

# Compuestos derivados del 2-aminobenzimidazol y 2-aminobenzotiazol contra *Candida albicans*

Bautista Ramírez María Esther<sup>1\*</sup>, Cruz Alejandro<sup>1</sup>, Yolanda Gómez y Gómez<sup>1</sup>, Salas Téllez Enrique<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Departamento de Bioprocesos. Avenida Acueducto S/N, Col. Barrio La Laguna, Ticomán, Delegación Gustavo A. Madero, Ciudad de México. C.P. 07340. México.

<sup>2</sup>Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Unidad de Investigación Multidisciplinaria. Carretera Cuautitlán-Teoloyucan Km 2.5, San Sebastian Xhala, C.P. 54714. Cuautitlán Izcalli. México.

\* Autor para correspondencia: maestherbr@gmail.com

## Recibido:

11/julio/2017

## Aceptado:

2/agosto/2017

## Palabras clave

*Candida albicans*, 2-aminobenzimidazol, 2-aminobenzotiazol

## Keywords

*Candida albicans*, 2-aminobenzimidazole, 2-aminobenzothiazole

## RESUMEN

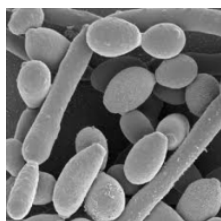
La candidiasis es una infección común en la piel, cavidad oral, esófago, tracto gastrointestinal, vagina y sistema vascular en el hombre. Aunque las infecciones se producen en pacientes inmunocomprometidos o debilitados. Los microorganismos responsables son diversas especies de *Candida*, reportándose resistencia a distintos antimicrobianos. Con el objetivo de encontrar nuevos agentes terapéuticos se sintetizaron una serie de compuestos derivados del 2-aminobenzimidazol y 2-aminobenzotiazol que se sabe presentan actividades antibacterianas y antimicóticas. La actividad antimicótica se determinó con un bioensayo *in vitro*, usando la técnica de difusión en agar; se analizaron 39 cepas aisladas de vaginitis y se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) utilizando el método estandarizado por el *CLSI* (*Clinical Laboratory Standard Institute*). De las 39 cepas de *Candida albicans* aisladas, el 54% presentó sensibilidad al compuesto **1**, el 74% de las cepas presentó sensibilidad al compuesto **2** y 5% de las cepas de estudio presentaron sensibilidad al compuesto **5**. El compuesto **2** presentó mayor número de cepas sensibles que para el medicamento usado como control, el itraconazol, donde el 67% de las cepas de *Candida* fueron sensibles al medicamento.

## ABSTRACT

Candidiasis is a common infection in the skin, oral cavity, esophagus, gastrointestinal tract, vagina and vascular system in humans. Although most infections occur in immunocompromised or debilitated patients. Responsible microorganisms are several *Candida* species reporting resistance to antimicrobial agents, so a series of compounds derived from 2-aminobenzimidazole and 2-aminobenzothiazole were synthesized which know to have antibacterial and antifungal activities. Antymycotic activity was determined by performing an *in vitro* bioassay using diffusion technique in agar, 39 strains isolated from vaginitis were analyzed and the minimum inhibitory concentration (MIC) was determined using the standardized method *CLSI* (*Clinical Laboratory Standard Institute*). Of the 39 *Candida albicans* strains isolated, 54% presented sensitivity to compound **1**, 74% of the strains had sensitivity to compound **2** and 5% of the strains of study showed sensitivity to compound **5**. Compound **2** had the highest number of Sensitive strains than for the drug used as a control, itraconazole, where 67% of *Candida* strains were sensitive to the drug.

