



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS
POSGRADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

**“SÍNTESIS Y EVALUACIÓN FARMACOLÓGICA DE LA
N-(4-TRIFLUROMETIL)BENCILBENCIMIDAZOLONA SOBRE
PARÁMETROS DE SÍNDROME METABÓLICO EN MODELO
MURINO”**

TESIS

QUE PRESENTA

LBM. VALERIA CASTILLO NIEBLAS

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRA EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

DIRECTORES

DR. LORENZO ULISES OSUNA MARTÍNEZ

DRA. LORANDA CALDERÓN ZAMORA

ASESORES

DR. JULIO MONTES AVILA

DR. ELEAZAR ALCANTAR ZAVALA

CULIACÁN DE ROSALES, SINALOA, MÉXICO A NOVIEMBRE DE 2024.



Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial
Compartir Igual, 4.0 Internacional



DEDICATORIA

Papá

AGRADECIMIENTOS

A la “Universidad Autónoma de Sinaloa” por ser mi *alma mater* y al programa de “Maestría en Ciencias Biomédicas” por aceptarme y brindarme las herramientas para mi desarrollo académico y profesional.

A CONAHCYT por el apoyo otorgado a través de la beca de maestría además de la convocatoria de fronteras 2022 con el número de proyecto 319930 por el apoyo financiero otorgado para la realización de este proyecto.

A mis directores de tesis Dr. Lorenzo Ulises Osuna Martínez y Dr. Loranda Calderón Zamora, por brindarme la confianza y oportunidad de realizar este gran proyecto; en especial gracias por el tiempo que me brindaron, por su apoyo y orientación en mi crecimiento académico, por ver los desafíos como oportunidades de crecer y mejorar.

A mis asesores el Dr. Julio Montés Ávila y el Dr. Eleazar Alcantar Zavala, por todo el apoyo y tiempo que brindaron para hacer posible el proyecto, además de la paciencia que tuvieron para enseñarme por sus consejos y palabras de apoyo.

A mis padres, Jaime y Araceli por siempre creer en mí, así como brindarme su amor y apoyo en todo momento de mi vida, lo vuelvo a decir sin ustedes no hubiera llegado tan lejos.

A mis tíos, Barany y Leopoldo, por recibirme en su casa y darme un hogar, y a los niños, a Thiago por alegrarme con sus ocurrencias, y al pequeño André por ser mi compañía en la redacción de esta tesis, mientras él aprendía las vocales. Gracias por todos los momentos que pasamos en familia.

A mis compañeros y amigos de laboratorio que fueron parte de este proyecto Denisse y Daniela, gracias por apoyarme en la realización de los experimentos, y por permitirme enseñarles. A Eduardo Sarabia por ser parte

A mis amigos de laboratorio LIFFT que me brindaron consejos, palabras de ánimo en los días difíciles: Alfredo, Maestra Alicia, Sonia, Janer y Estefanía.

A mis amigos y compañeros del Laboratorio de Productos Naturales, a Fabricio por su ayuda y palabras de ánimo en todo momento en especial en los tiempos en los que se obtenían los resultados esperados. A Kimberly, Cristo, Maritza, Alejandra, por hacer más amenas las tardes de trabajo con buenas pláticas y comida.

A mis amigos, que forman una parte importante de mi vida, Xochitl, Yuridia, Poli, Ignacio y Michel, gracias por creen en mis metas.

A Dumas, mi perrito por ser mi fiel compañero en mis noches de estudio.

ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XIII
ÍNDICE DE CUADROS.....	XV
I. RESUMEN	1
II. ABSTRACT.....	2
III. INTRODUCCIÓN	3
IV. ANTECEDENTES	4
4.1. Síndrome metabólico	4
4.1.1. Epidemiología.....	5
4.2. Alteraciones y enfermedades derivadas del síndrome metabólico	5
4.2.1. Sobrepeso y obesidad	6
4.2.1.1. Mecanismo fisiopatológico.....	7
4.2.2. Dislipidemia aterogénica y enfermedad cardiovascular.....	8
4.2.2.1. Mecanismo fisiopatológico de dislipidemia aterogénica	9
4.2.3. Hipertensión arterial y enfermedad cardiovascular	10
4.2.3.1. Mecanismo fisiopatológico de hipertensión	11
4.2.4. Hiperglucemia y diabetes mellitus tipo 2	12
4.2.4.1. Mecanismo fisiopatológico.....	12
4.2.4.2. Glucocinasa.....	16
4.2.4.3. Glucocinasa pancreática	16
4.3. Manejo y control del síndrome metabólico	17
4.3.1. Dieta y ejercicio	17
4.3.2. Manejo farmacológico	19
4.3.3. Desventajas del tratamiento farmacológico	19
4.4. Bencimidazolonas	20
4.4.1. Síntesis química de las bencimidazolonas	21

4.4.2. Actividades biológicas de las bencimidazolonas	23
4.4.2.1. Actividad antimicrobiana de las bencimidazolonas.....	23
4.4.2.2. Actividad antioxidante de las bencimidazolonas.....	23
4.4.2.3. Actividad antihipertensiva de las bencimidazolonas.....	23
4.4.2.4. Actividad antihiper glucemiante e hipogluce miente de las bencimidazolonas.....	24
4.5. Antecedentes de N-(4-triflurometil)bencilbencimidazolona	24
4.5.1. Síntesis de N-(4-triflurometil)bencilbencimidazolona.....	24
4.5.2. Evaluaciones <i>in silico</i> de N-(4-triflurometil)bencilbencimidazolona	25
4.5.3. Evaluaciones <i>in vitro</i> de N-(4-triflurometil)bencilbencimidazolona .	25
V. JUSTIFICACIÓN.....	27
VI. HIPÓTESIS	28
VII. OBJETIVOS.....	29
7.1. Objetivo general.....	29
7.2. Objetivos específicos.....	29
VIII. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
8.1. Lugar de trabajo.....	30
8.2. Tipo de estudio y diseño experimental.....	30
8.3. Reactivos.....	31
8.4. Técnicas analíticas para la confirmación de la síntesis.....	32
8.5. Ruta de síntesis de N-(4-triflurometil)bencilbencimidazolona.....	32
8.6. Animales de experimentación	35
8.6.1. Consideraciones bioéticas	35
8.7. Inducción de alteraciones en los parámetros del síndrome metabólico mediante dieta alta en grasa.....	35
8.8. Cálculo de la masa corporal	36
8.8.1. Determinación del tejido adiposo abdominal	36
8.9. Medición de glucosa en sangre periférica	36

8.10. Medición de la presión arterial	37
8.11. Cuantificación del perfil de lípidos	37
8.11.1. Medición de los niveles séricos de triglicéridos (TG).....	37
8.11.2. Medición de los niveles séricos de Colesterol total (CT).....	38
8.11.3. Medición de los niveles séricos de HDL-c	38
8.12. Cálculo del índice de riesgo aterogénico y el índice de Castelli I	40
8.13. Índice de riesgo aterogénico	40
8.14. Índice de riesgo de Castelli I (IRC I).....	40
8.15. Cálculo del índice de protección aterogénica.....	41
8.16. Procesamiento histológico y tinción de hematoxilina y eosina de hígado y páncreas	41
8.16.1. Tinción de muestras con tinción de hematoxilina y eosina	42
8.16.2. Análisis histopatológico de muestras de hígado y páncreas	43
8.17. Análisis estadístico	43
IX. RESULTADOS.....	45
9.1. Síntesis de <i>N</i> -(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona	45
9.2. Confirmación de la estructuras del núcleo de bencimidazolona y <i>N</i> -(4- trifluorometil)bencilbencimidazolona	50
9.3. Efecto de <i>N</i> -(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la masa corporal	56
9.4. Cuantificación del perfil bioquímico del modelo de dieta alta en grasa	61
9.4.1. Efecto de <i>N</i> -(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la glucosa 61	
9.4.2. Efecto de <i>N</i> -(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre el perfil lipídico.....	63
9.4.3. Efecto de <i>N</i> -(4-trifluorometilbencil)bencimidazolona sobre el índice de riesgo aterogénico, Índice de Castelli I y el índice de protección .	66
9.5. Efecto de <i>N</i> -(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la presión de presión arterial.....	68
9.6. Efecto de <i>N</i> -(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre tejido adiposo, hígado, páncreas	70
9.6.1. Efecto del <i>N</i> -(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre el tejido adiposo.....	70

9.6.2. Efecto de <i>N</i> -(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la morfología hepática.....	71
9.6.3. Efecto de <i>N</i> -(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la morfología de páncreas	73
X. DISCUSIÓN	77
10.1. Síntesis de <i>N</i> -(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona	77
10.2. Efecto de <i>N</i> -(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la masa corporal	79
10.3. Efecto de <i>N</i> -(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre el perfil bioquímico	80
10.3.1. Efecto de <i>N</i> -(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la glucosa	80
10.3.2. Efecto de <i>N</i> -(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre el perfil lipídico.....	81
10.3.3. Efecto de <i>N</i> -(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre el índice de riesgo aterogénico, Índice de Castelli I e Índice de protección aterogénica	83
10.3.4. Efecto de <i>N</i> -(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la presión arterial	83
10.3.5. Efecto de <i>N</i> -(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la morfología de hígado	84
10.3.6. Efecto de <i>N</i> -(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la morfología de páncreas	85
XI. CONCLUSIONES	87
11.1. Conclusión general	87
11.2. Conclusiones específicas.....	87
XII. PERSPECTIVAS DEL PROYECTO	88
XIII. BIBLIOGRAFÍA	89
XIV. ANEXOS	100
11.1. Documentos complementarios.....	100
XV. SIGLAS Y ABREVIACIONES.....	101

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Mecanismo fisiopatológico del síndrome metabólico	14
2	Mecanismo de acción de la glucocinasa pancreática.....	18
3	Ruta de síntesis de derivados de bencimidazolonas.....	22
4	Ruta de síntesis de <i>N</i> -(4-triflurometil)bencilbencimidazolona	34
5	Modelo de inducción de alteraciones en los parámetros del síndrome metabólico	39
6	Esquema de síntesis de <i>N</i> -(4-triflurometil)bencilbencimidazolona	47
7	Espectro de TF-IR de 1,3-dihidro-2H-benzoimidazol-2-ona	51
8	Espectro de RMN ¹ H de 1,3-dihidro-2H-benzoimidazol-2-ona	52
9	Espectro de RMN ¹³ C de 1,3-dihidro-2H-benzoimidazol-2-ona	53
10	Cromatografía de GC-MS de 1,3-dihidro-2H-benzoimidazol-2-ona	54
11	Espectro de TF-IR de <i>N</i> -(4-triflurometil)bencilbencimidazolona	57
12	Espectro de RMN ¹ H de <i>N</i> -(4-triflurometil)bencilbencimidazolona	58
13	Espectro de RMN ¹³ C de <i>N</i> -(4-triflurometil)bencilbencimidazolona	59
14	Cromatograma de GC-MS de <i>N</i> -(4-triflurometil)bencilbencimidazolona	60
15	Efecto de <i>N</i> -(4-triflurometil)bencilbencimidazolona sobre la masa corporal	62
16	Efecto de <i>N</i> -(4-triflurometil)bencilbencimidazolona sobre la glucosa	64

17	Efecto de <i>N</i> -(4-triflurometil)bencilbencimidazolona sobre el perfil de lípidos	67
18	Efecto de <i>N</i> -(4-triflurometil)bencilbencimidazolona sobre predictores de riesgo aterogénico	69
19	Efecto de <i>N</i> -(4-triflurometil)bencilbencimidazolona sobre la presión arterial	72
20	Efecto de <i>N</i> -(4-triflurometil)bencilbencimidazolona sobre tejido adiposo	75
21	Efecto de <i>N</i> -(4-triflurometil)bencilbencimidazolona sobre la morfología de hígado	76
22	Efecto de <i>N</i> -(4-triflurometil)bencilbencimidazolona sobre la morfología de páncreas	77

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Modificaciones en las condiciones de la ruta de síntesis de 1,3-dihidro-2H-benzoimidazol-2-ona	48
2	Modificaciones en las condiciones de la ruta de síntesis de <i>N</i> -(4-triflurometil)bencilbencimidazolona	49

I. RESUMEN

El síndrome metabólico (SMet) es factor de riesgo para el desarrollo y progresión de la diabetes mellitus tipo 2 y la enfermedad cardiovascular, por lo que es importante el control de las alteraciones de sus parámetros, como la hiperglucemia. En la homeostasis de la glucosa una de las principales enzimas involucradas es la glucocinasa pancreática, siendo una diana terapéutica relevante para el desarrollo de fármacos hipoglucemiantes. Las bencimidazonas son una familia de moléculas heterocíclicas que han reportado múltiples actividades biológicas como hipoglucemiante, antihiperglucemiante e hipotensora. En el presente proyecto se propone una ruta de síntesis para obtener *N*-(4-trifluorometilbencil)bencimidazolona (4FMZ), en la primera etapa se utilizó la técnica de reflujo para producir el núcleo de bencimidazolona, en la etapa de alquilación del núcleo se empleó calor convencional, optimizando condiciones como: anhídrido isatóico, *N,N*-Diisopropiletilamina (base) y temperatura de 80° C. La evaluación del efecto farmacológico de 4FMZ se realizó con un modelo *in vivo* de dieta alta en grasa (40%) empleando ratones macho C57BL/6N, con tres grupos experimentales (n=4 por cada grupo): DE (dieta estándar), DAG (dieta alta en grasa) y 4FMZ (dieta alta en grasa) que se le administró vía oral una dosis diaria de 100 mg·kg⁻¹(vehículo = polietilenglicol al 15% + agua estéril) del tratamiento a partir de la semana 10 hasta concluir el modelo. Se midió la masa corporal y cuantificó el nivel de glucosa en sangre periférica una vez a la semana a partir de la semana 4. Además, en la semana 16 se realizó la medición de presión arterial sistólica, diastólica y la media. Al finalizar el modelo los ratones se sacrificaron, y se les realizaron análisis histopatológicos de hígado y páncreas con tinción de hematoxilina y eosina, también se cuantificó el tejido adiposo de cada grupo experimental. Por otra parte, se cuantificó el perfil de lípidos (triglicéridos, lipoproteína de alta densidad, colesterol total y lipoproteína de muy baja densidad), con lo que se determinó el índice de riesgo aterogénico, el índice de Castelli I para los tres grupos experimentales y el índice de protección aterogénico de 4FMZ. La 4FMZ, sintetizada mediante calor convencional, presenta efecto hipoglucemiante, hipolipémico e hipotensor en ratones C57BL/6N con alteraciones en parámetros del síndrome metabólico.

(Palabras clave: *N*-(4-trifluorometilbencil)bencimidazolona, Síndrome metabólico, hipoglucemiante, hipotensor).

II. ABSTRACT

Metabolic syndrome (Smet) is a risk factor for the development and progression of diabetes mellitus type 2 and cardiovascular disease, therefore the importance of control in metabolic abnormalities, as hyperglycemia. A key enzyme in glucose homeostasis, is pancreatic glucokinase, moreover a pharmaceutical target of interest in development of hypoglycemic drugs. Benzimidazolone is a family of heterocycle molecules that has been reported multiple biological activities such as hypoglycemic, antihyperglycemic and hypotensive. In the present study, a synthesis route for *N*-(4-trifluoromethylbenzil)benzimidazolone (4FMZ) was proposed, first step based on reflux method to obtain benzimidazolone core and an alkylation step with conventional heat, conditions as isatoic anhydride, *N,N*-Diisopropylethylamine (base) and temperature of 80° C were optimized. The pharmacology effect of 4FMZ was evaluated using a high fat diet (40%) *in vivo* model of male C57BL6/N mice, consisting of three experimental groups (n=4 each group): DE (standard chow diet), DAG (high fat diet) and 4FMZ (high fat diet) was oral administered daily of 100 mg·kg⁻¹ (drug vehicle = polyethylene glycol 15% + sterile water) starting at week 10 to the end of the model. Body weight and peripheral blood glucose level were measured from week 4 to week 16, furthermore at week 16 was measured systolic blood pressure, diastolic blood pressure and mean. Mice were sacrificed, and histopathological analysis were made in liver and pancreas with hematoxylin and eosin staining, also adipose tissue was measured in all experimental groups. In addition, the lipid levels (triglyceride, high density cholesterol, total cholesterol and very low-density lipoprotein) were quantified, afterward atherogenic coefficient, Castelli I risk were determined in all groups, and the atherogenic protection index only in 4FMZ group. 4FMZ, synthesized by conventional heat, presents hypoglycemic, hypolipidemic and hypotensive effects in C57BL6/N mice with alterations in metabolic syndrome parameters.

(Keywords: *N*-(4-trifluoromethylbenzil)benzimidazolone *Metabolic syndrome, hypoglycemic, hypotensive*).

III. INTRODUCCIÓN

El síndrome metabólico (SMet) es un problema de salud pública a nivel mundial, con una prevalencia estimada del 20% al 40% en la población adulta (Rojas-Martínez y col., 2021); consiste en presentar al menos 3 anormalidades en los factores de riesgo del SMet entre ellos: hiperglucemia, hipertensión arterial, dislipidemia aterogénica y obesidad abdominal (Castro-Quintanilla y col., 2023).

El SMet puede conllevar al desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y enfermedad cardiovascular (ECV), por lo que se recomienda a los pacientes que lo padecen cambios en el estilo de vida y de apoyo farmacológico (Castro Quintanilla y col., 2023), no obstante, los medicamentos empleados presentan efectos adversos, por lo que es importante el diseño y desarrollo de nuevas alternativas farmacológicas (Sendekie y col., 2023).

Entre las dianas terapéuticas de interés farmacológico, se encuentra glucocinasa pancreática ya que es fundamental en la homeostasis de la glucosa, además, en la actualidad no existe algún fármaco entre los recomendados por la OMS para el tratamiento de DM2 que la tenga como diana terapéutica (OMS, 2020); no obstante, *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona (4FMZ), en estudios previos por nuestro equipo de trabajo mostró un potencial efecto hipoglucemiante con acción en glucocinasa pancreática (Santos-Ballardo y col., 2023).

Por lo anterior, el presente trabajo, se enfocó en la síntesis de 4FMZ y su estudio como potencial agente terapéutico en un modelo *in vivo*.

IV. ANTECEDENTES

4.1. Síndrome metabólico

El síndrome metabólico (SMet) se describe como el conjunto de alteraciones cardiometabólicas, asociadas con el riesgo de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 y enfermedad cardiovascular (Castro-Quintanilla y col., 2023; Fragozo-Ramos, 2022).

Se han propuesto diferentes definiciones de SMet para su diagnóstico clínico por parte de instituciones de salud como la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 1998 (Cruz-Campos, 2022), también el Panel de expertos en detección, evaluación y tratamiento de colesterol en adultos (NCEP/ATP111) en el año de 2001 también la Federación Internacional de Diabetes en 2005 propuso un criterio diagnóstico (Fahed y col., 2022). Las definiciones previamente mencionadas, presentan variaciones en los valores de referencia, no obstante, mantienen en común la presencia de: resistencia a la insulina, obesidad abdominal, dislipidemia aterogénica e hipertensión arterial para el diagnóstico de SMet (Bovolini y col., 2021).

En 2009 la IDF y la AHA/NHLBI (Asociación Americana del Corazón/Instituto Nacional del corazón, los pulmones y la sangre), presentaron una definición armonizada del SMet, en la que se requiere presentar al menos tres alteraciones para que sea diagnosticado el SMet (Alberti y col., 2009).

- Circunferencia abdominal: es determinada por cada país
- Nivel de HDL: $<40 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ (1.0 mmol/L) en hombres y $50 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ (1.3 mmol/L) en mujeres
- Nivel de triglicéridos: $\geq 150 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ (1.7 mmol/L)

- Nivel de glucosa en ayunas: $\geq 110 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ (5.6 mmol/L)
- Presión arterial: $\geq 130/85 \text{ mm/Hg}$ (Alberti y col., 2009).

4.1.1. Epidemiología

La prevalencia mundial del SMet estimada es variable, ya que el porcentaje cambia dependiendo al tipo de definición del SMet que emplea para el diagnóstico cada país; además de influir el estilo de vida, dieta, actividad física, genotipo, etnia, edad y género de cada región (Zafar y col., 2018).

El porcentaje estimado de adultos con SMet a nivel mundial es del 20% al 40%, presentando una tendencia en aumento en múltiples países (Rojas-Martínez y col., 2021); sin embargo, en México se estimó por datos brindados mediante la Encuesta Nacional de Nutrición del 2018 que el SMet tiene una prevalencia de 56.6% en adultos mayores de 40 años (Rojas-Martínez y col., 2021).

Se debe agregar que en el estudio realizado por Rojas-Martínez y colaboradores en 2021, obtuvo que los adultos mexicanos en el periodo de 2006 a 2018 tuvieron prevalencias del SMet de: 40.2% (2006), 57.3% (2012), 59.9% (2016) y 56.31% (2018) por lo que se observa una tendencia en aumento.

Además, en 2023 se determinó la prevalencia del SMet en Sinaloa en población adulta mayor de 50 años, con un porcentaje de 54.1 (Plaza-López y col., 2023).

4.2. Alteraciones y enfermedades derivadas del síndrome metabólico

El SMet es considerado como un problema de salud pública a nivel mundial, con una prevalencia en aumento además de estar asociado con el desarrollo y progresión

de diabetes mellitus tipo II (DM2) y enfermedad cardiovascular (ECV) (Castro-Quintanilla y col., 2023).

La etiopatogenia del síndrome metabólico es compleja ya que intervienen múltiples factores de predisposición como: la variabilidad genética, mecanismos epigénéticos, los factores ambientales de la dieta y actividad física de cada persona (Fragozo-Ramos, 2022).

Así como la definición y los factores de riesgo del SMet son multifactoriales, los mecanismos patológicos también lo son, y no han sido aclarados en su totalidad en la actualidad debido a la complejidad que presentan (Castro-Quintanilla y col., 2023; Cruz Campos, 2022).

Entre los mecanismos patológicos que se han reportado, están: la resistencia a la insulina, la activación neurohormonal y la inflamación crónica para el desarrollo de SMet y la progresión hacia DM2 y ECV (Cruz- Campos, 2022; Fahed y col., 2022). Así mismo, la adiposidad visceral es la primera desencadenante de los mecanismos anteriores (Cruz Campos, 2022; Fahed y col., 2022).

4.2.1. Sobrepeso y obesidad

La obesidad es definida como la acumulación excesiva de tejido adiposo que puede representar un riesgo para la salud (Shariq y Mckenzie, 2020). Así mismo, la OMS clasifica la obesidad de los adultos en 3 grupos, con base al IMC (índice de masa corporal) (Shariq y Mckenzie, 2020).

El IMC de una persona normopeso es de 18.5 a 24.6 kg/m², cuando el IMC corresponde de 25 a 29.9 kg/m² es considerado como sobrepeso, y a partir de un IMC

$\geq 30 \text{ kg/m}^2$ la persona ya se le considera con obesidad (Shariq y Mckenzie, 2020). El grupo I tiene un IMC de 30 hasta 34.9 kg/m^2 , el grupo II muestra un IMC de 35 a 39.9 kg/m^2 finalmente el grupo III (obesidad mórbida) tiene un IMC $\geq 40 \text{ kg/m}^2$. (El Meouchy y col., 2022; Shariq y Mckenzie, 2020).

Sin embargo, el IMC presenta limitantes porque no puede discernir sobre la proporción de músculo y tejido adiposo además de la localización de este último (Shariq y Mckenzie, 2020); debido a la importancia del tejido adiposo visceral sobre los mecanismos patológicos del SMet, por lo que se utiliza la medición antropométrica de la circunferencia abdominal como parámetro diagnóstico del SMet (El Meouchy y col., 2022; Shariq y Mckenzie, 2020).

Con respecto al tejido adiposo visceral, participa en el mecanismo patológico que contribuye al desarrollo de hipertensión y enfermedad cardiovascular en pacientes con SMet (Fragozo-Ramos, 2022).

4.2.1.1. Mecanismo fisiopatológico

El tejido adiposo tiene una función endocrina, el almacenamiento de energía y la termorregulación (Fahed y col., 2022), produce hormonas como leptina y adiponectina, péptidos de importancia angiotensinógeno, resistina, plasminógeno, citocinas proinflamatorias como interleucina 6 (IL-6), factor de necrosis tumoral α (TNF- α), los cuales participan el desarrollo de la resistencia a la insulina y los mecanismos patológicos del SMet (Bovolini y col., 2021; Cruz-Campos, 2022; Fahed y col., 2022).

El tejido adiposo visceral al recibir nutrientes en exceso por parte de la ingesta en la dieta genera hipertrofia e hiperplasia que conlleva a una desregulación en

producción de adipocinas y cambios en la función endocrina del tejido adiposo, así como del componente inmunológico (Bovolini y col., 2021).

En condiciones de hipertrofia e hiperplasia el adipocito, presenta una sobreexpresión de leptina (Bovolini y col., 2021), hormona que participa en la homeostasis energética además de tener un papel proinflamatorio (Cruz-Campos, 2022) ha sido correlacionado con el aumento de riesgo en la enfermedad cardiovascular y la inflamación, por el contrario, la adiponectina una hormona antiinflamatoria, que sensibiliza a la insulina así como disminuir la formación de placa aterogénica, muestra una disminución de su producción por parte del tejido adiposo (Bovolini y col., 2021; Fahed y col., 2022). En conjunto, se contribuye a la resistencia de la insulina, así como del desarrollo del SMet (Bovolini y col., 2021; Cruz-Campos, 2022; Fahed y col., 2022).

Por otra parte, la desregulación en el tejido adiposo ocasiona una sobreproducción de citocinas proinflamatorias como: IL-6, TNF- α , proteína C reactiva (PCR), entre otras (Cruz-Campos, 2022; Fahed y col., 2022); que propician un estado de inflamación crónica de bajo grado interrelacionado con estrés oxidativo sistémico, la resistencia a la insulina, además de contribuir a la fibrosis tisular, aterogénesis y la enfermedad cardiovascular (Bovolini y col., 2021; Castro-Quintanilla y col., 2023).

4.2.2. Dislipidemia aterogénica y enfermedad cardiovascular

Entre las consecuencias de la obesidad, está el aumento de triglicéridos (TG), ya que el tejido adiposo sufre alteraciones en su función endocrina e inmunológica que incrementan la producción de lipoproteínas ricas en triglicéridos, así como la disminución de lipólisis de lipoproteínas ricas en triglicéridos. También la inflamación

conlleva al aumento de lipólisis en los adipocitos que incrementan la circulación de ácidos grasos libres (AGL) (Bays y col., 2024).

