



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

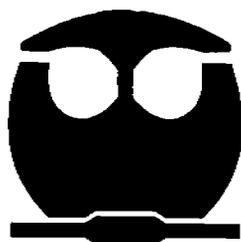
FORMACION DE COMPLEJOS DE INCLUSION DEL
ANTIPARASITARIO EXPERIMENTAL 5-(2,3-DICLOROFENOXI)
-1-METIL-2-(TRIFLUROMETIL)-1H-BENCIMIDAZOL CON
CICLODEXTRINAS PARA MEJORAR SU SOLUBILIDAD

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

OSCAR CESAR BUSTAMANTE GARCIA



MEXICO, D.F.

EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Osca Carr
Bustamante Osca

FECHA: 07-03-2006

FIRMA: 

Jurado

Presidente Dra. Rosa Luz Comejo Rojas

Secretario Dr. Francisco Hernández Luis

Vocal Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez

1er. Suplente Dr. Lino Trejo Reyes

2º. Suplente Dra. Mónica Mercedes Moya Cabrera

Este trabajo fue realizado en el conjunto E de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México y la Facultad de Farmacia de la Universidad Autónoma de Morelos con apoyo del proyecto CONACYT V43629-M

Dr. Juan Gabriel Navarrete Vázquez

Dr. Francisco Hernández Luis

Oscar César Bustamante García

Director de Tesis

Director Técnico

Sustituyente

Agradecimientos

A mis padres por darme el don maravilloso de la vida y por su apoyo incondicional.....Josefina esta tesis es tuya.

Al Dr. Francisco Hernández Luis, por darme la oportunidad de trabajar a su lado y por sus valiosas observaciones en la realización de éste trabajo. Agradezco al Dr. Juan Gabriel Navarrete por su apoyo en la dirección de ésta tesis.

Le agradezco de manera especial a la maestra Alicia Hernández por sus observaciones en la parte técnica, así mismo al Dr. Rafael Castillo por abrirme las puertas de su laboratorio.

Dedico ésta tesis a mis hermanos: Guadalupe, Javier (Pancho), Cachorro (José), Israel, al George, por su comprensión y apoyo..... claro de manera muy especial a Velia Bustamante excelente hermana, sin ti no habría llegado hasta aquí.

A mis amigos de la super Facultad de Química por todos esos momentos y con quienes compartí y espero seguir compartiendo momentos inolvidables.

Agradezco a la Q. Maricela Gutierrez y Q.Georgina Duarte por la realización de los espectros de Infrarrojo, al M. en C. Víctor Trujillo Sánchez por los estudios de Resonancia Magnética, a la Q. F. B. Margarita Guzmán por la espectrometría de masas y a la Q. Margarita Portilla y la Q. Elvia Herrera por la realización del Análisis Térmico.

Y no por ser la última la menos importante a la Universidad Nacional por formarme y ser mi casa durante estos años.

***"Los conceptos y principios fundamentales de la
ciencia son invenciones libres
del espíritu humano."***

Albert Einstein

Índice general

1. Introducción.....	1
1.1 Planteamiento del problema.....	3
1.2 Hipótesis.....	3
1.3 Objetivo	
General.....	3
1.4 Objetivos específicos.....	3
2. Marco teórico.....	5
2.1 Parasitosis como problema de salud pública.....	5
2.2 Los bencimidazoles antiparasitarios.....	8
2.2.1 Características fisicoquímicas de los bencimidazoles antiparasitarios.....	12
2.2.2 Los 2-(Trifluorometil)-1H-bencimidazoles como antiparsitarios.....	13
2.2.3 Síntesis química de los 2-(Trifluorometil)bencimidazoles.....	17

2.3	Uso de ciclodextrinas para incrementar la solubilidad acuosa de los compuestos orgánicos.....	18
2.3.1	Ciclodextrinas : definición y propiedades.....	19
3.	Diseño Experimental y Metodología.....	24
3.1	Síntesis del compuesto GNV14	24
3.2	Síntesis del compuesto GNV7	26
3.3	Formación de los complejos de inclusión GNV14 con β -Ciclodextrina e Hidroxipropil- β -Ciclodextrina por el método de cosolvencia.....	26
3.4	Formación del complejo de inclusión GNV14 con β -Ciclodextrina mediante el uso de microondas.....	28
3.5	Caracterización de los complejos de inclusión de GNV14 / β -Ciclodextrina y GNV14 /Hidroxipropil- β -ciclodextrina por espectroscopia de infrarrojo, calorimetría diferencial de barrido y termogravimetría.....	28
3.6	Cuantificación de la solubilidad acuosa del compuesto GNV14 y los complejos mediante cromatografía de líquidos.....	29

4. Resultados y discusión.....	30
4.1 Síntesis del compuesto GNV14	30
4.2 Complejos de inclusión.....	34
4.2.1 Curva de calibración.....	34
4.2.2 Determinación de la solubilidad acuosa del compuesto GNV14	35
4.2.3 Medición de la solubilidad acuosa del complejo GNV14 / β -Ciclodextrina.....	36
4.2.4 Espectroscopía de infrarrojo del complejo GNV14 / β -Ciclodextrina.....	36
4.2.5 Análisis térmico de la β -Ciclodextrina pura.....	39
4.2.6 Análisis térmico del compuesto GNV14 puro.....	40
4.2.7 Análisis térmico de la mezcla física GNV14 / β -Ciclodextrina.....	41
4.2.8 Análisis térmico del complejo de inclusión GNV14 / β -Ciclodextrina.....	42
4.2.9 Formación del complejo de inclusión	

GNV14/ β-Ciclodextrina por microondas.....	44
4.3 Complejo de inclusión	
GNV14/Hidroxiopropil-β-Ciclodextrina.....	46
4.3.1 Evaluación de la solubilidad del complejo	
GNV14/ Hidroxiopropil-β-Ciclodextrina.....	46
4.3.2 Espectroscopía de infrarrojo del complejo	
GNV14/ Hidroxiopropil-β-Ciclodextrina.....	47
4.3.3 Análisis térmico de la Hidroxiopropil- β -Ciclodextrina pura.....	50
4.3.4 Análisis térmico de la mezcla física	
GNV14/ Hidroxiopropil-β-Ciclodextrina.....	51
4.3.5 Análisis térmico del complejo	
GNV14/ Hidroxiopropil-β-Ciclodextrina.....	52
5. Conclusiones.....	54
Referencias.....	55
Anexo A. Parte experimental.....	59
A.1.1 Síntesis de 1,2-diclorofenoxi-3-(4-nitrofenoxi)benceno (1).....	59
A.1.2 Síntesis de 4-(2,3-diclorofenoxi)anilina (2).....	60

A.1.3 Síntesis de 4-(2,3-diclorofenoxi)acetanilida (3).....	60
A.1.4 Síntesis de 4-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroacetanilida(4).....	61
A.1.5 Síntesis de 4-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina(8).....	62
A.1.6 Síntesis de 4-(2,3-diclorofenoxi)-1,2-fenilendiamina(9).....	62
A.1.7 Síntesis de 5(6)-(2,3-diclorofenoxi)-2-(trifluometil)-1 <i>H</i> - bencimidazol(GNV7).....	63
A.1.8 Síntesis de 4-(2,3-diclorofenoxi)- <i>N</i> -metil-2-nitroacetanilida(5).....	65
A.1.9 Obtención de 4-(2,3-diclorofenoxi)- <i>N</i> -metil-2-nitroanilina(6).....	66
A.1.10 Síntesis de 4-(2,3-diclorofenoxi)- <i>N</i> -metil-1,2-fenilendiamina(7).....	66
A.1.11 Síntesis de 5-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-2-(trifluometil)-1 <i>H</i> - bencimidazol(GNV14).....	67
A.2.1 Formación del complejo GNV14 /β-Ciclodextrina.....	69
A.2.2 Mezcla física GNV14 /β-Ciclodextrina.....	69
A.2.3 Formación del complejo GNV14 /β-Ciclodextrina por microondas.....	70

A.2.4	Curva de calibración.....	71
A.2.5	Solubilidad de GNV14	72
A.2.6	Solubilidad del complejo GNV-14 /β-Ciclodextrina.....	73
A.2.7	Formación del complejo GNV-14 /Hidroxipropil-β-Ciclodextrina.....	73
A.2.8	Mezcla física GNV14 /Hidroxipropil-β-Ciclodextrina.....	74
A.2.9	Solubilidad del complejo GNV14 /Hidroxipropil-β-Ciclodextrina.....	74
Apéndice B. Espectroscopia, espectrometría y análisis térmico75		
Espectro B.1 (IR) Síntesis de 1,2-diclorofenoxi- 3-(4-nitrofenoxi)benceno (1).....76		
Espectro B.2 (EM) Síntesis de 1,2-diclorofenoxi- 3-(4-nitrofenoxi)benceno (1).....76		
Espectro B.3 (EM) 4-(2,3-diclorofenoxi)acetanilida(3).....77		
Espectro B.4 (IR) 4-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroacetanilida (4).....77		
Espectro B.5 (EM) 4-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroacetanilida (4).....78		
Espectro B.6 (IR) 4-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina (8).....78		

Espectro B.7 (EM) 4-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina (8).....	79
Espectro B.8 (IR) 5(6)-(2,3-diclorofenoxi)-2 -(trifluometil)-1 <i>H</i> -bencimidazol (GNV7).....	79
Espectro B.9 (EM) 5(6)-(2,3-diclorofenoxi)- 2-(trifluometil)-1 <i>H</i> -bencimidazol (GNV7).....	80
Espectro B.10(H^1 -RMN) 5(6)-(2,3-diclorofenoxi)- 2-(trifluometil)-1 <i>H</i> -bencimidazol (GNV7).....	80
Espectro B.11 (H^1 -RMN)5(6)-(2,3-diclorofenoxi)- 2-(trifluometil)-1 <i>H</i> -bencimidazol (GNV7).....	81
Espectro B.12 (C^{13} -RMN)5(6)-(2,3-diclorofenoxi)- 2-(trifluometil)-1 <i>H</i> -bencimidazol (GNV7).....	82
Espectro B.13 (IR) <i>N</i> -4-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitrofenil)- <i>N</i> -metilacetamida (5)	83
Espectro B.14 (EM) <i>N</i> -4-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitrofenil)- <i>N</i> -metilacetamida (5).....	83
Espectro B.15(IR) 4-(2,3-diclorofenoxi)- <i>N</i> -metil -2-nitroanilina (6).....	84
Espectro B.16(EM) 4-(2,3-diclorofenoxi)- <i>N</i> -metil -2-nitroanilina (6).....	84

Espectro B.17(EM) 5-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil -2-(trifluometil)-1H-bencimidazol(GNV14).....	85
Espectro B.18 (IR) 5-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-2-(trifluometil)-1H bencimidazol(GNV14).....	85
Espectro B.19(H ¹ -RMN) 5-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-2-(trifluometil)-1H bencimidazol(GNV14).....	86
Espectro B.20(H ¹ -RMN) 5-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-2-(trifluometil)-1H bencimidazol(GNV14).....	87
Espectro B.21(C ¹³ -RMN) 5-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-2-(trifluometil)-1H bencimidazol(GNV14).....	88
Espectro(IR) B.23 β-Ciclodextrina.....	89
Espectro B.24(IR) Mezcla física de β-Ciclodextrina y GNV14	89
Espectro B.25 (IR) Complejo de inclusión GNV14 / β-Ciclodextrina.....	90
Espectro B.26(IR) Hidroxipropil-β-ciclodextrina.....	94
Espectro B.27 (IR) Mezcla física de GNV14 / Hidroxipropil-β- Ciclodextrina.....	95
Espectro B.28 (IR) Complejo de inclusión GNV14 / Hidroxipropil-β-Ciclodextrina.....	95

Termograma B.1 DSC de β -Ciclodextrina pura.....	90
Termograma B.2 TG de β -Ciclodextrina pura.....	91
Termograma B.3 DSC del compuesto GNV14	91
Termograma B.4 TG del compuesto GNV14	92
Termograma B.5 DSC de la mezcla física GNV14 / β -Ciclodextrina.....	92
Termograma B.6 TG de la mezcla física GNV14 / β -Ciclodextrina.....	93
Termograma B.7 DSC del complejo de inclusión GNV14 / β -Ciclodextrina.....	93
Termograma B.8 TG del complejo de inclusión GNV14 / β -Ciclodextrina.....	94
Termograma B.9 Hidroxipropil- β -Ciclodextrina pura.....	96
Termograma B.10 DSC de la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina pura (Técnica con orificio).....	96
Termograma B.11 DSC Hidroxipropil- β -Ciclodextrina (Técnica sin orificio).....	97
Termograma B.12 DSC de la Mezcla física GNV14 /Hidroxipropil- β -Ciclodextrina(Técnica con orificio).....	97

Termograma B.13 DSC de la Mezcla física GNV14/Hidroxiopropil-β-Ciclodextrina (Técnica sin orificio).....	98
Termograma B.14 TG Mezcla física GNV14/Hidroxiopropil-β-Ciclodextrina.....	98
Termograma B.15 DSC del complejo de inclusión GNV14/Hidroxiopropil-β-Ciclodextrina(Técnica sin orificio).....	99
Termograma B.16 DSC del complejo de inclusión GNV14/Hidroxiopropil-β-Ciclodextrina (Técnica con orificio).....	99
Termograma B.17 TG del complejo de inclusión GNV14/Hidroxiopropil-β- Ciclodextrina.....	100

1. Introducción

Las enfermedades parasitarias constituyen uno de los problemas cruciales de salud pública en los países en vías de desarrollo. Tradicionalmente, dichas enfermedades se han dividido en parasitosis gastrointestinales y parasitosis sistémicas. Entre las primeras encontramos aquellas causadas por helmintos como *Ascaris lumbricoides* y *Necator americanus* y aquellas provocadas por protozoarios como *Giardia intestinalis* y *Entamoeba histolytica*. En el segundo grupo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) ha informado que las cinco enfermedades parasitarias sistémicas que afectan a los países en vías de desarrollo son: la enfermedad de Chagas, el paludismo, la leishmaniasis, la oncocercosis y la tuberculosis. Las tres primeras causadas por protozoarios, la cuarta por una filaria y la última por una bacteria (OMS, 2000).

La terapéutica antiparasitaria incluye diversos compuestos, de los que destacan dos derivados del 1H-bencimidazol-2-carbamato de metilo: Albendazol y Mebendazol. (Cook, 1990). Ambos compuestos poseen un amplio espectro de acción contra parásitos del tracto gastrointestinal; sin embargo, su uso en parasitosis sistémicas está limitado por dos problemas principales: su insolubilidad acuosa y la inestabilidad metabólica. Adicionalmente, se está presentando una creciente resistencia por parte de los organismos a estos compuestos (Gottschall et al, 1990).

Recientemente, nuestro grupo de investigación sintetizó y evaluó *in vitro* varios derivados del 2-(trifluorometil)-1*H*-bencimidazol (Navarrete, 2004). La mayoría de estos compuestos mostraron actividad antiprotozoaria y nematocida similar o de mayor potencia que los fármacos de uso clínico y con un mecanismo de acción distinto. Uno de estos compuestos es el 5-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-2-(trifluorometil)-1*H*-bencimidazol (**GNV14**), el cual presentó la mejor potencia antiparasitaria contra *Giardia intestinalis*, *Trichomonas vaginalis*, *Trichinella spiralis* y *C. elegans*. A pesar de los buenos resultados obtenidos *in vitro*, la actividad de **GNV14** disminuyó en estudios *in vivo*. Situación atribuida a su escasa solubilidad acuosa, la cual depende de su naturaleza estructural (Navarrete, 2004).

Existen varios procedimientos para tratar de incrementar la solubilidad acuosa de compuestos hidrofóbicos. Uno de ellos es mediante la formación de complejos de inclusión utilizando a las ciclodextrinas (Loftsson y Brewster, 1996).

Con el propósito de incrementar la solubilidad acuosa del compuesto **GNV14**, el objetivo de este trabajo fue formar dos complejos de inclusión, utilizando a la β -ciclodextrina y a la Hidroxipropil- β -ciclodextrina.

1.1 Planteamiento del problema

Dado que el compuesto **GNV14**, con muy buena actividad antiparasitaria en estudios *in vitro*, no mostró buena eficacia en los estudios *in vivo* probablemente debido a su insolubilidad acuosa, ¿Es posible incrementar el valor de esta propiedad fisicoquímica en este compuesto utilizando algún recurso que no vaya a alterar sus características antiparasitarias?

1.2 Hipótesis

Por la naturaleza estructural de **GNV14**, la manera más adecuada de incrementar su solubilidad acuosa es mediante el uso de ciclodextrinas, ya que los complejos de inclusión formados, no modificarán la estructura de **GNV14** con la consecuente conservación de su actividad antiparasitaria.

1.3 Objetivo General

- Formar complejos de inclusión de **GNV14** con dos ciclodextrinas para incrementar su solubilidad acuosa.

1.4 Objetivos específicos

- Obtener el compuesto **GNV14** en cantidades suficientes para realizar los estudios de formación de complejos de inclusión.
 - Obtener el compuesto **GNV7** en cantidad de 100 mg para utilizarlo como marcador de inestabilidad en estudios analíticos.
-
-

- Formar el complejo de inclusión **GNV14** con β -ciclodextrina e hidroxipropil- β -ciclodextrina utilizando el método de cosolvencia.
- Formar el complejo de inclusión **GNV14** con β -ciclodextrina mediante el uso de microondas.
- Caracterizar los complejos de inclusión de **GNV14**/ β -ciclodextrina y **GNV14**/Hidroxipropil- β -ciclodextrina mediante espectroscopia de infrarrojo, calorimetría diferencial de barrido (DSC) y termogravimetría (TG).
- Cuantificar la solubilidad acuosa de **GNV14**, y los complejos de **GNV14** con ciclodextrinas mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC).

2. Marco teórico

En este apartado se encuentra la información referencial del presente trabajo de tesis. La información esta dividida en tres secciones principales: la primera contiene aspectos relevantes de las parasitosis como problema de salud pública; la segunda presenta algunas generalidades sobre los bencimidazoles como antiparasitarios, y la tercera incluye aspectos sobre el uso de las ciclodextrinas para incrementar la solubilidad acuosa de compuestos orgánicos.

2.1 Las parasitosis como problema de salud pública

Las enfermedades parasitarias, tanto las helmintiasis como las protozoosis, siguen siendo uno de los principales problemas de salud pública en el mundo y principalmente en países en vías de desarrollo. De acuerdo a estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), más de la mitad de la población mundial padece de alguna infección parasitaria causada por helmintos y protozoarios (OMS, 2002). Las infecciones causadas por helmintos afectan tanto a humanos, como a animales domésticos. La magnitud de estas parasitosis es tan grande que en la actualidad representa el grupo más importante de infecciones sobre el planeta (Horton, 2003). Se estima que cerca de 450 millones de personas infectadas por helmintos, principalmente niños, se encuentran hospitalizadas y requieren de parasiticidas (Crompton 1999). En este rubro, las infecciones causadas por gusanos con ganchos (cestodos) matan alrededor de 65,000 personas cada año (Horton, 2003). En nuestro

país, la población infantil es la más afectada por helmintiasis (www.salud.gob.mx), por lo que se han implementado campañas para desparasitar a la niñez como lo recomienda la OMS (Colley, 2001). Por otro lado, llama la atención que para las infecciones causadas por protozoarios no se cuenta con campañas similares.

Las protozoosis, por su parte, constituyen un segundo grupo de enfermedades parasitarias de importancia en medicina humana y veterinaria. Existen protozoarios que infectan el tracto gastrointestinal como *Giardia intestinalis* y *Entamoeba histolytica*, así como protozoarios que afectan otros órganos y sistemas del organismo, como son *Trichomonas vaginalis* y *Trypanosoma cruzi* (Cabello, 1999).

En la Tabla 1 se enlistan algunas de las enfermedades parasitarias que la OMS considera de atención prioritaria (OMS, 2000), éstas incluyen helmintiasis y protozoosis de ubicación extraintestinal (parasitosis sistémicas). A diferencia de las infecciones en el tracto gastrointestinal, el tratamiento de las parasitosis sistémicas requiere que los compuestos alcancen concentraciones plasmáticas adecuadas para erradicar la infección. Algunos antiparasitarios presentan características no deseables que limitan su eficacia sistémica, por ejemplo, alta toxicidad, insolubilidad acuosa o problemas de estabilidad. Por lo que hay una necesidad urgente de desarrollar nuevos compuestos antiparasitarios con características estructurales que rebasen los inconvenientes antes mencionados y que puedan ser utilizados para combatir las infecciones sistémicas, las

cuales requieren para su tratamiento de altas dosis (> 15 mg/Kg) por tiempos prolongados (Flórez et al, 1996).

Tabla 1. Enfermedades parasitarias de atención prioritaria

Enfermedad	Parásito	Características de la enfermedad	Millones de personas afectadas en el mundo
Filariasis linfática	<i>Wuchereria bancrofti</i> y <i>malawi</i>	Produce malformaciones y discapacidad, afecta a las extremidades, genitales y órganos internos.	120
Esquistosomiasis	<i>Schistosoma haematobium</i> , <i>mansoni</i> y <i>japonicum</i>	Induce un debilitamiento muscular generalizado, lo que provoca ausentismo laboral y educativo en los niños.	200
Leishmaniasis	<i>Leishmania donovani</i> , <i>braziliensis</i> y <i>tropica</i>	Produce daño en órganos internos, lesiones cutáneas y mutilaciones en la nariz y la boca	12
Oncocercosis	<i>Onchocerca volvulus</i>	Provoca ceguera	85
Enfermedad del sueño	<i>Trypanosoma brucei</i> , <i>gambiense</i> y <i>rhodesiense</i>	Induce un trastorno debilitante a largo plazo y daño mental	55
Enfermedad de Chagas	<i>Tripanosoma cruzi</i>	Produce lesiones irreversibles al corazón e intestinos	18

2.2 Los bencimidazoles antiparasitarios

El interés por el estudio de los derivados del bencimidazol como moléculas con posible actividad biológica surgió en 1950 cuando se encontró que la vitamina B12 tenía como núcleo central una molécula de este tipo unida a un monosacárido (Figura 1) (Townsend y Wise, 1990).

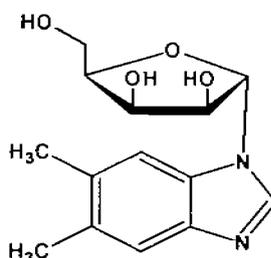


Figura 1. Estructura central de la vitamina B12.

Investigaciones posteriores pusieron de manifiesto que algunos derivados del bencimidazol presentaban diversas actividades biológicas, tales como la hipotensora, anticonvulsiva, anestésica, antibiótica y antibacteriana (Cook, 1990).

En 1961 se descubrió que un derivado del bencimidazol, el Tiabendazol, presentaba actividad antiparasitaria de amplio espectro contra helmintos gastrointestinales (Figura 2). Sin embargo, los primeros estudios *in vivo* de esta sustancia indicaron que ocasionaba diversas reacciones adversas a los pacientes y se transformaba rápidamente a un metabolito sin acción parasiticida, situación que limitó su utilidad clínica (Gottschall et al, 1996; Horton, 2000).

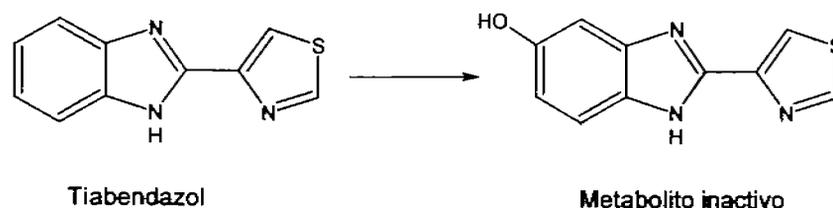


Figura 2. El Tiabendazol y su metabolito inactivo.

A pesar de ello, el descubrimiento del Tiabendazol fue muy importante ya que marcó la llegada de un nuevo grupo estructural de compuestos para el tratamiento de las enfermedades parasitarias. Para tratar de optimizar y buscar nuevos derivados del bencimidazol como agentes antiparasitarios, se sintetizaron y evaluaron cientos de compuestos. De estos trabajos, surgió la segunda generación de bencimidazoles con grupos como carbamato de metilo, acilamino, y urea en posición 2. Los 1*H*-bencimidazol-2-carbamato de metilo (Figura 3) se ubicaron como agentes antihelmínticos de amplio espectro con buena eficacia clínica y prácticamente nulas reacciones adversas (Cook, 1990). Dos compuestos de este grupo son los de mayor uso actualmente, el Albendazol y el Mebendazol (Flórez et al, 1996).

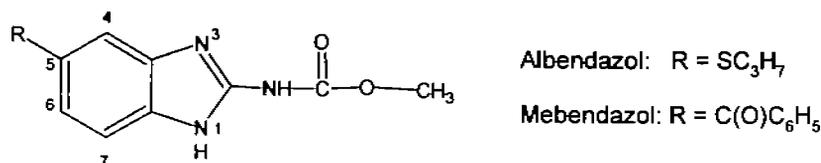


Figura 3. Estructura del Albendazol y Mebendazol.

De los estudios cualitativos de relaciones estructura-actividad realizados en la segunda generación de bencimidazoles, se pudo determinar que para conservar e incrementar la actividad antihelmíntica del bencimidazol, era muy importante conservar el protón en la posición 1 y las posiciones 2, 5 y 6 de esta estructura debían estar sustituidas. Cualquier modificación en otra posición, causaría la pérdida de actividad antiparasitaria (Townsend y Wise, 1990).

El mecanismo de acción antiparasitario del Albendazol y Mebendazol es a través de la inhibición de la polimerización de la tubulina (Martín et al, 1997). Como consecuencia de esta inhibición se presenta la desintegración de los microtúbulos en el citoplasma de las células intestinales de los parásitos con la consecuente muerte del mismo (Lacey, 1990).

En la Tabla 2 se muestran algunos de los parásitos sensibles al Albendazol y Mebendazol. Ambos compuestos se clasifican como antiparasitarios de amplio espectro. Un aspecto importante a señalar hoy en día, es que se han detectado cepas de parásitos resistentes a estos bencimidazoles, situación que obliga a buscar nuevos compuestos de acción antiparasitaria, fundamentalmente con mecanismo de acción distinto a estos dos compuestos (Cook, 1990; Jackson y Coop,2000).

Tabla 2. Actividades antiparasitarias para el Albendazol y Mebendazol

Parásito	Mebendazol	Albendazol
Nematodos intestinales		
<i>Ascaris lumbricoides</i>	+	+
<i>Strongyloides stercoralis</i>	-	+
<i>Capillaria philippinensis</i>	+	+
<i>Trichuris trichiura</i>	+	+
<i>Enterobius vermicularis</i>	+	+
Nematodos extraintestinales		
<i>Trichinella spiralis</i>	±	+
<i>Gnathostoma spinigerum</i>	±	+
<i>Larvae migrans cutánea</i>	±	+
<i>Larvae migrans vícerai</i>	-	±
<i>Onchocerca volvulus</i>	±	-
Cestodos		
<i>Echinococcus granulosus</i>	±	+
<i>Echinococcus multilocularis</i>	±	+
<i>Tenia solium</i> (cisticerco)	-	+

No todos los derivados bencimidazólicos descubiertos como antiparasitarios son de amplio espectro, algunos como el Triclabendazol y el compuesto alfa (6-cloro-2-(metiltio)-4-(1-naftiloxi)-1H-bencimidazol) muestran acción selectiva sobre el trematodo *Fasciola hepática*. Comportamiento atribuido a la naturaleza de los sustituyentes presentes en estas moléculas (Figura 4).

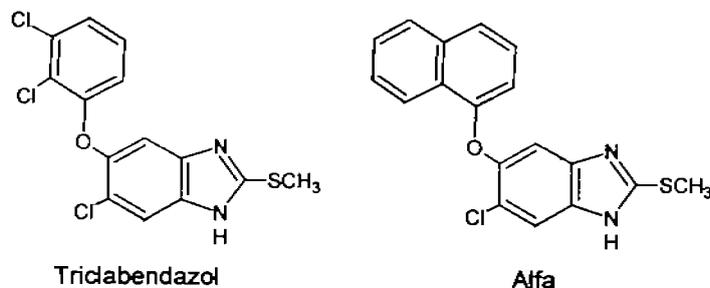


Figura 4. Estructura de dos fasciolicidas.

2.2.1 Características fisicoquímicas de los bencimidazoles antiparasitarios

Químicamente un bencimidazol se puede definir como una molécula anular diazólica benzofusionada (Gilchrist, 1995). Presentan tautomería, ya que el protón en un átomo de nitrógeno es intercambiable con el otro nitrógeno (Figura 5). Esta característica hace que el bencimidazol sea realmente una mezcla de dos especies químicas (Townsend y Wise, 1990).

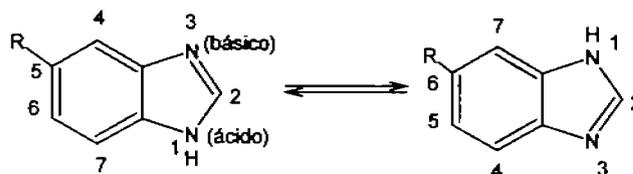


Figura 5. Tautomería y características ácido-base de los bencimidazoles.

Los derivados del bencimidazol son productos cristalinos y con puntos de fusión mayores a 200 °C; son insolubles en agua, particularmente los 1#bencimidazol-2-

carbamato de metilo como el Albendazol y el Mebendazol. Los átomos de nitrógeno poseen características ácido-base: el nitrógeno de la posición 1 puede donar el protón con el consecuente comportamiento ácido, mientras que el nitrógeno de la posición 3 es básico porque puede aceptar un protón, como lo muestra la figura 5 (Townsend y Wise, 1990).

2.2.2 Los 2-(Trifluorometil)-1*H*-bencimidazoles como antiparasitarios

Los derivados del 2-(Trifluorometil)-1*H*-bencimidazol constituyen un grupo de sustancias que ha mostrado, desde su aparición en la década de los cincuenta, diversas actividades biológicas (Smith, 1953).

Nuestro grupo de investigación sintetizó varios derivados bencimidazólicos de este tipo y les determinó su actividad antiparasitaria *in vitro*. En la Tabla 3 se muestra la susceptibilidad de *Giardia intestinalis* y *Entamoeba histolytica* a estos derivados. En este estudio se utilizaron como referencias al Metronidazol (nitroimidazol) y al Albendazol por ser antiparasitarios de uso clínico. Se puede observar que en el caso de *G. intestinalis*, todos ellos, con excepción de **G3**, fueron más activos que el Metronidazol aunque ninguno superó al Albendazol. Con relación a *E. histolytica*, todos fueron más activos que el Metronidazol y el Albendazol (Navarrete et al, 2001).

Dos hallazgos principales arrojaron el estudio anterior. El primero es que los compuestos **G4-G7** no presentan el protón en posición 1, requisito señalado como indispensable para la actividad antiparasitaria. El segundo está relacionado con el mecanismo de acción, el cual al parecer no involucra la inhibición de la polimerización de tubulina (Navarrete, 2001).

Tabla 3. Actividad antiparasitaria de derivados del 2-(trifluorometil)-1*H*-bencimidazol



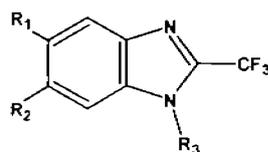
Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	<i>G. intestinalis</i> CI ₅₀ (μM)	<i>E. histolytica</i> CI ₅₀ (μM)
G1	H	H	H	0.107	0.069
G2	Cl	Cl	H	0.078	0.011
G3	Cl	H	H	1.282	0.022
G4	H	H	CH ₃	0.064	0.040
G5	Cl	Cl	CH ₃	0.260	0.033
G6	Cl	H	CH ₃	0.042	0.046
G7	H	Cl	CH ₃	0.127	0.008
Metronidazol				1.220	0.350
Albendazol				0.037	56.330

Los buenos resultados obtenidos, despertaron el interés de continuar preparando más derivados bencimidazólicos conservando el grupo triflurometilo en posición 2, el protón o metilo en posición 1 y los sustituyentes que presentan el Albendazol, Mebendazol y Triclabendazol, en las posiciones 5 o 6. Los resultados de actividad antiparasitaria se muestran en la Tabla 4.

