

Actividad biológica de compuestos de azufre derivados del 2-aminobenzimidazol

Bautista Ramírez María Esther¹, Gómez y Gómez Yolanda de las Mercedes¹, Cruz Alejandro².

¹ Departamento de Bioprocesos

² Departamento de Ciencias Básicas

Unidad Profesional interdisciplinaria de Biotecnología

Avenida Acueducto s/n. Colonia Barrio La Laguna Ticomán, México, D.F. CP 07340.

maestherbr@gmail.com

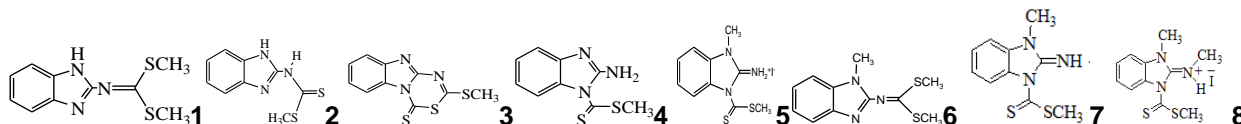
Fecha de aceptación: 20 de julio de 2015

Fecha de publicación: 23 de septiembre de 2015

RESUMEN

Los benzimidazoles son un grupo de compuestos con una gran variedad de actividades biológicas de gran importancia en el campo de la medicina pueden actuar como antiinflamatorios, ansiolíticos, antioxidantes, hipoglucemiantes y antifúngicos. Para este trabajo se sintetizaron diferentes compuestos de azufre derivados del 2-aminobenzimidazol (**esquema-1**) y se evaluaron diferentes actividades biológicas, la antiinflamatoria se determinó utilizando el método del edema auricular inducido por aceite de croton, la ansiolítica con el método de potenciación del sueño, la antioxidante se determinó utilizando el radical ABTS, la hipoglucemiante se midió en ratones diabéticos inducida por estreptozotocina y la antifúngica usando el método de diluciones NCCLS M27-A2. Para la actividad antiinflamatoria la mejor actividad la presentó el compuesto **1** (55%), ansiolítica los compuestos **4** y **5** (60 min), antioxidante el compuesto **2** (135 mg eq de vitC/100g de muestra), hipoglucemiante el compuesto **5** con una disminución de (200-98 mg/dL) la antifúngica el compuesto **4** (CMI 0.56 mg/ml). Los resultados confirman el potencial de los compuestos que poseen actividades biológicas significativas.

Palabras clave: benzimidazoles, antiinflamatorio, ansiolítico, antioxidante, hipoglucemiante, y antifúngico, actividad biológica.



ABSTRACT

Benzimidazoles are a group of compounds with a variety of biological activities of great importance in the medical field can act as anti-inflammatory, anxiolytics, antioxidants, antifungal and hypoglycemic. In this work a number of compounds were synthesized like sulfur derivatives of 2-aminobenzimidazole (**scheme-1**) and different biological activities were evaluated, where anti-inflammatory activity was evaluated using the method of ear edema induced by croton oil, the anxiolytic activity was evaluated with method of enhancing sleep, for antioxidant activity ABTS radical was used, the hypoglycemic activity was determined in streptozotocin induced diabetic mice, and antifungal activity was determined using the dilution method NCCLS M27-A2. For anti-inflammatory activity the best compound was **1** (55%), anxiolytic compounds **4** and **5** (60 min), antioxidant compound **2** (135 mg eq vit C / 100g sample), hypoglycemic compound **5** with a decreased (from 200 to 98 mg / dL) and antifungal compound **4** (CMI 0.56 m / ml). The results verified the potential of compounds that possesses significant biological activities.

Key words: benzimidazoles, anti-inflammatory, anxiolytic, antioxidant, hypoglycemic, antifungal, biological activity.