Entre las alteraciones en los parámetros del SMet está, la dislipidemia aterogénica, caracterizada por valores anormales en el suero plasmático de triglicéridos (TG) ya que aumentan su nivel y por la disminución del colesterol de lipoproteína de alta densidad (HDL-c) (Ascaso y col., 2020). Además de un incremento en el colesterol de lipoproteína de baja densidad (LDL-c) y lipoproteína A (Lpa) (Ascaso y col., 2020).

Entre los valores normales del perfil de lípidos están: colesterol total <200 mg/dl, HDL-c <50 mg·dL⁻¹ en mujeres y <40 mg·dL⁻¹ en hombres, TG <150 mg·dL⁻¹, Lpa <50 mg·dL⁻¹ y LDL-c <100 mg·dL⁻¹ (Arrobas-Velilla y col., 2023).

Por su parte, la dislipidemia aterogénica predispone al desarrollo de la enfermedad cardiovascular que se describe a continuación:

4.2.2.1. Mecanismo fisiopatológico de dislipidemia aterogénica

El incremento del eflujo de AGL por parte de los adipocitos a la circulación sanguínea, aumentan su presencia en el hígado, lo cual genera la síntesis *de novo* de ácidos grasos y síntesis de TG, además de la producción de lipoproteína de muy baja densidad (VLDL) ricas en TG (Bays y col., 2024; Fahed y col., 2022).

El VLDL activa la proteína de transferencia de éter de colesterol (CETP) con la función de transferir los triglicéridos del VLDL a LDL que al pasar por el proceso de lipólisis se generan sdLDL (lipoproteína de baja densidad pequeñas densas), las cuales son susceptibles a un proceso oxidativo que propicia la formación ERO

(especies reactivas de oxígeno) por otra parte los TG transferidos al HDL, al ocurrir el proceso de lipólisis se forman partículas pequeñas de HDL, los cuales son de una catabolización más rápida, conlleva finalmente a la reducción de los niveles de HDL (Vekic y col., 2023).

Además, en el hígado el exceso de ácidos grasos libres propicia la aparición de esteatosis (Vekic y col., 2023). Otro aspecto de las alteraciones del tejido adiposo visceral es el estrés oxidativo, ya que los AGL por medio de la oxidación beta y al ciclo de la acil-CoA producen EROs que en conjunto con los elevados niveles de LDL y VLDL que forman una placa de ateroma, inducen daño en la pared vascular induciendo la aparición de hipertensión (El Meouchy y col., 2022).

4.2.3. Hipertensión arterial y enfermedad cardiovascular

La hipertensión arterial (HTA) es definida como una constante presión arterial elevada, presentando una presión arterial sistólica (PAS) sobre 135 mm/Hg y una presión arterial diastólica sobre 85 mm/Hg (Stanciu y col., 2023).

Entre los factores de riesgo para el desarrollo de hipertensión arterial se consideran a la obesidad, esto por la relación de la adiposidad y la elevada presión en la sangre (Vekic y col., 2023). Al mismo tiempo la HTA es una de las principales causas de enfermedades de tipo cardiovascular, neurovascular y renal (Tinoco y col., 2022).

Los mecanismos patológicos propuestos entre la obesidad y la HTA son: la sobreactivación del sistema nervioso simpático, la estimulación del sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS), la alteración del tejido adiposo, resistencia a la

insulina, así como los cambios estructurales y funcionales en el riñón (El Meouchy y col., 2022; Shariq y Mckenzie, 2020).

4.2.3.1. Mecanismo fisiopatológico de hipertensión

También en las alteraciones del tejido adiposo generan la secreción de citocinas proinflamatorias y adipocinas vasoactivas (angiotensinógeno, angiotensina II, resistina) en conjunto con el aumento de la actividad plasmática de la renina (El Meouchy y col., 2022).

El exceso de tejido adiposo visceral puede ocasionar presión mecánica sobre los riñones, también puede inducir la inflamación que provoca la compresión de la medula renal por lo que el flujo sanguíneo disminuye prolongando el tiempo de reabsorción del sodio, por ello el sodio llevado a la macula densa estimula la reducción de la resistencia de la arteriola aferente que incrementa el flujo renal de la sangre y estimula la producción de renina. Para restablecer la reabsorción correcta de sodio, se aumenta la presión renal, y el flujo de filtración glomerular, sin embargo, ocasiona una progresiva esclerosis glomerular y daño en la función renal (El Meouchy y col., 2022).

La activación del sistema RAAS estimula la producción de angiotensina II, que produce la vasoconstricción sistémica y genera la formación de aldosterona en la corteza suprarrenal, en conjunto inducen el aumento de la reabsorción de sodio en el túbulo renal además de la retención de agua que conlleva a la expansión intravascular del volumen e HTA (Shariq y Mckenzie, 2020).

Por otra parte, la resistencia a la insulina y un estado hiperinsulinémico contribuyen con el desarrollo de HTA, debido a la relación de la insulina al incrementar

la activación del sistema nervioso simpático del musculo, también promueve la retención de sodio en el riñón por la activación del intercambiador de sodio-protón 3 (NHE3), además de incrementar el tono vasoconstrictor y de alteraciones en el endotelio (Shariq y Mckenzie, 2020).

4.2.4. Hiperglucemia y diabetes mellitus tipo 2

Entre los criterios de diagnóstico para el SMet se considera a la hiperglucemia (Castro-Quintanilla y col., 2023), caracterizada por la presencia de un nivel anormal elevado de glucosa, compuesta por dos etapas, la primera es la regulación alterada de la glucosa, la última corresponde a diabetes mellitus (ALAD, 2019).

La diabetes mellitus es definida como un desorden metabólico con la característica principal de presentar hiperglucemia, además de alteraciones en el metabolismo de hidratos de carbono, proteínas grasas, y en consecuencia se disminuye la secreción y acción de la insulina (ALAD, 2019).

El mecanismo fisiopatológico involucrado en el SMet para desarrollar DM2 a partir de la hiperglucemia, se describe a continuación:

4.2.4.1. Mecanismo fisiopatológico

El exceso de AGL en conjunto de la acumulación ectópica de grasa en diferentes órganos como músculo esquelético, hígado y páncreas, en el que el tejido adiposo presenta alteración en la secreción de citocinas y adipocinas que propician un estado proinflamatorio contribuyen a la aparición de la resistencia a la insulina (Fragozo-Ramos, 2022).

La insulina es una hormona peptídica secretada por las células beta pancreáticas, en respuesta al incremento del nivel de glucosa en sangre la cual tiene un efecto inhibitor de la lipólisis y la gluconeogénesis en el hígado (Fahed y col., 2022) mientras que facilita la entrada de glucosa al interior de los adipocitos, células musculares y hepáticas (Fahed y col., 2022; Freire y Jara, 2022)

En las condiciones anormales metabólicas presentes en el SMet, está la resistencia a la insulina (RI), caracterizada por la disminución de la acción de la insulina sobre sus células diana ante la respuesta normal a la glucosa, en consecuencia, se requiere de un aumento de la secreción de insulina (hiperinsulinemia) para compensar la baja actividad de la insulina (Freire y Jara, 2022).

La RI provoca alteraciones en la lipólisis de los AGL en los adipocitos, por lo que la circulación de los AGL incrementa, que al mismo tiempo los AGL exacerban la RI inhibiendo los efectos antilipolíticos de la insulina. Al mismo tiempo los AGL inhiben a la proteína cinasa del músculo esquelético que disminuye la captación de glucosa (Cruz-Campos, 2022).

También la RI participa en el desarrollo de la hipertensión a la disminución del efecto vasodilatador de la insulina que se suma al efecto de vasoconstricción que generan los AGL (Cruz-Campos, 2022).

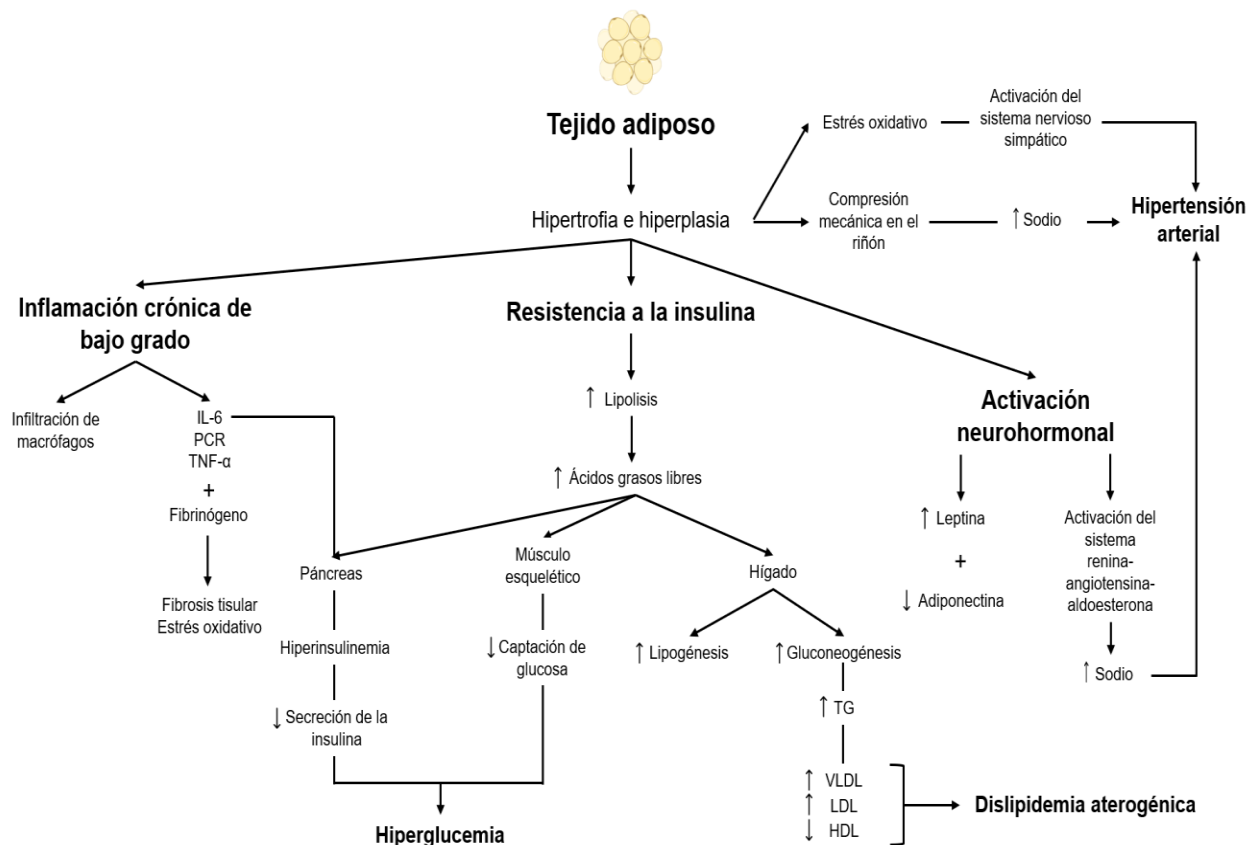


Figura 1. Mecanismo fisiopatológico del síndrome metabólico. El tejido adiposo (TA) en estado de hipertrofia e hiperplasia propicia a la inflamación crónica de bajo grado con: la infiltración de macrófagos, la producción de citocinas proinflamatorias (IL-6, TNF- α), PCR y fibrinógeno, que contribuyen al estrés oxidativo y fibrosis tisular. El TA con resistencia a la insulina conlleva al aumento de la lipólisis e incremento del nivel de ácidos grasos libres, en conjunto con la IL-6 en el páncreas inducen hiperinsulinemia, ocasionando disminución de la secreción de insulina favoreciendo la hiperglucemia. La RI disminuye la captación glucosa en músculo esquelético, e incrementa la lipogénesis, así como la gluconeogénesis en hígado, aumentando el nivel de TG, VLDL y LDL, sin embargo, el nivel de HDL disminuye, lo que conlleva al desarrollo de dislipemia aterogénica. El TA presenta alteración en la producción de

hormonas, aumentando leptina y disminuyendo adiponectina. El sistema renina-angiotensina-aldosterona es activado, incrementando sodio, asociado con el desarrollo de hipertensión arterial; la compresión del TA en riñón tiene también efecto hipertensor. El estrés oxidativo estimula sistema nervioso simpático, que contribuye con la aparición de hipertensión arterial. (Fahed y col., 2022; Shariq y Mckenzie, 2020).

4.2.4.2. *Glucocinasa*

La enzima glucocinasa (hexocinasa IV), posee 465 aminoácidos y tiene una masa molecular aproximada de 52 KDa (Ren y col., 2022). Es considerada, fundamental en la homeostasis de la glucosa, y en las células pancreáticas beta funciona como un sensor de glucosa para la secreción de insulina, mientras que la isoforma hepática facilita la síntesis de glucógeno por lo que promueve la disminución del nivel de glucosa postprandial en el torrente sanguíneo (Ashcroft y col., 2023; Ren y col., 2022; Toulis y col., 2020).

4.2.4.3. *Glucocinasa pancreática*

Está localizada en las células beta pancreáticas con la función de controlar la liberación de insulina con base a la concentración de glucosa; por lo que es llamada “receptor de la glucosa” (Ashcroft y col., 2023). Su mecanismo acción es el siguiente: La glucosa es transportada por GLUT2 hacia el interior de la célula beta pancreática, posteriormente, la enzima glucocinasa pancreática la fosforila a glucosa-6-fosfato (Ren y col., 2022).

La cual es metabolizada en la glucolisis, por lo que la concentración plasmática de ATP (trifosfato de adenosina) aumenta, mientras que el ADP (difosfato de adenosina) disminuye, los canales de potasio dependientes de ATP (canal K_{ATP}) se cierran, en consecuencia la membrana citoplasmática se despolariza, además los canales de calcio permiten el ingreso del calcio extracelular al interior de la célula y finalmente, finalmente, la insulina es secretada hacia el torrente sanguíneo (Ashcroft y col., 2023; Ren y col., 2022; Toulis y col., 2020) (Fig. 2).

Por lo que es considerada, una diana terapéutica de interés para el tratamiento de DM2; sin embargo, en la actualidad no existen fármacos en el mercado aprobados por FDA (Administración de alimentos y medicamentos) (Toulis y col., 2020) o recomendados por los lineamientos de la OMS en contra de esta enzima (OMS, 2020).

4.3. Manejo y control del síndrome metabólico

Para evitar el desarrollo de las complicaciones clínicas del SMet como la DM2 y la ECV, se recomienda primeramente realizar cambios en la dieta del paciente, así como el aumentar la actividad física diaria, si aún con lo anterior las alteraciones de los parámetros del SMet no son controlados, se sugiere el uso de terapia farmacológica en combinación con los cambios al estilo de vida previamente mencionados (Castro-Quintanilla y col., 2023; Fragozo-Ramos, 2022).

4.3.1. Dieta y ejercicio

El primer abordaje que se realiza en el síndrome metabólico corresponde a la modificación en la dieta del paciente, con el propósito de mejorar la sensibilidad de la insulina y/o prevenir las anomalías metabólicas y cardiovasculares con la disminución del consumo de hidratos de carbono y de lípidos (Cruz-Campos, 2022).

Además, se indica de un aumento en la actividad física a realizar para incrementar las pérdidas energéticas, mejorar la sensibilidad de la insulina y pérdida de peso además de disminuir la lipogénesis (Cruz-Campos, 2022; Fragozo-Ramos, 2022).

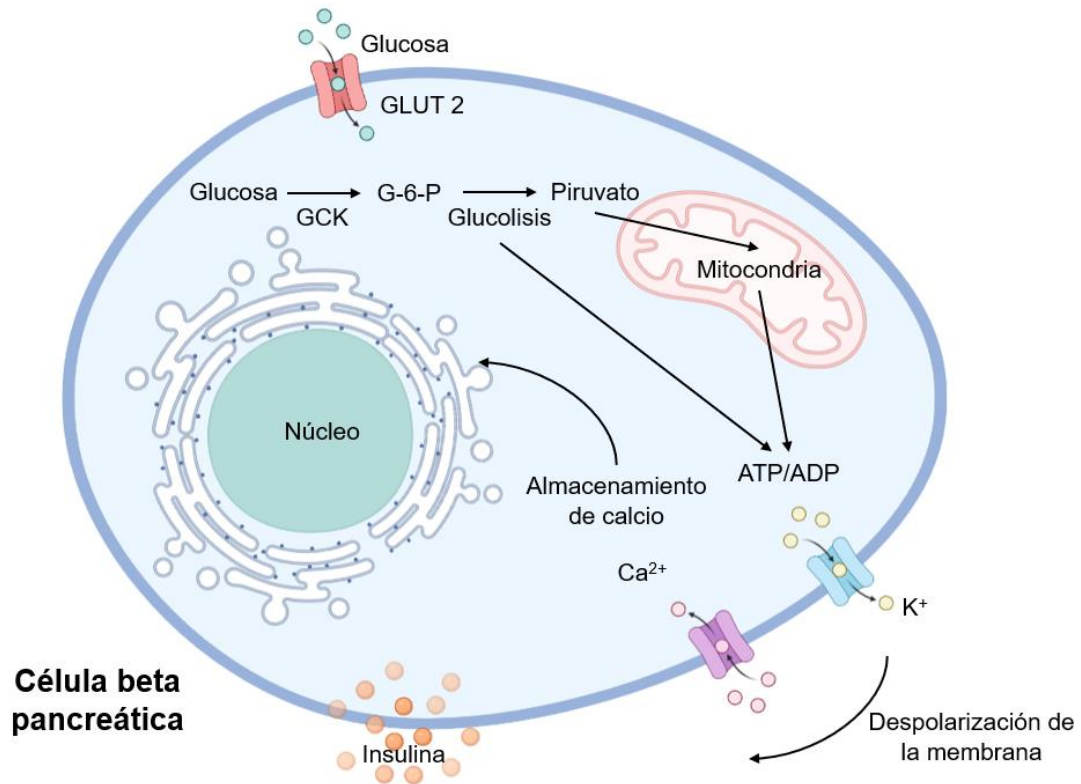


Figura 2. Mecanismo de acción de la glucocinasa pancreática. La glucosa es transportada al interior de la célula beta pancreática por medio de GLUT2, la cual es fosforilada por la glucocinasa pancreática. Lo que induce un incremento en la producción de piruvato, que aumenta el ATP y disminuye el ADP intracelulares, además los canales de potasio dependientes de ATP se cierran, provocando la despolarización de la membrana, y el flujo de Ca²⁺ extracelular hacia la célula, lo que da lugar a la producción y secreción de insulina (Ashcroft y col., 2023; Ren y col., 2022).

4.3.2. Manejo farmacológico

Para el control de los niveles de glucosa en sangre se emplean diferentes tipos de fármacos como los que inhiben a la dipeptidil peptidasa 4 (DPP-4), agonistas de los receptores de péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1), también otro fármaco empleado es metformina por su efecto hipoglucemiante (Fahed y col., 2022; Fragozo-Ramos, 2022) que pertenece al grupo de fármacos que sensibilizan la acción de la insulina (en hígado) y las tiazolidinedionas que sensibilizan en tejido periféricos (Zafar y col., 2018).

Para el control del componente lipídico se pueden emplear fármacos con el objetivo de inhibir la absorción, anorexígenos y en el caso de ser un tratamiento de carácter hipolipemiente están las estatinas y los inhibidores del PCSK9; en caso de requerir la disminución de los niveles de los triglicéridos se recomienda los fibratos (Fragozo-Ramos, 2022).

Finalmente, la opción farmacológica para reducir la presión arterial de primera línea es el inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (efecto antagonista del recepto de angiotensina II) (Fragozo-Ramos, 2022).

4.3.3. Desventajas del tratamiento farmacológico

Las reacciones adversas a los medicamentos (RAM) son efectos no deseados producidos por la administración de un medicamento que pueden impactar en la vida de los pacientes (Sendekie y col., 2023).

Entre los efectos adversos graves de la terapia farmacológica empleada en síndrome metabólico para controlar el criterio lipídico están: hepatotoxicidad,

rabdomiólisis, pancreatitis, miopatía, etc.; además entre los efectos adversos regulares pueden generar: cefalea, insomnio, náuseas y aumento en los niveles de ALT (alanina transferasa) y AST (aspartato transferasa) (epocrates, 2023a).

Los medicamentos administrados para el control de la hipertensión tienen múltiples efectos adversos en los que: falla renal, hepatotoxicidad, angioedema, pancreatitis constituyen a los de carácter grave, y se debe añadir que también presentan reacciones adversas regulares como: hipotensión, fatiga, cefalea, hipercalcemia entre otros (epocrates, 2023b).

Finalmente, el tratamiento empleado para el control de los niveles de hiperglucemia presenta como efectos adversos graves: acidosis láctica, anemia megaloblástica, hepatotoxicidad, trombocitopenia además de efectos adversos regulares como náusea, vómito e indigestión (epocrates, 2024).

Debido a lo mencionado con anterioridad, es importante el diseño, síntesis y desarrollo de nuevo fármacos, tomando como base moléculas a las que la adición de grupos funcionales les confiera actividades biológicas de interés.

4.4. Bencimidazolonas

Los compuestos heterocíclicos que contienen en su estructura átomos de azufre, oxígeno y nitrógeno, son de amplio uso en el desarrollo de agroquímicos, herbicidas, pigmentos, así como en la industria farmacéutica ya que presentan una amplia variedad de actividades biológicas (Ettahiri y col., 2019).

Las bencimidazolonas son compuestos químicos obtenidos por la fusión entre un anillo de imidazol con un anillo de benceno, los derivados han mostrado propiedades

biológicas como: antiinflamatoria, anticancerígena, antioxidante, antihistamínica, inhibidora, antipsicótica, antiperglucemiante, además el núcleo de bencimidazolona forma parte de la estructura de los fármacos pimozida, ozatomida, entre otros (Ettahiri y col., 2019).

4.4.1. Síntesis química de las bencimidazolonas

Se han reportado una amplia variedad de rutas de síntesis para obtener derivados de bencimidazolonas, entre ellas la propuesta por Beyer y colaboradores en 2011, en la que a partir de la *N*-arilación intramolecular de ureas obtuvieron bencimidazol-2-onas empleando KOH y DMSO (dimetilsulfóxido), bajo estas condiciones una gran variedad de grupos funcionales puede ser enlazados en condiciones de 40° C (Beyer y col., 2011).

Por su parte, Lukasik y colaboradores (2016) propusieron una ruta de síntesis de 1-arilbencimidazol-2-onas, en presencia de dióxido de carbono, DMF y temperatura de -65° C y posterior a temperatura ambiente, la cual es compatible con una gran variedad de sustituyentes (Łukasik y Wróbel, 2016).

Y la síntesis reportada por Wiriya y colaboradores en el año de 2022, utiliza PPh₃ (trifenilfosfina) y al I₂ en conjunto con condiciones de DCM, 0° C y posterior a ello NEt₃ (triethylamina), temperatura ambiente para obtener bencimidazol-2-onas monosustituidas (Wiriya y col., 2022).

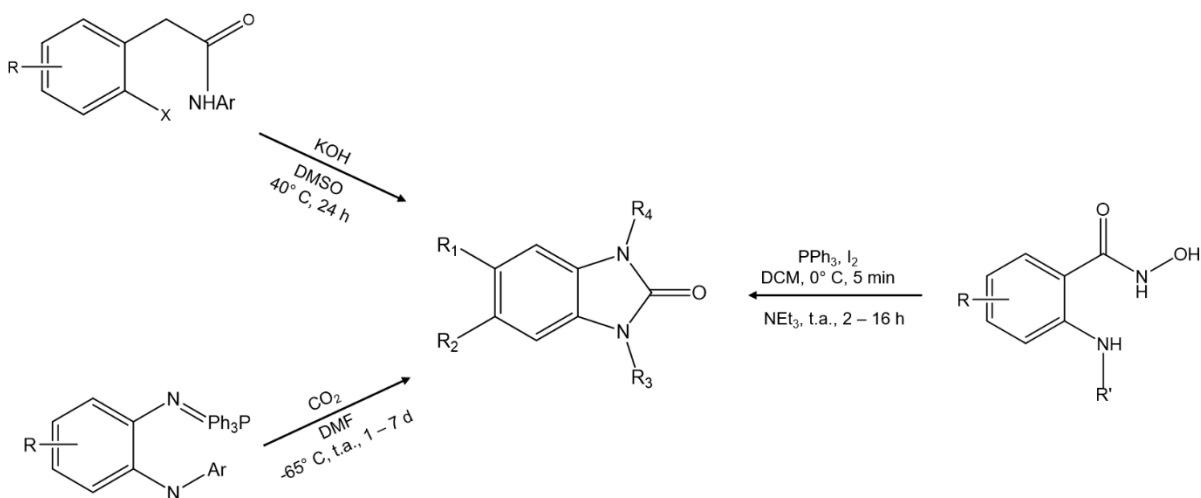


Figura 3. Ruta de síntesis de derivados de bencimidazonas Se muestran diferentes rutas para la síntesis de derivados de bencimidazonas en las que tienen diferentes condiciones de temperatura, tiempo, disolventes además de precursores químicos; KOH: Hidróxido de potasio; DMSO: Dimetilsulfóxido; CO₂: Dióxido de carbono; DMF: *N,N*-Dimetilformamida; PPh₃: Trifenilfosfina; DCM: Diclorometano; NEt₃: Trietilamina (Beyer y col., 2011; Łukasik & Wróbel, 2016b; Wiriya y col., 2022).

4.4.2. Actividades biológicas de las bencimidazolonas

4.4.2.1. Actividad antimicrobiana de las bencimidazolonas

Un grupo de derivado de bencimidazolonas arilsustituidas fueron diseñadas, evaluadas en una detección fenotípica contra el virus de inmunodeficiencia humana, el estudio reveló que ciertos derivados mostraron un potente efecto inhibitor contra la transcriptasa inversa del virus, por lo que se pueden considerar como potenciales fármacos antivirales (Pribut y col., 2019).

Otro trabajo realizado, consistió en el diseño, síntesis de un grupo de bencimidazolonas *N*-sustituidas para su evaluación *in silico* e *in vitro* para determinar el potencial efecto antimicrobiano contra cepas de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas auroginosa* en el que sus resultados presentaron un potencial efecto en contra de las cepas (Saber y col., 2020).

4.4.2.2. Actividad antioxidante de las bencimidazolonas

Por otra parte, en 2020 se realizó la evaluación *in vitro* para determinar el efecto antioxidante de dos derivados de bencimidazolonas, de los que mostraron una actividad inhibitoria de la enzima xantina oxidasa y dipeptil 4-peptidasa, por lo que se concluyó que las moléculas podrían tener un efecto antioxidante (Tomović y col., 2020).