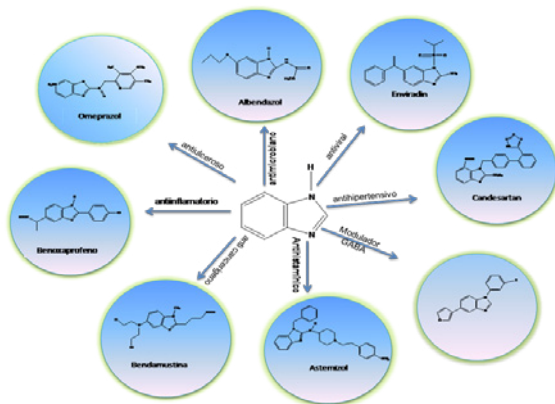
## Introducción

La Candidiasis es una infección común de la piel, cavidad oral y esófago, tracto gastrointestinal, vagina y sistema vascular de humanos, aunque las infecciones ocurren en pacientes inmunocomprometidos o debilitados, el microorganismo responsable es *Candida albicans* (figura 1) que expresa un gran número de factores de virulencia que contribuyen a la patogenicidad. Estos factores incluyen biomoléculas de reconocimiento del hospedero (adhesinas), morfogénesis (transición entre la forma unicelular y filamentosa) y secreción de aspartil proteasas y fosfolipasas. Su adaptación a diferentes valores de pH expresando el PHR1 a pH neutro y PHR2 a pH ácido, genes que están asociados con la síntesis de pared, lo que le permite adaptarse a condiciones fisiológicas extremas (Calderone y Fonzi, 2001).



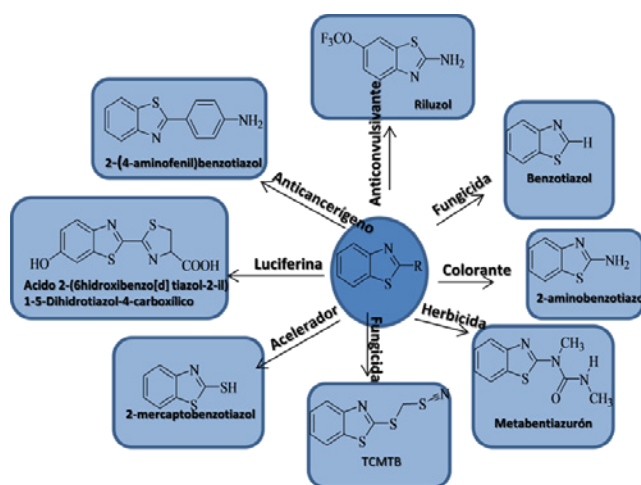
**Figura 1.** *Candida albicans*.

Los benzimidazoles han revolucionado la química medicinal por sus diversas actividades biológicas que han sido útiles en el tratamiento de varias enfermedades, un gran número de fármacos se utilizan con diferentes actividades, antihelmíntica como el albendazol, mebendazol, tiabendazol, inhibidores de la bomba de protones como el omeprazol, lansoprazol, antihistamínicos como el astemizol, antivirales como la envidarina, antihipertensivos como el candesartán y telmisartán, actividad antitumoral y antiproliferativa, antimicrobiano incluyendo anti-VIH, antioxidante y cisticida (figura 2) (Yadav y Gaunguly, 2014).



**Figura 2.** Actividades de los benzimidazoles.

Los benzotiazoles y sus derivados son de los compuestos heterocíclicos más importantes como agentes farmacológicos y forman parte de la estructura de la luciferina de la luciérnaga y son los compuestos que dan aroma a las hojas de té y los arándanos o dan el sabor producido por los hongos *Aspergillus clavatus* y *Fronodosus polyporis*. Presentan un gran número de actividades biológicas contra el cáncer, antimicrobiano, anticólvulsivante, antiviral, antiturbeculoso, antimalárico, antihelmíntico, analgésico, antiinflamatorio, hipoglucemiante, fungicida, colorantes, herbicida entre otras (figura 3) (Keri et al., 2015).



**Figura 3.** Actividades de los benzotiazoles.

Existen terapias para las infecciones contra *Candida* en las que se incluye el uso de polienos y azoles entre otros fármacos antifúngicos o como la nistatina o el ketoconazol. Sin embargo se ha reportado gran resistencia del microorganismo lo que reduce la eficacia terapéutica y puede conducir a la muerte del paciente, los mecanismos que le confieren resistencia incluyen incremento en la expresión de bombas de eflujo que eliminan el fármaco de la célula antes de una concentración tóxica o alteraciones en la biosíntesis del ergosterol, estos problemas han dado lugar a la búsqueda de nuevas moléculas con actividad antifúngica por lo que para este trabajo se sintetizaron una serie de compuestos derivados del 2-aminobenzimidazol y 2-aminobenzotiazol para determinar su actividad contra *Candida albicans*.

