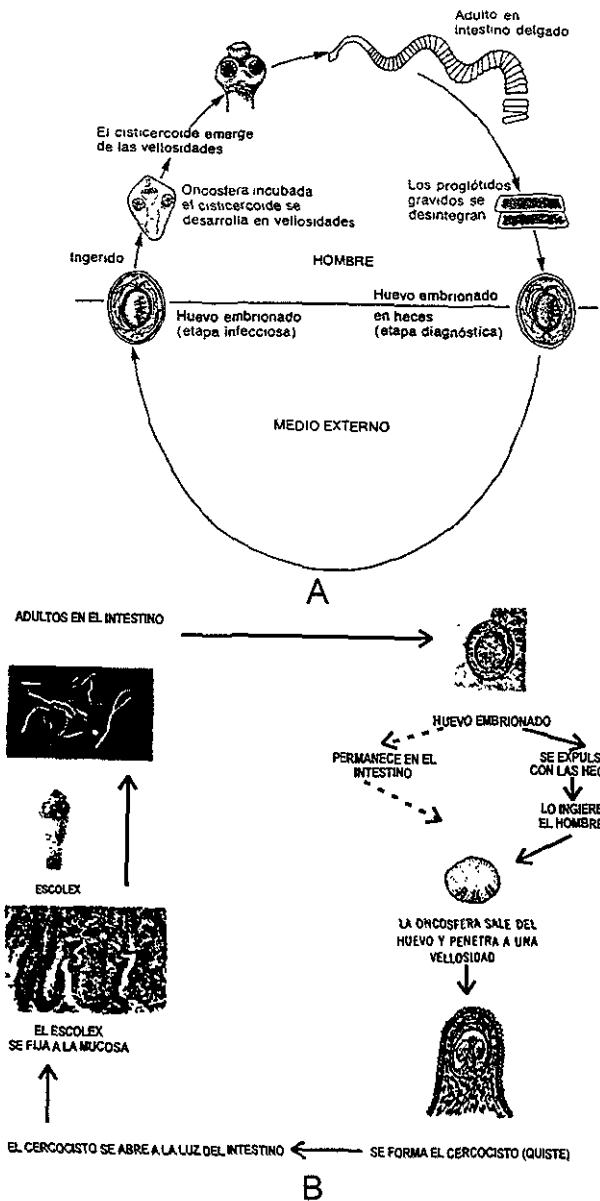


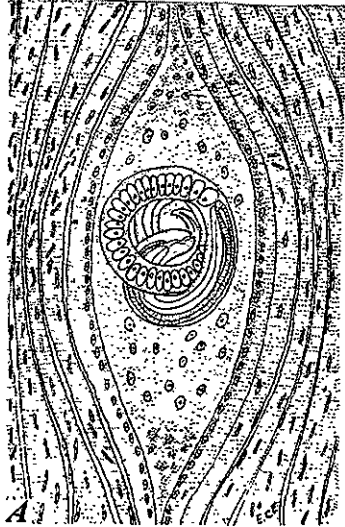
FIGURA No.2: A) Representación esquemática del ciclo biológico de *Trichinella spiralis*; B) Diagrama de metodología de exposición a triquinosis (8,17,15).



La mayor parte de las larvas se encuentran en los músculos pobres en glucógeno y emplean el metabolismo de los lípidos para generar energía para su motilidad.

La cápsula es una vaina elipsoidal adventicia de extremos romos, resultante de la infiltración de células redondas y eosinófilas alrededor de las larvas estrechamente enrolladas. El eje longitudinal del quiste es paralelo al de las fibras musculares, los músculos que se encuentran más infectados son el diafragma, los de la laringe y la lengua, los intercostales y los del abdomen, los bíceps, los pectorales, los gemelos y otros que están en constante actividad, lo que origina un cuadro clínico de modo que el individuo en las siguientes 24 a 48 horas después de haber ingerido la carne contaminada presenta un cuadro caracterizado por vómito, diarrea, malestar intestinal, ataque al estado general el cual desaparece en forma espontánea en unas horas. La larva crece dentro de la cápsula hasta alcanzar de 0.8 a 1 mm de longitud, lo que origina degeneración o tumefacción de las fibras musculares adyacentes, engrosamiento y alteraciones del sarcolema, con hipertrofia e hiperplasia, fragmentación de las fibras y depósito de la membrana capsular interna. En el mecanismo de invasión del tejido, el daño se produce con un mecanismo de defensa que presenta un proceso inflamatorio intenso como respuesta al paso de la larva, el cual es directamente proporcional al número de larvas que se distribuyen. Figura No.3 (14, 15, 17, 18)

FIGURA No.3: A) Quiste joven de 3 semanas en músculo; B) Quiste maduro, viable.
(15)



B

El grado de reacción del huésped se refleja en la intensidad de la eosinofilia que se produce. La sintomatología se divide en tres periodos sucesivos: 1) invasión (incubación); 2) migración de las larvas y 3) enquistamiento y reparación de los tejidos (17). En el periodo de invasión su duración es de 5 días, hay irritación e inflamación del epitelio del duodeno y yeyuno, se presentan síntomas como náuseas, vómito, diarrea, dolor abdominal y cefalea este cuadro se presenta a las 24 horas de la infección y puede durar hasta el siguiente periodo. Durante el periodo de postura y migración de las larvas se pueden presentar mialgias, se dificulta la respiración, masticación y deglución, parálisis espástica de los músculos, principalmente de las extremidades, los ganglios a veces son muy dolorosos a la palpación, la fiebre remanente, que se eleva hasta 40 - 41°C, eosinofilia elevada, leucocitosis, vértigo, convulsiones, irritabilidad, bronquitis. En el periodo de enquistamiento, puede haber caquexia, edema tóxico o deshidratación extrema, alucinaciones, delirio, encefalitis, debilidad muscular y pérdida de peso. En la profilaxis, el ahumado, salado y secado de la carne no son medidas efectivas contra la *Trichinella spiralis*, la congelación a -15 °C resulta un buen tratamiento para la carne de cerdo, además de una alimentación adecuada de los animales, control de ratas en zonas urbanas, manejo adecuado de la carne en los rastros, inspección sanitaria y cocción de la carne antes del consumo humano (17). Para el tratamiento pueden emplearse medicamentos derivados de los benzimidazoles, aunque no se han establecido tratamiento específico se emplea la piperazina para la fase intestinal, EL TIABENDAZOL, MEBENDAZOL Y ALBENDAZOL para la fase tisular, y antiinflamatorios acompañados de esteroides en la fase complementaria (18)

II.2 *Hymenolepis nana*

Hymenolepis nana es un gusano parásito de la clase céstoda que se encuentra prácticamente en todo el mundo, prevaleciendo en climas cálidos, habita en las vías intestinales de vertebrados, es una enfermedad muy común en niños pero es muy rara en adultos. (17)

CLASIFICACIÓN (21)

Phyllum:	Platyhelminthes (gusanos planos)
Clase:	Cestoidea (céstodos o gusanos acintados, exclusivamente parásitos)
Subclase:	Céstoda
Orden:	Cyclophyllidea
Familia:	Hymenolepididae
Género y especie:	<i>Hymenolepis nana</i> (Tenia nana)

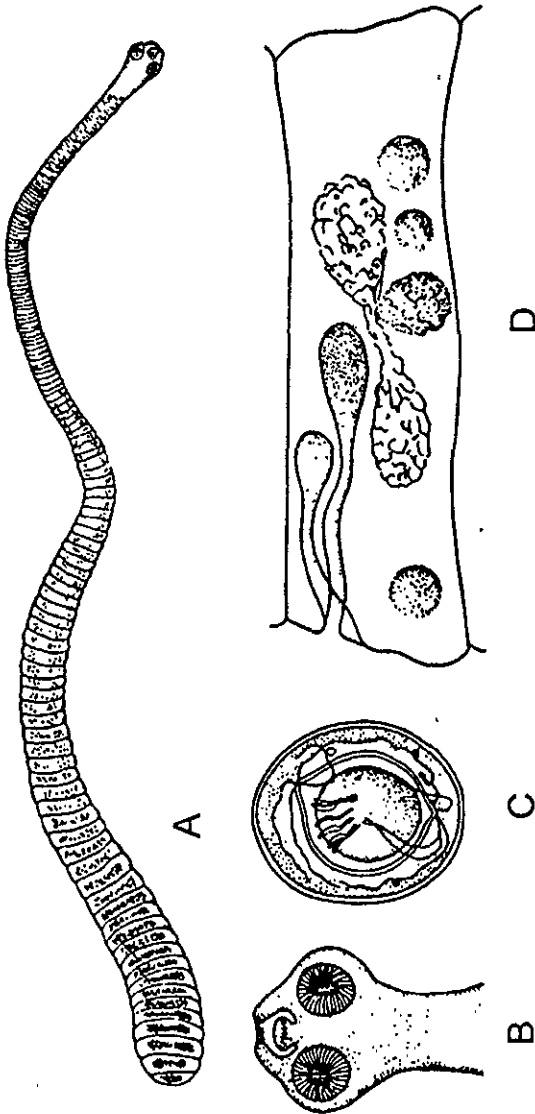
Hymenolepis diminuta (Tenia de la rata)

En México la helmintiasis se presenta con una frecuencia del 27% en niños debido a que es transmitida por fecalismo, la forma infectante es la ingestión del huevo de *Hymenolepis nana* excretado por la materia fecal y por contaminación fecal. En esta parasitosis el hombre funciona como huésped definitivo e intermediario. El hábitat de esta tenia es en el tercio superior del íleon. (18).

La morfología de *Hymenolepis nana* adulto, es un gusano alargado en forma de cinta aplanado en sentido dorsoventral, carece de vías digestivas y vasculares, y están divididos en segmentos o proglótides que no miden más de 0.3 mm de largo por 1 mm de ancho, que al madurar contienen órganos reproductores de ambos sexos. La extremidad

ancho, que al madurar contienen órganos reproductores de ambos sexos. La extremidad anterior está diferenciada como órganos de presión, el escolex globular pequeño (0.32 mm de diámetro), armado con 4 ventosas en forma de copa y rostelo con 20 a 40 ganchos o espinas para la fijación a la pared intestinal del huésped, un cuello largo y delgado cuya porción posterior es la zona de crecimiento seguido de las proglótides. La longitud varía de 25 a 40 mm de longitud por 1 mm de diámetro. Puede tener hasta 200 proglótides. Las proglótides trapezoides maduras son cuatro veces más anchas que largas, tienen un poro genital único, en el lado izquierdo, 3 testículos redondos y un ovario bilobulado. En las proglótides grávidas, el útero sacular contiene de 80 a 180 huevos. Los huevos que se liberan en el intestino al desintegrarse las proglótides son de forma oval o globular de 47 por 37 micras, tiene membranas que encierran al embrión, hexacanto u oncosfera, la cual presenta una envoltura interna. La membrana interna tiene dos engrosamientos polares, de cada uno de los cuales nacen 4 a 8 filamentos polares finos y 3 pares de ganchos. Figura No.4 (14, 15, 17, 18, 21).

FIGURA No.4: Representación esquemática de la morfología A) *Hymenolepis nana* adulta; B) escolex; C) Huevecillo; D) Proglótide madura (17).



Los huéspedes definitivos naturales son el hombre, los ratones y las ratas. La *Hymenolepis nana* emplea pulgas y escarabajos como huéspedes intermediarios y la infección del huésped definitivo es el resultado de la ingestión de éstos. La transmisión depende del contacto directo, ya que los huevecillos, poco resistentes, son sensibles al calor y a la desecación y no pueden sobrevivir fuera del huésped. Se transmiten directamente de mano a boca y con menos frecuencia por agua o alimento contaminado (17,18).

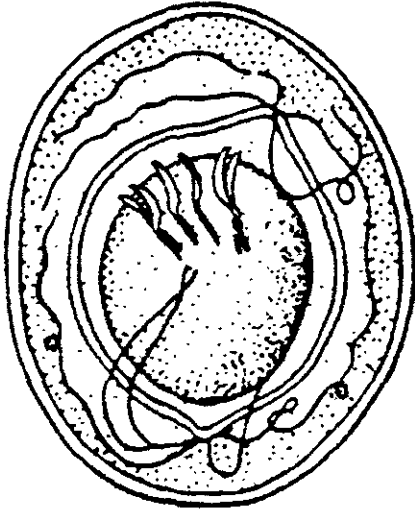
El ciclo biológico de la *Hymenolepis nana* puede ser de dos tipos, directo e indirecto, el directo no requiere de un huésped intermediario, el indirecto necesita o pasa por un huésped intermediario (21).

Para el ciclo biológico directo situamos a un adulto de *Hymenolepis nana* en el intestino delgado de un hombre, como consecuencia del metabolismo y de la vida del parásito, cuando están en condiciones adecuadas, los últimos segmentos o proglótides grávidos se desprenden de la cadena estrobilar quedando libres en la luz intestinal, estas proglótides se desintegran o destruyen quedando así libres los huevos que estaban en el interior del útero de esos segmentos, los huevos son arrastrados con el contenido intestinal y salen al medio externo con la materia fecal, los huevecillos son inactivos cuando salen en las heces, mediante contaminación con materia fecal un individuo ingiere los huevos, éstos descienden de la parte alta del tubo digestivo y en el intestino delgado la cubierta se rompe liberando al embrión, oncosfera o hexacanto, este embrión penetra en la vellosidad intestinal donde pierde sus ganchos y en cuatro días se transforman en forma larvaria que en esta etapa se denomina cisticercoide, ahí va madurando hasta que está en condiciones de convertirse en adulto, cuando esto ocurre salen de la vellosidad intestinal para fijarse con su escolex a la pared del intestino delgado convirtiéndose en verme estrobilado en 10 a 12 días

donde crecen hasta formar una cadena estrobilar, la cual ya estando totalmente formada, después de 30 días de la infección, aparecen huevecillos en las heces debido a que nuevamente se liberan proglótides grávidos cerrando de este modo el ciclo biológico. Libre el huevo en el intestino delgado puede eclosionar ahí mismo de tal forma que al eclosionar se puede liberar el embrión y penetrar éste la vellosidad intestinal, esto sucede sin que salga al medio ambiente, fenómeno que denominamos autoinfección interna, garantizando que un individuo pueda llegar a tener himenolepiasis masiva o severa. Figura No.5 (17, 18, 21)

En lo que respecta al ciclo indirecto, los huevos de *Hymenolepis nana* al ser excretados con la materia fecal quedan libres en el medio ambiente, llega un díptero y los ingiere; en su intestino los huevos liberan la oncosfera, misma que tiene la particularidad de poder penetrar en los tejidos del artrópodo, en los cuales se transforma en un cisticercoide y ahí permanece sin llegar nunca al estadio adulto, esto es porque no es el huésped adecuado; lo que sucede es que ahora requiere de un mamífero, particularmente el hombre, para que ingiera al artrópodo, el cual se puede encontrar en algún alimento, al ser ingerido el artrópodo, se libera el cisticercoide, el cual se fija a la pared intestinal y forma poco tiempo después un estróbilo, de esa manera el individuo tiene un adulto de *Hymenolepis nana*; el huésped intermediario más importante para el hombre es el género *Xenopsilla* también conocida como pulga. De este modo el hombre o algún mamífero puede funcionar como huésped definitivo e intermediario simultáneamente, es común la autoinfección interna por lo cual las personas infectadas incrementan el número de parásitos que albergan constantemente. El daño que produce *Hymenolepis nana* al huésped está en relación directa con el número de parásitos que alberga el paciente. Figura No.6 (17, 18, 21).

FIGURA No 5: Representación esquemática: A) Huevo de *Hymenolepis nana*; B) Forma Cisticercoide de *Hymenolepis nana* (17, 21).

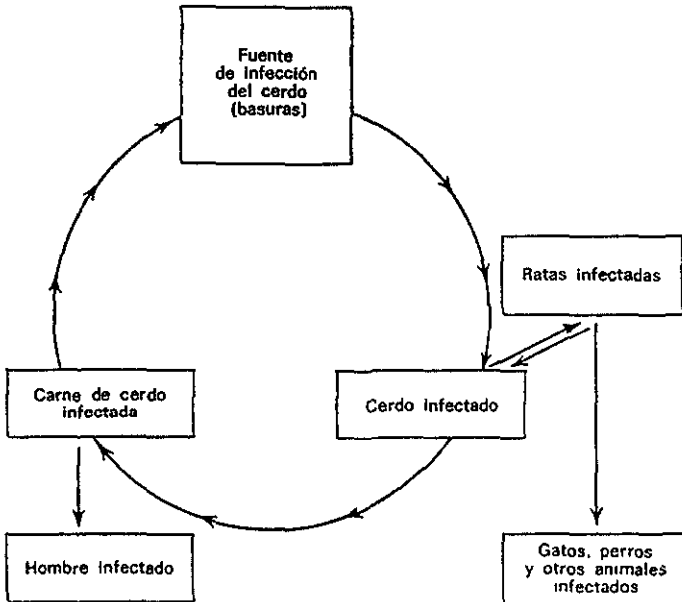
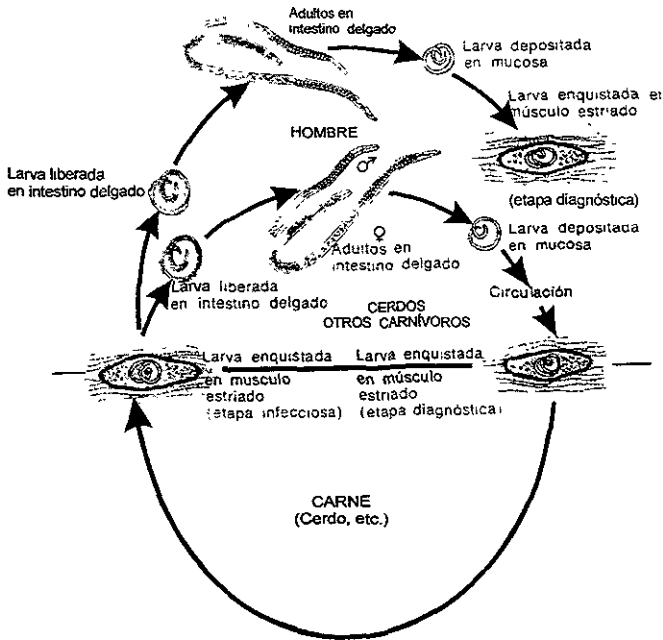


A



B

FIGURA No.6: A) Representación esquemática del ciclo biológico de *Hymenolepis nana*; B) Ciclo infeccioso de *Hymenolepis nana* (8, 17).



Generalmente no hay lesión en la mucosa intestinal, pero puede producirse una enteritis por infección masiva, (hasta 2000 vermes), uno de los elementos más importantes en la himenolepiasis son los productos que se liberan como consecuencia de su metabolismo, estos son una serie de productos tóxicos para el organismo humano que se absorben a nivel de la pared intestinal provocando así disfunción intestinal, otro mecanismo de daño es el sitio de fijación donde se provoca una leve irritación, o también indirectamente a través del secuestro de material orgánico nutriente antes de que llegue a la pared intestinal y sean absorbidos (14, 17, 18, 21). En personas adultas no presentan síntomas, en niños con infecciones ligeras, presentan sólo trastornos abdominales vagos. En infecciones masivas, los niños pueden sufrir anorexia, dolor abdominal con diarrea, vómito y vértigo. El diagnóstico se realiza mediante el hallazgo de los huevos mediante exámenes coproparasitológicos cuantitativos para conocer cuantos huevos se observan por unidad de heces. La himenolepiasis se trata con Niclosamida (2 g diarios durante 6 días) o Clorosalicilamida (40 a 50 mg como dosis única), estas se administran durante una semana para asegurar que todas las oncosferas que hayan penetrado a las vellosidades intestinales y cisticercoides que darán origen a las nuevas *Hymenolepis nana* adultas sean alcanzados por el fármaco. Pero como realmente este es uno de los parásitos más rebeldes, por estar dentro de las vellosidades intestinales y porque los antihelmínticos han demostrado eficacia limitada, actualmente los más empleados son la Niclosamida, Praziquantel, y Albendazol. Como profilaxis no existe un procedimiento exacto ya que como la transmisión es directa y afecta un solo huésped, el control depende de mejorar los hábitos higiénicos de los niños, tratamiento de personas infectadas, saneamiento del ambiente, control de alimentos y roedores y buena dieta alimenticia (17, 18, 21).

II.3.- FÁRMACOS ANTIPARASITARIOS

Los fármacos antiparasitarios se utilizan para erradicar o reducir las cantidades de parásitos en las vías intestinales o tejidos. Estos parásitos tienen muchos procesos bioquímicos y fisiológicos en común con sus huéspedes mamíferos, aunque existen diferencias leves sobre las cuales actuarán los fármacos. La mayoría de los antiparasitarios de uso actual son activos contra parásitos específicos y algunos son tóxicos, por lo tanto, el tipo de parásito debe identificarse antes de instituir el tratamiento a seguir. A continuación se presentan las principales infestaciones helmínticas y una guía de medicamentos de elección y fármacos alternativos para cada infestación. Cuadro No.1 (13).