INTRODUCCIÓN

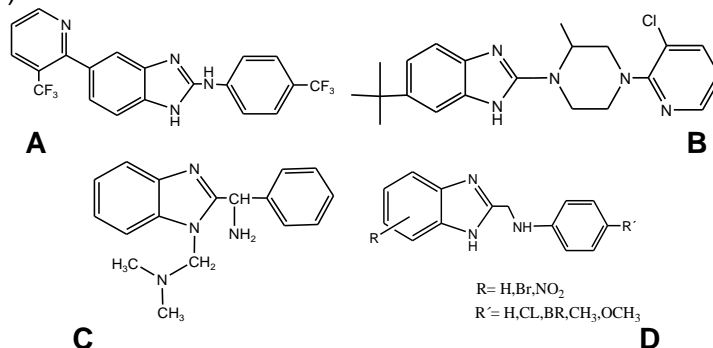
En la década de 1950 se dio a conocer que el 5,6-dimetil-l- (AD-ribofuranosil) benzimidazol era una parte integral de la estructura de la vitamina B12. Después a principios de los años sesenta se desarrollaron moléculas con actividad fungicida y posteriormente como antihelmínticos de uso veterinario. El primer compuesto con licencia para uso humano fue el tiabendazol en 1962. Posteriormente se utilizaron como antihelmínticos de uso veterinario el parbendazol, fenbendazol, oxfendazol y cambendazol. Posteriormente se utilizaron el albendazol, mebendazol y tiabendazol como antihelmínticos, el omeprazol, lanzoprazol y pantoprazol como inhibidores de la bomba de protones; el astemizol como antihistamínico, envirodine como antiviral, cilexetil, candesartán y telmisartán como antihipertensivos y una amplia gama de compuestos con diferentes actividades terapéuticas. Las modificaciones en el anillo de benzimidazol muestra una notable actividad biológica incluyendo antitumoral, antimicótica, anti-VIH, antioxidante, antiinflamatoria, ansiolítica e hipoglucemiante (Geeta y Swastika , 2014).

Actividad biológica

La actividad biológica del benzimidazol involucra varios mecanismos como estrés oxidativo, acción enzimática o mecanismos mediados por receptores, los diferentes sustituyentes del anillo le confieren diferentes actividades.

Actividad antiinflamatoria

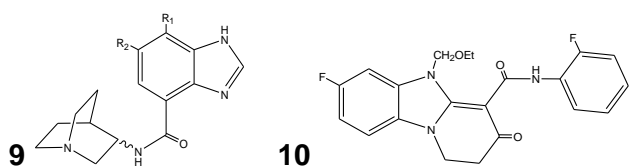
Un gran número de moléculas derivados del benzimidazol (A-D) se ha demostrado que poseen actividad anti-inflamatoria utilizando el modelo del edema inducido con el aceite de croton en rata y en ratón (Narasimhan et al.,2012).



Actividad ansiolítica

La potenciación de la narcosis o el sueño es una de las pruebas de sedación que permite medir la influencia de los medicamentos sobre la duración del sueño inducida por un hipnótico. Este método se utiliza para el estudio de los medicamentos psicolépticos, es decir, hipnóticos, neurolépticos o tranquilizantes mayores.

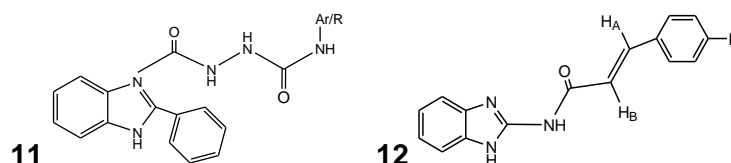
Una serie de derivados azabíciclos del benzimidazol se han reportado como potentes antagonistas de los receptores 5HT_{3C} involucrados en desordenes de ansiedad, depresión y pérdida de la memoria **9** (Mor *et al.*, 2004), otra serie de compuestos con potencial actividad ansiolítica como agonistas del receptor GABA_A son los N-sustituidos del benzimidazol debido a su interacción con el receptor α 1 de benzodiazepinas **10**. (Nannapaneni, *et al.* 2010; Bansal y Silakari, 2012)



Actividad antioxidante

Los fármacos que captan radicales libres y tienen actividad antioxidante se han implicado en el tratamiento de diversas enfermedades como cáncer que están directamente relacionados con la falta de capacidad antioxidante de organismo. En 1974 se reportaron el 5-hidroxibenzimidazol y el 5-hidroxi-2-metilbenzimidazol como antioxidantes eficaces. La incorporación de tiadiazoles, triazoles y sus homólogos de cadena abierta, es decir, tiosemicarbazidas en la posición 1 del benzimidazol proporciona actividad antioxidante **11 y 12**. Recientemente, la ciclación del dialquilaminoetil en la posición 1 y 4-sustituidas han sido investigados como potentes antioxidantes. (Bansal y Silakari, 2012)

