



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICO-BIOLÓGICAS

POSGRADO EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

**“DISEÑO, SÍNTESIS Y EVALUACIÓN *IN SILICO* E *IN VITRO*
DE DERIVADOS DE BENCIMIDAZOLONAS COMO
POTENCIALES COMPUESTOS EN EL USO DEL CONTROL
DE GLUCOSA EN SANGRE”**

TESIS

QUE PRESENTA

M. EN C. CRESS LUMADHAR SANTOS BALLARDO

COMO REQUISITO PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS BIOMÉDICAS

DIRECTORES

DR. LORENZO ULISES OSUNA MARTÍNEZ

DR. JULIO MONTES ÁVILA

CULIACÁN DE ROSALES, SINALOA, MÉXICO A **DICIEMBRE** DE 2023.



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

Este trabajo, está dedicado a mi familia; mis papás, Guadalupe Ballardo López y Marcos Crescenciano Santos Quintero, a mis 5 hermanos: Marco, Hugo, David (el compadre), Rafael y Lupita Irene; a mi esposa que amo con todo el corazón María del Refugio Pérez Pulido, gracias a su apoyo todo esto es posible. Y en especial con todo el cariño, nostalgia y agradecimiento, se dedica este trabajo a la pieza fundamental de todo este proyecto, la persona que creyó en el potencial de todo esto; al Dr. Juan Ignacio Sarmiento Sánchez, un abrazo hasta el cielo y sé que desde allá, estará viendo orgulloso y probablemente renegando de alguna barbaridad que pude decir jajaja, se le quiere como no tiene idea y se le extraña más.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Lorenzo Ulises Osuna Martínez, al Dr. Juan Ignacio Sarmiento Sánchez y al Dr. Julio Montes Ávila por seguir creyendo en mí y darme la oportunidad de seguir formándome como profesional contribuyendo en este grupo de investigación, por toda la paciencia, el apoyo, consejos, conocimientos y experiencia brindada de su parte, los cuales me enseñaron a pensar y ver de manera diferente a la ciencia; pero sobre todo por la amistad y buen ambiente que se creó durante estos años.

Al Laboratorio de investigación en farmacia, farmacología y toxicobiología (LIFFT) (Dr. Lorenzo Ulises Osuna Martínez), al Laboratorio ambiental (Dr. Juan Ignacio Sarmiento Sánchez), al laboratorio de productos naturales (Dr. Julio Montes Ávila) a todos sus integrantes, por darme las herramientas y los espacios necesarios para la realización de este proyecto de investigación. A mis compañeros y amigos del laboratorio MC. Carolina Plazas Guerrero MC. Analy Aispuro Pérez, MC. Valeria Castillo Nieblas, MC. Sonia Leticia Ramírez Varela, Eduardo, Dani, Denisse y a todos los amigos/compañeros/pupilos por todos los consejos, críticas constructivas y conocimientos que me ayudaron a seguir aprendiendo y mejorando académicamente y como persona; además de hacer este arduo trabajo más fácil y divertido. Además de un especial agradecimiento a la Dra. Selene de Jesús Acosta Cota por su amistad, conocimientos y consejos en este trayecto y recordando que prácticamente sin ella no estuviera en este punto, siempre estaré agradecido y espero en algún momento poder colaborar contigo.

A mis padres Marcos Crescenciano Santos Quintero y Guadalupe Ballardo López por seguir apoyándome en este largo transcurso, por comprender ese largo tiempo espera para verlos, por siempre sacrificar todo para darme las herramientas necesarias para dar lo mejor de mí siempre y seguir haciendo cosas importantes, gracias por todas las enseñanzas, consejos, cariño, amor y confianza que han depositado en mí en cada decisión que he tomado en mi vida, por estar ahí en cada logro y en cada derrota, por ser las personas que son y por hacerme la persona que soy, solo me resta decir GRACIAS y LOS QUIERO MUCHO!!!!.

A mis hermanos Marco Antonio, Hugo Alfredo, David Ulises, Rafael Alexander y Lupita Irene por ser los pilares importantes en mi vida y por siempre inspirarme a dar más, por aconsejarme y estar ahí en cada momento de mi vida, simplemente gracias por ser mi familia.

A todos mis amigos, pero en especial a Amílcar Márquez, Martha López, Esthela Barrios, Alexis Beltrán, Enrique Valdez, Susan Ávila, Aracely Ponce, Manuel Pérez, Manue antonie (toñejas jajaja) y todos los que me faltan, por estar presente en todo momento, en los ratos buenos, malos, en los convivios, en los GPI, simplemente gracias por todo su apoyo en este proceso, por preocuparse por mí y seguir estando ahí aun después los años.

Por último y de manera muy especial, quiero agradecer a mi novia María Del Refugio Pérez Pulido, por ser mi fuente más grande de inspiración, por siempre creer en mi incondicionalmente, por motivarme constantemente para seguir creciendo en todo sentido; por mimarme siempre, por regañarme y darme se jalón de orejas necesario para recomponer el camino, por todo lo que me das... eres lo mas importante en mi vida y asi seguirá siendo hasta que se termine... GRACIAS MI PRINCESA... TE AMMMMMMMUUUUUUU DEMACIADISIMO <3.

ÍNDICE GENERAL

	Página
ÍNDICE DE FIGURAS	XIII
ÍNDICE DE CUADROS	XVII
I. RESUMEN	19
II. ABSTRACT	20
III. INTRODUCCIÓN	21
4.1 Generalidades de glucosa en el organismo	23
4.2 Alteraciones en glucemia	23
4.2.1 Mecanismo fisiopatológico de hiperglucemia	24
4.3 Etiopatología de DMII	26
4.5 α -Glucosidasa	30
4.6 α -Amilasa	30
4.7 Mecanismo de acción de α -glucosidasa y α -amilasa	33
4.8 Asociación de α -glucosidasa y α -amilasa en patologías metabólicas	36
4.9 Glucocinasa (GK)	38
4.11 Análisis <i>in silico</i> en la búsqueda de nuevos fármacos en el control de hiperglucemia	42
4.12 Compuestos con potencial uso en el control de hiperglucemia en el organismo	46
4.12.1 Inhibidores de α -glucosidasa y α -amilasa	46
4.12.2 Activadores de GK	49
4.13 Antecedentes	50
4.13.1 Bencimidazolonas	50
4.13.2 Actividades biológicas de bencimidazolonas	50
4.13.3 Métodos de síntesis para bencimidazolonas	53
IV. JUSTIFICACIÓN	56
V. HIPÓTESIS	57
VI. OBJETIVOS	58
6.1. Objetivo general	58
6.2. Objetivos específicos	58
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	59

7.1. Lugar de trabajo	59
7.2. Técnicas analíticas.....	59
8.3 Diseño experimental para ensayos <i>in silico</i> , síntesis, y ensayos <i>in vitro</i>	60
8.4 Ensayos <i>in silico</i>	60
8.4.1 Diseño de derivados de bencimidazonas para ensayos <i>in silico</i>	60
8.4.2 Análisis predictivo de perfil de actividades biológicas (PASS) online.	62
8.4.3 Determinación del perfil ADME de derivados de alquilbencimidazonas	63
8.4.4 Determinación de propiedades toxicológicas predictivas de derivados de alquilbencimidazonas.....	64
8.4.5 Método para la realización del acoplamiento molecular	65
8.5 Método general para la síntesis de bencimidazonas	66
8.6 Ensayos <i>in vitro</i>	68
8.6.1 Evaluación de la actividad inhibidora contra α -glucosidasa.....	68
8.6.2 Evaluación de la actividad inhibidora contra α -amilasa.	69
8.6.3 Evaluación de la actividad activadora contra glucocinasa.....	70
8.7 Análisis estadístico.....	71
VIII. RESULTADOS.....	72
9.2 Determinación de la predicción del perfil PASS de derivados de alquilbencimidazonas	72
9.3 Determinación del perfil ADME de derivados de alquilbencimidazonas 75	
9.4 Determinación de las propiedades toxicológicas de derivados de alquilbencimidazonas mediante admetSAR.....	77
9.5 Estudio de acoplamiento molecular de alquilbencimidazonas sobre α - glucosidasa	79
9.6 Estudio de acoplamiento molecular de alquilbencimidazonas sobre α - amilasa.....	83
9.7 Estudio de acoplamiento molecular de alquilbencimidazonas sobre glucocinasa	83
9.8 Estandarización de la ruta de síntesis de derivados de bencimidazonas 89	
9.11.- Evaluación de la actividad antihiper glucemiante <i>in vitro</i> de derivados de bencilbencimidazonas.	129

9.11.1.- Evaluación de la actividad inhibidora <i>in vitro</i> de derivados de bencilbencimidazolona contra α -glucosidasa	129
9.11.2.- Evaluación de la actividad inhibidora <i>in vitro</i> de derivados de bencilbencimidazolona contra α -amilasa	131
9.12.- Evaluación de la actividad hipoglucemiante <i>in vitro</i> de derivados de bencilbencimidazolonas.	133
9.12.1.- Evaluación de la actividad activadora <i>in vitro</i> de derivados de bencilbencimidazolona contra glucocinasa.....	133
X. DISCUSIÓN.....	136
10.1 Estudios predicción del espectro de actividades para sustancias (PASS) de derivados de bencilbencimidazolonas	136
10.2 Estudios predicción de perfil ADME de derivados de bencilbencimidazolonas	138
10.3 Estudios predicción de propiedades toxicológicas de derivados de bencilbencimidazolonas	139
10.4 Estudios de acoplamiento molecular de derivados bencilbencimidazolonas sobre α -glucosidasa	141
10.5 Estudios de acoplamiento molecular de derivados bencilbencimidazolonas sobre α -amilasa	143
10.6 Estudios de acoplamiento molecular de derivados bencilbencimidazolonas sobre glucocinasa	145
10.7 Estandarización de ruta de síntesis de derivados de bencilbencimidazolonas	147
10.8 Síntesis de derivados de bencilbencimidazolonas con mejor perfil <i>in silico</i> mediante calor convencional.....	148
10.9 Evaluación de la actividad inhibidora de derivados de bencilbencimidazolonas sintetizados contra α -glucosidasa	150
10.10 Evaluación de la actividad inhibidora de derivados de bencilbencimidazolonas sintetizados contra α -amilasa.....	153
10.11 Evaluación del efecto activador de derivados de bencilbencimidazolonas sintetizados contra glucocinasa.....	154
XI. CONCLUSIONES.....	158
XII. PERSPECTIVAS DEL PROYECTO	160
XIII. BIBLIOGRAFÍA.....	161
XIV. ANEXOS	176
11.1. Productos académicos	176

XV.	SIGLAS Y ABREVIACIONES	183
------------	-------------------------------------	------------

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Asociación de la hiperglucemia en patologías de carácter metabólico.	25
2	Estructura, distribución y función en el cuerpo humano de α -glucosidasa.	31
3	Estructura cristalizada de α -glucosidasa.	32
4	Estructura, distribución y función en el cuerpo humano de α -amilasa.	34
5	Estructura cristalizada de α -amilasa.	35
6	Mecanismo general de acción de enzimas intestinales.	37
7	Estructura de enzima GK y distribución en el organismo.	39
8	Mecanismo de acción GK pancreática.	41
9	Herramientas <i>in silico</i> para el desarrollo de nuevos fármacos.	43
10	Generalidades del núcleo de bencimidazolonas.	51
11	Variaciones en los componentes de las rutas sintéticas para la generación de bencimidazolonas.	55
12	Estrategia experimental de ensayos <i>in silico</i> , síntesis y ensayos <i>in vitro</i>	61
13	Esquema de síntesis de derivados de benzimidazolonas mediante la combinación de irradiación por microondas y calor convencional.	67