## Metodología

### Compuestos

En la tabla 1 se muestran los compuestos probados contra las cepas de *Candida albicans*

**Tabla 1.** Compuestos probados.

Compuesto	Estructura
1	
2	
3	
4	
5	

### Medio de cultivo

Se utilizó el medio RPMI 1640 con glutamina y sin bicarbonato sódico (Sigma) usando un buffer de ácido morfolino propano sulfónico (MOPS) (Sigma) ajustado a pH 7+/- 0.1

### Preparación del inóculo

#### *Inóculo de Candida albicans*

Las 39 cepas utilizadas fueron aisladas de casos de vaginitis y fueron donadas por el Dr. Enrique Salas Téllez del Laboratorio de Inmunodiagnóstico de la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la Facultad de Estudios Superiores-UNAM. El inóculo se preparó añadiendo solución salina fisiológica al cultivo de las cepas de aisladas de *Candida albicans* ajustando a una densidad óptica 0.5 McFarland a 540 nm, la cual contiene una concentración aproximada de 1 a 5x10<sup>3</sup> UFC/ml. Como cepa control se utilizó *Candida albicans* ATCC 32354.

### Preparación de los compuestos y el control

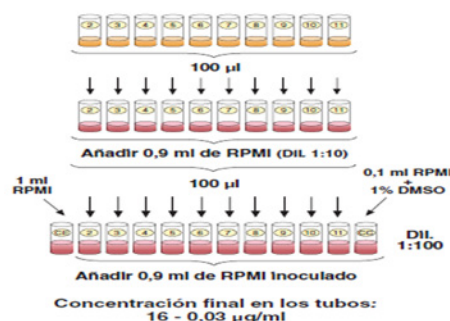
Se utilizó itraconazol como medicamento control pesando 100 mg/ml y realizando diluciones con DMSO al 1% (50, 25, 12.5, 6.25 mg/ml). Se pesaron 64 mg de los compuestos **1, 2, 3, 4, 5** y se disolvieron en 8 ml de DMSO al 1% realizando diluciones (8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25 mg/ml).

### Determinación de la CMI

La CMI se determinó utilizando el método estandarizado por el *CLSI* (*Clinical Laboratory Standard Institute*) que se describe a continuación.

#### *Realización de la prueba*

Se añadieron 0.9 ml de medio RPMI y 100 µl de inóculo de cada una de las cepas de *Candida albicans* aisladas de mujeres que presentaban un cuadro de vaginitis recurrente y 100 µl de los compuestos **1, 2, 3, 4, 5** y/o itraconazol. Se realizó un control sin compuestos y/o itraconazol y un control sin inóculo (figura 4).



**Figura 4.** Diagrama para la determinación de la CMI

### Resultados y discusión

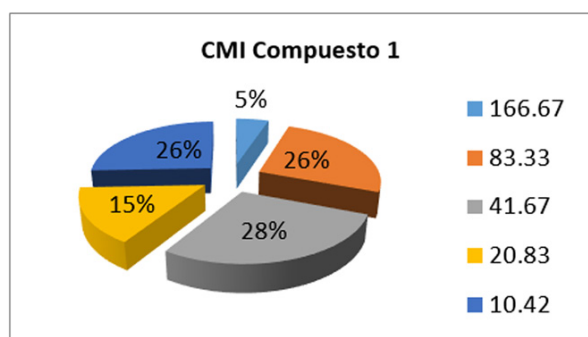
Previamente se realizó un bioensayo *in vitro* (resultados no mostrados) utilizando la técnica de difusión en disco donde se analizó la susceptibilidad de las cepas a los compuestos. En base a los resultados obtenidos se seleccionaron los compuestos que presentaron un mayor halo de inhibición, siendo los compuestos **1 y 2** (derivados del benzimidazol) y el **5** (derivado del benzotriazol) para determinar la CMI.

El *CLSI* ha establecido diferentes categorías de sensibilidad: sensible, intermedio y resistente por lo que tomando en cuenta los puntos de corte para el itraconazol utilizando *Candida albicans* tenemos en la tabla 2 el porcentaje de sensibilidad para los compuestos probados donde para el compuesto **1** el 54% de las cepas fueron sensibles, para el compuesto **2** el 74% de las cepas presento sensibilidad presentando una mayor sensibilidad que para el itraconazol 67%, el compuesto **5** presentó una sensibilidad del 5%. Estructuralmente la diferencia entre el compuesto **1** y **2** es la presencia del grupo metilo en la posición 1 de la molécula lo que le confiere una mejor respuesta.