4.4.2.3. Actividad antihipertensiva de las bencimidazolonas

Hasta el momento de la redacción del presente trabajo no se han encontrado reportes de la evaluación de las bencimidazolonas con un efecto antihipertensivo. Sin embargo, los bencimidazoles son una familia de moléculas que el núcleo de la

estructura química ha sido reportado como base en la estructura de agente antihipertensivos. En 2021 fue evaluado un conjunto de derivados de benzimidazoles en un modelo *in silico* e *in vivo*, entre las moléculas con sustituyente fluorfenil mostró una significativa disminución de la presión arterial en el modelo *in vivo* con una actividad antagonista al receptor I de angiotensina II, además de atribuirle una actividad antagónica en los canales tipo L de calcio, contribuyendo al mecanismo de vasodilatación (Iqbal y col., 2021).

4.4.2.4. Actividad antihiper glucemiante e hipoglucemiante de las bencimidazolonas

Respecto a la actividad hipoglucemiante, se evaluó de un grupo de bencimidazolonas disustituidas, de las cuales 3 moléculas presentaron una actividad hipoglucemiante *in vitro* mediante cultivo celular la cuantificación de la insulina secretada por las células (Ahmad y col., 2002).

En el año 2011, un equipo de trabajo diseñó, sintetizó derivados de bencimidazolonas para su evaluación en un modelo *in vivo* de DM2, en el que se determinó la actividad moduladora y la expresión génica del receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma (PPAR γ) empleando al fármaco de referencia rosiglitazona, concluyendo que uno de los derivados mostró una eficacia equivalente a rosiglitazona (Li y col., 2020).

4.5. Antecedentes de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona

4.5.1. Síntesis de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona

Entre los métodos de síntesis para el núcleo de bencimidazolona, se emplea de precursores al anhídrido ftálico, azida de trimetilsilano (TMSA) y como solvente al

tetrahidrofurano (THF), con el método de reflujo durante 30 horas, en el que posterior la solución se somete a condiciones de *in vacuo* hasta obtener un sólido (López y col., 2016).

Por otra parte, 4FMZ puede ser obtenido sintetizando el núcleo y su posterior alquilación, la primera etapa consiste en utilizar el del método de microondas (20 minutos), y de precursores al anhídrido isatóico y TMSA, además de *N,N*-Dimetilformamida (DMF) como disolvente. Y para la monosustitución del núcleo se utiliza calor convencional (24 horas) y DMF como disolvente, el núcleo fue alquilado con un bromuro de bencilo (Santos-Ballardo y col., 2023).

4.5.2. Evaluaciones *in silico* de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona

El derivado de bencimidazolona, con peso molecular de 296.26 g/mol se le realizaron estudios predictivos en las plataformas SwissADMET, PASS y ADMETlab y se obtuvieron los siguientes resultados: ΔG (kcal/mol) de -10.9 para la enzima de glucosidasa pancreática, también aprobó todos los criterios de Lipinski, por ello tendría una buena biodisponibilidad oral teórica con una probabilidad moderada de generar una actividad reguladora de los niveles de glucosa (Santos-Ballardo y col., 2023).

4.5.3. Evaluaciones *in vitro* de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona

La 4FMZ, también fue evaluada *in vitro* para determinar su potencial efecto en la activación de la glucocinasa pancreática, en el que la molécula de interés mostró un incremento de la actividad de la enzima de 2.86 veces en una concentración de 100 $\mu\text{g/mL}$ y de 3.74 veces a 200 $\mu\text{g/mL}$ respecto al control positivo de la prueba, por lo

que se considera un potencial candidato a fármaco hipoglucemiante (Santos-Ballardo y col., 2023).

La 4FMZ ha mostrado resultados positivos en estudios previos a nivel *in silico* e *in vitro*, mediante la diana terapéutica glucocinasa pancreática, por lo que pudiera ser una molécula con potencial efecto farmacológico en el tratamiento de las alteraciones de los parámetros del síndrome metabólico.

V. JUSTIFICACIÓN

El síndrome metabólico, caracterizado por presentar al menos tres alteraciones cardiometabólicas, se considera un problema de salud pública a nivel mundial mostrando una tendencia en aumento en la población adulta, se estima que su prevalencia en el mundo es del 20 al 40%, sin embargo, en México esta cifra asciende a más del 50% y en Culiacán ha sido reportado en un 54%. Además, el SMet está asociado en la progresión y desarrollo de diabetes mellitus tipo 2 y en la enfermedad cardiovascular; por lo que es importante el control de las alteraciones metabólicas para evitar el desarrollo de complicaciones clínicas, por medio de cambios en el estilo de vida y el apoyo de tratamiento farmacológico, no obstante, los medicamentos presenta efectos adversos, los que se pueden incrementar en pacientes con polifarmacia lo que disminuye la calidad de vida del paciente; por ello toma relevancia la búsqueda de nuevas dianas terapéuticas y el desarrollo de nuevos fármacos. En nuestro grupo de trabajo se han diseñado y sintetizado derivados de benzimidazolona, como la *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona, que ha demostrado tener resultados previos favorables en estudios *in silico* e *in vitro* con la enzima glucocinasa; por lo tanto, el presente proyecto contribuyó con la generación de conocimiento sobre el perfil farmacológico de un derivado de bencimidazolona en un modelo *in vivo* con alteración en los parámetros del síndrome metabólico.

VI. HIPÓTESIS

La administración de la *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona disminuye las alteraciones en los parámetros de síndrome metabólico en ratones C57BL/6N.

VII.OBJETIVOS

7.1. Objetivo general

Sintetizar y evaluar el efecto farmacológico de *N*-(4-trifluorometil)bencimidazolona sobre los parámetros del síndrome metabólico en ratones C57BL6/N.

7.2. Objetivos específicos

7.2.1. Objetivo 1. Diseñar y optimizar una ruta de síntesis de calor convencional para la obtención de *N*-(4-trifluorometil)bencimidazolona.

7.2.2. Objetivo 2. Cuantificar el perfil bioquímico de ratones C57BL6/6N sobre los parámetros de síndrome metabólico por la administración de *N*-(4-trifluorometil)bencimidazolona.

7.2.3. Objetivo 3. Determinar el efecto farmacológico de *N*-(4-trifluorometil)bencimidazolona sobre el índice de riesgo aterogénico, índice de Castelli I y el porcentaje de protección aterogénica en los ratones C57BL6/N que presentan alteraciones relacionadas con síndrome metabólico.

7.2.4. Objetivo 4. Evaluar el efecto farmacológico de *N*-(4-trifluorometil)bencimidazolona sobre la presión arterial en los ratones C57BL6/N que presentan alteraciones relacionadas con síndrome metabólico.

7.2.5. Objetivo 5. Estudiar el efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencimidazolona sobre los cambios histopatológicos en hígado y páncreas de ratones C57BL/6N que presentan alteraciones relacionadas con síndrome metabólico.

VIII. MATERIALES Y MÉTODOS

8.1. Lugar de trabajo

El proyecto fue desarrollado en el Laboratorio de Investigación en Farmacia, Farmacobiología y Toxicobiología en colaboración con el Laboratorio de Química de Productos Naturales y el laboratorio de Inmunogenética, los cuales forman parte de la Universidad Autónoma de Sinaloa (UAS). Se contó con la colaboración con del Laboratorio de Investigación 2 además del Laboratorio de Patología, ambos pertenecientes a la UAS; también con el Centro de Investigación de Alimentos y Desarrollo (CIAD) unidad regional Culiacán y el Centro de Graduados e Investigación en Química del Instituto Tecnológico de Tijuana.

8.2. Tipo de estudio y diseño experimental

El estudio realizado tuvo como característica el ser descriptivo, comparativo, experimental, longitudinal, así como cuantitativo y cualitativo.

Para la primera etapa del proyecto, se realizó la estandarización de la ruta de síntesis para *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona con técnicas de reflujo y calor convencional y su caracterización con técnicas analíticas como: espectroscopia de infrarrojo, cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear de H^1 y C^{13} .

La segunda etapa se desarrolló un modelo *in vivo* de dieta alta en grasa al 40% en ratones macho C57BL6/N durante 16 semanas, con la finalidad de inducir alteraciones en los parámetros de síndrome metabólico y evaluar farmacológicamente *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona (4FMZ), además cuantificar el perfil

bioquímico (glucosa y perfil de lípidos), determinar el índice de riesgo aterogénico así como el índice de protección aterogénico de 4FMZ, medir la presión arterial, y evaluar los cambios fisiopatológicos de hígado y páncreas.

8.3. Reactivos

Para la síntesis y purificación de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona se utilizaron los siguientes reactivos y disolventes: *N,N*-Dimetilformamida (DMF), Azida de trimetilsilano (TMSA), anhídrido isatóico, éter dietílico anhidro; núcleo de bencimidazolona, *N,N*-Diisopropiletilamina (DIPEA), bromuro 4-(trifluorometil)bencilo de la marca de la marca Sigma-Aldrich de grado reactivo (ACS), tetrahidrofurano (THF), acetato de etilo, diclorometano (DCM), grado ACS marca CTR Scientific. Para la purificación por cromatografía en columna se usó como fase móvil a los disolventes: acetato de etilo y hexano ACS (CTR Scientific), como fase estacionara a gel de sílice 60, 230-400 mesh de Sigma-Aldrich. La cromatografía de capa fina utilizó placas de gel de sílice 60 sobre soporte de aluminio con indicador F254.

Para el análisis del perfil bioquímico de los ratones C57BL6/N se utilizaron los kits HDL Cholesterol fast, TG Color CPO/PAP AA y Colestat enzimático AA todos de la marca Wiener Lab. Finalmente, para el análisis histopatológico de tejido pancreático y hepático se utilizaron: solución de formaldehído (J. T. Baker) al 10%, parafina (Leica Paraplast), alcohol al 96% (CTR Scientific), agua destilada, solución de hematoxilina de Mayer, tinción eosina-floxina, alcohol al 100% (CTR Scientific).

8.4. Técnicas analíticas para la confirmación de la síntesis

Las estructuras moleculares del núcleo de bencimidazolona y de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona fueron confirmadas a través de técnicas analíticas espectroscópicas y espectrométricas. Los espectros de resonancia magnética nuclear (NMR) de H^1 y C^{13} se obtuvieron en un espectrofotómetro Bruker Avance III de 400 MHz (Bruker, Alemania). La detección de los pesos moleculares se realizó empleando un cromatógrafo de gases masas Varían Titan 4000 (CG-EM) (Varían, EE.UU.). El análisis de grupos funcionales fue realizado en un espectrofotómetro de Infrarrojo Agilent Excalibur acondicionado con un aditamento ATR (Agilent Technologies, EE.UU.). Los puntos de fusión fueron determinados en el equipo USA Fisher-Johns melting point 220 VAC, (Thermo Fisher, EE.UU.). Además, se realizó la cromatografía en capa fina para el monitoreo de la estandarización de la ruta de síntesis de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona y la identificación inicial de los compuestos sintetizados; utilizando placas de gel de sílice 60 sobre soporte de aluminio con indicador F254 con hexano y acetato de etilo como fase móvil. Las placas se revelaron en luz ultravioleta de 254 nm y 365 nm para su posterior análisis visual (Marin-González, 2024).

8.5. Ruta de síntesis de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona

La síntesis del núcleo de bencimidazolona (**1**), se llevó a cabo utilizando una solución de anhídrido ftálico (1.0 mM, 1 eq.) en 30 mL THF provisto con agitación donde se agregó gota a gota TMSA (4.0 mM, 4 eq.), la cual se mantuvo a temperatura de reflujo del solvente durante 30 horas. Posterior a ello, se eliminó el solvente a

presión reducida hasta la formación de un sólido blanco, al que se le realizó lavados con éter dietílico (5x25 mL) (López y col., 2016) (Fig. 4).

1,3-dihidro-2H-benzo[d]imidazol-2-ona (1). Sólido blanco. Rendimiento 95 %. P.F. 364–365 °C; FTIR-ATR, cm^{-1} : 3352, 3007, 1707, 1631 cm^{-1} , 1482, 1196 cm^{-1} . RMN ^1H (400 MHz, DMSO) δ 10.55 (s, 2H), 6.92 (s, 4H). RMN ^{13}C (101 MHz, DMSO) δ 155.7, 130.2, 120.9, 108.9. GC-MS (H^+) m/z : 135 u.

La segunda etapa de síntesis fue la obtención de la *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona, donde se utilizó el núcleo de la bencimidazolona (1) (1.0 mM, 1 eq.) disuelto en 30 mL de DMF a temperatura ambiente, donde gota a gota se le añadió DIPEA (3.5 mM, 3.5 eq.) dejando reaccionar durante 5 min. Pasado dicho tiempo, se agregó gota a gota 1-(bromometil)-4-(trifluorometil)benceno durante 24 horas a 70° C. Posterior a ello, se agregó acetato de etilo (15 mL), y se realizaron dos lavados con agua fría (15 mL). La fase orgánica se secó con NaSO_4 y se eliminó el solvente a presión reducida hasta obtener un aceite amarillo. Por último, se purificó con cromatografía de columna empleando de fase móvil hexano/acetato (7:3 v/v) para obtener un sólido amarillo (Santos-Ballardo y col., 2023) (Fig. 4).

1-(4-(trifluorometil)bencil)-1,3-dihidro-2H-benzo[d]imidazol-2-ona. Sólido amarillo. Rendimiento 30 %. P.F. 185–188 °C; FTIR-ATR cm^{-1} : 3376, 1695, 1619, 1486, 1321, 1128. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3 -*d*) δ 10.29 (s, 1H), 7.58 (d, $J = 8.2$ Hz, 2H), 7.43 (d, $J = 8.1$ Hz, 2H), 7.13 (d, $J = 7.4$ Hz, 1H), 7.11 – 7.02 (m, 1H), 7.06 – 6.97 (m, 1H), 6.83 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 5.15 (s, 3H). RMN ^{13}C (101 MHz, CDCl_3 -*d*). δ 155.82, 140.22, 130.1 (q, $J = 32.0$ Hz)129.87, 128.08, 127.54, 126.6, (q, $J = 270.0$ Hz)125.8 (q, $J = 3.7$ Hz) 122.09, 121.58, 109.95, 108.26, 44.05. GC-MS (H^+) m/z : 293.2 u.

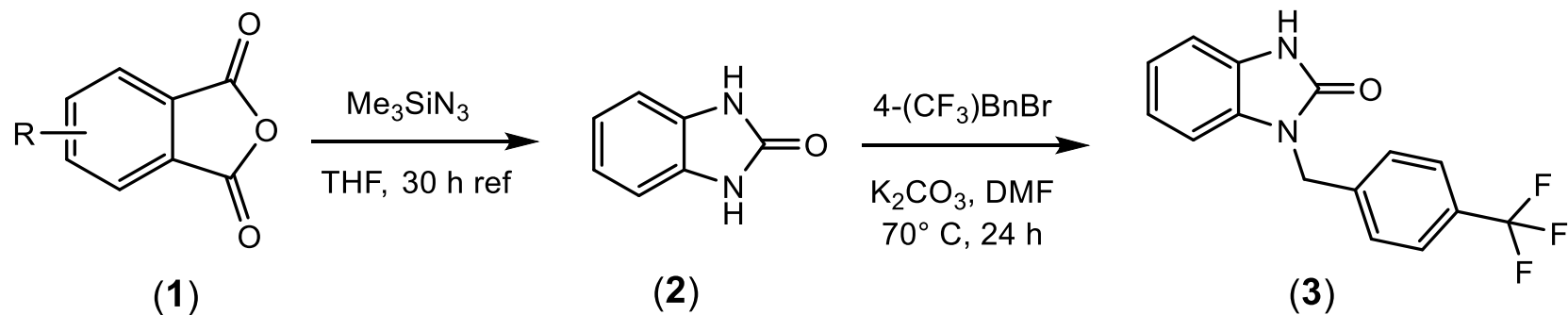


Figura 4. Ruta de síntesis de *N*-(4-trifluorometil)benzylbencimidazolona. Es un proceso de dos etapas: 1) el anhídrido ftálico (1) reacciona con Me_3SiN_3 en condiciones de reflujo para obtener el núcleo de bencimidazolona (2). Etapa 2) reacciona (2) con $4\text{-(CF}_3\text{)BnBr}$ y K_2CO_3 en calor convencional para obtener 4FMZ (3); Me_3SiN : Azida de trimetilsilano; THF: Tetrahidrofurano; ref: Reflujo; $4\text{-(CF}_3\text{)BnBr}$: 1-(bromometil)-4-(trifluorometil)benceno; K_2CO_3 : Carbonato de potasio; DMF: *N,N*-Dimetilformamida.

8.6. Animales de experimentación

Se utilizó un total de 12 ratones macho de la cepa C57BL6/N, comprados al distribuidor Circulo ADN S.A. de C.V.; con edad de 4 semanas y peso inicial de 19.25 ± 1.52 ; que fueron mantenidos en jaulas de policarbonato con alimento LabDiet 5001 el grupo dieta estándar (ver anexo 1), los grupos control y tratamiento con dieta alta en grasa al 40% y agua *ad libitum*. En un ambiente controlado con periodos de luz-oscuridad de 12 horas cada uno y temperatura de $23 \pm 2^\circ \text{C}$.

8.6.1. Consideraciones bioéticas

El proyecto se sometió ante la evaluación del Comité Científico y Ético de Investigación de la Facultad de la Nutrición y Gastronomía, además siguió los lineamientos establecidos en la Norma Oficial Mexicana para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio (NOM-062-ZOO-1999).

8.7. Inducción de alteraciones en los parámetros del síndrome metabólico mediante dieta alta en grasa

Se utilizaron 12 ratones de la cepa C57BL/6N machos, de 4 semanas de edad para un modelo de dieta alta en grasa al 40%, posterior a la aclimatación (7 días) se distribuyeron en 3 grupos con una $n=4$ en cada uno y se colocaron en jaulas de policarbonato.

Los tres grupos experimentales fueron: DE (control sano) que fue alimentado con Labdiet 5001, mientras que el grupo DAG (control de alteraciones del SMet) y el grupo 3F (tratamiento) consumieron dieta alta en grasa al 40%, los tres grupos tuvieron el alimento y agua *ad libitum*. Adicionalmente, al grupo 3F se le administró una vez al día

por vía oral desde la semana 10 hasta la semana 16, una dosis de 100 mg·kg⁻¹ (vehículo fue polietilenglicol 15% + agua estéril).

8.8. Cálculo de la masa corporal

Para la medición de la masa corporal se determinó una vez por semana a partir de la cuarta semana del modelo *in vivo* utilizando la báscula Rhino®BAPRE-3 y se tomó registro del resultado mostrado por ratón, con los datos obtenidos se calculó la masa corporal promedio por grupo experimental, que fue expresada en gramos (g) (Plazas Guerrero y col., 2021).

8.8.1. Determinación del tejido adiposo abdominal

Para determinar el porcentaje del tejido adiposo posterior al sacrificio de los ratones, se realizó la extracción del tejido adiposo (cavidad torácico-abdominal) y se pesó con la balanza Bapre-3, Rhino y fue registrado. Posterior a ello, se calculó con base a la siguiente fórmula (Acosta-Cota, 2019):

$$\% \text{ en peso del tejido adiposo} = \left(\frac{\text{g de tejido}}{\text{g de masa corporal}} \right) \times 100$$

8.9. Medición de glucosa en sangre periférica

Se realizó medición de glucosa en sangre periférica una vez a la semana a partir de la semana 4 del modelo para la inducción de alteraciones en los parámetros de síndrome metabólico. Siguiendo la metodología reportada por García-Rocha y colaboradores en 2023 con modificaciones, todos los grupos experimentales se sometían a un ayuno de 6 horas, posterior a ello se realizó una punción en la cola del ratón, y con un glucómetro Accu-Check® Instant se midió el nivel de glucosa, el resultado se expresó como mg·dL⁻¹ (García-Rocha y col., 2023).

8.10. Medición de la presión arterial

Para medir la presión arterial sistólica (PAS), presión arterial diastólica (PAD) y obtener la media de la presión, con la técnica no invasiva de brazalete en la cola por medio de un equipo CODA® High Throughput System Kent Scientific. Se utilizó la metodología reportada por Delle y colaboradores en 2023 con modificaciones, para ello los ratones tuvieron 3 semanas de entrenamiento previos a la medición para obtener los resultados (Delle y col., 2023).

Se colocó el brazalete de oclusión cerca de la base de la cola del ratón y el brazalete VPR. Se realizaron 15 mediciones por ratón, aquellas mediciones que fluctuaban fueron descartadas. Los valores obtenidos se expresaron en mm/Hg (Delle y col., 2023).

8.11. Cuantificación del perfil de lípidos

8.11.1. Medición de los niveles séricos de triglicéridos (TG)

Los niveles séricos se cuantificaron siguiendo la metodología reportada por el fabricante, mediante el método enzimático colorimétrico (GOD-PAP) en el que se utilizó un kit comercial (TG Color) de la marca Wiener Lab siguiendo las instrucciones del fabricante. En este método, los TG presentes en la muestra se hidrolizaron por la enzima lipoproteinasas por lo que se liberó glicerol y ácidos grasos. El glicerol se fosforiló por la acción de la enzima glicerol cinasa, posterior a ello, el glicerol-1-fosfato se oxidó a dihidroxiacetona fosfato por la enzima glicerol fosfato oxidasa, que además produjo peróxido de hidrógeno. Posteriormente, el peróxido de hidrógeno reaccionó con 4-aminoantipirina y clorofenol y produjo a través de la enzima peroxidasa, un

compuesto coloreado nombrado quinoeimina. Se considera la cantidad de quinoeimina proporcional a la concentración de TG en la muestra. Las pruebas se realizaron por duplicado y las absorbancias se midieron en un espectrofotómetro modelo MICROLAB 300 (ELITechGroup) en una longitud de onda de 505 nm. Los resultados se expresaron como $\text{mg}\cdot\text{dL}^{-1}$.

8.11.2. Medición de los niveles séricos de Colesterol total (CT)

Los niveles séricos de CT se cuantificaron por medio un método enzimático colorimétrico empleando el kit comercial Colestat enzimatico AA marca Wiener lab, siguiendo las instrucciones del fabricante. Posterior a la hidrolisis enzimática de los esteres de colesterol por acción de la enzima colesterol esterasa, produciendo ácidos grasos y colesterol, este último se oxidó al ser catalizado por colesterol oxidasa, finalmente el peróxido de hidrogeno que se formó, reaccionó con el fenol y la 4-aminoantipirina, en presencia de peroxidasa formó quinoneimina roja. Las pruebas se realizaron por duplicado y las absorbancias obtenidas se midieron con un espectrofotómetro MICROLAB 300 de la marca ELITechGroup, a una longitud de onda de 505 nm. Los resultados se reportaron como $\text{mg}\cdot\text{dL}^{-1}$.

8.11.3. Medición de los niveles séricos de HDL-c

La cuantificación de los niveles séricos de HDL-c se determinaron con el método colorimétrico homogéneo con el kit HDL Cholesterol fast de la marca Wiener siguiendo las instrucciones del fabricante. Las lipoproteínas LDL, VLDL y las fracciones de quilomicrones por la acción de las enzimas colesterol oxidasa y catalasa, generaron productos incoloros de LDL, VLDL y quilomicrones, posterior a ello, un agente específico detuvo la acción de catalasa y un detergente solubilizo al HDL, por lo que

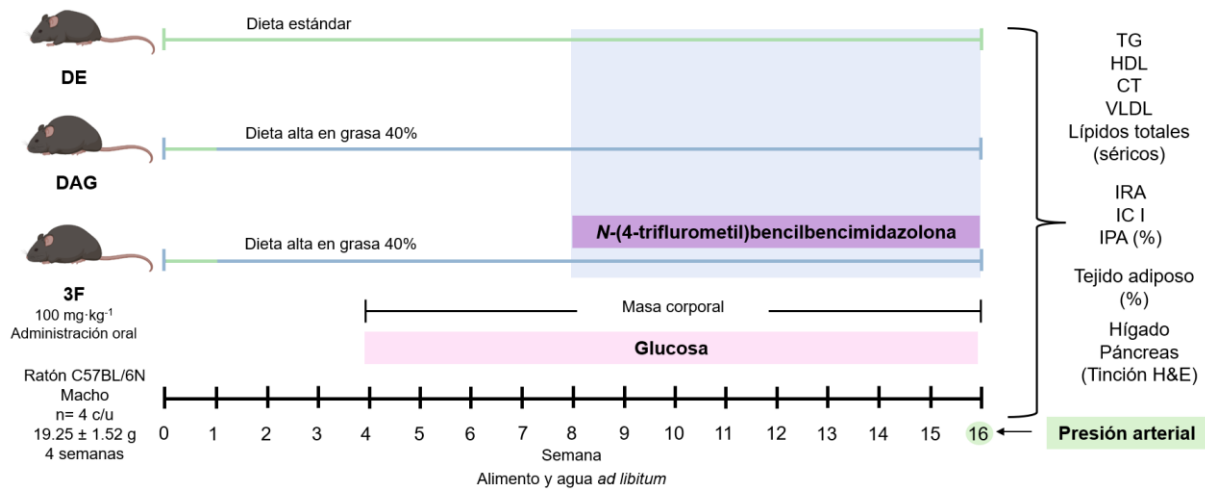


Figura 5. Modelo de inducción de alteraciones en los parámetros del síndrome metabólico. 12 ratones macho C57BL/6N (peso inicial = 19.25 ± 1.52 g y 4 semanas de edad) se distribuyeron en 3 grupos: DE (control sano) alimentado con dieta estándar, DAG (control de las alteraciones del SMet) alimentado con dieta alta en grasa al 40% y 3F (tratamiento) alimentado con dieta alta en grasa 40% con administración de 4FMZ por vía oral 100 mg·kg⁻¹ en una dosis diaria desde la semana 10. Se monitoreo la masa corporal y glucosa en sangre periférica una vez por semana. En la semana 16 se midió la presión arterial (PAS, PAD y media). Se obtuvo posterior al sacrificio, muestras sanguíneas para cuantificar el perfil lipídico (TG, HDL-c, CT, VLDL y lípidos totales) y se determinó el índice de riesgo aterogénico (IRA), Índice de Castelli I (IC I) de todos los grupos experimentales y el índice de protección aterogénica del grupo 3F. Se determinó el porcentaje del peso de tejido adiposo y se realizó las tinciones de hematoxilina & eosina al tejido hepático y pancreático.

reaccionó con colesterol esterasa y colesterol oxidasa, y es liberado colesterol-4-en-3-ona y peróxido de hidrógeno.

El peróxido de hidrogeno reaccionó *N*-etil-*N*-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-toluidina disódica y 4-amino antipirina, lo que provoca un desarrollo de color. Las pruebas se realizaron por duplicado y las absorbancias se midieron en el espectrofotómetro MICROLAB 300 (ELITechGroup) a una longitud de onda de 540-600 nm. Los resultados se expresaron en mg·dL⁻¹.