14	Interacciones de los compuestos 2t (a), 2q (b) y 2i (c) con el sitio activo de α -glucosidasa.	82
15	Interacciones de los compuestos 2k (a), 2p (b) y 2q (c) con el sitio activo de α -amilasa.	86
16	Interacciones de los compuestos 2j (a), 2k (b) y 2q (c) sobre el sitio alostérico de glucocinasa.	90
17	Espectro de resonancia magnética nuclear de protones (^1H -RM) del núcleo de bencimidazolona.	96
18	Cromatograma de gases en modalidad de ionización química positiva del núcleo de bencimidazolonas.	97
19	Cromatograma de gases en modalidad de ionización química positiva prueba inicial de síntesis del compuesto 2j.	99
20	Cromatograma de gases en modalidad de ionización química positiva de reacción en crudo del compuesto 2j.	102
21	Cromatograma de gases en modalidad de ionización positiva del compuesto 2j.	106
22	Cromatograma de gases en modalidad de ionización positiva del compuesto 2l.	108
23	Cromatograma de gases en modalidad de ionización positiva del compuesto 2p.	109
24	Cromatograma de gases en modalidad de ionización positiva del compuesto 2k.	110
25	Cromatograma de gases en modalidad de ionización positiva del compuesto 2q.	111

26	Cromatograma de gases en modalidad de ionización positiva del compuesto 2s.	112
27	Espectro de ^1H -RMN del compuesto 2j.	114
28	Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto 2j.	115
29	Espectro de ^1H -RMN del compuesto 2l.	117
30	Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto 2l.	118
31	Espectro de ^1H -RMN del compuesto 2p.	119
32	Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto 2p.	121
33	Espectro de ^1H -RMN del compuesto 2k.	122
34	Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto 2k.	123
35	Espectro de ^1H -RMN del compuesto 2q.	125
36	Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto 2q.	126
37	Espectro de ^1H -RMN del compuesto 2s.	127
38	Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto 2s.	128

39	Relación estructura-actividad de los compuestos 2l, 2j y 2k.	152
40	Comparación de relación estructura-actividad de los compuestos 2j y 2q.	155
41	Propuesta del mecanismo de acción de bencimidazolonas para la activación de GK pancreática	157

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Lista de sustituyentes de compuestos alquilbencimidazolonas.	73
2	Relación de actividades biológicas encontradas en PASS de los derivados de alquilbencimidazolonas.	75
3	Análisis de las propiedades fisicoquímicas, farmacocinéticas y drug-likeness de los derivados de alquilbencimidazolonas.	76
4	Relación de las propiedades toxicológicas presentadas por los derivados de alquilbencimidazolonas.	78
5	Análisis de acoplamiento molecular (valores de energía de unión y perfil de aminoácidos de sitio activo) de alquilbencimidazolonas con mejor actividad sobre α-glucosidasa.	80
6	Análisis de acoplamiento molecular (valores de energía de unión y perfil de interacciones en sitio activo) de alquilbencimidazolonas con mejor actividad sobre α-amilasa.	84
7	Análisis de acoplamiento molecular (valores de energía de unión y perfil de interacciones en sitio activo) de alquilbencimidazolonas con mejor actividad sobre glucocinasa.	87
8	Efecto del disolvente en la ruta de síntesis para la obtención del núcleo de bencimidazolonas	92
9	Efecto de la temperatura en la ruta de síntesis para la obtención del núcleo de bencimidazolonas	93

10	Efecto del tiempo en la ruta de síntesis para la obtención del núcleo de bencimidazonas.	94
11	Rendimiento aislado del compuesto 2j utilizando variaciones de tiempo y temperatura.	99
12	Rendimiento aislado del compuesto 2j mono y disustituido posterior a purificación por cromatografía por columna.	104
13	Rendimiento aislado del compuesto 2l, 2p, 2k, 2q y 2s posterior a purificación por cromatografía por columna.	105
14	Actividad inhibidora de derivados 2j, 2k, 2l, 2p, 2q, 2s y acarbosa contra α-glucosidasa.	130
15	Actividad inhibidora de derivados de 2j,2l, 2p, 2q, 2s y acarbosa contra α-amilasa.	132
16	Efecto activador de derivados 2j, 2k, 2l y 2q contra la enzima glucocinasa.	135

I. RESUMEN

La hiperglucemia es un estado fisiológico normal, donde los niveles de glucosa se elevan por encima de los niveles normales; el cual si no es controlado de manera adecuada puede mantenerse de manera crónica y asociarse a enfermedades metabólicas. Dentro de los compuestos con potencial control de glucemia, se encuentran las bencimidazonas, debido a presentar antecedentes de actividades antihiperglucemiantes e hipoglucemiantes. Por lo que se realizó un análisis predictivo de propiedades asociadas a farmacocinética, actividades biológicas y toxicológicas, así como un estudio *in silico* mediante acoplamiento molecular, delimitando el proceso de síntesis, el cual se realizó mediante una combinación de irradiación con microondas y calor convencional para obtener derivados de alquilbencimidazonas. Los ensayos *in vitro* se realizaron mediante ensayos espectrofotométricos a 580 nm (α -amilasa), 405 nm (α -glucosidasa) y 450 nm (glucocinasa), para observar su potencial inhibidor y/o activador. Los resultados obtenidos en los ensayos *in silico* muestran que 6 de los 22 compuestos diseñados, son potenciales para el proceso de síntesis, esto debido a los buenos valores de energía de unión (EU) y un perfil de interacciones con enlaces con residuos de aminoácidos catalíticos; de la misma forma, el análisis predictivo mostró que estos compuestos tienen probabilidad de presentar actividades relacionadas con el control de glucemia hasta 60% (sugiriendo ser buen promotor de insulina). El perfil farmacocinético mostró que ninguno de los compuestos, presentó fallos en los filtros de Lipinski, sugiriendo una buena biodisponibilidad oral. A su vez, la evaluación de las posibles propiedades toxicológicas, mostraron que todos los compuestos evaluados presentaban probabilidad de generar hepatotoxicidad (> 80%); sin embargo, estas propiedades tienen que ser consideradas y evaluadas según las dosis que se plantean utilizar en ensayos posteriores. Los compuestos con mejor perfil *in silico* se sintetizaron con una combinación de irradiación por microondas (para formación de núcleo de bencimidazonas) y calor convencional para el proceso de alquilación estableciéndose como condiciones el uso de *N,N*-dimetilformamida (DMF) como disolvente, K_2CO_3 como base, 70 °C por un tiempo de 24 h; generando compuestos con un rendimiento de 23-38% realizando su confirmación molecular estudios espectroscópicos y espectrométricos. Los resultados de la evaluación *in vitro* contra las enzimas intestinales muestran que los compuestos **2j**, **2k**, **2l** y **2q**, presentaron valores de inhibición moderado contra estas enzimas con valores de 3-36%, en el caso del potencial activador de glucocinasa, los compuestos **2j** y **2q**, presentaron un aumento en la actividad enzimática de 1.31-2.83 y 1.96-3.74 veces más que la actividad enzimática normal respectivamente (a 100 y 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). Sugiriendo que estos compuestos presentan un buen potencial para el control de glucemia.

(Palabras clave: *Bencimidazonas, antihiperglucemiante, hipoglucemiante.*)

II. ABSTRACT

The hyperglycemia a normal physiological state, where the glucose levels rise above 80-100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; alterations regulation of the levels of this compound by hormones like insulin, could generate chronic states and associate to multiorgan damage and metabolic disease. Within the compounds with potential in the glycemia control, we found the benzimidazolones, this family of heterocyclic compounds, are associate with antihyperglycemic and hypoglycemia activities. Because of this information, the design and *in silico* evaluation of benzimidazolones derivatives was made. The *in silico* evaluation was performed by molecular docking and predictive analysis of biological, toxicological and pharmacokinetic properties; with the aim to delimitate the synthesis of benzimidazolones derivatives. The synthesis of this family of compounds was made by a combination of microwave irradiation and conventional heat conditions. The *in vitro* assays were performed by spectrophotometric studies at 580 nm (α -glucosidase), 405 nm (α -amylase) and 450 nm (glucokinase), to determinate the inhibitor and/or activator potential of this compounds. The results obtained in the *in silico* evaluation showed that 6 of 23 benzimidazolone derivatives designed, have good potential to synthesize them, because of the good affinity energy values (EV) and interaction profile with catalytic amino acids residues; besides, the predictive analysis showed that benzimidazolones derivatives have probabilities to present biological activities related to glucose control up to 60% (suggesting to be a good insulin promoter). The pharmacokinetic profile showed that any of these compounds, presented failures in the Lipinski rule of five parameters, suggesting a good oral bioavailability. At the same time, the predictive toxicological analysis showed that all the benzimidazolones derivatives, present high probabilities of generate hepatotoxic damage (> 80%); however, these properties need to be evaluated according to the dosage and exposure time to the compound; that will be evaluated in further studies. The benzimidazolones derivatives with the best *in silico* profile, were synthesized with a microwave irradiation and conventional heat combination for the alkylation process; using DMF as solvent, K_2CO_3 as base at 70° C for 24 h; generating derivatives with yields 23-38%; and performing a structural confirmation by spectroscopic and spectrometric studies. The results of *in vitro* evaluation against intestinal enzymes, showed that the **2j**, **2k**, **2l**, and **2q** present low to moderated inhibition activity with values of 3-36%. Otherwise, the results in the activation of glucokinase assay, the **2j** and **2q**, showed an increase of the enzymatic activity of 1.31 to 2.83 and 1.96 to 3.74-fold respectively (at 100 y 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). These results suggest that the compounds **2j** and **2q** present a good potential in the blood glucose control.

(**Keywords:** *Benzimidazolone, antihyperglycemic, hypoglycemic*).

III. INTRODUCCIÓN

La hiperglucemia, es un proceso fisiológico donde los niveles de glucosa en el organismo sobrepasan los niveles considerados normales (80-100 mg·dl⁻¹), este estado es considerado normal después de la ingesta de alimentos y es controlado por hormonas reguladoras como la insulina que permiten volver a valores basales a las 2 horas postprandiales (Grossman y Porth 2014).

Cuando existen alteraciones en la producción y acción de estas hormonas, combinado un estilo de vida sedentario y mala alimentación, los niveles altos de glucosa pueden mantenerse por tiempos prolongados derivando a enfermedades metabólicas como diabetes mellitus tipo 2 (DMII); siendo esta una enfermedad de gran impacto en salud pública (Colwell, 2011).

Una de las estrategias para contrarrestar los efectos ocasionados por la hiperglucemia, consiste en combinar una dieta balanceada con tratamientos farmacológicos que ayuden a controlar estos niveles. Los compuestos utilizados para estos propósitos generan su acción por diferentes mecanismos, ya sea inhibiendo o activando moléculas de interés en el desarrollo de esta patología como α -glucosidasa, α -amilasa y glucocinasa (GK) (Gomez-Peralta *et al.*, 2018).

Sin embargo, el proceso de desarrollo de estos compuestos es muy largo, complicado y sin la garantía de presentar una actividad biológica contra estos blancos terapéuticos; por lo que, en este tipo de procesos, el uso de análisis *in silico* como el acoplamiento molecular (Docking) y estudios predictivos de actividades biológicas y/o

toxicológicas, otorgan una excelente herramienta para complementar y solucionar las complicaciones antes mencionadas (Ripphausen *et al.*, 2011).