El compuesto **GNV14** tuvo una potencia similar al Albendazol y 40 veces mayor a la del Metronidazol contra el parásito *G. intestinalis*. El mismo compuesto fue 13 veces más efectivo contra *T. vaginalis* en comparación con el Metronidazol y 99 veces más activo que el Albendazol (Navarrete, 2004).

En un intento de explorar la posible actividad antihelmíntica *in vitro* de esta última serie de compuestos, se utilizaron dos nematodos para este propósito; un helminto sistémico (*Trichinella spiralis*) y uno de vida libre (*C. elegans*). Para el primero **GNV14** fue el más activo ya que a concentraciones de 0.037 μM redujo al 50% la población de este parásito. Para el segundo, **GNV14** provocó una reducción del 98% de la población a concentraciones de 10 μM (Navarrete, 2004).

Tabla 4. Actividad antiparasitaria de derivados bencimidazólicos



Compuesto	R ₁	R ₂	R ₃	<i>G. intestinales</i> CI ₅₀ (μM)	<i>T. vaginalis</i> CI ₅₀ (μM)
GNV1	SC ₃ H ₇	H	H	1.515	0.345
GNV5	C(O)C ₆ H ₅	H	H	2.310	28.440
GNV7	2, 3- diclorofenoxi	H	H	0.054	0.535
GNV8	SC ₃ H ₇	H	CH ₃	10.450	0.200
GNV12	C(O)C ₆ H ₅	H	CH ₃	1.098	29.590
GNV14	2, 3- diclorofenoxi	H	CH ₃	0.030	0.016
GNV15	H	SC ₃ H ₇	CH ₃	1.403	2.584
GNV19	H	C(O)C ₆ H ₅	CH ₃	1.285	10.64
GNV21	H	2, 3- diclorofenoxi	CH ₃	0.063	0.110
Metronidazol				1.220	0.216
Albendazol				0.037	1.592

A pesar de los buenos resultados de actividad obtenidos para **GNV14**, la evaluación de su actividad antiparasitaria *in vivo* en animales infectados en tejido muscular con larvas de *T. spiralis*, no arrojó resultados favorables. Esta falta de correlación de los estudios *in vitro-in vivo* podría deberse a que **GNV14** es una molécula escasamente soluble en agua. Situación que constituye una seria desventaja si se pretende usar este compuesto en parasitosis sistémicas.

2.2.3 Síntesis química de los 2-(Trifluorometil)bencimidazoles

Las síntesis de los bencimidazoles, generalmente ocurre en dos pasos, el primero consiste de la formación de una *o*-fenilendiamina (1,2-diaminobenceno), con los sustituyentes en el resto de las posiciones. El segundo paso, consiste del cierre del anillo con la consecuente formación del imidazol correspondiente, Figura 6 (Townswnd y Wise, 1990).

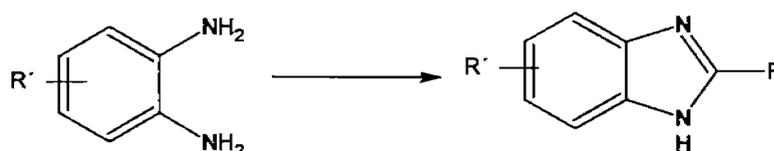


Figura 6. Esquema general de síntesis de un bencimidazol.

Los derivados del 2-(Trifluorometil)-1*H*-bencimidazol se pueden formar a partir de *o*-fenilendiaminas por condensación con ácido trifluoroacético en presencia de ácido clorhídrico, Figura 7 (Navarrete, 2004).

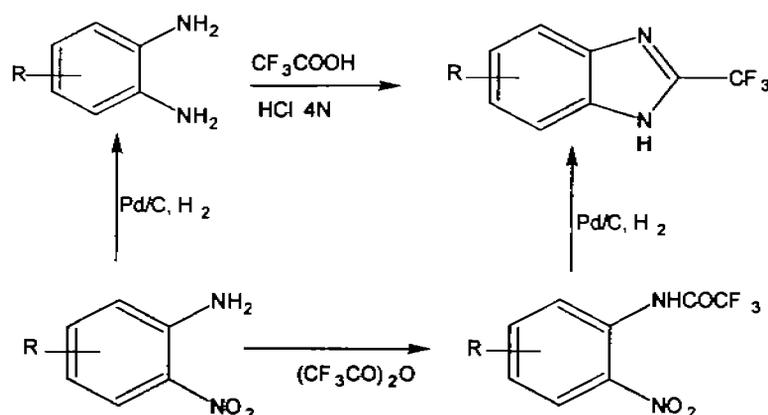


Figura 7. Esquema general de síntesis de derivados del 2-(trifluorometil)-1H-benzimidazol.

Una ruta adicional de síntesis involucra el tratamiento de una o-nitroanilina con anhídrido trifluoroacético, para dar origen a la trifluoroacetanilida correspondiente, la cual se somete a reducción catalítica, dando como resultado al 2-(Trifluorometil)-1H-benzimidazol, Figura 7 (Navarrete, 2004).

2.3 Uso de las ciclodextrinas para incrementar la solubilidad acuosa de los compuestos orgánicos

Uno de los principales problemas que presentan los derivados benzimidazólicos en general es su baja solubilidad acuosa y de este problema no están exentos los derivados del 2-(Trifluorometil)-1H-benzimidazol. La baja solubilidad de un

antiparasitario dificulta su traslado a través de las membranas biológicas con el consecuente problema de baja biodisponibilidad (Flórez et al, 1996). Situación que limitaría su uso como agente de acción sistémica.

En el campo de la Química Farmacéutica, se conocen diversos procedimientos para tratar de incrementar la solubilidad acuosa de compuestos activos hidrofóbicos. Una de estas herramientas es la formación de complejos de inclusión utilizando ciclodextrinas. (Loftsson y Brewster, 1996; Winters et al, 1997).

La patente de la primera ciclodextrina fue registrada en 1953 y desde entonces los avances en biotecnología han permitido tener grandes producciones de estos compuestos con altos grados de pureza y bajos costos (Loftsson y Brewster, 1996).

2.3.1 Ciclodextrinas: definición y propiedades

Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos, formadas principalmente por moléculas de glucosa enlazadas por uniones α -1,4. Forman un cono o estructura toroidal con un centro hidrofóbico y una porción externa hidrofílica, Figura 8 (Loftsson y Brewster, 1996).

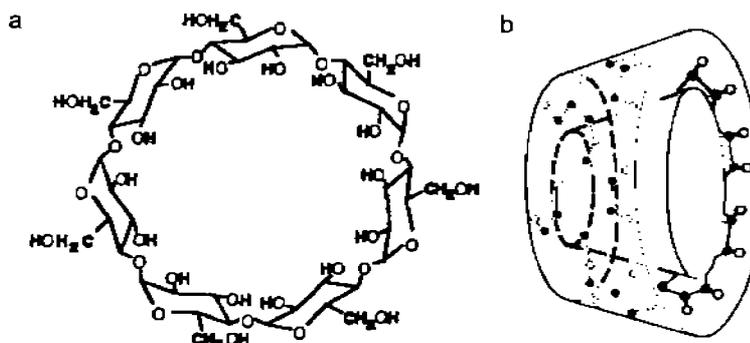


Figura 8. Estructura química y geometría de la β -ciclodextrina.

Los hidroxilos primarios de las moléculas de glucosa se orientan hacia el exterior del cono mientras que los secundarios lo hacen hacia el interior de la estructura (Loftsson y Brewster, 1996).

Las ciclodextrinas más comunes son: la α , β y γ , que consisten de seis, siete y ocho moléculas de glucopiranososa respectivamente, las ciclodextrinas que contienen nueve, diez, once, doce y trece unidades se denominan, δ , ϵ , ζ , η y θ , respectivamente (Loftsson y Brewster, 1996).

Algunas de las características fisicoquímicas de la α , β y γ ciclodextrina se pueden apreciar en la Tabla 5, los puntos de fusión oscilan alrededor de los 265°C y todas poseen una estructura cristalina (Loftsson y Brewster, 1996).

Tabla 5. Algunas características fisicoquímicas de la α , β , γ y δ ciclodextrinas

	α	β	γ	δ
Número de unidades de glucopiranosas	6	7	8	9
Peso molecular	972	1135	1297	1459
Diámetro de la cavidad (Å)	4.7-5.3	6.0-6.5	7.5-8.3	10.3-11.2
Solubilidad acuosa a 25 °C (g/ 100 mL)	14.5	18.5	23.2	8.19

Los grupos hidroxilo pueden ser sustituidos por otros grupos para favorecer la interacción con principios activos o bien modificar la solubilidad de la ciclodextrina en diferentes medios, así se originó la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina mostrada en la Tabla 6 (Loftsson y Brewster, 1996).

A la interacción existente entre el principio activo y la ciclodextrina se le conoce como complejo de inclusión, como se observa en la Figura 9 (Loftsson y Brewster, 1996), se ha reportado la formación de diversos complejos de inclusión con varios principios activos, tales como Warfarina (Zingone y Rubessa, 2005), Miconazol (Tenjarla et al, 1998), Glicazida (Winters et al, 1997), Amfelopsina (Ruan et al, 2005) y Gossypol (Shen et al, 2005).

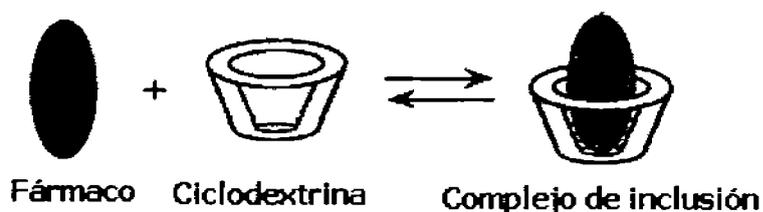


Figura 9. Formación de un complejo de inclusión.

Además de aumentar la solubilidad acuosa de los principios activos, los complejos de inclusión con ciclodextrinas también pueden incrementar la estabilidad de las sustancias, inducir la transformación de productos líquidos en sólidos cristalinos, prevenir las interacciones aditivas fármaco-fármaco, reducir la irritación ocular y gastrointestinal; así como disminuir o eliminar la acción enzimática sobre los compuestos (Loftonson y Brewster, 1996).

De los métodos de formación de complejos de inclusión destacan el de cosolvenencia (Zigone y Rubessa, 2005) y el método de formación mediante el uso de microondas (Shen et al, 2005).

Tabla 6. Derivados de ciclodextrina

	α	β	γ
Alquiladas	metil, butil	Metil	metil, butil, fenil
Hidroalquiladas	Hidroxipropil	hidroxipropil	hidroxipropil
Esterificadas	Acetil	acetil, propionil, butiril, succinil, benzoil, palmitoil, toluensulfonil	acetil
Esterificadas y alquiladas	-	acetil-metil, acetil-butil	-
Derivados de azucar	Glucosil, manosil	glucosil, manosil	glucosil, manosil
Derivados iónicos	carboximetil, fosforil	carboximetil, carboxietil, fosforil	Carboximetil, fosforil
Polímeros	polímeros simples Carboximetil	Polímeros simples carboximetil	polímeros simples Carboximetil

El complejo de inclusión puede tener diferentes relaciones molares, las más comunes son 1:1 y 1:2 (Rajewski y Stella, 1996), en la Figura 10 se ejemplifican estas relaciones de forma esquemática.

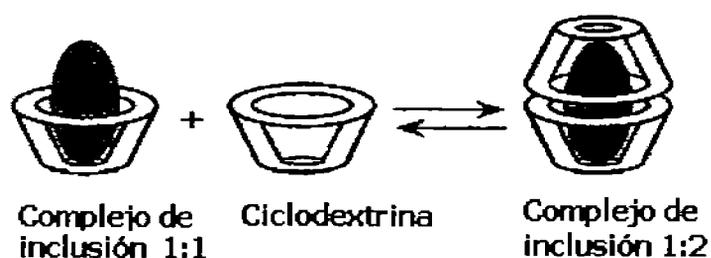


Figura 10. Formación de un complejo de inclusión en una relación molar 1:2

3. Diseño experimental y Metodología

En este apartado se presenta de forma general los diversos procedimientos realizados en el presente trabajo de investigación. Los detalles de estos procedimientos así como los espectros, cromatogramas y termogramas se ubican en los apéndices de este informe. La información se presenta ordenada de acuerdo a como se enlistan los objetivos específicos.

3.1 Síntesis del compuesto **GNV14**

Para la síntesis de **GNV14** se siguió el esquema general señalado en la Figura 11 (Navarrete, 2004):

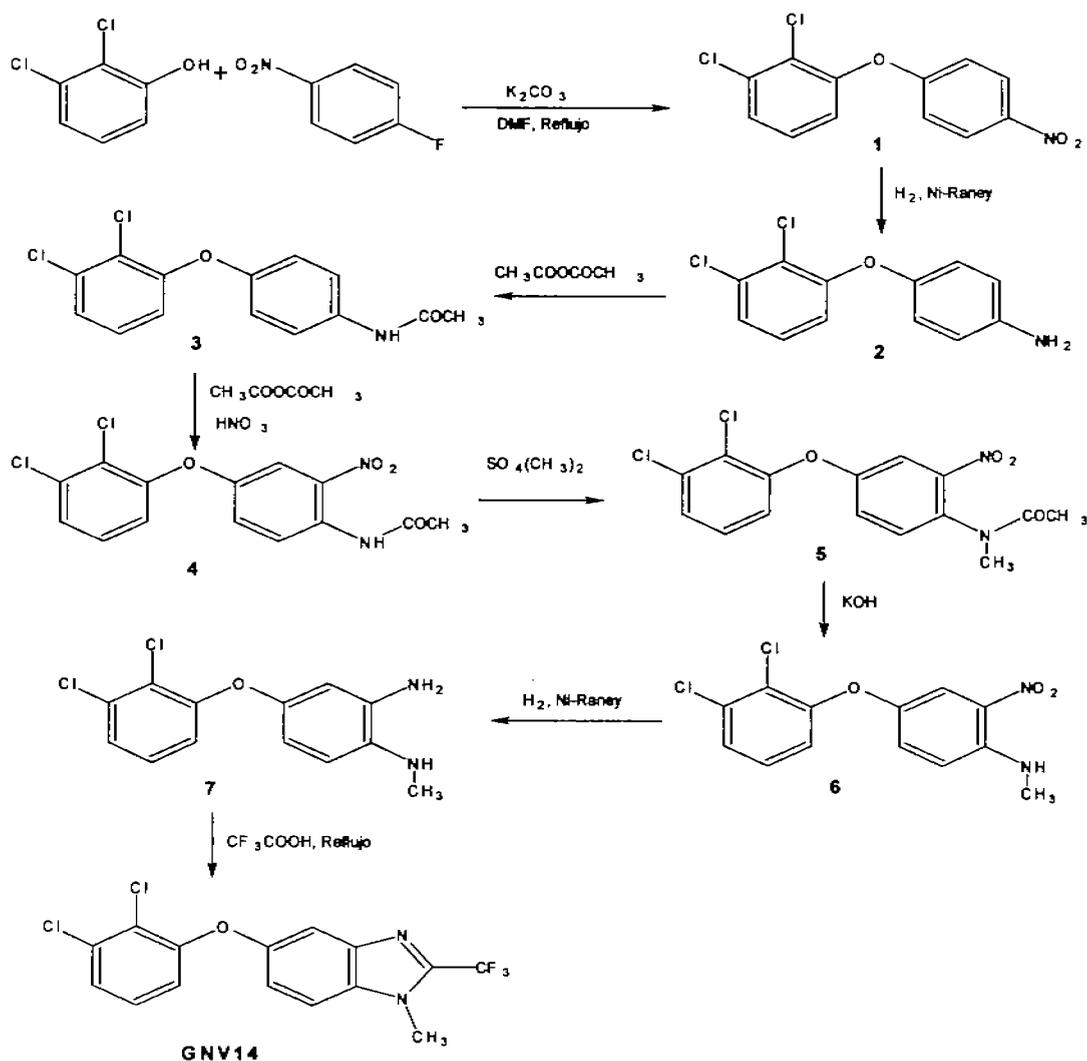


Figura 11. Síntesis del **GNV14**.

Para obtener el intermediario **1** se recurrió a una reacción de sustitución nucleofílica aromática entre el 2,3-diclorofenol (Aldrich) y el 1-fluoro-4-nitrobenceno (Aldrich), en presencia de K_2CO_3 .

El compuesto **3** se obtuvo en dos pasos, el primero requirió de la reducción del intermediario **1**, mediante una reacción de reducción catalítica que necesita la presencia de H_2 y Ni-Raney como catalizador (Aldrich), de esta manera se originó el compuesto **2**, el cual se sometió inmediatamente a una reacción de acetilación con anhídrido acético.

Para obtener la molécula **4**, se efectuó una reacción de sustitución electrofílica aromática entre el nitrato de acetilo y el compuesto **3**. Para generar al nitrato de acetilo, se recurrió a una mezcla de anhídrido acético y ácido nítrico, las condiciones de reacción requirieron de temperatura controlada.

El compuesto **4** se sometió a una reacción de *N*-metilación, la cual necesita como agente alquilante al sulfato de dimetilo (Aldrich) en presencia de KOH, originando el compuesto **5**.

El compuesto **6** se sometió a una reacción de reducción, utilizando H_2 y Ni-Raney como catalizador, lo que originó el intermediario **7** el cual fue sometido

inmediatamente a la reacción de ciclación en presencia de ácido trifluoroacético y utilizando HCl como catalizador, de ésta manera se obtuvo el compuesto **GNV14**.

3.2 Síntesis del compuesto **GNV7**

La preparación de **GNV7** se inició con la hidrólisis del compuesto **4** para obtener el intermediario **8**. Este último se sometió a un proceso de reducción catalítica con hidrógeno utilizando como catalizador Ni-Raney para obtener la *orto*-fenilendiamina correspondiente, **9**. Finalmente, el compuesto **9** se suspendió en una solución acuosa de ácido trifluoroacético bajo condiciones de reflujo para obtener al **GNV7** (Figura 12).

3.3 Formación de complejos de inclusión **GNV14** con β -ciclodextrina e Hidroxipropil- β -ciclodextrina utilizando el método de cosolvenca.

La formación de los complejos de inclusión por cosolvenca se realizó de acuerdo al procedimiento operativo presentado en la Figura 13.

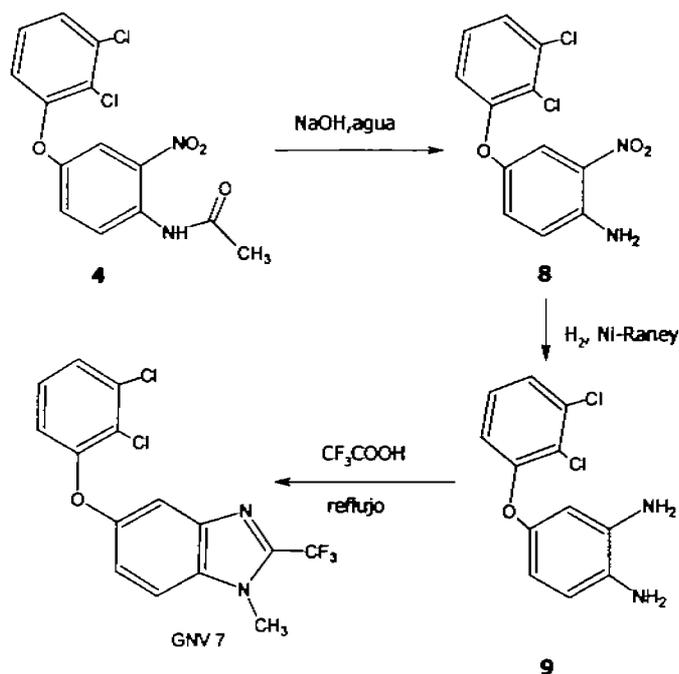


Figura 12. Preparación de **GNV7**

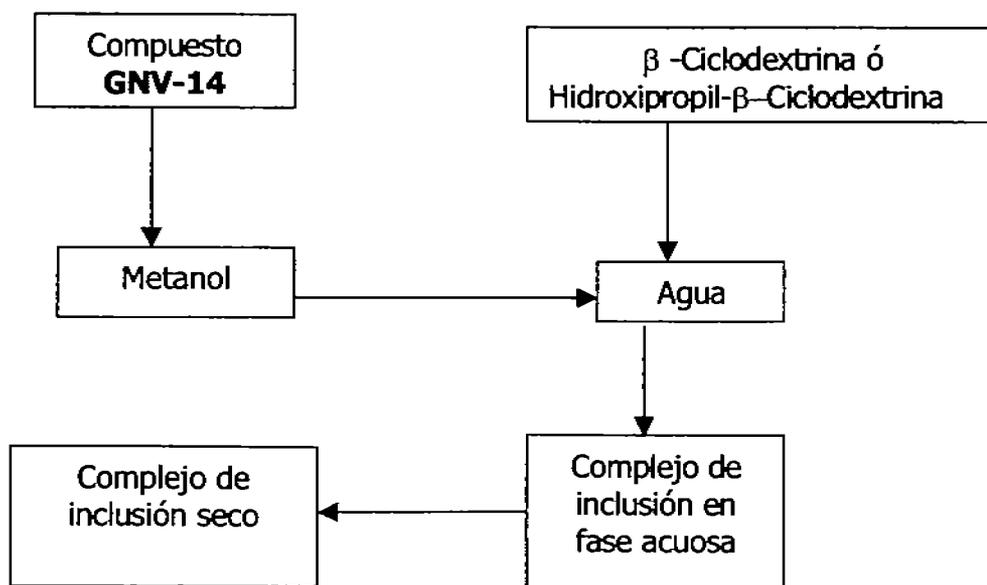


Figura 13. Procedimiento para la formación de los complejos de inclusión.

A una solución acuosa de ciclodextrina se le adicionó en un solo paso una solución metanólica de **GNV14**. La suspensión se agitó durante 5 días a temperatura ambiente y protegida de la luz. Transcurrido el tiempo, se procedió a separar la suspensión por filtración. El filtrado se concentró en el rotaevaporador para obtener un sólido blanco, el cual se dejó secar a temperatura ambiente y con vacío. Al producto obtenido se le determinó el punto de fusión.

3.4 Formación del complejo de inclusión **GNV14** con β -Ciclodextrina mediante el uso de microondas

Para formar el complejo mediante este método, se prepararon mezclas sólidas en relaciones molares 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 y 1:5, de **GNV14** y de β -ciclodextrina respectivamente. A cada mezcla se le agregó una mínima cantidad de agua/metanol (50:50), para permitir la interacción entre **GNV14** y la ciclodextrina. Esta suspensión se sometió a una radiación de microondas por aproximadamente 90 s, el complejo fue obtenido cuando se retiró el exceso de disolventes de la mezcla por evaporación.

3.5 Caracterización de los complejos de inclusión de **GNV14**/ β -Ciclodextrina y **GNV14**/Hidroxipropil- β -Ciclodextrina mediante espectroscopia de infrarrojo, calorimetría diferencial de barrido (DSC) y termogravimetría (TG)

Estos estudios se realizaron a los productos obtenidos como complejo de inclusión, a una mezcla física equimolecular de **GNV14** y la ciclodextrina correspondiente, al **GNV14** y a la ciclodextrina. Para cada estudio se utilizaron 10 mg de muestras.

3.6 Cuantificación de la solubilidad acuosa de **GNV14**, y los complejos de **GNV14** con ciclodextrinas mediante cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC)

La determinación de la solubilidad de **GNV14** y de los complejos de inclusión en agua, se realizó en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución (Waters). Para este propósito, una cantidad determinada del compuesto o de los complejos, se colocó en presencia de agua, la mezcla se agitó durante 24 h para favorecer la máxima solubilidad. Transcurrido el tiempo, la suspensión se separó por filtración utilizando un filtro Whatman de 0.45 μm . Luego se tomó una cantidad determinada del filtrado y se diluyó con metanol, de esta solución se tomaron 50 μL y se inyectaron en el cromatógrafo de líquidos, equipado con un detector de arreglo de diodos, el cual permitió medir el compuesto en cuatro longitudes de onda diferentes. La fase móvil estuvo constituida por metanol/agua (95:5), las áreas obtenidas se transformaron en unidades de concentración mediante interpolación en una curva de calibración, que incluyó concentraciones en un rango de 0.01-25 μM .

4. Resultados y discusión

4.1 Síntesis del compuesto **GNV14**

En la Tabla 7 se muestran las constantes físicas obtenidas para los intermediarios de la síntesis del compuesto **GNV14**.

Tabla 7. Constantes físicas para los intermediarios de la síntesis de **GNV14**.

Compuesto	Rendimiento de la síntesis (%)	Punto de fusión (°C)	R_f	Disolvente de recristalización
1	98.3	121-121.2	0.63	Etanol-agua
2	99.1	-	0.36	-
3	98.7	170.2-170.6	0.45	Etanol
4	96.3	122.1-122.9	0.69	Etanol
5	98.2	137.6-143.2	0.56	Etanol
6	93.3	-	0.3	-
7	-	-	0.86	-
GNV14	53	135.6-136.4	0.56	Etanol-agua

Las constantes físicas obtenidas para los intermediarios y los productos finales de la síntesis del compuesto **GNV7** se muestran en la Tabla 8.

Tabla 8. Constantes físicas para los intermediarios de la síntesis de **GNV7**.

Compuesto	Rendimiento de la síntesis (%)	Punto de fusión (°C)	R_f	Disolvente de recristalización
8	96.33	122.1-122.9	0.69	Etolol
9	-	-	0.40	-
GNV7	66.7	169-170	0.49	Etolol-agua

Los rendimientos obtenidos para los intermediarios de la síntesis de los compuestos **GNV14** y **GNV7**, se pueden considerar buenos, ya que son mayores de 90%; sin embargo, el rendimiento obtenido para los productos finales resultó bajo, esto puede deberse a 2 circunstancias : que la reacción no proceda adecuadamente o que para obtener el compuesto puro fue necesario efectuar varios pasos de purificación, lo que da como resultado pérdidas del producto final.

Para obtener el intermediario **5**, siguiendo el esquema sintético descrito, fue necesario efectuar una reacción de *N*-metilación y para ello se nitró primeramente el compuesto **3** y posteriormente se metiló el producto. Este paso es crucial y por eso se decidió realizar una variación a este procedimiento, para lo cual primero se metiló el producto **3** y luego se nitró, dando como resultado un incremento sustancial en el tiempo de reacción. Esto se puede explicar debido a que el efecto electroatrayente del grupo nitro en posición orto a la acetamida favorece la *N*-metilación, dando un tiempo de reacción menor a las 2 h, mientras que si se carece de dicho grupo, el tiempo de reacción se incrementa hasta las 10 h (Figura 14).

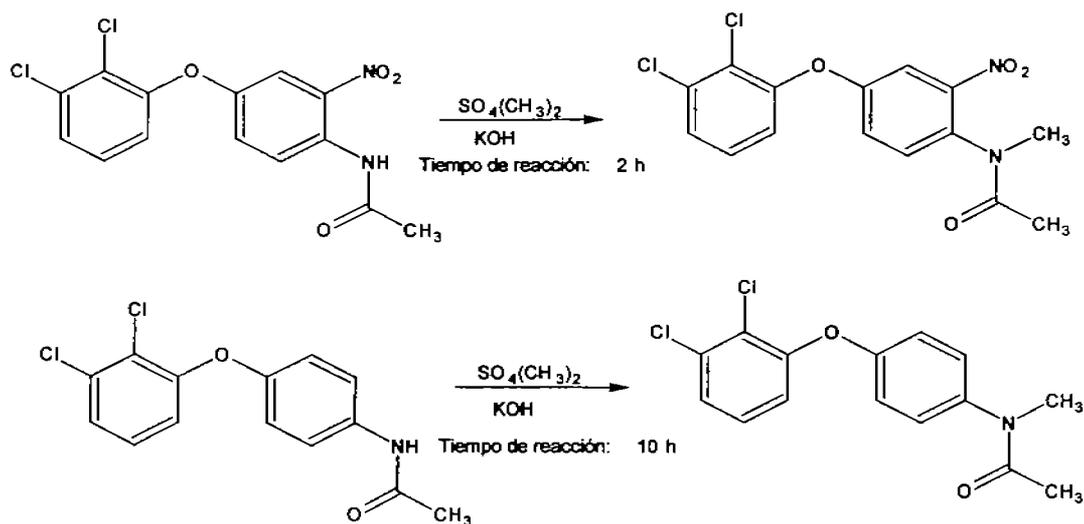


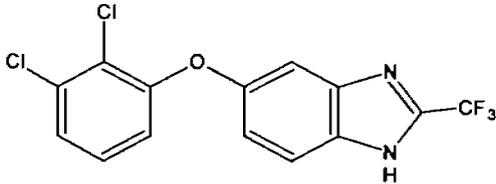
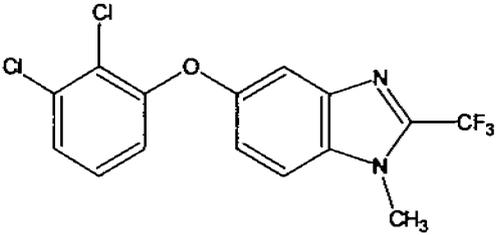
Figura 14. Variación en la síntesis del intermediario 5

Todos intermediarios y productos finales se obtuvieron con altos grados de pureza observándose primero en la cromatografía en capa fina y luego con los puntos de fusión con rangos bien definidos.

Para obtener el compuesto **GNV14**, se efectuó una reacción de reducción catalítica con Ni-Raney del intermediario **6**, esta reacción fue incompleta, por lo que se tuvo que recurrir a la reducción química con $\text{Zn}(\text{Cl})_2$. La reacción incompleta pudo deberse a un exceso en el lavado del catalizador lo que produjo su desactivación. Como la reducción química ocurre en medio ácido, se efectuó en presencia de ácido trifluoroacético, originando en un solo paso el compuesto **GNV14**, esto puede sugerir que no es necesario la reducción catalítica, sino que se puede obtener el producto final en un solo paso.

En la Tabla 9 se resumen los datos espectroscópicos y espectrométricos obtenidos para los compuestos **GNV7** y **GNV14**.

Tabla 9. Datos espectroscópicos y espectrométricos de **GNV7** y **GNV14**.