CUADRO No.1 (13)

PARÁSITO INFECTANTE	MEDICAMENTO DE ELECCIÓN	MEDICAMENTOS ALTERNATIVOS
<i>GUSANOS REDONDOS (NEMATODOS)</i> <i>Ascaris lumbricoides</i> (gusano redondo)	Pamoato de pirantel	Piperacina, Mebendazol, Levamisol, Albendazol
<i>Trichuris trichura</i> (gusano átigo)	Mebendazol	Albendazol, Levamisol.
Infestación combinada con <i>Ascaris</i> , <i>Trichuris</i> y <i>uncinaria</i>	Albendazol, Mebendazol	Pamoato de oxantel / Pirantel
<i>Trichinella spiralis</i> (Triquinosis)	Albendazol, Tibendazol, Mebendazol	Fenbendazol, añadir corticosteroides en las infecciones graves
<i>Larva migrans</i> cutánea (erupción rastrea)	Albendazol	Tibendazol
CONTINUA.....		

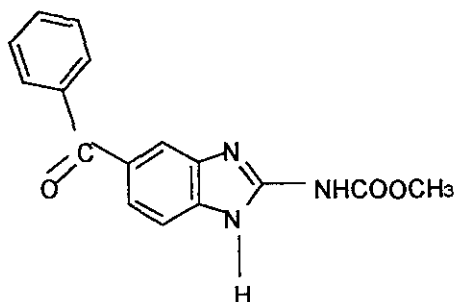
CONTINUACIÓN CUADRO No. 1		
<i>Larva migrans</i> visceral	Albendazol, Tiabendazol	Mebendazol, Ivermectina
<i>Capillaria philippinensis</i> (intestinal)	Albendazol	Mebendazol, Tiabendazol
DUELAS (TREMÁTODOS) <i>Schistosoma haematobium</i> (bilharziasis)	Prazicuantel	Metrifonato
<i>Clonorchis sinensis</i> (duela hepática)	Prazicuantel	Albendazol, Mebendazol
<i>Fasciola hepática</i> (duela hepática de carnero)	Bitionol	Prazicuantel
TENIAS (CÉSTODOS) <i>Taenia saginata</i> (tenia del ganado)	Niclosamida, Prazicuantel	Albendazol, Mebendazol
<i>Taenia solium</i> (tenia porcina)	Niclosamida	Prazicuantel
Cisticercosis (etapa larvaria de la tenia porcina)	Prazicuantel	Niclosamida
<i>Hymenolepis nana</i> (tenia enana)	Prazicuantel	Niclosamida, Albendazol
<i>Hymenolepis diminuta</i> (tenia de las ratas)	Niclosamida	Mebendazol

Estos medicamentos son empleados como antiparasitarios de amplio espectro contra parásitos de importancia veterinaria y clínica, así mismo tienen como característica principal que su acción no depende de la concentración que alcanza a nivel sistémico

debido a su grado de absorción y su metabolismo por el hígado. Para el desarrollo de este tipo de medicamentos empleados como tratamiento de triquinosis se han realizado estudios y síntesis de nuevos compuestos, basados en las características de evitar la rápida inactivación por el metabolismo primario y se observó que los que mayor importancia terapéutica presentaron, son aquellos que presentan una modificación en la posición 2 y 5 o en ambas posiciones del anillo benzimidazol, surgiendo fármacos que con los cambios aumentaron la vida media, así como redujo la velocidad de excreción; surgiendo el Mebendazol, para uso en humanos; el Albendazol que a nivel clínico ha demostrado ser efectivo, el Tiabendazol y el Fenbendazol. El mecanismo de acción de estos antiparasitarios se puede dividir en tres categorías: 1) Inhibición de la fumarato reductasa de mitocondrias; 2) Inhibición del transporte de la glucosa; 3) Interrupción de la función microtubular y desacoplamiento de la fosforilación oxidativa (9,35).

II.4.- MEBENDAZOL (3, 6, 10, 11, 12, 13, 15).

ESTRUCTURA QUÍMICA:



NOMBRE QUÍMICO: Éster metílico del ácido (5-benzoil-1H-benzimidazol-2-il)-carbámico; 5-benzoil-2-benzimidazol carbamato de metilo

NOMBRE GENÉRICO: Mebendazol

NOMBRE COMERCIAL: Vermox, Vermirax, Telmin, Bersatin, Bendrax, Vermicol, Mebenzol, Revapol, Vermin-dazol.

FÓRMULA QUÍMICA: C₁₆H₁₃N₃O₂S

PESO MOLECULAR: 295.297 g/ mol

PRESENTACIÓN FARMACÉUTICA: Masticables, Comprimidos, Suspensión.

DOSIS: Tabletas 100 mg, Suspensión 20 mg / mL, comprimidos 100 mg.

El Mebendazol es un benzimidazol 5-sustituido, es el prototipo de carbamato benzimidazólico sintético que tiene un amplio espectro de acción antiparasitaria y una baja incidencia de efectos adversos, es un polvo blanco o ligeramente amarillento insoluble en agua, alcohol, éter o cloroformo y es soluble en aceites minerales y ácido fórmico, el mebendazol es un antiparasitario versátil contra los nemátodos gastrointestinales donde su acción es independiente de su concentración sistémica. El fármaco es activo tanto en los estadios larvarios como en los adultos de los nemátodos que producen infección.

FARMACOCINÉTICA: Siempre se administra en forma oral dado que su sabor no es desagradable al gusto. El fármaco es mal absorbido en el tracto gastrointestinal, se absorbe cerca de 5 a 10 % y si su administración se realiza con una comida grasa se presenta una absorción mayor. La absorción varía ampliamente entre pacientes y la poca biodisponibilidad sistémica del mebendazol es consecuencia de una combinación de absorción deficiente y metabolismos rápidos de "primer paso" por el hígado. En cuanto a su distribución está altamente unido a proteínas plasmáticas en un 95% y tiene la capacidad de atravesar placenta. Es rápidamente metabolizado en dos metabolitos principales, el carbamato de metil-5-(alfa-hidroxibenzil)-2-benzimidazol y el 2-amino-5-benzoilbenzimidazol, los cuales tienen velocidades menores de eliminación que el

Mebendazol propio, su excreción en su mayoría es por heces; del 2 al 10% se excreta en la orina en 48 horas, ya sea como fármaco sin cambios o como los dos metabolitos inactivos obtenidos, en bilis se han detectado derivados de Mebendazol y sus metabolitos, aunque en una cantidad mínima y se desconoce si se excreta en la leche materna. La vida media del mebendazol es de 9 horas.

FARMACODINAMIA: El mecanismo de acción que sigue el Mebendazol es debido a que se une a la subunidad β de tubulina, impidiendo su polimerización a microtúbulos e inhibe de este modo la síntesis de microtúbulos citoplásmicos de las células tegumentarias e intestinales, de los parásitos afectados, así como, la alteración de las sustancias secretoras acumuladas en el aparato de Golgi y altera la secreción de acetilcolinesterasa y la captación de glucosa y otros nutrientes de bajo peso molecular en los helmintos susceptibles, agotando de este modo los depósitos de glucógeno dentro del parásito, esto determina una menor formación de trifosfato de adenosina (ATP) necesario para la supervivencia y la reproducción del helminto. Los efectos del Mebendazol se observan en diversas células, incluyendo al huésped y el parásito, constituye un fármaco altamente eficaz en infecciones debido a la afinidad del Mebendazol por la tubulina, lo que causa alteración en el transporte de glucosa y la depleción del glucógeno que es más alta en los parásitos con respecto a la de los mamíferos, por lo cual elimina los parásitos con daños mínimos en el huésped a dosis leves y por un periodo de tiempo corto.

CONTRAINDICACIONES: El medicamento esta contraindicado en el primer trimestre de embarazo y durante la lactancia, debe de administrarse con precaución en niños menores de 2 años de edad, no debe ser empleado en pacientes que han experimentado reacciones alérgicas a este fármaco.

REACCIONES ADVERSAS: La dosificación de Mebendazol a bajas dosis por 1 a 3 días para el tratamiento de las infestaciones intestinales por nemátodos ha estado casi libre de efectos adversos, incluso en pacientes debilitados, con poca frecuencia se han reportado náuseas leves, vómito, diarrea y dolor abdominal, aunque, son más frecuentes en niños muy parasitados, en raras ocasiones se presenta dolor de cabeza leve y sedación.

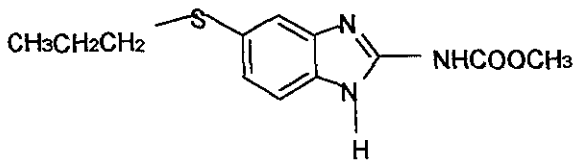
A dosis altas los efectos adversos son prurito, exantema, eosinofilia, neutropenia reversible, dolor musculoesquelético, fiebre, dolor agudo en la zona de quistes, irritación gástrica, tos, anomalías de la función hepática y glomerulonefritis.

PRECAUCIONES: El Mebendazol es un embriotóxico concomitante de hidantoinas y carbamacepinas.

INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS: Con el Ácido valproico no tiene efecto, con Cimetidina puede inhibir el metabolismo del Mebendazol en el hígado lo que puede permitir su empleo en el ajuste de dosis.

II.5.- ALBENDAZOL(6, 10, 11, 12, 13).

ESTRUCTURA QUÍMICA



NOMBRE QUÍMICO: Metil (5-(propiltio)-1H-benzimidazol-2-il)-carbamato; metil éster de(5-propiltio)-1H-benzimidazol-2-il-ácido carbámico.

NOMBRE GENÉRICO: Albendazol.

NOMBRE COMERCIAL: Zentel, Valbazan, Alben, Bermosol, Digezanol, Gascap, Vermin-plus, Eskazol.

FÓRMULA QUÍMICA: C₁₂H₁₅N₃O₂S

PESO MOLECULAR: 265.329 g/ mol

PRESENTACIÓN FARMACÉUTICA: Tabletas y suspensión.

DOSIS: Tabletas 200 mg, Tabletas 400 mg, suspensión 20 mg/mL, suspensión 40 mg/mL.

El Albendazol es un carbamato de benzimidazol, compuesto casi insoluble en agua, antihelmíntico oral de amplio espectro que se utiliza para las infestaciones gastrointestinales, incluidas las infecciones mixtas.

FARMACOCINÉTICA: Después de su administración oral, el Albendazol se absorbe en pequeñas cantidades, aproximadamente menos del 5%, su absorción puede mejorarse si se consume con alimentos grasos a través de las mucosas gastrointestinales y alcanza las concentraciones máximas a las 3 horas después de la administración oral, las concentraciones del fármaco en el plasma son bajas y no reflejan la dosis ingerida. Se distribuye en todo el organismo y la mayor concentración se obtiene en el hígado y en los riñones. Después de la administración oral se detecta el compuesto en el plasma porque es metabolizado con rapidez en el hígado hasta la forma de Sulfóxido de Albendazol el cual presenta una potente actividad antiparasitaria; se liga en una proporción de 70% a las proteínas plasmáticas y su vida media en plasma es de 8 a 9 horas (la formación del Sulfóxido de albendazol es catalizada por la flavina monooxigenasa microsómica y por formas del citocromo P450). La excreción del Albendazol y su metabolito se realiza principalmente por orina y en pequeña cantidad por heces.

FARMACODINAMIA: El mecanismo de acción del Albendazol se considera como vermífida, ovífida y larvífida, actúa produciendo la desaparición selectiva de los microtúbulos citoplasmáticos de las células tegumentarias e intestinales de los helmintos y altera las sustancias secretoras del aparato de Golgi y la secreción de acetilcolinesterasa, por lo cual, reduce el consumo de glucosa y el agotamiento del glucagón, disminuyendo la formación de ATP lo cual depleta los niveles energéticos hasta que estos llegan a ser insuficientes para la sobrevivencia del parásito.

CONTRAINDICACIONES: Está contraindicado en caso de cirrosis, en mujeres embarazadas, niños menores de dos años de edad, pacientes con perforaciones intestinales y en pacientes que presenten hipersensibilidad al fármaco.

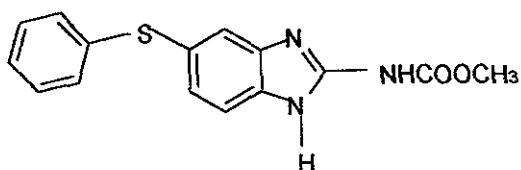
REACCIONES ADVERSAS: Cuando se administra por 1 a 3 días, el Albendazol parece estar casi libre de efectos adversos importantes, se puede presentar vómito, diarrea y cefalea. A dosis muy altas se han reportado casos de alergia, alopecia, neutropenia reversible, agranulocitosis e hipospermia.

PRECAUCIONES: Produce teratogenicidad y embriotoxicidad en fetos de ratas aun a dosis muy bajas, no se administre a mujeres embarazadas o en periodo de lactancia.

INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS: No se han reportado interacciones farmacológicas. La administración conjunta con bebidas alcohólicas puede desencadenar síndrome de abstinencia.

II.6.- FENBENDAZOL(6, 16, 27, 39).

ESTRUCTURA QUÍMICA:



NOMBRE QUÍMICO: Metil 5-(feniltio)-1H - benzimidazol-2-il-carbamato.

NOMBRE GENÉRICO: Fenbendazol.

NOMBRE COMERCIAL: Axilur, Panacur, Pancacur, Safe Guard

FÓRMULA QUÍMICA: C₁₅H₁₃N₃O₂S.

PESO MOLECULAR: 299.347g/ mol

PRESENTACIÓN FARMACÉUTICA: Tabletas, suspensión, solución, gránulos, polvos y pellets.

DOSIS: Tabletas 100 mg; Suspensión 20 mg/mL; solución 10%; gránulos 222 mg/g; polvos al 4%; pellets de 15 mg/g.

El Fenbendazol es un antiparasitario sintético oral, de amplio espectro contra nemátodos gastrointestinales y contra larvas hipobióticas, que posee una hidrosolubilidad limitada y una baja incidencia de efectos adversos, su acción no depende de la concentración que alcanza a nivel sistémico.

FARMACOCINÉTICA: De una administración oral del Fenbendazol, se absorbe aproximadamente un 10%, su absorción se puede ver favorecida por la administración con alimentos grasos, sufre rápidamente metabolismo de primer paso por el hígado metabolizándose en dos metabolitos principales, el Sulfoxido de Fenbendazol y el

Oxifenbendazol que producen el metabolismo de sulfonas por oxidación irreversible, ya en el organismo se encuentra altamente unido a proteínas plasmáticas en un 90%, su excreción en su mayoría es por heces y una cantidad muy pequeña es por orina, ya sea como fármaco sin cambios o como metabolitos inactivos.

FARMACODINAMIA: El mecanismo de acción que sigue el Fenbendazol, inhibe la síntesis de microtúbulos citoplásmicos de las células tegumentarias e intestinales de los parásitos y alteran las sustancias secretoras del aparato de Golgi afectando así la captación de glucosa y agotando los depósitos de glucógeno dentro del parásito lo que origina una menor formación de ATP el cual es necesario para la sobrevivencia y la reproducción del helminto.

CONTRAINDICACIONES: Medicamento contraindicado en el primer trimestre de embarazo y durante el periodo de lactancia, no administrarse a niños menores de dos años de edad, no debe emplearse en pacientes que han presentado reacciones alérgicas al fármaco.

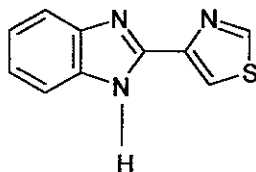
REACCIONES ADVERSAS: A bajas dosis para el tratamiento de las infestaciones intestinales no presenta efectos adversos, a dosis mayores puede presentar náuseas, vómito, diarrea y dolor abdominal, en raras ocasiones y a dosis muy altas puede presentar hemorragias gastrointestinales. No presenta dosis letales establecidas.

PRECAUCIONES: El Fenbendazol tiene propiedades embriotóxicas y teratogénicas y puede ejercer este efecto en ratas preñadas. La administración de este medicamento en mujeres embarazadas o en periodo de lactancia está prohibido.

INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS: No se han reportado interacciones farmacológicas.

II.7.- TIABENDAZOL (6, 11, 12, 13, 20).

ESTRUCTURA QUÍMICA



NOMBRE QUÍMICO: 2-(4-Tiazolil)-1H-benzimidazol.

NOMBRE GENÉRICO: Tiabendazol

NOMBRE COMERCIAL: Mintezol, thibenzole

FÓRMULA QUÍMICA: C₁₀H₇N₃S

PESO MOLECULAR: 201.25 g/mol

PRESENTACIÓN FARMACÉUTICA: Masticables, Comprimidos, Suspensión, Tabletas

DOSIS: Tabletas 500 mg, Suspensión oral de 500 mg/5mL, comprimidos 500 mg

El Tiabendazol es un polvo blanco, inodoro e insípido; estable a la luz, no higroscópico, prácticamente insoluble en agua, poco soluble en acetona o alcohol y muy poco soluble en cloroformo o éter. Aun cuando es un agente quelante que forma complejos estables con diversos metales, incluyendo el hierro, no se fija al calcio. Es un fármaco de elección para el tratamiento de larva migrans cutánea y triquinosis debido a que posee un anillo tiazol en la posición 2.

FARMACOCINÉTICA: El fármaco es absorbido rápidamente y con facilidad después de una dosis oral, también, puede ser absorbido por la piel. Las concentraciones que se alcanzan séricamente son en un lapso de 1 a 3 horas y son poco detectables después de 8

horas. En cuanto a la distribución del Tiabendazol se sabe poco, se sabe que se metaboliza casi completamente a la forma de 5-hidroxitiabendazol mediante hidroxilación y conjugación, casi el 90% de una dosis de Tiabendazol se excreta por orina como metabolitos conjugados de glucurónido o sulfonato en un lapso de 24 a 48 horas, y en un 5% se excreta por heces.

FARMACODINAMIA: El mecanismo de acción que sigue el Tiabendazol es debido a que se une a la subunidad β de tubulina, impidiendo su polimerización a microtúbulos e inhibe de este modo la síntesis de microtúbulos citoplásmicos de las células tegumentarias e intestinales de los parásitos afectados así como la alteración de las sustancias secretoras acumuladas en el aparato de Golgi y altera la secreción de acetilcolinesterasa y la captación de glucosa y otros nutrientes de bajo peso molecular en los helmintos susceptibles, agotando de este modo los depósitos de glucógeno dentro del parásito, esto determina una menor formación de trifosfato de adenosina (ATP) necesario para la supervivencia y la reproducción del helminto. El Tiabendazol presenta propiedades antiinflamatorias, tiene efectos inmunomoduladores sobre la función de las células T, parece ser un agente inmunorestaurador, demostrando una inmunopotenciación máxima en el huésped inmunosuprimido, tiene acciones antipiréticas y antimicóticas.

CONTRAINDICACIONES: El medicamento está contraindicado en el primer trimestre de embarazo y durante la lactancia, debe de administrarse con precaución en niños menores de 2 años de edad o con un peso menor de 15 Kg, no debe ser empleado en pacientes que han experimentado reacciones alérgicas a este fármaco, contraindicado en casos con deterioro de la función renal o hepática, también en aquellos con desnutrición o anemia y en

pacientes en quienes el vómito podría ser peligroso, no utilizarse durante el día en pacientes cuyo trabajo o actividad los obligan a estar alerta ya que provoca sedación.

REACCIONES ADVERSAS: A la dosis de 25 mg/ Kg, 2 veces al día por 2 días, se presentan efectos adversos en 7 a 50% de los pacientes por lo general 3 a 4 horas después de la ingestión del medicamento y duran de 2 a 8 horas. Dosis mayores o tratamientos por más de 2 días aumentan los síntomas, lo más común es desfallecimiento, anorexia, náuseas y vómito. Las reacciones menos frecuentes son dolor epigástrico, cólicos abdominales, diarrea, prurito, cefalea, somnolencia, vértigo, trastornos neuropsiquiátricos, leucopenia, hipertensión, bradicardia, hematuria, convulsiones, entre otros.

PRECAUCIONES: El Tiabendazol es un embriotóxico y presenta capacidad hepatotóxica, por los que se requiere utilizarlo con precaución en individuos con hepatopatías o disminución de la función hepática.

INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS: No se han reportado casos de interacciones farmacológicas.

JUSTIFICACIÓN

En la actualidad existe un alto índice de parasitosis en la población de México, principalmente en la población infantil las cuales presentan características diferentes y presentan resistencia a los medicamentos tal es el caso de *Trichinella spiralis* la cual requiere de un tratamiento más largo, la mayoría de estas infecciones es tratada con medicamentos antihelmínticos que en dosis mayores y en periodos prolongados de administración pueden llegar a provocar trastornos al organismo, por lo cual es indispensable realizar estudios para obtener medicamentos o compuestos que presenten efecto antihelmíntico en una dosificación menor para posteriormente realizar el estudio de toxicidad y poder determinar si el fármaco es seguro al consumo humano, debido a ello se realizaron estudios en compuestos sintetizados análogos de fenbendazol para conocer su efectividad y de este modo poder establecer un posible sustituto a los medicamentos existentes en el mercado

IV. OBJETIVOS

IV. 1.- OBJETIVO GENERAL:

- Evaluar el efecto antiparasitario de nuevos análogos benzimidazólicos (Fenbendazol) empleando ratones infectados con *Trichinella spiralis* y ratones infectados con *Hymenolepis nana*.