En la actualidad, existen familias de compuestos que han presentado actividad contra estas dianas terapéuticas, tales como compuestos *N*-sustituidos polihidroxiados, ciclo-alquenos polihidroxiados, oligómeros de pseudoazúcares, entre otras; sin embargo, estos fármacos presentan efectos adversos que pueden deteriorar la calidad de vida de los pacientes, además de existir pocos compuestos en el mercado que cumplan esta función (Kwon *et al.*, 2008). Aunado a estos compuestos, diversos estudios indican que algunos derivados de imidazoles y bencimidazonas han demostrado una excelente acción farmacológica; sin embargo, algunos de estos compuestos necesitan de más estudios de relación estructura actividad (SAR) para corroborar su actividad (Liu & Ma, 2017a).

Basados en estos estudios y a la creciente problemática que implica la DMII a nivel mundial y en México, en nuestro grupo de investigación se ha propuesto la síntesis de nuevos derivados de bencimidazonas como molécula con potencial uso en el control de los niveles de glucemia; esto debido a que esta clase de compuestos presentan actividad antihiper glucemiante al inhibir las enzimas α -glucosidasa y α -amilasa; además de presentar en su estructura, átomos de relevancia biológica para generar efectos hipoglucemiantes.

Por lo cual, en nuestro grupo de trabajo, se busca sintetizar y evaluar derivados de bencimidazonas, los cuales son compuestos heterocíclicos a los que se les han atribuido actividades antihiper glucemiantes e hipoglucemiantes, (Liang *et al.*, 2019a; Xu *et al.*, 2019a).

REVISIÓN DE LITERATURA

4.1 Generalidades de glucosa en el organismo

La glucosa, es un monosacárido que es considerada como una aldosa; ya que contiene un grupo carbonilo (aldehído) al extremo de la molécula. Esta sustancia, es considerada una de las más importantes para la vida, ya que participa en los principales procesos de obtención de energía y es responsable de suministrar los requerimientos energéticos para el crecimiento y reproducción (Galant *et al.*, 2015).

De forma normal, esta aldosa presenta una absorción directamente al torrente sanguíneo para su posterior distribución a órganos con necesidad energética importante, por ejemplo; el sistema nervioso, el cual depende casi exclusivamente de la glucosa para cubrir sus demandas energéticas; además, la glucosa es usada como fuente energética opcional de tejidos como el músculo, tejido adiposo e hígado (Grossman y Porth 2014).

Como se mencionó anteriormente, dentro del organismo, la presencia de esta fuente energética es vital, encontrándose de manera normal en valores de glucemia de 80-100 mg·dl⁻¹, dichas concentraciones pueden incrementar después de ingesta de alimentos; sin embargo, con la acción de hormonas pancreáticas como la insulina, estos niveles regresan a sus niveles basales después dos horas de la ingesta (Grossman y Porth 2014).

4.2 Alteraciones en glucemia

Una de las principales causas de alteraciones en homeostasis de la glucosa, son fallas en los mecanismos de producción, secreción y acción de hormonas como la

insulina; que combinado con un estilo de vida sedentario y mala alimentación, los niveles de glucosa se mantienen por encima de los valores considerados como normales por tiempos prolongados (estados de hiperglucemia), presentándose algunas complicaciones que generan afecciones en todo el organismo; lo cual, puede derivar a enfermedades como síndrome metabólico, enfermedades cardiovasculares y DMII, en la **figura 1** se muestra un esquema de la asociación de este estado con enfermedades metabólicas (Maresch *et al.*, 2018). Debido a la relevancia de la hiperglucemia, se abordará el mecanismo fisiopatológico de esta afección.

4.2.1 Mecanismo fisiopatológico de hiperglucemia

La hiperglucemia es un proceso fisiológico normal en el organismo, el cual sucede, principalmente cuando existe una ingesta de alimentos ricos en hidratos de carbono; los cuales, son degradados por algunas enzimas digestivas (familia hidrolasas), generando moléculas de glucosa las cuales son absorbidas por las células endoteliales del intestino mediante un mecanismo de cotransporte dependiente de sodio (Maresch *et al.*, 2018). Una vez en el torrente sanguíneo, los niveles de glucosa aumentan movilizándose a los tejidos donde se necesite de energía mediante las proteínas facilitadoras del transporte de glucosa (GLUT), las cuales a su vez se relacionan con la acción de hormonas reguladoras como la insulina, ya que el efecto de esta hormona facilita la traslocación de GLUT2 a membrana celular, para la captación de glucosa en los tejidos (Röder *et al.*, 2016).

El proceso de síntesis de insulina presenta un comportamiento concentración-dependiente, donde a concentraciones elevadas de glucosa en el torrente sanguíneo,

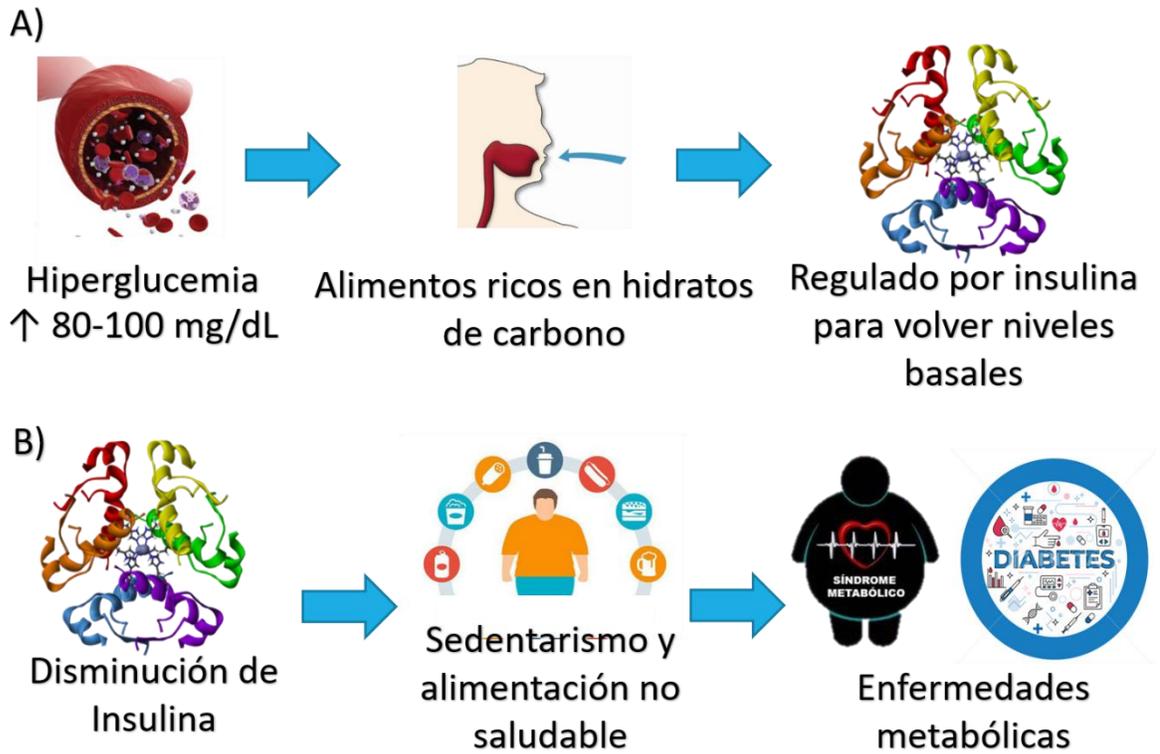


Figura 1. Asociación de la hiperglucemia en patologías de carácter metabólico.

A) La hiperglucemia es un estado fisiológico normal, principalmente después de la ingesta de alimentos ricos en hidratos de carbono; siendo controlado por hormonas reguladoras como insulina. B) Cuando existen alteraciones en la acción de estas hormonas, complementado con un mal estilo de vida, el estado de hiperglucemia se mantiene de forma crónica, asociándose a enfermedades metabólicas (Maresch *et al.*, 2018).

existe una mayor expresión de proteínas GLUT2 de las células β pancreáticas permitiendo la entrada de esta molécula, iniciando el proceso de glucolisis en esta célula; desencadenando procesos de glucogenólisis que conllevan a la despolarización de la membrana; activación de canales de calcio y la liberación de insulina. La acción de esta hormona se realiza mediante la unión a su receptor específico y la fosforilación del sustrato del receptor de insulina 1 (IRS1) (Yaribeygi *et al.*, 2019). Cuando existe un fallo en la acción de esta hormona (error en la fosforilación de IRS1), hay una inhibición de la transducción de la señal insulínica, determinando una menor translocación del GLUT4 desde el citosol a la membrana celular, disminuyendo así la captación de la glucosa sanguínea, promoviendo un estado de hiperglucemia por tiempos prolongados (Plazas Guerrero *et al.*, 2021).

Debido a la naturaleza de este padecimiento, la hiperglucemia es considerada como factor de riesgo importante para enfermedades de relevancia mundial como DMII, por lo que se abordará a continuación.

4.3 Etiopatología de DMII

La DMII representa aproximadamente el 90-95% de las personas con diabetes mellitus y es considerada como una enfermedad heterogénea que involucra una etiología multigénica, y es caracterizada por la combinación de una resistencia a la insulina y un progresivo deterioro de las células β pancreáticas, ocasionando una secreción alterada de dicha hormona, incrementando la producción de glucosa hepática como resultado de un aumento en los procesos de gluconeogénesis y glucogénolisis (Zadhoush *et al.*, 2015).

Una de las primeras manifestaciones de esta enfermedad es la prolongación de los estados de hiperglucemia de manera postprandial (niveles de glucosa presentados dos horas después de haber ingerido los alimentos), aunado con una progresiva resistencia a la insulina. Estas complicaciones, generan una hipertrofia compensatoria de los islotes pancreáticos, pero eventualmente una producción insuficiente de insulina para controlar estos estados (Röder *et al.*, 2016).

La liberación de insulina promueve el ingreso de glucosa a los tejidos energéticamente necesitados, esto mediante una estimulación positiva por parte de los niveles altos de glucosa en sangre, los cuales hacen que la insulina secretada por las células β , se una a los receptores en la superficie de las células, una vez dentro del sitio del receptor, dos subunidades α extracelulares se unen a la insulina transmitiendo una señal a dos subunidades β intracelulares (dentro de la enfermedad puede existir una afinidad de unión normal o ligeramente disminuida) (Petersen & Shulman, 2018). Después del proceso de unión, la subunidad β del receptor es fosforilada, incrementando la actividad de la tirosina cinasa y potenciando la fosforilación de varios sustratos de proteínas endógenas, lo cual resulta en una cascada de señalización responsable de la síntesis de RNA, DNA, proteínas y enzimas intracelulares; a la par de todo este proceso, la producción de glucosa hepática es suprimida y la glucosa es ingresada a los tejidos periféricos (Röder *et al.*, 2016).

Las personas con esta enfermedad presentan una desregulación en glucemia, ya que, a pesar de los altos niveles de insulina producidos por el páncreas, generan glucosa hepática excesiva, donde la combinación de la producción de esta molécula en hígado y la rápida hiperinsulinemia provocan una resistencia a la insulina en estos

individuos (Petersen & Shulman, 2018). Uno de los efectos más importantes de esta hormona, es su efecto en la distribución de la glucosa; el cual, se lleva a cabo mediante dos familias de proteínas de membranas, los transportadores de glucosa acoplados a sodio (SGLT) y transportadores GLUT; los primeros se expresan principalmente en epitelios que se encargan de la absorción y de la reabsorción de nutrientes, tales como, el epitelio del intestino delgado y del epitelio tubular renal respectivamente (Deng & Yan, 2016).