Compuesto	Datos espectroscópicos y espectrométricos
 <p>5(6)-(2,3-diclorofenoxi)-2-(trifluorometil)-1H-benzimidazol (GNV7)</p>	<p>IR(KBr): 2848, 1634, 1577, 1552, 1448, 1320, 1258, 1180, 1138, 1052, 988, 961, 906, 816, 767 y 713 cm^{-1}.</p> <p>EM (IE) m/z (% Int. Rel.): 346 (M,80), 313 (40), 311 (100), 276 (60).</p> <p>RMN-^1H (300 MHz, acetona-d_6), δ: 7.0 (dd, 1H, H-6, $J=1.3$, $J=7.9$), 7.1 (d, 1H, H-4, $J=8.1$), 7.3 (t, 1H, H-5', $J=7.8$, $J=8.1$), 7.4 (dd, 2H, H-4', H-6', $J=1.6$, $J=8.2$), 7.8 (d, 1H, H-7, $J=8.7$), 12.7 (s, 1H, N-H) ppm.</p> <p>RMN-^{13}C(75.5 MHz, acetona-d_6), δ: 102.828 (C-4), 117.356(C-6), 117.356(C-6'), 118.271(C-7), 119.162 (q, CF_3), 124.587 (C-2'), 125.417(C-4'), 126.167(C-5'), 129.425 (C-3'), 134.594(C-7a), 154.388 (C-3 a), 154.784(q, C-2), 154.876(C-5), 155.779(C-1') ppm.</p> <p>IR (KBr), ν: 3079, 1575, 1519, 1490, 1448, 1429, 1408, 1255, 1233, 1177, 1143, 1087, 963, 883, 784, 771, 712 cm^{-1}.</p> <p>EM (IE) m/z (% Int. Rel.), 360 (M^+, 90), 325 (100), 290 (60), 256 (20).</p> <p>RMN-^1H (300 MHz, acetona d_6), δ: 3.89(S, 3H, N-CH_3), 6.8 (dd, 1H, H-6, $J=1.5$, $J=8.0$ Hz), 7.5 (t, 1H, H-5; $J=8.0$, $J=8.34$), 7.2 (dd, 1H, H-6, $J=2.3$, $J=9.9$ Hz), 7.4 (dd, 1H, H-4, $J=1.1$, $J=8.0$ Hz), 7.4 (dd, 1H, H-4, $J=0.32$, $J=2.1$ Hz), 7.5 (dd, 1H, H-7, $J=0.3$, $J=9.0$) ppm.</p> <p>RMN-^{13}C (75.5 MHz, acetona d_6), δ: 31.58 (q, N-CH_3, $J=2.2$), 110.83 (C-4), 113.2 (C-7), 118.34 (C-6'), 118.745 (C-6), 121.936 (q, CF_3), 124.340 (C-2'), 125.518 (C-4'), 125.902 (C-5'), 129.252 (C-7 a), 134.365 (C-3'), 142.072 (C-3 a), 142.560 (C-2), 153.690 (C-5), 155.880 (C-1') ppm.</p>
 <p>5-(2,3-diclorofenoxi)-1metil-2-(trifluorometil)-1H-benzimidazol (GNV14)</p>	

4.2 Complejos de Inclusión

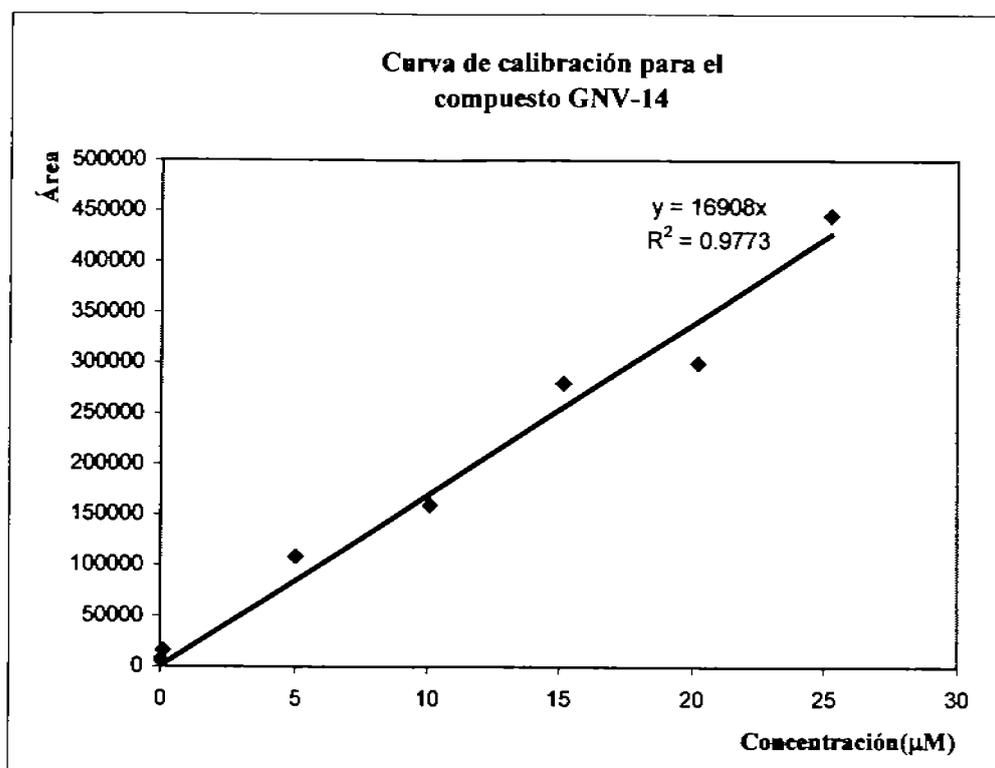
4.2.1 Curva de calibración

Para efectuar las medición de la cantidad de **GNV14** en solución por la formación de los complejos de inclusión, se realizó una curva de calibración del compuesto con concentraciones equivalentes a 0.01, 0.1, 5, 10, 15, 20 y 25 μM , en la Tabla 10, se muestran las áreas promedio de cuatro inyecciones efectuadas en el cromatógrafo de líquidos y la concentración real inyectada, así como la curva de regresión en la Figura 13.

Tabla 10. Áreas obtenidas para diferentes concentraciones de GNV14

Concentración de referencia (μM)	Área promedio de 4 inyecciones	Concentración real (μM)
0.01	6600.25	0.01008
0.1	15889.25	0.10012
5.0	108537.25	4.9994
10.0	159576	10.0999
15.0	279861.5	15.1499
20.0	300088.75	20.1999
25.0	445528.25	25.2499

Figura 15 Curva de regresión obtenida para diferentes concentraciones de **GNV14**.



4.2.2 Determinación de la solubilidad acuosa del compuesto **GNV14**

La medición de la solubilidad acuosa de **GNV14** se efectuó en el cromatógrafo de líquidos, en la Tabla 11 se muestra el área promedio de cuatro inyecciones efectuadas, la concentración obtenida para cada corrida y el promedio de la cantidad disuelta.

Tabla 11. Medición de la solubilidad acuosa del compuesto **GNV14**

serie	Área *	Concentración (µM)	GNV14 disuelto (mg)
1	9262.75	0.5478	0.0009 +/- 0.000307
2	11700.5	0.692	
3	22165.5	0.531	

*promedio de cuatro inyecciones

4.2.3 Medición de la solubilidad acuosa del complejo **GNV14**/ β -Ciclodextrina

La solubilidad acuosa del complejo **GNV14**/ β -Ciclodextrina fue medido por cromatografía de líquidos, los resultados de las áreas promedio de 4 inyecciones efectuadas por serie, se muestran en la Tabla 12, así como la concentración promedio de esas inyecciones y el promedio de la cantidad solubilizada.

Tabla 12 Medición de la solubilidad acuosa del complejo **GNV14**/ β -Ciclodextrina

Serie	Área*	concentración (μ M)	GNV14 disuelto (mg)
1	50062.75	2.9608	0.0116 +/- 0.00088
2	62020	3.6681	
3	51089.5	3.0216	

*promedio de cuatro inyecciones

Estas mediciones muestran que la β -Ciclodextrina incrementó 13 veces la solubilidad acuosa del compuesto **GNV14**, esto indica que ocurrió la formación del complejo de inclusión entre el compuesto **GNV14** y la β -Ciclodextrina.

4.2.4 Espectroscopia de infrarrojo del complejo **GNV14**/ β -Ciclodextrina

El complejo de inclusión formado entre la β -Ciclodextrina y el compuesto **GNV14** fue sometido a espectroscopia de infrarrojo. En la Figura 16 se muestran el espectro de infrarrojo obtenido para el complejo de inclusión formado, los espectros del compuesto

puro, mezcla física y de la β -ciclodextrina pura se encuentran en el apéndice B.

En la Tabla 13 se encuentra un resumen de las señales obtenidas.

Figura 16. Espectro de Infrarrojo del complejo **GNV14**/ β -ciclodextrina

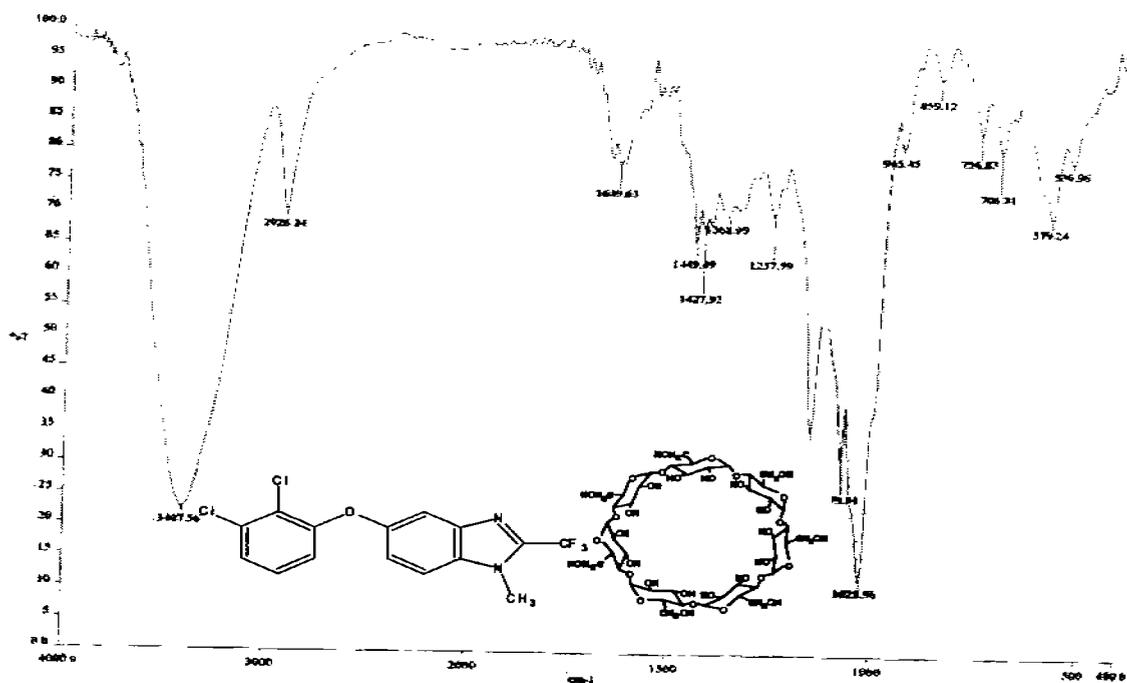


Tabla 13 Datos de los espectroscópicos del complejo de inclusión y otros tratamientos

Dispersión	Señales en el IR
β -Ciclodextrina	IR (KBr), ν : 3393, 2926, 1632, 1415, 1157, 1079, 1028, 1028, 946, 857, 755, 707, 578, 529 cm^{-1} .
Compuesto GNV14	IR (KBr), ν : 3079, 1575, 1519, 1490, 1448, 1429, 1408, 1255, 1233, 1177, 1143, 1087, 963, 883, 784, 771, 712 cm^{-1} .
Mezcla física	IR (KBr), ν : 3419, 2926, 1632, 1576, 1491, 1449, 1411, 1367, 1257, 1235, 1155, 1079, 1028, 945, 906, 860, 756, 705, 579, 528 cm^{-1} .
Complejo de Inclusión	IR (KBr), ν : 3407, 2926, 1640, 1449, 1427, 1368, 1257, 1156, 1079, 1028, 945, 859, 756, 706, 579, 530 cm^{-1} .

El espectro de infrarrojo muestra una señal al rededor de 3000 cm^{-1} , esta señal corresponde a los grupos hidroxilo de la ciclodextrina; la señal en 1079 cm^{-1} corresponden al estiramiento asimétrico del éter del compuesto **GNV14**. La señal de 2925 cm^{-1} corresponde al estiramiento asimétrico de los protones de los metilenos de la ciclodextrina, estas señales aparecen tanto en la mezcla física, como en el complejo de inclusión, lo que indica la presencia de la ciclodextrina en ambos tratamientos. Las bandas correspondientes de alrededor de 1576, 1490, 1450, 1411 y 1255 cm^{-1} son señales características del compuesto **GNV14** y aparecen tanto en la mezcla física como en el complejo de inclusión, éstas sugieren la presencia del compuesto en el complejo de inclusión.

4.2.5 Análisis térmico de la β -Ciclodextrina pura

Adicionalmente a la espectroscopia de infrarrojo el complejo inclusión fue sometido a un estudio de Calorimetría diferencial de barrido (DSC) y análisis termogravimétrico (TG), en las Figuras 17 y 18, se muestra el DSC y el TG correspondientes a la β -Ciclodextrina pura respectivamente.

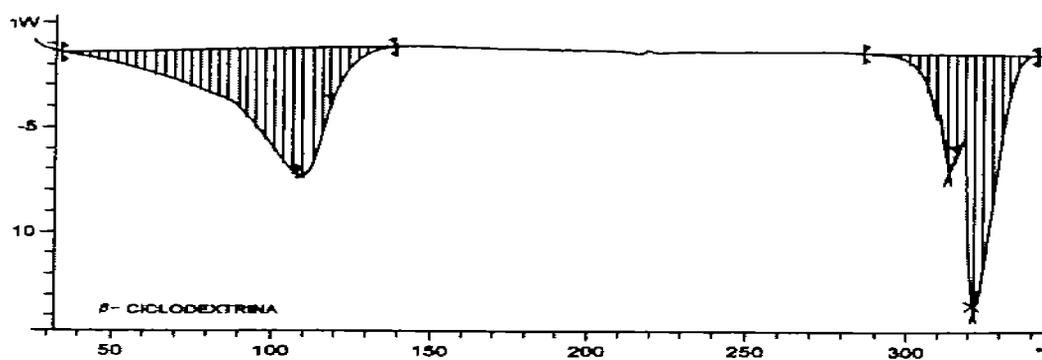


Figura 17. DSC de la β -Ciclodextrina pura

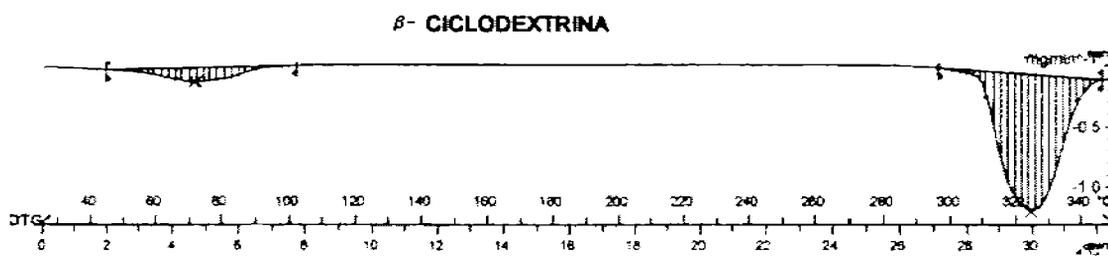


Figura 18. TG de la β -Ciclodextrina pura

El DSC de la β -Ciclodextrina pura muestra dos señales endotérmicas, la primera inicia en 77.18 y finaliza 123.11 °C, esta absorción de calor concuerda con una pérdida de masa registrada en el TG en ese rango temperatura, esta absorción se asocia a la pérdida de moléculas de agua que solvata a la ciclodextrina. Hassan y colaboradores (1990) reportaron un rango de 60-120 °C para ésta absorción. La segunda absorción de calor observada en el DSC corresponde a la descomposición de la β -ciclodextrina, alrededor de los 310-342 °C (Shen et al, 2005); esta absorción de calor es acompañada por una pérdida de masa en el TG.

Shen y colaboradores (2005) informaron de la descomposición de la β -Ciclodextrina a una temperatura de 322°C:



4.2.6 Análisis térmico del compuesto **GNV14** puro

En la Figura 19 y 20 se muestran el DSC y el TG de **GNV14**, respectivamente:

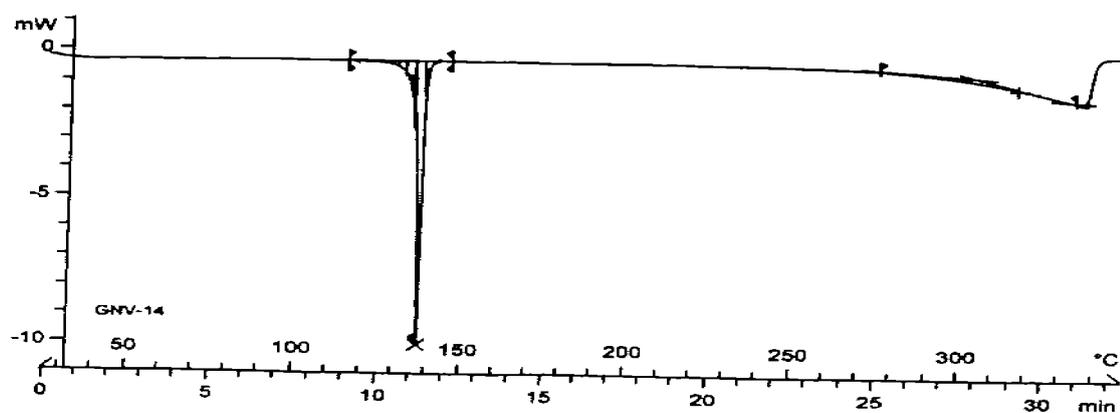
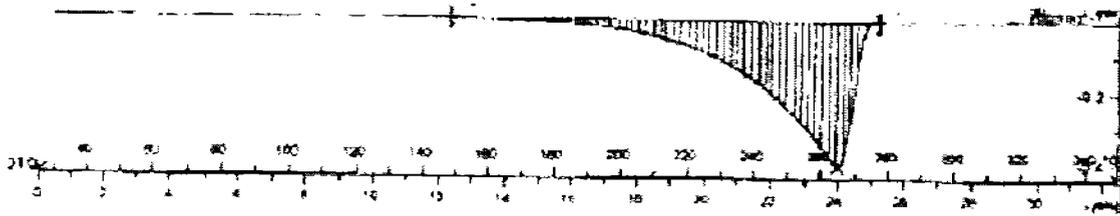


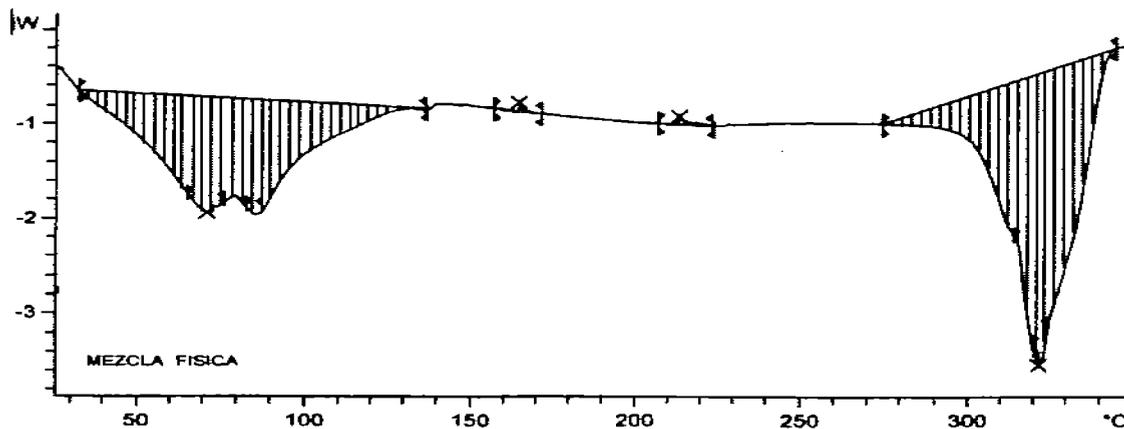
Figura 19. DSC de **GNV14**

Figura 20 TG de **GNV14**

En el DSC se puede observar una absorción de calor alrededor de 135-138 °C, correspondiente al rango en el que se registra el punto de fusión del compuesto **GNV14**. En el TG se puede observar una pérdida de masa alrededor de 230-273 °C, aunque en el DSC no hay una absorción de calor en ese rango de temperatura, la pérdida de masa puede deberse a la descomposición del compuesto **GNV14**, la cual no implica un consumo adicional de calor, por ello en el DSC no se registra dicha absorción.

4.2.7 Análisis Térmico de la mezcla física **GNV14**/β-Ciclodextrina

Las Figuras 21 y 22 muestran los termoanálisis realizados a la mezcla física de β-Ciclodextrina y el compuesto **GNV14**.

Figura 21 DSC de la mezcla física **GNV14**/β-Ciclodextrina.

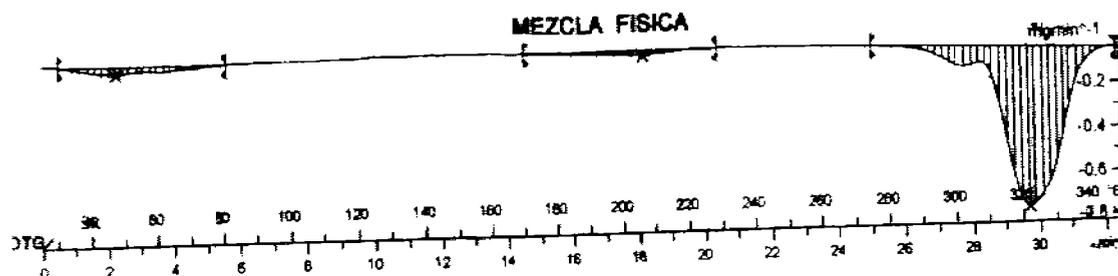


Figura 22. TG de la mezcla física **GNV14**/ β -Ciclodextrina.

En el DSC de la mezcla física se registraron dos absorciones de calor. La primera alrededor de los 64 °C, esta absorción se relaciona con una pérdida de masa en el TG en el mismo rango de temperatura, la cual corresponde a la pérdida de agua, propia de la solvatación de la β -Ciclodextrina. En el DSC no se observa la absorción de calor característica correspondiente al punto de fusión del compuesto **GNV14**, sin embargo en el TG, se observa una pérdida de masa en 188-218 °C que corresponde al rango de temperatura propuesta para la descomposición del compuesto **GNV14** lo que indica la presencia del compuesto en la mezcla y que es observable en el TG del compuesto puro.

La segunda señal de absorción observada en el DSC se localiza en 309-341 °C y concuerda con una pérdida de masa en el TG, relacionada con la descomposición de la β -ciclodextrina.

4.2.8 Análisis térmico del complejo de inclusión **GNV14**/ β -Ciclodextrina

A continuación, se presentan los termogramas (Figuras 23 y 24) correspondientes al complejo de inclusión, formado entre la β -ciclodextrina y el compuesto **GNV14**.

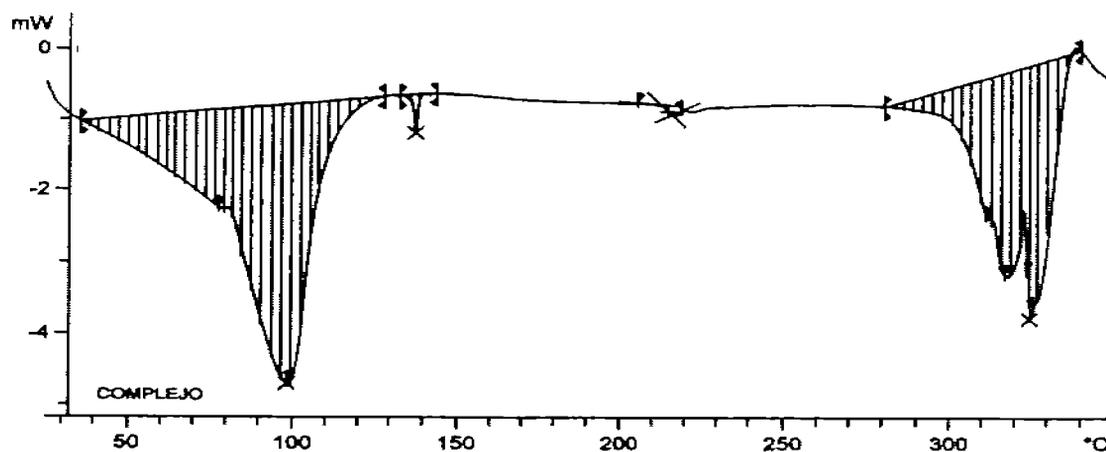


Figura 23. DSC del complejo de inclusión **GNV14**/ β -Ciclodextrina.

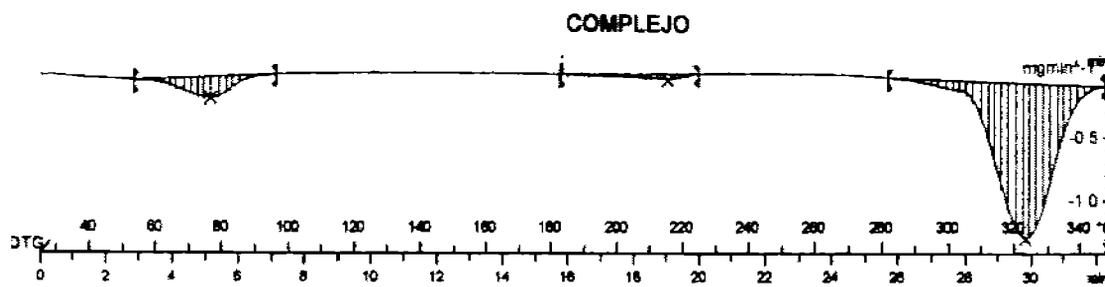


Figura 24. TG del complejo de inclusión **GNV14**/ β -Ciclodextrina.

En el DSC del complejo de inclusión se pueden observar tres absorciones de calor. La primera alrededor de 73-108 °C, que concuerda con una pérdida de masa en el TG; estas señales se relacionan con la pérdida de agua observada en todos los termogramas. La segunda señal de absorción de calor en el DSC se localiza en 135-138 °C la cual corresponde al rango de absorción de calor del compuesto **GNV14** y que

concuerta con su punto de fusión. En el TG no se observa pérdida de masa en ese rango de temperatura, sin embargo en 196-223 °C se logra observar dicha pérdida; este rango corresponde a la temperatura de descomposición propuesta para **GNV14**, lo que indica que el complejo no mejora la estabilidad térmica de este compuesto. En la mezcla física no se observa la señal de absorción correspondiente a **GNV14**, sin embargo en el complejo sí, este incremento en las señales puede deberse a la formación del complejo de inclusión que incrementó la relación **GNV14**/ciclodextrina.

La tercera señal de absorción, presente tanto en el DSC como en el TG en un rango de temperatura en 320-335 °C, corresponde a la temperatura de descomposición de la β -ciclodextrina con la consecuente pérdida de masa, observada en el TG.

4.2.9 Formación del complejo de inclusión **GNV14**/ β -Ciclodextrina por microondas

Como una alternativa a la formación del complejo de inclusión **GNV14**/ β -ciclodextrina por medio del método de cosolvenca, se recurrió al método de microondas para establecer la relación molar necesaria para la formación del complejo de inclusión, para ello se prepararon relaciones de molares de **GNV14** y β -ciclodextrina, en la Tabla 14 se muestran los resultados de solubilidad acuosa obtenidos para cada relación molar. La Figura 25 muestra un gráfico de la solubilidad obtenida para cada relación molar.

Tabla 14. Resultados de solubilidad de los complejos obtenidos por microondas.

Relación (molar)	Serie No.	Área promedio de 4 inyecciones	Concentración promedio (μM)	Cantidad solubilizada (mg) \pm DE
1:1	1	53141.25	3.1429	0.01485 \pm 0.0078
	2	43673.5	2.5830	
	3	111768.25	6.6103	
1:2	1	53760.5	3.1795	0.0095 \pm 0.0017
	2	41592.75	2.4559	
	3	38256	2.2625	
1:3	1	27289.75	1.6140	0.0089 \pm 0.0054
	2	71268.5	4.2150	
	3	27483	1.6254	
1:4	1	98531.75	5.8275	0.0149 \pm 0.0063
	2	72333	4.2780	
	3	39693.5	2.3476	
1:5	1	31827.25	1.8823	0.0109 \pm 0.0038
	2	66673.25	3.9432	
	3	3.2751	3.2751	

DE: desviación estándar

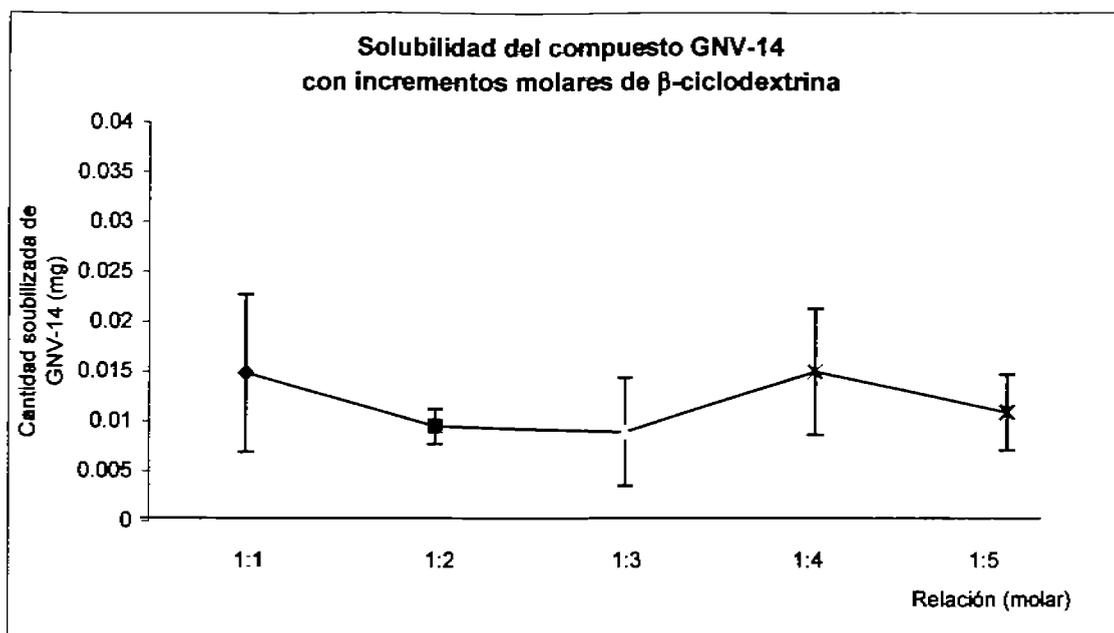


Figura 25. Solubilidad de **GNV14** con diferentes relaciones molares de β -Ciclodextrina.

En la Figura 21 se puede determinar que no existen diferencias significativas con relación a la cantidad disuelta de **GNV14**, esto permite establecer que la relación molar para formar el complejo es 1:1; por otro lado el valor de solubilidad de **GNV14** es similar al método de cosolvenca, por lo que se puede determinar que el método más conveniente para preparar el complejo de inclusión es el de microondas ya que requiere una menor cantidad de disolventes y se obtiene en un menor tiempo.

4.3 Complejo de inclusión **GNV14**/Hidroxipropil- β -Ciclodextrina

4.3.1 Evaluación de la solubilidad del complejo **GNV14**/ Hidroxipropil- β -Ciclodextrina

Se preparó un segundo complejo de inclusión, pero esta vez con Hidroxipropil- β -ciclodextrina. La cuantificación de la solubilidad de **GNV14**, fue evaluada por cromatografía de líquidos. En la Tabla 15 se muestran los resultados para la evaluación de la solubilidad acuosa del complejo de inclusión.

Tabla 15. Solubilidad acuosa del complejo **GNV14**/Hidroxipropil- β -Ciclodextrina

Serie	Área*	Concentración (μ M)	Cantidad solubilizada(mg) \pm DE
1	66074	3.9078	0.0143 \pm 0.0008
2	69022	4.0822	
3	65739.75	3.8880	

*promedio de cuatro inyecciones; DE: desviación estándar

Como se puede apreciar la solubilidad acuosa de **GNV14** se incrementó en 16 veces, lo indica que se formó el complejo de inclusión con la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina e indujo un incremento en la solubilidad del compuesto.

4.3.2 Espectroscopía de Infrarrojo del complejo **GNV14**/ Hidroxipropil- β -Ciclodextrina

El complejo de inclusión formado entre la hidroxipropil- β -Ciclodextrina fue sometido a un análisis de espectroscopia de infrarrojo, en la Figura 26 se muestran dicho espectro, los espectros del compuesto puro, mezcla física y de la Hidroxipropil-

β -Cidodextrina pura se encuentran en el apéndice B, en la tabla 5.9 se encuentra un resumen de las señales obtenidas para el complejo.