8.12. Cálculo del índice de riesgo aterogénico y el índice de Castelli I

Se calculó el índice de riesgo aterogénico (IRA), el índice de Castelli I (Oršolić y col., 2019) además del índice de protección aterogénica de 4FMZ (Heredia, 2023), utilizando los resultados del perfil de lípidos (triglicéridos, HDL-c, colesterol total) de cada grupo experimental.

8.13. Índice de riesgo aterogénico

Se calculó utilizando los resultados del colesterol total además del HDL-c de los tres grupos experimentales, a los que se les aplicó la siguiente formula:

$$IRA = \frac{CT - HDLc}{HDLc}$$

Donde: CT es colesterol total, HDLc es colesterol de lipoproteína de alta densidad (Oršolić, Jurčević, y coll., 2019).

8.14. Índice de riesgo de Castelli I (IRC I)

Se calculó empleando los resultados de colesterol total y el HDLc de los niveles séricos mostrados por los tres grupos experimentales, utilizando la formula:

$$IRC I = \frac{CT}{HDLc}$$

Donde: CT es colesterol total, HDLc es colesterol de lipoproteína de alta densidad (Oršolić, Jurčević, y col., 2019).

8.15. Cálculo del índice de protección aterogénica

El porcentaje de protección aterogénica del grupo tratamiento, se determinó utilizando el IRA del grupo control con alteración en los parámetros del síndrome metabólico y el IRA del grupo tratamiento en la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de protección} = \frac{IRA \text{ control } SMet - IRA \text{ tratamiento}}{IRA \text{ control } SMet}$$

Donde, AC control SMet corresponde al grupo DAG, y el AC tratamiento es el del grupo 4FMZ (Heredia, 2023).

8.16. Procesamiento histológico y tinción de hematoxilina y eosina de hígado y páncreas

El hígado y páncreas se obtuvieron posterior al sacrificio, se almacenaron en formalina al 10% en tubos Eppendorf de 15 mL en condiciones de oscuridad y temperatura $23 \pm 2^\circ \text{C}$, después las muestras se prepararon por medio de fijación e inclusión siguiendo los lineamientos del manual de métodos histotecnológicos del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América. Primeramente, se realizaron cortes longitudinales en un casete de fijación para parafina, posterior a ello, las muestras se deshidrataron y aclararon siendo sumergidas las muestras en alcohol absoluto durante 14 horas, posterior se sumergieron en xilol absoluto por 2 horas y al finalizar en parafina a 65°C (AFIP, 1992).

Los casetes de fijación para parafina después del proceso de deshidratación/aclaramiento, se colocaron en el incluidor de tejidos Leica® EG1150H; en el que se adicionó parafina (Leica® Paraplast) en estado líquido hasta que se cubrió el exterior e interior del casete en su totalidad. Al finalizar el proceso de inclusión en parafina, en una placa fría Leica® EG1150 C a 4° C el casete fue solidificado, posterior a ello se retiró del bloque de parafina del interior del casete, se realizó un corte de 3 micras empleando un microtomo Leica® RM 2145, a continuación, las tiras de las muestras fueron colocadas en un baño de flotación Leica® HI1210 con agua destilada para su extensión (Acosta-Cota, 2019).

Se recolectaron las muestras en portaobjetos, para eliminar el exceso de parafina se llevaron a un horno BINDER® a 60° C, después de llevar a cabo el proceso de desparafinado se procedió con la tinción de hematoxilina y eosina (H&E) (Acosta-Cota, 2019).

8.16.1. Tinción de muestras con tinción de hematoxilina y eosina

Para la tinción con hematoxilina y eosina, se siguió la metodología reportada en el manual de métodos histotecnológicos del Instituto de Patología de las Fuerzas Armadas de los Estados Unidos de América. La muestra primeramente fue desparafinada, posteriormente se hidrató por medio de baños en soluciones de xileno, alcohol absoluto (96%) y agua destilada. Se realizó la tinción de hematoxilina de Mayer [50 g de alumbre de potasio, 1 g cristales de hematoxilina, 0.2 g yodato de sodio, 1 g de ácido cítrico, 50 g hidrato de cloral, 1000 mL de agua destilada durante 8 minutos. Lo siguiente a realizar fue lavar la muestra con agua corriente por un 1 minuto, posteriormente, con agua destilada y para finalizar se sumergió en etanol (80%) en

presencia de la solución de eosina-floxina (1 g floxina B, 100 mL agua destilada; 780 mL etanol al 96%, 4 mL ácido acético glacial) durante 2 minutos (AFIP, 1992). Después se contrastó en la solución de eosina-floxina, además se deshidrató y aclaró por medio de dos cambios de 2 minutos cada uno en etanol al 96%, etanol absoluto y Xileno (AFIP, 1992), para finalizar se montó en un medio resinoso para observar las muestras con la utilización del microscopio ZEISS Primo Star LED (Acosta-Cota, 2019).

8.16.2. Análisis histopatológico de muestras de hígado y páncreas

El análisis histológico se realizó por duplicado de al menos 40 campos a 10X y 40X, acorde a lo reportado por Plazas-Guerrero y colaboradores en 2021 y Quiñonez-Bastidas, y colaboradores en 2022 con algunas modificaciones. Los resultados se presentaron como imágenes representativas a 10X y 40X, indicando los cambios histopatológicos más importantes que sean presentados por la mayoría de los individuos de los grupos experimentales (Plazas Guerrero y col., 2021; Quiñonez-Bastidas y col., 2022).

8.17. Análisis estadístico

Con los datos recabado del modelo *in vivo* de medición de glucosa, cuantificación del perfil lipídico y medición de la presión arterial (PAS, PAD y media), índice de riesgo aterogénico e índice de Castelli I, se creó una base de datos en Microsoft Excel versión 21, la cual se exportó a GraphPad versión 8 en el que se realizó una prueba de normalidad Shapiro-Wilks o Kolomorov-Smirnov determinado por el número de datos empleado. Además, la base de datos se exportó a RStudio versión 4.2.2 y se realizó una prueba de Levene para determinar la igualdad de varianza entre grupos. Los

valores analizados se reportaron con la media \pm desviación estándar y en los análisis estadísticos se tomó como significancia estadística a $p < 0.5$.

Los resultados fueron analizados en GraphPad versión 8, para la glucosa y el perfil de lípidos, índice de riesgo aterogénico e índice de Castelli I, se realizó el análisis de varianzas de una vía (ANOVA); por otra parte, los resultados de la presión arterial (PAS, PAD y media) y el porcentaje de tejido adiposo se analizó con Kruskal-Wallis. Para todos los casos, se empleó como prueba pos hoc de Tuckey y se tomó como significancia estadística una $p < 0.5$.

IX. RESULTADOS

9.1. Síntesis de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona

Para llegar a obtener 4FMZ, se estandarizó una ruta de síntesis, optimizando condiciones de reacción tales como: precursor, disolvente, tipo de base y temperatura. El camino a la obtención de 4FMZ, consistió en dos etapas; 1) síntesis de 1,3-dihidro-2*H*-benzoimidazol-2-ona (**2**) y 2) síntesis de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazol-2-ona (**3**) (fig. 6).

Basados en los estudios previos de nuestro grupo de trabajo, se realizó la primera etapa, mediante síntesis convencional a temperatura de reflujo del solvente, como primer cambio significativo se realizó la modificación del reactivo precursor de anhídrido ftálico por anhídrido isatóico con ello se aumentó el tiempo de reacción de 30 horas a 72 horas. Otro cambio significativo, fue el disolvente empleado tetrahidrofurano (THF) por *N,N*-Dimetilformamida (DMF), con el propósito de aumentar la solubilidad del precursor. A su vez, la azida de trimetilsilano (TMSA) se mantuvo con un exceso de 4.0 eq. con respecto al anhídrido. Posterior a la finalización de la reacción, en condiciones *in vacuo* la solución se precipitó y purificó al realizar lavados con éter dietílico anhidro (2x25 mL) (Cuadro 1).

En la segunda etapa de reacción, se obtuvo la *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona, a partir de la mono *N*-alquilación de 1,3-dihidro-2*H*-benzoimidazol-2-ona con 1-(bromometil)-4-(trifluorometil)benceno. Como primer parámetro a evaluar, se inició con la selección del disolvente comenzando con THF, no obstante, este no logró disolver el precursor, manteniendo el uso DMF hasta un

volumen adecuado hasta su solubilidad total, cantidad mayor respecto a la síntesis previa reportada.

Como segundo parámetro, se evaluó el efecto de bases inorgánica y orgánicas sobre la reacción, iniciando con la base inorgánica carbonato de potasio (K_2CO_3) como se había reportado previamente, sin embargo, se favorece la obtención del producto disustituido sobre el monosustituido compuesto de interés en el proyecto (4FMZ). Optando así, por evaluar bases orgánicas menos fuertes como: trietilamina (TEA) y *N,N*-Diisopropiletilamina (DIPEA), donde el uso de TEA no generó la molécula de interés mientras DIPEA si fue capaz de generar a 4FMZ, esto debido a que TEA no es una base tan fuerte que logrará desprotonar efectivamente al hidrógeno unido al nitrógeno del bencimidazolona (Cuadro 2).

La optimización que correspondió al precursor bromuro 4-(trifluorometil)bencilo, fue la disminución de equivalentes respecto al esquema previo de 1 eq a 0.8 eq. La última modificación realizada en el esquema de síntesis fue un incremento en la temperatura de 70° a 80° C, en el que se mantuvo el tiempo de reacción a 24 horas (Cuadro 2).

Finalmente, se purificó por medio de cromatografía en columna, con gel de sílice como fase estacionaria, en la fase móvil se emplearon al hexano y acetato de etilo (6:4).

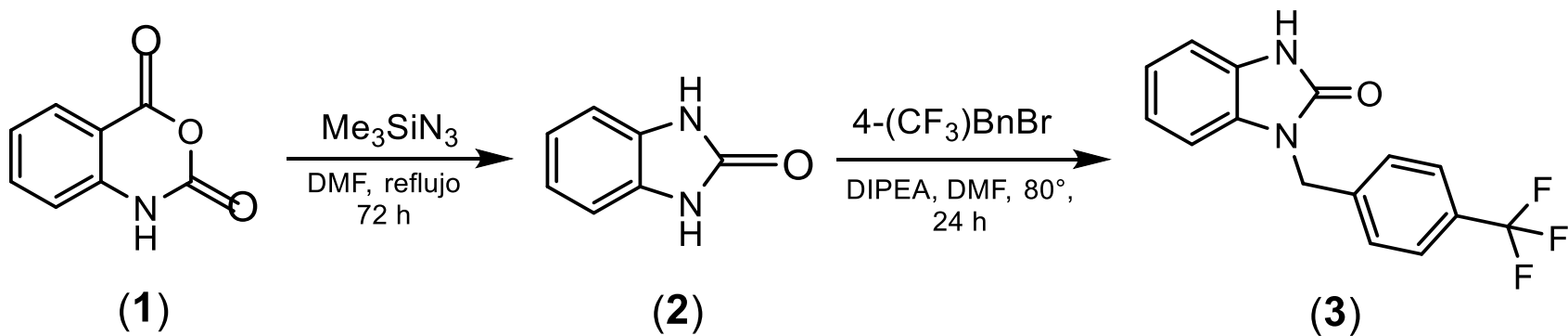


Figura 6. Esquema de síntesis de *N*-(4-trifluorometil)benzilbencimidazolona. Se muestran las dos etapas de síntesis, así como las condiciones establecidas para cada una de estas; etapa 1): Obtención del núcleo de bencimidazolona (2) por medio de reflujo y en la etapa 2): Se sintetiza 4FMZ en condiciones de calor convencional; Me_3SiN_3 : Azida de trimetilsilano; DMF: *N,N*-Dimetilformamida; DIPEA: *N,N*-Diisopropiletilamina; 4-(CF_3)BnBr: 1-(bromometil)-4-(trifluorometil)benceno.

Cuadro 1. Modificaciones en las condiciones de la ruta de síntesis de 1,3-dihidro-2H-benzoimidazol-2-ona

Condiciones iniciales		Condiciones finales	
Método de reflujo	30 h	Método de reflujo	72 h
Anhídrido ftálico	3.5 eq	Anhídrido isatoíco	1 eq
TMSA	4 eq	TMSA	4 eq
THF		DMF	25 mL
Éter dietílico anhidro	4x5 mL	Éter dietílico anhidro	2x25 mL

Me₃SiN₃: Azida de trimetilsilano; THF: Tetrahidrofurano; DMF: *N,N*-Dimetilformamida.

Cuadro 2. Modificaciones en las condiciones de la ruta de síntesis de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona

Condiciones iniciales		Condiciones finales	
Método de calor convencional	70° C	Método de calor convencional	80° C
4-(CF ₃)BnBr	1 EQ	4-(CF ₃)BnBr	0.8 EQ
K ₂ CO ₃	1 EQ	DIPEA	1.5 EQ
DMF	5 mL	DMF	35 mL

4-(CF₃)BnBr: 1-(bromometil)-4-(trifluorometil)benceno; K₂CO₃: Carbonato de potasio; DMF: *N,N*-Dimetilformamida; DIPEA: *N,N*-Diisopropiletilamina.

9.2. Confirmación de la estructuras del núcleo de bencimidazolona y *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona

La confirmación estructural del núcleo de bencimidazolona se realizó a través de las técnicas espectroscópicas FTIR-ATR y RMN. El espectro de infrarrojo determinó las vibraciones de los principales grupos funcionales pertenecientes a la molécula, señales observadas en cm^{-1} , donde en 3402 la vibración de estiramiento N-H, en 3191 el estiramiento C=C-H, en 1603 cm^{-1} el estiramiento C=O, en 1510 la vibración del enlace C-N, en 1406 cm^{-1} la vibración C=C y por último en 1027 la señal de estiramiento C-O (Fig. 7).

El espectro de RMN- H^1 para **2** mostró a 10.55 ppm un singulete que integra para los dos hidrógenos unidos a los nitrógenos presentes en el anillo de imidazol, además de un singulete 6.92 ppm que muestra en un mismo ambiente químico los cuatro hidrógenos presentes en el benceno (Fig. 8). Correspondiente al espectro de RMN ^{13}C , en 155.7 ppm se observó el carbonilo, además de tres señales distintas para los carbonos del benceno, en 130.2 ppm los dos carbonos cuaternarios, así como 120.9 y 108 ppm dos señales que integran para los cuatro carbonos restantes (Fig. 9).

Por último, se realizó, la caracterización espectrométrica mediante GC-MS modalidad positiva, donde en un tiempo de retención de 17 minutos, se logró observar el ion cuasimolecular con una $m/z = 135.2$ UMA (1A) (Fig. 10).

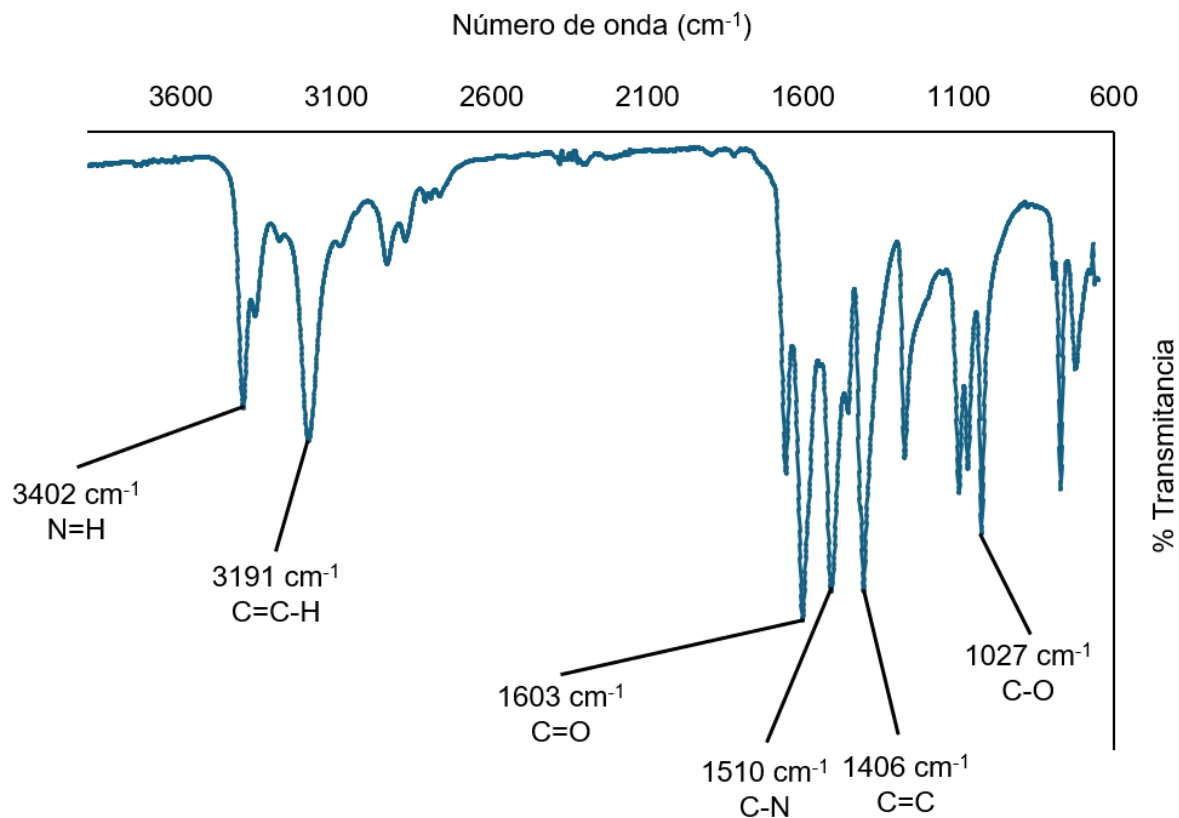


Figura 7. Espectro de TF-IR de 1,3-dihidro-2H-benzoimidazol-2-ona. Se presentan las señales de grupos funcionales del núcleo de bencimidazolona.

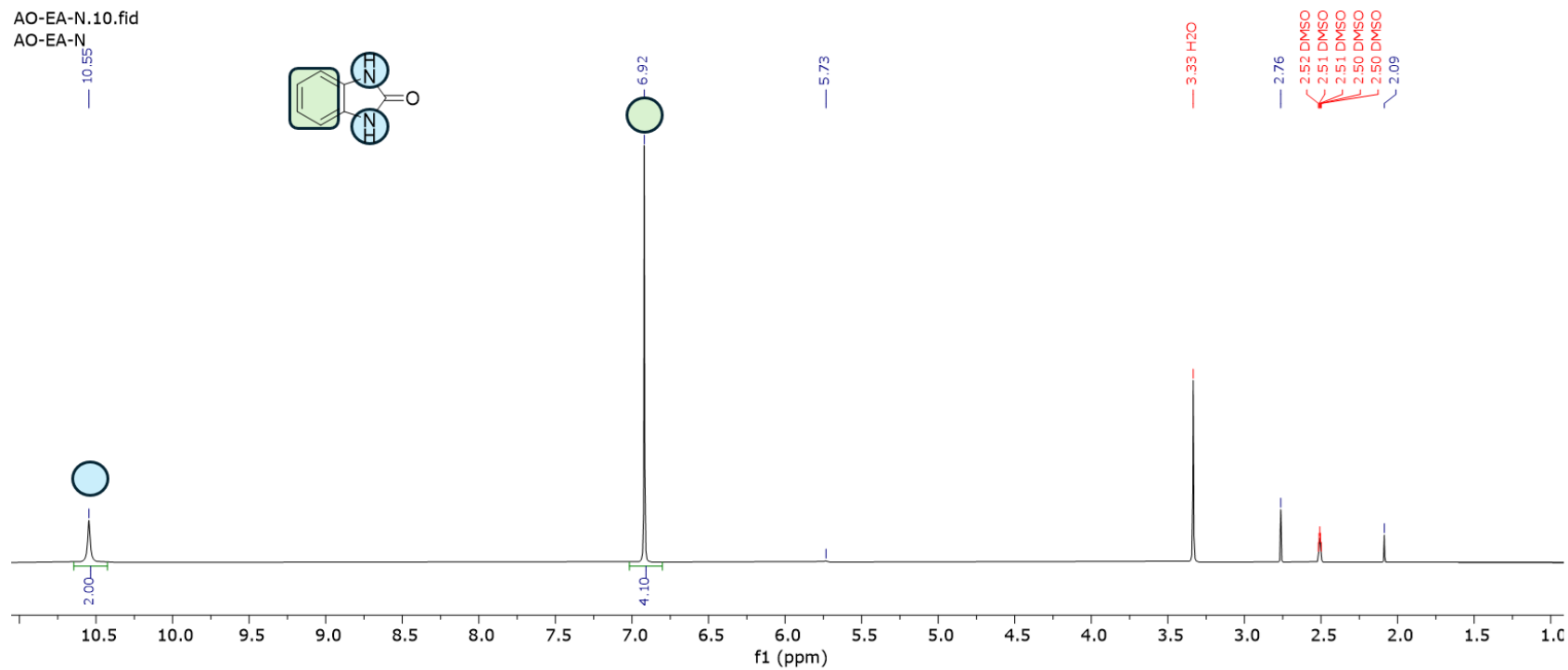


Figura 8. Espectro de RMN ¹H de 1,3-dihidro-2H-benzoimidazol-2-ona. Se muestran las señales del núcleo de bencimidazolona presentados por los hidrógenos del imidazol y anillo de benceno.

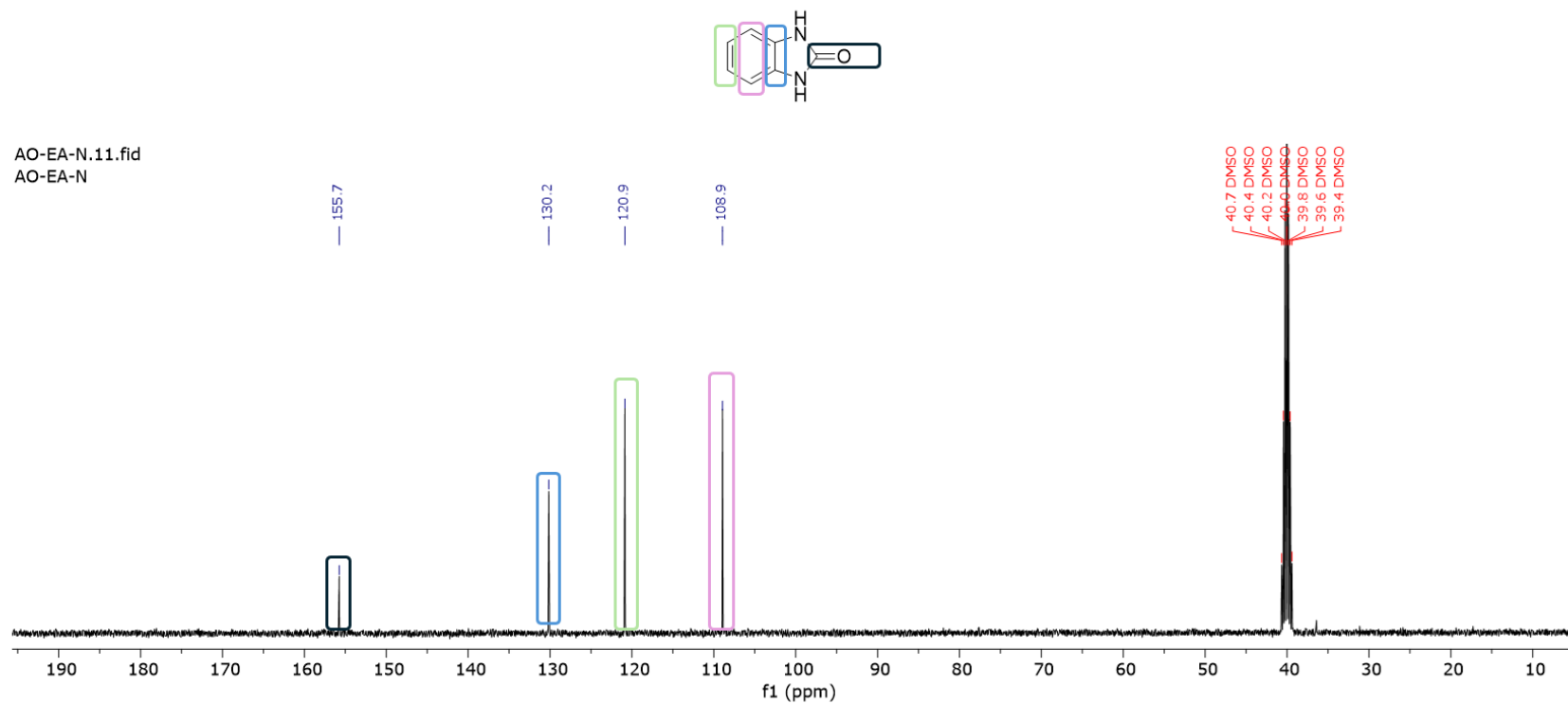


Figura 9. Espectro de RMN ^{13}C de 1,3-dihidro-2H-benzimidazol-2-ona. Se presentan las señales del núcleo de bencimidazolona correspondientes a los carbonos del imidazol y anillo de benceno.