Por otro lado, los transportadores GLUT, se expresan en todas las células del organismo; encontrándose alojadas en vesículas intracelulares, las cuales son trasladadas a la superficie de esta, insertándose en la membrana permitiendo el ingreso de glucosa a la célula; después de una estimulación de la hormona insulina (Codario, 2011). Además, representan el principal mecanismo de entrada de la glucosa a los tejidos, presentando esta acción mediante procesos de difusión facilitada; actualmente, se conocen 14 tipos de transportadores GLUT, dentro de los cuales destacan el transportador GLUT2 y GLUT4, localizándose en células β pancreáticas, hígado, riñón, intestino delgado y tejidos sensibles a la insulina como adipocitos, músculos esquelético y cardíaco, y son los responsables del ingreso de glucosa y sus efectos (Codario, 2011; Deng & Yan, 2016).

Las personas con DMII, generalmente presentan niveles normales de estos transportadores; sin embargo, estos no cumplen su función correctamente, ya que existe una falla en su translocación en la superficie celular, lo cual se traduce en una vía de señalización defectuosa entre el receptor y la estimulación del transportador resultando en una resistencia a la insulina, siendo esta una de las principales causas

de los niveles elevados de glucosa en sangre presentados en esta enfermedad (Yaribeygi *et al.*, 2019).

Una de las estrategias para contrarrestar los efectos ocasionados por la concentración elevada de glucosa en sangre, consiste en suplementar una dieta balanceada y actividad física con tratamientos farmacológicos que ayuden a controlar los niveles de glucosa en sangre. Los diferentes compuestos utilizados para estos propósitos generan su acción por diferentes mecanismos, ya sea inhibiendo o activando moléculas de interés en el desarrollo de esta patología (Gomez-Peralta *et al.*, 2018b).

Algunos de estos mecanismos incluyen el bloqueo de alguna de las vías que contribuyen a aumentar la concentración de glucosa en sangre, esto mediante la inhibición de enzimas claves para la digestión de hidratos de carbono como α -glucosidasa y α -amilasa. De la misma forma; existen compuestos que ayudan a controlar estos estados mediante la activación de enzimas como GK (hexoquinasa IV) que favorecen el metabolismo de glucosa y la secreción de insulina (Charaya *et al.*, 2018a; Liu & Ma, 2017b).

Aunado a estas moléculas, existen diferentes compuestos que pueden ser posibles blancos terapéuticos para el tratamiento de este tipo de patologías; por lo que conocer acerca de estas dianas resulta de gran importancia; debido a esto, se abordaran acerca de las enzimas α -glucosidasa, α -amilasa y GK.

4.5 α -Glucosidasa

La enzima α -glucosidasa, se encuentra presente en una amplia gama de seres vivos donde destacan microorganismos, hongos, plantas y animales donde la especificidad por su sustrato y propiedades depende en gran parte de la naturaleza de la enzima (Roig-Zamboni *et al.*, 2017).

En el cuerpo humano, esta enzima se encuentra presente en dos isoformas; EC 3.2.1.3 y EC 3.2.1.20, ambas codificadas por el gen de alfa glucosidasa ácida (GAA), el cual se localiza en la región q25 del cromosoma 17 y se sintetiza como un precursor de 110 kDa (**figura 2**), presenta un carácter ácido y, como se mencionó anteriormente, cumple la función de hidrolizar enlaces α 1,4 y 1,6 de diferentes hidratos de carbono, liberando como producto unidades de glucosa (Moreland *et al.*, 2012a; Yoshimizu *et al.*, 2008; Zeng *et al.*, 2012a).

La isoforma EC 3.2.1.3 (**figura 3**), se encuentra presente en todas las células del organismo, realizando funciones propias de catabolismo y biosíntesis de glucoconjugados en los lisosomas (Kakavanos *et al.*, 2006); mientras que la isoforma EC 3.2.1.20, está presente en las vellosidades del intestino delgado realizando funciones de degradación de hidratos de carbono en la etapa final de la digestión (Dhameja & Gupta, 2019; Roig-Zamboni *et al.*, 2017).

4.6 α -Amilasa

Al igual que α -glucosidasa, α -amilasa pertenece a la familia de glucósido hidrolasas (GH) y tienen la función de catalizar la hidrólisis al azar de los enlaces α -1,4 glucosídicos de la región central de la cadena de polisacáridos como amilosa,

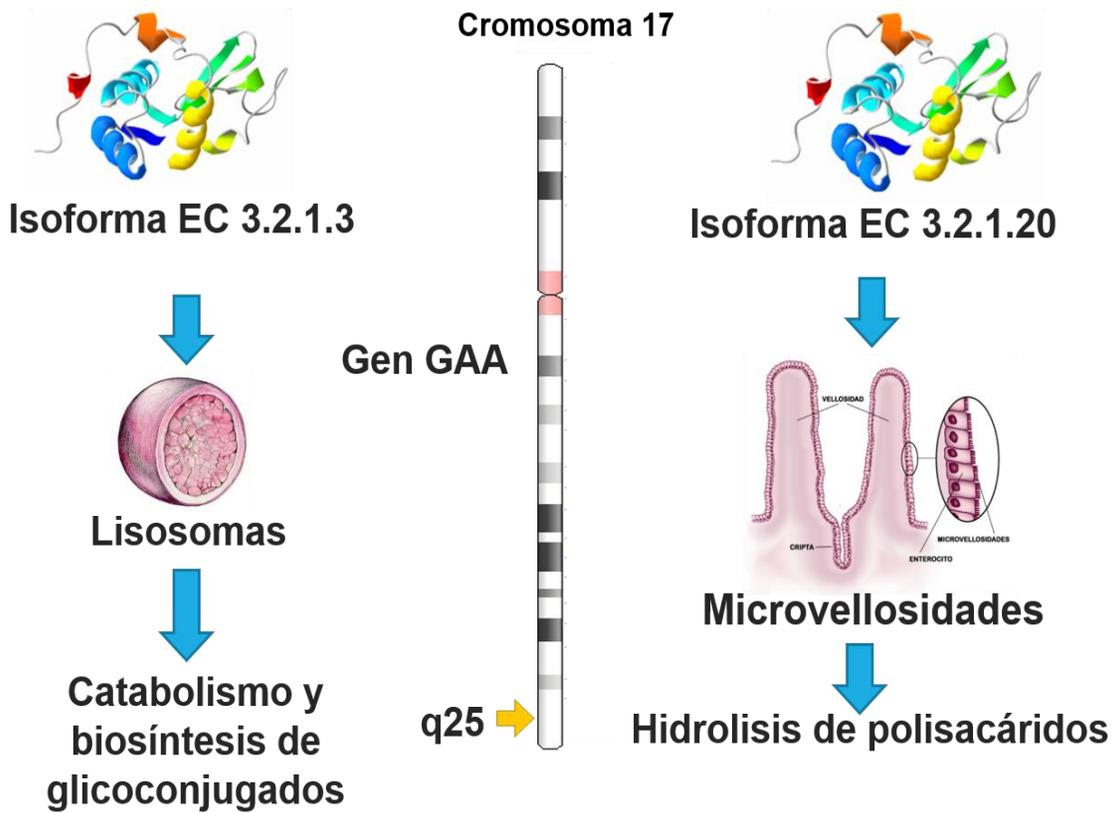


Figura 2. Estructura, distribución y función en el cuerpo humano de α -glucosidasa. Se observan las isoformas presentes para esta enzima, las cuales se codifican en región q25 del cromosoma 17, presentando ubicaciones y funciones específicas (Moreland *et al.*, 2012).

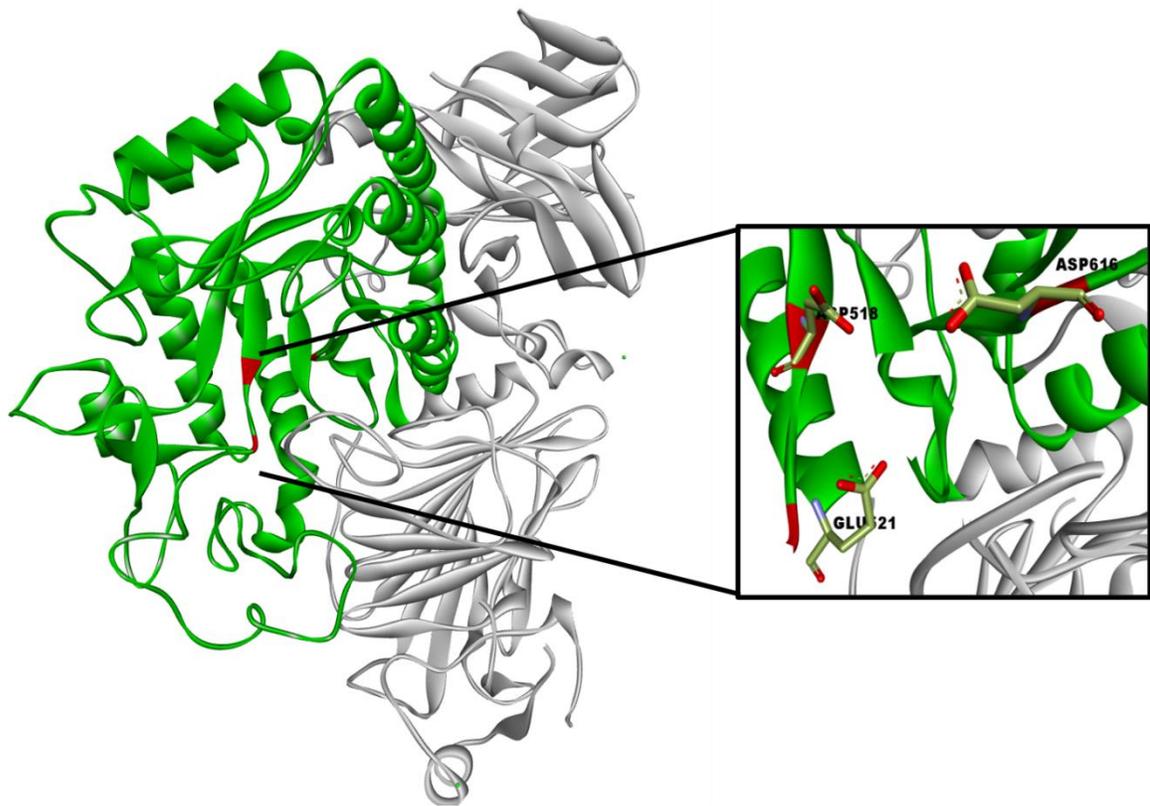


Figura 3. Estructura cristalizada de α -glucosidasa. Se presenta la visualización tridimensional de la enzima con un total de 952 residuos de aminoácidos, donde se muestra el sitio activo que comprende de los residuos 358-720 (verde) y los residuos correspondientes de la triada catalítica (ASP518, GLU521 y ASP616) en rojo (Dhameja & Gupta, 2019).

amilopectina, glucógeno y almidón, obteniendo como resultado hidratos de carbono de menor tamaño como glucosa, maltosa, entre otros. Esta enzima se encuentra distribuida ampliamente en la naturaleza a lo largo del reino *plantae*, microbiano y animalia, esta proteína se ha purificado y caracterizado de diversos organismos eucariotas, arqueas y procariontas (Shukla *et al.*, 2015).

Al igual que α -glucosidasa, esta enzima es codificada por dos genes de amilasa (AMY); AMY1 (subdividido en AMY1A, AMY1B, AMY1C) y AMY2 (el cual se divide en AMY2A y AMY2B), los cuales se ubican en la posición p21.1 del cromosoma 1 (**figura 4**); presentando una homología de hasta 97%, teniendo prácticamente las mismas funciones, diferenciándose solamente en las glándulas donde se excretan (Peng *et al.*, 2016).