Figura 26 Espectro de Infrarrojo del complejo GNV14/Hidroxi-propil- β -Cidodextrina

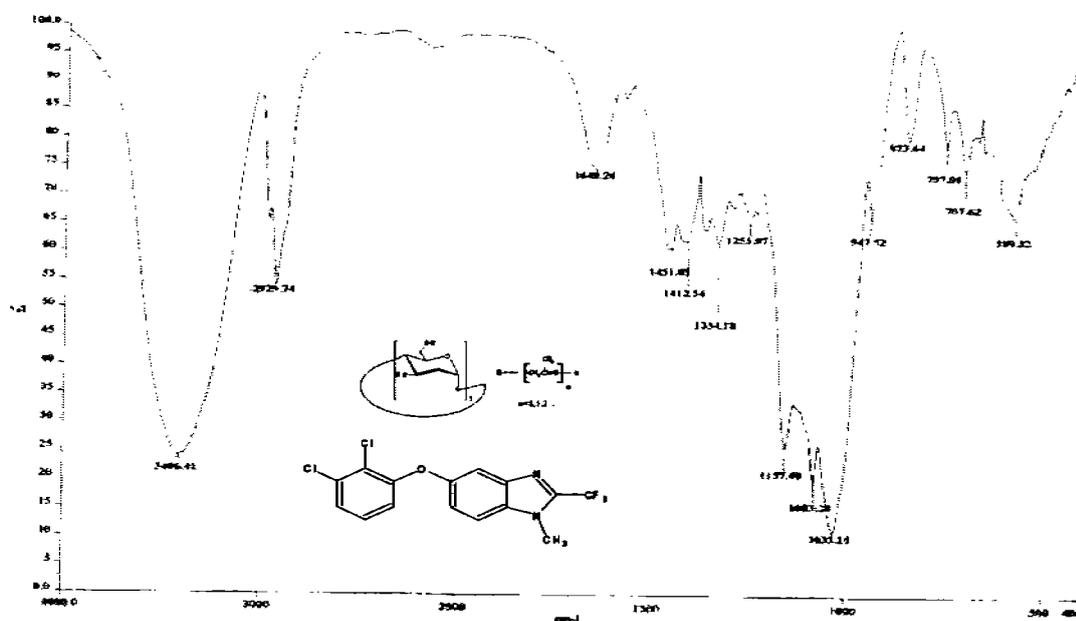
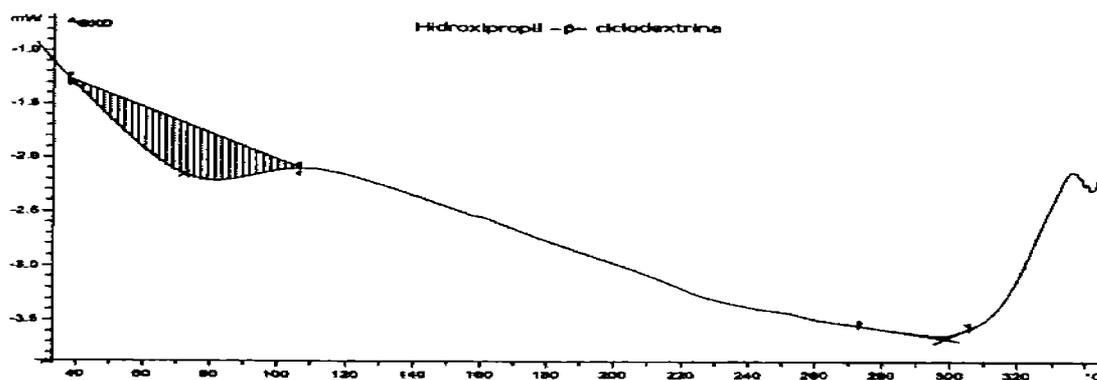
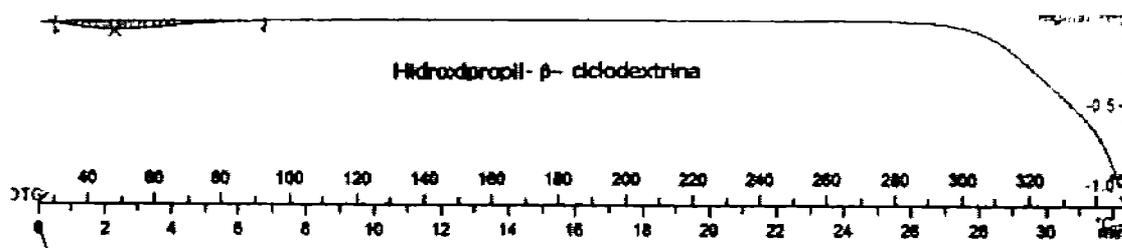
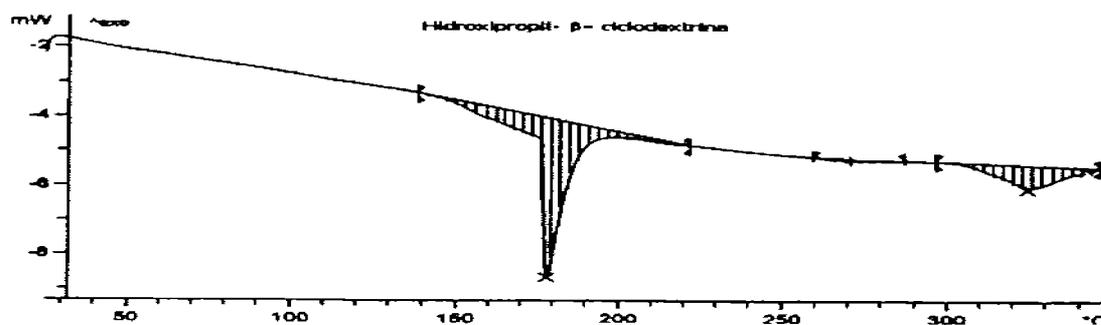


Tabla 16. Datos espectroscópicos del complejo **GNV14**/Hidroxipropil- β -Ciclodextrina y otros tratamientos

Dispersión	Señales en el IR
Hidroxipropil- β -ciclodextrina	IR (KBr), ν : 3407, 2929, 1642, 1462, 1332, 1157, 1083, 1032, 947, 853, 756, 707, 582 cm^{-1} .
GNV14	IR (KBr), ν : 3079, 1575, 1519, 1490, 1448, 1429, 1408, 1255, 1233, 1177, 1143, 1087, 963, 883, 784, 771, 712 cm^{-1} .
Mezcla física	IR (KBr), ν : 3405, 2928, 1641, 1576, 1450, 1429, 1332, 1257, 1235, 1155, 1083, 1033, 947, 854, 757, 708, 585 cm^{-1} .
Complejo de Inclusión	IR (KBr), ν : 3406, 2929, 1648, 1451, 1412, 1334, 1255, 1157, 1083, 1033, 947, 853, 757, 707, 580 cm^{-1} .

El espectro de infrarrojo del complejo de inclusión muestra una señal alrededor de 3400 cm^{-1} , esta señal corresponde a los grupos hidroxilo de la ciclodextrina; la señal en 1083 cm^{-1} corresponden al estiramiento asimétrico del éter del compuesto **GNV14**; la señal de 2929 cm^{-1} corresponde al estiramiento asimétrico de los protones de los metilenos de la ciclodextrina, estas señales aparecen tanto en la mezcla física, como en el complejo de inclusión, lo que indica la presencia de la ciclodextrina en ambos tratamientos. Las bandas correspondientes de alrededor de 1576, 1450, 1411 y 1255 cm^{-1} son señales características del compuesto **GNV14** y aparecen tanto en la mezcla física como en el complejo de inclusión, esto sugiere que en el complejo de inclusión hay una porción pequeña de **GNV14** libre.

4.3.3 Análisis térmico de la Hidroxipropil- β -CiclodextrinaFigura 27 DSC de la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina puraFigura 28. TG de la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina puraFigura 29. DSC de la Hidroxipropil- β -Ciclodextrina con modificaciones en la técnica

En el DSC de la ciclodextrina pura (Figura 27) se puede observar una absorción de calor en 38-104 °C y que concuerda con una pérdida de masa en el TG (Figura 28),

éstas señales están relacionadas con la pérdida de agua de hidratación presente en la ciclodextrina, para observar un mejor comportamiento térmico del compuesto se recurrió una variación en la técnica, lo que arrojó como resultado el DSC de la Figura 29, en él se puede apreciar que la señal de absorción de calor se recorre hasta 175 °C. Existe una segunda absorción de calor en el DSC de la Figura 27, sin embargo no se relaciona con la descomposición de la ciclodextrina ya que en el TG no existe una pérdida de material, probablemente ésta señal se debe un cambio en la transición de cristal líquido (Dotsikas et al ,2002).

4.3.4 Análisis térmico de la mezcla física de **GNV14**/ Hidroxipropil- β -Ciclodextrina

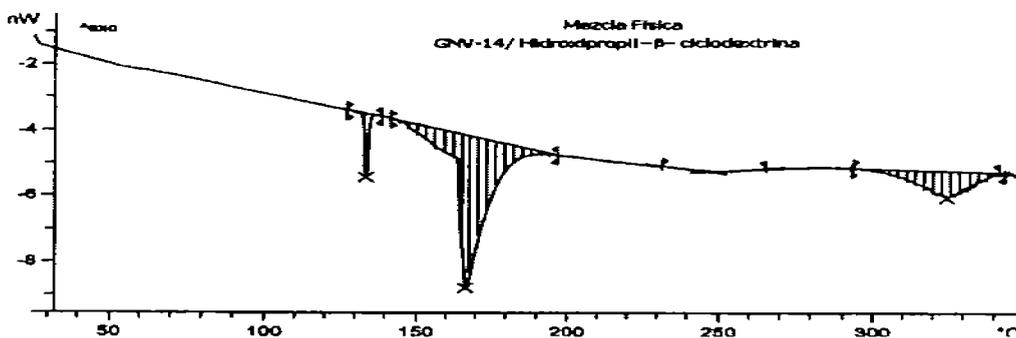


Figura 30 DSC de la mezcla física **GNV14**/Hidroxipropil- β -Ciclodextrina (técnica modificada).

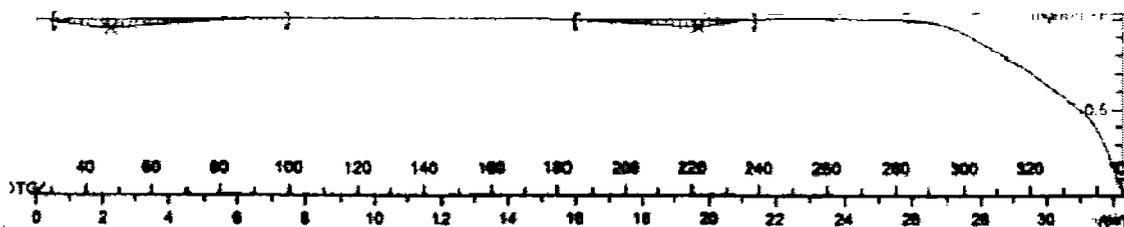


Figura 31 TG de la mezcla física **GNV14**/Hidroxipropil- β -Ciclodextrina.

El DSC de la mezcla física (Figura 30) muestra dos señales de absorción de calor. La primera corresponde al rango del punto de fusión de **GNV14**. Cabe señalar que en este rango de temperatura no hay una señal en el TG (Figura 31); aunque alrededor de 230 °C se observa una pérdida de masa correspondiente a la descomposición de **GNV-14**. La segunda señal observada en el DSC corresponde a la pérdida de agua de hidratación propia de la ciclodextrina y que en el TG se observa dicha pérdida en 32-74 °C, éste DSC se obtuvo con la técnica modificada.

4.3.5 Análisis térmico del complejo **GNV14**/ Hidroxipropil- β -Ciclodextrina

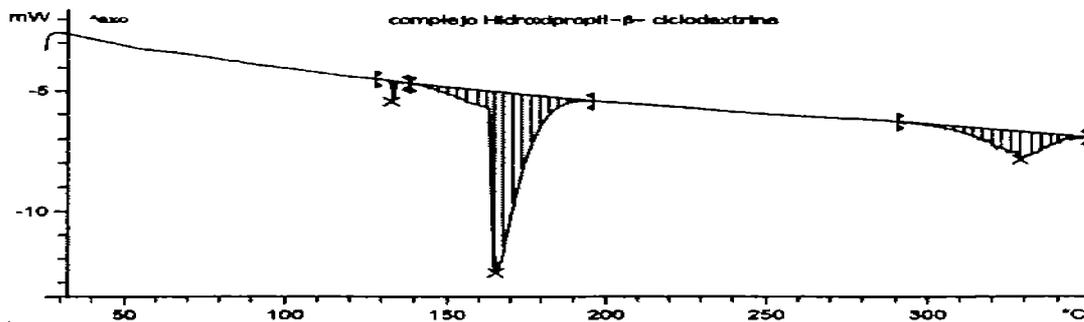


Figura 32. DSC del complejo **GNV14**/Hidroxipropil- β -Ciclodextrina (técnica modificada).

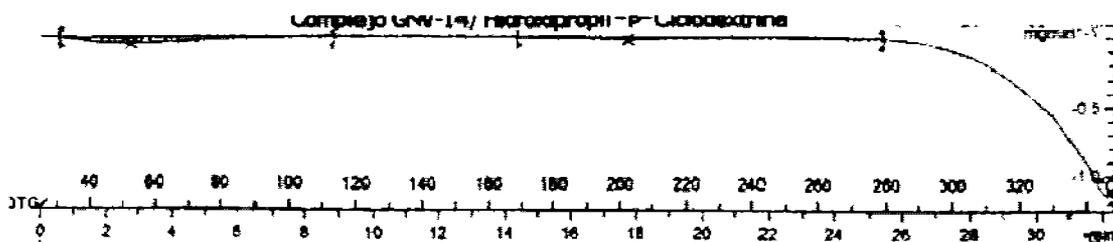
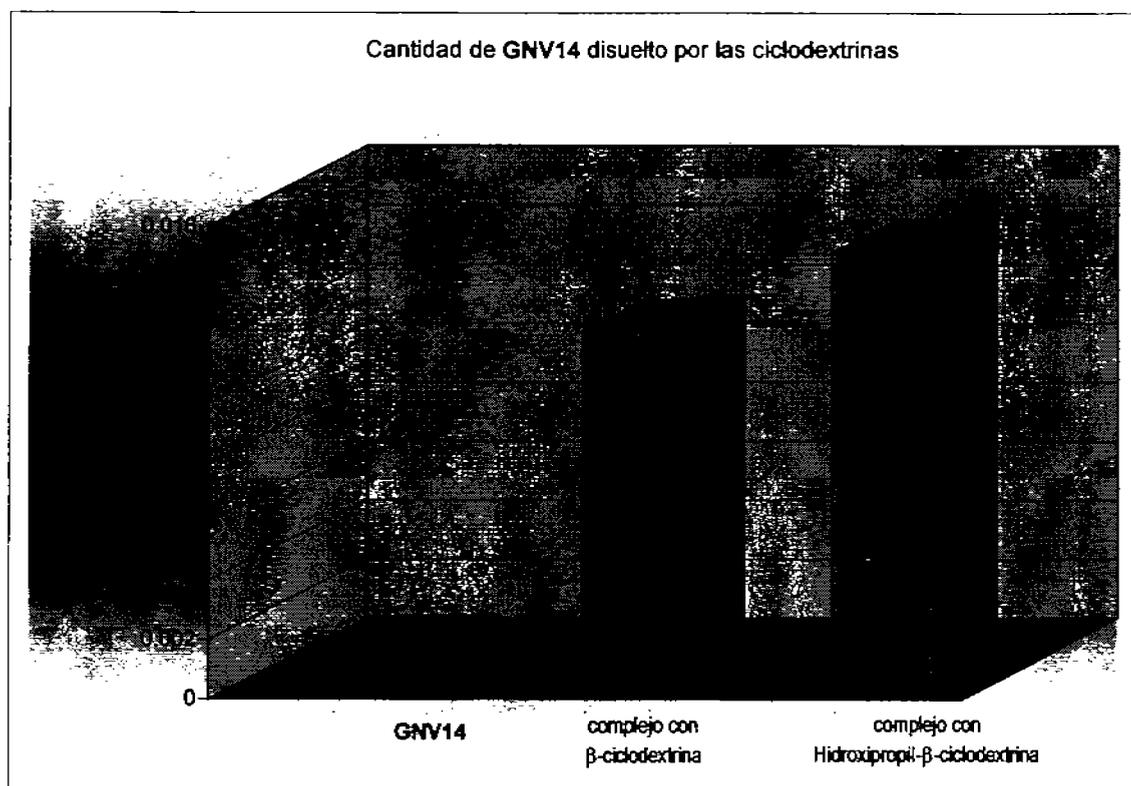


Figura 33. TG del complejo **GNV14**/Hidroxipropil- β -Ciclodextrina

En el DSC de la Figura 32 se observan tres señales de absorción de calor, la primera en 132-133 °C correspondiente al rango en el punto de fusión de **GNV14**, la descomposición del compuesto se observa como una pérdida de masa en el TG (Figura 33) en 168-205 °C, lo que indica que el complejo no estabiliza térmicamente al compuesto, la pérdida de agua presente en el complejo de inclusión se puede apreciar en 164-176 °C en el mismo rango observado en resto de los termogramas, la tercera absorción de calor en el DSC corresponde a una transición de cristal líquido de la ciclodextrina.

En la Figura 34 se muestra un gráfico comparativo entre la solubilidad acuosa de los dos complejos de inclusión obtenidos.

Figura 34 Solubilidad del compuesto y de los complejos de inclusión.



5. Conclusiones

- Se logró la síntesis, purificación y caracterización del compuesto **GNV14** y su posible metabolito el compuesto **GNV7**.
- El complejo hidroxipropil- β -ciclodextrina mostró un incremento mayor en la solubilidad acuosa del compuesto **GNV14**, siendo 3 veces mayor que el formado con β -ciclodextrina.
- Se logró caracterizar mediante espectroscopia de infrarrojo los complejos formados tanto con hidroxipropil- β -ciclodextrina y β -ciclodextrina, mostrando la presencia del compuesto **GNV14**.
- Se caracterizaron los complejos de inclusión formados tanto con Hidroxipropil- β -ciclodextrina y β -ciclodextrina por análisis térmico, mostrando la presencia del compuesto **GNV14**, de igual manera este estudio mostró que la ciclodextrinas no favorecen la estabilidad térmica del compuesto.
- Se comprobó la hipótesis planteada: "Por la naturaleza estructural de GNV14, la manera más adecuada de incrementar su solubilidad acuosa fué mediante el uso de ciclodextrinas, ya que los complejos de inclusión formados, no modificaron la estructura de GNV14 con la consecuente conservación de su actividad antiparasitaria"

Referencias

- Britt, D. P. (1982) Benzimidazole-resistant nematodes in Britain. *Vet. Rec.* 110, 343-344.
- Cabello, R. (1999), Microbiología y parasitología médica, *Panamericana*, 217-225.
- Cook, G. C. (1990). Use of benzimidazole chemotherapy in human helminthiasis: indications and efficacy. *Parasitol.* 6, 133-136.
- Colley, D. G., Lo Verde, P. T., Savioli, L. (2001), Infectious disease. Medical helminthology in the 21st century. *Sci.* 24;1437-1438.
- Cromton, D. W. (1999), How much human helminthiasis is there in the world?, *J. Parasitol.* 85,392-396.
- Dotsikas, Y., Loukas, Y. L. (2002). Inclusional complex study between 6-p-toluidinylnaphthalene-2-sulfonate and 2-hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. *J. Biochem. and Biophys. Meth.* 52, 121-134.
- Flórez, J., Armijo, A. J., Mediavilla, A. (1996). *Farmacología humana*, 2ª. Ed. Masson, Barcelona, 975-1137.
- Gilchrist, T. L.(1995). Química heterocídica, *Addison-Wesley Iberoamericana*, E. U. A.,127.
- Gottschall, D. W., Theodorides, V. J., Wang, R. (1990) The metabolism of benzimidazole anthelmintics, *Parasitol. Today* 4, 115-124.
-
-

-
-
- Hassan, M. A., Suleiman, M. S., Najib, N. M. (1990). Improvement of the in-vitro dissolution characteristics of famotidine by inclusion in β -cyclodextrin. *J. Pharm. Biom. Anal.* 23, 231-236.
- Horton, J. (2000). Albendazol: a review of anthelmintic efficacy and safety in humans. *Parasitol.* 120, 113-132.
- Horton, J. (2003) Human gastrointestinal helminth infections: are they now neglected diseases?. *Trens in Parasitol.* 11,527-531.
- Jackson, F., Coop, R. L.(2000). The development of anthelmintic resistance in sheep nematodes. *Parasitol.*120, 95-107.
- Loftsson, T., Brewster, M. E. (1996). Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. drug solubilization and stabilization. *J. Pharm. Sci.* 85, 1017-1025.
- Navarrete, J. G. (2004) Diseño, síntesis y actividad antiparasitaria de derivados del 2-(trifluorometil)bencimidazol, Tesis de Doctorado (Química Farmacéutica), México, Facultad de Química, U. N. A. M.
- Navarrete, V. G., Cedillo, R., Hernández, C. A., Yépez, L., Hernández, L. F., Valdez, J., Morales, R., Cortés, R., Hernández, M., Castillo, R. (2001). Synthesis and antiparasitic activity of 2-(trifluoromethyl)-benzimidazole derivatives. *Bioorg. & Med. Chem.* 11, 187-190.
- Navarrete, V. G., Yépez, L., Hernández C. A., Tapia, A., Hernández , L. F., Cedillo, R., González, J., Fernández, M. A., Grueiro, M. M., Castillo, R. (2003). Synthesis and
-
-

-
-
- antiparasitic activity of albendazole and mebendazole analogues. *Bioorg. & Med. Chem.* 11, 4615-4622.
- Organización Mundial de la Salud. (2000) Informe sobre enfermedades infecciosas en <http://www.who.int/infectious-disease-report/idr00-spanish/pages/ch3text.html>
- Rajewski, R. A., Stella, V. (1996). Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 2. *In vivo* drug delivery. *J. Pharm. Sci.* 85, 1142- 1169.
- Roos, M. H. (1997). The role of drugs in the control of parasitic nematode infections: must we do without?. *Parasitol.* 114, 137-144.
- Ruan, L. P., Yu, Y. B., Fu, M. G., Zhu, N. D. (2005). Improving the solubility of amphotericin B by solid dispersions and inclusion complexes. *J. Pharm. Biom. Anal.* XXX, 1-8.
- Shen, i. Y., Yang, h. S., Wu, m. L., Ma, y. W. (2005). Study on structure and characterization of inclusion complex of gossypol/ β -cyclodextrin. *Spectrochim. acta, Part A* 61, 1025-1028.
- Smith, W. T., Steinle, F. C. (1953) Some substituted benzimidazoles. *J. American Chem. Soc.* 75, 1292-1294.
- Tenjarla, S., Puranajoti, P., Kasina, R., Mandal, T.(1998) Preparation, characterization and evaluation of miconazole-cyclodextrin complexes for improved oral and topical delivery, *J. Pharm. Sci.* 87, 425-429.
- Townsend L. B., Wise D. S. (1990) the synthesis and chemistry of certain anthelmintics benzimidazoles, *Parasitol. today* 6, 107-112.
-
-

Winters, C. S., York, P., Timmins, P. (1997) Solid state examination of a gliclazide:beta-cyclodextrin complex, *Europ. J. Pharm. Sci.* 5, 209-214.

www.salud.gob.mx

Zingone, G., Rubessa, F. (2005) Preformulation study of the inclusion complex warfarin- β -cyclodextrin, *Int. J. Pharm.* 291, 3-10.

Apéndice A. Parte experimental

A.1 Síntesis Química

A.1.1 Síntesis de 1,2-Diclorofenoxy-3-(4-nitrofenoxi)benceno (**1**).

En un matraz bola de 250 mL, equipado con agitación magnética y condensador a reflujo, se colocaron 4 g (0.0283 mol) de 1-fluoro-4-nitrobenceno, 5 g (0.0306 mol) de 2,3-diclorofenol, 6 g (0.0434 mol, 1.5 eq) de K_2CO_3 en 3 mL de agua y 50 mL de dimetilformamida (DMF). La mezcla se colocó a reflujo por espacio de 1 h, verificando la conversión total de la materia prima por cromatografía en capa fina (ccf). Pasado ese tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se vertió en agua-hielo, precipitando un sólido amarillo, el cual se separó por filtración al vacío. El producto se recristalizó de etanol-agua y presentó una sola mancha en ccf con un R_f de 0.63 (cloroformo: metanol, 95.5: 0.5), un punto de fusión de 121-121.2 °C y un rendimiento del 98.3%.

IR (KBr) ν : 2967, 1585, 1511, 1492, 1454, 1453, 1254, 1232, 1203, 852, 821, 775 y 751 cm^{-1} .

EM (IE): m/z (% Int. Rel.) 283 (80), 253 (20), 231 (10), 202 (100).

A.1.2 Síntesis de 4-(2,3-Diclorofenoxi)anilina (**2**).

En una botella de hidrogenación Parr de 500 mL equipada con un camión de calentamiento, se colocaron 7.9 g (0.0278 mol) de **1** y 0.8 g de Ni-Raney con 125 mL de metanol, la botella se acopló al hidrogenador y se llenó con hidrógeno hasta 35-40 lb/in², después se succionó con vacío, ésta operación se repitió por tres ocasiones, posteriormente se llenó hasta 40 lb/in² y se calentó a 32°C, la botella se agitó hasta que se consumieron 48 lb/in² por un espacio de 1 h, verificando la conversión total de la materia prima por ccf. La mezcla se pasó por una capa de celita y el filtrado se concentró en el rotaevaporador obteniéndose 7 g (99.1%) de un aceite oscuro, el cual presentó pureza por ccf, con un Rf de 0.36 (cloroformo: metanol, 95.5: 0.5). Este producto se sometió inmediatamente a la reacción de acetilación correspondiente.

A.1.3 Síntesis de 4-(2,3-Diclorofenoxi)acetanilida (**3**).

En un matraz bola de 100 mL equipado con agitación magnética, baño de hielo y atmósfera de nitrógeno, se colocaron 7 g (0.0275 mol) de **2** y 3 mL (2 eq, 0.028 mol) de anhídrido acético, la mezcla se agitó vigorosamente y al cabo de 12 h se precipitó un sólido blanco, se verificó la transformación total de la materia prima por ccf. Posteriormente se agregaron 50 mL de agua, el producto se separó por filtración con vacío y se lavó con agua hasta un pH neutro. El sólido blanco se recristalizó de

etanol, se obtuvieron 7.7 g (98.7%) de producto, el cuál presentó pureza en ccf, con un Rf de 0.45(cloroformo: metanol, 98:2) y un punto de fusión de 170.2-170.6 °C.

EM (IE): m/z (% Int. Rel.) 295 (M, 65), 253 (100), 217 (10)

A.1.4 Síntesis de 4-(2,3-Diclorofenoxi)-2-nitroacetanidida(4).

En un vaso de precipitados de 150 mL, equipado con agitación magnética y termómetro, se colocaron 6.5 g (0.0221 mol) de **3** en 20 mL de anhídrido acético. La mezcla se agitó en baño de hielo y cuando se alcanzó una temperatura de 5 °C, se adicionó gota a gota, 1 mL (0.0243 mol, 1.1 eq) de HNO₃ concentrado (65.3 %) en un periodo de 30 min, asegurando que la temperatura no excediera de los 10 °C. Al finalizar la adición se formó una solución transparente amarilla y luego precipitó un sólido amarillo esponjoso, se comprobó la conversión total de la materia prima por ccf. El precipitado se separó por filtración con vacío y el residuo se lavó con agua helada. El producto seco se recristalizó de etanol, obteniéndose 7.2124 g (96.33%) de un sólido amarillo esponjoso, el cual mostró pureza por ccf con un Rf de 0.69 (cloroformo: metanol, 95:5) y un punto de fusión de 122.1-122.9 °C.

IR (KBr) ν : 3370, 1512, 1362, 1335, 1251, 1156, 888 y 823 cm⁻¹

EM (IE) m/z (% Int. Rel.) 340 (M, 25), 298 (100), 292 (15), 252 (20), 217 (10), 189 (5).

A.1.5 Síntesis de 4-(2,3-Diclorofenoxi)-2-nitroanilina(**8**).

En un vaso de precipitados de 150 mL, equipado con agitación magnética, parrilla de calentamiento y termómetro se colocaron 3.6 g (0.0105 mol) de **4** y 20 mL de metanol, la mezcla se agitó y se calentó hasta los 40 °C, se adicionó 1 mL (1.3 eq, 0.0137 mol) de una solución de KOH al 50% en agua se agitó por un periodo de 1h, pasado ese tiempo se comprobó la conversión total de la materia prima y la mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se vertió sobre agua-hielo precipitando un sólido naranja el cual se separó por filtración con vacío. El producto se recristalizó de etanol, se obtuvieron 2.3 g (98.2 %) del sólido naranja, el cual mostró pureza por ccf, con un Rf de 0.56 (cloroformo: metanol, 99:1) y un punto de fusión de 137.6-143.2 °C.

IR(KBr) ν : 3370, 1241, 1049, 1512, 887, 823 y 777 cm^{-1}

EM (IE) m/z (% Int. Rel.) 298 (M, 100), 282 (1), 254 (20), 252 (30)

A.1.6 Síntesis de 4-(2,3-Diclorofenoxi)-1,2-fenilendiamina (**9**).

En una botella de hidrogenación Parr de 500 mL equipada con un camión de calentamiento, se colocaron 3 g (0.01 mol) de **8** y 0.6 g de Ni-Raney con 200 mL de metanol, la botella fue acoplada al hidrogenador y se llenó con hidrógeno hasta 35-40

lb/in² , después se succionó con vacío, esta operación se realizó tres veces, posteriormente se llenó hasta 40 lb/ in² y se calentó a 32 °C, la botella se agitó hasta que se consumieron 40 lb/in² por un espacio de 5 h, verificando la conversión total de la materia prima por ccf, la mezcla se pasó por una capa de celita y el filtrado se concentró en el rotevaporador obteniéndose 2.5 g (93.3 %) de un aceite oscuro, el cual presentó pureza por ccf, con un Rf de 0.3 (cloroformo: metanol, 95.5: 0.5). Este producto se sometió inmediatamente a la reacción de cidación correspondiente.

A.1.7 Síntesis de 5(6)-(2,3-Diclorofenoxi)-2-(trifluorometil)-1H-bencimidazol(**GNV7**).

En un matraz bola de 200 mL, equipado con agitación magnética, condensador de reflujo y atmósfera de nitrógeno, se colocaron 2.5 g (0.0092 mol) de **8**, 1.2 ml (1.5 eq, 0.015 mol) de ácido trifluoroacético y una gota de ácido clorhídrico. Esta mezcla se llevó a reflujo por un espacio de 3 h y al cabo de ese tiempo se verificó la conversión total de la materia prima por ccf, una vez que la reacción alcanzó la temperatura ambiente se le adicionó una solución saturada de NaHCO₃ hasta que el pH fue neutro, el sólido café que se formó fue extraído con acetato de etilo (3X30 mL), los extractos se juntaron y se lavaron con agua (3 X 30 mL), se secaron con Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron en el rotaevaporador. El sólido obtenido se disolvió en cloroformo y se pasó por una columna empacada con alúmina y eluída con acetato de etilo, los filtrados se juntaron y se concentraron en el rotaevaporador, el producto

obtenido fue sometido a decoloración utilizando 0.36 g de carbón activado en 30 mL de metanol, esta suspensión se agitó durante 2 horas y posteriormente se filtró en una matriz de celita, el filtrado se concentró en el rotaevaporador, se obtuvo un sólido el cual se recristalizó de etanol-agua. Se obtuvieron 2.1 g (66.7 %) de un producto color crema que mostró pureza en ccf, con un Rf de 0.49 (cloroformo: metanol, 95:5) y un punto de fusión de 169-170 °C.

IR(KBr) ν : 2848, 1634, 1577, 1552, 1448, 1320, 1258, 1180, 1138, 1052, 988, 961, 906, 816, 767 y 713 cm^{-1}

EM (IE) m/z (% Int. Rel.): 346 (M,80), 313 (40), 311 (100), 276 (60).

RMN- ^1H (300 MHz, acetona- d_6) δ : 7.0 (dd, 1H, H-6, J= 1.3, J= 7.9), 7.1 (d, 1H, H-4, J= 8.1), 7.3 (t, 1H, H-5', J= 7.8, J= 8.1), 7.4 (dd, 2H, H-4', H-6', J=1.6, J=8.2), 7.8 (d, 1H, H-7, J= 8.7), 12.7 (sa, 1H, N-H) ppm.

RMN- ^{13}C (75.5 MHz, acetona- d_6) δ : 102.828 (C-4), 117.356(C-6), 117.356(C-6'), 118.271(C-7), 119.162 (q, CF_3), 124.587 (C-2'), 125.417(C-4'), 126.167(C-5'), 129.425 (C-3'), 134.594(C-7a), 154.388 (C-3 a), 154.784(q, C-2), 154.876(C-5), 155.779(C-1') ppm.

A.1.8 Síntesis de 4-(2,3-Diclorofenoxi)-*N*-metil-2-nitroacetanilida(**5**).