IV.2.- OBJETIVOS PARTICULARES:

- Determinar las características de solubilidad de los compuestos AH-Q-0, AH-I-1, AH-I-2, AH-I-3, AH-I-4, AH-I-5, AH-I-6, AH-I-8, AH-I-9 AH-I-10; empleando diversos vehículos como disolventes y a diferentes concentraciones.
- Determinar la DL50 para cada uno de los compuestos que presenten actividad biológica; empleando la técnica para *Artemia salina*.
- Realizar pruebas "In vivo" con ratones infectados con *Trichinella spiralis* y ratones infectados con *Hymenolepis nana* para discernir los compuestos análogos benzimidazólicos (fenbendazol) que presenten el efecto antiparasitario.

V. HIPÓTESIS

- La especies *Trichinella spiralis* e *Hymenolepis nana* son parásitos que actúan a nivel muscular (*Trichinella spiralis*) y a nivel gastrointestinal (*Hymenolepis nana*), provocando triquinosis e himenolepiasis con reacciones severas importantes, lo que nos ayudará a determinar el efecto farmacológico de los compuestos análogos del fenbendazol con propiedades antiparasitarias.

- Existen en el mercado sustancias para el tratamiento contra la triquinosis y la himenolepiasis, que producen reacciones adversas severas, por lo tanto se han sintetizado sustancias análogas y al evaluarlas esperamos que produzcan el mismo efecto farmacológico en dosis igual o menor que los ya existentes, para su posterior estudio toxicológico.

-Si los análogos benzimidazólicos del Fenbendazol en el estudio tienen propiedades antiparasitarias, estas serán detectadas mediante el modelo triquineloscopia y biopsias en ratones para el caso de *Trichinella spiralis* y mediante la disección del intestino en el caso de *Hymenolepis nana*.

VI. MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

PROCEDIMIENTOS:

1. PRUEBAS DE SOLUBILIDAD
2. PRUEBAS DE TOXICIDAD DE DISOLVENTES
3. PRUEBA DE ACTIVIDAD PARA ARTEMIA SALINA
4. INFECCIÓN A RATONES CON *Trichinella spiralis*
5. DIGESTIÓN DEL TEJIDO MUSCULAR DE RATONES INFECTADOS CON *Trichinella spiralis*
6. INFECCIÓN GENERAL A RATONES CON *Trichinella spiralis*
7. TRATAMIENTO A RATONES INFECTADOS CON *Trichinella spiralis*
8. DIGESTIÓN FINAL DEL TEJIDO MUSCULAR Y CONTEO DE LARVAS EN RATONES CON *Trichinella spiralis*.
9. INFECCIÓN A RATONES CON *Hymenolepis nana*
10. TRATAMIENTO A RATONES CON *Hymenolepis nana*
11. CONTEO FINAL DE *Hymenolepis nana* EN RATONES INFECTADOS

MATERIAL DE VIDRIO

- * 10 Vasos de precipitado de 50 mL. (Pyrex)
- * 10 Vasos de precipitado de 100mL. (Pyrex)
- * 10 Vasos de precipitado de 250mL (Pyrex)
- * 2 Matraces Erlenmeyer de 1L (Pyrex)
- * 4 Matraces Erlenmeyer de 500mL (Pyrex)
- * 10 Matraces Erlenmeyer de 250mL (Pyrex)
- * 5 Matraces Aforados de 100mL (Pyrex)

- * 5 Pipetas graduadas de 1mL (Pyrex)
- * 5 Pipetas graduadas de 5mL (Pyrex)
- * 10 Pipetas Pasteur con bulbo (Pyrex)
- * 80 Frascos viales
- * 2 Probetas de 500mL (Pyrex)
- * 5 Agitadores de vidrio (Pyrex)
- * 100 Tubos de ensaye de 13X100 (Pyrex)
- * 5 Tamizadores de porcelana (Coors)
- * 2 Termómetros (Brannan)
- * 100 Portaobjetos (Kimble)
- * 100 Cubreobjetos (Kimble)
- * 1 Frasco de vidrio de 1 L.
- * 25 Cajas de Petri (Pyrex)
- * 25 Vidrios de reloj (Pyrex)
- * 5 Placas de cerámica con oradaciones (Pyrex)

EQUIPO

- * 1 Lámpara de escritorio con foco de 100W (General Electric)
- * 1 Balanza analítica (Mettler Toledo AG 204)
- * 5 Parrillas de calentamiento con agitación (Thermolyne)
- * 1 Microscopio (Iroscope)
- * 1 Balanza Granataria (Triple Bream balance)
- * 1 Centrifuga (Sigma, Laborzentrifugen)

MATERIAL DE CURACIÓN

- * 100 Pares de guantes de cirujano (Protect)
- * 2 Paquetes de algodón (Cisne)
- * 100 Jeringas de 1 mL (Plastipak)

MATERIAL QUIRÚRGICO

- * 5 Tablas de corcho para disección
- * 5 Agujas e hilo para sutura (Curex)
- * 3 Estuches de disección (Rochester, doktor)

MATERIAL DIVERSO

- * 5 Espátulas de cromo-níquel dos puntas (Stainless)
- * 100 Aplicadores de madera (Pinguino)
- * 2 Reglas (Baco)
- * 5 Cánulas esofágicas para ratones (Rochester)
- * 2 Rollos de Masking Tape (Janel)
- * 3 Marcadores (Sterbook)
- * 5 Propipetas (Brand)
- * 3 Micropipetas de 100 μ L y 200 μ L (Brand Transferpette)
- * 25 Cajas de acrílico con rejilla de acero inoxidable (Hazleton system)

REACTIVOS

- * Tween 80 (CANAMEX)
- * Propilenglicol (MERCK)
- * Etanol (BAKER ANALIZED)

- * Metilcelulosa (MERCK)
- * Agua destilada (Pisa)
- * Polietilenglicol (MERCK)
- * Solución salina al 0.9 %(Abbott-Liter)
- * Solución de Ringer (J.T.Baker)
- * Ácido clorhídrico (J.T.Baker)
- * Pepsina pancreática (Sigma)
- * Éter (Merck)
- * Compuestos a probar AH-0-0 - AH-I-10
- * Solución salina saturada

MATERIAL BIOLÓGICO

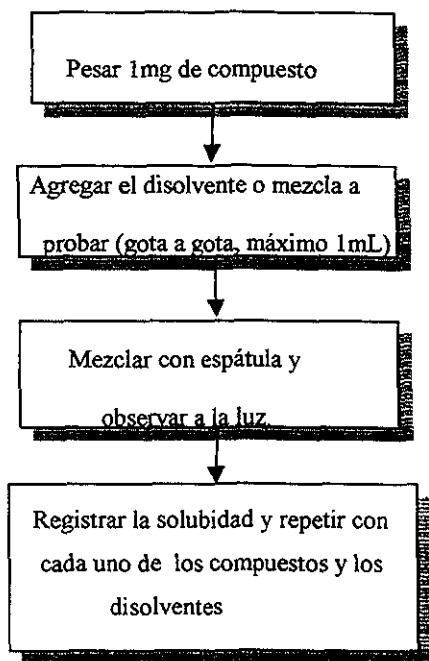
- 19 Ratones hembras de la cepa CFW peso promedio de 25-30 g.
- 1 Tubo de Artemia Salina Leach (ohuira)
- 290 Ratones hembras cepa Balb/c peso promedio de 25 – 30 g.
- 1 Rata winstar infectada con *Trichinella spiralis*
- 3 Ratones machos cepa INH infectados con *Hymenolepis nana*

VII.METODOLOGÍA Y DIAGRAMAS

VII.1.- PRUEBA DE SOLUBILIDAD:

Para iniciar el estudio del efecto antiparasitario de los compuestos benzimidazólicos (análogos del Fenbendazol), primero se realizó la prueba de solubilidad para encontrar el disolvente o mezcla de disolventes que no sean tóxicos a organismos vivos y que solubilizan los compuestos en un 90-100 %. Para ello se pesó 1mg. del compuesto y se colocó en cada una de las oradaciones de la placa de cerámica, se agregó el disolvente a prueba gota a gota, mezclando con una espátula para observar con ayuda de una lámpara el grado de solubilidad y la cantidad de disolvente empleado para solubilizar el compuesto (máximo 1mL de disolvente para 1 mg). Este procedimiento se repitió para cada uno de los compuestos y los disolventes (Diagrama No.1).

DIAGRAMA No. 1



VII.2.- PRUEBA DE TOXICIDAD DE DISOLVENTES(30).

Para poder emplear un disolvente hay que verificar que este no sea tóxico y que no produzca algún daño al organismo que lo consuma (animales y humanos) por lo cual se realiza la prueba de toxicidad de disolventes en ratones donde podemos verificar si existe algún daño físico o conductual después del consumo del disolvente a diferentes concentraciones y poder encontrar un intervalo de manejo sin riesgo a que el disolvente presente interacciones tóxicas.

- Se preparó el disolvente en la concentración adecuada para su uso. En este caso probamos el Tween 80 al 10 % elegido en base a las pruebas de solubilidad.

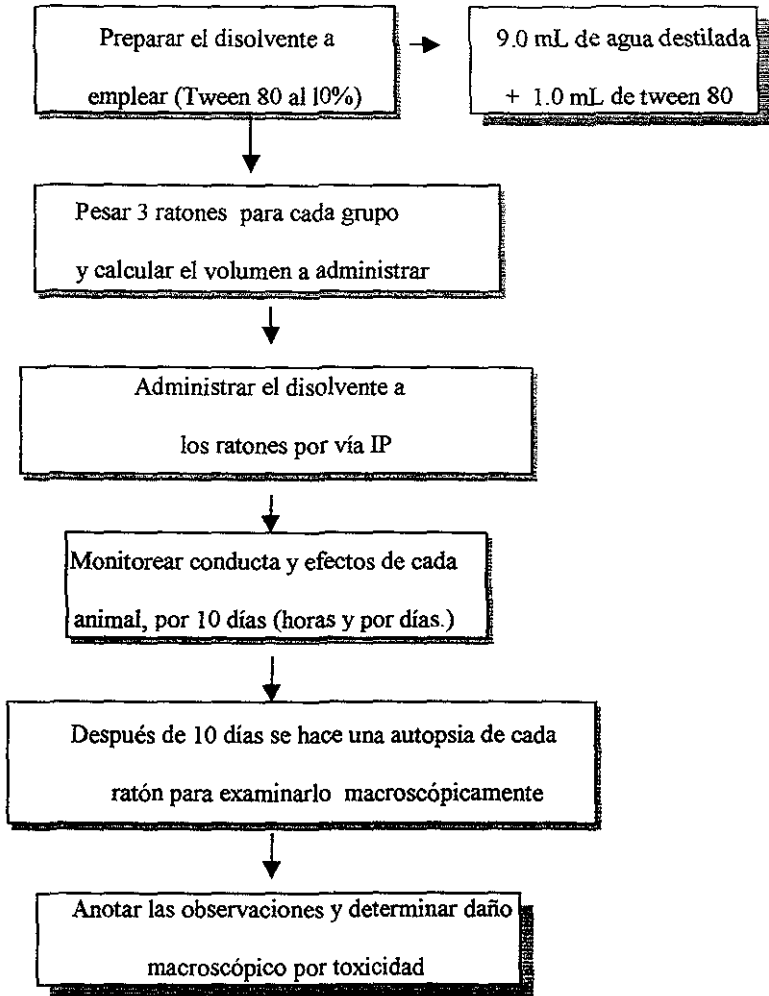
- Se pesaron los ratones uno a uno (tres para cada rango de toxicidad) y se calculó el volumen de disolvente que se administró tomando en cuenta el rango de 10, 100 y 1000 mg/Kg. y la densidad del disolvente que en este caso es de 1.09 g/mL.

-Se administró el disolvente por vía intraperitoneal y se monitoreó la conducta y efectos adversos en el animal durante 10 días, primero en espacios de horas y posteriormente en espacios de días (1, 2, 4, 8, 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216, 240 h).

-Transcurrido este tiempo se realizó una autopsia a cada uno de los animales y se examinó macroscópicamente si se presentaron daños patológicos.

-Se registraron las observaciones correspondientes y se determinó si ocurrió un daño tóxico en el animal. (DIAGRAMA No. 2).

DIAGRAMA No. 2:

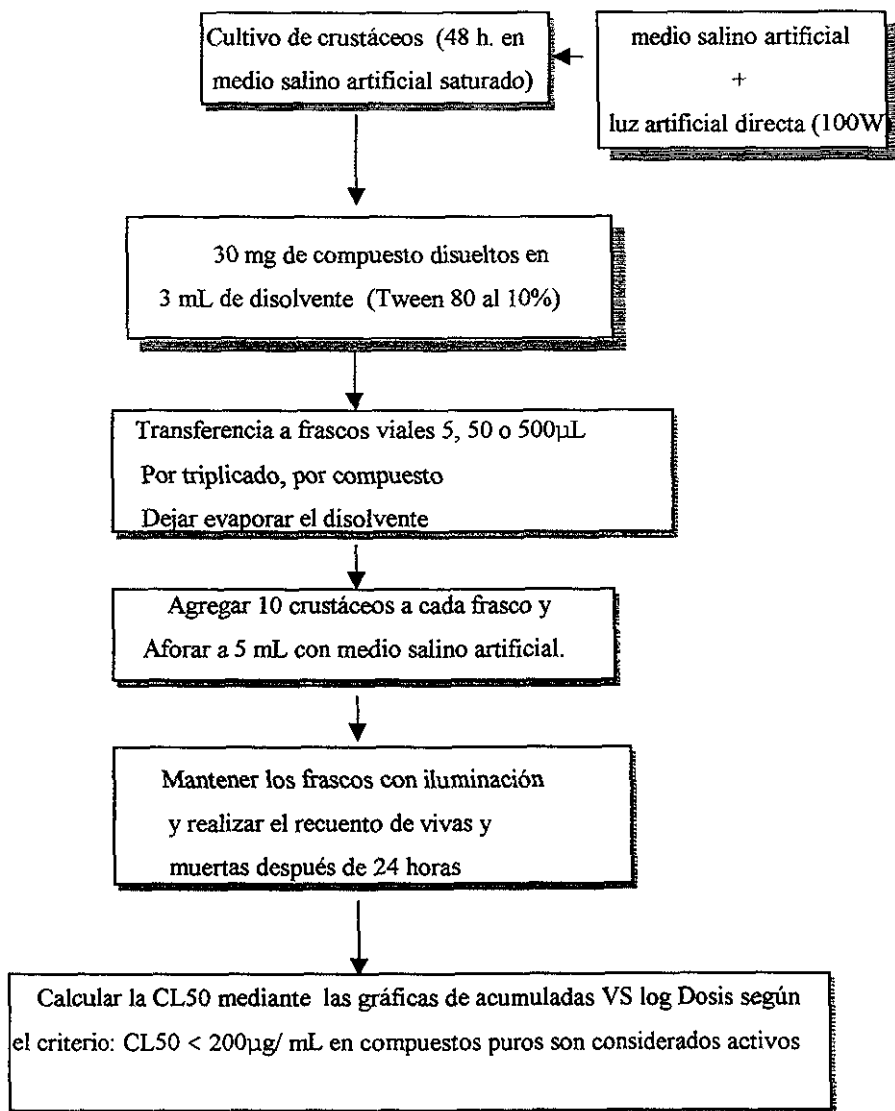


VII.3.- PRUEBA DE BIOENSAYO PARA ARTEMIA SALINA (39).

La determinación de la citotoxicidad de un compuesto por medio del bioensayo para el crustáceo de *Artemia salina* constituye un ensayo rápido, debido a que posee una buena correlación con los ensayos de bioactividad.

- Los quistes del crustáceo de *Artemia salina* se incuban en un medio salino artificial saturado por 48 horas expuestos directamente a la luz de una lámpara con foco de 100W.
- Se pesó 30 mg del compuesto para evaluación y se disolvieron en 3 mL del disolvente en el que se solubilizó en la prueba VII.1 (Tween 80 al 10%). De esta solución se transfirieron 5, 50 o 500 μL a frascos viales y se dejó evaporar el disolvente a temperatura ambiente, cada concentración se realizó por triplicado y de cada uno de los compuestos a probar.
- Se transfirieron 10 crustáceos en cada uno de los frascos viales que contienen las muestras a evaluar y se aforó a 5 mL con medio salino artificial para obtener una concentración final de 10, 100 y 1000 $\mu\text{g/mL}$ respectivamente.
- Los frascos se mantuvieron con iluminación artificial (100W) durante 24 horas, transcurrido este tiempo se procedió a contar el número de crustáceos vivos y el número de crustáceos muertos.
- Se realizó el cálculo de la concentración letal media (CL50) utilizando el gráfico de crustáceos acumulados vivos y crustáceos acumulados muertos contra el log. de la dosis
- Para que un extracto o fracción se considere activo la CL50 debe ser menor a 1000 $\mu\text{g/mL}$ y en el caso de un compuesto puro la CL50 debe ser menor a 200 $\mu\text{g/mL}$.(DIAGRAMA No. 3)

DIAGRAMA No. 3 (39):



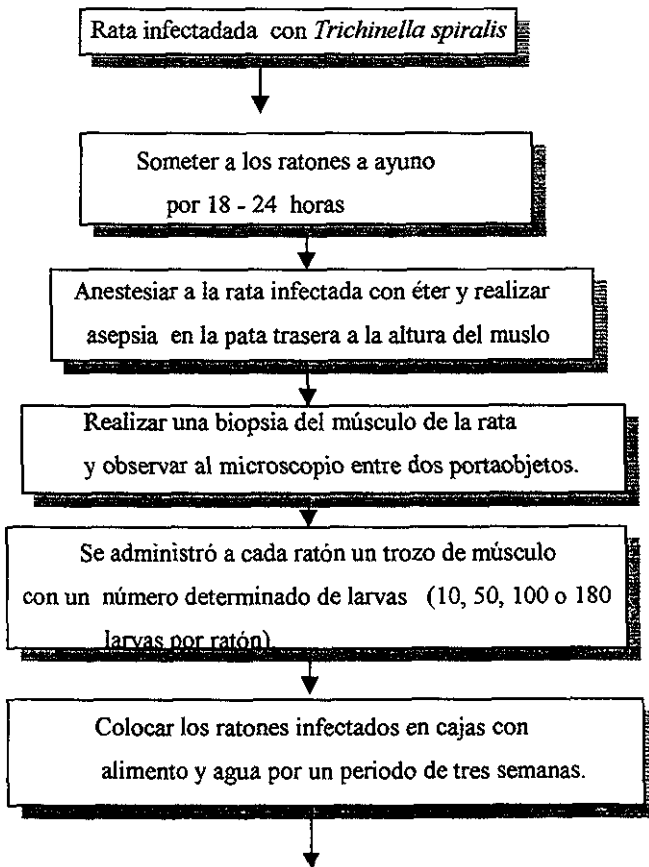
VII.4.- INFECCIÓN A RATONES CON *Trichinella spiralis*

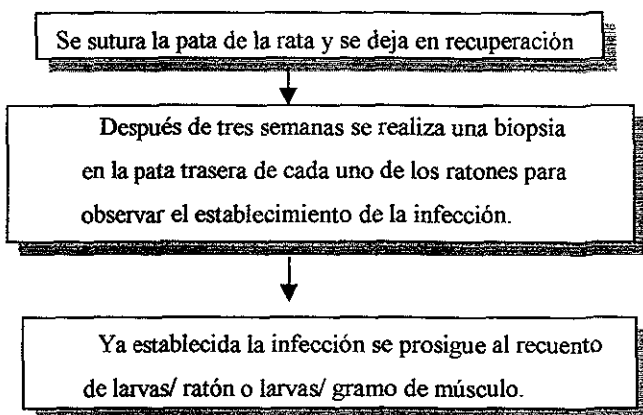
Para tratar la infección con *Trichinella spiralis* en los ratones fue necesario primero infectarlos por lo cual se tomó en cuenta el ciclo biológico del parásito y las características del ratón a infectar siguiendo esta metodología.

- Los ratones a evaluar (10 CFW y 10 Balb/c) se privaron de alimento por un lapso de 18 – 24 horas.
- Posteriormente, la rata infectada se anestesió con éter y se colocó en una tabla de corcho, se le realizó asepsia con una torunda de algodón impregnada con alcohol en la pata trasera, a la cual se le realizó un corte en la región del muslo para poder extraer un trozo de músculo (0.5 cm²), el cual se colocó y se presionó entre dos portaobjetos sellandolos por las orillas con masking-tape para observarse al microscopio e identificar las larvas.
- Se diseccionaron trozos de músculo los cuales contenían aproximadamente 10 larvas cada uno y estos sirvieron como alimento a los ratones (5 CFW y 5 ratones Balb/c).
- A los ratones restantes se les administraron dosis más altas de larvas:
 - 50 larvas a 1 ratón Balb/c y 1 ratón CFW
 - 100 larvas a 2 ratones CFW
 - 180 larvas a 2 ratones CFW y 2 ratones Balb/c.
- Después de la administración de las larvas, los ratones se colocaron en cajas de acrílico limpias con aserrín, alimento (rat chow) y agua ad - Libitum.
- Después de extraerle a la rata el músculo se suturó la piel y se dejó recuperar de la anestesia, se colocó en una caja de acrílico con aserrín, alimento (Rat Chow) y agua.