La proteína α -amilasa (**figura 5**), tiene un peso molecular de 50000 Daltons y es estable a pH de 5.5-8; presenta una dependencia de calcio, el cual, a pesar de no estar integrado en su sitio activo, se encuentra fuertemente unido a la enzima, estabilizando la conformación global de la enzima (Shukla *et al.*, 2015). La enzima codificada por el gen AMY1, es generada por las glándulas salivales (sobre todo en glándulas parótidas), mientras que la codificada por AMY2 es secretada por el páncreas, que en ambos casos presentan un papel importante en la producción de glucosa de la dieta (Aispuro-Pérez *et al.*, 2020).

4.7 Mecanismo de acción de α -glucosidasa y α -amilasa

Debido a que ambas enzimas (α -glucosidasa y α -amilasa) se encuentran dentro de la misma familia, presentan mecanismos de acción similares, iniciando con la ingesta de alimentos. Los polisacáridos contenidos en los alimentos ricos en hidratos

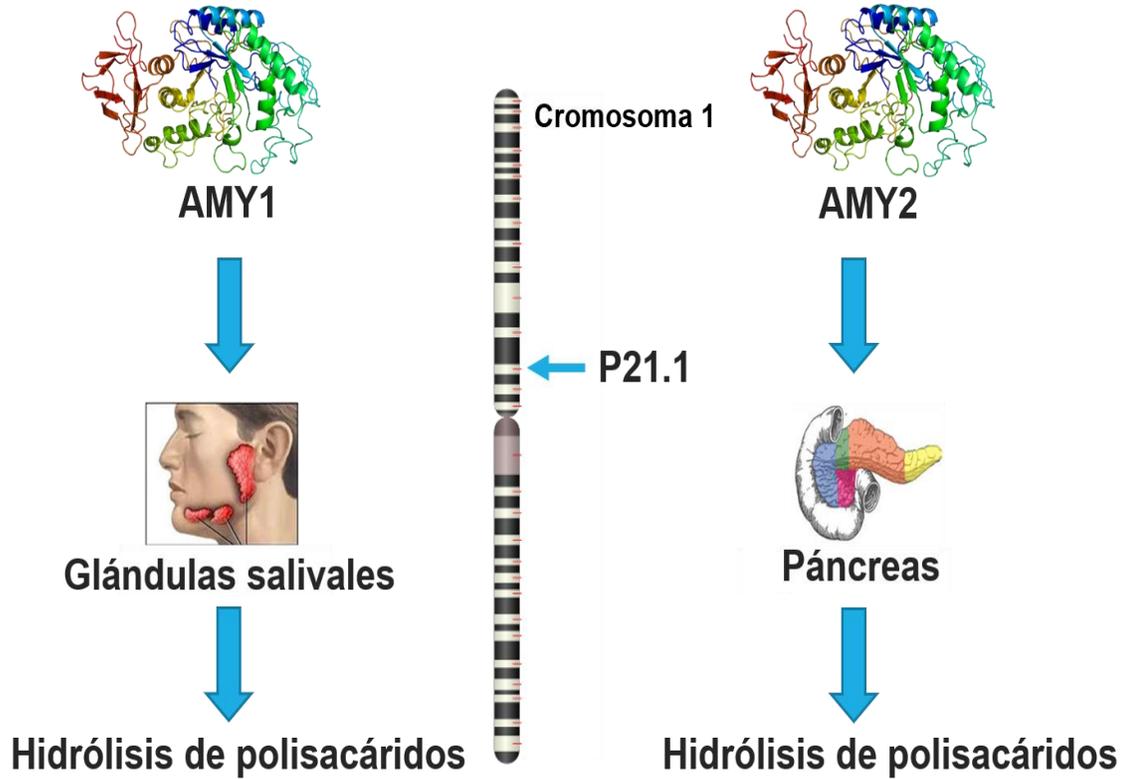


Figura 4. Estructura, distribución y función en el cuerpo humano de α -amilasa.

Se observa las isoformas presentes para esta enzima, las cuales se codifican en región p21.1 del cromosoma 1, estando presentes en glándulas salivales y páncreas respectivamente, presentando la misma función (Peng *et al.*, 2016).

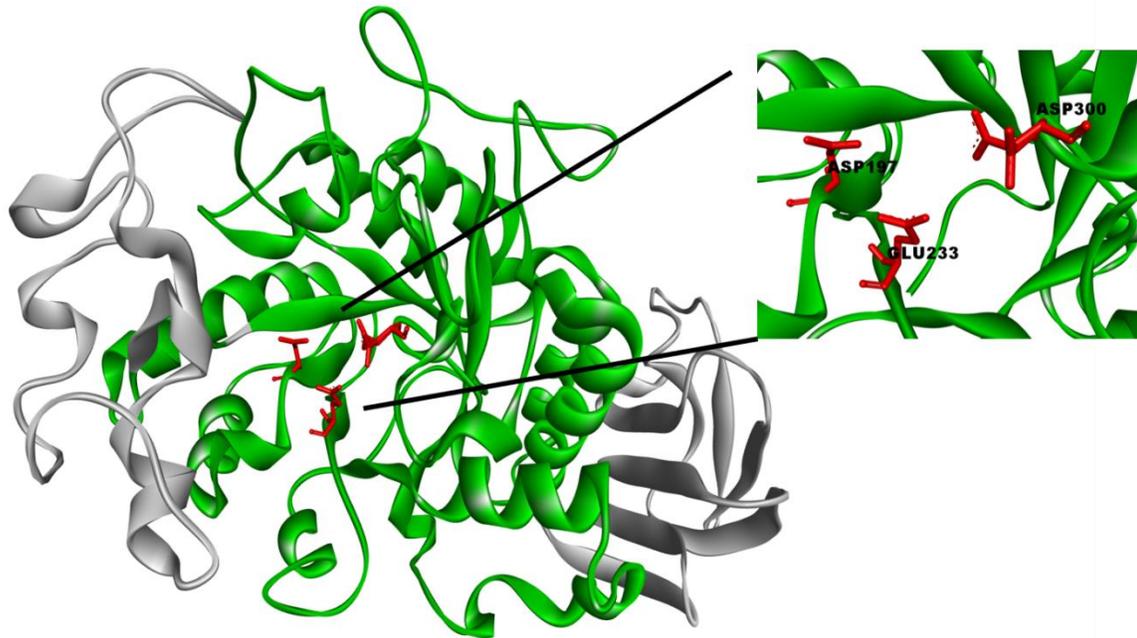


Figura 4. Estructura cristalizada de α -amilasa. Se muestra la visualización tridimensional de la enzima con un total de 497 residuos de aminoácidos, donde se muestra el sitio activo que comprende los residuos 1-99 y 169-404 (verde) y los residuos correspondientes de la triada catalítica (ASP197, GLU233 y ASP300) en rojo (Aispuro-Pérez *et al.*, 2020).

de carbono, al entrar en contacto con estas enzimas, son hidrolizados en sus enlaces α -1,4 produciendo moléculas de glucosa; las cuales serán absorbidas y llevadas al torrente sanguíneo, donde serán distribuidas a los diferentes tejidos donde se necesite energía (Zeng *et al.*, 2012a).

De manera específica se muestra en la **figura 6** el inicio del mecanismo con la hidrólisis enzimática de enlaces glucosídicos se realiza vía catálisis ácida; donde se involucran dos residuos de aminoácidos críticos: un donador de protones y un nucleófilo/base; existiendo dos mecanismos mediante los cuales operan estas enzimas: inversión y retención (Yeye *et al.*, 2020). En el mecanismo de inversión, las glucosido hidrolasas utilizan dos residuos enzimáticos (residuos carboxílicos) que actúan como un ácido y una base respectivamente, mientras que en el mecanismo de retención de las GH actúan mediante dos etapas: similar al mecanismo de inversión, dos residuos se ven involucrados actuando uno como nucleófilo y otro como ácido o base (Janeček *et al.*, 2014). En la primera etapa el nucleófilo ataca el carbono anomérico, dando como resultado la formación de una enzima glucosilada intermedia con un carácter ácido provista de un carboxilato. En la segunda etapa, el carboxilato actúa como base y se adiciona una molécula de agua nucleofílica para hidrolizar la enzima intermedia, obteniendo finalmente el producto hidrolizado (Jaroentomeechai *et al.*, 2022).

4.8 Asociación de α -glucosidasa y α -amilasa en patologías metabólicas

Debido a la naturaleza de las funciones de estas enzimas, tanto α -glucosidasa y α -amilasa, han sido asociadas con enfermedades de carácter metabólico, ya que su acción de hidrólisis aumenta aún más la concentración de esta molécula en el torrente

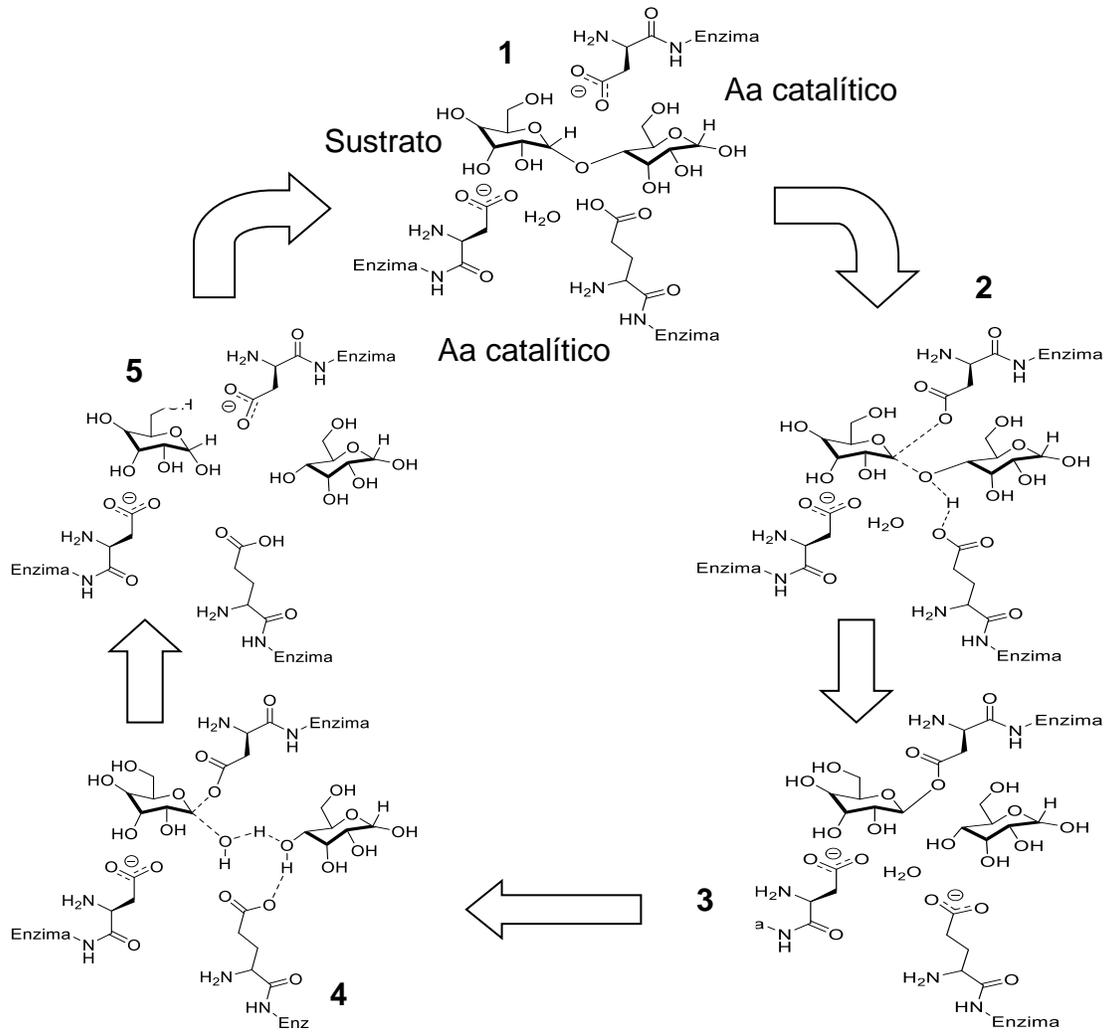


Figura 6. Mecanismo general de acción de enzimas intestinales. **1)** El polisacárido se posiciona en el sitio catalítico de la enzima y se estabiliza mediante interacciones electrostáticas con residuos catalíticos. **2)** El oxígeno del carboxilato del residuo interactúa con el carbono anomérico generando un intermediario estabilizado por el resto de la triada. **3)** Se libera un monosacárido, formándose un enlace covalente entre el residuo catalítico y la cadena del polisacárido, liberándose agua. **4)** Se forma un complejo donde interactúa el monosacárido enlazado, el agua, el monosacárido libre y la triada catalítica. **5)** Ocasionando la ruptura del enlace covalente, para volver a comenzar el proceso. Aa: aminoácido (Jaroentomeechai *et al.*, 2022).