En un matraz bola de 50 mL con 2 bocas, equipado con agitación magnética y termómetro, se colocaron 3.2 g (0.0094 mol) de **4**, 10 mL de glima y 1.3 mL (1.5 eq, 0.0141 mol) de sulfato de dimetilo. La mezcla se agitó y se le adicionó 1 g (1.5 eq, 0.0141 mmol) de KOH en solución al 50% en agua, procurando que la temperatura no excediera de los 35 °C. Pasado un periodo de 2 h la reacción se monitoreó en ccf y se verificó la transformación total de la materia prima. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se vertió sobre agua-hielo formándose un aceite viscoso color amarillo, el cual se extrajo con acetato de etilo (3X30 mL). Los extractos reunidos se lavaron con agua, se secaron con Na₂SO₄ anhidro y se concentraron en el rotaevaporador. El sólido amarillo se recristalizó de etanol, se obtuvieron 2.2 g (78 %) del producto puro, con un R_f de 0.59 (cloroformo: metanol, 95:5) y un punto de fusión de 133-134.7 °C.

IR (KBr) ν : 3073, 3040, 2928, 1956, 1666, 1541, 1428, 1267, 961, 877, 793, 727, cm⁻¹

EM (IE) m/z (% Int. Rel.): 354 (M⁺, 1), 312 (100), 295 (5), 266 (20), 265 (15).

A.1.9 Obtención de 4-(2,3-Diclorofenoxi)-*N*-metil-2-nitroanilina (**6**).

En un vaso de precipitados, equipado con agitación magnética, parilla de calentamiento y termómetro, se colocaron 2.2 g (0.0062 mol) de **5** , 20 mL de

metanol y 1g (3 eq, 0.0128 mol) de KOH al 50% en agua. La mezcla de reacción se calentó y agitó por alrededor de 1 h, procurando una temperatura de 40 °C, después de ese periodo se monitoreo por ccf verificando la transformación de la materia prima, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se vertió sobre agua-hielo, precipitando un producto color naranja, el cual se separó por filtración al vacío, se lavó varias veces con agua fría y se recristalizó de etanol, se obtuvieron 1.9 g (95 %) del producto, el cual mostró pureza por ccf con un Rf de 0.8 (cloroformo:metanol, 95:5) y un punto de fusión de 138.1-138.5 °C.

IR (KBr) ν : 3389, 3081, 2914, 1633, 1571, 1522, 1449, 1257, 1229, 1163, 1049, 959, 882, 775 cm^{-1} .

EM (IE) m/z (% Int. Rel.): 312 (M+, 100), 279 (7), 266 (40), 231(20), 224(25)

A.1.10 Síntesis de 4-(2,3-Diclorofenoxi)-*N*-metil-1,2-fenilendiamina(7).

En una botella de hidrogenación Parr de 500 mL, equipada con camisa de calentamiento, se colocaron 1.8 g (0.0057) de **6** y 0.4 g de Ni-Raney con 125 mL de metanol, la botella fue acoplada al hidrogenador, se llenó con hidrógeno hasta 35-40 lb/in² y se succionó con vacío, ésta operación se repitió por tres ocasiones, posteriormente se llenó hasta 40 lb/ in² y se calentó a 32°C, la botella se agitó hasta

que se consumieron 33 lb/in² por un espacio de 15 h, verificando que no procedió la conversión total de la materia prima por ccf, la mezcla se pasó por una capa de celita y el filtrado se concentró en el rotevaporador obteniéndose 1.7 g de una mezcla de un sólido rojizo y un aceite oscuro, la cual se sometió a la reacción de ciclación correspondiente en presencia de ZnCl₂ para completar la reducción .

A.1.11 Síntesis de 5-(2,3-Diclorofenoxi)-1-metil-2-(trifluorometil)-1H-bencimidazol (GNV14)

En un matraz bola de 100 mL , equipado con agitación magnética, condensador a reflujo y atmósfera de nitrógeno, se colocaron 1.7 g de una mezcla que contenía **6** y **7**, 1 g (1 eq, 0.0064 mol) de Zn(Cl)₂ y 1.5 mL (3 eq, 0.0191 mol) de ácido trifluoroacético y 1 gota de HCl concentrado. La mezcla se cantó a reflujo por un periodo de 2 h, la transformación de la materia prima fue monitoreada por ccf. Pasado ese tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se le agregó una solución saturada de NaHCO₃ hasta que se registró un pH neutro. El producto sólido se extrajo con acetato de etilo (3X30 mL), los extractos se juntaron y se lavaron con agua, se secaron con Na₂SO₄ anhidro y posteriormente se concentraron en el rotaevaporador. El sólido café se disolvió en 20 mL de metanol al que se le adicionaron 0.1 g de carbón activado, esta mezcla fue sometida a reflujo durante 3 h, pasado este periodo se enfrió a temperatura ambiente y se filtró sobre celita, el filtrado se concentró en el rotaevaporador, el producto color crema se recristalizó de etanol-agua, se obtuvo 1.1

(54 %) g de un sólido blanco, el cual mostró pureza por ccf con un Rf de 0.56 (cloroformo:metanol, 95.5:5) y un punto de fusión 135.6-136.4 °C.

IR (KBr) ν : 3079, 1575, 1519, 1490, 1448, 1429, 1408, 1255, 1233, 1177, 1143, 1087, 963, 883, 784, 771, 712 cm^{-1} .

EM (IE) m/z (% Int. Rel.) 360 (M^+ , 90), 325 (100), 290 (60), 256 (20).

RMN- ^1H (300 MHz, acetona d_6) δ : 3.89(s, 3H, N- CH_3), 6.8 (dd, 1H, H-6, J=1.5, J=8.0 Hz), 7.5 (t, 1H, H-5; J=8.0, J= 8.34), 7.2 (dd, 1H, H-6, J=2.3, J=9.9 Hz), 7.4 (dd, 1H, H-4, J=1.1, J=8.0 Hz), 7.4 (dd, 1H, H-4, J=0.32, J=2.1 Hz), 7.5 (dd, 1H, H-7, J=0.3, J= 9.0) ppm.

RMN- ^{13}C (75.5 MHz, acetona d_6) δ : 31.582 (q, N- CH_3 , J=2.2), 110.831 (C-4), 113.2 (C-7), 118.348 (C-6'), 118.745 (C-6), 121.936 (q, CF_3), 124.340 (C-2'), 125.518 (C-4'), 125.902 (C-5'), 129.252 (C-7 a), 134.365 (C-3'), 142.072 (C-3 a), 142.560 (C-2), 153.690 (C-5), 155.880 (C-1') ppm.

A.2. Complejos de inclusión

A.2.1 Formación del complejo **GNV14**/β-Ciclodextrina

En un matraz Herlenmeyer de 250 mL, equipado con agitación magnética se colocaron 100 mg (0.0002 mol) de **GNV14** y se le adicionaron 50 mL de metanol, la mezcla se agitó hasta la completa disolución del sólido.

En un vaso de precipitados de 150 mL, equipado con agitación magnética, se colocaron 785 mg (0.0004 mol) de β-ciclodextrina y 50 mL de agua HPLC, esta mezcla se agitó hasta la completa disolución de la ciclodextrina y una vez logrado esto, se adicionó al matraz Herlenmeyer que contenía **GNV14**. La solución se agitó por 48 h en ausencia de luz y pasado este periodo se filtró en una membrana Whatman de 0.45 μm, el filtrado se concentró en el rotaevaporador y el polvo obtenido se transfirió a un vaso de precipitados de 50 mL, el cual se dejó secar por 48 h más. Se obtuvieron 700 mg del complejo **GNV14**/β-ciclodextrina y un punto de fusión de 283.5-284 °C.

A.2.2 Mezcla física **GNV14**/β-Ciclodextrina.

En un mortero se colocaron 100 mg de **GNV14** y 785 mg de β-Ciclodextrina, ambos sólidos se mezclaron hasta obtener un polvo homogéneo, se obtuvieron 855 mg de la mezcla física **GNV14**/β-Ciclodextrina, cuyo punto de fusión fue de 297.1-299.5 °C

A.2.3 Formación del complejo **GNV14**/β-ciclodextrina por microondas.

Para la formación del complejo **GNV14**/β-ciclodextrina por medio de microondas, se realizaron mezclas físicas de la β-ciclodextrina y el compuesto **GNV14**, en la tabla

A.2.1 se muestran las cantidades de dichos componentes:

No. de serie	GNV14 (mg)	β-ciclodextrina (mg)	relación (mol)	agua:metanol (50:50), μl
1	50	157.2	1:1	100
2	50	314.2	1:2	150
3	50	741.4	1:3	200
4	50	628.5	1:4	250
5	50	785.7	1:5	300

Tabla A.2.1 Cantidades molares preparadas para la formación del
Complejo **GNV14**/β-ciclodextrina por microondas

Una vez realizadas las mezclas físicas por duplicado, se le adicionó el volumen indicado en la tabla A.2.1 de una mezcla de disolventes metanol:agua (50:50), se colocaron en el horno de microondas y se irradiaron por 90 s, pasado este tiempo, los matraces se retiraron del horno y se dejaron enfriar a temperatura ambiente, los complejos de inclusión formados se transfirieron a vasos de precipitados de 50 mL y se dejaron secar por 48 h.

A.2.4 Curva de calibración.

En un frasco ámbar de 5 mL, se colocaron 10.2 mg del compuesto **GNV14** y se le adicionaron 1000 μL DMSO, de ésta solución se tomaron 20 μL y se adicionaron 980 μL , esta solución tiene una concentración de 561.1111 μM , de ésta solución se efectuaron diluciones, para obtener concentraciones de 0.01, 0.1, 5, 10, 15, 20 y 25 mM según la Tabla A.2.2:

Tabla A.2.2 Diluciones efectuadas para la curva de calibración

Concentración teórica (μM)	Volumen tomado del estándar (mL)	Volumen agregado de metanol (μM)	Concentración Real (μM)
5*	330	670	4.9999
10	18	982	10.0999
15	27	973	15.1499
20	36	964	20.1999
25	45	955	25.2499

*Esta dilución se preparó a partir de la dilución 15 μM

Para preparar las soluciones correspondientes a 0.01y 0.1, se tomaron volúmenes de una dilución de 0.22 μM preparada, en la Tabla A.2.3, se resume el procedimiento realizado.

Concentración Teórica (μM)	Volumen del estándar (μL)	Volumen agrado de metanol (μL)	Concentración Real (μM)
0.01	45	955	0.01008
0.1	447	553	0.1001

Tabla A.2.3 Diluciones efectuadas para la curva de calibración

Se inyectaron 50 μL de cada concentración en el cromatógrafo de líquidos (Fase móvil: metanol: agua, 95:5), ésta operación se realizó cuatro veces, el promedio del área de las inyecciones se presentan en la Tabla A.2.4:

Tabla A.2.4 Áreas obtenidas para las concentraciones de la curva de calibración.

Concentración (μM)	Área promedio
0.01008	6600.25
0.1001	15889.25
4.9999	108537.25
10.0999	159576
15.1499	279861.5
20.1999	300088.75
25.2499	445528.25

A.2.5 Solubilidad de **GNV14**.

En un tubo Eppendorf de 2 mL se colocaron 5 mg del compuesto **GNV14** y se le adicionaron 1000 μL de agua, ésta mezcla se agitó durante 24 h y una vez

transcurrido este tiempo se pasó a través de un filtro Whatman de 0.45 μm , de el filtrado obtenido se tomaron 100 μL y se le adicionaron 900 μL de metanol, de ésta última dilución se inyectaron 50 μL en el cromatógrafo de líquidos, que tenía una fase móvil constituida por metanol: agua (95:5), éste procedimiento se repitió por triplicado y se inyectaron cuatro veces en el cromatógrafo de líquidos.

A.2.5 Solubilidad del complejo **GNV14**/ β -ciclodextrina.

En un tubo Eppendorf de 2 mL se colocaron 5 mg del complejo **GNV14**/ β -ciclodextrina y se le adicionaron 1000 μL de agua, ésta mezcla se agitó durante 24 h y una vez transcurrido este tiempo se pasó a través de un filtro Whatman de 0.45 μm , de el filtrado obtenido se tomaron 100 μL y se le adicionaron 900 μL de metanol, de ésta última dilución se inyectaron 50 μL en el cromatógrafo de líquidos, que tenía una fase móvil constituida por metanol: agua (95:5), éste procedimiento se repitió por triplicado y se efectuaron cuatro para cada corrida.

A.2.6 Formación del complejo **GNV14**/ Hidroxipropil- β -ciclodextrina.

En un matraz erlenmeyer de 250 mL, equipado con agitación magnética se colocaron 100 mg (0.0002 mol) de **GNV14** y se le adicionaron 50 mL de metanol, la mezcla se agitó hasta la completa disolución del sólido.

En un vaso de precipitados de 150 mL, equipado con agitación magnética, se colocaron 808 mg (0.0004 mol) de Hidroxipropil- β -Ciclodextrina y 50 mL de agua

destilada, ésta mezcla se agitó hasta la completa disolución de la ciclodextrina y una vez conseguido esto, se adicionó al matraz erlenmeyer que contenía el compuesto **GNV14**, esta disolución se agitó por 48 h en ausencia de luz y pasado este periodo se filtró en una membrana Whatman de 0.45 μm , el filtrado se concentró en el rotaevaporador, el polvo obtenido se transfirió a un vaso de precipitados de 50 mL y se dejó secar por 48 h más, se obtuvieron 800 mg del complejo **GNV14**/Hidroxiopropil- β -ciclodextrina con un punto de fusión de 240-243 $^{\circ}\text{C}$.

A.2.7 Mezcla física **GNV14**/Hidroxiopropil- β -Ciclodextrina.

En un mortero se colocaron 100 mg del bencimidazol **GNV14** y 808 mg de hidroxipropil- β -ciclodextrina, ambos sólidos se mezclaron hasta obtener un polvo homogéneo, se obtuvieron 900 mg de la mezcla física **GNV14**/ β -ciclodextrina, cuyo punto de fusión fue de 235-238.4 $^{\circ}\text{C}$.

A.2.8 Solubilidad del complejo **GNV14**/Hidroxiopropil- β -Ciclodextrina.

En un tubo Eppendorf de 2 mL se colocaron 5 mg del complejo de inclusión **GNV14**/Hidroxiopropil- β -Ciclodextrina y se le adicionaron 1000 μL de agua, ésta mezcla se agitó durante 24 h y una vez transcurrido este tiempo se pasó a través de un filtro Whatman de 0.45 μm , de el filtrado obtenido se tomaron 100 μL y se le adicionaron 900 μL de metanol, de ésta última dilución se inyectaron 50 μL en el cromatógrafo de líquidos, que tenía una fase móvil constituida por metanol: agua (95:5), éste procedimiento se repitió por triplicado y se inyectaron cuatro veces en el cromatógrafo de líquidos.

Apéndice B. Espectroscopia, espectrometría y análisis térmico

Los estudios de espectroscopia, espectrometría y análisis térmico diferencial se realizaron en la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación (USAI) de la Facultad de Química de la U. N. A. M.

Instrumentación:

- Espectroscopia de Infrarrojo

Equipo: Perkin Elmer 1605 con transformada de Fourier, en pastillas de bromuro de potasio.

- Resonancia Magnética Nuclear

Equipo: Varian VRX-300 MHz, en Acetona deuterada (Acetona-d₆)

- Espectrometría de Masas

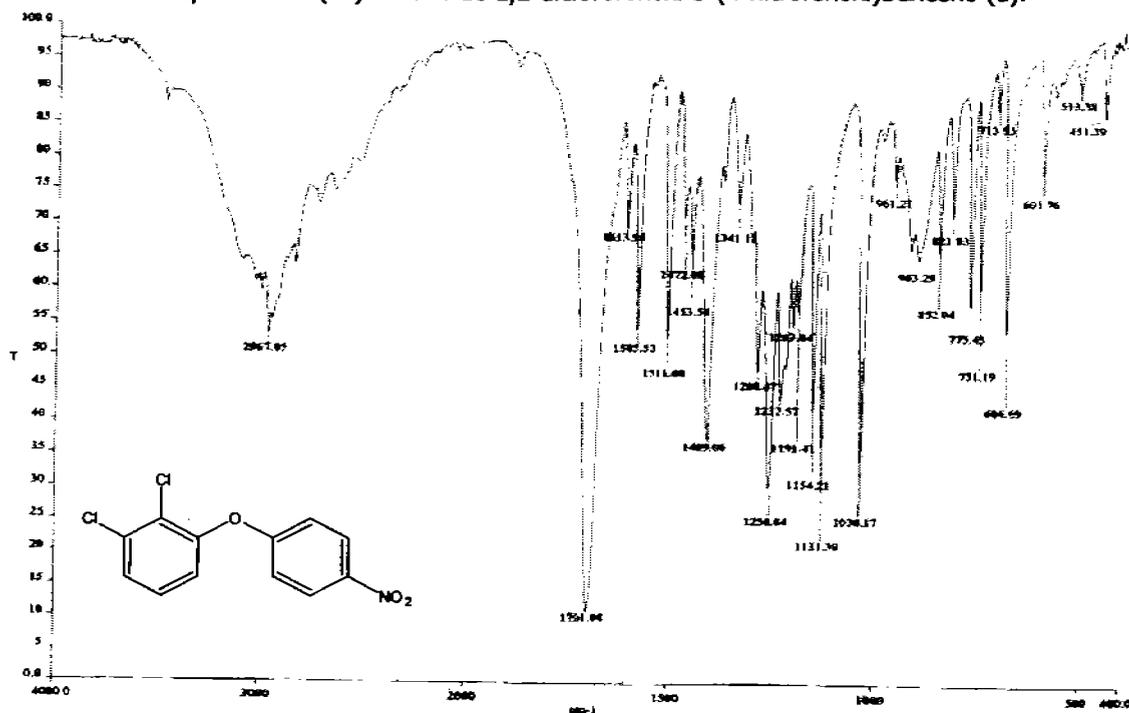
Equipo: Jeol JMS-SX102A acoplado a cromatografía de gases

- Análisis Térmico

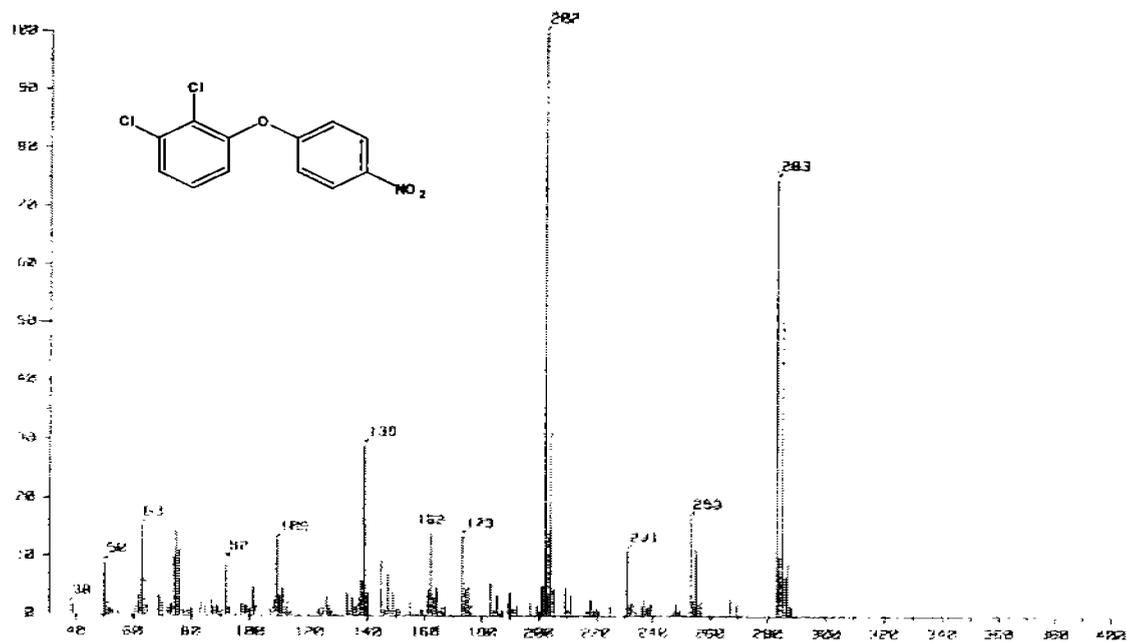
Equipo: Star SW 8.10

Parte 1: Espectroscopia y espectrometría de la síntesis de los compuestos **GNV14** y **GNV7**.

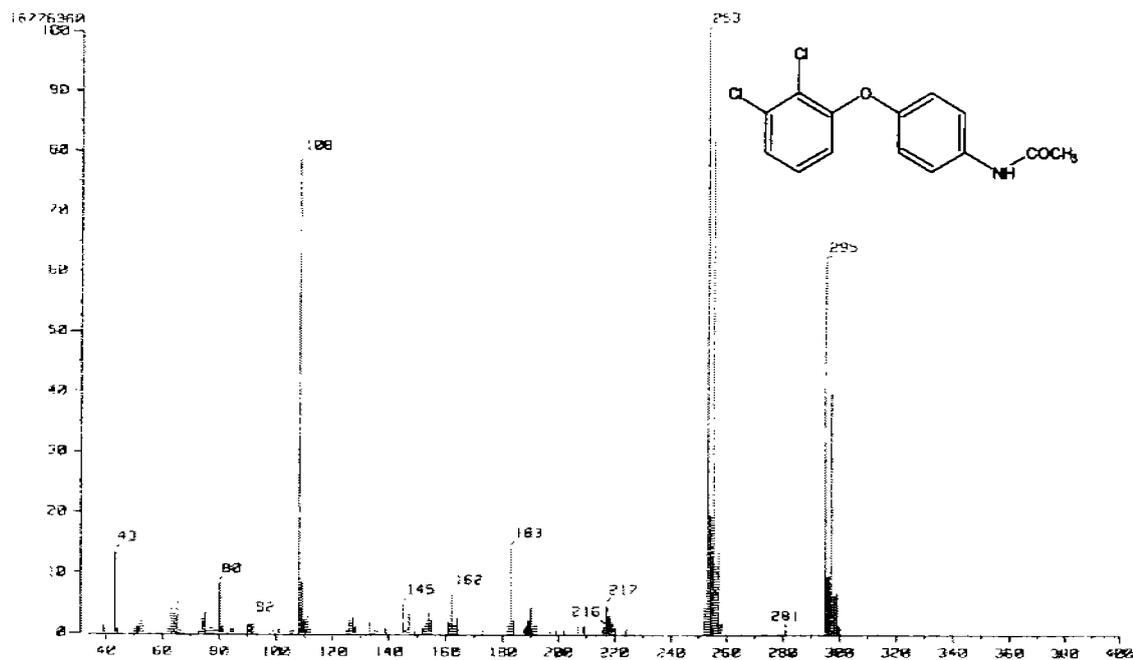
Espectro B.1 (IR) Síntesis de 1,2-diclorofenoxi-3-(4-nitrofenoxi)benzeno (1).



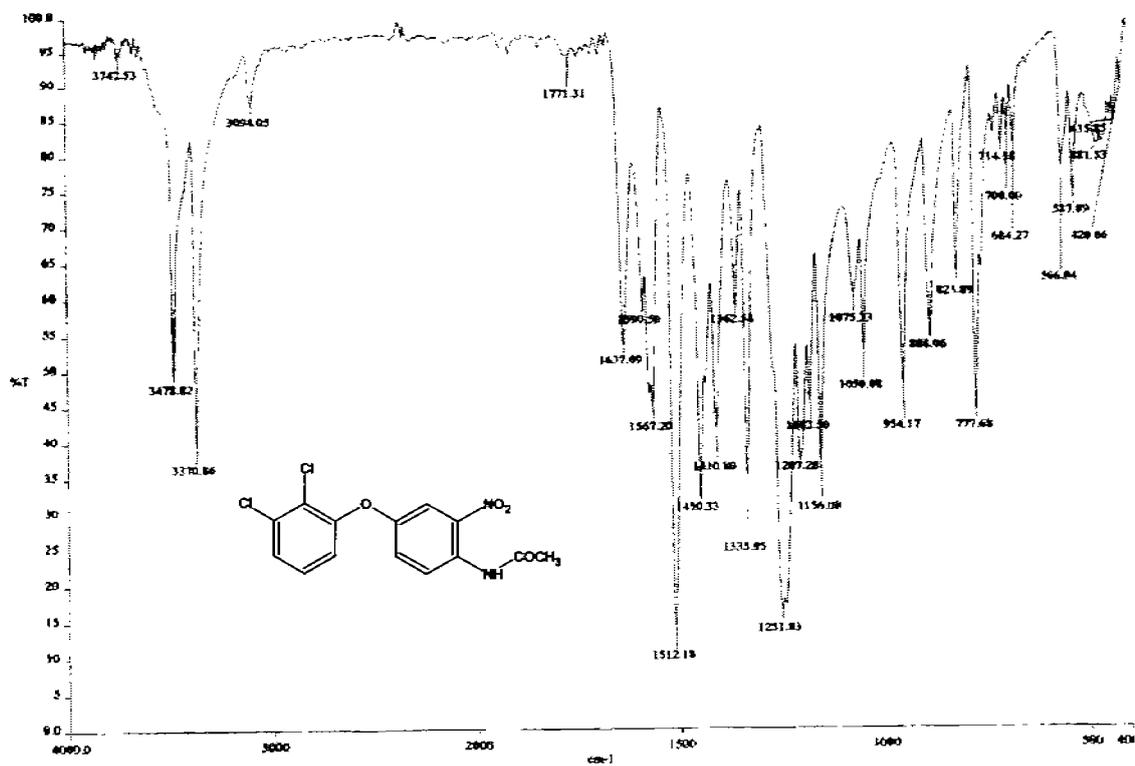
Espectro B.2 (EM) Síntesis de 1,2-diclorofenoxi-3-(4-nitrofenoxi)benzeno (1).



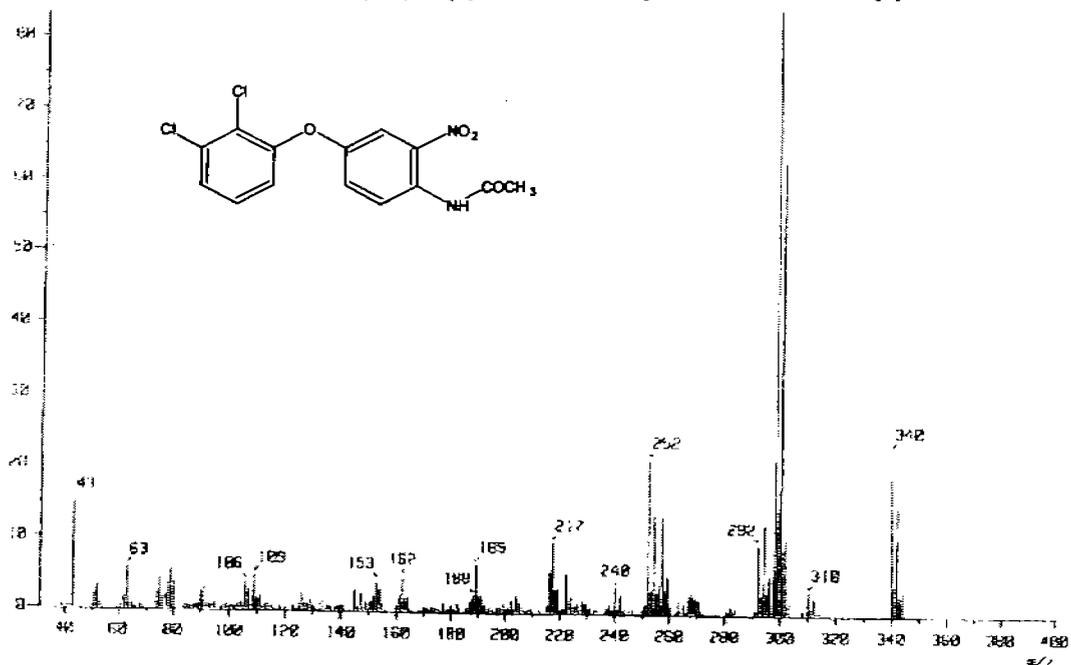
Spectro B.3 (EM) 4-(2,3-diclorofenoxi)acetanilida (3)



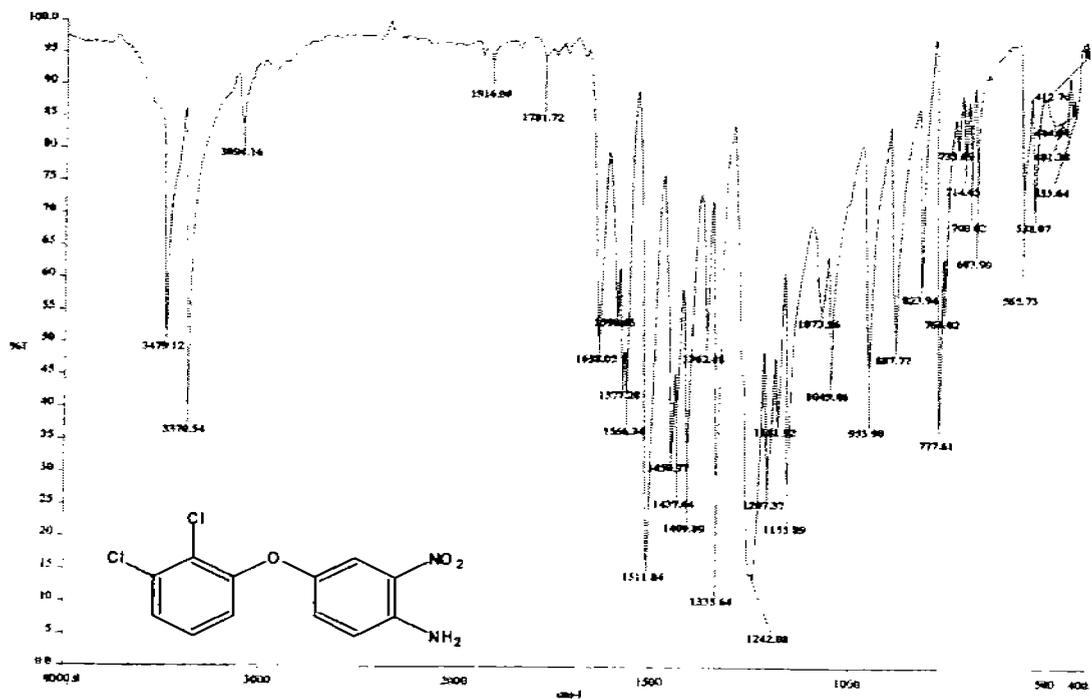
Spectro B.4 (IR) 4-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroacetanilida (4)



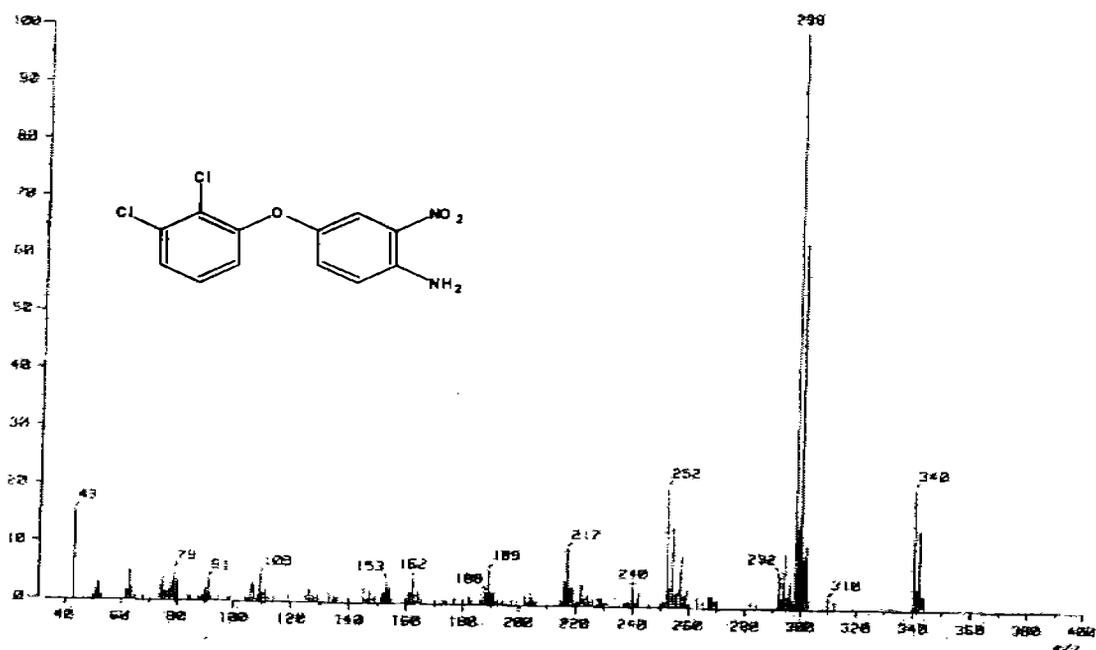
Espectro B.5 (EM) 4-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroacetanilida (4)