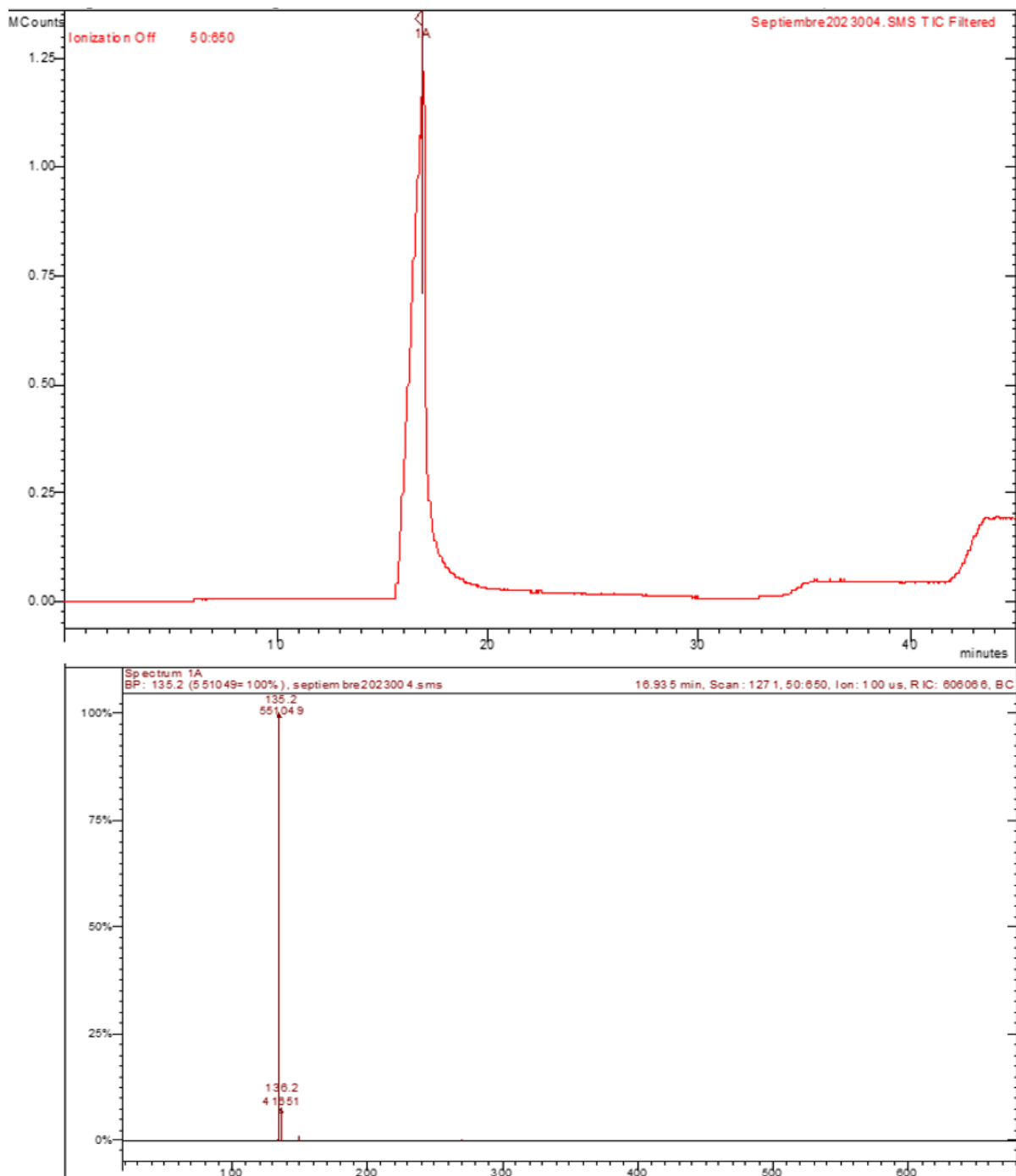


Figura 10. Cromatograma de GC-MS de 1,3-dihidro-2H-benzimidazol-2-ona. Se muestra el tiempo de retención del núcleo de bencimidazolona y el ion cuasimolecular.

Similar a **2** se realizó la caracterización de 4FMZ (**3**). En el espectro de FTIR-ATR se observaron las vibraciones correspondientes a los grupos funcionales presentes: en 3376 cm^{-1} el estiramiento N-H, en 3066 cm^{-1} el estiramiento C=C-H aromático, en 2958 cm^{-1} la vibración C-H alifático, en 1695 cm^{-1} el estiramiento C=O, en 1619 cm^{-1} el estiramiento de C-N, en 1486 cm^{-1} la vibración correspondiente al enlace C=C, en 1321 cm^{-1} el estiramiento C-F y por último la vibración C-O en 1120 cm^{-1} (Fig. 11).

En el espectro de RMN H^1 se observó como señal confirmatoria de la obtención del compuesto monosustituido la presencia del singulete en 11.01 ppm que integra para el hidrógeno unido a nitrógeno en el anillo de benzoimidazolona, el metileno bencílico en 5.12 ppm y el sistema A_2B_2 en 7.58 y 7.43 ppm con $J= 8.2\text{ Hz}$. Por su parte, los hidrógenos aromáticos del benzoimidazolona se observaron como cuatro señales distintas, un doblete en 7.13 ppm con $J= 7.4\text{ Hz}$ integrando para un hidrógeno, dos tripletes traslapados integrando para un hidrógeno respectivamente, y un doblete en 6.83 ppm $J= 7.4\text{ Hz}$ que integra para el hidrógeno restante (Fig. 12).

El espectro de RMN ^{13}C de **3**, debido al spin magnético mostrado en los tres átomos de flúor incorporados en el fragmento bencílico, se lograron observar acoplamiento a uno, dos y tres enlaces con multiplicidad de cuádrupletes en 126.6, 130.1 y 125.8 ppm con $J= 270.0\text{ Hz}$, $J= 32.0\text{ Hz}$ y $J= 3.7\text{ Hz}$ respectivamente. Las señales restantes del anillo se observaron en 140.2 y 127.5, el metileno bencílico en 44.1 ppm. Las señales del núcleo de benzoimidazolona se observaron en 155.7 ppm para el carbonilo, los carbonos aromáticos se ubicaron en 129.9, 128.1, 1221.1, 121.6, 110.0 y 108.3 ppm (Fig. 13). El cromatograma de gases correspondiente a 4FMZ

presentó una señal (1A) con tiempo de retención de 25 minutos, y en el espectro de masas se observó la masa del ion cuasimolecular con $m/z = 293.1$ UMA (1A) (Fig. 14).

9.3. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la masa corporal

Se cuantificó la masa muscular en dos etapas, siendo la primera de la semana 4 a la 9 solo con consumo de dieta y en la segunda correspondió de la semana 10 a la 16 y se implementó el tratamiento con la 4FMZ, por lo que se evaluó el efecto del tratamiento de la 4FMZ de la semana 11 a la 16. En la primera etapa se observó el grupo dieta alta en grasa (DAG) fue el que mostró la mayor cantidad de masa corporal en comparación al grupo dieta estándar (DE) y grupo tratamiento (3F), obteniéndose resultados estadísticamente significativos en las semanas 4 y 5 al ser comparado el grupo DAG con el grupo 3F (26.05 ± 1.29 g vs 23.5 ± 1.25 g; 26.7 ± 1.73 g vs 23.8 ± 1.36 g respectivamente), por otra parte, hasta la semana 9 se mostró diferencia estadísticamente significativa entre DAG y DE (29.4 ± 2.37 g vs 25.9 ± 1.04 g). Mientras que los grupos DE y 3F no mostraron diferencias significativas, por lo que la masa corporal entre ellos fue similar (Fig. 15).

En la segunda etapa, con la administración de 4FMZ, se observó que el grupo 3F desde la semana 10 hasta la semana 13 mostraron diferencias estadísticamente significativas con el grupo DAG (26.9 ± 1.71 g vs 30.4 ± 1.97 g; 26.9 ± 2.15 g vs 31.2 ± 2.3 ; 27.9 ± 2.20 vs 32.7 ± 2.95 g; 27.2 ± 0.69 g vs 32.2 ± 3.47 g respectivamente) con una menor masa corporal que DAG; lo que representó una disminución del 11.51% al 15.53% de la masa corporal (Fig. 15).

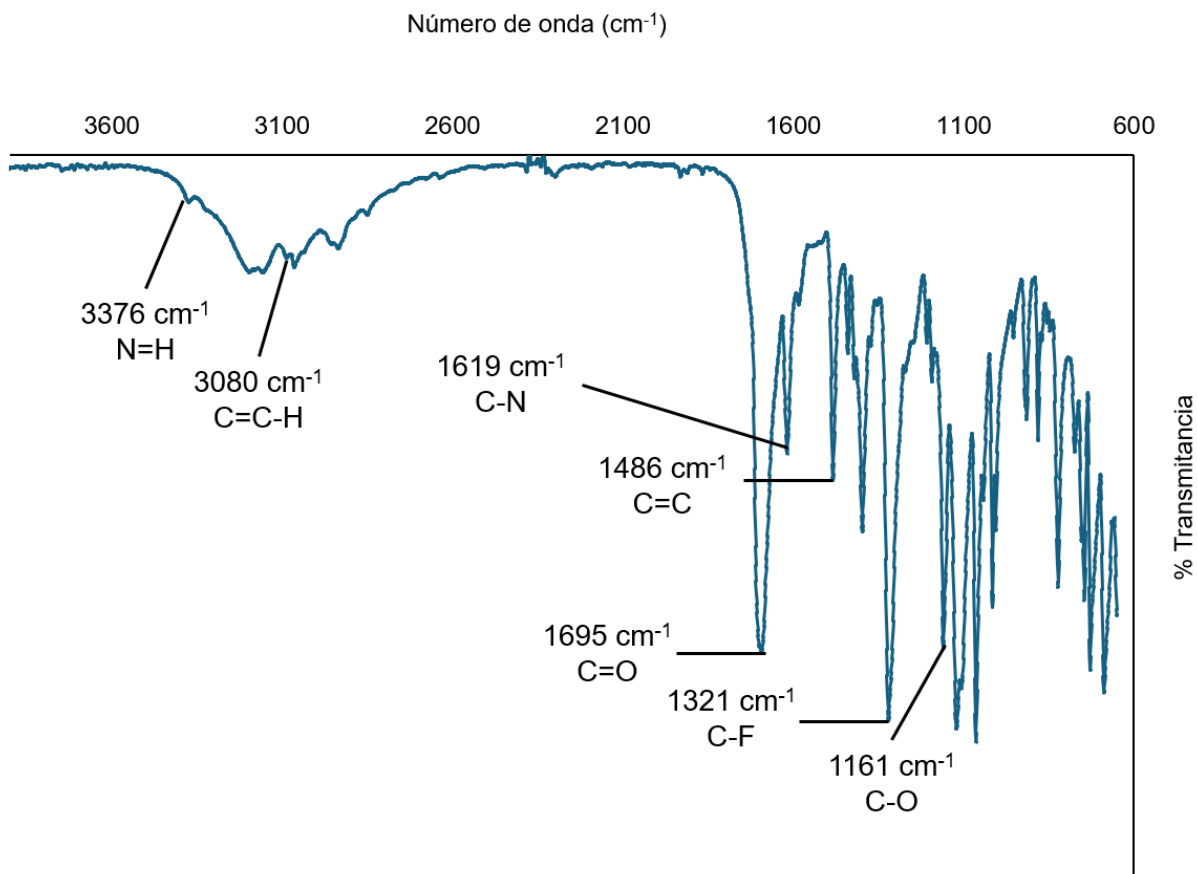


Figura 11. Espectro de TF-IR de *N*-(4-trifluorometil)benzilbencimidazolona. Se presentan las señales de grupos funcionales característicos de 4FMZ.

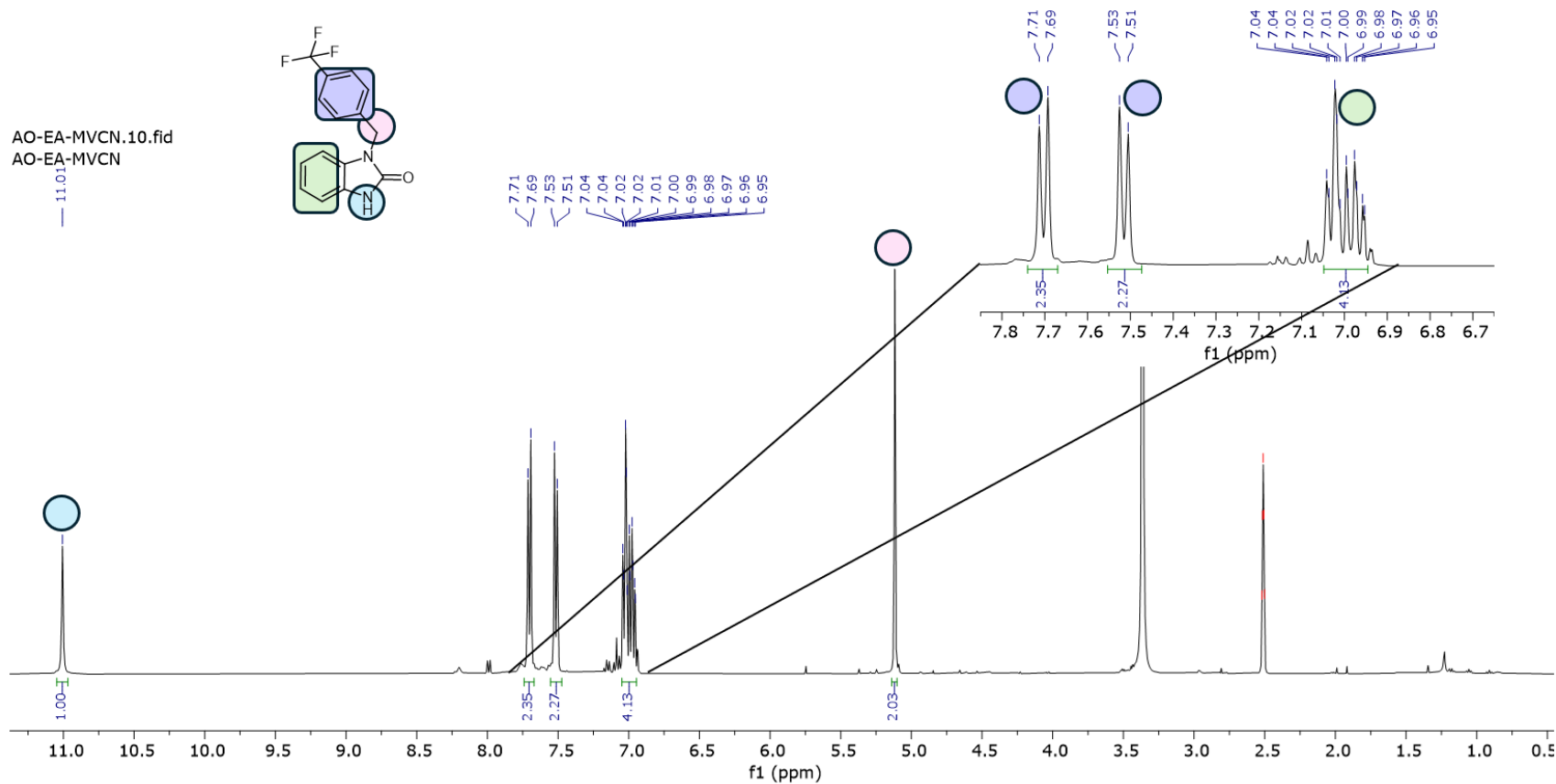


Figura 12. Espectro de RMN ^1H de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona. Se presentan las señales de 4FMZ correspondientes a los hidrógenos del imidazol y anillo de benceno y una ampliación de la región aromática del espectro.

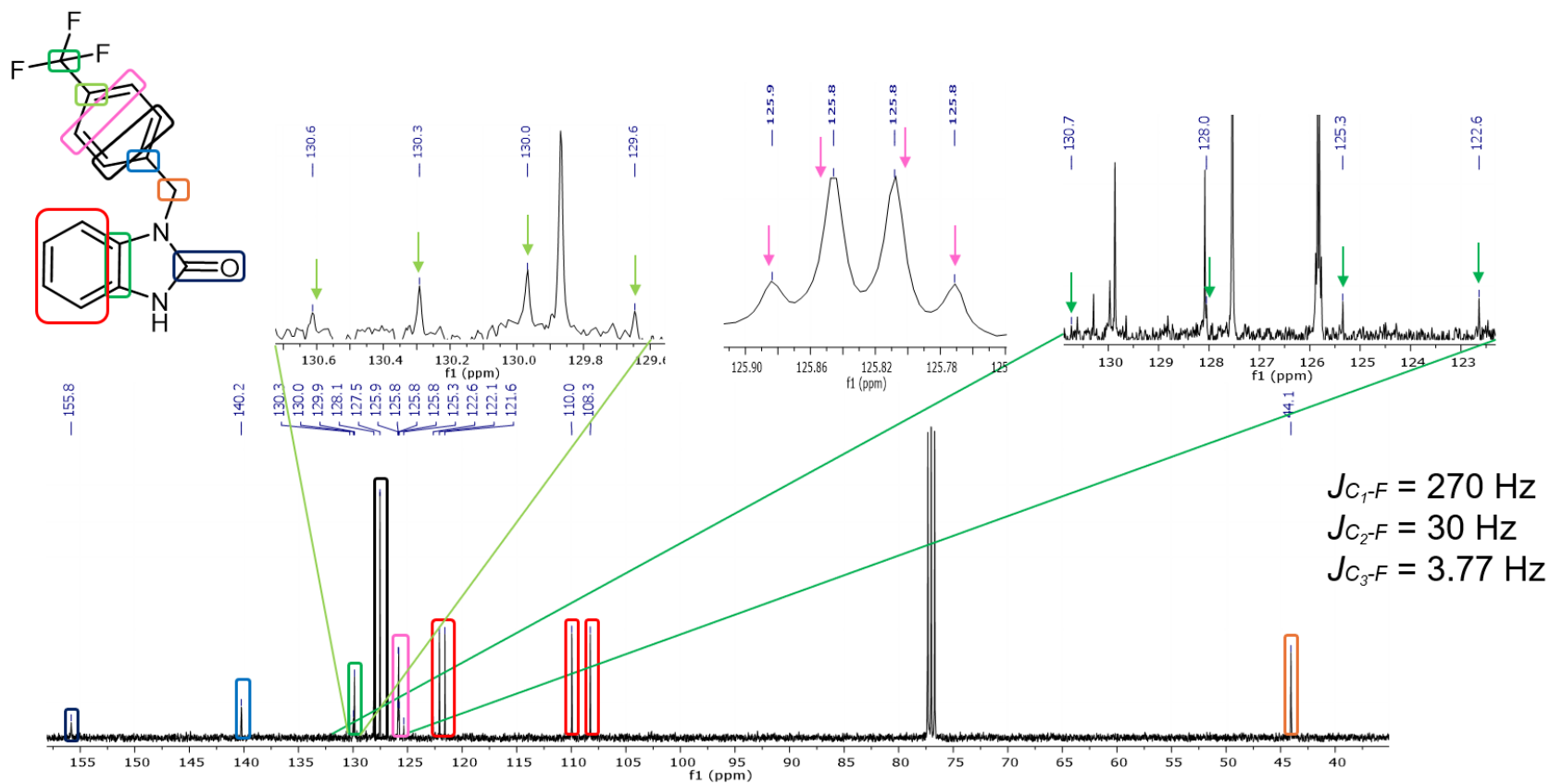


Figura 13. Espectro de RMN ^{13}C de *N*-(4-trifluorometil)benzimidazolona. Se muestran las señales de 4FMZ correspondientes a los carbonos del imidazol y anillo de benceno además de una amplificación de región del espectro.

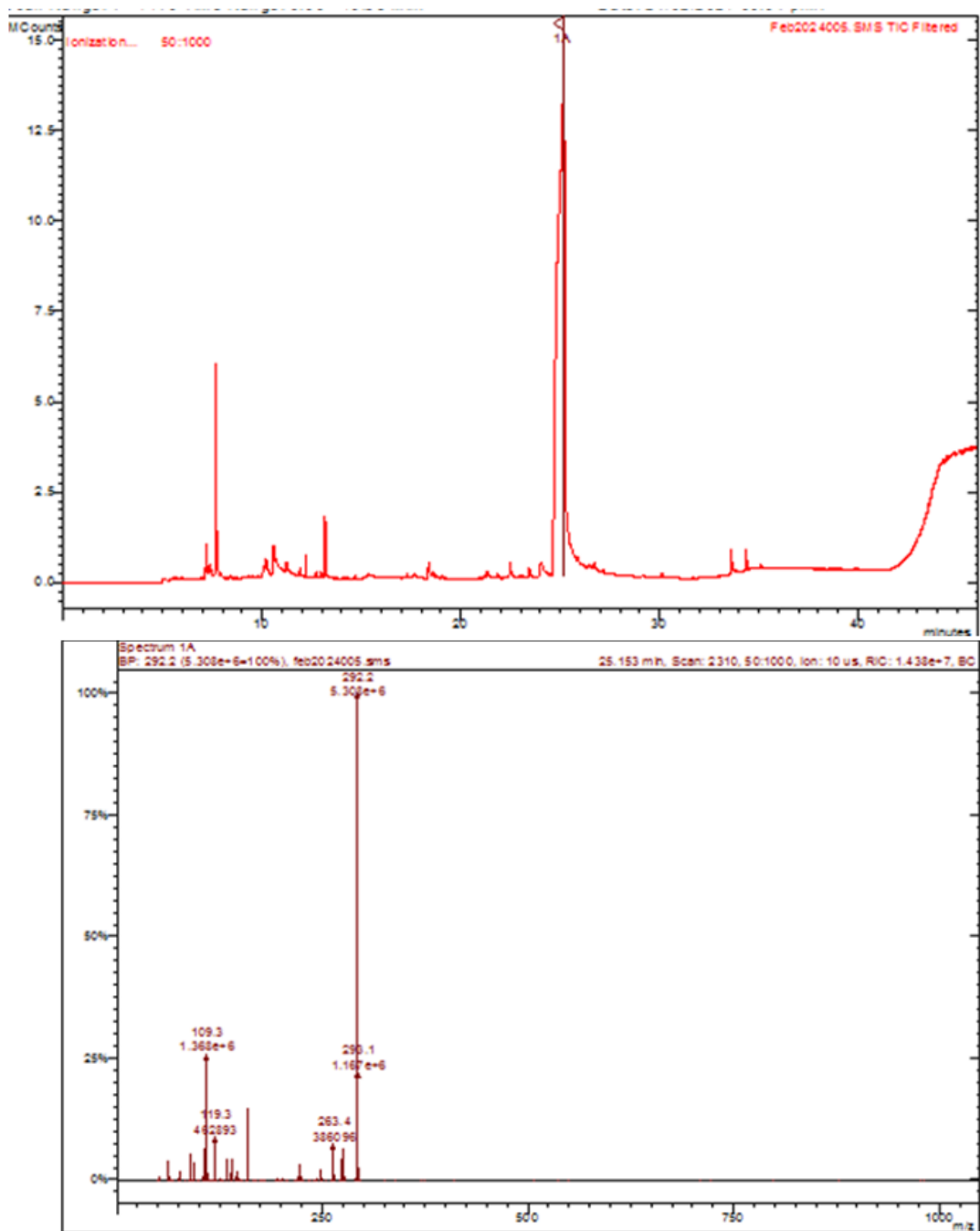


Figura 14. Cromatograma de GC-MS de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona.

Se observa el tiempo de retención de 4FMZ y el ion cuasimolecular correspondiente al derivado de bencimidazolona.

Además, desde la semana 10 hasta la semana 16 el grupo DE mostró resultados estadísticamente significativos, ya que presentaron una masa corporal menor que el grupo DAG (27.4 ± 0.94 vs 31.2 ± 2.3 g; 27.6 ± 0.90 g vs 32.7 ± 2.95 g; 27.1 ± 0.69 g vs 32.2 ± 3.47 g; 27.3 ± 1.56 g vs 31.7 ± 2.86 g; 27.5 ± 0.91 g vs 33.6 ± 4.09 g; 27.3 ± 1.29 g vs 34 ± 4.40 g respectivamente). Por lo que en las semanas de la segunda etapa el grupo DE mostró una disminución de la masa corporal de 11.18 al 19.71% respectivamente. Sin embargo, entre los grupos 3F y DE posterior del inicio de la administración de la molécula no se mostraron resultados estadísticamente significativos, por lo que la masa corporal entre los grupos era similar (Fig. 15).

9.4. Cuantificación del perfil bioquímico del modelo de dieta alta en grasa

9.4.1. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la glucosa

La determinación de glucosa en sangre se realizó en dos etapas, de la misma forma a como se planteó en la determinación de masa corporal. La medición de glucosa semanal desde el inicio y hasta el final de la primera etapa mostraron que el grupo dieta alta en grasa, presentó un nivel de glucosa más elevado que los otros grupos experimentales DE y 3F. Los resultados fueron estadísticamente significativos en las semanas 6 en los grupos DE y DAG (122 ± 13.45 mg·dL⁻¹ vs 166 ± 17 mg·dL⁻¹), en la semana 7 entre 3F y DAG (126 ± 17.37 mg·dL⁻¹ vs 175 ± 16.82 mg·dL⁻¹) en ambas semanas DAG mostró los niveles más elevados de glucosa 36.07% y 38.89% respectivamente; en cuanto a los grupos DE y 3F no presentaron diferencias significativas entre ellos, durante toda la primera etapa (de la semana 4 a la semana 10) por lo que sus niveles de glucosa fueron similares (Fig. 16).

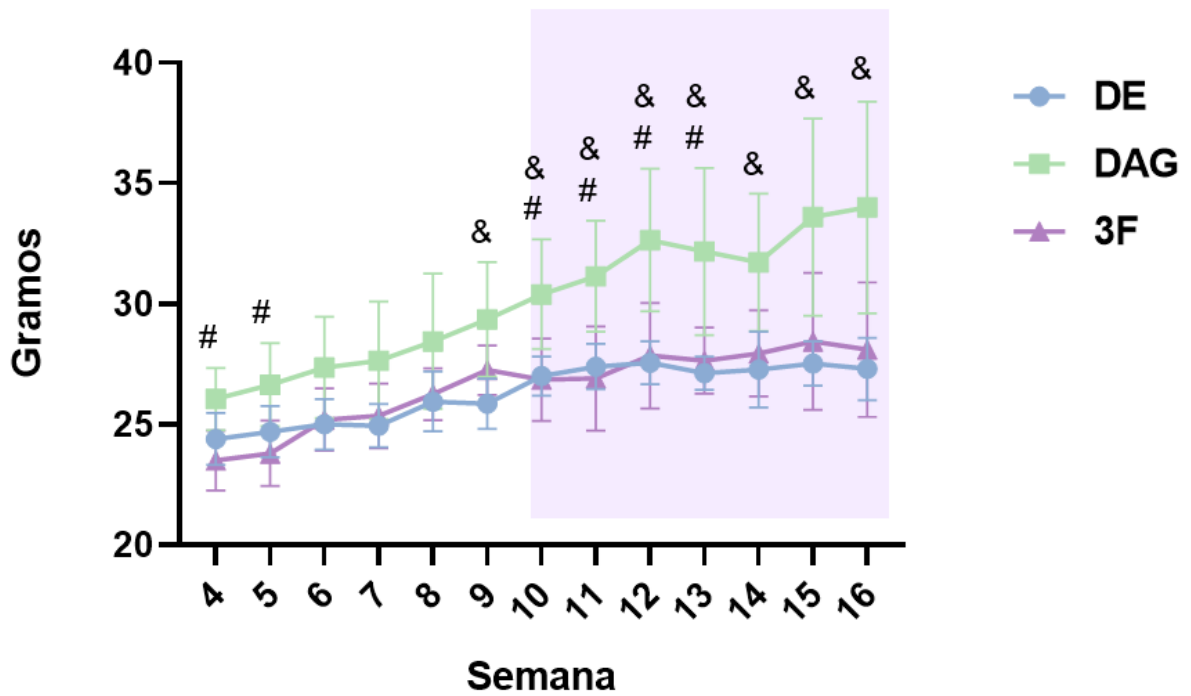


Figura 15. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la masa corporal. Se presentan las comparaciones del efecto del tratamiento (100 mg·kg⁻¹ vía *p.o.*) administrado una vez al día, sobre la masa corporal evaluada una vez a la semana desde la semana 4 hasta la semana 16 en el grupo tratamiento (3F), DE (control sano) y DAG (grupo con alteraciones metabólicas); el área lila representa las semanas con administración de 4FMZ; *, $p < 0.05$ DE vs 3F; #, $p < 0.05$ DAG vs 3F; &, $p < 0.05$ DAG vs DE.