sanguíneo de personas con alteraciones en el control de glucemia previo, promoviendo un estado de hiperglucemia, el cual puede generar a largo plazo complicaciones como: (1) retinopatía, con potencial pérdida de la visión; (2) nefropatía, que genera una falla renal; (3) neuropatía periférica, con riesgo de úlceras en pies y amputaciones; y (4) neuropatía autónoma, causando fallos en el sistema gastrointestinal, genitourinario y cardiovascular, así como, disfunción sexual (Adefegha & Oboh, 2012; Moreland *et al.*, 2012a; Yeye *et al.*, 2020).

4.9 Glucocinasa (GK)

La GK es una enzima fosforilante que presenta como único sustrato fisiológico relevante a la glucosa; donde sus características cinéticas y funcionales, junto a su distribución en el organismo, hacen que esta enzima sea clave para el mantenimiento de la homeóstasis de la glucosa (Gomez-Peralta *et al.*, 2018a). En la **figura 7** se observa la estructura tridimensional de esta enzima la cual es una proteína de 50 kDa, presentando 3 isoformas: GK-I (la cual es específica de tejido pancreático e intestinal), GK-L₁ y GK-L₂ (los cuales son específicas del tejido hepático) (Gomez-Peralta *et al.*, 2018a).

En los diferentes tejidos donde esta enzima es expresada y donde el transporte de glucosa hacia el interior de la célula no es limitante, la GK genera su acción de transferasa movilizandoo un grupo fosfato desde la molécula de adenosín trifosfato (ATP) a la glucosa para dar lugar a glucosa-6 fosfato (G6P) en la primera y limitante reacción de la glucólisis, que en las células pancreáticas implica la estimulación de la secreción de insulina; cabe mencionar, que en otros tejidos esta enzima presenta una

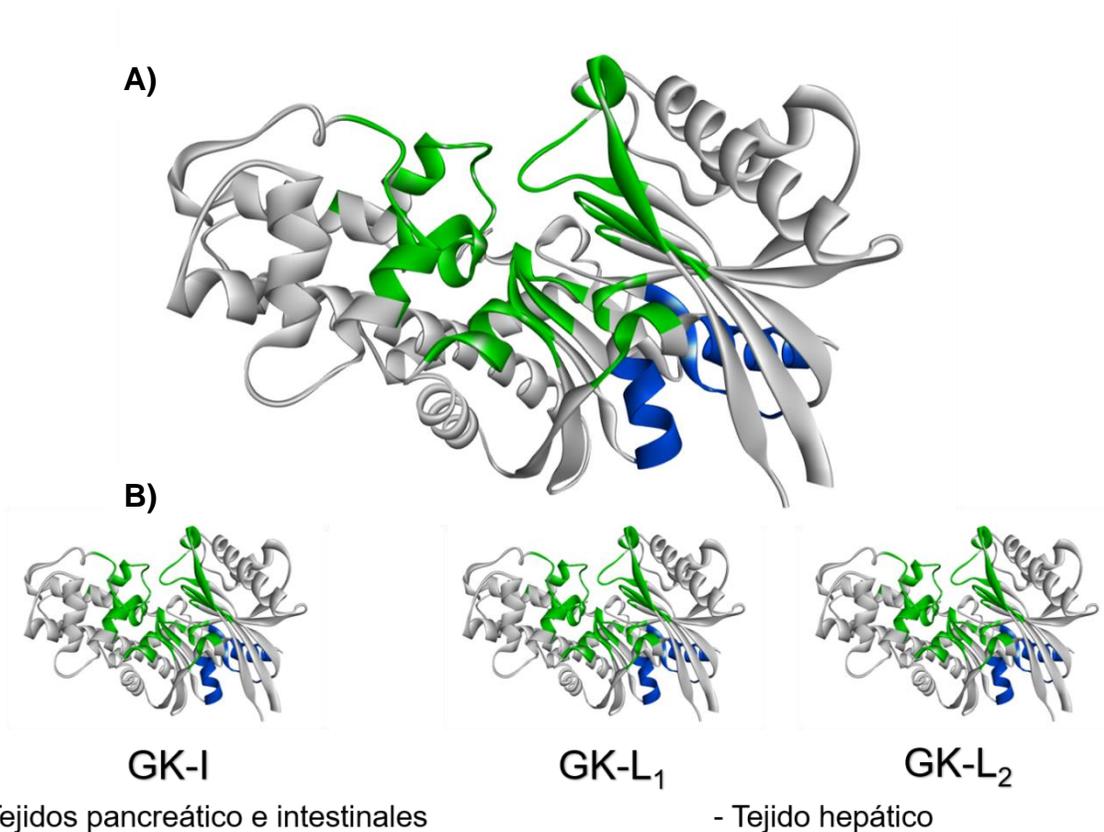


Figura 7.- Estructura de enzima GK y distribución en el organismo. A) Estructura tridimensional de GK, la cual presenta 461 residuos de aminoácidos, donde se señala con color verde el sitio activo de la enzima y en color azul, el sitio alostérico de la misma (el cual es el responsable de la sobreestimulación de la actividad enzimática). **B)** Isoformas en las que GK se encuentra distribuido en el organismo, las cuales son específicas para tejido pancreático e intestinal (GK-I) y tejido hepático (GK-L₁ y GK-L₂) (Gomez-Peralta *et al.*, 2018a).

gran importancia, por ejemplo, en los hepatocitos participa en el almacenamiento de glucógeno en estado posprandial, esto gracias al efecto sobre la enzima glucógeno sintetasa (Charaya *et al.*, 2018b; Grewal *et al.*, 2019a). Debido a la necesidad de la regulación de los niveles de glucosa en el organismo, mejorar la secreción y acción de la insulina es uno de los principales propósitos en el tratamiento de DMII, por lo que la activación de enzimas como GK en páncreas, puede ser una opción viable (Charaya *et al.*, 2018).

El mecanismo de la secreción de insulina estimulada por la glucosa en las células β pancreáticas comienza con el transporte de la glucosa a través de la proteína específica GLUT2, situada en su membrana citoplasmática; donde dicha glucosa se transporta de forma facilitada generando un equilibrio de concentración de este compuesto en el interior y exterior de la célula (Gomez-Peralta *et al.*, 2018).

Una vez dentro (**figura 8**), la enzima GK fosforila la glucosa internalizada generando G6P, favoreciendo el flujo glucolítico produciendo como compuesto final de glucólisis al piruvato, el cual al introducirse en el metabolismo mitocondrial incrementará la producción de ATP en la célula, este incremento se traducirá en el cierre de los canales de K^+ ; lo que genera una despolarización en la membrana que da lugar a la apertura de canales de Ca^{+2} , aumentando las concentraciones de este ion y generando la movilización de los gránulos contenedores de insulina a la membrana y la secreción de la misma a circulación (Charaya *et al.*, 2018a; Grewal *et al.*, 2019, 2020).

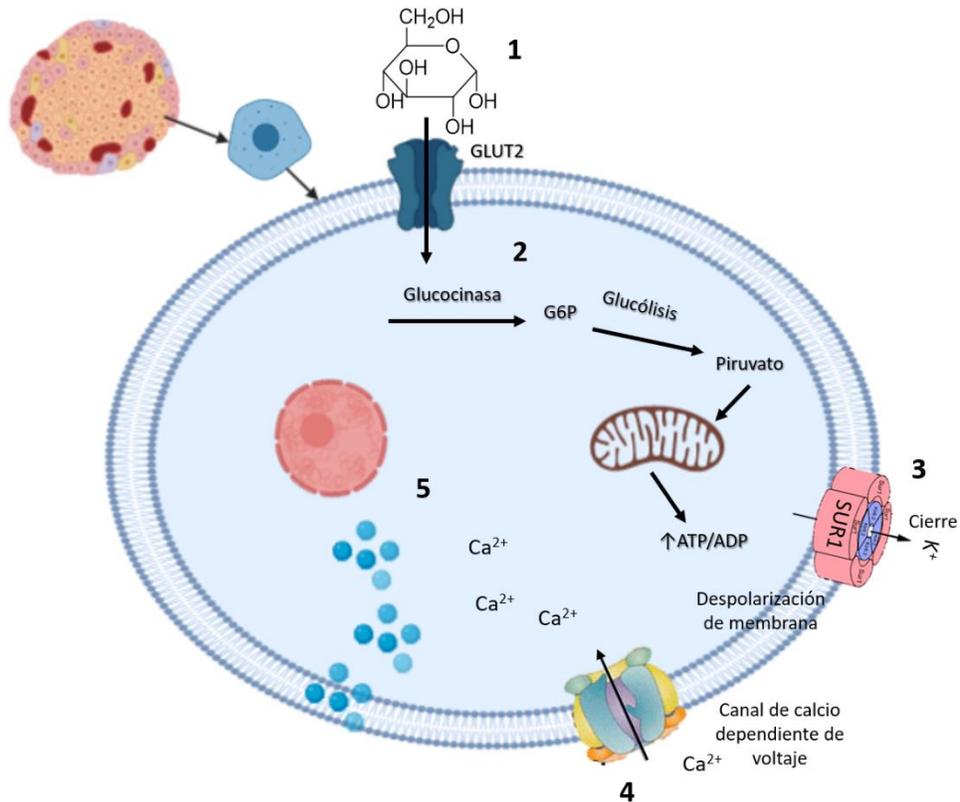


Figura 8.- Mecanismo de acción GK pancreática. 1) Esquema del mecanismo de acción de enzima GK, la cual depende de las concentraciones de glucosa en torrente sanguíneo; de manera general, este compuesto es internalizado por el transportador GLUT2, 2) para ser fosforilado por GK generando glucosa-6-fosfato (G6P), el cual mediante el proceso de glucólisis y respiración celular aumenta las concentraciones de ATP intracelular, 3) ocasionando el cierre del canal K^+ , donde la acumulación de este ión genera una despolarización en la membrana, 4) la subsecuente activación del canal de Ca^{2+} , la internalización y acumulación de dicho ión, 5) que genera la señalización necesaria para la maduración y secreción de la insulina (Charaya *et al.*, 2018a; Grewal *et al.*, 2019, 2020).