- Se dejó que se desarrollara la infección por un periodo de tres semanas y se prosiguió a realizar una biopsia en la pata trasera de cada uno de los ratones para identificar al microscopio si estaba establecida la infección y poder continuar con el recuento de larvas por ratón y por gramo de músculo, para la infección general de ratones. (DIAGRAMA No. 4).

DIAGRAMA No. 4:





VII.5.- DIGESTIÓN DE TEJIDO MUSCULAR DE RATONES INFECTADOS Y CONTEO DE LARVAS DE *Trichinella spiralis*.

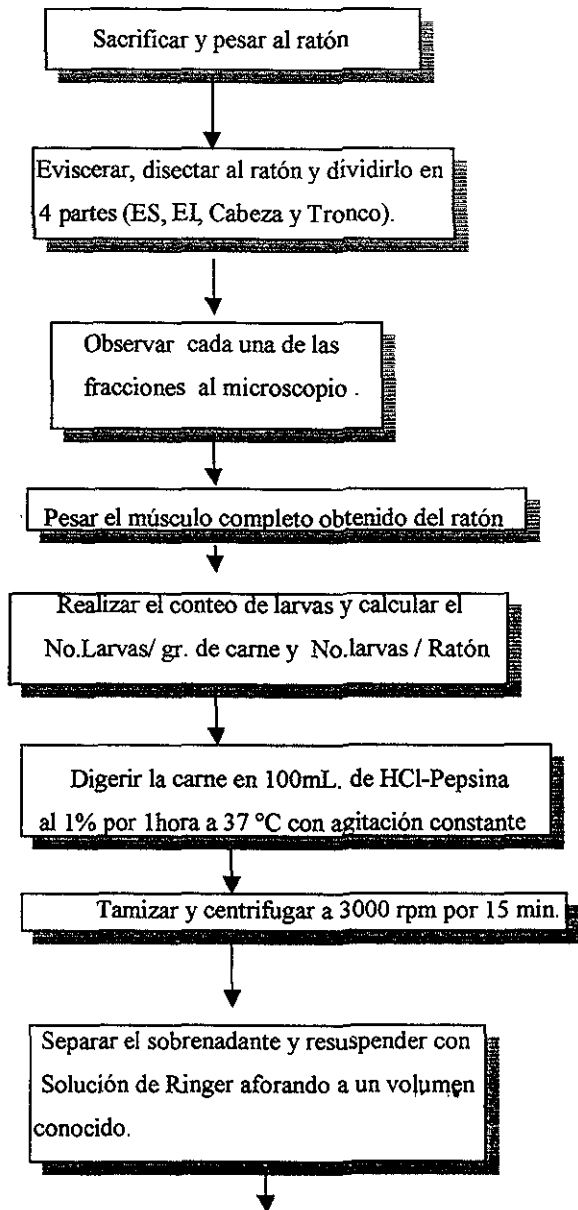
Para la infección general de los ratones con *Trichinella spiralis* se requieren un gran número de larvas, por lo cual se emplea todo el músculo de los ratones infectados, éste es llevado a un medio gástrico artificial para obtener las larvas en solución y poder administrarlas a los ratones por vía oral.

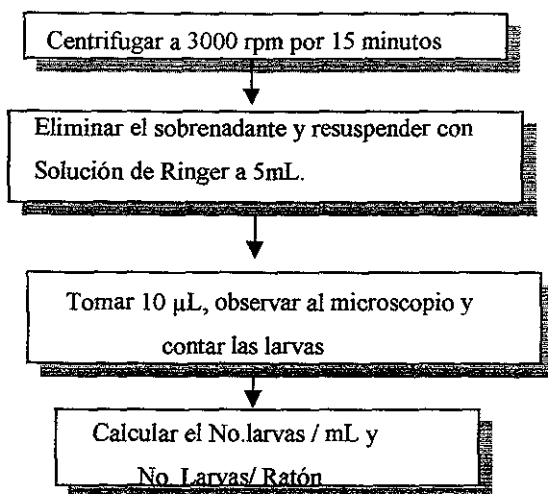
- Se sacrificó al ratón por dislocación cervical, se pesó, se evisceró y se disectó todo el músculo. Se dividió el ratón en cuatro partes (Extremidades superiores, Extremidades inferiores, cabeza y tronco), de cada parte se separó el hueso del músculo y se tomó una fracción, la cual se pesó y se colocó entre dos portaobjetos para observar al microscopio y hacer el conteo de las larvas. Se pesó el total de músculo obtenido por ratón y se determinó el número de larvas por gramo de músculo para cada fracción, un

promedio del número de larvas por gramo de músculo por ratón y según los gramos de músculo obtenidos se obtuvo el número de larvas por ratón completo.

- En un matraz Erlenmeyer de 250 mL se colocaron 100 mL. de solución de pepsina y HCl al 1% y todo el músculo del ratón, para realizar la digestión por espacio de 1-2 horas a 37°C con agitación constante. Posteriormente, se tamizó la suspensión y se colocó en tubos de ensaye para centrifugarla a 3000 rpm por 15 minutos.
- Se separó la solución sobrenadante de pepsina – HCl al 1% la cual se reutilizó hasta 3 veces, se resuspendieron los sedimentos con solución de Ringer y se lavaron los tubos con la misma solución Ringer. Se acumularon las soluciones en un tubo de ensayo y se ajustó a un volumen conocido, se centrifugó el tubo con las soluciones por 15 minutos a 3000 rpm; se eliminó el sobrenadante y se resuspendió el sedimento con solución de Ringer, se ajustó a un volumen de 5 mL con la solución de Ringer y se tomó una alícuota de 10 μ L, se colocó en un portaobjetos con cubreobjetos y se contaron las larvas al microscopio.
- Se hicieron los cálculos para obtener el número de larvas en los 5 mL finales y se expresaron como números de larvas por ratón (DIAGRAMA No. 5).

DIAGRAMA No. 5:



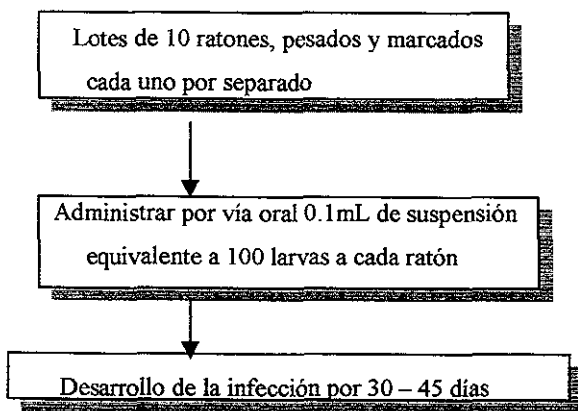


VII.6.- INFECCIÓN GENERAL A RATONES CON *Trichinella spiralis*.

Para realizar la parte experimental de este proyecto debemos contar con un gran número de ratones infectados con *Trichinella spiralis* por lo cual con la suspensión obtenida en el procedimiento VII.5 se infectan los ratones por vía oral.

- Se formaron lotes de 10 ratones cada uno y se colocaron por separado en cajas de acrílico con rejilla con aserrín, comida y agua ad-Libitum. Se pesó, se marcó cada ratón y se le administraron 0.1mL de la suspensión de larvas que equivalen a 100 larvas por ratón y se dejó desarrollar la infección por 30-45 días para proseguir con el tratamiento con los compuestos a estudiar (DIAGRAMA No.6).

DIAGRAMA No.6:

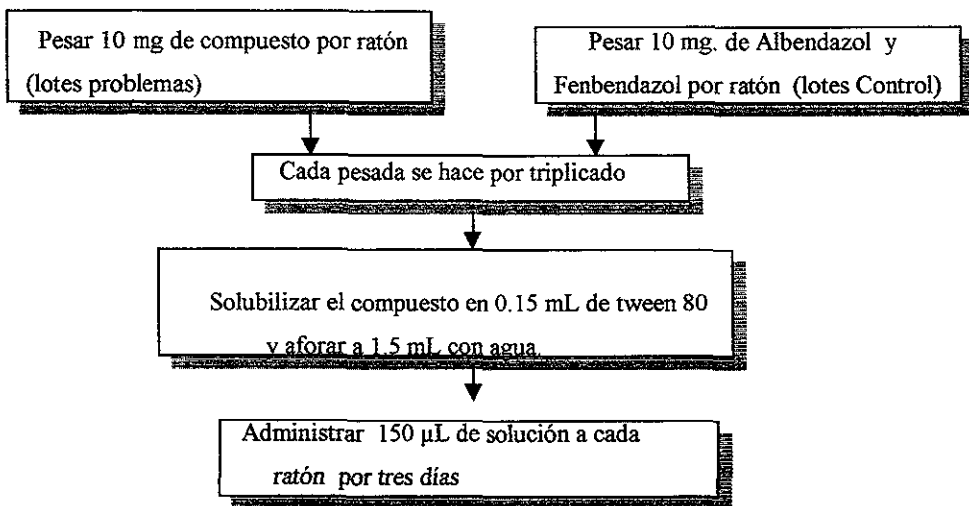


VII.7.- TRATAMIENTO A RATONES INFECTADOS CON *Trichinella spiralis* (11,12,13,15).

Para saber si los compuestos presentan propiedades antiparasitarias se administran a ratones infectados con *Trichinella spiralis* y se comparan con un control para evaluar su efecto farmacológico.

- Basados en las dosis reportadas en la literatura y en el peso promedio de los ratones se realizaron los cálculos para las dosis de cada compuesto por ratón, incluyendo los controles. Tomando en cuenta que el tratamiento es por tres días.
- Se pesaron 10 mg de compuesto por cada dosis, es decir que cada compuesto se hace por triplicado (para tener 1 mg por ratón por 3 días). Se solubilizaron en 0.15mL de Tween 80 y se aforó a 1.5 mL con agua para tener una concentración de 6.7mg/mL
- Se administró por vía oral 150 μ L de compuesto a cada ratón, durante 3 días (DIAGRAMA No.7).

DIAGRAMA No.7



VII.8.- DIGESTIÓN DE TEJIDO MUSCULAR DE RATONES INFECTADOS, TRATADOS Y CONTEO FINAL DE LARVAS DE *Trichinella spiralis*.

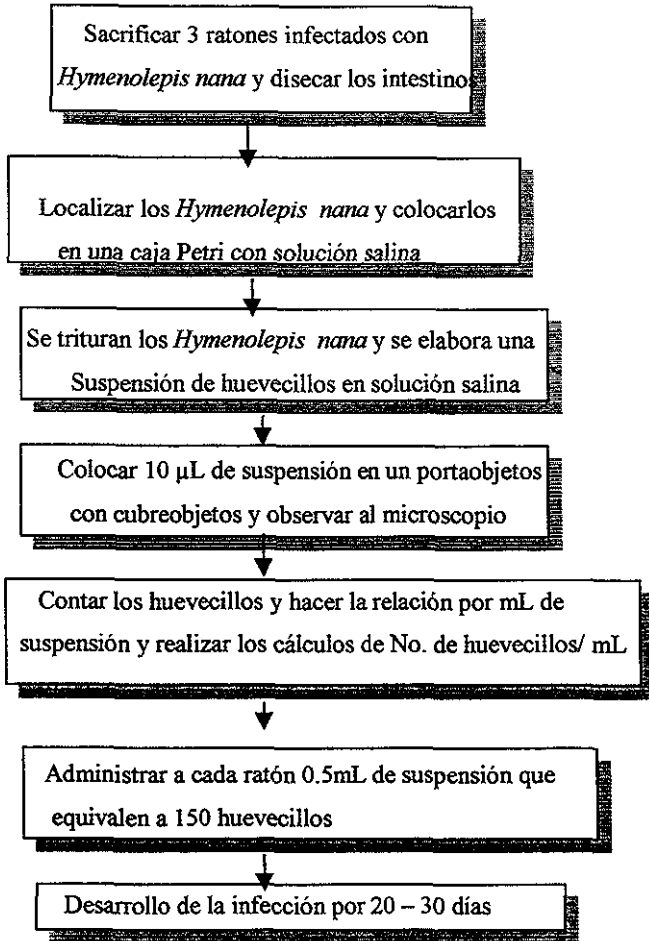
Se llevó a cabo el mismo procedimiento que en el inciso VI.5 pero con la diferencia de que no se realizó la obtención del número de larvas/ gramo de músculo y el No. de larvas/ ratón de manera teórica (DIAGRAMA No.5).

VII.9.- INFECCIÓN A RATONES CON *Hymenolepis nana* (17,18)

La determinación del efecto antiparasitario de los compuestos con el parásito intrainestinal, *Hymenolepis nana*, se realizó infectando los ratones previamente al tratamiento para poder compararlo con un control.

- Se sacrificaron tres ratones de la cepa NIH infectados con *Hymenolepis nana* por dislocación cervical y se procedió a diseccionarles el intestino los cuales se colocaron en solución salina al 0.9 %.
- Se disectaron los intestinos y se localizaron los *Hymenolepis nana*, se colocaron en una caja Petri, donde se trituraron y se elaboró una suspensión de los huevecillos de este parásito con solución salina al 0.9 %.
- Se colocaron 10 μL de esta solución en un portaobjetos con cubreobjetos y se hizo el recuento de huevecillos, se realizaron los cálculos para conocer el número de huevecillos/ mL de suspensión y se calculó la cantidad que se administró a cada ratón equivalente a 150 huevecillos por ratón tomando en cuenta su peso promedio del lote de ratones y se administró por vía oral 0.5mL de suspensión con huevecillos a cada ratón que equivalen a 150 huevecillos por ratón
- Se colocaron los ratones en cajas de acrílico con aserrín, comida y agua ad Libitum y se dejó desarrollar la infección por 20 – 30 días (DIAGRAMA No.9)

DIAGRAMA No. 9



VI.10.- TRATAMIENTO A RATONES INFECTADOS CON *Hymenolepis nana*

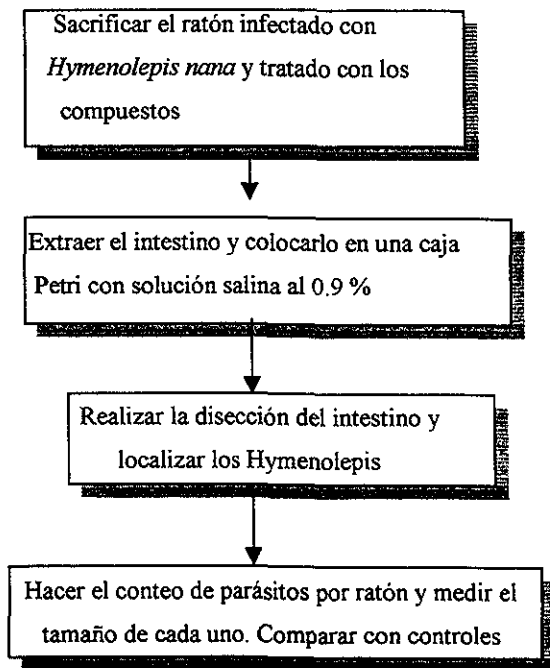
Se procedió a la misma metodología que en el tratamiento a ratones infectados con *Trichinella spiralis*. (DIAGRAMA No. 7)

V.11.- CONTEO FINAL DE *Hymenolepis nana*

El conteo final se realizó comparando con un lote control para saber si los compuestos en estudio presentan propiedades antiparasitarias.

- Se sacrificó por dislocación cervical a cada ratón infectado con *Hymenolepis nana* y tratado con los compuestos a estudiar, se les extrajo el intestino y se coloca en una caja de Petri con solución salina al 0.9 %, se realizó la disección del intestino y la localización de los *Hymenolepis nana*.
- Se hace un recuento del número de parásitos y el tamaño de cada uno y se hace la comparación con los ratones infectados y tratados con los controles. (DIAGRAMA No.11)

DIAGRAMA No.11



VIII.RESULTADOS

VIII.1.- PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

Cuadro No. 2:

Compuesto	AH-I-1	AH-I-2	AH-I-3	AH-I-4	AH-I-5	AH-I-6	AH-I-8	AH-I-9	AH-I-10
Disolvente									
Metilcelulosa al 100%	++	+	++	+	+	++	+	+	+
Agua al 100 %	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Polietilenglicol al 100 %	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Tween 80 al 100 %	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Propilenglicol al 100 %	++	+++	++	+	+	+	+++	+	++
Polietilenglicol al 50 %	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Tween 80 al 50 %	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Polietilenglicol al 25 %	++	+++	+++	++	+++	+++	+	+++	+
Tween 80 al 25 %	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
Polietilenglicol al 10 %	+	++	+++	+	++	+++	-	+	-
Tween 80 al 10 %	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++

(-) Insoluble; (+) Casi insoluble; (++) Poco soluble; (+++) Soluble; (++++) Muy soluble.

VIII.2.- TOXICIDAD DE DISOLVENTES

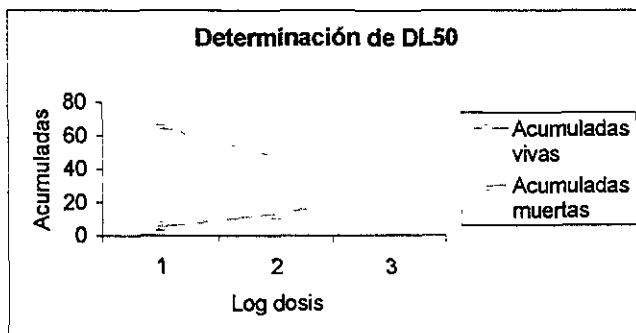
CUADRO No. 3

GRUPO	NÚMERO DE RATÓN	OBSERVACIONES DE CONDUCTA Y DAÑOS PATOLÓGICOS.
GRUPO 1 10 mg/ Kg	RATÓN 1	Sin daños patológicos o conductuales notables.
	RATÓN 2	Sin daños patológicos o conductuales notables.
	RATÓN 3	Sin daños patológicos o conductuales notables.
GRUPO 2 100 mg/ Kg	RATÓN 1	Sin daños patológicos o conductuales notables.
	RATÓN 2	Sin daños patológicos o conductuales notables.
	RATÓN 3	Sin daños patológicos o conductuales notables.
GRUPO 3 1000 mg/ Kg	RATÓN 1	Sin daños patológicos o conductuales notables.
	RATÓN 2	Sin daños patológicos o conductuales notables.
	RATÓN 3	Sin daños patológicos o conductuales notables.