Durante la etapa 2 (semana 10 a semana 16) se encontró que el grupo DAG mostró niveles de glucosa elevados desde la semana 10 y hasta la 16 (finalización del modelo), que mantuvo una tendencia en aumento desde la semana 4. En los cuales tuvo diferencias estadísticamente significativas (el grupo DAG) con el grupo DE en la semana 10, 11, 15 y 16 ($166 \pm 6.18 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ vs $131 \pm 25.29 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$; $203 \pm 23.32 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ vs $132 \pm 9.15 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$; $173 \pm 15.91 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ vs $149 \pm 40.31 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$; $186 \pm 11.10 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ vs $150 \pm 13.40 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ respectivamente) mostrando un nivel de glucosa más elevado en 26.72% al 53.79%, con relación a las semanas con significancia (Fig. 16).

Respecto al grupo 3F, en las semanas 11, 12, 13 y 16 mostró diferencias significativas en relación con el grupo DAG ($141 \pm 9.54 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ vs $203 \pm 23.32 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$; $151 \pm 14.38 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ vs $185 \pm 8.86 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$; $148 \pm 6.65 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ vs $189 \pm 23.45 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$; $142 \pm 8.41 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ vs $186 \pm 11.10 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$) con un nivel de glucosa menor en 18.38% al 30.54% que el grupo con alteraciones metabólicas, lo que se le pudiera atribuir a la acción de 4FMZ además los niveles de glucosa fueron similares a los del grupo DE (control sano) (Fig. 16).

9.4.2. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre el perfil lipídico

Al cuantificar el perfil de lípidos de los grupos experimentales se obtuvo que el grupo de dieta alta en grasa (DAG) fue quien presentó los niveles mayores en todos los lípidos evaluados, mientras que al grupo que se le administró 4FMZ tuvieron los niveles más bajos del perfil de lípidos (excepto por HDL-c) (Fig. 17).

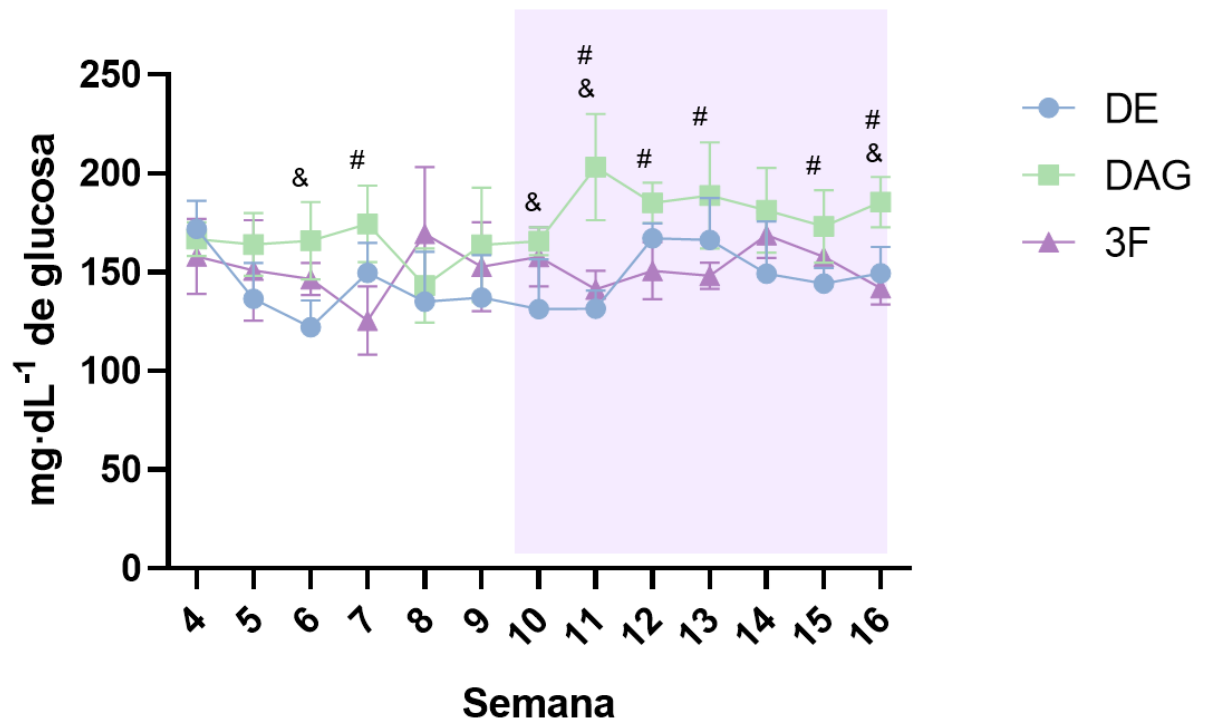


Figura 16. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la glucosa.

Se muestran las comparaciones del efecto del tratamiento (100 mg·kg⁻¹ vía *p.o.*) administrado una vez al día, sobre el nivel de glucosa en sangre periférica evaluado una vez a la semana desde la semana 4 hasta la semana 16 en el grupo tratamiento (3F), DE (control sano) y DAG (grupo con alteraciones metabólicas); el área lila representa las semanas con administración de 4FMZ; *, $p < 0.05$ DE vs 3F; #, $p < 0.05$ DAG vs 3F; &, $p < 0.05$ DAG vs DE.

El nivel de colesterol total (CT) del grupo tratamiento fue $58.5 \pm 6.19 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ siendo menor que el valor del grupo dieta alta en grasa (DAG) $125.9 \pm 0.85 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$, presentando un resultado significativo, tuvo una disminución del CT en un 53.3% lo que se le puede atribuir al efecto de 4FMZ. Además, al compararse 3F con el grupo DE ($65.4 \pm 4.38 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$) se observó un valor similar de CT, el cual mostró una disminución del 10.55%. No obstante, los grupos DAG y DE, tienen una diferencia significativa en sus valores, siendo DE un grupo con menor nivel de CT (Fig. 17A).

Los valores de TG en los tres grupos mostraron una tendencia similar al de los resultados de CT, ya que el grupo 3F presentó un valor de TG $67.2 \pm 3.78 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ menor que DAG con $78.0 \pm 1.06 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ siendo de significancia estadística y se le puede atribuir a la disminución del 13.85% de TG al efecto de 4FMZ; mientras que en la comparación de 3F con DE ($66.5 \pm 0.78 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$) se observó resultados similares y un aumento del 1.05% de TG en el grupo 3F. Respecto a los grupos DAG y DE, se obtuvo un nivel de TG mayor en DAG, un resultado significativo, además de un aumento del 17.29% respecto a DE (Fig. 17B).

La lipoproteína de alta densidad (HDL-c) del grupo 3F mostró un nivel de $48.8 \pm 1.87 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$, el cual es mayor que el presentado por el grupo DE con $33 \pm 0.57 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$, se observó una diferencia estadísticamente significativa y un incremento del 47.88% del nivel de HDL-c en el grupo 4FMZ, el cual pudiera ser debido al efecto del tratamiento administrado; por otra parte, el grupo DAG con un valor de HDL-c $46.7 \pm 1.46 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ se observó un nivel similar con los valores de 3F (Fig. 17C). No obstante, los grupos DAG y DE, significancia estadística entre ellos, se observó que DAG tiene un nivel mayor de HADL-c que el grupo DE en un 41.52% (Fig. 17C).

Se debe agregar que la lipoproteína de muy baja densidad (VLDL) el grupo 3F presentó un nivel de $13.4 \pm 0.76 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$, una menor concentración en comparación con el grupo DAG con $15.6 \pm 0.21 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$, una comparación estadísticamente significativa y una disminución del 14.1% en nivel de VLDL, por lo que se le puede atribuir al efecto de 4FMZ, sin embargo, con el grupo DE $13.3 \pm 0.16 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ se observó un resultado similar sin significancia estadística. De la misma manera, el grupo DE mostró un nivel menor de VLDL que el grupo DAG, con significancia estadística y un aumento del 17.26% respecto a DE (Fig. 17D).

Los valores de los lípidos totales mantuvieron la tendencia mostrada anteriormente, en la cual el nivel obtenido del grupo 3F $177.6 \pm 26.76 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$ es menor que el mostrado por el grupo DAG de $366.8 \pm 0.64 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$, con una disminución del 51.58%, también siendo un resultado estadísticamente significativo que pudiera ser asociado a la administración de 4FMZ. En relación con el grupo DE con un valor de $234.3 \pm 7.99 \text{ mg}\cdot\text{dL}^{-1}$, se observó un valor similar al de 3F. Finalmente, la comparación entre los grupos DAG y DE, se encontró que DAG tiene un aumento en el nivel de lípidos totales de un 56.55% que además es estadísticamente significativa (Fig. 17E).

9.4.3. Efecto de *N*-(4-trifluorometilbencil)bencimidazolona sobre el índice de riesgo aterogénico, Índice de Castelli I y el índice de protección

El grupo 3F mostró un índice de riesgo aterogénico (IRA) de 0.2, el cual es el más bajo de los tres grupos experimentales, ya que el grupo de dieta alta en grasa (DAG) mostró un IRA de 1.70 y el grupo dieta estándar (DE) un valor de 0.98, siendo resultados estadísticamente significativos y se obtuvo una disminución del 88.24% y 79.59%

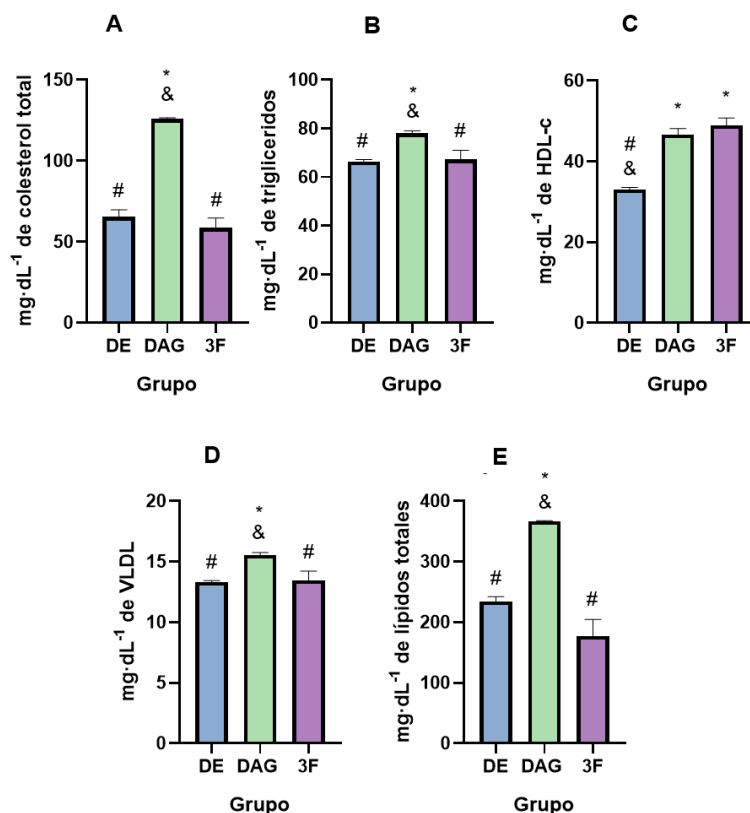


Figura 17. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre el perfil de lípidos. Se muestran las comparaciones del efecto del tratamiento (100 mg·kg⁻¹ vía *p.o.*) administrado una vez al día, sobre el nivel de colesterol total (CT), triglicéridos (TG), lipoproteína de alta densidad (HDL-c), lipoproteína de muy baja densidad (VLDL), lípidos totales de los grupos 3F (tratamiento), DE (control sano), DAG (grupo con alteraciones metabólicas). Gráfico A, se presenta el nivel de CT de los tres grupos experimentales, en el grafico B, se observa el nivel de TG de los tres grupos, en el gráfico C se muestra el nivel de HDL-c en los grupos experimentales, en el grafico D se presenta el nivel de VLDL en los grupos DE, DAG y 3F y en el gráfico E se observa el nivel de lípidos totales en los tres grupos; *, $p < 0.05$ vs DE; #, $p < 0.05$ DAG; &, $p < 0.05$ 3F.

respectivamente, por lo que se le pudiera atribuir en efecto a la administración de 4FMZ. También, el grupo DAG y presentó un IRA mayor que el del grupo DE, con un aumento de 73.43% además de ser estadísticamente significativo (Fig. 18A).

Además, el índice de Castelli I mostró el mismo comportamiento antes mencionado, el grupo 3F obtuvo el valor menor de los grupos experimentales con 1.2 el grupo DAG mostró un IC I de 2.70 y el grupo DE de 1.98, por lo que se encontró diferencia estadística con ambos grupos control, también se presentó una disminución del IC I de 55.56% y 39.39% respectivamente, pudiera atribuirse al como un efecto de 4FMZ. Por otra parte, los grupos control DAG y DE, tuvieron una diferencia estadísticamente significativa al DAG obtuvo un IC I mayor que el de DE, con un incremento del 36.36% (Fig. 18B).

Respecto a 4FMZ se observó un índice de protección aterogénica del 88.3% al ser administrado (Fig. 18C).

9.5. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la presión de presión arterial

En la semana 16 del modelo de dieta alta en grasa se realizó la medición de la presión arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) y la media de los tres grupos experimentales. Por lo que se reporta que el grupo 3F presentó una PAS de 112.1 ± 1.06 mm/Hg, siendo menor que la obtenida en el grupo dieta alta en grasa (DAG) de 214.9 ± 4.28 mm/Hg, se encontró una diferencia estadísticamente significativa además de una disminución en la PAS del 47.66%, al mismo tiempo 3F mostró una PAS menor que DE (dieta estándar) 130.5 ± 1.84 mm/Hg mostrando significancia estadística y la disminución del 13.85%, lo que pudiera atribuirse a la administración de 4FMZ;

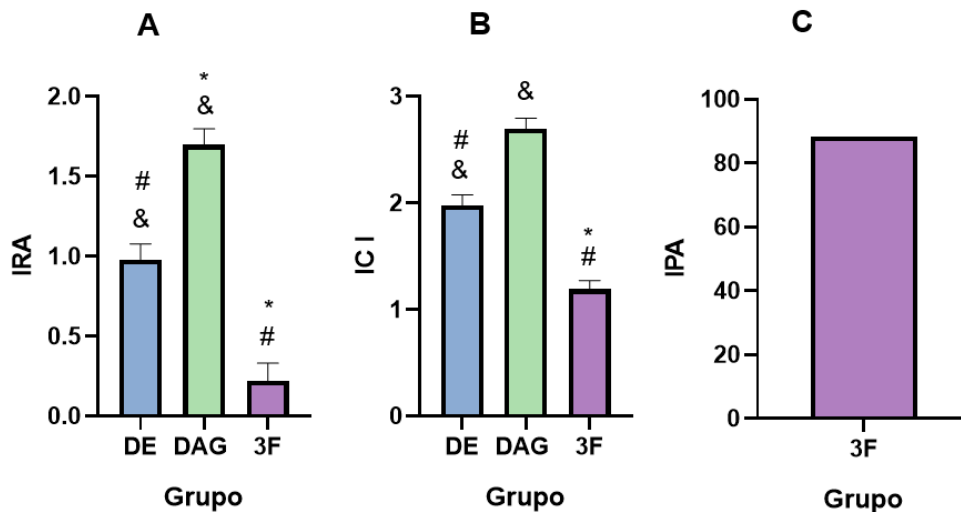


Figura 18. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre predictores de riesgo aterogénico. Se muestran las comparaciones del efecto del tratamiento (100 mg·kg⁻¹ vía *p.o.*) administrado una vez al día sobre el índice de riesgo aterogénico (IRA) e índice de Castelli I (IC I) en el grupo tratamiento (3F), DE (control sano) y DAG (grupo con alteraciones metabólicas) y el índice de protección aterogénica (IPA) sobre el grupo 3F; en el gráfico A se observa el IRA en los tres grupos experimentales, en el gráfico B se presenta el IC I en DE, DAG y 3F y en gráfico C se presenta el IPA de 3F; *, $p < 0.05$ vs DE; #, $p < 0.05$ DAG; &, $p < 0.05$ 3F.

Por otra parte, el grupo DAG mostró una PAS más elevada que el grupo DE siendo estadísticamente significativa la diferencia y un aumento en el 64.67% (Fig. 19A).

Además, en la presión arterial diastólica, mantuvo el mismo comportamiento que en los resultados anteriormente descritos, la PAD del grupo 3F mostró un resultado de 87.08 ± 0.65 mm/Hg, que es un valor menor que ambos grupos control, DAG siendo 129.0 ± 3.32 mm/Hg y DE 104.1 ± 1.21 mm/Hg comparación con significancia estadística y se obtuvo una disminución en un 32.5% y 16.35% respectivamente, lo cual puede asociarse con el efecto de 4FMZ en el grupo 3F. En relación con DAG, mostró un valor más elevado en la PAD que el grupo DE en un 24.04% y un resultado estadísticamente significativo (Fig. 19B).

La media de la presión arterial del grupo 3F de 95.73 ± 0.71 mm/Hg fue el menor que en los grupos DAG con 160.2 ± 2.40 mm/Hg y DE con 112.5 ± 0.98 mm/Hg, mostrando significancia estadística y disminución de la media en el 40.24% y 14.91% respectivamente, lo cual podría relacionarse con la administración del tratamiento 4FMZ. Finalmente, los grupos DAG y DE como en los resultados anteriores, presentaron una diferencia significativa entre ellos, con DAG mostrando una media mayor al igual que un incremento del 42.4% (Fig. 19C).

9.6. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre tejido adiposo, hígado, páncreas

9.6.1. Efecto del *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre el tejido adiposo

Se observó que el tejido adiposo representó un porcentaje de la masa corporal total en el grupo DE un 0.73 ± 1.24 %, mientras que el grupo del tratamiento 3F mostró

un $0.72 \pm 0.35\%$ y el grupo DAG un $4.97\% \pm 2.68\%$. Se observaron resultados estadísticamente significativos entre el grupo DAG contra 3F y DE, mientras que los grupos DE y 3F mostraron resultados similares en el porcentaje de tejido adiposo, por lo que se puede asociar con el efecto de 4FMZ (Fig. 20).

9.6.2. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la morfología hepática

En las muestras de tejido hepático un total de 30 campos fueron analizados utilizando un aumento a 10X, capturando imágenes del parénquima hepático. El grupo con DE mostró un parénquima hepático con característica normal, caracterizado por hepatocitos poliédricos con núcleo definido, poca o nula aglomeración de proteínas intracelulares, ausencia de esteatosis (micro o microvesicular) y sin presencia de células apoptóticas, células necróticas o infiltrado de células inmunológicas (Fig. 21A).

Por otra parte, el grupo de DAG mostró hepatocitos con núcleo difuso, presencia de esteatosis microvesicular en casi la totalidad de los hepatocitos y poca presencia de esteatosis macrovesicular en el parénquima hepático, sin embargo, no se encontró presencia de células apoptóticas, células necróticas o infiltrado de células inmunológicas (Fig. 21B).

Finalmente, el grupo con administración de 4FMZ, presentó algunos hepatocitos con núcleos difusos y esteatosis microvesicular en algunas zonas del parénquima hepático, pero y en menor grado que en el grupo de DAG, no se observó presencia de esteatosis macrovesicular ni presencia de células apoptóticas, células necróticas o infiltrado de células inmunológicas (Fig. 21C).

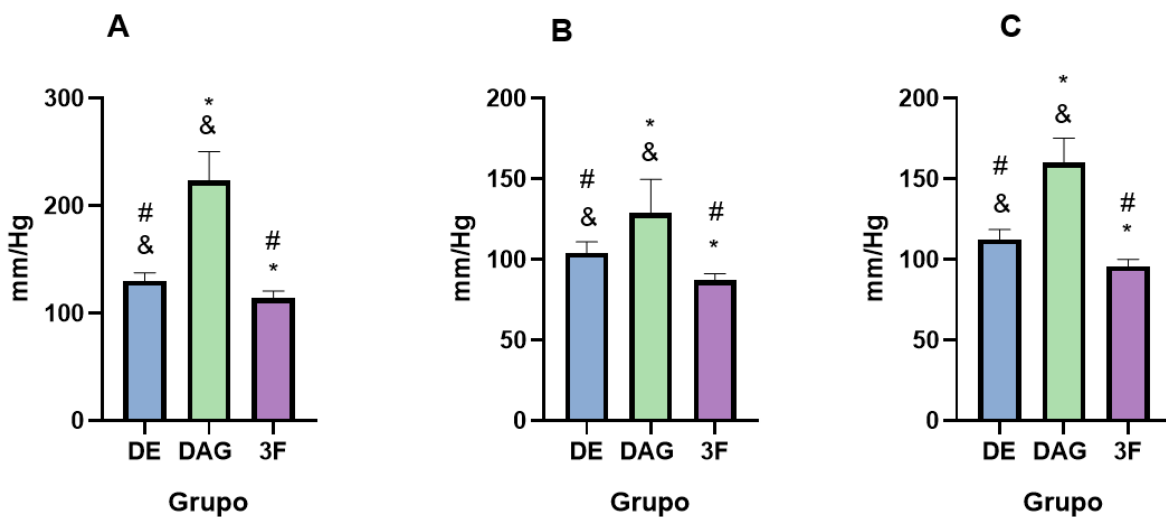


Figura 19. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la presión arterial. Se muestran las comparaciones del efecto del tratamiento ($100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ vía *p.o.*) administrado una vez al día, sobre la presión arterial sistólica (PAS), diastólica (PAD) y la media en la semana 16 de los grupos 3F (tratamiento), DE (control sano), DAG (grupo con alteraciones metabólicas). En el gráfico A, se presentan las PAS de los grupos experimentales, en el gráfico B, se observan las PAD en los tres grupos y en el gráfico C se muestra la media de la presión arterial en los grupos experimentales; *, $p < 0.05$ vs DE; #, $p < 0.05$ DAG; &, $p < 0.05$ 3F.

9.6.3. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la morfología de páncreas

Un total de 20 campos del tejido pancreático fueron analizados a un aumento de 10X, tomando imágenes de los ácinos pancreáticos (10X) o islotes de Langerhans (40X). Se observó en el grupo con DE ácinos pancreáticos sin alteraciones estructurales, siendo definidos por un islote de Langerhans por campo (Fig. 21A), con contornos de fibras reticulares y conjuntos de células beta pancreáticas con núcleo visible y definido (Fig. 21B), sin presencia de apoptosis, necrosis o infiltrado de células inmunológicas (Fig. 21A y YB).

Por su parte, el grupo con DAG presentó de 2 hasta 4 islotes de Langerhans por campo (Figura 21C), con hipertrofia, forma y contorno de fibras reticulares irregulares, apreciándose una reducción en células beta pancreáticas en proporción con el tamaño del islote de Langerhans (Fig. 21D). No se observó presencia de células en apoptosis, necrosis o infiltrado de células inmunológicas (Fig. 21C y 21D).

El grupo que recibió administración de 4FMZ en presencia de DAG, mostro de 2 a 4 islotes de Langerhans por campo similar al grupo de DAG (Fig. 21E), sin embargo, los islotes se encontraban bien definidos con sus bordes de fibras de reticulares y sin hipertrofia, con aceptable proporción de células beta pancreáticas en relación con el tamaño del islote de Langerhans (Fig. 21F). No se encontró presencia de apoptosis, necrosis o infiltrado de células inmunológicas (Fig. 21E y 21F).

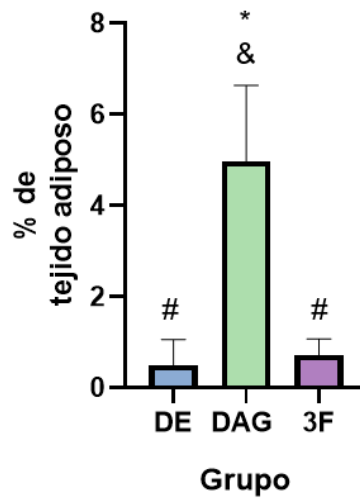


Figura 20. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre el tejido adiposo. Se muestran las comparaciones del efecto del tratamiento (100 mg·kg⁻¹ vía *p.o.*) administrado una vez al día, sobre el porcentaje de peso del tejido adiposo, páncreas e hígado de los grupos 3F (tratamiento), DE (control sano), DAG (grupo con alteraciones metabólicas). En el gráfico, se observan los porcentajes de peso del tejido adiposo de los grupos experimentales; *, $p < 0.05$ vs DE; #, $p < 0.05$ DAG; &, $p < 0.05$ 3F.