4.11 Análisis *in silico* en la búsqueda de nuevos fármacos en el control de hiperglucemia

Dada la importancia que presentan estas moléculas de interés en la generación de estados hiperglucémicos y las consecuencias que estos pudieran generar; uno de los enfoques terapéuticos más importantes para el tratamiento de estas enfermedades, se basa en controlar los niveles de glucosa mediante diferentes mecanismos, los cuales van desde el retardo de la absorción de la glucosa hasta la estimulación en la secreción de insulina, ya sea a través de la inhibición de enzimas como α -glucosidasa, α -amilasa y activación de GK, convirtiéndolas en potenciales blancos terapéuticos para el desarrollo de nuevos fármacos (Sevilla-Asencio *et al.*, 2013). Sin embargo, el proceso de desarrollo de estos inhibidores es muy largo, complicado y sin la garantía de presentar una actividad biológica contra estos blancos terapéuticos; por lo que, para este tipo de procesos, es necesario el uso de técnicas o análisis *in silico* (**figura 9**); como lo es el acoplamiento molecular y estudios predictivos de actividades biológicas y/o toxicológicas, las cuales otorgan una excelente alternativa para complementar y solucionar las complicaciones antes mencionadas en el proceso de generación de nuevos fármacos (Yuriev *et al.*, 2015).

El acoplamiento molecular (docking) es una técnica computacional *in silico* que permite estudiar la interacción que existe entre un compuesto y una proteína, mediante el empleo de programas que utilizan algoritmos para representar estructuras y comportamiento en la interacción compuesto-proteína; permitiendo predecir si una molécula tiene afinidad a un receptor, por lo cual se utiliza ampliamente en el diseño y

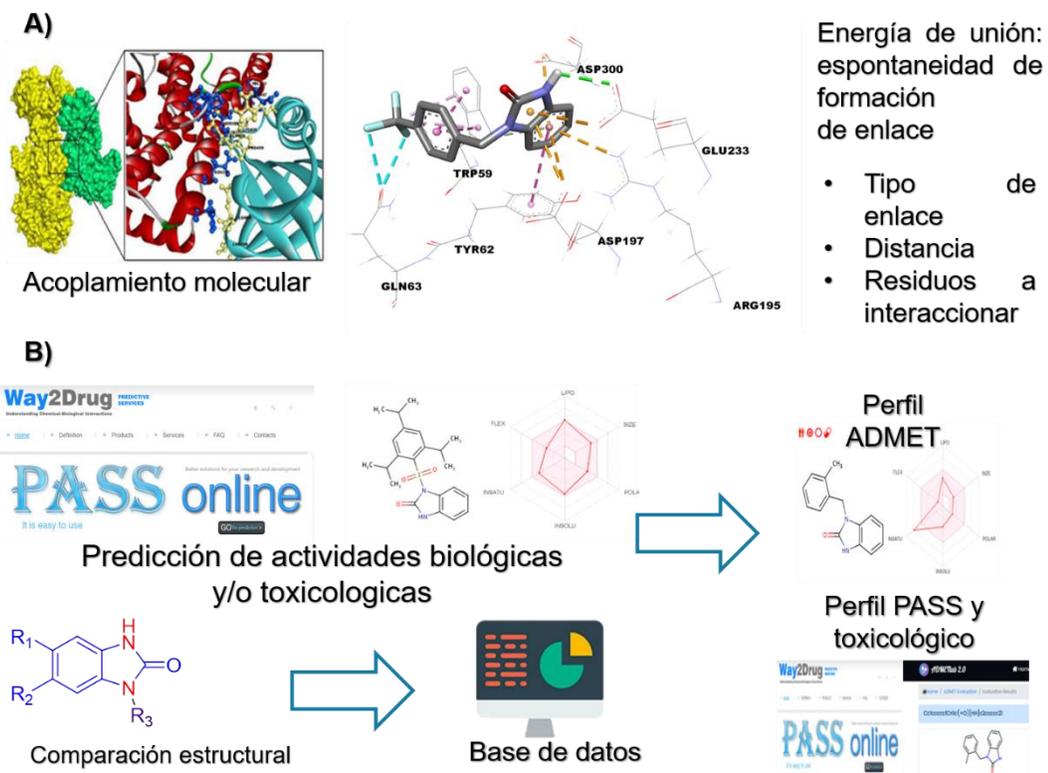


Figura 9.- Herramientas *in silico* para el desarrollo de nuevos fármacos. A) El acoplamiento molecular, es un estudio de simulación entre un ligando y una proteína, para observar valores de energía de unión (EU) (facilidad o espontaneidad de formación de enlace) y un perfil de interacciones en el sitio de unión (tipo y distancia de enlaces formados). **B)** Los estudios predictivos de actividades biológicas y/o toxicológicas, se basan en la relación estructura-actividad con base de datos, obteniendo aspectos fisicoquímicos asociados a farmacocinética (perfil ADMET) y predicciones de la probabilidad de presentar actividades biológicas y toxicológicas (Yuriev *et al.*, 2015).

síntesis de nuevos fármacos; además de aportar información para dilucidar posibles mecanismos de acción de fármacos (Salmaso & Moro, 2018).

Esta técnica computacional basa su estudio en el uso de algoritmos que predicen las diferentes conformaciones posibles del ligando (en este caso los posibles inhibidores contra estas enzimas) al interactuar con el sitio activo de las enzimas en cuestión; cada una de estas conformaciones, generan un valor de energía de unión (EU) (el cual indica la facilidad o espontaneidad para formar uniones entre el ligando y las enzimas en cuestión), los cuales son tomados en cuenta para determinar la conformación más estable en la interacción (Berry *et al.*, 2015). De la misma forma, este estudio *in silico* brinda información de la afinidad que presenta el ligando con la enzima, expresándose en un parámetro de concentración denominado constante de inhibición (Meng *et al.*, 2011).

Aunado a esto, el análisis de acoplamiento molecular otorga la posibilidad de observar las posibles interacciones entre el compuesto a evaluar y el complejo enzimático, determinando el tipo de enlace formado en esta interacción, así como los aminoácidos del sitio de unión con los cuales interactúa, lo que permite dilucidar el tipo de inhibición que pudiera estar ocurriendo (Ferreira *et al.*, 2015).

Diversos reportes en la literatura indican el uso del acoplamiento molecular junto con otras técnicas computacionales para el análisis del metabolismo de diversos fármacos por parte del citocromo p450 (Meng *et al.*, 2011). Por ejemplo, Taha y colaboradores en 2014 reportaron estudios de acoplamiento molecular de compuestos derivados de benzotiazoles donde muestran que estos compuestos presentan interacciones con la enzima α -glucosidasa, presentando un tipo de inhibición no

competitiva; ya que generan enlaces de hidrógeno en sitios alostéricos de esta enzima; estos compuestos presentan actividad similar con fármacos como N-acetilcisteína (Taha *et al.*, 2016).

En el caso de la enzima GK, Charaya y colaboradores en 2018, realizaron ensayos de acoplamiento molecular sobre compuestos heterocíclicos como derivados tiazolil benzamidas contra esta enzima; en este estudio, se realizó un docking dirigido al sitio alostérico de GK el cual consta de los aminoácidos Arg63, Tyr215, Met210, Try215, Val452 y Val455. Los resultados mostraron que 5 de los 16 compuestos evaluados presentaron valores de EU que van de -7.7 a -8.5 kCal·mol⁻¹, lo que indica que estos compuestos pueden presentar una buena activación de la enzima (Charaya *et al.*, 2018b).

Otra herramienta utilizada para desarrollo de nuevos fármacos es el uso de plataformas de predicción de propiedades biológicas (PASS), fisicoquímicas, farmacocinéticas y toxicológicas de compuestos con potencial farmacológico; esto basado en análisis SAR (MOON *et al.*, 2017a). Estas plataformas, aportan información sobre el potencial biológico de una molécula (posibles actividades a las cuales puede asociarse), como se comporte en el organismo y los efectos tóxicos que pudiera presentar, al compararlo con bases de datos predeterminadas, esto para poder delimitar la selección de fármacos candidatos, optimizando el proceso de síntesis y evaluaciones biológicas (Shweta *et al.*, 2019).

Un ejemplo de esto es lo reportado por Tripathi y colaboradores en 2019, donde utilizaron este tipo de herramientas (Swiss-ADME) para determinar la biodisponibilidad de algunos fitoquímicos de la planta *Calotropis procera*, la cual puede funcionar como

analgésico y antiinflamatorio, dentro de sus resultados, se observa que algunos componentes como uzarigeína presenta valores de lipofilicidad y biodisponibilidad similares al fármaco ibuprofeno, por lo que este componente se consideró como candidato para seguir estudiándose (Tripathi *et al.*, 2019).

Por otro lado Moon y colaboradores en 2017, evaluaron el aspectos potenciales de toxicidad de compuestos candidatos para ser agentes antibacteriales, esto mediante la herramienta admetSAR; esta plataforma, evalúa las pruebas de toxicidad principales (carcinogénicos, mutagénicas, hepatotóxicas entre otras); dentro de lo reportado por estos autores se indica que la mayoría de estos compuestos, no presentan efectos carcinogénicos y pueden tener actividad contra algunas enzimas importantes para el desarrollo bacteriano, haciendo a estos compuestos viables de seguir evaluándose (MOON *et al.*, 2017b).

Gracias a la gran cantidad de información que estos estudios aportan, los estudios de *in silico* son una opción muy utilizada en el desarrollo de nuevos fármacos, por lo que en este proyecto de investigación se pretende utilizar esta herramienta, para optimizar el proceso de búsqueda y evaluación de nuevos inhibidores contra estas enzimas.

4.12 Compuestos con potencial uso en el control de hiperglucemia en el organismo

4.12.1 Inhibidores de α -glucosidasa y α -amilasa

En la actualidad, existen familias de compuestos que han reportado actividad inhibidora contra estas enzimas, tales como compuestos heterocíclicos *N*-sustituidos polihidroxilados, cicloalquenos polihidroxilados y oligómeros de pseudoazúcares, tal

es el caso de la acarbosa, voglibosa y el miglitol (Kwon *et al.*, 2008). Sin embargo, son pocos los medicamentos que pueden actuar contra estas dianas terapéuticas y, además, presentan algunos efectos adversos como flatulencias, dolor intestinal y abdominal, además de diarrea; lo cual puede deteriorar la calidad de vida de los pacientes (Kwon *et al.*, 2008).

Por otra parte, algunos estudios indican que algunos derivados de imidazoles y bencimidazolonas han demostrado una excelente inhibición contra estas enzimas; no obstante, algunos de estos compuestos necesitan de más estudios SAR para corroborar su actividad (Liu & Ma, 2017a).

Recientemente en nuestro grupo de investigación se reportó la síntesis y evaluación de derivados de ariliminas contra las enzimas α -glucosidasa y α -amilasa mediante estudios *in silico* e *in vitro*, donde se encontró como resultados que los compuestos sintetizados presentaron una buena actividad inhibidora con valores de concentración inhibidora 50 (IC₅₀) entre 24.02 y 62.15 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para α -glucosidasa y de 28.53 a 126.4 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ para α -amilasa. De los compuestos evaluados tres compuestos fueron similares o mejores que el fármaco acarbosa (24.38 μM en α -glucosidasa y 61.28 μM en α -amilasa) (Aispuro-pérez *et al.*, 2019).

De la misma forma, algunos estudios de modificaciones de bencimidazolonas indicaron que la inserción de grupos donadores de electrones en el nitrógeno de su estructura; así como grupos electro receptores en el anillo imidazol es crucial para la actividad inhibidora de estas enzimas (Özil *et al.*, 2016a).