Algunos compuestos que poseen dihidrocloruros también se han reportado que poseen actividad antioxidante. Por otra parte, se descubrió que el uso de grupo trimetil con benzimidazol también proporciona actividad antioxidante (Ramanpreet *et al.*, 2011)



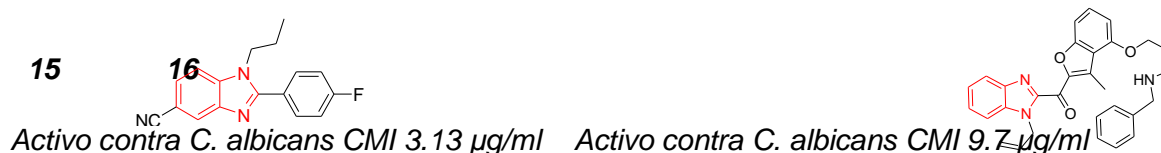
Actividad hipoglucemiante

La diabetes Mellitus es un desorden metabólico que se caracteriza por hiperglicemia debido a la resistencia a la insulina o la relativa deficiencia de esta. Se han sintetizado análogos derivados del benzimidazol que son potentes inhibidores del transportador de glucosa SGLT2 que inhibe la reabsorción de glucosa a nivel renal **13 y 14**. (Jung, 2013)



Actividad antimicótica

También se ha demostrado la actividad antibacteriana, antihelmíntica, antimicótica y antiviral de los derivados del benzimidazol, la actividad antifúngica ha sido probada contra *Candida albicans* **15 y 16** (Ansari *et al.*, 2009; Göker *et al.*, 2002; KüKübay *et al.*, 2003; Ramanpreet *et al.*, 2011).



METODOLOGÍA

Inducción de la Inflamación. Método del edema auricular inducido por Aceite de Croton

Se prepara una disolución del aceite de croton en acetona (0.4 µg/20 µl), administrando 20 µl del agente irritante en la oreja derecha del ratón. La oreja izquierda será el control. Inmediatamente se administró la crema con el compuesto a probar (40 mg/g de crema), en ambas caras del pabellón auricular. El medicamento control fue betametasona al 0.05% adquirida comercialmente. Transcurrido 4 h después de la aplicación se procede al sacrificio del animal y se procede a cortar porciones simétricas circulares de 5 mm para su análisis (Han *et al.*, 2007).

Prueba de potenciación del sueño.

Se seleccionaron lotes de 5 ratones machos CD1 con un peso aproximado de 25-30 g. Uno de los lotes se utilizó como testigo. El segundo lote recibe por vía oral el medicamento de referencia en este caso se utilizó alprazolam a una dosis de 2mg/kg vía oral 30 minutos antes del experimento; los lotes restantes recibieron por vía oral los compuestos problema una dosis de 20 mg/Kg, 30 minutos después se les administró a todos los ratones el pentobarbital vía intraperitoneal a una dosis de 35 mg/kg de peso. El criterio de sueño es la pérdida del enderezamiento (Zhang *et al.*, 2014).

Determinación de la capacidad antioxidante con el radical ABTS.

Se preparó una solución con el reactivo ABTS a 7 mM con agua destilada y se mezcló 1:1 con una solución de persulfato de potasio a 2.45 mM; se dejó reposar 16 horas en la obscuridad a temperatura ambiente. Posteriormente se diluyó con alcohol hasta una absorbancia de 0.7 (± 0.01) a una longitud de 754 nm. Se tomó 980 μ L del radical y 20 μ L de la muestra previamente diluida 1:10; y se midió su absorbancia después de 1 min (Choy *et al.*, 2007).