VIII.3.- PRUEBA DE BIOENSAYO PARA ARTEMIA SALINA

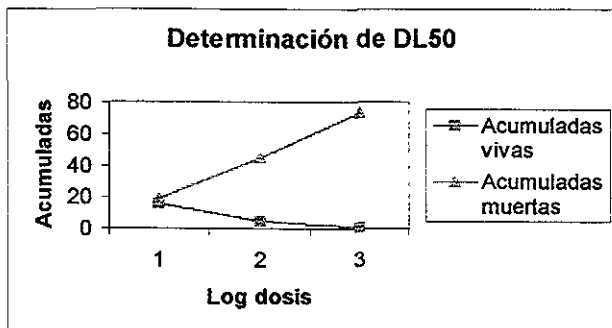
GRÁFICA No. 1 "CONTROL NEGATIVO (TWEEN 80 AL 10 %); DL50: 1000 ppm"

Dosis (ppm)	Log Dosis	No. De artemias muertas	No. De artemias Vivas	Acumuladas Vivas	Acumuladas muertas
10	1	5	25	65	5
100	2	8	22	47	13
1000	3	12	18	25	25



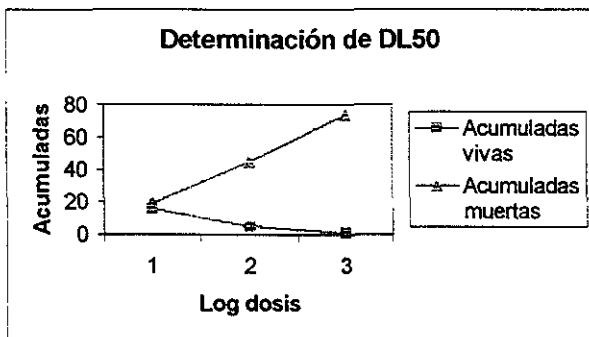
GRÁFICA No. 2 "CONTROL POSITIVO Fenbendazol (AH-0-0); DL50: 7.9 ppm"

Dosis (ppm)	Log Dosis	No. De artemias vivas	No. De artemias Muertas	Acumuladas Vivas	Acumuladas Muertas
10	1	11	19	15	19
100	2	4	26	4	45
1000	3	0	30	0	75



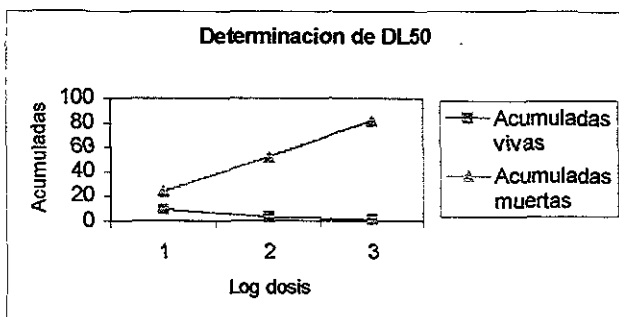
GRÁFICA No. 3 "COMPUESTO AH-I-1; DL50: 8.4 ppm"

Dosis (ppm)	Log Dosis	No. De artemias Vivas	No. De artemias Muertas	Acumuladas vivas	Acumuladas Muertas
10	1	11	19	16	19
100	2	4	26	5	45
1000	3	1	29	1	74



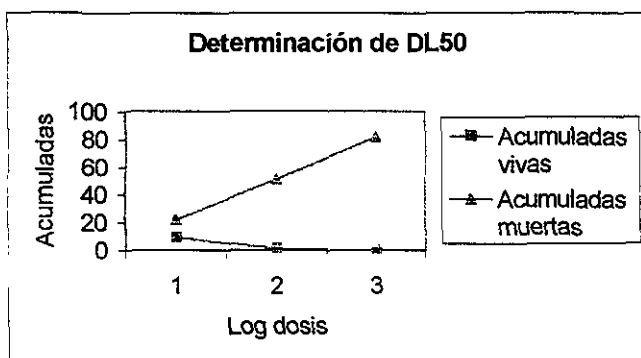
GRÁFICA No. 4 "COMPUESTO AH-I-2; DL50:4.2 ppm"

Dosis (ppm)	Log Dosis	No. De artemias Vivas	No. De artemias Muertas	Acumuladas vivas	Acumuladas muertas
10	1	6	24	9	24
100	2	2	28	3	52
1000	3	1	29	1	81



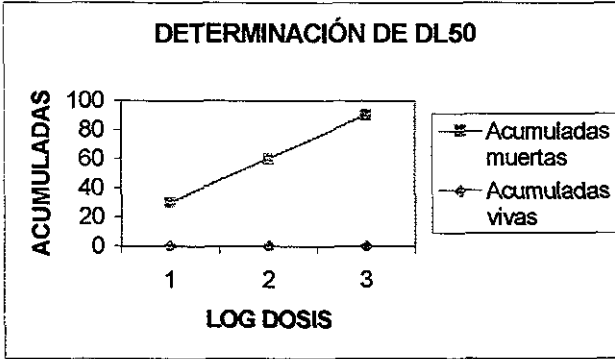
GRÁFICA No. 5 "COMPUESTO AH-I-3; DL50: 4.6 ppm"

Dosis (ppm)	Log Dosis	No. De artemias Vivas	No. De artemias Muertas	Acumuladas vivas	Acumuladas Muertas
10	1	8	22	9	22
100	2	1	29	1	51
1000	3	0	30	0	81



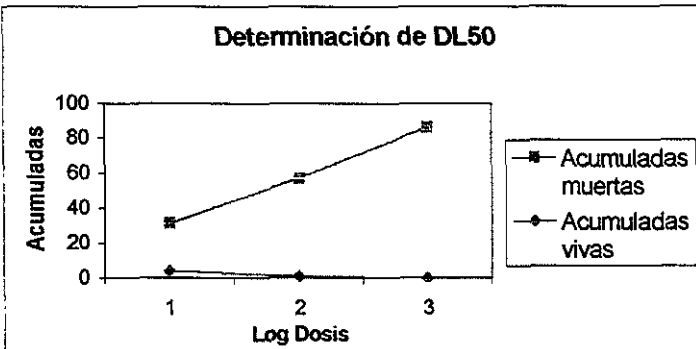
GRÁFICA No. 6 "COMPUESTO AH-I-4; DL50: 1 ppm"

Dosis (ppm)	Log Dosis	No. De Artemias Vivas	No. De Artemias Muertas	Acumuladas vivas	Acumuladas Muertas
10	1	0	30	0	30
100	2	0	30	0	60
1000	3	0	30	0	90



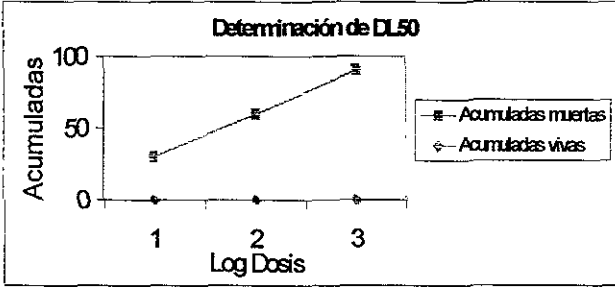
GRÁFICA No. 7 "COMPUESTO AH-I-5; DL50: 1 ppm"

Dosis (ppm)	Log Dosis	No. De Artemias Vivas	No. De Artemias Muertas	Acumuladas vivas	Acumuladas muertas
10	1	3	27	4	27
100	2	1	29	1	56
1000	3	0	30	0	86



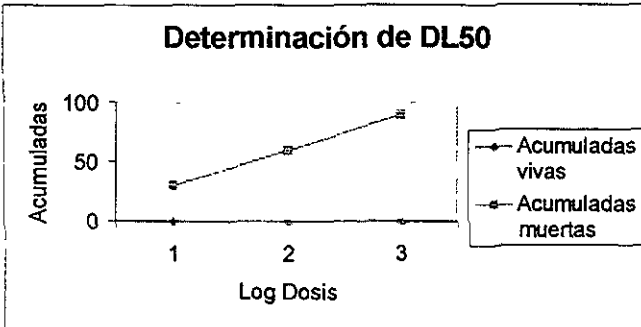
GRÁFICA No. 8 “COMPUESTO AH-I-6; DL50: 1 ppm”

Dosis (ppm)	Log Dosis	No. De Artemias Vivas	No. De Artemias Muertas	Acumuladas vivas	Acumuladas muertas
10	1	0	30	0	30
100	2	0	30	0	60
1000	3	0	30	0	90



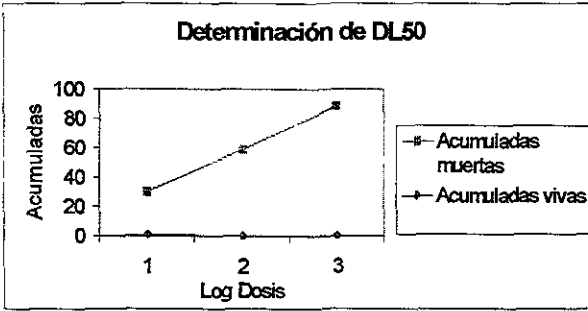
GRÁFICA No. 9 “COMPUESTO AH-I-8; DL50: 1 ppm”

Dosis (ppm)	Log Dosis	No. De Artemias Vivas	No. De Artemias Muertas	Acumuladas vivas	Acumuladas muertas
10	1	0	30	0	30
100	2	0	30	0	60
1000	3	0	30	0	90



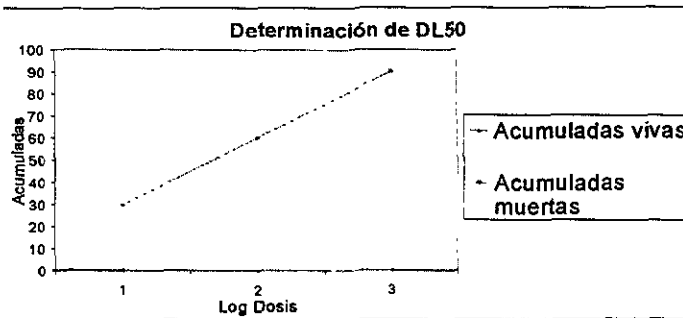
GRÁFICA No. 10 "COMPUESTO AH-I-9; DL50: 1 ppm"

Dosis (ppm)	Log Dosis	No. De Artemias Vivas	No. De Artemias Muertas	Acumuladas vivas	Acumuladas Muertas
10	1	1	29	1	29
100	2	0	30	0	59
1000	3	0	30	0	89



GRÁFICA No. 11 "COMPUESTO AH-I-10; DL50: 1 ppm"

Dosis (ppm)	Log Dosis	No. De Artemias Vivas	No. De Artemias Muertas	Acumuladas Vivas	Acumuladas muertas
10	1	0	30	0	30
100	2	0	30	0	60
1000	3	0	30	0	90



VIII.4.- DIGESTIÓN DEL TEJIDO MUSCULAR DE RATONES INFECTADOS CON *Trichinella spiralis* Y CONTEO DE LARVAS PARA INFECCIÓN GENERAL.

CUADRO No. 4

No. Ratón	Cepa	Peso inicial (g)	Peso músculo (g)	No.Larvas/ ratón (T)	No.Larvas/g. (T)	No.Larvas/ ratón (P)	No.Larvas/g (P)
1	CFW	23.37	6.18	12515	2025	16218	2624
2	CFW	25.14	6.43	13210	2137	18910	2941
3	CFW	22.84	6.02	10480	1695	12450	2068
4	CFW	25.46	5.98	15040	2433	14140	2364
5	CFW	27.03	6.60	12930	2092	16363	2479
1	Balb/c	18.74	5.88	3650	620	5821	990
2	Balb/c	17.46	5.13	2800	475	4204	819
3	Balb/c	19.13	6.09	4120	699	4030	661
4	Balb/c	18.39	5.45	3339	567	4926	903

(P) Resultado obtenido prácticamente a partir de la digestión total del ratón

(T) Resultado obtenido teóricamente a partir de una biopsia del ratón

No. Larvas/ ratón: larvas presentes en el ratón completo

No. Larvas/ gramo: larvas presentes por gramo de músculo

(g) peso expresado en gramos

VIII.5.- REGISTRO DE LOTES DE RATONES Y TRATAMIENTOS EMPLEADOS EN EL PROYECTO.

CUADRO No. 5

No. LOTE	NOMBRE DE LOTE
1	CONTROL GENERAL (ratones sin infección y sin tratamiento)
2	CONTROL NEGATIVO I (ratones sin infección, tratados con albendazol)
3	CONTROL NEGATIVO II (ratones sin infección, tratados con fenbendazol)
4	CONTROL NEGATIVO III (ratones sin infección, tratados con AH-I-1)
5	CONTROL NEGATIVO IV (ratones sin infección, tratados con AH-I-2)
6	CONTROL NEGATIVO V (ratones sin infección, tratados con AH-I-3)
7	CONTROL NEGATIVO VI (ratones sin infección, tratados con AH-I-4)
8	CONTROL NEGATIVO VII (ratones sin infección, tratados con AH-I-5)
9	CONTROL NEGATIVO VIII (ratones sin infección, tratados con AH-I-6)
10	CONTROL POSITIVO <i>Trichinella spiralis</i> (ratones con infección, sin tratamiento)
11	CONTROL POSITIVO I <i>Trichinella spiralis</i> (ratones con infección, tratados con albendazol)
12	CONTROL POSITIVO II <i>Trichinella spiralis</i> (ratones con infección, tratados con fenbendazol)
13	LOTE DE PRUEBA I <i>Trichinella spiralis</i> (ratones con infección, tratados con AH-I-1)
14	LOTE DE PRUEBA II <i>Trichinella spiralis</i> (ratones con infección, tratados con AH-I-2)
15	LOTE DE PRUEBA III <i>Trichinella spiralis</i> (ratones con infección, tratados con AH-I-3)
16	LOTE DE PRUEBA IV <i>Trichinella spiralis</i> (ratones con infección, tratados con AH-I-4)

17	LOTE DE PRUEBA V <i>Trichinella spiralis</i> (ratones con infección, tratados con AH-I-5)
18	LOTE DE PRUEBA VI <i>Trichinella spiralis</i> (ratones con infección, tratados con AH-I-6)
19	CONTROL DE DISOLVENTES I <i>Trichinella spiralis</i> (ratones con infección, tratados con tween 80 al 10 %)
20	CONTROL DE DISOLVENTES II <i>Trichinella spiralis</i> (ratones con infección, tratados con Solución Ringer)
21	CONTROL POSITIVO <i>Hymenolepis nana</i> (Ratones con infección y sin tratamiento)
22	CONTROL POSITIVO I <i>Hymenolepis nana</i> (Ratones con infección tratados con albendazol)
23	CONTROL POSITIVO II <i>Hymenolepis nana</i> (Ratones con infección tratados con fenbendazol)
24	LOTE DE PRUEBA I <i>Hymenolepis nana</i> (Ratones con infección tratados con AH-I-1)
25	LOTE DE PRUEBA II <i>Hymenolepis nana</i> (Ratones con infección tratados con AH-I-2)
26	LOTE DE PRUEBA III <i>Hymenolepis nana</i> (Ratones con infección tratados con AH-I-3)
27	CONTROL DE DISOLVENTES I <i>Hymenolepis nana</i> (Ratones con infección, tratados con Tween 80 al 10 %)
28	CONTROL DE DISOLVENTES II <i>Hymenolepis nana</i> (Ratones con infección tratados con Solución Ringer)

VIII.6.- RESULTADOS DE LOS LOTES DE RATONES EMPLEADOS COMO CONTROLES NEGATIVOS PARA *Trichinella spiralis* Y PARA *Hymenolepis nana*.

CUADRO No. 6 "LOTE No. 1: CONTROL GENERAL (Ratones sin infección y sin tratamiento)"

No. Ratón	Peso inicial	Peso final	Presencia de <i>T.spiralis</i> / <i>H.nana</i>	Estudio macroscópico (*) y observaciones
1	11.2	10.6	(-) / (-)	Se sacrificó (presentaba daño en la pata derecha que se produjo por canibalismo).
2	14.1	14.6	(-) / (-)	Sin daños macroscópicos
3	12.7	12.9	(-) / (-)	Sin daños macroscópicos
4	14.2	14.8	(-) / (-)	Sin daños macroscópicos
5	15.2	15.8	(-) / (-)	Sin daños macroscópicos
6	14.5	15.3	(-) / (-)	Sin daños macroscópicos
7	13.8	13.6	(-) / (-)	Sin daños macroscópicos
8	13.6	14.2	(-) / (-)	Sin daños macroscópicos
9	13.3	13.4	(-) / (-)	Sin daños macroscópicos
10	14.6	14.9	(-) / (-)	Sin daños macroscópicos

(-) / (-) No se localizaron larvas de *T. spiralis* en el músculo (biopsia) / no se localizaron parásitos de *Hymenolepis nana* en el intestino (inversión del intestino)

* El estudio macroscópico se realizó mediante la biopsia a cada ratón

CUADRO No. 7 "LOTE No.2: CONTROL NEGATIVO P"

No. Ratón	Peso inicial	Peso final	Presencia de <i>T.spiralis</i> / <i>H.nana</i>	Estudio macroscópico y observaciones
1	15.0	15.2	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos
2	15.3	15.5	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos
3	12.3	12.5	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos
4	13.9	14.0	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos
5	15.9	16.1	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos
6	17.0	17.2	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos
7	13.8	13.6	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos
8	15.2	15.1	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos
9	14.0	14.0	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos
10	13.8	13.9	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos

CUADRO No. 8 "LOTE No.3: CONTROL NEGATIVO II"

No. Ratón	Peso inicial	Peso final	Presencia de <i>T.spiralis/H.nana</i>	Estudio macroscópico y observaciones
1	15.9	15.7	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
2	13.2	13.3	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
3	15.6	15.7	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
4	14.2	14.2	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
5	14.0	14.2	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
6	15.7	15.6	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
7	14.9	14.9	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
8	14.8	14.9	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
9	13.7	13.9	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
10	16.9	16.8	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos

CUADRO No.9 "LOTE No.4: CONTROL NEGATIVO III"

No. Ratón	Peso inicial	Peso final	Presencia de <i>T.spiralis/H.nana</i>	Estudio macroscópico y observaciones
1	13.8	13.6	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
2	16.9	17.1	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
3	14.3	14.5	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
4	15.2	15.1	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
5	14.6	14.4	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
6	15.5	15.6	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
7	15.2	15.4	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
8	15.4	15.2	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
9	13.7	13.8	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
10	14.7	14.9	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos

CUADRO No 10 "LOTE No. 5: CONTROL NEGATIVO IV"

No. Ratón	Peso inicial	Peso final	Presencia de <i>T.spiralis/H.nana</i>	Estudio macroscópico y observaciones
1	15.6	15.4	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
2	12.9	12.8	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
3	15.5	15.7	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
4	13.6	13.9	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
5	14.1	14.3	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
6	14.1	14.4	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
7	16.1	16.6	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
8	15.6	16.0	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
9	13.1	13.2	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
10	14.6	14.8	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos

CUADRO No 11 "LOTE No. 6: CONTROL NEGATIVO V"

No. Ratón	Peso inicial	Peso final	Presencia de <i>T. spiralis/H. nana</i>	Estudio macroscópico y observaciones
1	15.5	15.7	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
2	14.5	14.4	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
3	15.2	15.1	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
4	14.0	14.1	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
5	13.6	13.7	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
6	14.3	14.4	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
7	15.9	15.9	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
8	15.6	15.4	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
9	15.3	15.5	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
10	13.8	13.9	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos

CUADRO No 12 "LOTE No. 7: CONTROL NEGATIVO VI"

No. Ratón	Peso inicial	Peso final	Presencia de <i>T. spiralis/H. nana</i>	Estudio macroscópico y observaciones
1	15.1	15.1	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
2	14.3	14.5	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
3	15.2	15.5	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
4	12.5	12.3	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
5	12.8	12.9	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
6	11.9	11.8	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
7	14.8	14.8	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
8	14.7	14.9	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
9	12.6	12.7	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
10	15.2	15.3	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos

CUADRO No 13 "LOTE No. 8: CONTROL NEGATIVO VII"

No. Ratón	Peso inicial	Peso final	Presencia de <i>T. spiralis/H. nana</i>	Estudio macroscópico y observaciones
1	13.8	13.9	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
2	14.3	14.2	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
3	15.4	15.3	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
4	15.3	15.5	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
5	13.8	13.9	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
6	14.6	14.8	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
7	11.7	11.5	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
8	15.3	15.5	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
9	11.9	12.1	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
10	12.8	12.9	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos

CUADRO No 14 "LOTE No. 9: CONTROL NEGATIVO VIII"

No. Ratón	Peso inicial	Peso final	Presencia de <i>T.spiralis/H.nana</i>	Estudio macroscópico y observaciones
1	15.7	15.8	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
2	14.0	14.2	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
3	15.6	15.7	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
4	15.1	15.2	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
5	14.3	14.5	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
6	14.4	14.5	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
7	15.6	15.5	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
8	15.7	15.8	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
9	15.7	15.7	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
10	13.8	13.7	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos

VIII.6.- DIGESTIÓN DEL TEJIDO MUSCULAR DE RATONES INFECTADOS CON *Trichinella spiralis* Y CONTEO FINAL DE LARVAS

CUADRO No 15 "LOTE No. 10: CONTROL POSITIVO *Trichinella spiralis*"

No. Ratón	Peso inicial-final	Gramos de carne	No.Larvas/ratón	No.larvas/gr.músculo
1	8.3 - 19.89	6.06	4,750	784
2	8.3 - 16.46	5.93	6,000	1,011
3	7.0 - 15.85	5.20	9,750	1,875
4	11.0 - 17.33	5.46	5,750	1,053
5	13.5 - 14.56	4.85	4,250	876
6	7.7 - 14.43	5.43	7,000	1,289
7	13.0 - 17.01	5.14	7,000	1,361
8	11.1 - 19.97	5.64	5,500	975
9	10.3 - 17.73	4.43	4,500	1,015
10	11.5 - 17.73	3.91	6,500	1,662

CUADRO No.16 "LOTE No. 11: CONTROL POSITIVO I *Trichinella spiralis*"

No. Ratón	Peso inicial-final	Gramos carne	No.Larvas/ratón	No.larvas/gr.músculo
1	13.9 - 18.5	4.93	3,000	608
2	13.2 - 18.9	5.03	1,750	347
3	10.0 - 15.0	3.41	2,500	733
4	10.9 - 18.2	5.83	2,000	343
5	7.7 - 27.5	7.62	2,000	262
6	11.6 - 17.8	5.61	0	0
7	10.6 - 19.5	4.52	0	0
8	10.2 - 18.2	1.28	250	195
9	12.0 - 19.8	4.05	1,500	370
10	12.4 - 18.9	5.34	1,250	234

CUADRO No. 17 "LOTE No.12: CONTROL POSITIVO II *Trichinella spiralis*"