**Tabla 2.** Sensibilidad de las cepas de *Candida albicans* a los compuestos de acuerdo al *CLSI*.

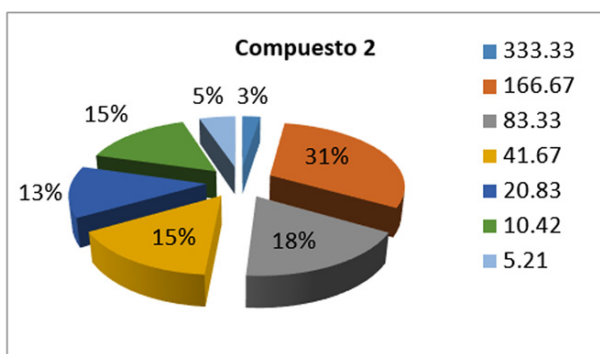
Compuesto	Resistente $\geq 64$ mg/ml (%)	Intermedio 16-32 mg/ml (%)	Sensible $\leq 8$ mg/ml (%)
1	13	33	54
2	3	23	74
5	90	5	5
Itraconazol	20	10	67

En las figuras 5 y 6 se muestra la distribución en % de la CMI de las diferentes cepas de *Candida albicans* aisladas de casos clínicos con reincidencia de vaginitis donde para el compuesto 1 se tiene que un 5% de las cepas presentaron una CMI de 166.67 mg/ml y un 26% de las cepas tuvieron una CMI de 10.42 mg/ml



**Figura 5.** CMI para el compuesto 1

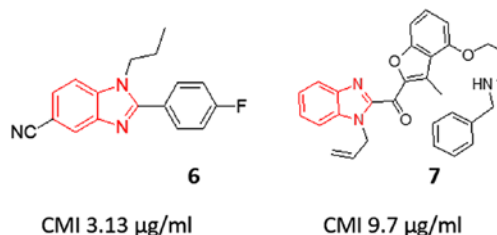
Para el compuesto 2 el 3% de las cepas presentaron una CMI de 333.33 mg/ml y el 5% de las cepas presentaron una CMI de 5.21 mg/ml.



**Figura 6.** CMI para el compuesto 2

La CMI encontrada para el itraconazol con la cepa control fue de 16 mg/ml. En la figura 7 se muestran las CMI determinadas para los compuestos 6 y 7 derivados

del benzimidazol reportados en la literatura utilizando *Candida albicans* que son comparables con la CMI presentada por algunas de las cepas probadas (Ansari y Lal, 2009 y Kucukbay et al 2003).



**Figura 7.** Benzimidazoles reportados

## Conclusiones

Se encontró actividad antimicótica contra cepas de *Candida albicans* aisladas de casos clínicos donde los compuesto 1 y 2 derivados del benzimidazol presentaron mejor actividad que los derivados del benzotiazol. De acuerdo al *CLSI* el compuesto 2 presentó una mejor respuesta contra las cepas probadas.

## Referencias

Ansari, K.F., Lal, C. (2009). Synthesis, physicochemical properties and antimicrobial activity of some new benzimidazole derivatives. *Eur J of Med Chem*, 44, 4028-4033.

Calderone R., Fonzi W.A. (2001). Virulence factors of *Candida albicans*. *TRENDS in Microbiology*. 9:327-335.

Keri R.S., Patil M.R., Patil S.A., Budagumpi S. (2015). A comprehensive review in current developments of benzothiazole-based molecules in medicinal chemistry. *Eur J of Med Chem*. 89:207-251.

Kucukbay, H., Durmaz, R., Orhan, E., Günel, S. (2003). Synthesis, antibacterial and antifungal activities of electron-rich olefins derived benzimidazole-5-carbonitriles and their potent activity against *Candida* species. *Bioorg & Med Chem Lett*. 10, 2589-2596.

Yadav G., Ganguly S. (2014). Structure activity relationship (SAR) study of benzimidazole scaffold for different biological activities: A mini review. *Eur. J of Med Chem*. XX:1-25.

Cantón, L.E., Martín M.E., Espingel-Ingrooff A., Clinical and Laboratory Standard Institute (2002). Métodos estandarizados por el *CLSI* para el estudio de sensibilidad a los antifúngicos (documentos M-27, M38-A Y M44-A). 2ª ed. Pennsylvania: NCCLS.