Inducción de la Diabetes Mellitus Tipo 2

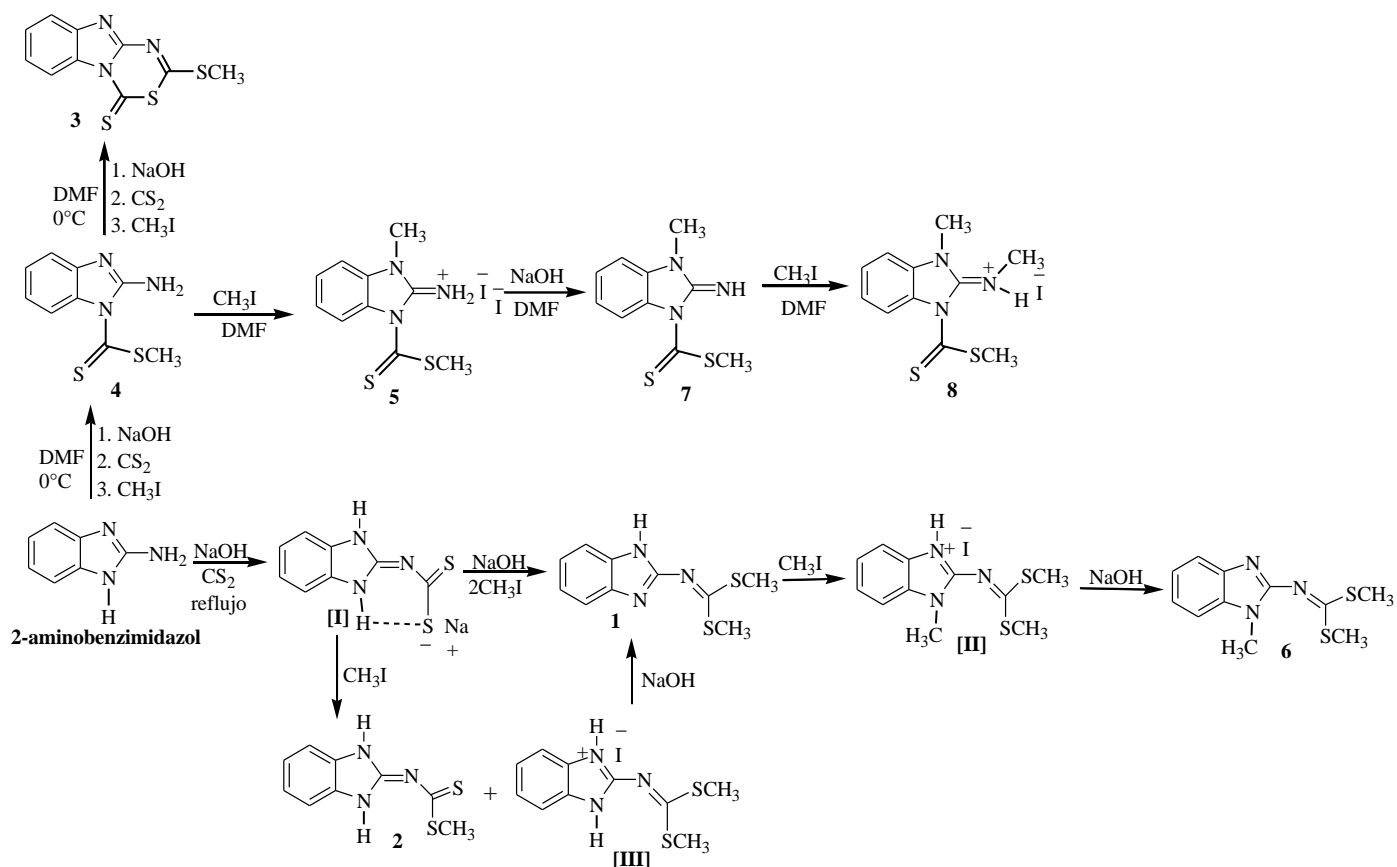
Se formó un grupo con 5 ratones macho CD1 y un peso corporal de 20-25 g. Se mantuvieron en ayuno durante 24 horas antes de la inducción de la diabetes con estreptozocina (STZ) posteriormente se administró la STZ por vía intraperitoneal a una dosis de 65mg/0.5 de solución salina/100 g de peso corporal. Los niveles de glucemia en ayunas fue en un rango de 170-250 mg/dL una semana después. El compuesto se administró durante 28 días con una dosis de 5g/kg. Se determinaron los niveles de glucosa en sangre usando un glucómetro (One touch de Jhonson-Jhonson Company) (Szkudelski, 2001)

Actividad antimicótica

La concentración mínima inhibitoria (CMI) fue determinada utilizando el método de diluciones NCCLS M27-A2, que utiliza el medio RPMI-1640 (sigma-aldrich) y *Candida albicans* CDBB-L-1003 como microorganismo de prueba. El itraconazol fue usado como control. (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2002)