No. Ratón	Peso inicial-final	Gramos carne	No.Larvas/ratón	No.larvas/gr.músculo
1	10.0 - 16.6	5.41	0	0
2	11.3 - 16.8	4.47	250	55
3	10.3 - 18.9	2.12	0	0
4	11.2 - 18.5	4.51	500	110
5	11.3 - 19.1	5.00	1,000	200
6	11.4 - 16.4	4.56	1,000	219
7	8.7 - 18.1	3.92	0	0
8	13.8 - 17.5	1.26	0	0
9	10.5 - 16.6	0.28	0	0
10	12.4 - 14.8	0.83	0	0

CUADRO No. 18 "LOTE No. 13: LOTE DE PRUEBA I *Trichinella spiralis*"

No. Ratón	Peso inicial-final	Gramos carne	No.Larvas/ratón	No.larvas/gr.músculo
1	14.8 - 16.1	1.03	250	242
2	11.3 - 18.8	1.84	250	235
3	9.6 - 18.4	5.44	2,250	413
4	14.4 - 15.6	4.70	250	53
5	13.9 - 17.0	5.18	750	144
6	11.8 - 12.8	2.98	1,750	587
7	11.0 - 17.9	5.46	1,500	274
8	13.5 - 17.4	2.96	0	0
9	11.1 - 12.9	4.02	500	124
10	9.5 - 14.8	3.89	0	0

CUADRO No.19 "LOTE No. 14: LOTE DE PRUEBA II *Trichinella spiralis*"

No. Ratón	Peso inicial-final	Gramos carne	No.Larvas/ratón	No.larvas/gr.músculo
1	11.9 – 15.88	3.82	0	0
2	7.4 – 15.25	3.50	3,250	928
3	59.2 – 15.83	0.20	250	1,250
4	7.9 – 15.30	3.79	750	197
5	10.1 – 14.28	2.86	0	0
6	9.4 – 14.06	2.32	3,750	1,616
7	13.8 – 13.00	1.67	2,250	1,347
8	12.1 – 14.68	1.68	750	421
9	10.7 – 15.42	2.74	250	91

CUADRO No.20 "LOTE No. 15: LOTE DE PRUEBA III *Trichinella spiralis*"

No. Ratón	Peso inicial-final	Gramos carne	No.Larvas/ratón	No.larvas/gr.músculo
1	12.9 – 18.4	5.74	1,500	261
2	10.8 – 17.5	5.05	1,500	297
3	11.3 – 17.71	6.21	500	80
4	10.6 – 19.67	5.16	0	0
5	9.9 – 13.80	4.20	1,500	340
6	9.4 – 16.90	4.41	250	56
7	8.7 – 19.72	2.98	500	167
8	14.3 – 14.85	4.03	0	0
9	14.3 – 16.40	3.67	750	204
10	10.5 – 17.35	3.28	1,000	304

CUADRO No. 21 "LOTE No. 16: LOTE DE PRUEBA IV *Trichinella spiralis*"

No. Ratón	Peso inicial-final	Gramos carne	No.Larvas/ratón	No.larvas/gr.músculo
1	9.1 – 18.77	5.12	2,000	390
2	8.0 – 16.72	4.62	2,250	487
3	10.6 – 17.51	5.68	1,750	308
4	12.3 – 17.93	5.54	750	135
5	10.9 – 17.42	3.82	500	130
6	7.4 – 17.62	5.71	250	43
7	7.0 – 12.56	3.56	1,750	491
8	12.2 – 17.13	4.71	4,250	902
9	10.1 – 16.36	4.41	500	113
10	12.1 – 17.99	2.66	1,000	375

CUADRO No.22 "LOTE No. 17: LOTE DE PRUEBA V *Trichinella spiralis*"

No. Ratón	Peso inicial-final	Gramos carne	No.Larvas/ratón	No.larvas/gr.músculo
1	12.2 – 16.52	3.03	500	165
2	12.8 – 15.15	3.54	5,250	1,483
3	11.0 – 18.70	2.23	1,500	662
4	11.6 – 16.37	3.80	4,250	1,118
5	11.7 – 17.57	4.40	750	170
6	12.1 – 17.65	4.56	2,250	493
7	13.0 – 18.63	6.17	2,000	324
8	15.0 – 17.11	5.23	2,000	382
9	11.0 – 19.19	6.43	2,500	360
10	14.6 – 17.12	5.48	3,500	638

CUADRO No.23 "LOTE No. 18: LOTE DE PRUEBA VI *Trichinella spiralis*"

No. Ratón	Peso inicial-final	Gramos carne	No.Larvas/ratón	No.larvas/gr.músculo
1	13.9 – 18.66	5.18	1,250	241
2	12.8 – 16.87	5.51	1,000	181
3	12.1 – 17.14	5.44	3,000	551
4	14.1 – 17.46	4.74	750	158
5	8.2 – 17.15	5.10	750	147
6	12.1 – 16.80	3.97	1,500	377
7	12.0 – 16.54	4.10	1,750	426
8	10.4 – 16.28	4.92	750	152
9	12.9 – 19.29	4.58	750	163
10	12.7 – 17.28	4.55	3,500	724

CUADRO No.24 "LOTE No. 19: CONTROL DE DISOLVENTES I *Trichinella spiralis*"

No. Ratón	Peso inicial	Peso final	Presencia de <i>T.spiralis/H.nana</i>	Estudio macroscópico y observaciones
1	11.5	11.6	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
2	15.6	15.8	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
3	14.0	13.6	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
4	14.9	14.7	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
5	13.8	15.6	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
6	14.6	14.8	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
7	13.3	13.7	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
8	13.4	13.7	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
9	14.4	14.2	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos
10	14.0	14.3	(-)/(-)	No presenta daños macroscópicos

CUADRO No.25 "LOTE No. 20: CONTROL DE DISOLVENTES II *Trichinella spiralis*"

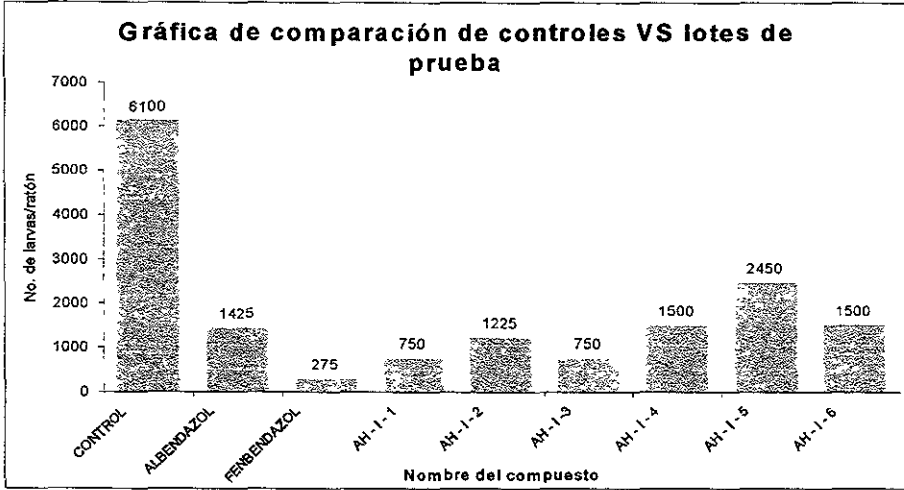
No. Ratón	Peso inicial	Peso final	Presencia de <i>T.spiralis/H.nana</i>	Estudio macroscópico y observaciones
1	12.4	12.5	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos
2	13.7	13.8	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos
3	15.1	15.5	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos
4	14.3	14.1	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos
5	14.9	14.7	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos
6	15.4	15.6	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos
7	12.8	13.1	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos
8	13.7	13.9	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos
9	14.8	14.7	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos
10	11.9	11.9	(-) / (-)	No presenta daños macroscópicos

CUADRO No.26 "CUADRO COMPARATIVO DE LOTES CONTROL VS LOTES DE PRUEBA"

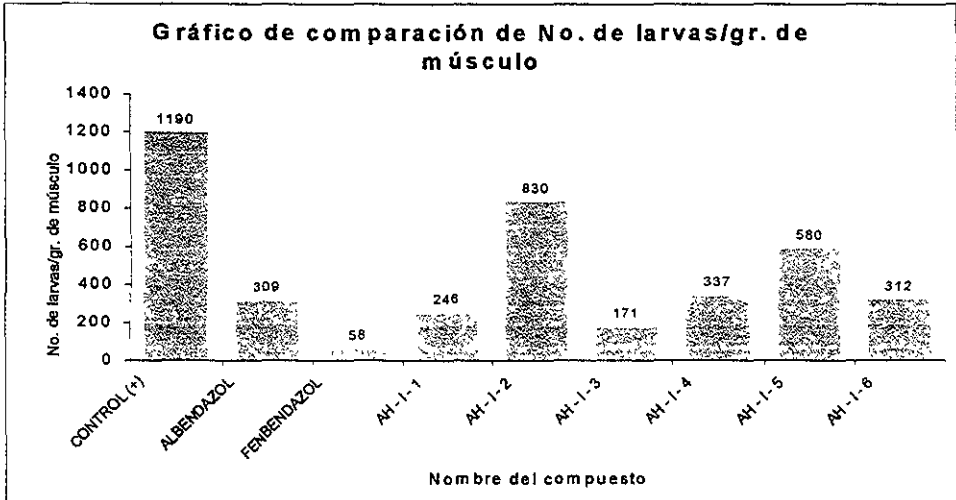
LOTE	COMPUESTO	No.Larvas/ratón (*)	No.Larvas/gr carne (*)
10) Control (+) Gral.	-	6,100	1,190
11) Control (+) I	Albendazol	1,425	309
12) Control (+) II	Fenbendazol	275	58
13) Prueba I	AH - I - 1	750	246
14) Prueba II	AH - I - 2	1,225	830
15) Prueba III	AH - I - 3	750	171
16) Prueba IV	AH - I - 4	1,500	337
17) Prueba V	AH - I - 5	2,450	580
18) Prueba VI	AH - I - 6	1500	312

(*) Número promedio de larva por ratón y por gramo de músculo en cada lote.

GRÁFICA No. 12 “Gráfica de comparación de los lotes de controles contra los lotes de los compuestos problemas”



GRÁFICA No. 13 “Gráfica de comparación de los lotes control contra los lotes de los compuestos problemas”



VIII.8.- CONTEO FINAL DE PARÁSITOS DE *Hymenolepis nana* Y MEDICIÓN DE PARÁSITOS.

CUADRO No 27 “LOTE No.21 CONTROL POSITIVO *Hymenolepis nana*”

No. ratón	mg de heces	No. huevecillos	No. Parásitos	Medidas de parásitos (cm)
1	5.0	0	1	1)3.5
2	7.1	1	1	1)5.0
3	11.7	0	0	0
4	7.5	1	1	1)7.5
5	9.4	1	6	1)1.7, 2)2.8, 3)4.0, 4)2.3, 4)2.3, 5)1.5, 6)3.0
6	6.8	0	0	0
7	5.3	1	1	1)6.5
8	0.1	0	0	0
9	14.7	0	2	1)0.5, 2)5.5
10	10.2	0	3	1)0.5, 2)6.5, 3)6.0

CUADRO No. 28 “LOTE No.22 LOTE CONTROL I *Hymenolepis nana*”

No. ratón	mg de heces	No. huevecillos	No. Parásitos	Medidas de parásitos (cm)
1	3.6	0	0	0
2	2.4	0	0	0
3	3.8	0	0	0
4	8.7	0	0	0
5	3.4	0	0	0
6	5.2	0	0	0
7	4.3	0	0	0
8	9.2	0	0	0
9	2.6	0	0	0
10	2.3	0	0	0

CUADRO No. 29 "LOTE No.23 LOTE CONTROL II *Hymenolepis nana*"

No. ratón	mg de heces	No huevecillos	No. parásitos	Medidas de parásitos (cm)
1	3.0	0	0	0
2	1.1	1	4	1)1.5, 2)2.0, 3)1.5, 4)0.5
3	4.7	1	4	1)4.0, 2)2.5, 3)2.0, 4)1.0
4	1.4	0	0	0
5	3.5	0	0	0
6	3.2	1	1	1)1.5
7	3.7	0	0	0
8	12.6	0	4	1)1.5, 2)1.0, 3)2.5, 4)2.5
9	5.0	0	1	1)1.0
10	8.2	0	0	0

CUADRO No. 30 "LOTE No.24 LOTE DE PRUEBA I *Hymenolepis nana*"

No. Ratón	mg. de heces	No. huevecillos	No. parásitos	Medidas de parásitos (cm)
1	4.1	1	4	1)0.5, 2)4.0, 3)5.0, 4)3.5
2	3.9	0	0	0
3	15.0	0	0	0
4	6.7	0	0	0
5	14.4	0	1	1)6.0
6	1.1	0	0	0
7	9.5	0	0	0
8	4.1	0	0	0
9	11.0	0	1	1)6.0
10	7.1	1	1	1)2.0

CUADRO No. 31 "LOTE No.25 LOTE DE PRUEBA II *Hymenolepis nana*"

No. Ratón	mg de heces	No. huevecillos	No. Parásitos	Medidas de parásitos (cm)
1	2.6	0	0	0
2	0.6	0	0	0
3	4.1	0	0	0
4	7.4	0	0	0
5	3.0	0	0	0
6	6.3	0	1	1)11.0
7	1.2	0	0	0
8	5.5	0	0	0
9	2.9	0	0	0
10	1.6	0	3	1)2.5, 2)2.5, 3)2.0

CUADRO No. 32 "LOTE No.26 LOTE DE PRUEBA III *Hymenolepis nana*"

No. ratón	mg de heces	No. huevecillos	No. Parásitos	Medidas de parásitos (cm)
1	4.9	0	0	0
2	4.7	0	1	1)4.0
3	7.1	0	1	1)3.5
4	7.7	1	1	1)5.5
5	5.9	0	0	0
6	0	0	0	0
7	5.4	0	3	1)0.8, 2)3.0, 3)2.0
8	5.7	1	4	1)2.5, 2)1.5, 3)4.0, 4)4.5
9	4.2	0	0	0
10	6.3	0	0	0

CUADRO No. 33 "LOTE No.27 LOTE CONTROL DE DISOLVENTES I *Hymenolepis nana*"

No. ratón	mg de heces	No. huevecillos	No. parásitos	Medidas de parásitos (cm)
1	2.8	0	0	0
2	4.6	1	3	1)1.5, 2)3.5, 3)0.5
3	9.5	1	3	1)4.0, 2)2.5, 3)1.5
4	1.8	0	0	0
5	4.2	0	1	1)3.5
6	3.8	1	1	1)2.5
7	10.4	0	0	0
8	16.1	1	2	1)1.5, 2)1.5, 3)3.5, 4)2.5
9	6.3	0	1	1)3.4
10	8.6	0	0	0

CUADRO No. 34 "LOTE No.28 LOTE CONTROL DE DISOLVENTES II *Hymenolepis nana*"

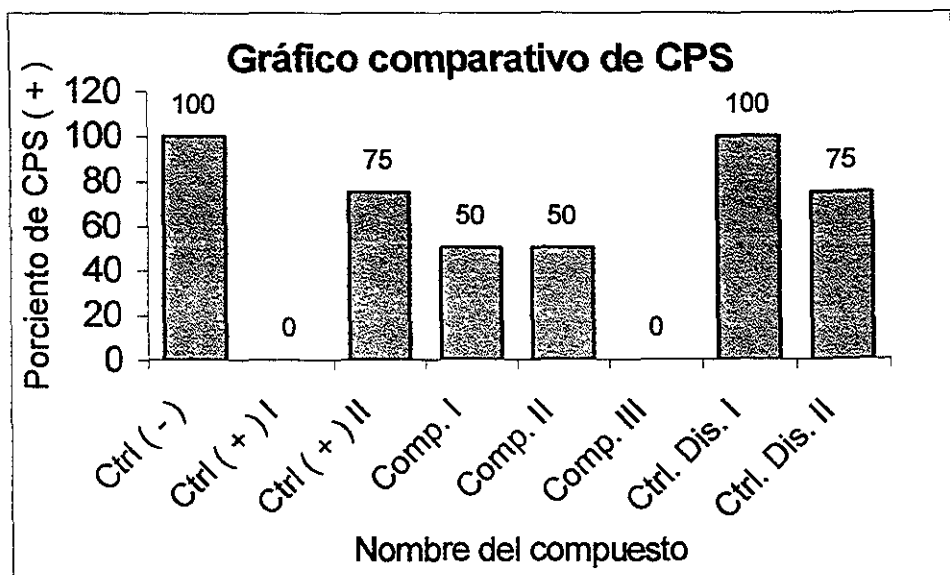
No. Ratón	mg. de heces	No. huevecillos	No. parásitos	Medidas de parásitos (cm)
1	3.8	1	3	1)1.5, 2)4.0, 3)3.5
2	4.9	0	0	0
3	8.0	0	1	1)2.5
4	5.8	1	3	1)0.5, 2)3.5, 3)4.0
5	13.6	0	1	1)6.0
6	10.5	1	2	1)1.5, 2)3.0
7	4.2	0	0	0
8	4.6	0	1	1)0.5
9	8.4	0	1	1)3.0
10	6.9	1	2	1)2.0, 2)2.5

CUADRO No. 35 “ CUADRO COMPARATIVO DE LOTES CONTROLES VS LOTES DE PRUEBA”

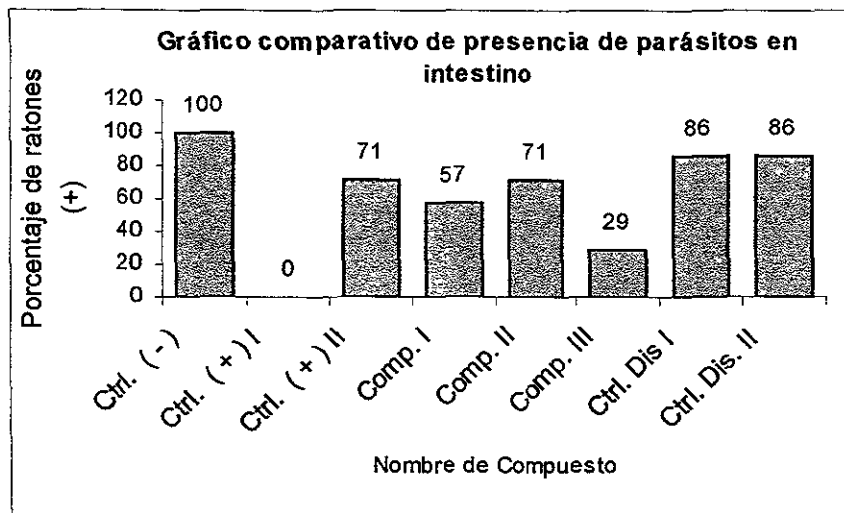
COMPUESTO	CPS (+) No. de ratones	CPS (+) % de ratones *	Parásitos (+) No. de ratones	Parásitos (+) % de ratones *
Control (-)	4	100	7	100
Control (+) I	0	0	0	0
Control (+) II	3	75	5	71
Compuesto I	2	50	4	57
Compuesto II	2	50	5	71
Compuesto III	0	0	2	29
Control de dis. I	4	100	6	86
Control de dis. II	3	75	6	86

(*) Considerando que el control negativo como el 100 %

GRÁFICA No. 14 “Gráfica de comparación entre lotes controles y lotes de prueba para el examen coproparasitoscópico en *Hymenolepis nana*”



GRÁFICA No.15 "Gráfica de comparación entre lotes de controles y lotes de prueba para la presencia (+) de parásitos en el intestino para *Hymenolepis nana*.



IX. ANÁLISIS DE RESULTADOS

El principal objetivo de este proyecto fue determinar si los compuestos proporcionados por el Instituto de Química, presentaban actividad antihelmíntica, para ello fue necesario solubilizar los compuestos para facilitar su administración, de este modo, considerando que los compuestos en base a su estructura presentaban características débilmente básicas, se eligieron vehículos que presentaban propiedades que podían ser útiles para la solubilización de los compuestos (ver cuadro 2, VIII.1).

Empleamos agua que es un disolvente polar y presentó una solubilidad nula, empleamos disolventes estables a los álcalis y que solubilizan compuestos orgánicos como el propilenglicol y la metilcelulosa pero su disolución fue moderada, también probamos el polietilenglicol que es un disolvente polar y que presenta características débilmente ácidas (pH= 6.5) el cual solubilizó los compuestos empleándolo a concentraciones altas y al disminuir su grado de solubilidad disminuyó, el Tween 80 se probó a concentraciones altas (100 %) y mostró una buena solubilidad y al reducir la concentración (10 %) mostró el mismo comportamiento, esto posiblemente se debe a que la actividad del tween 80 es como tensoactivo o surfactante principalmente, lo cual pudo permitir un equilibrio entre la parte hidrofílica del agua y la parte hidrofóbica del compuesto, permitiendo así su solubilidad, además de que presenta un bajo grado de toxicidad por lo cual podemos decir que el riesgo de daño tóxico por su administración es mínimo. Para emplear este disolvente se realizó un estudio para determinar si era tóxico al consumo humano, para ello se emplearon ratones y se observó que a una concentración de 1000 mg/ Kg administrada por vía IP no se observaban daños tóxicos macroscópicos ni de conducta (ver cuadro 3, VIII.2). en la literatura (30) la concentración máxima permitida reportada para el Tween 80 es del

32 %, en base a esto podemos decir que, como se empleó el Tween 80 al 10 % el riesgo de que produzca daño al organismo es muy bajo.