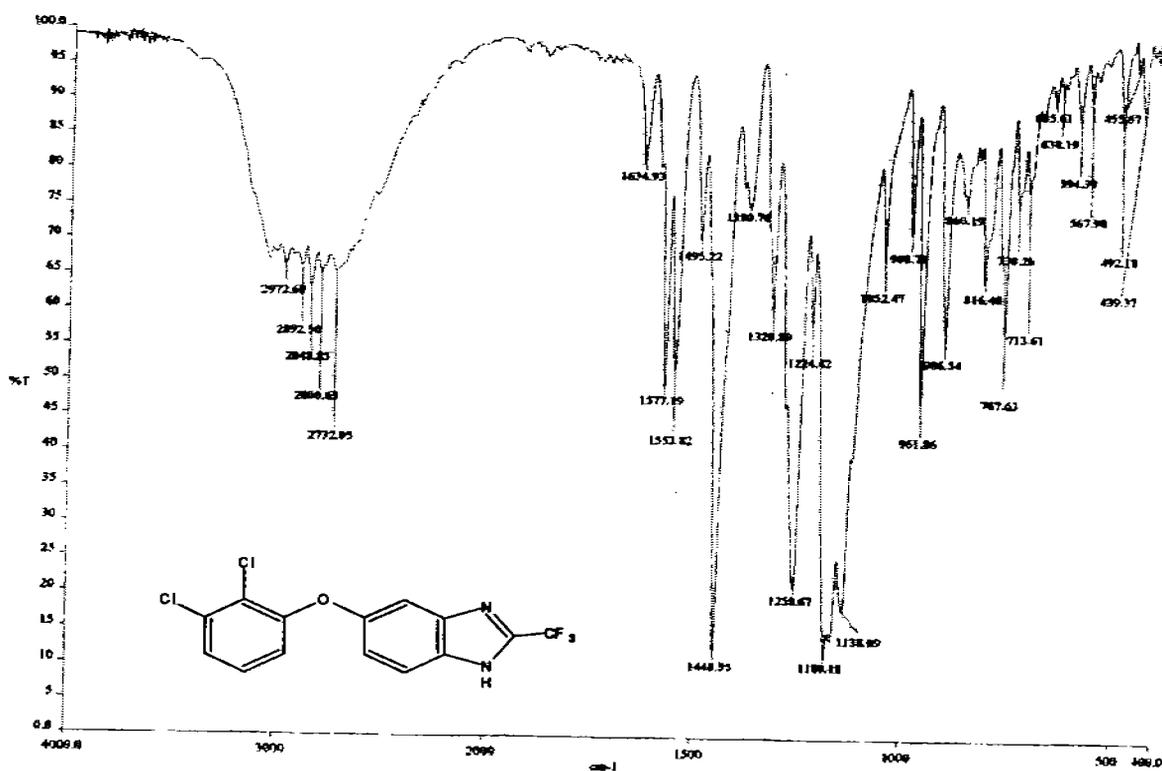
Espectro B.6(IR) 4-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina (8)



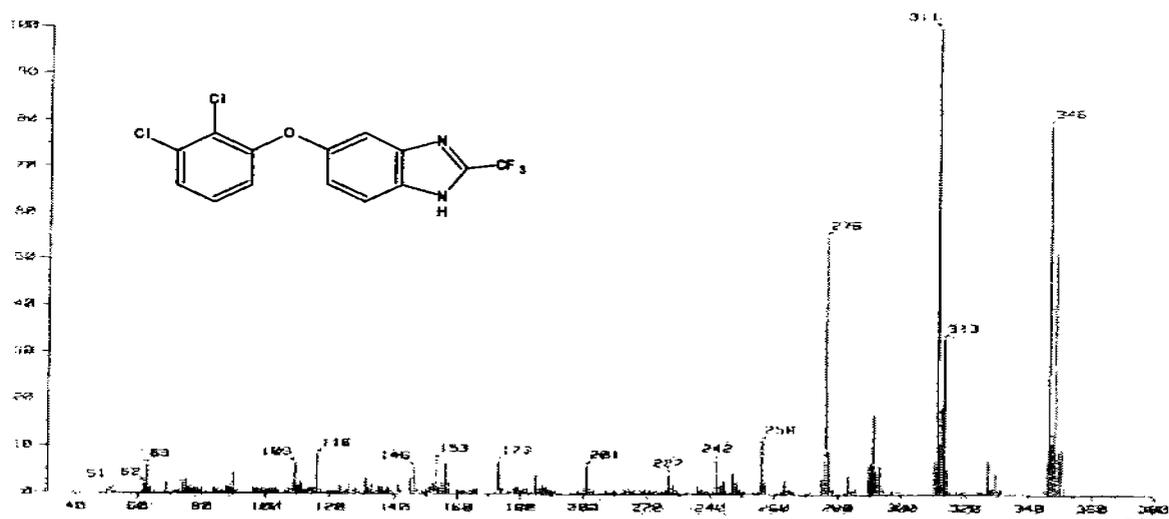
Espectro B.7(EM) 4-(2,3-diclorofenoxi)-2-nitroanilina (8)



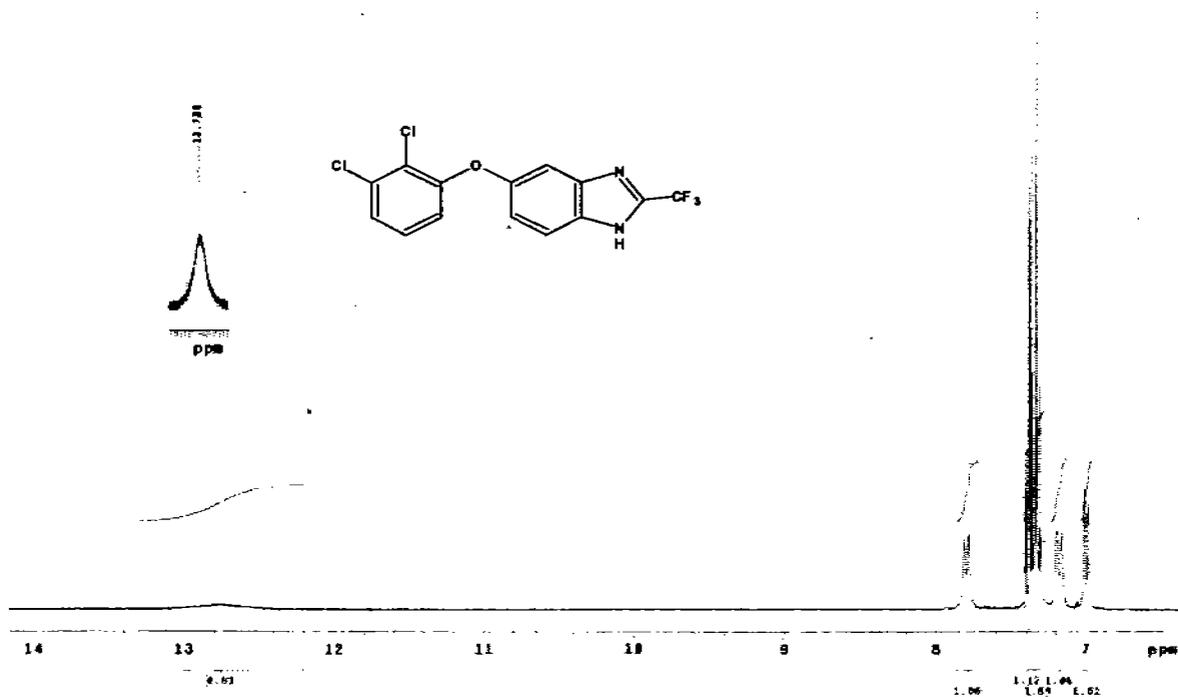
Espectro B.8 (IR) 5(6)-(2,3-diclorofenoxi)-2-(trifluorometil)-1H-benzimidazol (GNV7)



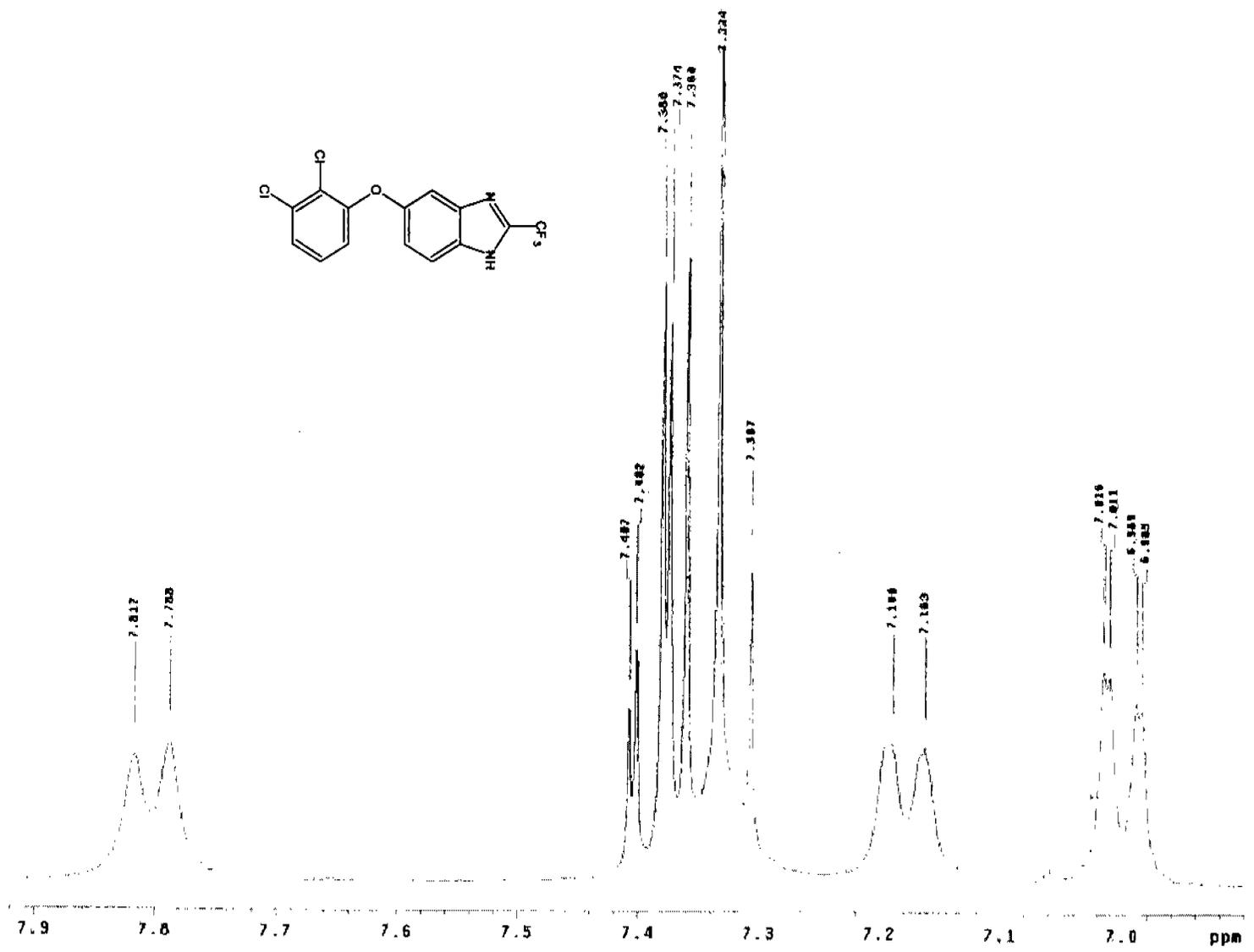
Espectro B.9 (EM) 5(6)-(2,3-diclorofenoxi)-2-(trifluorometil)-1H-benzimidazol (GNV7)benzimidazol (GNV7)



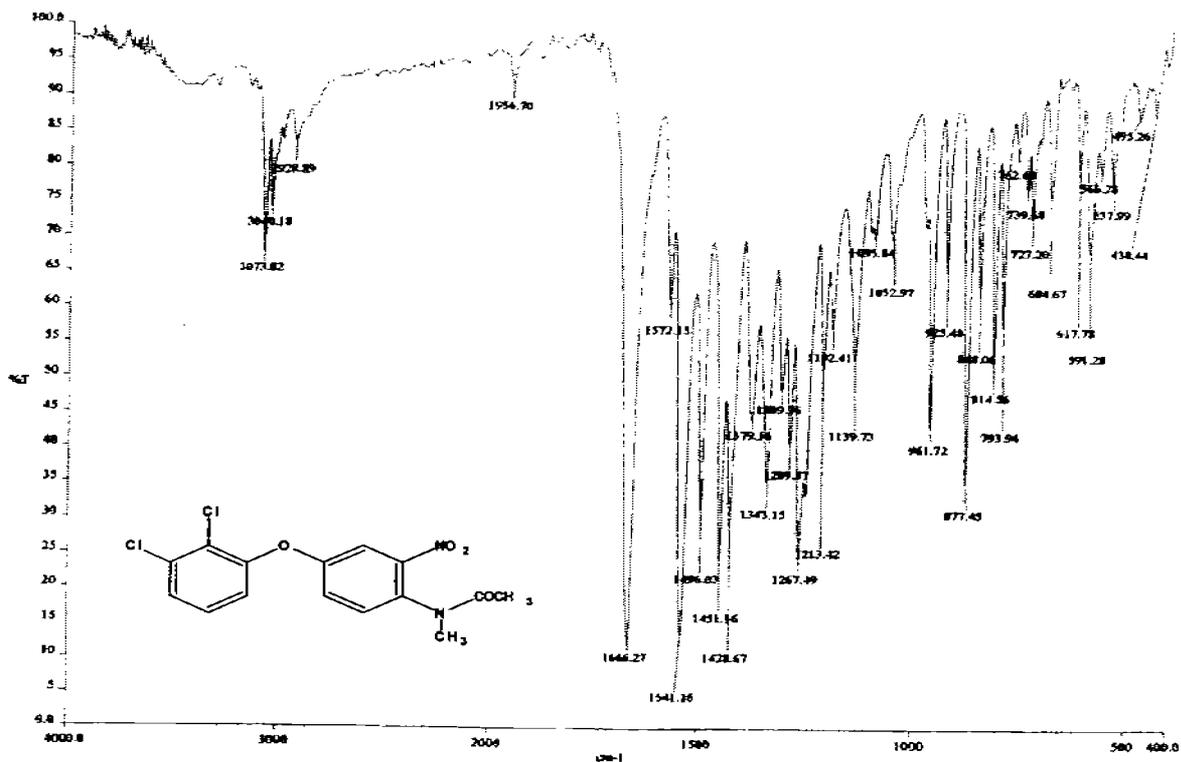
Espectro B.10(¹H-RMN) 5(6)-(2,3-diclorofenoxi)-2-(trifluorometil)-1H-benzimidazol (GNV7)benzimidazol (GNV7)



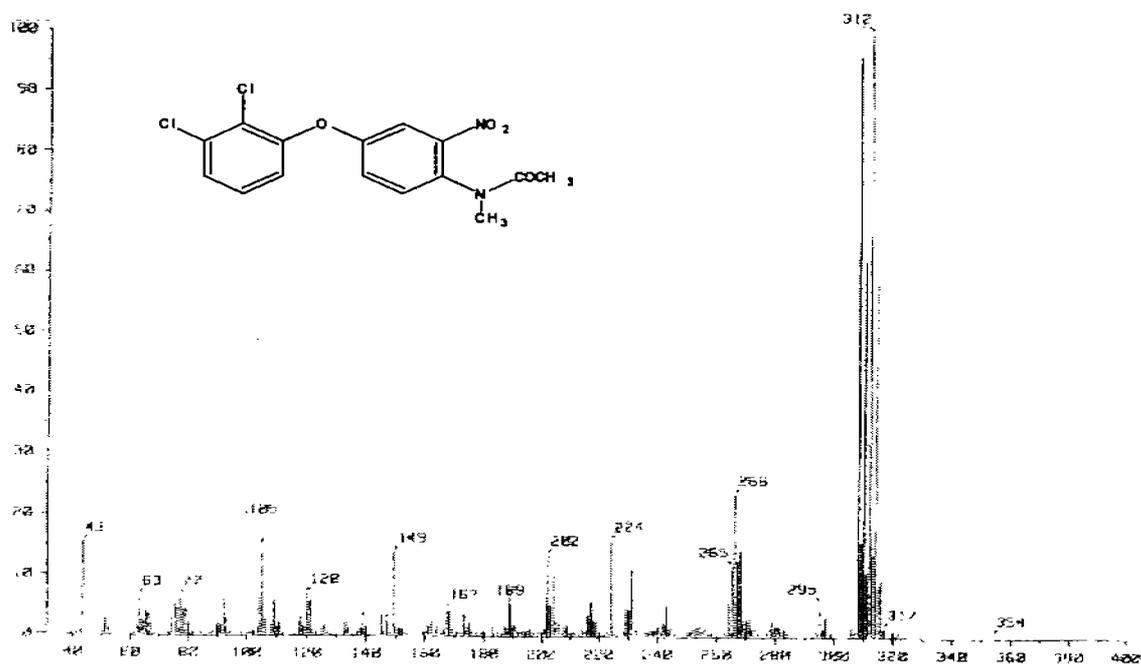
Espectro B.11 ($^1\text{H-NMR}$)5(6)-(2,3-diclorofenoxi)-2-(trifluorometil)-1H-benzimidazol (GNV7)



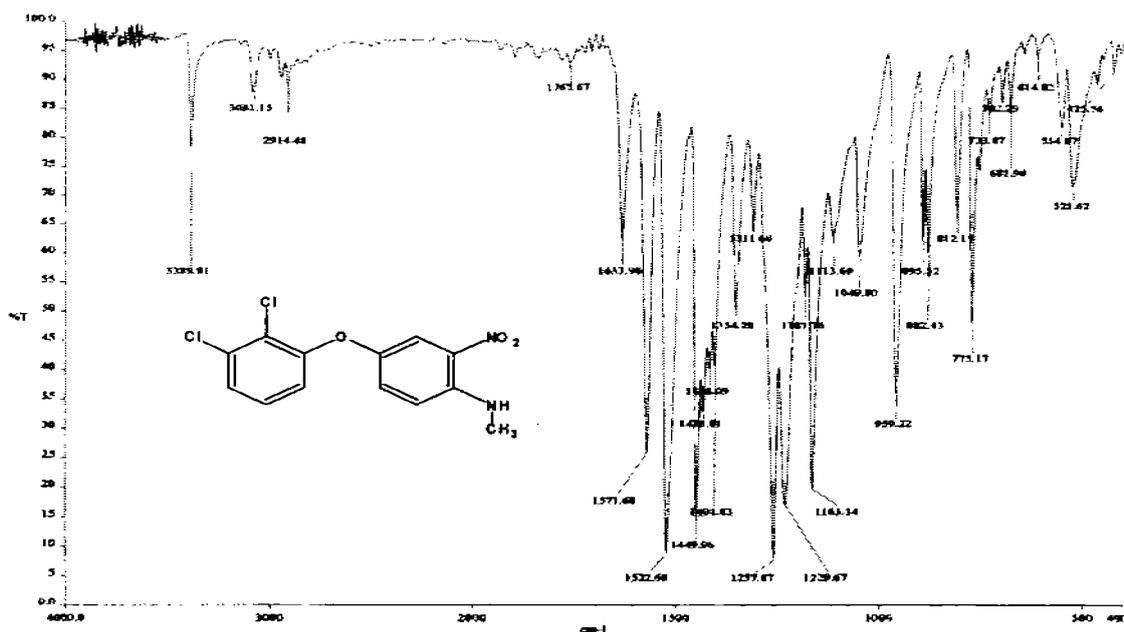
Espectro B.13 (IR)4-(2,3-diclorofenoxi)-*N*-metil-2-nitroanilina (5)



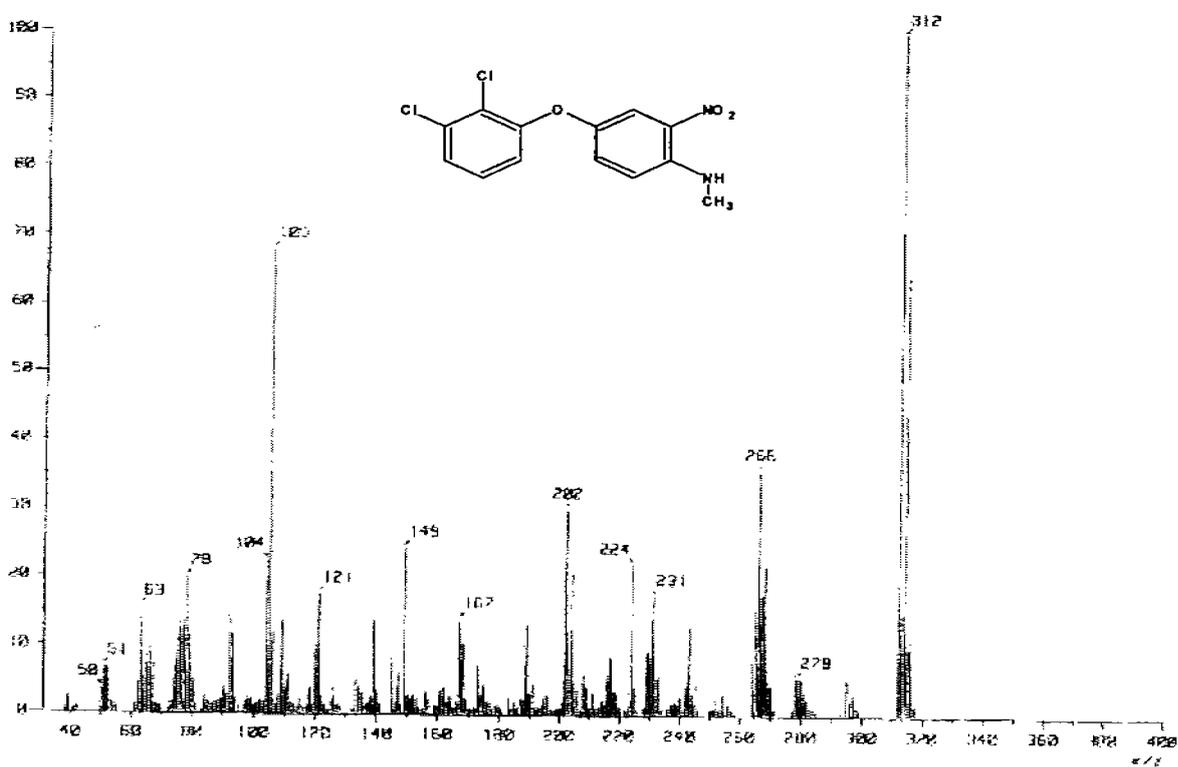
Espectro B.14 (EM)4-(2,3-diclorofenoxi)-*N*-metil-2-nitroanilina (5)



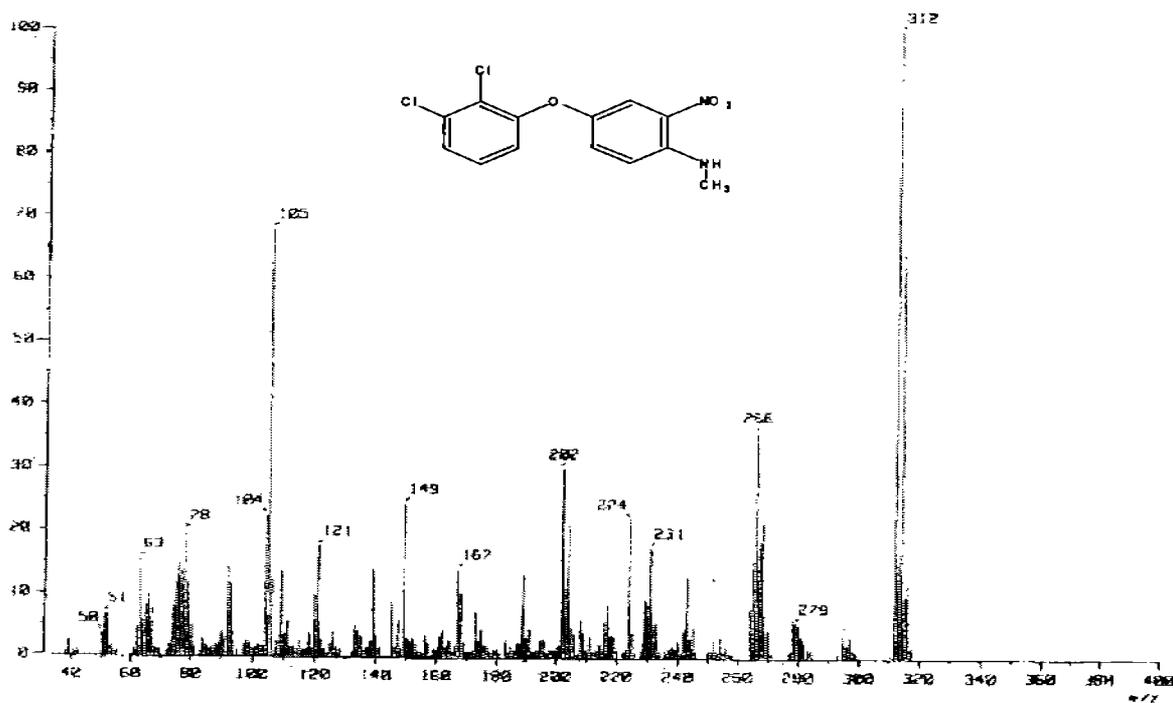
Espectro B.15(IR) 4-(2,3-diclorofenoxi)-*N*-metil-2-nitroanilina (6)



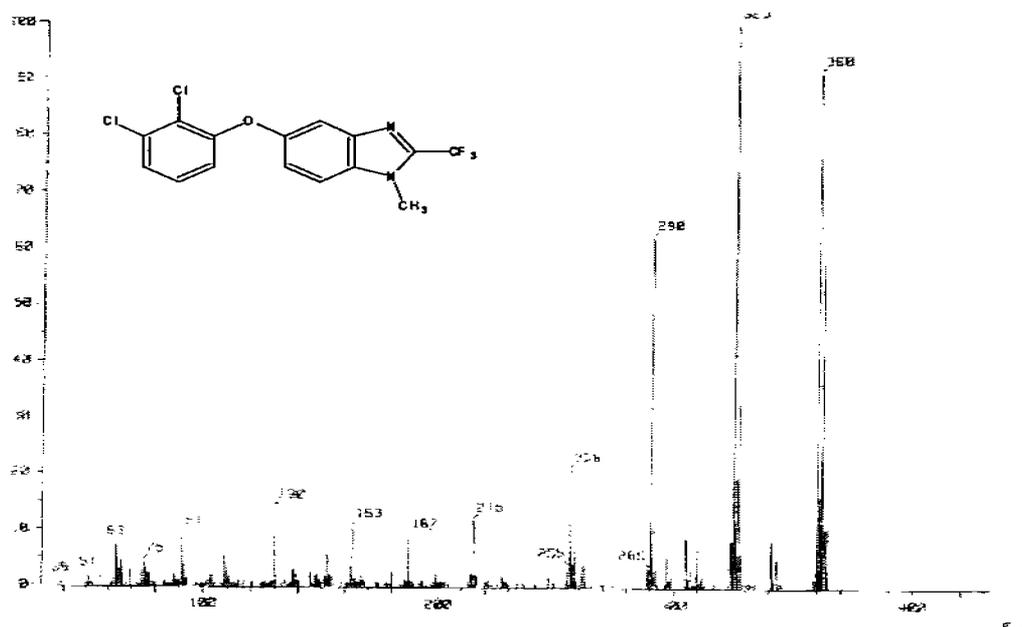
Espectro B.15(IR) 4-(2,3-diclorofenoxi)-*N*-metil-2-nitroanilina (6)



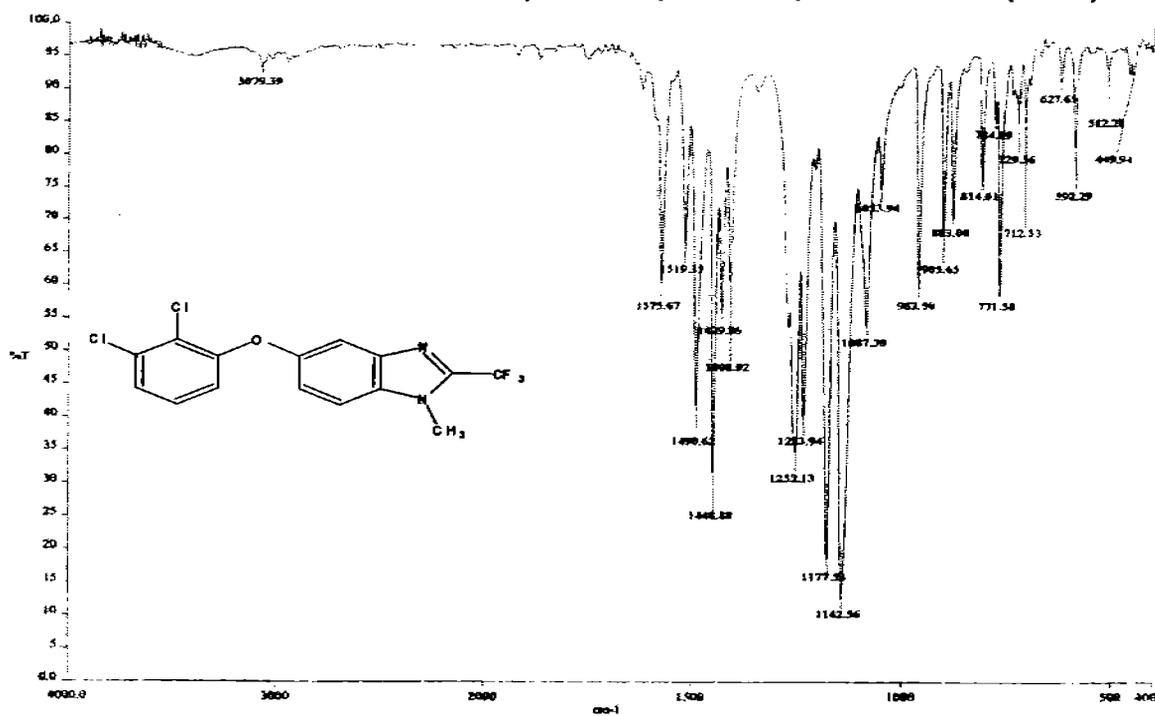
Espectro B.16(EM) 4-(2,3-diclorofenoxi)-*N*-metil-2-nitroanilina (7)



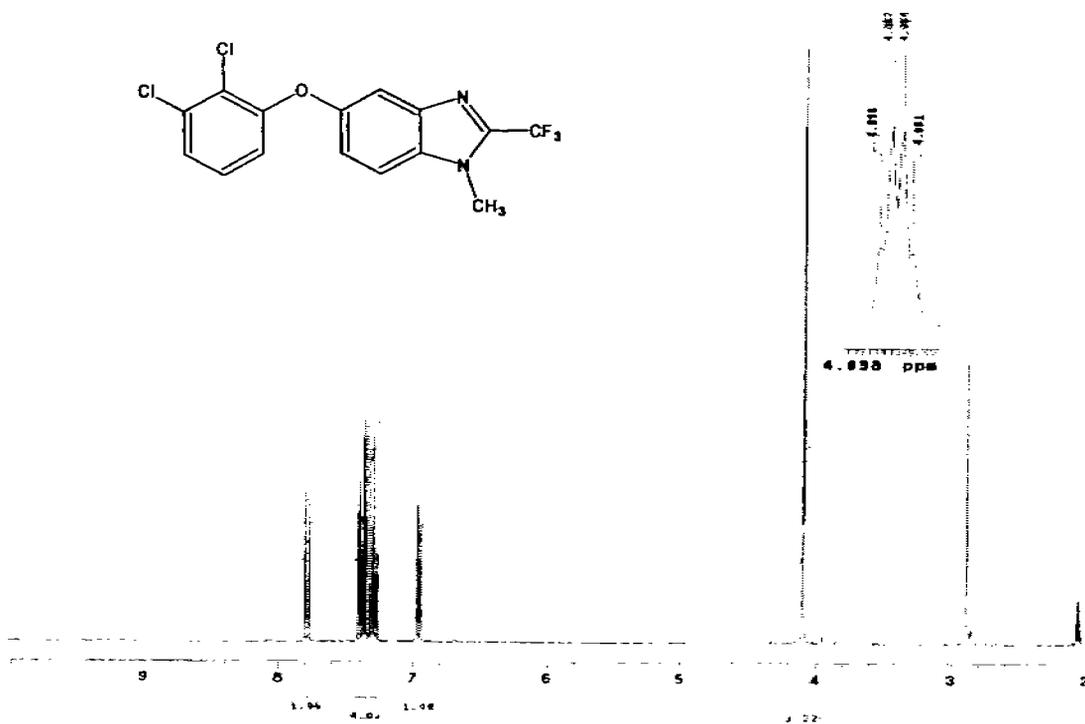
Espectro B.17 5-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-2-(trifluorometil)-1*H*-bencimidazol (GNV14)