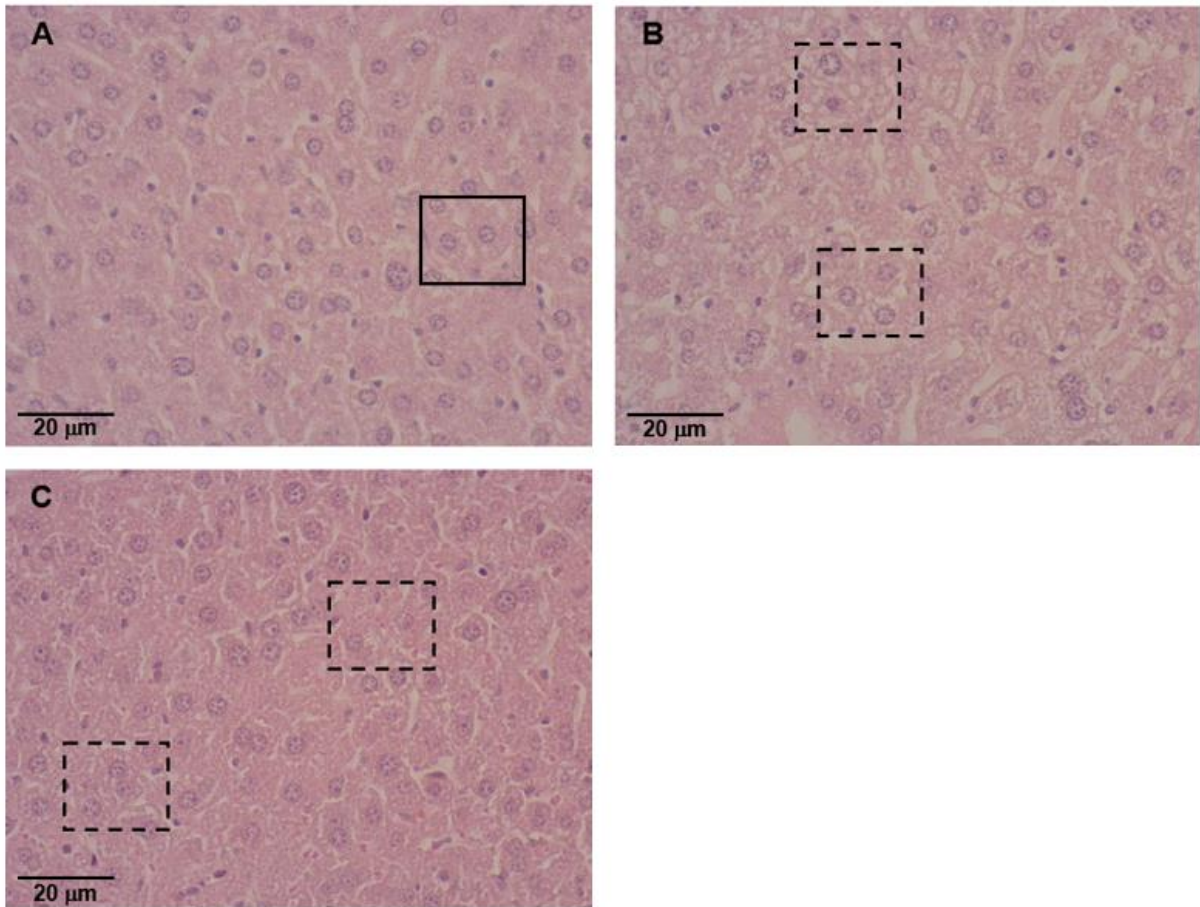


Figura 21. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre el tejido hepático. Los tejidos fueron teñidos con hematoxilina y eosina y observados a 40X. En el grafico A es el grupo DE; grafico B corresponde al grupo DAG; el grafico C corresponde al grupo 3F (administrado con 4FMZ 100 mg·kg⁻¹); cuadros: esteatosis.

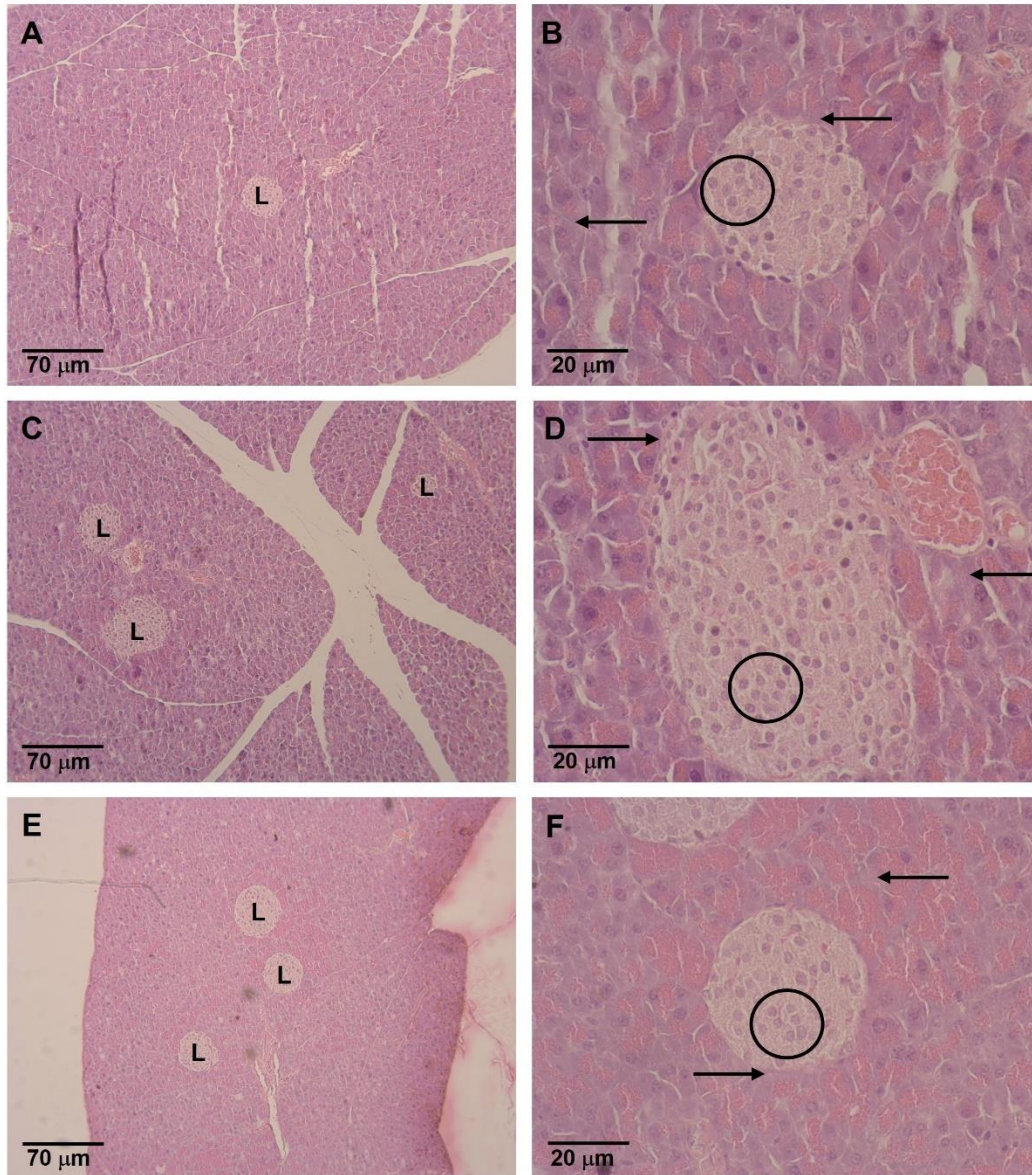


Figura 22. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre el tejido pancreático. Los tejidos fueron teñidos con hematoxilina y eosina y observados a 10X y 40X y 40X. En el grafico A y B son del grupo DE; grafico C y D corresponde al grupo DAG; los gráficos E y F pertenecen al grupo 3F (administrado con 4FMZ 100 mg·kg⁻¹); L = Islote de Langerhans, Flechas = fibras reticulares, círculos = células beta pancreáticas

X. DISCUSIÓN

10.1. Síntesis de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona

En el presente proyecto se realizó la optimización de condiciones de una ruta de síntesis para obtener 4FMZ, la cual se caracterizó por presentar dos etapas, la primera corresponde a la producción del núcleo de la bencimidazolona por el método de reflujo y la segunda etapa presenta la alquilación del núcleo para la formación de 4FMZ mediante calor convencional.

Previamente ha sido reportado por Lopez y colaboradores en 2016 la síntesis de derivados de 1,3-dihidro-2H-benzoimidazol-2-ona (núcleo) en la cual se empleó el anhídrido ftálico, TMSA en solución de THF con el método de reflujo durante 30 horas, con un rango de rendimiento entre el 50% al 77%, además, el rendimiento del núcleo sin la presencia de grupos funcionales adicionados fue de 51%.

Además, en 2023 Santos-Ballardo y colaboradores realizaron la síntesis de un grupo de derivados de bencimidazolonas a través de calor convencional durante 24 horas, utilizando como precursores de la reacción al núcleo de la bencimidazolona, a la base inorgánica K_2CO_3 y bromuros de bencilo en solución de DMF. Presentaron un rendimiento del 22% hasta el 38%, específicamente 4FMZ mostró un 22%.

Los estudios mencionados con anterioridad fueron los que se tomaron como base para la estandarización del esquema de síntesis de 4FMZ; en el cuál las modificaciones realizadas fueron el uso de anhídrido isatóico en vez de anhídrido ftálico y DMF como disolvente de reacción en vez de THF y el aumento del tiempo de

reacción a 72 horas. Con el propósito de aumentar la obtención del núcleo de bencimidazolona.

Entre las modificaciones llevadas a cabo en la síntesis de 4FMZ destaca el cambio de la base inorgánica K_2CO_3 por la base orgánica DIPEA, ya que ante la presencia del carbonato como precursor la alquilación generó la bencimidazolona disustituida en mayor proporción. También se observó que el uso de TEA una base ¿débil? no producía la molécula de interés, por lo que se optó por el uso de DIPEA. Además, se evaluó el uso de THF como disolvente en la reacción, y se observó en las pruebas analíticas que el solvente no producía la molécula de interés. Los cambios realizados fueron con el propósito de producir a 4FMZ (compuesto monosustituido) en mayor proporción que el disustituido y en mayor cantidad por reacción.

Para la confirmación de la estructura química de las moléculas sintetizadas, se utilizaron las principales señales obtenidas en la 1H -RNM y ^{13}C -RNM del núcleo de la bencimidazolona y de 4FMZ. En relación, a las señales de la 1H -RNM correspondientes al núcleo fueron las siguientes: un desplazamiento 10.55 ppm (s, 2H) y 6.92 (s, 4H), los cuales coinciden con las señales mostradas por Lopez y colaboradores (2016) con desplazamientos de 10.62 ppm (s, 2H) y 6.93 ppm (s, 4H).

Respecto a la ^{13}C -RNM del núcleo se mostró señales con desplazamiento de 155.7 ppm, 130.2 ppm, 120.9 ppm, 108.9 ppm los cuales coinciden con las señales obtenidas en los resultados de Lopez y colaboradores de: 155.1, 129.5, 120.3, 108.3.

10.2. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la masa corporal

La ingesta de dieta alta en grasa al 40% en el grupo DAG, ocasionó una mayor masa corporal que en el grupo de dieta estándar (DE), ya que el 40% de la ingesta de calorías del grupo DAG provenía de grasa, mientras que en el grupo DE la ingesta de alimento solo proporcionaba un 5% de calorías provenientes de la grasa. Se observó, diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, en los que la masa corporal del grupo DAG es mayor que DE, a partir de la semana 10 del estudio.

Coincide con lo reportado en estudios realizados por He y colaboradores en 2020, en un modelo *in vivo* en ratones macho C57BL/6J se observó un constante incremento de la masa corporal en el grupo alimentado con dieta alta en grasa al 60% atribuido a la sobrenutrición brindada por la dieta alta en grasa (Tamura et al., 2013). Además, es similar a lo obtenido por Lang y colaboradores en 2019, ya que evaluaron DAG al 45% y se observó diferencias significativas en la masa corporal de los grupos con dieta alta en grasa y dieta estándar (Lang y col., 2019).

Respecto al grupo 3F, administrado con 4FMZ mostró una masa corporal similar a la del grupo DE a pesar de haber consumido dieta alta en grasa al 40%, sin embargo, no han sido reportado en la actualidad estudio que hayan empleado derivados de bencimidazolonas que evalúen sus efectos sobre la masa corporal, no obstante en moléculas con una estructura base similar, como bencimidazoles ha sido observado que en modelos de inducción de obesidad en ratones, generan una pérdida de masa corporal en una relación dosis dependiente al disminuir la ingesta alimenticia (Tamura y col., 2013).

Entre las otras alteraciones mostradas por el modelo de dieta alta en grasa se observan los cambios en el perfil bioquímico.

10.3. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre el perfil bioquímico

10.3.1. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la glucosa

La ingesta de dieta alta en grasa por un periodo prolongado de tiempo ha sido asociada con el desarrollo de alteraciones metabólicas, entre ellas la hiperglucemia. En el grupo DAG se observó resultados estadísticamente significativos al mostrar un nivel mayor de glucosa en ciertas semanas, a partir de la semana 10 se observaron diferencias estadísticamente significativas respecto al grupo DE (que fue alimentado con dieta estándar), las cuales predominan en las últimas semanas del modelo, siendo un resultado similar a lo reportado por García-Rocha y colaboradores en 2023 en un modelo con dieta alta en grasa al 40% en ratones macho C57BL/6N, en el que se mostraron diferencias significativas en los grupos al inicio y final del modelo (García-Rocha, y col., 2023). Además, Lang y colaboradores en 2019, observó que el grupo DAG presentó una glucosa más elevada implementando una dieta alta en grasa al 45% durante 12 semanas (Lang y col., 2019).

El grupo 3F, en las primeras nueve semanas del estudio presentó una tendencia de aumento en los niveles de glucosa en sangre periférica, no obstante, a partir de la semana 10 en la que se inició la administración oral de 4FMZ en una dosis 100 mg·kg⁻¹ se mostró niveles de glucosa similares a los presentados por el grupo DE y un nivel menor que el grupo DAG (estadísticamente significativo), incluso al consumir el mismo alimento que este grupo.

Lo anterior pudiera ser atribuido al efecto de 4FMZ, ya que en estudio previo de Santos-Ballardo y colaboradores en 2023, se reportó el potencial efecto hipoglucemiante de 4FMZ mediante la activación de glucocinasa pancreática, la cual es un enzima con participación en la producción de insulina, no obstante, los resultados del estudio corresponden a metodologías *in silico* e *in vitro* (Santos-Ballardo y col., 2023).

Respecto a bencimidazolonas empleadas como activadores de glucocinasa en un modelo *in vivo*, no ha sido reportado en la actualidad, sin embargo, en 2009 el equipo de trabajo de Ishikawa y colaboradores evaluó derivados de bencimidazoles como activadores de glucocinasa en un modelo *in vivo* en rata de OGTT mostró que disminuía los niveles de glucosa posterior a la administración oral del derivado de bencimidazol que potencia la acción de glucocinasa en una manera dosis dependiente (Ishikawa y col., 2009).

10.3.2. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre el perfil lipídico

Además de las alteraciones en los niveles de glucosa, la dieta alta en grasa se relaciona con el aumento del perfil de lípidos, se observó en este estudio el incremento en los niveles de colesterol total, triglicéridos, VLDL, lípidos totales y HDL, en el grupo DAG siendo mayores que en el grupo alimentado con dieta estándar (DE). Lo que coincide con lo reportado por otros grupos de trabajo en los que se utilizó el modelo de dieta alta en grasa como el de Lin y colaboradores en 2024 en un modelo de dieta alta en grasa al 45% durante 11 semanas en ratones de la cepa C57BL/6J (Lin y col., 2024) y Koontanatechanon y colaboradores en 2022 observó un aumento en el perfil

de lípidos posterior a la administración de dieta alta en grasa en una variedad de porcentajes (Koontanatechanon y col., 2022).

Respecto al grupo 3F, se mostró un perfil de lípidos (TG, VLDL, CT y lípidos totales) similar al presentado por el grupo dieta estándar (DE) incluso siendo alimentado con dieta alta en grasa, sin embargo, se observó que el nivel de HDL-c del grupo 3F fue mayor que el de DE, siendo similar con el grupo de dieta alta en grasa, esto ha sido reportado en el estudio de Koontanatechanon y colaboradores en 2022 (Koontanatechanon y col., 2022).

Al aumento de HDL-c en el modelo *in vivo* empleado puede ser asociado al mecanismo de transporte reverso de colesterol, como proceso compensatorio ante los niveles elevados de colesterol atribuidos a la ingesta de una dieta hipercalórica en grasa, ha sido observado este mecanismo en el estudio de Simo y colaboradores en 2021, en el que se utilizó ratones C57BL/6 con una dieta alta en grasa concluyeron que los ratones sometidos a una dieta alta en grasa (41%) durante 12 semanas muestran la expresión de proteínas relacionadas con el mecanismo de transporte reverso (Simo y col., 2021).

Respecto al efecto de bencimidazolonas sobre el perfil de lípidos no se han realizado estudios hasta la fecha en modelos *in vivo*, no obstante, han sido evaluados el potencial efecto antihiperlipídico de los bencimidazoles en modelos *in vivo*, en un modelo de hiperlipidemia de Tritón WR-1339, en ratas Wistar, en el que 3 derivados evaluados mostraron una disminución en TG, CT, así como el aumento del nivel de HDL (Sheikha y col., 2018).

10.3.3. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre el índice de riesgo aterogénico, Índice de Castelli I e Índice de protección aterogénica

Así como la dieta alta en grasa tuvo un efecto de incremento en el perfil de lípidos, se observó lo mismo en el índice de riesgo aterogénico, el índice de Castelli I, ya que requieren de los valores de HDL-c y colesterol total. En el presente proyecto se obtuvo que el grupo DAG mostró los niveles mayores de IRA e IC I en consecuencia de las alteraciones del perfil de lípidos, lo que coincide con lo reportado en otro estudio de dieta alta en grasa en ratones C57BL/6N mostró que el grupo HFD tiene un IRA mayor que el grupo control (dieta estándar) (Oršolić, Jurčević, y col., 2019).

Por otra parte, la molécula 4FMZ en el grupo 3F mostró un IRA e IC I más bajo incluso que el grupo DE, con resultados significativos contra ambos grupos control, además presentó un índice de protección aterogénica del más del 80%, lo que se atribuye al efecto de la molécula sobre la disminución de los valores del perfil de lípidos previamente descritos.

10.3.4. Efecto de *N*-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la presión arterial

Se ha observado en la semana 16 del estudio un aumento en la presión arterial sistólica, diastólica y la media en el grupo alta en grasa, en conjunto con las alteraciones metabólicas previamente mencionadas, lo que es consistente con los estudios de Delle y colaboradores en 2023, sin embargo, el modelo que utilizaron fue con la cepa C57BL/6JRj con dieta alta en grasa mostró alteraciones en la presión arterial a partir de la semana 12 (Delle, y col., 2023).

El grupo 3F mostró una disminución significativa de la PAS, PAD y la media en comparación con el grupo DE, lo que puede ser atribuido al efecto del tratamiento administrado 4FMZ en una dosis de 100 mg·kg⁻¹. Con relación a las bencimidazolonas en la evaluación de un efecto hipotensor no se ha descrito estudios recientes, pero, se han reportado ensayos utilizando bencimidazoles como el de Iqbal y colaboradores en 2021, en el que utilizaron un modelo murino con animales SHR en la que se evaluó derivados de bencimidazoles, entre ellos C-fluorfenil-benzimidazol, que obtuvo los mejores resultados hipotensores entre los derivados empleados (Iqbal y col., 2021).

También en el año 2020, el equipo de trabajo de Wu y colaboradores evaluó derivados de benzimidazoles de administración oral en ratas esporádicamente hipertensas, entre los derivados con mejor actividad hipotensora, fue un benzimidazol que entre los sustituyentes que presenta está trifluorometil (Wu y col., 2020).

Respecto a los estudios en bencimidazoles mencionados se ha hipotetizado que el efecto hipotensor de los derivados fluorados, se relaciona con la inhibición del receptor de angiotensina II tipo 1 (AT1), debido a su participación en activación del sistema renina angiotensina aldosterona que produce vasoconstricción, retención de NA⁺ e hipertensión.

10.3.5. Efecto de N-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la morfología de hígado

El grupo DAG mostró casi en la totalidad de los hepatocitos la presencia de esteatosis microvesicular, mientras que la esteatosis macrovesicular en poca presencia, por otra parte el grupo DE mostró células normales y con ausencia de esteatosis, lo que se atribuye al tipo de dieta empleado.

Respecto al grupo 3F se encontró en las histologías de hígado en algunos hepatocitos esteatosis microvesicular de menor grado que en el grupo DAG, sin embargo, no se observó esteatosis macrovesicular, lo que sugiere un efecto de la acción de 4FMZ. Es un efecto contrario a lo observado por Cai y colaboradores en 2023, en un estudio realizado en ratones macho C57BL/6J con dieta alta en grasa al 60% de 16 semanas, a los cuales se les administró un activador de glucocinasa que mejoró la tolerancia a la glucosa, sin embargo, mostró a la vez un incremento en la acumulación lipídica en hígado (Cai y col., 2023).

Por lo que se hipotetiza que el derivado de bencimidazolona 4FMZ evaluado en este proyecto, no contribuye al desarrollo de esteatosis macrovesicular en una dieta alta en grasa, posiblemente al no tener una actividad sobre glucocinasa hepática.

10.3.6. Efecto de N-(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona sobre la morfología de páncreas

Las histologías de páncreas en el grupo DAG mostraron hipertrofia en los islotes de Langerhans mientras que las células beta pancreáticas se observó una reducción de ellas, mientras que en el grupo DE no mostró alteraciones estructurales, así como los islotes bien definidos. Esto coincide por lo concluido por el grupo de trabajo de Hull y colaboradores (2005), en el que los ratones que presentaban resistencia a la insulina por efecto de la dieta alta en grasa muestran una reducción de las células beta pancreáticas en la función, pero con una excesiva proliferación aumentado el tamaño de los islotes (Hull y col., 2005).

Sin embargo, en el grupo 3F, se observó una diferencia con el grupo DAG ya que los islotes de Langerhans se encuentran bien definidos y la proporción de las células

beta es aceptable al tamaño del islote, por lo que se le atribuye al efecto de la administración de la 4FMZ.

XI. CONCLUSIONES

11.1. Conclusión general

La 4FMZ, sintetizada mediante calor convencional, presenta efecto hipoglucemiante, hipolipémico e hipotensor a una dosis de 100 mg·kg⁻¹ en ratones C57BL6/N con alteraciones en parámetros del síndrome metabólico.

11.2. Conclusiones específicas

1. Se optimizó la ruta de síntesis mediante calor convencional a 80 °C, con precursor 4-(CF₃)BnBr 0.8 EQ, 35 mL de DMF como disolvente y DIPEA 1.5 eq.
2. La administración de 100 mg·kg⁻¹ de 4FMZ reduce los niveles séricos de glucosa, colesterol total, triglicéridos, VLDL y lípidos totales en ratones C57BL6/N con alteraciones en parámetros del síndrome metabólico, disminuyendo el riesgo de desarrollo del estado hiperglucémico y dislipidemia.
3. La 4FMZ, a una dosis de 100 mg·kg⁻¹, reduce el riesgo aterogénico y el índice de Castelli I y presenta protección aterogénica en ratones C57BL6/N con alteraciones en parámetros del síndrome metabólico, disminuyendo el riesgo de desarrollo de hipertensión arterial.
4. La administración de 4FMZ, a 100 mg·kg⁻¹, reduce la presión arterial sistólica y diastólica en ratones C57BL6/N con alteraciones en parámetros del síndrome metabólico, disminuyendo el riesgo de desarrollo de hipertensión arterial.
5. La 4FMZ, a una dosis de 100 mg·kg⁻¹, reduce la acumulación de lípidos en hígado y mejora las estructuras de células beta pancreáticas en páncreas de ratones C57BL6/N con alteraciones en parámetros del síndrome metabólico.

XII.PERSPECTIVAS DEL PROYECTO

1. Mejorar el rendimiento de la ruta de síntesis por calor convencional de la *N*-(4-triflurometilbencil)bencimidazolona.
2. Analizar la expresión génica de glucocinasa pancreática e insulina en hígado y páncreas en ratones C57BL6/N con alteraciones en parámetros del síndrome metabólico.
3. Caracterizar el mecanismo de acción hipotensor de *N*-(4-triflurometilbencil)bencimidazolona mediante estudios *in silico* de acoplamiento y dinámica molecular.

XIII. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta-Cota, S. de J. (2019). *Efecto del tratamiento con metformina y 4-hidroxicalcona en ratas Wistar macho con hígado graso no alcohólico en un modelo de obesidad y resistencia a insulina* [Doctorado]. Universidad Autónoma de Sinaloa.
- AFIP. (1992). *Laboratory Methods in Histotechnology* (B. E. Prophet, B. Mills, J. B. Arrington, & L. H. Sobin, Eds.; Primera). Armed Forces Institute of Pathology.
- Ahmad, I., Hameed, S., Duddeck, H., Lenzen, S., Rustenbeck, I., & Ahmad, R. (2002). ChemInform Abstract: N-Arylsulfonyl-benzimidazolones as Potential Hypoglycemic Agents. *ChemInform*, 33(33).
<https://doi.org/10.1002/chin.200233133>
- ALAD. (2019). www.revistaalad.com
- Alberti, K. G. M. M., Eckel, R. H., Grundy, S. M., Zimmet, P. Z., Cleeman, J. I., Donato, K. A., Fruchart, J. C., James, W. P. T., Loria, C. M., & Smith, S. C. (2009). Harmonizing the metabolic syndrome: A joint interim statement of the international diabetes federation task force on epidemiology and prevention; National heart, lung, and blood institute; American heart association; World heart federation; International atherosclerosis society; And international association for the study of obesity. In *Circulation* (Vol. 120, Issue 16, pp. 1640–1645).
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644>
- Arrobas Velilla, T., Guijarro, C., Campuzano Ruiz, R., Rodríguez Piñero, M., Valderrama Marcos, J. F., Pérez Pérez, A., Botana López, M. A., Morais López,

- A., García Donaire, J. A., Obaya, J. C., Castilla Guerra, L., Pallares Carratalá, V., Egocheaga Cabello, I., Salgueira Lazo, M., Castellanos Rodrigo, M. M., Mostaza Prieto, J. M., Gómez Doblas, J. J., & Buño Soto, A. (2023). Documento de consenso para la determinación e informe del perfil lipídico en laboratorios clínicos españoles: ¿qué parámetros debe incluir un perfil lipídico básico? *Advances in Laboratory Medicine*, 4(2), 147–156. <https://doi.org/10.1515/almed-2023-0010>
- Ascaso, J. F., Millán, J., Hernández-Mijares, A., Blasco, M., Brea, Á., Díaz, Á., Pedro-Botet, J., & Pintó, X. (2020). Atherogenic Dyslipidaemia 2019. Consensus document of the Atherogenic Dyslipidaemia Group of the Spanish Arteriosclerosis Society. *Clinica e Investigacion En Arteriosclerosis*, 32(3), 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.arteri.2019.11.004>
- Ashcroft, F. M., Lloyd, M., & Haythorne, E. A. (2023). Glucokinase activity in diabetes: too much of a good thing? In *Trends in Endocrinology and Metabolism* (Vol. 34, Issue 2, pp. 119–130). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.tem.2022.12.007>
- Bays, H. E., Kirkpatrick, C., Maki, K. C., Toth, P. P., Morgan, R. T., Tondt, J., Christensen, S. M., Dixon, D., & Jacobson, T. A. (2024). Obesity, dyslipidemia, and cardiovascular disease: A joint expert review from the Obesity Medicine Association and the National Lipid Association 2024. *Obesity Pillars*, 10, 100108. <https://doi.org/10.1016/j.obpill.2024.100108>
- Beyer, A., Reucher, C. M. M., & Bolm, C. (2011). Potassium Hydroxide/Dimethyl Sulfoxide Promoted Intramolecular Cyclization for the Synthesis of Benzimidazol-2-ones. *Organic Letters*, 13(11), 2876–2879. <https://doi.org/10.1021/ol2008878>

- Bovolini, A., Garcia, J., Andrade, M. A., & Duarte, J. A. (2021). Metabolic Syndrome Pathophysiology and Predisposing Factors. *International Journal of Sports Medicine*, 42(3), 199–214. <https://doi.org/10.1055/a-1263-0898>
- Cai, N., Chen, X., Liu, J., Wen, Z., Wen, S., Zeng, W., Lin, S., Chen, Y., Shi, G., & Zeng, L. (2023). Glucokinase activator improves glucose tolerance and induces hepatic lipid accumulation in mice with diet-induced obesity. *Liver Research*, 7(2), 124–135. <https://doi.org/10.1016/j.livres.2023.05.003>
- Castro Quintanilla, D. A., Rivera Sandoval, N., & Solera Vega, A. (2023). Síndrome metabólico: generalidades y abordaje temprano para evitar riesgo cardiovascular y diabetes mellitus tipo 2. *Revista Medica Sinergia*, 8(2), e960. <https://doi.org/10.31434/rms.v8i2.960>
- Cruz Campos, F. J. (2022). Factores de riesgo y síndrome metabólico. *Psic-Obesidad*, 11(44), 27–35. <https://doi.org/10.22201/fesz.20075502e.2021.11.44.84419>
- Delle, C., Cankar, N., Digebjerg Holgersson, C., Hvorup Knudsen, H., Schiøler Nielsen, E., Kjaerby, C., Mori, Y., Nedergaard, M., & Weikop, P. (2023). Long-term high-fat diet increases glymphatic activity in the hypothalamus in mice. *Scientific Reports*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30630-y>
- El Meouchy, P., Wahoud, M., Allam, S., Chedid, R., Karam, W., & Karam, S. (2022). Hypertension Related to Obesity: Pathogenesis, Characteristics and Factors for Control. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Issue 20). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms232012305>

epocrates. (2023a, June 22). *Atorvastatin*.