Para poder realizar el ensayo "In vivo" primero se determinó si los compuestos a estudiar presentaban actividad biológica, para ello se realizó un estudio de actividad para *Artemia salina*, y podemos observar en las gráficas obtenidas (VIII.3) que todos los compuestos considerándolos como compuestos puros presentaron actividad obtenemos DL50 menores a 200 ppm lo cual nos indica que son biológicamente activos según el programa de análisis de Finney (39), también, se observó que en el caso del bioensayo con *Artemia salina* para el Tween 80 al 10 % se presenta una DL50 de 1000 ppm lo cual indica que no tiene actividad citotóxica y esto apoya el resultado obtenido en el cuadro 3, VIII.2. De los 10 compuestos que presentaron actividad se eligieron 7 para el ensayo "In vivo", basándonos en la estructura de los compuestos y sus similitudes entre ellas como se observa en el siguiente cuadro:

Compuestos probados con <i>Artemia salina</i> :	Compuestos elegidos para ensayo "In vivo":
1. AH-0-0	1. AH-0-0
2. AH-I-1	2. AH-I-1
3. AH-I-2	3. AH-I-2
4. AH-I-3	4. AH-I-3
5. AH-I-4	5. AH-I-4
6. AH-I-5	6. AH-I-5
7. AH-I-6	7. AH-I-6
8. AH-I-8	
9. AH-I-9	
10. AH-I-10	

Los 7 compuestos elegidos se administraron como tratamiento a ratones infectados con *Trichinella spiralis* (VIII.7) e *Hymenolepis nana* (VIII.8), así como también, se les administró a los controles (VIII.5). Después del tratamiento correspondiente se realizó la evaluación correspondiente donde a los controles negativos se les realizó una biopsia para determinar la presencia de larvas de *Trichinella spiralis* en el músculo, la disección del intestino para determinar la presencia de parásitos de *Hymenolepis nana* y la evaluación de daños macroscópicos por medio de una autopsia (cuadros, VIII.6) y observamos que ningún ratón presentó daños macroscópicos, ni daños en su conducta, lo cual nos indica que ni los compuestos, ni los disolventes provocan daños al organismo y pueden ser administrados sin riesgo de toxicidad, del mismo modo no se observó presencia de parásitos, lo cual nos indica que los ratones fueron manejados del modo correcto y no hubo infección entre cajas o lotes de ratones.

En la evaluación de los compuestos, los controles positivos y negativos de los lotes de ratones que presentaban infección con *Trichinella spiralis* (VIII.7) observamos una gran variación del número de larvas/ ratón y número de larvas/ gramo de músculo entre lote y lote a una dosis determinada (100 mg/ Kg), por lo cual se realizaron gráficas de comparación para poder evaluar la actividad de los compuestos, de este modo, de las gráficas 12 y 13 (VIII.7) podemos observar que de los controles (fenbendazol y albendazol comerciales), el que presentó mejor actividad antihelmíntica fue el fenbendazol (58 larvas/ gr de músculo) posiblemente se debe al fenilo que esta situado junto al azufre (S) y le confiere mayor actividad ya que disminuyó más notablemente el número de larvas que el albendazol (309 larvas/ gr de músculo) el cual pudo presentar una actividad menor debido a su sustituyente alifático pegado al azufre (S), lo cual varia su actividad, en cuanto a los

compuestos de prueba, el que presentó mayor actividad antihelmíntica fue el AH-I-3 (171 larvas/ gr. de músculo) al cual se le eliminó en su estructura el COOCH₃ de la posición 2 del grupo carbazato y se sustituyó por una amina la cual le aumenta polaridad y aumenta la actividad antihelmíntica sin llegar a igualar la actividad del fenbendazol comercial. El que presentó menor actividad antihelmíntica fue el AH-I-2 (830 larvas/ gr. de músculo) al cual se le eliminó el grupo fenilo y el azufre (S) y se sustituyó por un halógeno (Cl) y ya en comparación con los controles contra compuestos podemos observar que los compuestos comerciales presentan mejor actividad antihelmíntica que los compuestos de prueba aún en el caso del compuesto AH-I-1 que es el fenbendazol sintetizado en el Instituto de Química y que presenta menos actividad que el fenbendazol comercial lo cual se pudo deber a que trabajamos con un compuesto con impurezas y en realidad la dosis administrada no fue la requerida para eliminar el parásito, quedando en el siguiente orden ascendente según su actividad antihelmíntica:

1. Fenbendazol comercial AH-0-0
2. Compuesto AH-I-3
3. Fenbendazol sintetizado AH-I-1
4. Albendazol comercial
5. Compuesto AH-I-6
6. Compuesto AH-I-4
7. Compuesto AH-I-5
8. Compuesto AH-I-2

Para el ensayo de *Hymenolepis nana* se eligieron los compuestos extremos obtenidos de la prueba de *Trichinella spiralis* es decir los compuestos AH-I-3 y AH-I-2, así

como el fenbendazol sintetizado (AH-I-1), además de los controles positivos, negativos y de disolventes. En los resultados obtenidos (VIII.8) podemos notar que existe una variación marcada entre un lote y otro, por lo cual, al igual que en el caso anterior se realizaron gráficas de comparación, en este caso la gráfica de porcentajes de CPS (+) VS los compuestos (Gráfica No. 14) podría no ser tan confiable ya que la muestra tomada a cada ratón no fue significativa pero la tendencia que presenta es la misma que la gráfica de ratones infectados VS los compuestos (Gráfica No.15). Además, se tuvieron que considerar los resultados como porcentaje tomando como 100 % el lote de ratones infectados y sin tratamiento para poder obtener resultados más claros ya que además del número de gusanos por intestino, también variaba la longitud de cada uno, es decir, había intestinos con poco número de parásitos pero la longitud de estos era mayor que otros que presentaban un número grande de parásitos por intestino pero la longitud de estos era menor, lo cual refleja el grado de infección de cada ratón. Observando las gráficas 14 y 15 del inciso VIII.8 podemos notar que en el caso de los controles el albendazol comercial presentó una mayor actividad antihelmíntica que el fenbendazol comercial, el cual presentó una actividad pobre, así en el caso de los compuestos, el AH-I-3 presentó mayor actividad antihelmíntica que el AH-I-2, posiblemente influya que en el compuesto AH-I-3 que tenemos la sustitución de una amina se presente una conjugación en los enlaces del anillo de 5 átomos lo que puede influir en el grado de solubilidad y absorción ,en este bioensayo el fenbendazol sintetizado presentó mayor actividad antihelmíntica que el fenbendazol comercial y ya de modo general y en orden ascendente de actividad antihelmíntica quedan de la siguiente manera

1. Albendazo comercial
2. Compuesto AH-I-3

3. Compuesto AH-I-1, Fenbendazol sintetizado
4. Compuesto AH-I-2
5. Fenbendazol comercial

Comparando de manera general los lotes de ratones tratados con los compuestos y los controles en ambos casos de infecciones (*Trichinella spiralis* e *Hymenolepis nana*) podemos observar que así como para *Trichinella spiralis* el fenbendazol comercial resultó ser el más favorable, para *Hymenolepis nana* el albendazol fue el mejor, y ya que sus pesos moleculares son muy cercanos y en sus estructuras ambas presentan el anillo benzimidazólico, solo varían en que el fenbendazol presenta un fenilo y el albendazol presenta un propilo como sustituyente unido a un azufre (S), aunado a que los dos sufren metabolismo de primer paso en el hígado y dan como productos sulfóxidos de albendazol y fenbendazol, respectivamente, en este caso el comportamiento podría explicarse tomando en cuenta el grado de absorción de cada uno, así como el lugar de absorción y el grado de unión a proteínas ya que el albendazol es casi insoluble y se absorbe a nivel gastrointestinal en un 5 % lo que origina una estancia mas prolongada en el tracto gastrointestinal y un mayor contacto con los parásitos de *Hymenolepis nana* el cual habita en el intestino por lo cual el albendazol actúa mejor a este nivel, mientras el fenbendazol tiene una solubilidad más alta y una absorción mayor que la del albendazol, por lo cual su metabolismo es más rápido y su distribución es mejor lo que origina que llegue en mayor proporción al músculo donde se encuentran las larvas de *Trichinella spiralis* y entre en contacto con ellas actuando mejor a este nivel. En el caso de los compuestos de prueba observamos que su estructura es similar, presentan el anillo benzimidazólico y algunos tienen características similares a las del Fenbendazol solo que

presentan grupos sustituidos como cloruros, metilos y metoxilos lo cual causa la variación en su actividad antihelmíntica, en este caso podemos ver que el compuesto que presentó mayor actividad antihelmíntica es aquel que presenta la sustitución del fenilo y el azufre (S) por un cloro (Cl) en el anillo benzimidazólico aunado a que se sustituye el COOCH_3 por una amina, lo cual puede influir en la actividad del compuesto, del mismo modo el compuesto que presentó menor actividad antihelmíntica es el que tiene un cloro (Cl) como sustituyente en el anillo benzimidazólico, lo cual podemos decir que disminuye su actividad y podemos pensar que toda la estructura completa del anillo benzimidazólico es la que le confiere la actividad antihelmíntica a los compuestos. En el caso del fenbendazol comercial y el sintetizado en el Instituto de Química podemos pensar que la ruta de síntesis o purificación no es la adecuada ya que la coloración de ambos fenbendazoles era distinta y esto podría indicar la variación de los resultados obtenidos ya que la dosificación que se trató con el Fenbendazol sintetizado en el Instituto de Química pudo ser menor que el Fenbendazol comercial debido a que se consideraron las impurezas presentes en el AH-I-1.

Considerando todos los compuestos y los controles empleados podemos decir que si se colocan sustituyentes en el fenilo unido al azufre (S) la actividad antihelmíntica del compuesto se disminuye, del mismo modo que si se sustituyen el fenilo y el azufre (S) por un grupo halógeno. Pero si se sustituye por un halógeno y se sustituye el COOCH_3 por una NH_2 , su actividad es un poco mayor que en los demás casos.

De modo general podemos decir que los compuestos proporcionados no cumplen con las expectativas ya que si presentan la actividad antihelmíntica pero a dosis mas altas que las empleadas con los productos comerciales y esto podría aumentar el riesgo de daño tóxico en el organismo que lo consuma.

X. CONCLUSIONES

- El vehículo empleado es el Tween 80 al 10 % por que produce mejor solubilidad y menor índice de toxicidad.
- Todos los compuestos estudiados presentan actividad en el ensayo para *Artemia salina*.
- A las dosis reportadas en la literatura para la infección por *Trichinella spiralis* e *Hymenolepis nana* los compuestos análogos de fenbendazol presentan menor actividad antiparasitaria que los compuestos comerciales.
- En este ensayo el albendazol comercial es el compuesto con mejores resultados contra *Hymenolepis nana* y el fenbendazol comercial es el mejor contra *Trichinella spiralis*.
- De los 7 compuestos probados el que presentó mejor actividad antihelmíntica fue el compuesto AH-I-3 para ambos parásitos, pero aún así su actividad es menor que la de los compuestos empleados comercialmente.
- El albendazol es menos activo contra *Trichinella spiralis* y más activo contra *Hymenolepis nana* por el sustituyente alifático (CH₂CH₂CH₃), que está unido al azufre (S).
- El fenbendazol es mas activo contra *Trichinella spiralis* que contra *Hymenolepis nana*, por el grupo fenilo que está unido al azufre.

- Los compuestos AH-I-2 y AH-I-4 son más activos que el albendazol pero menos activos que el fenbendazol en el caso de *Trichinella spiralis*.
- El compuesto AH-I-3, presenta mayor actividad que el compuesto AH-I-2, pero no es similar al fenbendazol en el caso de *Hymenolepis nana*.

SUGERENCIAS:

- Se podrían realizar estudios con el fenbendazol pero eliminando el grupo carboximetilo y dejando la amina para variar su actividad.
- Se podrían realizar estudios colocando sustituyentes en orto, meta o para de probables grupos activos principalmente halógenos, para aumentar la polaridad y la basicidad.
- Se podría probar con otro tipo de parásitos, otra vía de administración y en dosis mayores sin exceder los límites de toxicidad.

XI. BIBLIOGRAFÍA

1. Goth W, Clark G. y Johnson, A.R; Farmacología Clínica, 12ª.Edición, Ed. Panamericana, México, 1994, Pág. 430.
2. Avendaño López Ma. del C; Introducción a la Química Farmacéutica, 13ª. Edición, Ed. Interamericana, Mc. Graw-Hill, México, 1991.
3. Katzung B.F; Farmacología Básica y Clínica, 6ª. Edición, Ed. El Manual Moderno, México, 1996, Págs. 401-404.
4. Litter, M; Compendio de Farmacología, 4ª. Edición, Ed. El Ateneo, Argentina, 1988.
5. Wesley, G.C; Farmacología Clínica, 12ª.Edición, Ed. Panamericana, México, 1991
6. Goodman, A.G; Rall, T.W; Nies, A. S. y Taylor, Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 8ª.Edición, Editorial Panamericana, México, 1998, Págs. 939-946.
7. Conn, M., Principios de Farmacología, Ed. El Manual Moderno, México, 1991.
8. Vigar, Zaman, Atlas de Parasitología Clínica, Ed. Médica Panamericana, México, 1982, Pgs. 143, 213.
9. Hernández C. Ma. A; Diseño y Síntesis de Análogos de Triclabendazol, Facultad de Química, UNAM, México, 1992.
10. Corsolio P. R; Guía Profesional de Medicamentos, 4ª. Edición, Ed. El Manual Moderno, México, 1991.
11. Rosestein, S. E; Diccionario de Especialidades Farmacéuticas, 47ª.Edición, Ed. PLM, México, 1997, Págs. 623, 885, 1762, 1495.
12. Mc. Van, R. N; Referencias Farmacéuticas, Ed. El Manual Moderno, México, 1994, Págs. 1034-1036, 1491-1492.
13. Smith, R; Reynard, C; Farmacología, Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires, 1993, Págs. 866-868.

14. Markeli, K. Edward; Parasitología, Diagnóstico, Prevención y Tratamiento, Ed. El Manual Moderno, México, 1981, Págs. 295-299, 231-233.
15. Craig, Faust; Parasitología Clínica, Ed. Salvat Eds, España, 1984.
16. Vandemecum Farmacéutico, Información Profesional de Especialidades, 4ª. Edición, Rezza Eds. S.A, México, 1995.
17. Brown, W. Jarold, Neva, A. Franklin; Parasitología Clínica, 5ª. Edición, Ed. Nueva Editorial Interamericana, México, 1985, Págs. 113-120, 190-191.
18. Romero, C. R; Microbiología y Parasitología Humana. Bases Etiológicas de las Enfermedades Infecciosas, 2ª. Edición, Ed. Médica Panamericana, México, 1999. Págs. 69-699, 718-722.
19. Soberón, y P. G, Peláez, F. D; Nociones de Parasitología Médica y Patología Tropical, Librería de Medicina, México, 1964. Págs.362-368, 241-245.
20. Remington, A. G; Farmacia, Tomo 2, 19ª. Edición, Ed. Médica Panamericana, Págs. 2045-2047.
21. Tay, Z. J; Lara, A. R; Velasco, C. Oscar; Parasitología Médica, Eds. Méndez S. A. de C.V; México, 1998, Págs. 365-372, 213-215.
22. Castilla, L; Cravioto, J. Estadística simplificada, Ed. Trillas, México, 1991.
23. Elks, J; Ganellin, C. R; Dictionary of Drugs, Editorial Chapman and Hall, London, 1990.
24. Ainley Wade, Paul J. Weller, Handbook of Pharmaceutical Excipients, 2ª. Edición, Ed Am. Pharm. Assoc; 1994, Pg. 375.
25. Roth, H. J; Pharmaceutical Chemistry, Vol 2, Editorial Ellis Horwood, Great Britain, 1991.

26. Budavari S; The Merck Index, 20ª Edición, Ed. Merck & Co. Inc. 1996.
27. Fenbendazol, Drugs of Today, (1978), Vol. XIV, No. 1, 43-44.
28. Dickson, D. Despommier; (1993), *Trichinella spiralis* and the concept of niche, J. Parasitology, 79, 472-482.
29. Pharmacology Biochemistry and Behavior, (1995), Vol. 50, No. 4, 521-526.
30. Castro, C.A, Hogan, B.J, Benson, A.K. (1983) Behavioral Effects of Vehicles: DMSO, Ethanol, Tween 20, Tween 80 and Emulphor-620. Archives of Toxicology, 54: 275-287.
31. Mc. Cracken, R; (1978), Efficacy of Mebendazole and Albendazole against *Trichinella spiralis* in mice. J. Parasitology, 64, 214-219.
32. Yopez, M. L, Ortega P. G; (1994), Actualidad sobre la respuesta inmune hacia *Trichinella spiralis*, Ciencia y Desarrollo, 117, 44-50.
33. Sujatha S. E. Fernando, Denham D. A; (1976), The Effects of Mebendazole and Fenbendazole on *Trichinella spiralis* in mice, The Journal of Parasitology, Vol 62, No. 6, 874-876.
34. Mc. Cracken, R; Taylor, D. D; (1980), Mebendazole Therapy of Parenteral Trichinellosis. Science, Vol 207, 1220-1222.
35. Mc.Kellar, Q. A; Scott, E.W. (1990). The Benzimidazole anthelmintic agents a review. J. Vet. Pharmacology, 13, 223-247.
36. Duwei, D. (1977), Fenbendazol, Biological Properties and Activity. Pesticide Science, 8, 550-555.

37. Preston, D. N. (1981), Benzimidazoles and Congeneric Tricyclic Compounds, Wiley Interscience New York, The Chemistry of the heterocyclic compounds. Part I, Vol 40, 6-20.
38. Brown, H. D. Matzak, A.R. Ilves, I.R. (1961) Antiparasitic drugs IV 2-(4-thiazolyl)-benzimidazole: a new anthelmintic; J. Am. Chem. Soc. 83, 1764-1765
39. Meyer, B. N; Ferrigni, N. R; (1982), Brine shrimp a Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents
40. Baeder, C. Bahar, H. (1974), Fenbendazole: a new highly effective anthelmintic. *Experientia*, 30, 753-754.
41. Borgers, M; De Nollins; Verheyen A; De Brabander, M; Thienpon (1975), Effects of new anthelmintics on the microtubular system of parasites. *En microtubule inhibitors*, North- Holland Publishing Co. Amsterdam, 497-508.
42. Behm C. A. Y Bryanc (1979), Anthelmintic action a metabolic approach *Veterinary Parasitology*, 5, 39-49.

XII. ANEXOS

XII.I.- ANEXO “PROPIEDADES DE LOS VEHÍCULOS” (24,26)

PROPILENGLICOL O 1,2-PROPANODIOL: Solvente orgánico, emoliente, humectante y conservador para productos farmacéuticos, vehículo para drogas, líquido viscoso claro de olor característico miscible con agua, acetona, cloroformo, ligeramente acre, higroscópico, soluble en éter. Presenta una densidad de 1.037 g/mL y una DL50 de 25 mL/ Kg.

POLIETILENGLICOL O PEG: Líquido viscoso claro de olor característico, baja toxicidad, se disuelve en agua y solventes orgánicos. Su DL50 en ratas es de 400 a 6000 ppm. Se emplea como base para supositorios, lubricante de tabletas y cápsulas.

ETANOL O ALCOHOL ETÍLICO: C_2H_6O . Se obtiene por destilación destructiva, es flamable, de olor característico, su ingestión puede producir interacciones farmacológicas, desorientación, pérdida del equilibrio, hiperactividad, seguida de depresión. Se emplea como antimicrobiano, desinfectante y solvente, se emplea en la fabricación de productos cosméticos.

METILCELULOSA O ÉTER METÍLICO DE CELULOSA: Solvente en farmacia, conservador en alimentos, laxante, emulsionante, dispersante, soluble en agua fría, éter y ácido acético e insoluble en soluciones salinas saturadas; líquido viscoso miscible en agua, acetona y cloroformo, aumenta su viscosidad con sales inorgánicas, estable a los álcalis y ácidos grasos. Su DL50 en ratas es de 25 mL/ Kg. Se emplea como desintegrante y diluyente.

TWEEN 80 [Éster de sorbitan, derivados de poli (oxi.1,2-etanodiilo)]· C64H124O26, P.M.1310; Líquido oleoso, color limón a ámbar, olor suave característico, sabor cálido, algo amargo, pH entre 6 y 8 en soluciones acuosas. Su densidad es de 1.09 g/mL y su DL50 en ratas y ratones es de 7.5 y 6.3 mL/Kg. Respectivamente por vía intraperitoneal.