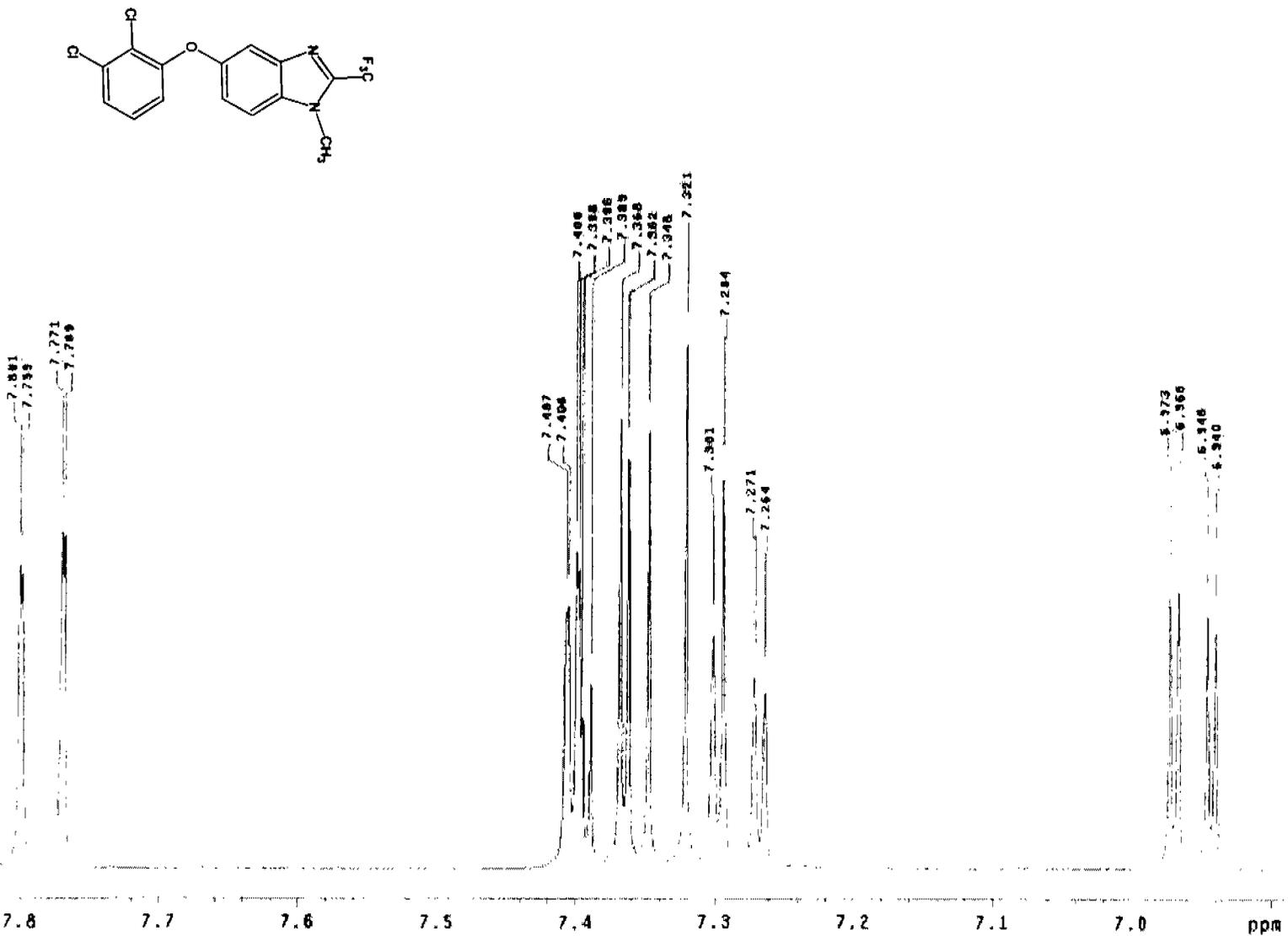
Espectro B.18 5-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-2-(trifluorometil)-1H-benzimidazol(GNV14)



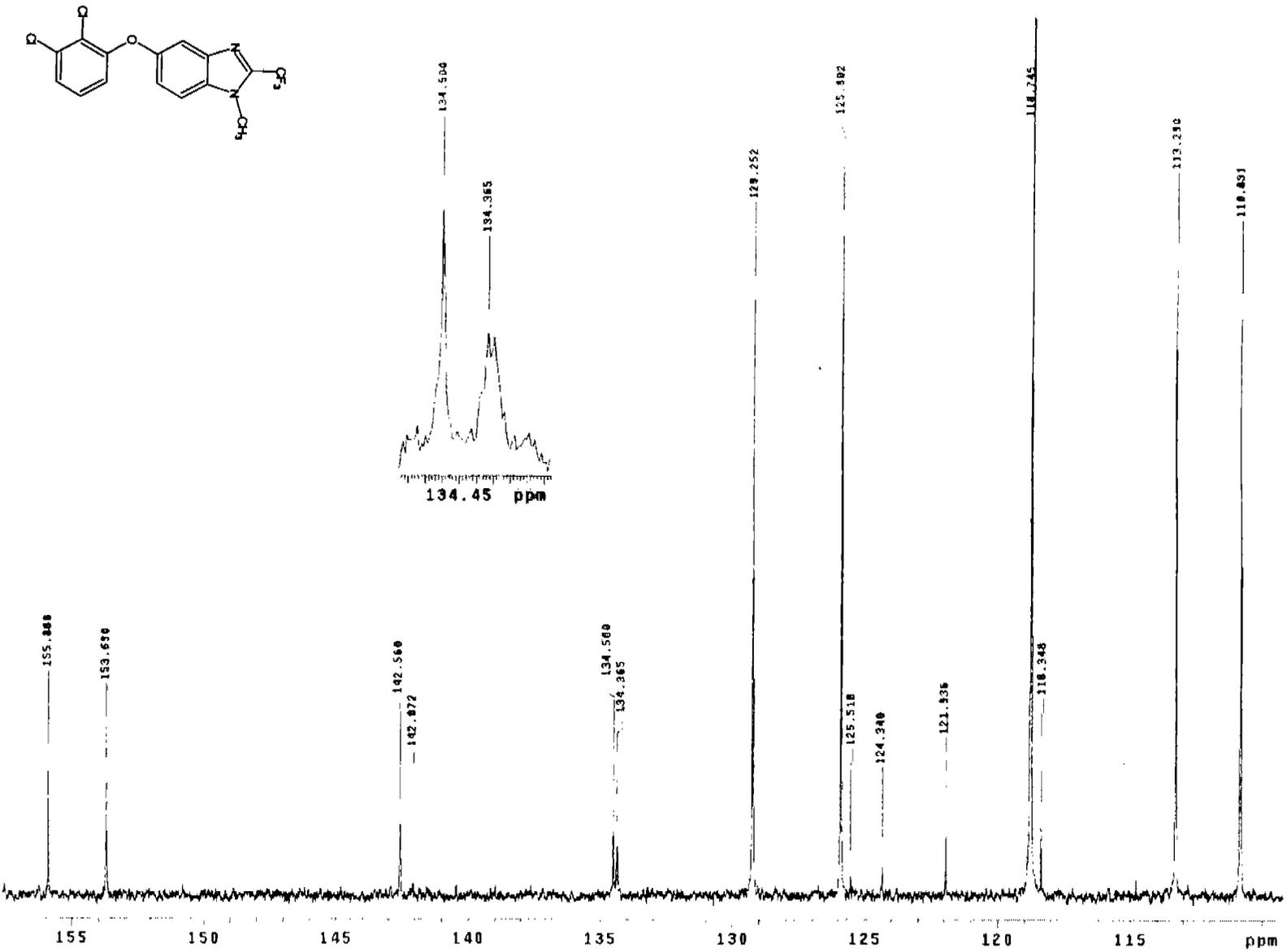
Espectro B.19 (H¹-RMN) 5-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-2-(trifluorometil)-1H-benzimidazol (GNV14)



Espectro B.20 (^1H -RMN)-5-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-2-(trifluorometil)-1H-benzimidazol (GNV14)

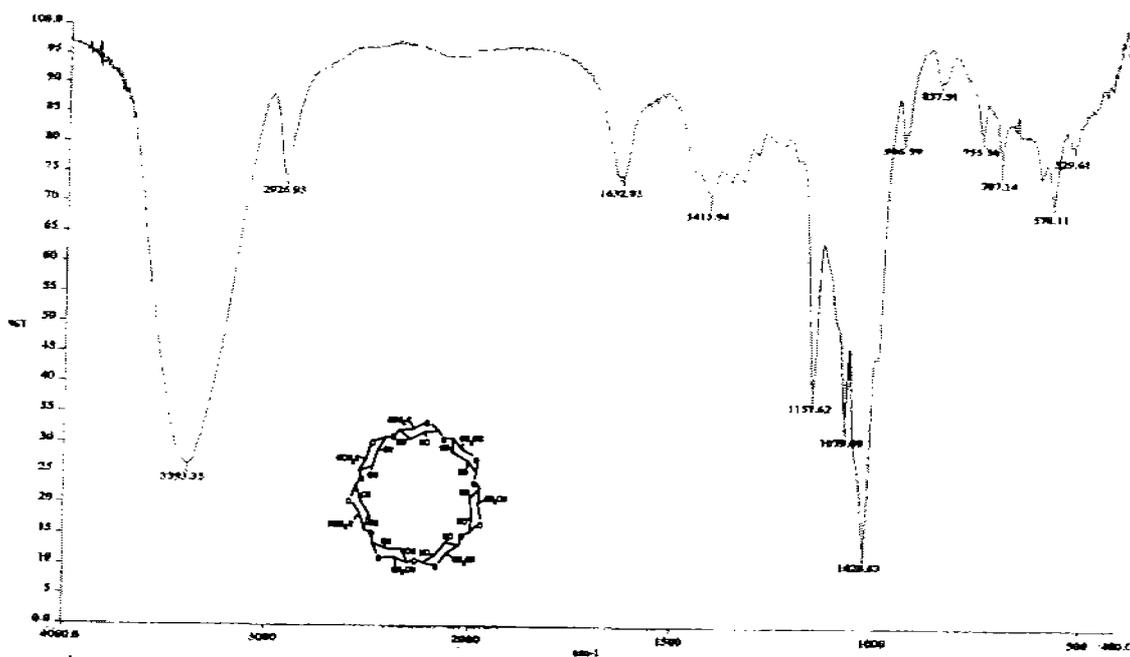


Espectro B.21 (C^{13} -RMN) 5-(2,3-diclorofenoxi)-1-metil-2-(trifluorometil)-1H-benzimidazol (GNV14)

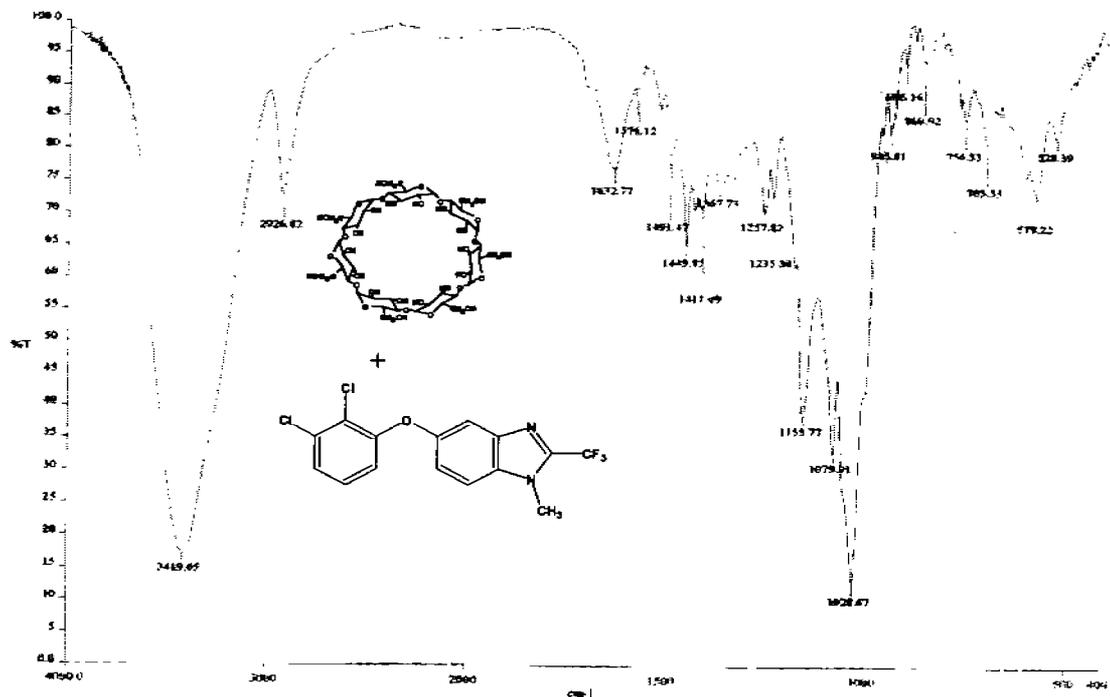


Parte 2: Complejos de inclusión

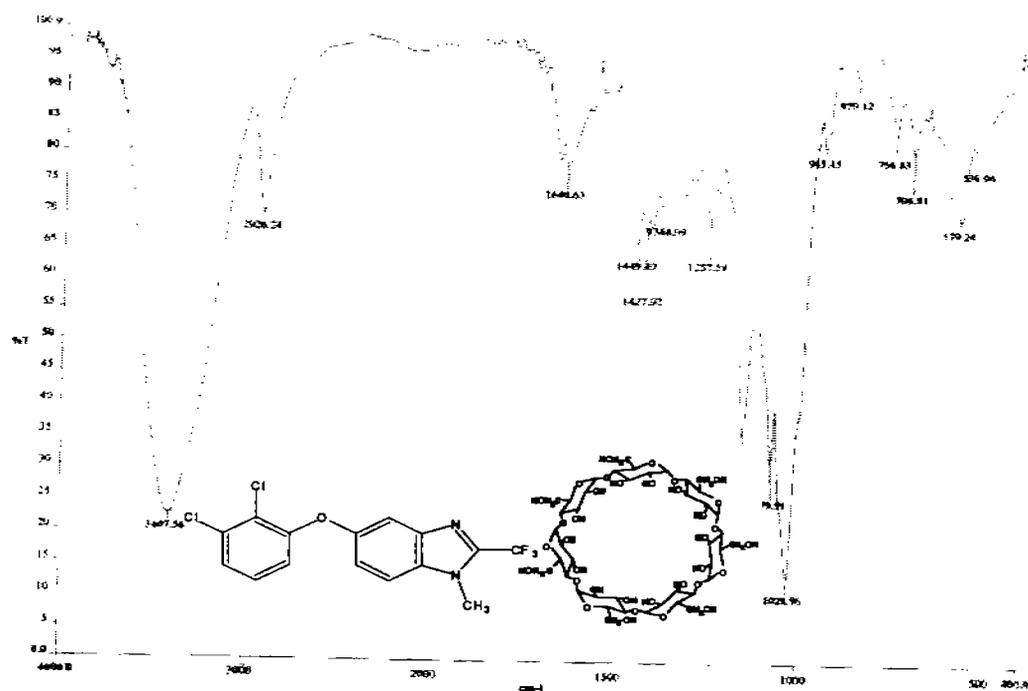
Espectro(IR) B.23 β-Ciclodextrina



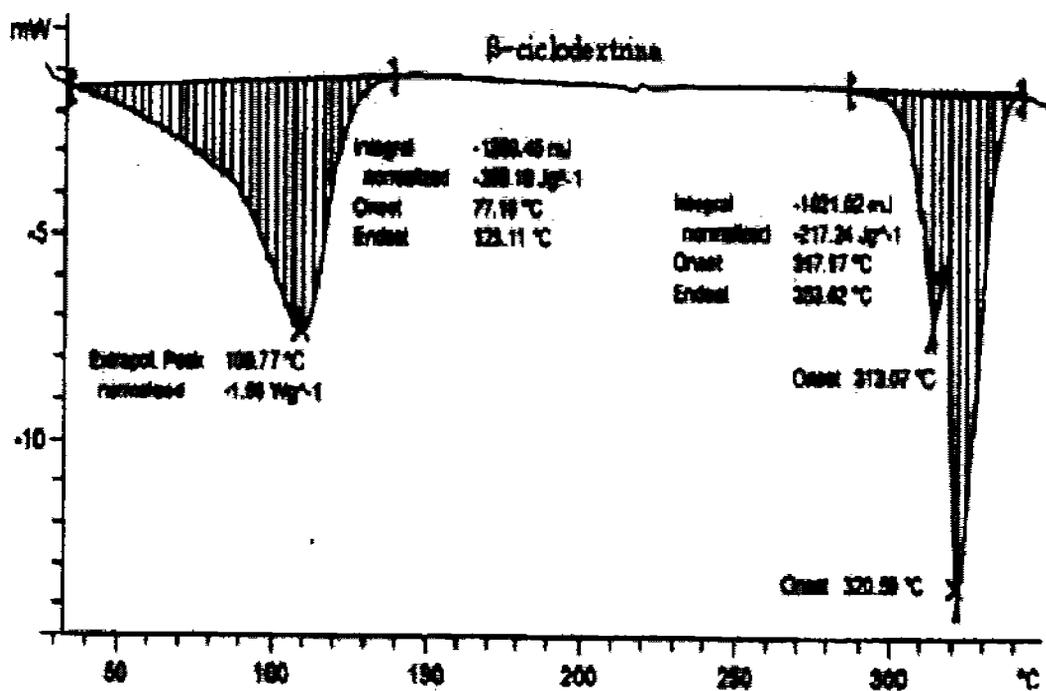
Espectro B.24(IR) Mezcla física de β-ciclodextrina y GNV14



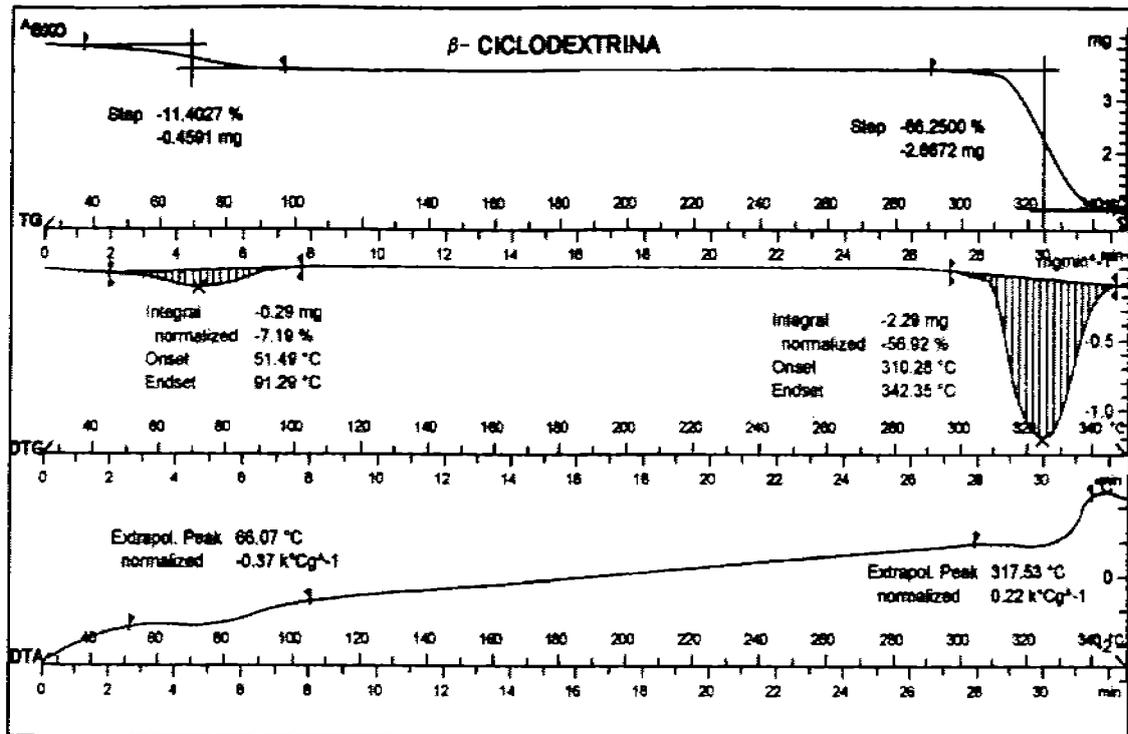
Espectro B.25 (IR) Complejo de inclusión GNV14/ β -ciclodextrina



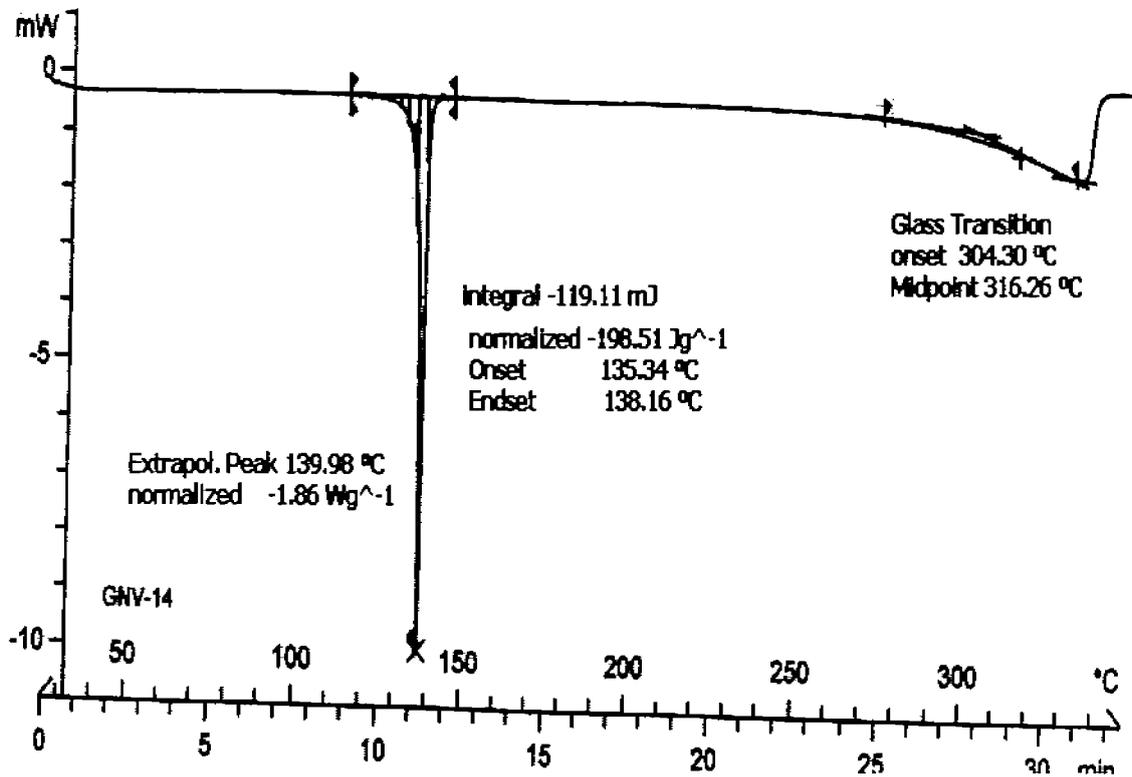
Termograma B.1 DSC de β -ciclodextrina pura



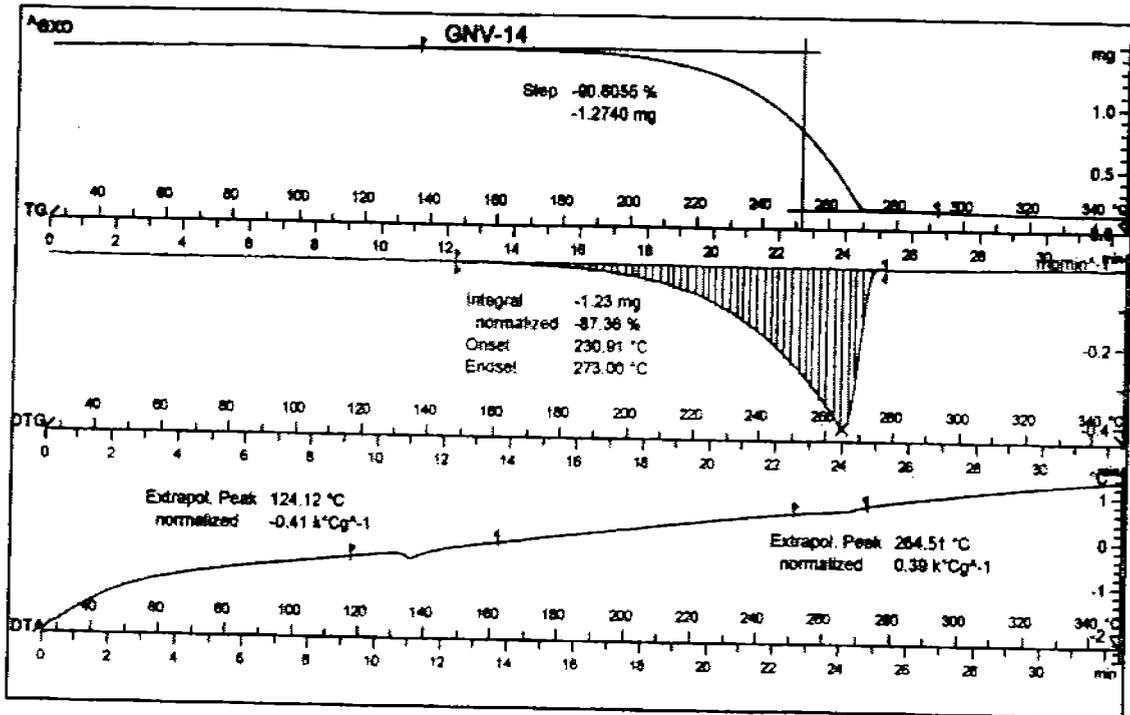
Termograma B.2 TG de β -ciclodextrina pura



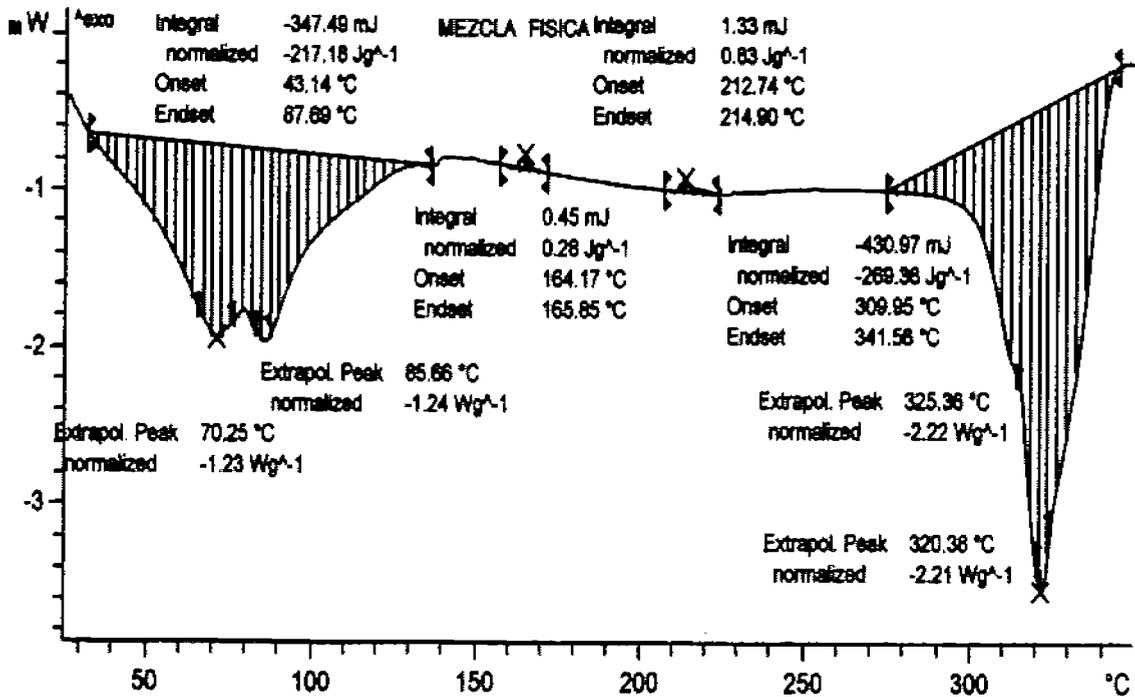
Termograma B.3 DSC del compuesto GNV14



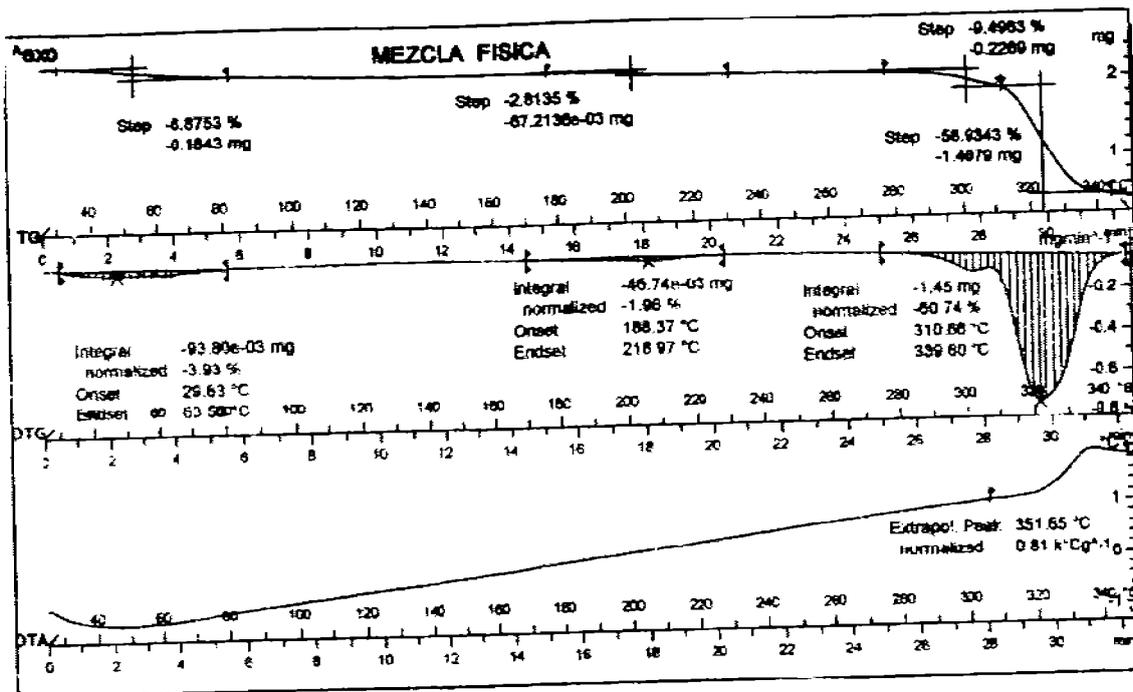
Termograma B.4 TG del compuesto GNV14



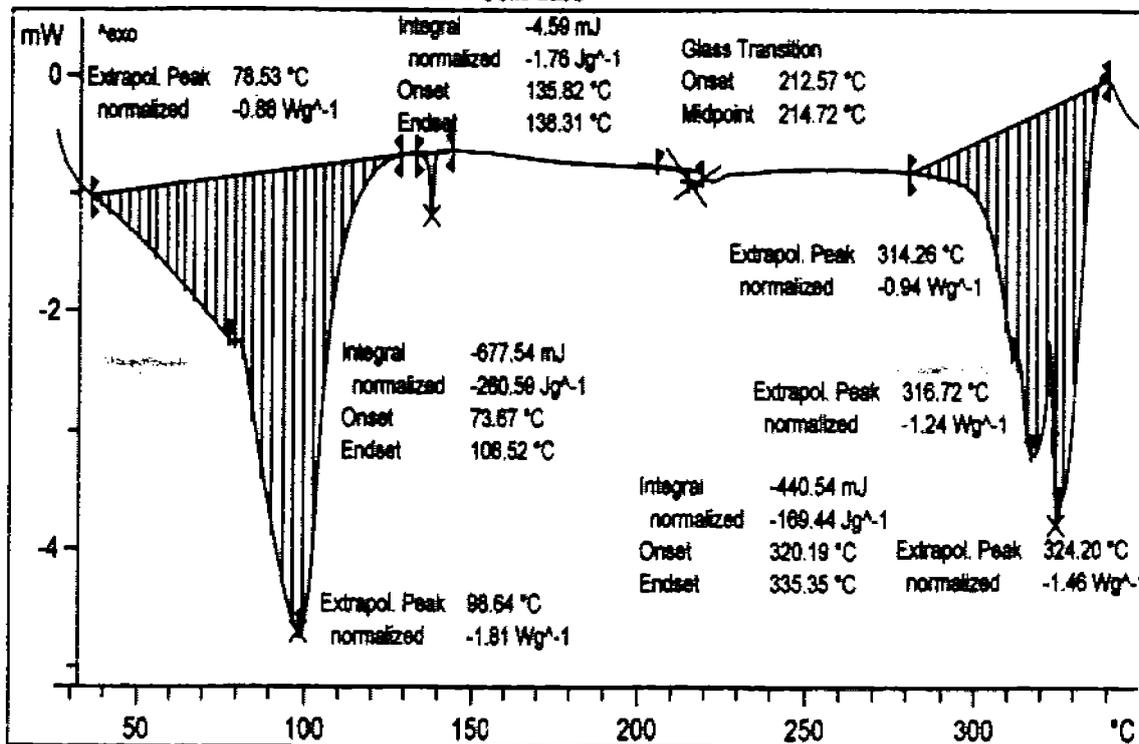
Termograma B.5 DSC de la mezcla física GNV14/ β -ciclodextrina