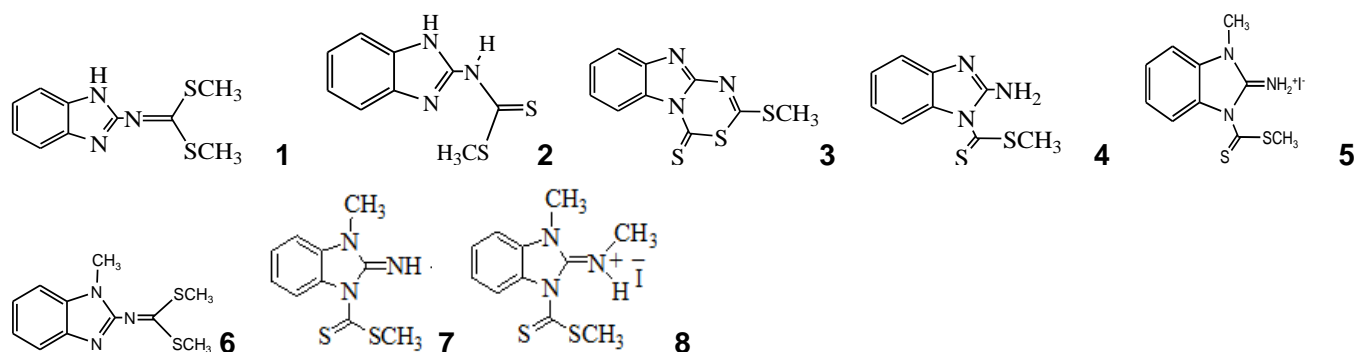
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los compuestos **1-8** fueron sintetizados a partir del 2-aminobenzimidazol de acuerdo al siguiente esquema de reacciones.



Esquema 1

Los compuestos probados fueron los siguientes 1-8.



Actividad antiinflamatoria

Todos los compuestos probados mostraron actividad anti-inflamatoria donde la máxima respuesta de inhibición de la inflamación fue de los compuestos **1 y 4** (55.79% y 54%) (tabla 1) a una concentración de 40 mg/g de crema que comparado con la betametasona (86.6%) presentan una menor actividad en cuanto a inhibición de la inflamación y comparado con los compuestos reportados en la literatura **C y D** mostraron un 80 y 100% de inhibición de la inflamación utilizando un modelo diferente induciendo el

edema en la pata de la rata con carragenina a una dosis de 100 mg/Kg por lo que sería importante probar dosis mayores y utilizar el mismo modelo.

Estructura	(% de Inhibición)
1	55.79
2	37.98
3	31.66
4	54.00
5	40.73
6	27.2
Betametasona	86.6

Potenciación del sueño

En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos con la prueba de potenciación del sueño en donde los compuestos **4** y **5** presentaron actividad a dosis de 20 mg/Kg (60 min) los ratones aumentaron su tiempo de sueño (18.3 min) sumado al tiempo cuando se administra el pentobarbital solo (41.5 min) presentando actividad similar entre las estructuras probadas, el fármaco alprazolam mostró actividad de (82 min) donde aumentaron un tiempo de sueño de (40.5 min) lo que nos indica que es un fármaco muy potente comparado con nuestros compuestos.

Estructura	Dosis (mg/Kg)	Tiempo de sueño (min)
4	20	60
5	20	60
Pentobarbital	35	42
Alprazolam	2	82

Actividad antioxidante

En la tabla 3 se muestran los resultados de la actividad antioxidante donde el compuesto **2** presenta la mayor actividad para captar el radical ABTS, sería importante realizar otras pruebas para poder determinar si el compuesto pudiera captar otro tipo de radicales como el 2-2-difenil picrihidrazilo (DPPH), hidroxilo, superóxido o moléculas como el peróxido de hidrógeno. Solo se muestran los resultados de los compuestos que presentaron actividad.