<https://www.epocrates.com/online/drugs/878/atorvastatin#adult-dosing>

epocrates. (2023b, June 28). *Enalapril*.

epocrates. (2024, April 23). *Metformine*.

<https://www.epocrates.com/online/drugs/787/metformin#adverse-reactions>

Ettahiri, W., El, &, & Essassi, M. (2019). BENZIMIDAZOLONE DERIVATIVES : SYNTHESIS, REACTIVITY AND BIOLOGICAL PROPERTIES LES DERIVES DE LA BENZIMIDAZOLONE : SYNTHESSES, REACTIVITES ET PROPRIETES BIOLOGIQUES. *Journal Marocain de Chimie Hétérocyclique Moroccan Journal of Heterocyclic Chemistry J. Mar. Chim. Heterocycl*, 18.

Fahed, G., Aoun, L., Zerdan, M. B., Allam, S., Zerdan, M. B., Bouferraa, Y., & Assi, H. I. (2022). Metabolic Syndrome: Updates on Pathophysiology and Management in 2021. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 23, Issue 2). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms23020786>

Fragozo-Ramos, M. C. (2022). Síndrome metabólico: revisión de la literatura. *Medicina y Laboratorio*, 26(1), 47–62. <https://doi.org/10.36384/01232576.559>

Freire, R. A. P., & Jara, A. G. P. (2022). Insulin resistance as a triggering factor of dyslipidemia. In *Salud, Ciencia y Tecnología* (Vol. 2). Editorial Salud, Ciencia y Tecnología. <https://doi.org/10.56294/saludcyt2022163>

García-Rocha, K., Capaceta-Osuna, A., Ochoa-Acosta, A., Avena-Bustillos, R. J., Osuna-Martínez, U., Cárdenas-Torres, F. I., Yokoyama, W. H., McHugh, T. H., & Terán-Cabanillas, E. (2023). Upcycled Romaine Lettuce Powder as a Dietary

Supplement for Control of Metabolic Syndrome. *ACS Food Science & Technology*, 3(8), 1393–1402. <https://doi.org/10.1021/acsfoodscitech.3c00204>

Heredia, B. (2023). *Actividad antidiabética in vivo del extracto estandarizado de Echeveria subrigida*. Universidad Autónoma de Sinaloa.

Hull, R. L., Kodama, K., Utzschneider, K. M., Carr, D. B., Prigeon, R. L., & Kahn, S. E. (2005). Dietary-fat-induced obesity in mice results in beta cell hyperplasia but not increased insulin release: evidence for specificity of impaired beta cell adaptation. *Diabetologia*, 48(7), 1350–1358. <https://doi.org/10.1007/s00125-005-1772-9>

Iqbal, H., Verma, A. K., Yadav, P., Alam, S., Shafiq, M., Mishra, D., Khan, F., Hanif, K., Negi, A. S., & Chanda, D. (2021a). Antihypertensive Effect of a Novel Angiotensin II Receptor Blocker Fluorophenyl Benzimidazole: Contribution of cGMP, Voltage-dependent Calcium Channels, and BKCa Channels to Vasorelaxant Mechanisms. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.611109>

Ishikawa, M., Nonoshita, K., Ogino, Y., Nagae, Y., Tsukahara, D., Hosaka, H., Maruki, H., Ohyama, S., Yoshimoto, R., Sasaki, K., Nagata, Y., Eiki, J. ichi, & Nishimura, T. (2009). Discovery of novel 2-(pyridine-2-yl)-1H-benzimidazole derivatives as potent glucokinase activators. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 19(15), 4450–4454. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2009.05.038>

Koontanatechanon, A., Wongphatcharachai, M., Nonthabenjawan, N., Jariyahatthakij, P., Leksrisonpong, P., Srichana, P., Prasopdee, S., Roytrakul, S., Sriyakul, K., Thitapakorn, V., & Pawa, K. K. (2022). The Effects of Increasing Dietary Fat on

- Serum Lipid Profile and Modification of Gut Microbiome in C57BL/6N Mice. *Journal of Oleo Science*, 71(7), 1039–1049. <https://doi.org/10.5650/jos.ess22009>
- Lang, P., Hasselwander, S., Li, H., & Xia, N. (2019). Effects of different diets used in diet-induced obesity models on insulin resistance and vascular dysfunction in C57BL/6 mice. *Scientific Reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55987-x>
- Li, W., Zhang, X., Sun, Y., & Liu, Z. (2020). Recent clinical advances of glucokinase activators in the treatment of diabetes mellitus type 2. In *Pharmazie* (Vol. 75, Issue 6, pp. 230–235). Govi-Verlag Pharmazeutischer Verlag GmbH. <https://doi.org/10.1691/ph.2020.0409>
- Lin, H. Y., Lin, C. H., Kuo, Y. H., & Shih, C. C. (2024). Antidiabetic and Antihyperlipidemic Activities and Molecular Mechanisms of *Phyllanthus emblica* L. Extract in Mice on a High-Fat Diet. *Current Issues in Molecular Biology*, 46(9), 10492–10529. <https://doi.org/10.3390/cimb46090623>
- López, H. S., Enciso, J. E., Ochoa-Terán, A., Velazquez, J. I., & Sarmiento, J. I. (2016). An easy one-step synthesis of imidazolin-2-ones from phthalic anhydrides and their antioxidant evaluation. *Mendeleev Communications*, 26(1), 69–71. <https://doi.org/10.1016/j.mencom.2016.01.027>
- Łukasik, E., & Wróbel, Z. (2016a). Aryliminophosphoranes as Key Intermediates in the One-Pot Synthesis of 1-Aryl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-ones from N-Aryl-2-nitrosoanilines and Carbon Dioxide under Mild Metal-Free Conditions. *Synthesis*, 48(08), 1159–1166. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1561301>

- Łukasik, E., & Wróbel, Z. (2016b). Aryliminophosphoranes as Key Intermediates in the One-Pot Synthesis of 1-Aryl-1,3-dihydro-2H-benzimidazol-2-ones from N-Aryl-2-nitrosoanilines and Carbon Dioxide under Mild Metal-Free Conditions. *Synthesis*, 48(08), 1159–1166. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1561301>
- Marin-González, F. (2024). *Síntesis, caracterización y evaluación de la actividad antibacteriana de oxazinonas* [Licenciatura]. Universidad Autónoma de Sinaloa.
- OMS. (2020). *Diagnosis and Management of Type 2 Diabetes*. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/331710/WHO-UCN-NCD-20.1-eng.pdf>
- Oršolić, N., Jurčević, I. L., Đikić, D., Rogić, D., Odeh, D., Balta, V., Junaković, E. P., Terzić, S., & Jutrić, D. (2019). Effect of Propolis on Diet-induced hyperlipidemia and atherogenic indices in mice. *Antioxidants*, 8(6). <https://doi.org/10.3390/antiox8060156>
- Oršolić, N., Landeka Jurčević, I., Đikić, D., Rogić, D., Odeh, D., Balta, V., Perak Junaković, E., Terzić, S., & Jutrić, D. (2019). Effect of Propolis on Diet-Induced Hyperlipidemia and Atherogenic Indices in Mice. *Antioxidants*, 8(6), 156. <https://doi.org/10.3390/antiox8060156>
- Plaza-López, M. F., Valdez-Flores, M. A., Kousuke de la Herrán-Arita, A., Osuna-Ramos, J. F., Angulo-Rojo, C. E., Guadrón Llanos, A. M., Camberos-Barraza, J., Calderón-Zamora, L., & Norzagaray-Valenzuela, C. D. (2023). Prevalencia del síndrome metabólico y sus componentes en la población adulta de Culiacán, Sinaloa, México. *REVMEDUAS*, 13(4), 367–378. <https://doi.org/10.28960/revmeduas.2007-8013.v13.n4.002>

- Plazas Guerrero, C. G., Acosta Cota, S. D. J., Castro Sánchez, F. H., Vergara Jiménez, M. D. J., Ríos Burgueño, E. R., Sarmiento Sánchez, J. I., Picos Corrales, L. A., & Osuna Martínez, U. (2021). Evaluation of sucrose-enriched diet consumption in the development of risk factors associated to type 2 diabetes, atherosclerosis and non-alcoholic fatty liver disease in a murine model. *International Journal of Environmental Health Research*, 31(6), 651–669. <https://doi.org/10.1080/09603123.2019.1680817>
- Pribut, N., Basson, A. E., Van Otterlo, W. A. L., Liotta, D. C., & Pelly, S. C. (2019). Aryl Substituted Benzimidazolones as Potent HIV-1 Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 10(2), 196–202. <https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.8b00549>
- Quiñonez-Bastidas, G. N., Osuna-Martínez, U., Reda-Licea, A. L., López-Ortíz, M., Regla, I., & Navarrete, A. (2022). Synergistic action between a synthetic cannabinoid compound and tramadol in neuropathic pain rats. *Acta Pharmaceutica*, 72(4), 509–527. <https://doi.org/10.2478/acph-2022-0037>
- Ren, Y., Li, L., Wan, L., Huang, Y., & Cao, S. (2022). Glucokinase as an emerging anti-diabetes target and recent progress in the development of its agonists. In *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* (Vol. 37, Issue 1, pp. 606–615). Taylor and Francis Ltd. <https://doi.org/10.1080/14756366.2021.2025362>
- Rojas-Martínez, R., Aguilar-Salinas, C. A., Romero-Martínez, M., Castro-Porras, L., Gómez-Velasco, D., & Mehta, R. (2021). Trends in the prevalence of metabolic syndrome and its components in Mexican adults, 2006-2018. *Salud Publica de Mexico*, 63(6), 713–724. <https://doi.org/10.21149/12835>

- Saber, A., Sebbar, N. K., Sert, Y., Alzaqri, N., Hökelek, T., El Ghayati, L., Talbaoui, A., Mague, J. T., Baba, Y. F., Urrutigoñty, M., & Essassi, E. M. (2020). Syntheses of N-substituted benzimidazolone derivatives: DFT calculations, Hirshfeld surface analysis, molecular docking studies and antibacterial activities. *Journal of Molecular Structure*, 1200. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127174>
- Santos-Ballardo, C. L., Montes-Ávila, J., Rendon-Maldonado, J. G., Ramos-Payan, R., Montañó, S., Sarmiento-Sánchez, J. I., Acosta-Cota, S. de J., Ochoa-Terán, A., Bastidas-Bastidas, P. de J., & Osuna-Martínez, U. (2023). Design, synthesis, in silico, and in vitro evaluation of benzylbenzimidazolone derivatives as potential drugs on α -glucosidase and glucokinase as pharmacological targets. *RSC Advances*, 13(31), 21153–21162. <https://doi.org/10.1039/d3ra02916f>
- Sendekie, A. K., Netere, A. K., Tesfaye, S., Dagneu, E. M., & Belachew, E. A. (2023). Incidence and patterns of adverse drug reactions among adult patients hospitalized in the University of Gondar comprehensive specialized hospital: A prospective observational follow-up study. *PLoS ONE*, 18(2 February). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0282096>
- Shariq, O. A., & Mckenzie, T. J. (2020). Obesity-related hypertension: A review of pathophysiology, management, and the role of metabolic surgery. *Gland Surgery*, 9(1), 80–93. <https://doi.org/10.21037/gs.2019.12.03>
- Sheikha, G. A., Bkhaitan, M. M., Kalloush, H., Hamadneh, L., Khalaf, R. A., Al-Qirim, T., & Al-Hiari, Y. (2018). Synthesis of Novel Benzimidazole-2-carboxamide Derivatives and in Vivo Antihyperlipidemic Activity Evaluation. In *Chem. Pharm. Bull* (Vol. 66, Issue 4).

- Simo, O. K., Berrougui, H., Fulop, T., & Khalil, A. (2021). The susceptibility to diet-induced atherosclerosis is exacerbated with aging in c57b1/6 mice. *Biomedicines*, 9(5). <https://doi.org/10.3390/biomedicines9050487>
- Stanciu, S., Rusu, E., Miricescu, D., Radu, A. C., Axinia, B., Vrabie, A. M., Ionescu, R., Jinga, M., & Sirbu, C. A. (2023). Links between Metabolic Syndrome and Hypertension: The Relationship with the Current Antidiabetic Drugs. In *Metabolites* (Vol. 13, Issue 1). MDPI. <https://doi.org/10.3390/metabo13010087>
- Tamura, Y., Hayashi, K., Omori, N., Nishiura, Y., Watanabe, K., Tanaka, N., Fujioka, M., Kouyama, N., Yukimasa, A., Tanaka, Y., Chiba, T., Tanioka, H., Nambu, H., Yukioka, H., Sato, H., & Okuno, T. (2013). Identification of a novel benzimidazole derivative as a highly potent NPY Y5 receptor antagonist with an anti-obesity profile. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 23(1), 90–95. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2012.11.005>
- Tinoco, L. A. V., Torres, R. S. L., Villacís, P. A. B., Mora, H. I. A., Rivera, J. A. A., Lloay, A. S. P., Zúñiga, M. M. J., Júpiter, D. M. A., & Guaman, J. D. T. (2022). Arterial hypertension as a cardiovascular risk factor. *Revista Latinoamericana de Hipertension*, 17(6), 410–415. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7406818>
- Tomović, K., Mrmošanin, J., Yancheva, D., Mavrova, A. T., & Šmelcerović, A. (2020). In vitro antioxidant properties of 2-imino-benzimidazole and 1,3-thiazolo[3,2-a]benzimidazolone derivatives. *Acta Facultatis Medicae Naissensis*, 37(4), 381–386. <https://doi.org/10.5937/AFMNAI37-27103>

- Toulis, K. A., Nirantharakumar, K., Pourzitaki, C., Barnett, A. H., & Tahrani, A. A. (2020). Glucokinase Activators for Type 2 Diabetes: Challenges and Future Developments. *Drugs*, 80(5), 467–475. <https://doi.org/10.1007/s40265-020-01278-z>
- Vekic, J., Stromsnes, K., Mazzalai, S., Zeljkovic, A., Rizzo, M., & Gambini, J. (2023). Oxidative Stress, Atherogenic Dyslipidemia, and Cardiovascular Risk. In *Biomedicines* (Vol. 11, Issue 11). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/biomedicines11112897>
- Wiriyā, N., Yamano, D., Hongsibsong, S., Pattarawarapan, M., & Phakhodee, W. (2022). Direct Synthesis of N-Monosubstituted Benzimidazol-2-ones via Ph₃P–I₂-Mediated Reaction of Hydroxamic Acids. *Synlett*, 33(14), 1468–1472. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1719897>
- Wu, Z., Xia, M. B., Bertsetseg, D., Wang, Y. H., Bao, X. L., Zhu, W. B., Tao-Xu, Chen, P. R., Tang, H. S., Yan, Y. J., & Chen, Z. L. (2020). Design, synthesis and biological evaluation of novel fluoro-substituted benzimidazole derivatives with anti-hypertension activities. *Bioorganic Chemistry*, 101. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104042>
- Zafar, U., Khaliq, S., Ahmad, H. U., Manzoor, S., & Lone, K. P. (2018). Metabolic syndrome: an update on diagnostic criteria, pathogenesis, and genetic links. In *Hormones* (Vol. 17, Issue 3, pp. 299–313). Springer. <https://doi.org/10.1007/s42000-018-0051-3>

XIV. ANEXOS

11.1. Documentos complementarios

11.1.1. Información nutricional de LabDiet 5001

Laboratory Rodent Diet

5001*

DESCRIPTION

Laboratory Rodent Diet is recommended for rats, mice, hamsters and gerbils. This diet is a complete life cycle diet formulated using managed formulation, delivering Constant Nutrition®. This is paired with the selection of highest quality ingredients to assure minimal inherent biological variation in long-term studies. It is formulated for life-cycle nutrition; however, it is not designed for maximizing production in mouse breeding colonies. This product has been the standard of biomedical research for over 70 years.

Features and Benefits

- **Managed Formulation delivers Constant Nutrition®**
- High quality animal protein added to create a superior balance of amino acids for optimum performance
- Formulated for multiple species for single product inventory
- The rodent diet standard for biomedical research

Product Forms Available

Product Form Available	Catalog #
• Oval pellet, 3/8" x 5/8" x 1", 50 lb	0001319
• Oval pellet, 3/8" x 5/8" x 1", 15 kg	0006505
• Meal (ground pellets), 15 kg	**0006508
• Meal (ground pellets), 50 lb	0001320

Irradiated Versions Available

Irradiated Versions Available	Catalog #
• 5L0D PicoLab® Laboratory Rodent Diet, Pelleted, Irradiated, 30 lb	3005659-220
• 5L0D PicoLab® Laboratory Rodent Diet, Meal (ground pellets), Irradiated, 30 lb	3005659-020

* For ordering, contact info@LabDiet.com

GUARANTEED ANALYSIS

Crude protein not less than	23.00%
Crude fat not less than	4.50%
Crude fiber not more than	6.00%
Moisture not more than	12.00%
Ash not more than	8.00%

INGREDIENTS

Ground Corn, Dehulled Soybean Meal, Dried Plain Beet Pulp, Fish Meal, Ground Oats, Dehydrated Alfalfa Meal, Brewers Dried Yeast, Cane Molasses, Wheat Germ, Dried Whey, Porcine Animal Fat Preserved with BHA and Citric Acid, Porcine Meat and Bone Meal, Wheat Middlings, Salt, Calcium Carbonate, DL-Methionine, Choline Chloride, Cholecalciferol (Vitamin D3), Vitamin A Acetate, Folic Acid, Menadiolone Dimethylpyrimidinol Bisulfite (Vitamin K), Pyridoxine Hydrochloride, Thiamine Mononitrate, Nicotinic Acid, Calcium Pantothenate, DL-Alpha Tocopheryl Acetate (Vitamin E), Manganous Oxide, Vitamin B12 Supplement, Zinc Oxide, Ferrous Carbonate, Copper Sulfate, Ferrous Sulfate, Riboflavin Supplement, Zinc Sulfate, Calcium Iodate, Cobalt Carbonate, Biotin, Sodium Selenite.

FEEDING DIRECTIONS

Feed ad libitum to rodents. Plenty of fresh, clean water should be available to the animals at all times.

Rats: All rats will eat varying amounts of feed depending on their genetic origin. Larger strains will eat up to 30 grams per day. Smaller strains will eat up to 15 grams per day. Feeders in rat cages should be designed to hold two to three days supply of feed at one time.

Mice: Adult mice will eat up to 5 grams of pelleted ration daily. Some of the larger strains may eat as much as 8 grams per day per animal. Feed should be available on a free choice basis in wire feeders above the floor of the cage.

Hamsters: Adults will eat up to 14 grams per day.

For information regarding shelf life please visit www.labdiet.com.

03/09/22 RHI-E 14

CHEMICAL COMPOSITION¹

Nutrients²

Protein, %	24.1	Fluorine, ppm	15
Arginine, %	1.51	Iron, ppm	240
Cystine, %	0.38	Zinc, ppm	75
Glycine, %	1.24	Manganese, ppm	71
Histidine, %	0.60	Copper, ppm	13
Isoleucine, %	1.03	Cobalt, ppm	0.96
Leucine, %	1.83	Iodine, ppm	1.00
Lysine, %	1.43	Chromium (added), ppm	0.01
Methionine, %	0.60	Selenium, ppm	0.41
Phenylalanine, %	1.06		
Tyrosine, %	0.74		
Threonine, %	0.94		
Tryptophan, %	0.27		
Valine, %	1.12		
Serine, %	1.13		
Aspartic Acid, %	2.71		
Glutamic Acid, %	4.54		
Alanine, %	1.42		
Proline, %	1.43		
Taurine, %	0.03		

Vitamins

Carotene, ppm	2.5
Vitamin K, ppm	1.3
Thiamin, ppm	16
Riboflavin, ppm	4.7
Niacin, ppm	130
Pantothenic Acid, ppm	24
Choline, ppm	1840
Folic Acid, ppm	7.2
Pyridoxine, ppm	6.1
Biotin, ppm	0.30
B ₁₂ , mcg/kg	51
Vitamin A, IU/gm	18
Vitamin D ₃ (added), IU/gm	4.6
Vitamin E, IU/kg	42
Ascorbic Acid, mg/gm	0.0

Fat (ether extract), %

5.1

Fat (acid hydrolysis), %

6.4

Cholesterol, ppm

Linoleic Acid, %

Linolenic Acid, %

Arachidonic Acid, %

Omega-3 Fatty Acids, %

Total Saturated Fatty Acids, %

Total Monounsaturated

Fatty Acids, %

Fiber (Crude), %

5.3

Neutral Detergent Fiber³, %

Acid Detergent Fiber⁴, %

Nitrogen-Free Extract

(by difference), %

Starch, %

Sucrose, %

Total Digestible Nutrients, % 73.0

Gross Energy, kcal/gm 4.08

Physiological Fuel Value⁵,

kcal/gm 3.35

Metabolizable Energy,

kcal/gm 2.86

Minerals

Ash, % 7.2

Calcium, %

Phosphorus, %

Phosphorus (non-phytate), %

Potassium, %

Magnesium, %

Sulfur, %

Sodium, %

Chloride, %

Calories provided by:

Protein, %

Fat (ether extract), %

Carbohydrates, %

1. Formulation based on calculated values from the latest ingredient analysis information. Since nutrient composition of natural ingredients varies and some nutrient loss will occur due to manufacturing processes, analysis will differ accordingly.

2. Nutrients expressed as percent of ration except where otherwise indicated. Moisture content is assumed to be 10.0% for the purpose of calculations.

3. NDF = approximately cellulose, hemicellulose and lignin.

4. ADF = approximately cellulose and lignin.

5. Physiological Fuel Value (kcal/gm) = Sum of decimal fractions of protein, fat and carbohydrate (use Nitrogen Free Extract) x 4,9,4 kcal/gm respectively.

NOTE: When assayed, actual levels may vary from calculated values.

LabDiet
www.labdiet.com

XV. SIGLAS Y ABREVIACIONES

δ : Desplazamiento químico	GLUT2: Transportador de glucosa 2
4FMZ: <i>N</i> -(4-trifluorometil)bencilbencimidazolona	HTA: Hipertensión arterial
Acilo-CoA: Acil coenzima A	HDL: Lipoproteína de alta densidad.
ACS: Grado reactivo	HDL-c: Colesterol de lipoproteína de alta densidad
ADP: Difosfato de adenosina	Hz: Hertzios
AGL: Ácidos grasos libres	IDF: Federación Internacional de Diabetes.
AHA/NHLBI: Asociación Americana del Corazón/Instituto Nacional del corazón, los pulmones y la sangre.	IC I: Índice de Castelli I
ALT: Alanina transferasa	IL-6: Interleucina 6
ANOVA: Análisis de varianza de una vía	IMC: Índice de masa corporal.
AST: Aspartato transferasa	IRA: Índice de riesgo aterogénico
ATP: Trifosfato de adenosina	<i>J</i> : Constante de acoplamiento
CIAD: Centro de Investigación de Alimentos y Desarrollo	mg: miligramo
CT: Colesterol total.	KDa: Kilodalton
DAG: Dieta alta en grasa	kg: Kilogramo
DCM: Diclorometano	LDL-c: Colesterol de lipoproteína de baja densidad.
DE: Dieta estándar	sdLDL: lipoproteína de baja densidad pequeñas densas
DIPEA: <i>N,N</i> -Diisopropiletilamina	Lip tot: Lípidos totales.
DM2: Diabetes mellitus tipo 2	NCEP/ATP: Panel de expertos en detección, evaluación y tratamiento de colesterol alto en adultos.
DDP-4: Dipeptil peptidasa 4	NEt ₃ : Trietilamina
DMF: <i>N,N</i> -Dimetilformamida	NHE3: Intercambiador de sodio-protón 3
DMSO: Dimetilsulfóxido	OMS: Organización Mundial de la Salud.
ECV: Enfermedad cardiovascular	PAD: Presión arterial diastólica.
ERO: Especies reactivas de oxígeno	PAS: Presión arterial sistólica.
eq: Equivalente	PCR: Proteína C reactiva.
FDA: Administración de alimentos y medicamentos	
GLP-1: Péptido similar al glucagón tipo 1	

PPAR γ : Receptor gamma activado por proliferador de peroxisoma

PPh₃: Trifenilfosfina

RAAS: Sistema renina-angiotensina-aldosterona.

RI: Resistencia a la insulina.

SMet: Síndrome metabólico.

TG: Triglicéridos.

TA: Tejido adiposo

TEA: Trietilamina

THF: Tetrahidrofurano

TMSA: Azida de trimetilsilano

TNF- α : Factor de necrosis tumoral α .

UAS: Universidad Autónoma de Sinaloa.

VLDL: Lipoproteína de muy baja densidad