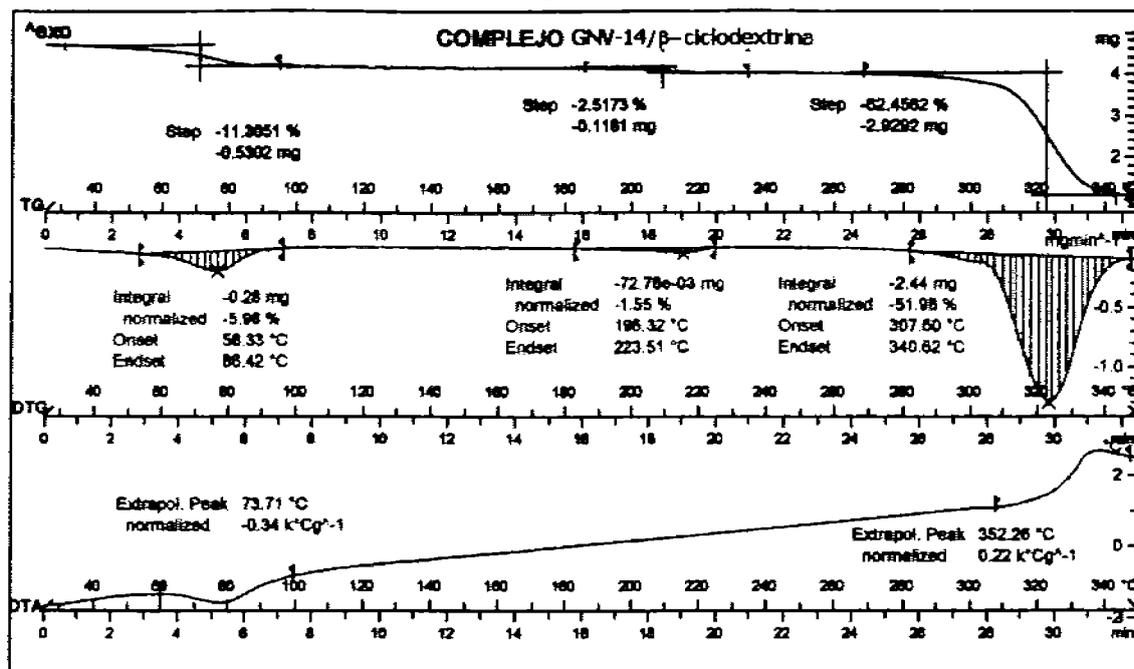
Termograma B.6 TG de la mezcla física GNV14/ β -ciclodextrina



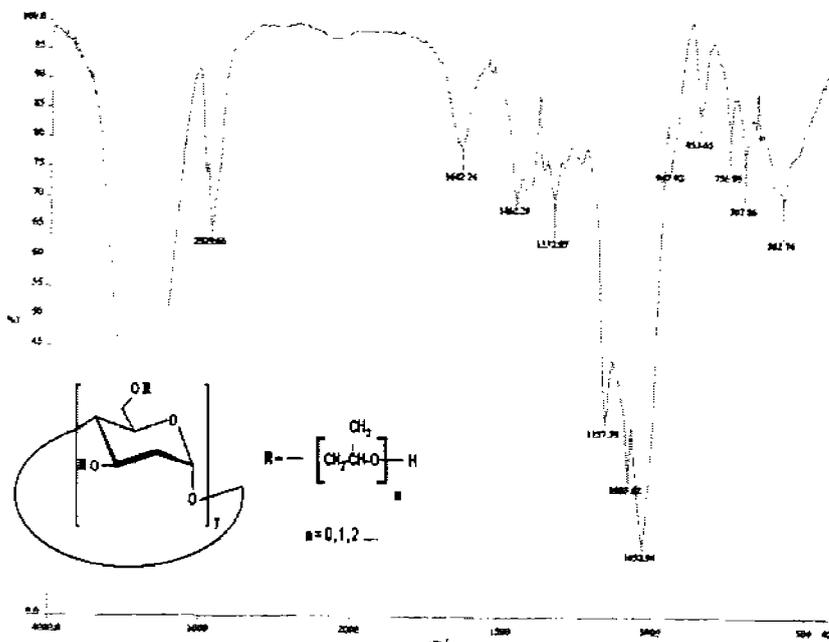
Termograma B.7 DSC del complejo de inclusión GNV14/ β -ciclodextrina
COMPLEJO



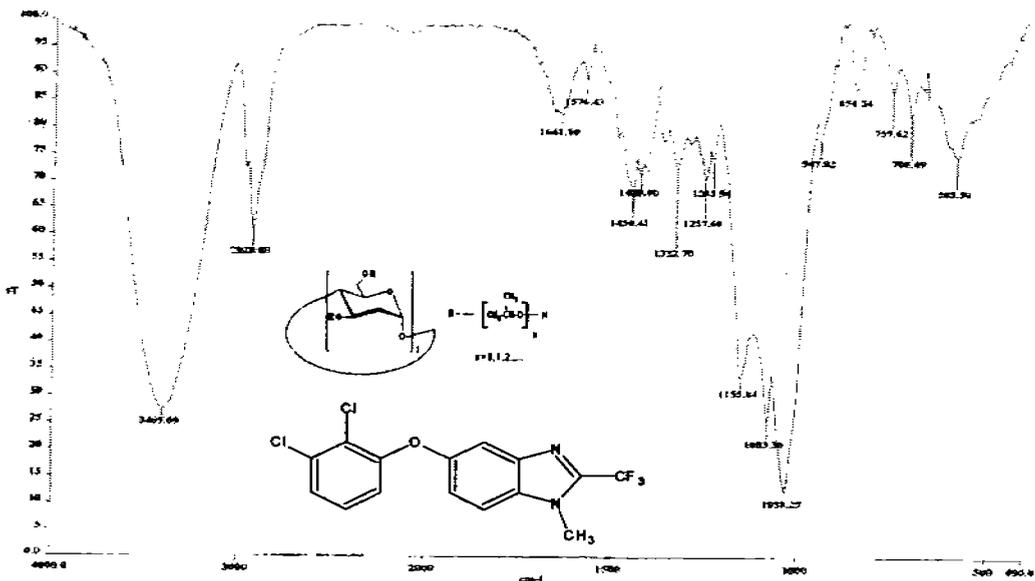
Termograma B.8 TG del complejo de inclusión GNV14/ β -ciclodextrina



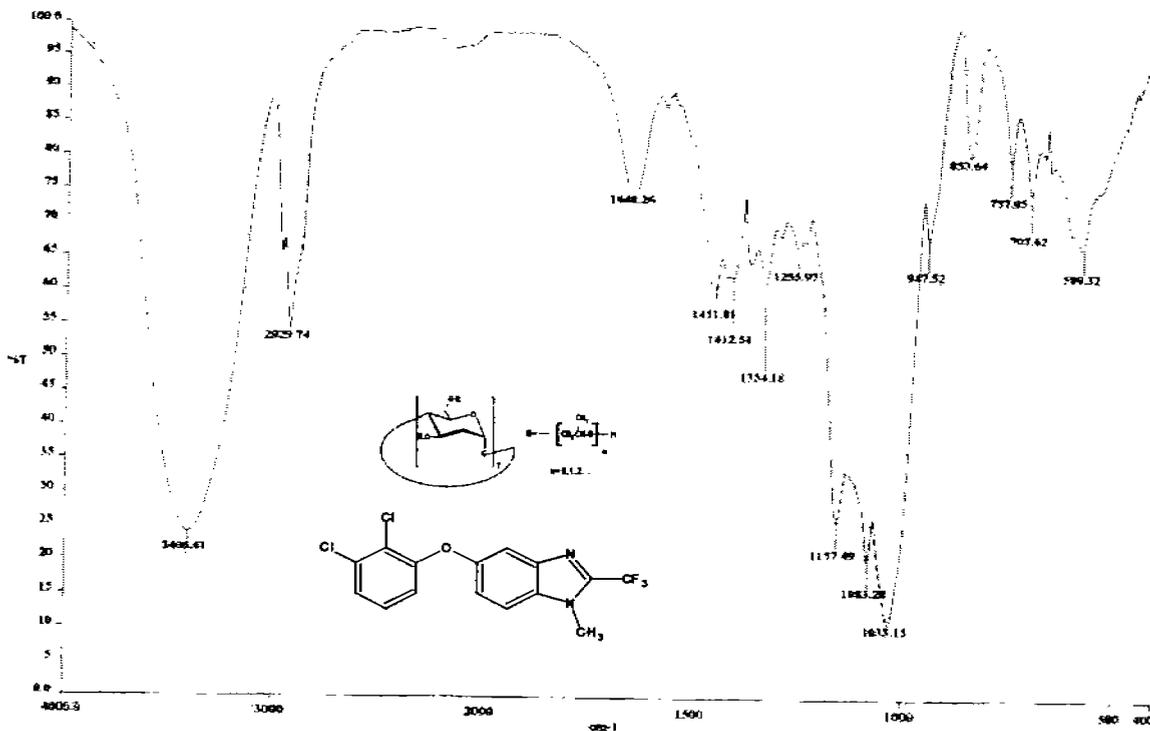
Espectro B.26(IR) Hidroxipropil- β -ciclodextrina



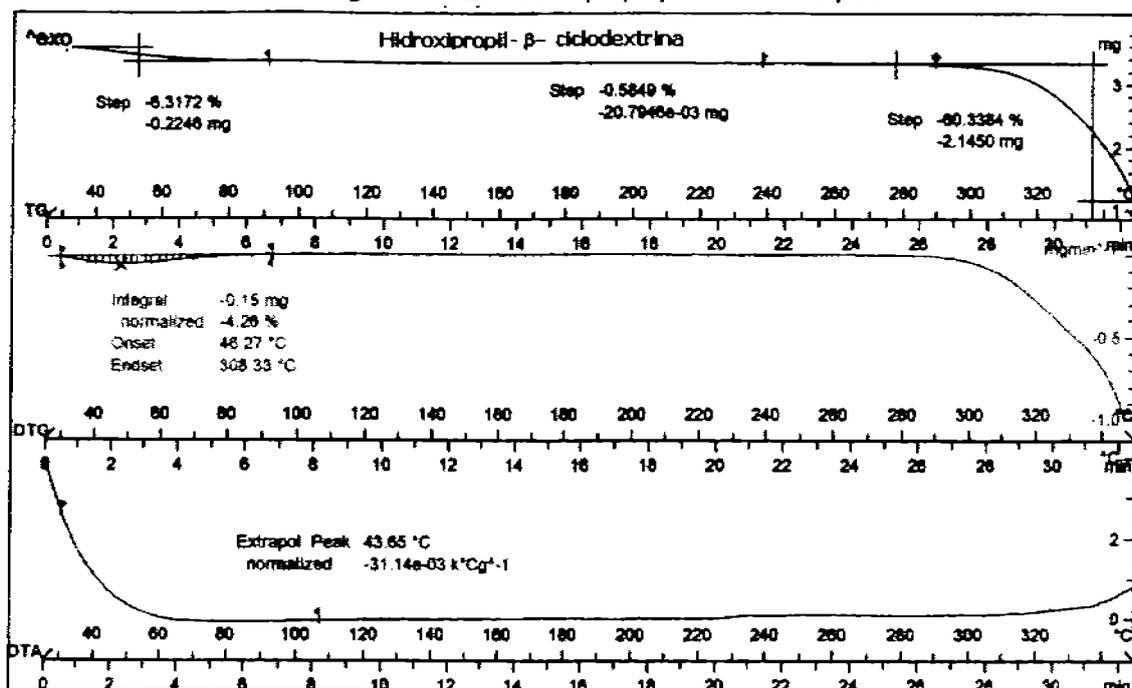
Espectro B.27 (IR) Mezcla física de GNV14/ Hidroxipropil-β-cilodextrina



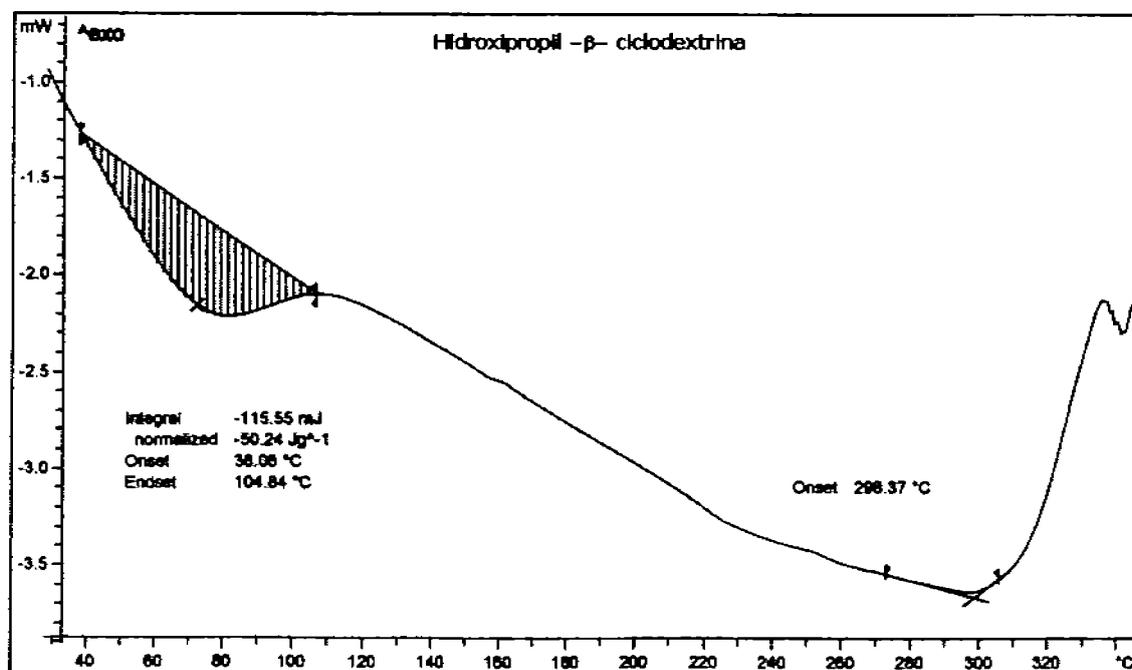
Espectro B.28(IR) complejo de inclusión GNV14/ Hidroxipropil-β-cilodextrina



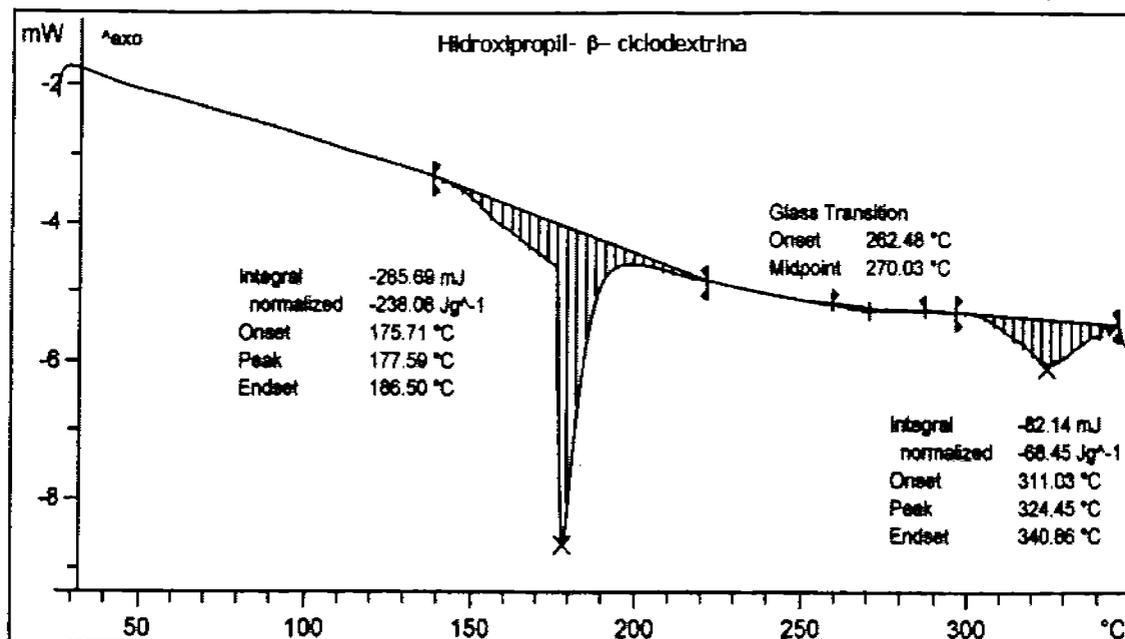
Termograma TGB.9 Hidroxipropil-β-ciclodextrina pura



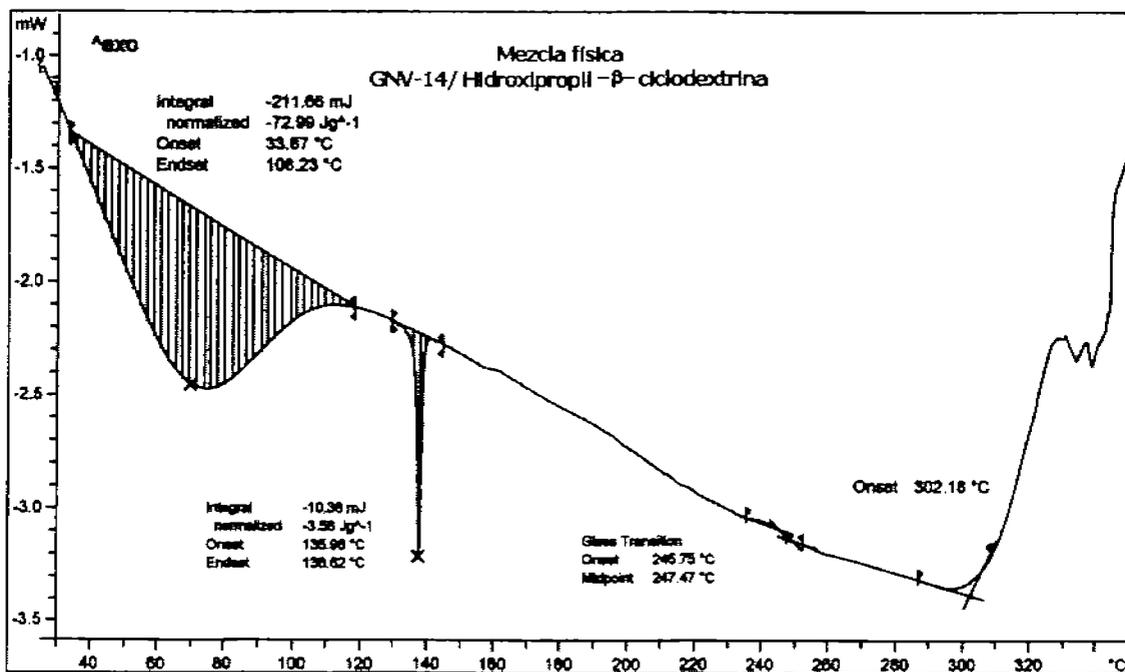
Termograma B.10 DSC de la Hidroxipropil-β-ciclodextrina pura (Técnica con orificio)



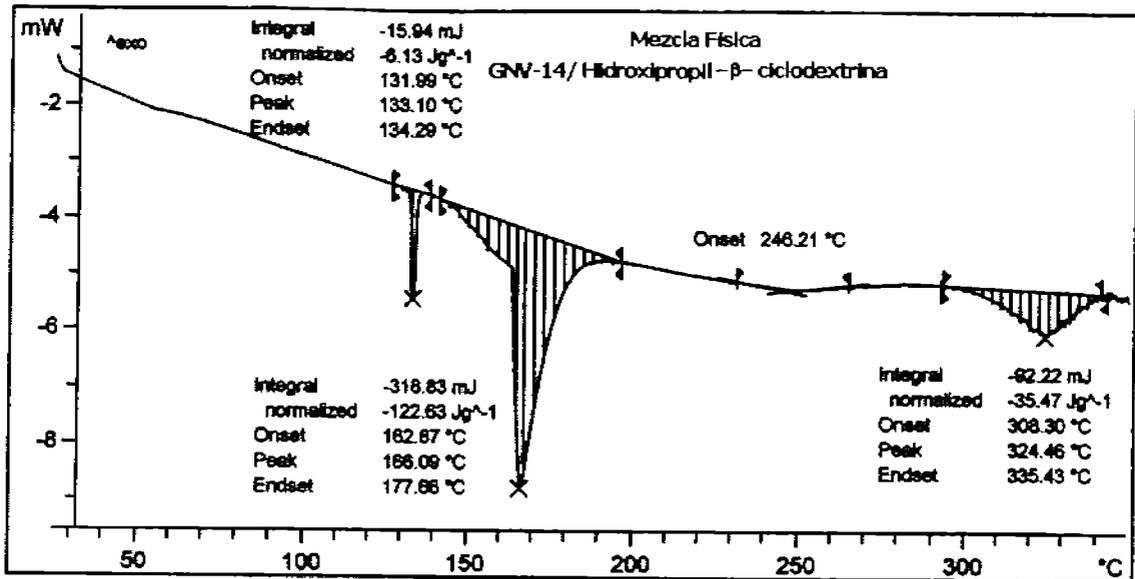
Termograma B.11 DSC Hidroxipropil-β-ciclodextrina (Técnica sin orificio)



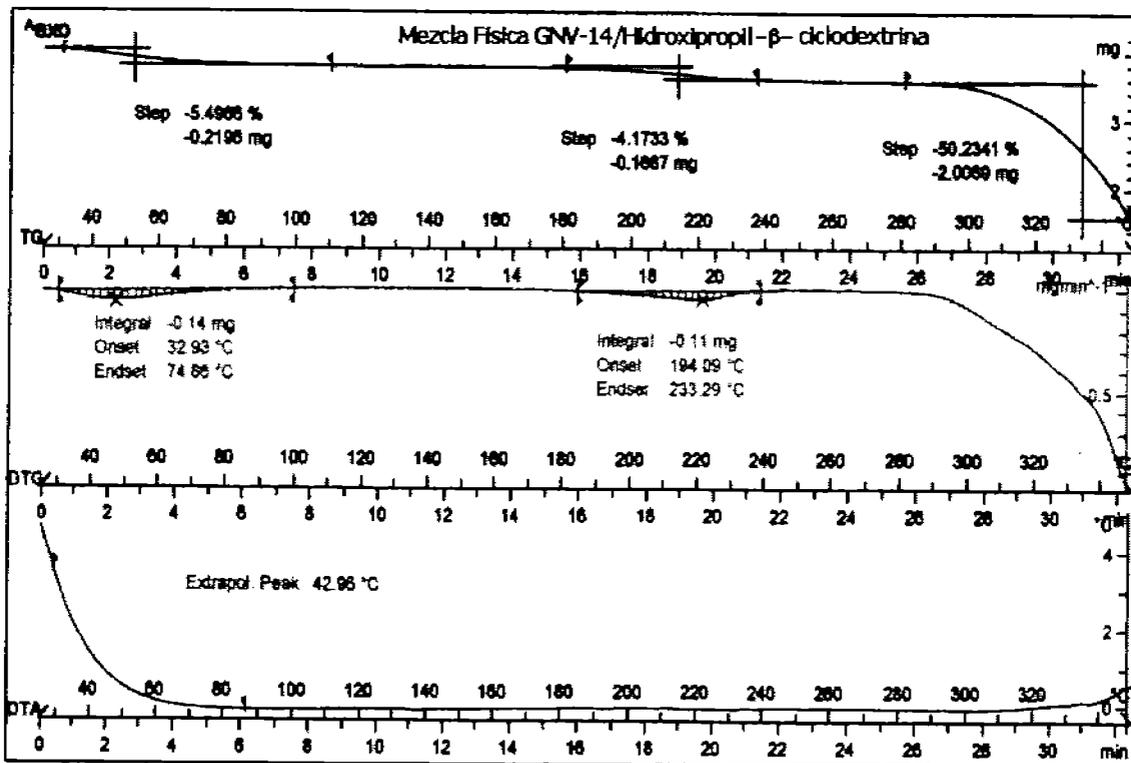
Termograma B.12 DSC de la Mezcla física GNV14/Hidroxipropil-β-ciclodextrina (Técnica con orificio)



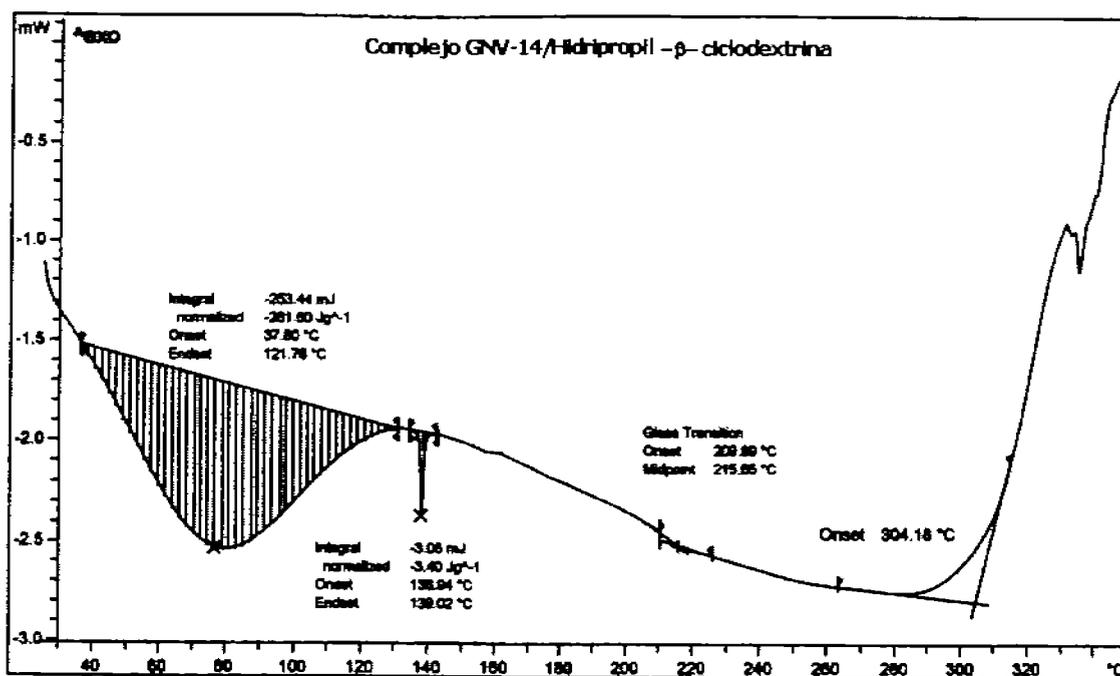
Termograma B.13 DSC de la Mezcla física GNV14/Hidroxiopropil-β-ciclodextrina (Técnica sin orificio)



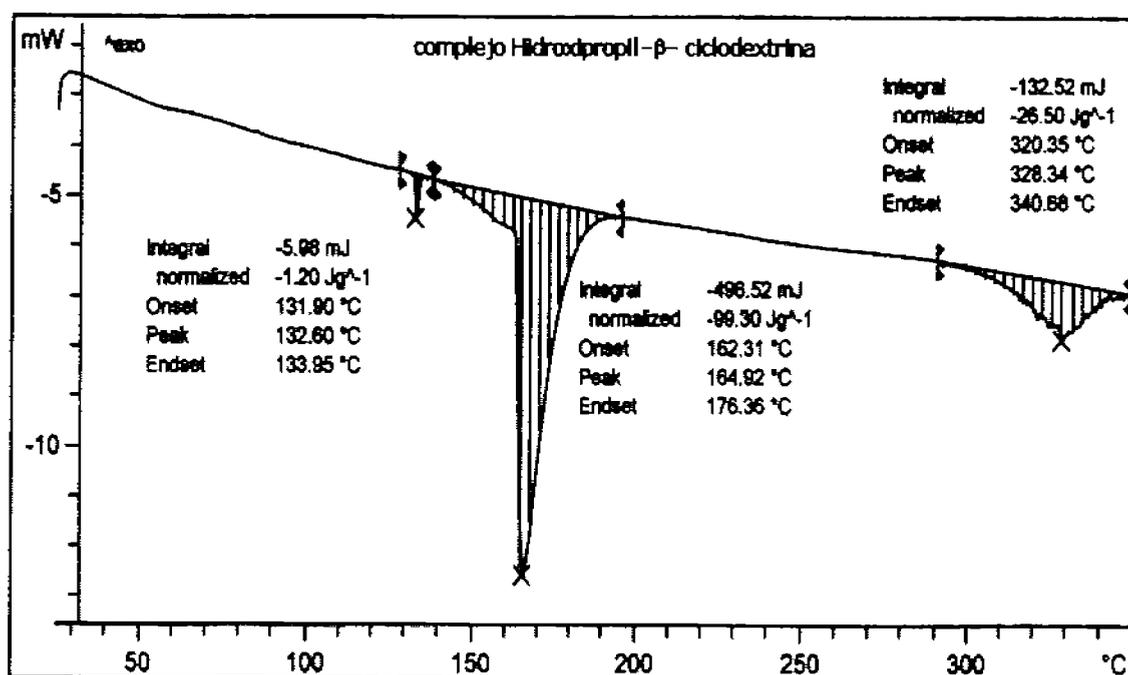
Termograma B.14 TG Mezcla física GNV14/Hidroxiopropil-β-ciclodextrina



Termograma B.15 DSC del complejo de inclusión GNV14/Hidroxiopropil- β -ciclodextrina
(Técnica con orificio)



Termograma B.16 DSC del complejo de inclusión GNV14/Hidroxiopropil- β -ciclodextrina
(Técnica sin orificio)



Termograma B.17 TG del complejo de inclusión del complejo de inclusión GNV14/Hidroxiopropil- β -ciclodextrina