Estructura	(mg equivalentes de ácido ascórbico/100g de muestra)
1	2
2	135
3	3
4	23

Actividad hipoglucemiante

En la tabla 4 se muestran los resultados de la actividad hipoglucemiante donde de las cuatro estructuras probadas solo la estructura **5** disminuyó los niveles de glucosa en los ratones diabéticos

Estructura	Niveles de glucosa (mg/dL) en ratones diabéticos
5	(200-98)
7	NA
8	NA
Tolbutamida	(200-100)

NA-No presentó actividad

Actividad antimicótica

En la tabla 5 se muestran los resultados obtenidos de la CMI de los compuestos sintetizados que fueron evaluados contra la cepa *C. albicans* patógeno oportunista que presenta una gran resistencia a los fármacos antifúngicos, *C. albicans* presentó una gran sensibilidad *in vitro* a los compuestos probados en el siguiente orden : **4>3>5>1** donde los compuestos **3,4** y **5** presentan una mayor potencia que el itraconazol usado como control (CMI 16 µg/ml) y comparable con otros compuestos reportados en la literatura **15** y **16**.

Estructura	CMI (µg/ml)
1	16.0
3	1.0
4	0.56
5	4.0
Fluconazol	16.0

CONCLUSIONES

Un gran número de compuestos derivados del benzimidazol son usados clínicamente para el tratamiento de muchas enfermedades. De las actividades biológicas probadas: antiinflamatoria, ansiolítica, antioxidante, hipoglucemiante y antimicótica de los compuestos de azufre derivados del 2-aminobenzimidazol, la mejor actividad que presentaron los compuestos fue la antifúngica contra *Candida albicans*, también algunos compuestos presentan cierta actividad antiinflamatoria y antioxidante, como hipoglucemiante faltarían otros estudios para probar su eficacia.

REFERENCIAS

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

Basal Y., Silakari, O., (2012). The therapeutic journey of benzimidazoles: a review. *Bioorg & Med Chem*, 20: 6208-6236.

Choy Y., Jeong H. S., Lee J.(2007). Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. *Food Chem*, 103: 130-138

Clinical and Laboratory Standards Institute. (2002). M37-A2: Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard—Second Ed. Wayne, Pennsylvania: NCCLS.

Geeta Y., Swastika G. (2014). Structure activity relationship (SAR) study of benzimidazole scaffold for different biological activities: A mini-review. *Eur J of med Chem* XXX.1-25

Göker H., Kus C., boykin D.W., Yildiz S., Altanlar, N. (2002). Synthesis of some new 2-substituted-phenyl-1-H-benzimidazole-carbonitriles and their potent activity against *Candida* species, *Bioorg & Med Chem Let*, 10: 2589-2596

Han, T.; Li, H-L; Zhang, Q-Y; Han, P.; Zheng, H-C; Rahman, K.; Qin, L-P. (2007). Bioactivity-guided fractionation for anti-inflammatory and analgesic properties and constituents of *Xanthium strumarium* L. *Phytomed: Int J of Phytoter and Phytopharm*.

Jung HJ., Mi YM., Young KJ., Pagire HS., Young KK., (2013) Synthesis and biological evaluation of aminobenzimidazole derivatives with a phenylcyclohexyl acetic acid group as anti-obesity and anti-diabetic agents. *Bioorg & Med Chem Let*, 23: 4713-4718.

Kücükbay, 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. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 10: 2589-2596

Mor M., Bordini F., Silva C., Rivara S., Zuliani V., Vacondio F., Rivara M., Barocelli E., Bertoni S., Ballabeni V., Magnani F. (2004) Synthesis, biological activity, QSAR and QSPR study of 2-aminobenzimidazole derivatives as potent H₃-antagonists. *Bioorg & Med Chem*, 12: 663-674.

Nannapaneni D. T., Gupta A., Reddy M., Sarva R. (2010). Synthesis, characterization and biological evaluation of benzimidazole derivatives as potential anxiolytics, *J Young Pharm.*, 2: 293-279.

Narasimhan B., Sharma D., Kumar P. (2012). Benzimidazole: a medicinally important heterocyclic moiety, *Med Chem Res*, 21: 269-283.

Ramanpreet W., Hedaitullah Md., Syed F. N., Khalid I., Lamba H. S. (2011). Benzimidazole derivatives- An overview. *Inter. J of Pharma Comp*, 1: 565-574

Szkudelski T, (2001) The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B cells of Rat Pancreas. *Ed. Physiol.* Págs. 536-546.

Zhang C., Mao X., Liu Z., Li H., Bi K., Jia Y. (2014). Gomisins isolated from *Schisandra chinensis* augments pentobarbital-induced sleep behaviors through the modification of the serotonergic and GABAergic system, *Fitoter*, 96: 123-130.