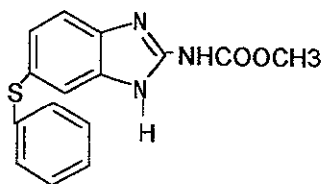
XII.2.- ANEXO 2

“CARACTERISTICAS, CLAVES Y ESTRUCTURAS DE LOS COMPUESTOS ANÁLOGOS BENZIMIDAZÓLICOS”

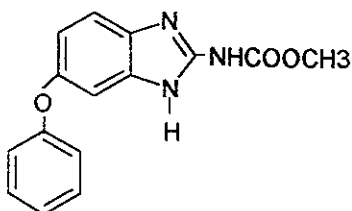
COMPUESTO	R	P.F (°C)	RENDIMIENTO %
C	Cl	Mayor a 285	92
D	Cl, NH ₂	Mayor a 285	86
E	H	230	40
F	o-Metilo	200	70
G	o-Metoxi	Mayor a 270	50

ESTRUCTURAS

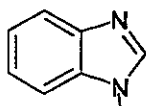
A) AH-0-0



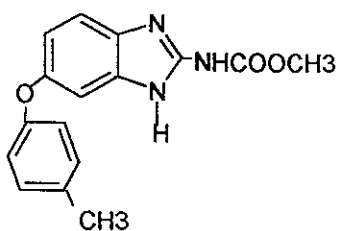
E) AH-I-4



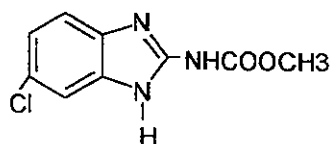
B) AH-I-1



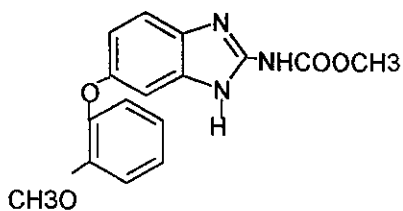
F) AH-I-5



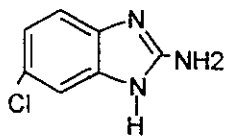
C) AH-I-2



G) AH-I-6

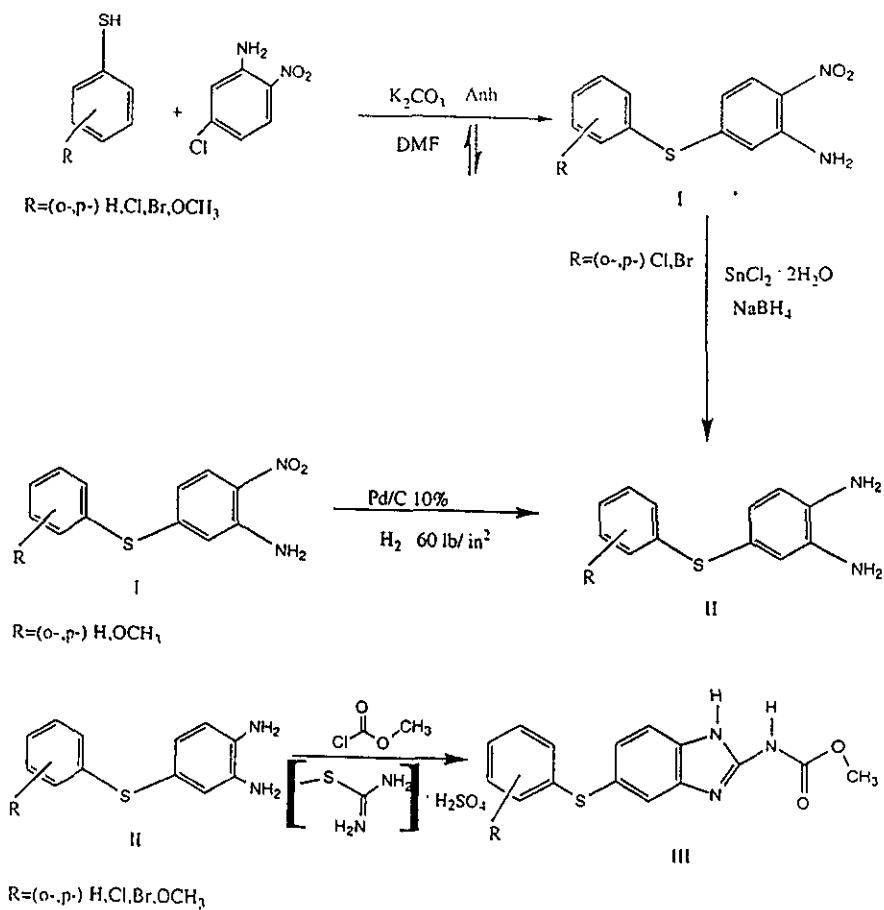


D) AH-I-3

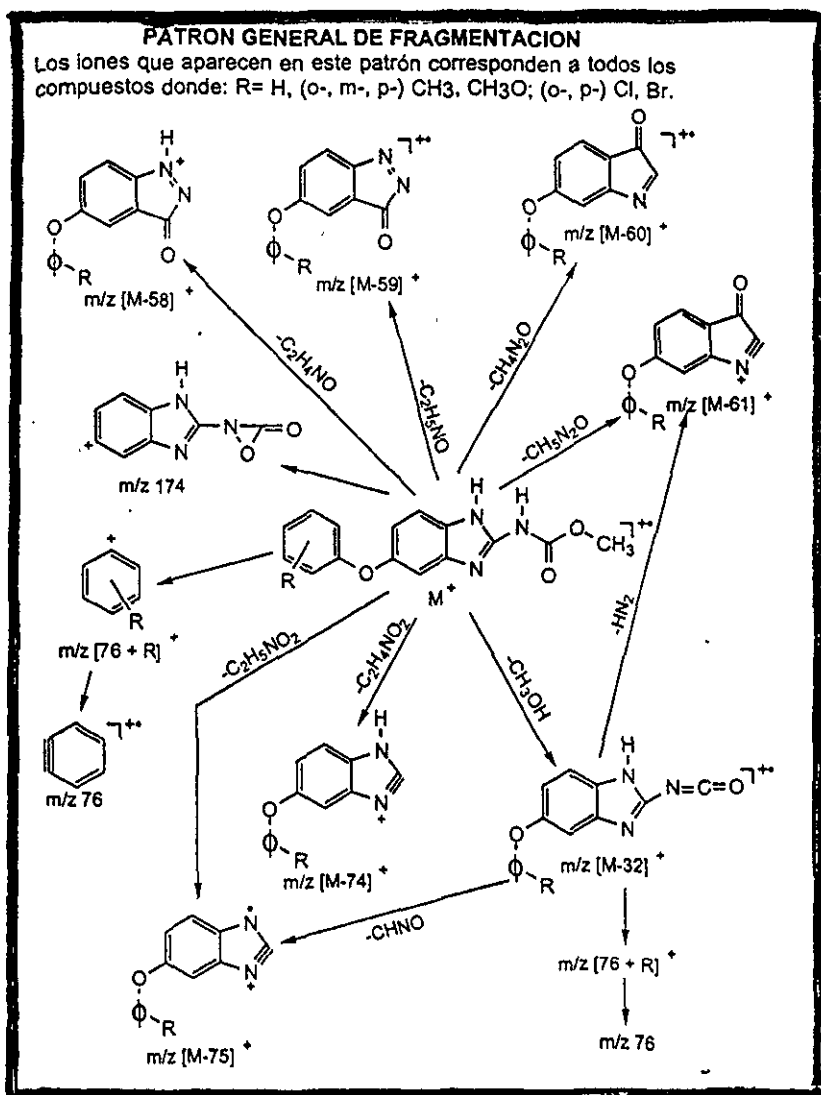


RUTA DE SINTESIS.

Los compuestos intermediarios y productos finales se obtienen a través de la siguiente ruta de síntesis.



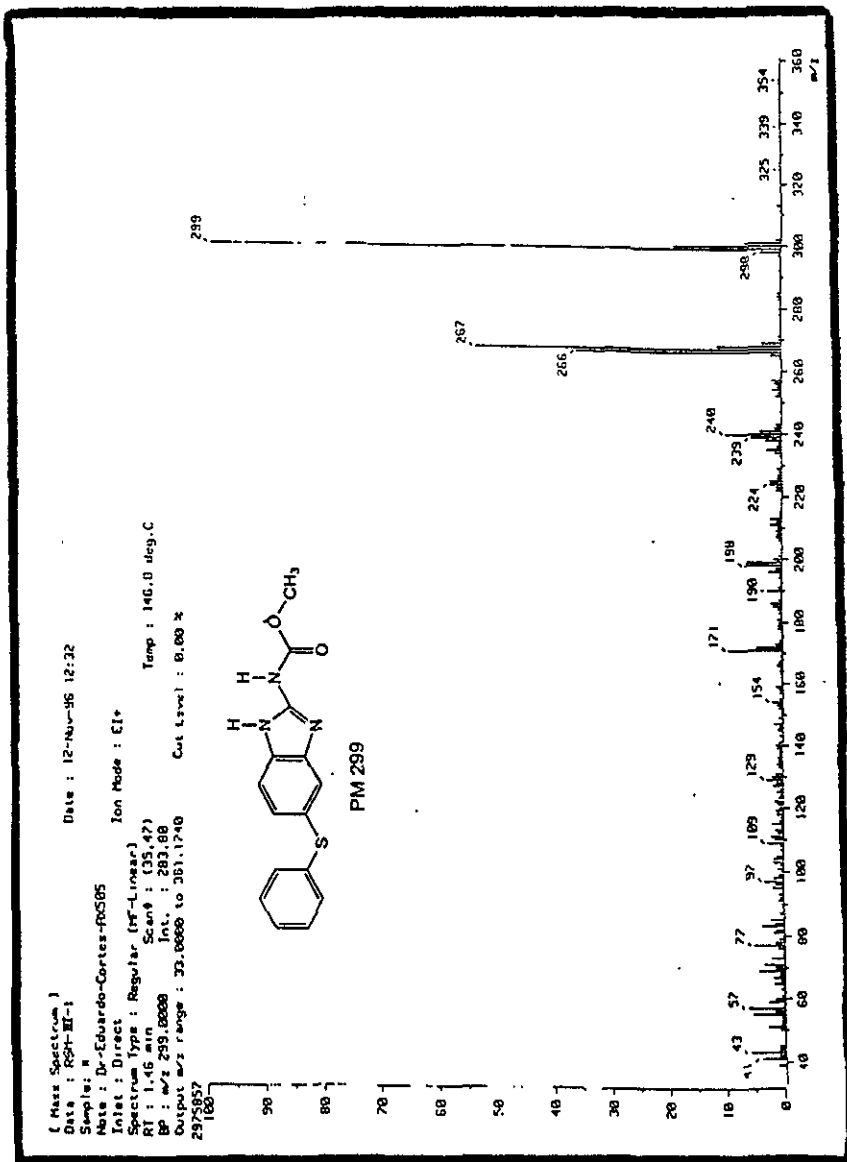
XII.4.- ANEXO 4 "PATRÓN DE FRAGMENTACIÓN DE LOS COMPUESTOS ANÁLOGOS BENZIMIDAZÓLICOS".



XII.5.- ANEXO 5 “ESPECTROS DE ESTUDIO DE LOS COMPUESTOS ANÁLOGOS BENZIMIDAZÓLICOS”

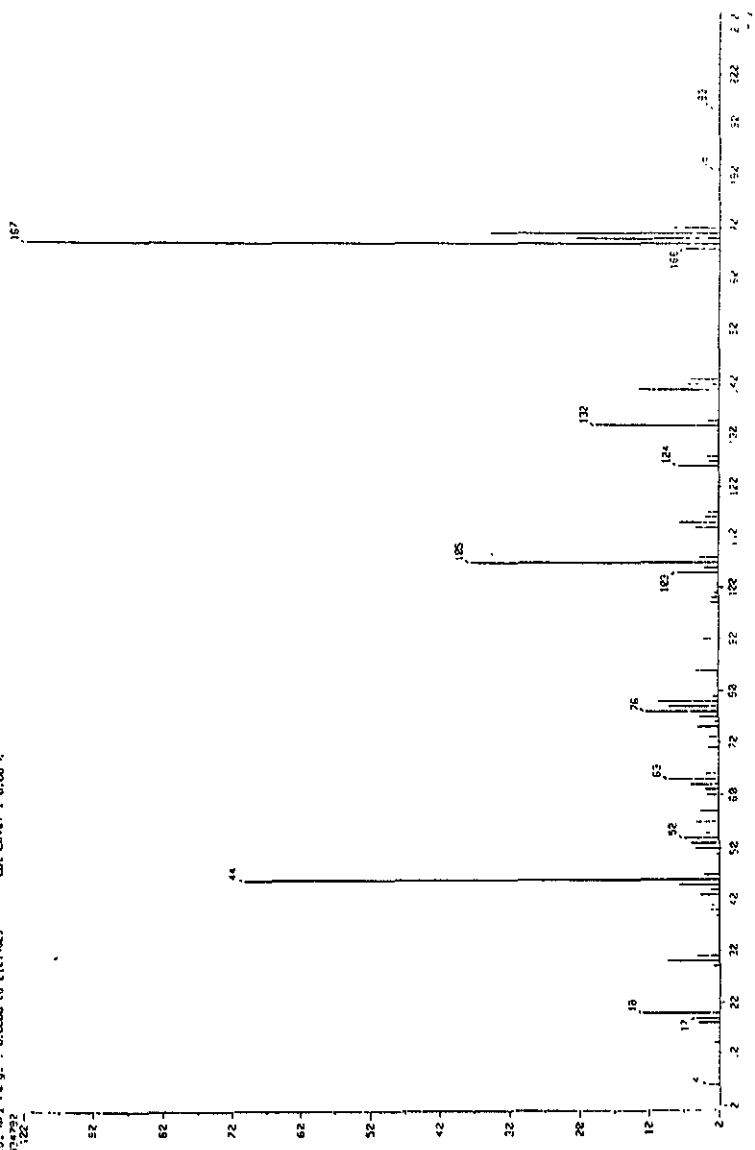
- 1) Espectroscopia de masas del Fenbendazol comercial
- 2) Espectroscopia de masas del compuesto AH-I-3
- 3) Espectroscopia de masas del compuesto AH-I-2
- 4) Espectroscopia de masas del compuesto AH-I-6
- 5) Espectroscopia de infrarrojo del compuesto AH-I-6
- 6) Espectroscopia de resonancia protónica del compuesto AH-I-6
- 7) Espectroscopia de Carbono 13 del compuesto AH-I-6

Espectroscopia de masas del Fenbendazol comercial



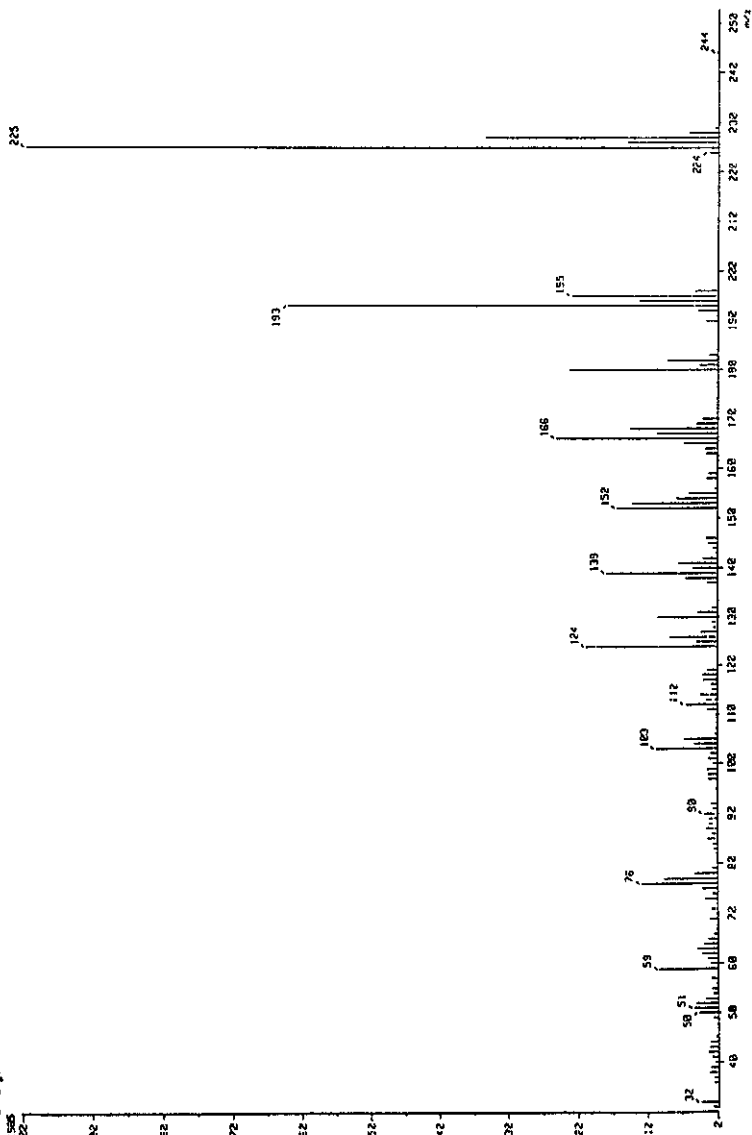
Espectroscopia de masas del compuesto AII 3

Date : 87-Jun-100 03.00
 Name : 87-0311-0311
 Method : Scan mode EI+
 Scan rate : Normal Ion (5.41e5)
 Scan range : 15.000 - 135.000
 Scan : 15.000
 Base Peak : 135.000 (100%)
 Temp : 235.0 deg.C
 P1 : 0.0328 to 217.0625
 Cut Level : 0.000 %
 135.000

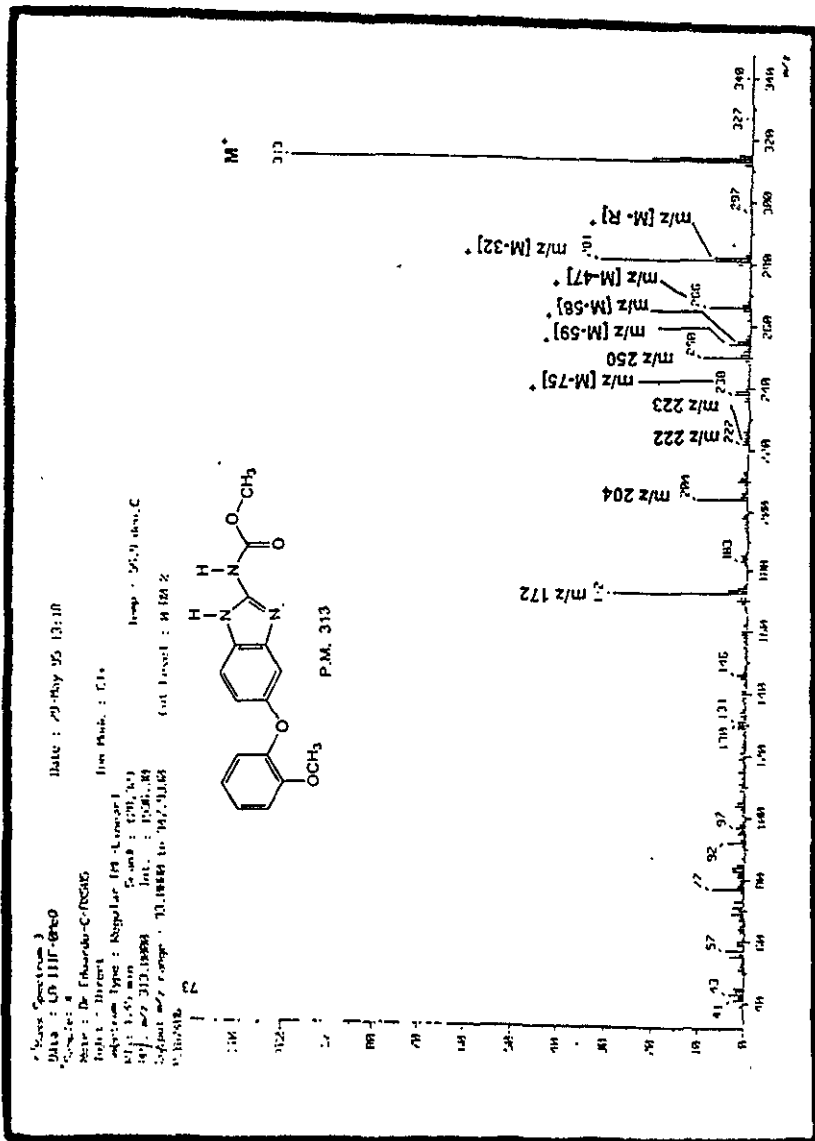


Espectrometría de masas de compuestos AII-1-2

File: 01010101
 Lab: GC-Corona-2000-010 Date: 27-Jun-200 21:04
 Sample: F-11-2
 Name: -
 Method: Direct Normal Ion DF-Scan Ion Mode: FI+
 Detector Type: SEM Gain: (27.47)-(19.26)
 Scan Rate: 2000000 Int. : 247.43 Temp: 225.8 deg C
 Scan range: 30.8635 to 252.8158 Cut Level: 0.00 %
 P041585



Espectroscopia de masas del compuesto AH-I-6



Espectroscopia de infrarrojo y resonancia protónica del compuesto

AH-I-6