A la par de las pruebas *in vitro* contra estas enzimas antes mencionadas, diversos autores han realizado estudios de acoplamiento molecular para dilucidar el posible

mecanismo de acción de diversos compuestos a evaluar; por ejemplo, Javaid y colaboradores en 2015, evaluaron 25 derivados de 2-arilquinazolindionas contra la enzima α -glucosidasa; este estudio reveló que dos de los compuestos presentaron interacción con esta enzima generando inhibiciones tanto competitiva como no competitiva, ya que estos compuestos tuvieron enlaces con aminoácidos como Asp518, Trp516 y Glu513 (aminoácidos reportados en el sitio catalítico de esta enzima) y Leu868, Glu869, Arg870, Gly871, Ala872 y Tyr873 (aminoácidos de un sitio alostérico de α -glucosidasa) (Javaid *et al.*, 2015).

De la misma forma, Taha y colaboradores en 2016, sintetizaron y evaluaron tanto *in silico* e *in vitro* derivados de aril-metilbencimidazoles contra enzimas intestinales, obteniendo como resultado que algunos compuestos evaluados presentaban una energía de unión de $-8.72 \text{ kCal}\cdot\text{mol}^{-1}$, lo cual indica una buena actividad contra dichas enzimas, además de presentar interacciones con residuos de aminoácidos del sitio catalítico (Taha *et al.*, 2016b).

Basados en estos estudios (Liu & Ma, 2017; Özil *et al.*, 2016) y a la creciente problemática que implica la DMII a nivel mundial y en México, en nuestro grupo de investigación se ha propuesto la síntesis de nuevos derivados de bencimidazolonas como molécula con potencial acción antihiper glucemiante e hipoglucemiante en el control de glucemia; esto debido a la presencia de grupos funcionales y átomos relacionados con la posible interacción con enzimas como α -glucosidasa, α -amilasa y GK.

4.12.2 Activadores de GK

Estudios recientes en la literatura indican que la enzima GK, al presentar una gran relevancia en el control de los niveles de glucosa en el organismo, diversos investigadores han buscado diversos compuestos que activen esta proteína para favorecer el metabolismo de la glucosa e incluso estimular la secreción de insulina (Charaya *et al.*, 2018a). Por ejemplo, Charaya y colaboradores en 2018, sintetizaron y evaluaron *in silico* e *in vitro* derivados de tiazolil benzamidas contra esta enzima. Dentro de los resultados *in silico* obtenidos, observaron que 5 de los 16 compuestos evaluados se unieron al sitio alostérico de la enzima presentando valores de EU que van de -7.7 a -8.5 kCal·mol⁻¹, lo que indica que estos compuestos pueden presentar una buena activación de la enzima. Para corroborar estos resultados, se realizaron estudios *in vitro* contra GK, encontrando que 4 de los compuestos con mayor actividad *in silico* presentaron los mejores valores de activación los cuales van de 1.48 a 1.83, corroborando así los estudios realizados (Charaya *et al.*, 2018a).

De la misma forma, Grewal y colaboradores en 2019, sintetizaron análogos de N-piridinil benzamidas, como potenciales activadores de esta enzima; dentro de los diversos compuestos sintetizados, 6 de ellos presentaron porcentajes de activación enzimática que van de 1.9 a 2.07%, siendo estos compuestos excelentes activadores. A su vez estudios de relación estructura actividad, indicaron que el remplazo del anillo aromático unido al grupo sulfonamida por grupos alquilo genera una disminución en la activación de esta enzima (Grewal *et al.*, 2019c).

4.13 Antecedentes

4.13.1 Bencimidazolonas

Las bencimidazolonas (**figura 10**); son compuestos heterocíclicos, es decir, compuestos que presentan en su estructura átomos diferentes al carbono, tales como, nitrógeno, fosforo o azufre. Estos compuestos usualmente se forman por un anillo de benceno y un anillo heterociclo de cinco miembros (Xu *et al.*, 2019b). Gracias a la gran cantidad de sitios activos en su molécula, a estos compuestos se les ha atribuido una gran variedad de actividades biológicas, además constituyen el núcleo estructural de numerosos fármacos, agroquímicos, inhibidores, pigmentos, herbicidas, entre otras sustancias (Liang *et al.*, 2019b).

4.13.2 Actividades biológicas de bencimidazolonas

Estos compuestos se han asociado a diferentes actividades biológicas, por ejemplo, actividad antialérgicos, antiemético, antipsicóticos, sedante, antibacterianos, antifúngicos, antivirales, entre otros; esto al estar presentes en medicamentos como oxotomida, benperidol, pimozida, domperidona y droperidol (De Lucas *et al.*, 2020; Intagliata *et al.*, 2019; Nale & Bhanage, 2015; Palin *et al.*, 2008).

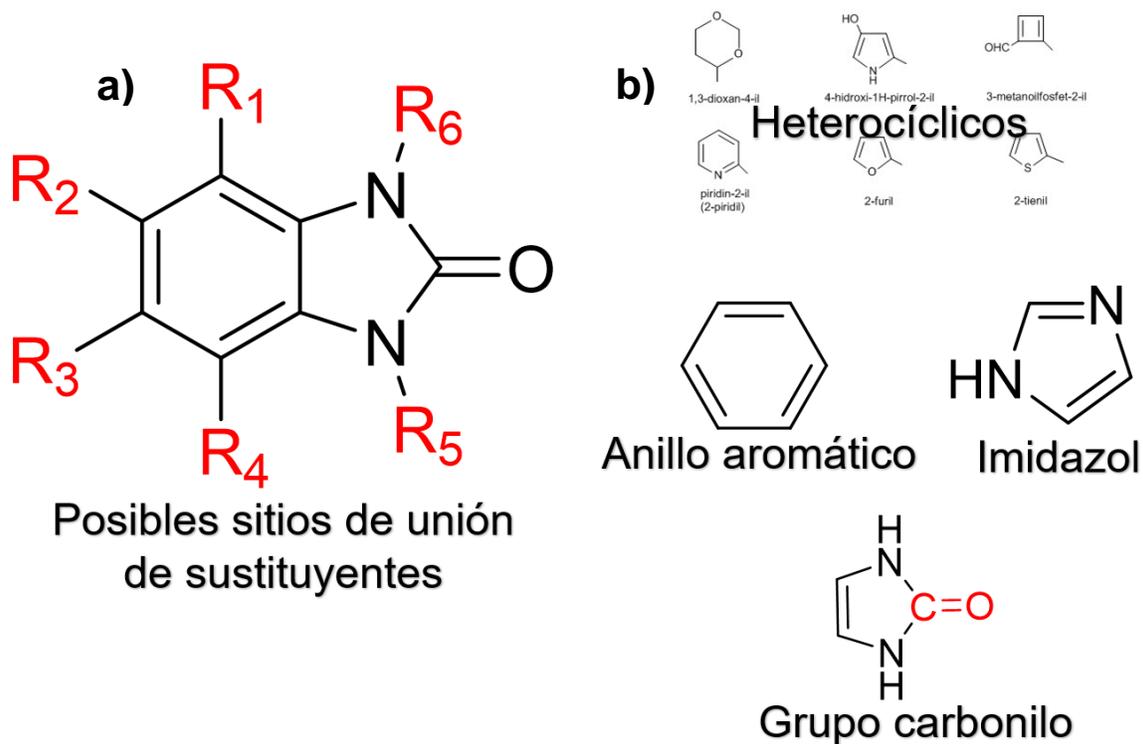


Figura 10. Generalidades del núcleo de bencimidazolonas. **a)** En la figura se muestra la estructura general de este tipo de compuestos que presenta diferentes sitios de unión posibles para añadir grupos funcionales, modificando su perfil de actividades biológicas. **b)** Las bencimidazolonas se caracterizan por la presencia de un anillo aromático unido a un anillo de imidazol, con la presencia del grupo carbonilo en este anillo.

Además de estas actividades, diversos autores han reportado actividades contra desordenes psiquiátricos, esto en un estudio realizado por Fukaya y colaboradores en 2012, donde se observó que derivados de bencimidazolonas resultó ser un ligando del receptor conocido como proteína translocadora (TSPO, de 18 kDa), el cual juega un papel importante en la biosíntesis de neuroesteroides (Fukaya *et al.*, 2013).

Por otro lado, Wei y colaboradores en 2012, sintetizaron y evaluaron *in vitro* una serie de 28 derivados de bencimidazolonas contra diversas bacterias como *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa* mediante métodos de difusión en disco de papel y microdilución de caldo. Dentro de los resultados reportados por estos autores señalan que los compuestos con sustituyente metacriolil en su estructura presentaron una actividad antibacterial contra las bacterias evaluadas, presentando mejor actividad que el fármaco ampicilina (Wei *et al.*, 2017a).

De la misma forma, Khanapurmath y colaboradores en 2019, sintetizaron y evaluaron la actividad bactericida de derivados de bis-triazol bencimidazolonas contra la cepa *H37Rv* de *Mycobacterium tuberculosis*; esto al presentar inhibición en el crecimiento de esta bacteria. Dentro de los resultados obtenidos muestran que 12 de los 14 compuestos sintetizados presentaron una buena actividad bactericida al mostrar valores de concentración mínima inhibitoria (MIC) en un intervalo de 2.35 a 18.34 μM , siendo estos mejores que el fármaco de referencia ciprofloxacino (9.43 μM) (Khanapurmath *et al.*, 2019).

Otro estudio de relevancia en las actividades biológicas de este tipo de compuestos es el realizado por Wei y colaboradores en 2017, quienes sintetizaron

derivados de bencimidazolonas y las evaluaron como potenciales agentes antifúngicos, evitando el crecimiento de los micelios y la germinación de esporas del hongo *Botrytis cinérea*. Dentro de los resultados obtenidos en este estudio 4 compuestos presentaron porcentajes de inhibición de 90 al 100%. Al realizar un estudio de relación estructura actividad se observó que la presencia de grupos aromáticos en la estructura aumenta la actividad antifúngica (Wei, *et al.*, 2017).

También, Pribut y colaboradores en 2019 sintetizaron y evaluaron la actividad antiviral de derivados de bencimidazolonas, al observar inhibición de la enzima transcriptasa inversa del virus de inmunodeficiencia humana (HIV), así como en mutaciones del virus (K103N y Y181C). Dentro de los resultados obtenidos por este grupo de investigación, los 16 compuestos sintetizados, 15 compuestos se mostraron como potentes inhibidores de esta enzima, al presentar IC₅₀ de 0.026-3.88 µM, siendo estos resultados mejores que el fármaco de referencia nevirapina (0.105 µM) (Pribut *et al.*, 2019).

A su vez, se realizó un estudio de síntesis y evaluación de la actividad inhibidora de derivados de *bis*-bencimidazolonas contra la enzima α-glucosidasa. Este grupo de investigación reportó que, de los 20 compuestos sintetizados, 7 presentaron valores de IC₅₀ en un intervalo de 0.44 a 6.53 µM, y al compararlos con el fármaco acarbosa; los compuestos evaluados presentaron una mejor actividad (13.34 µM), lo cual hace a estos compuestos una nueva clase de inhibidores de esta enzima (Özil *et al.*, 2016a).

4.13.3 Métodos de síntesis para bencimidazolonas

Debido a la gran variedad de actividades biológicas reportadas, diversos autores han buscado distintos métodos de síntesis para estos compuestos, modificando

componentes y condiciones en la ruta sintética, las cuales se ejemplifican en la **figura 11**. Un ejemplo de esto es la reacción de isocianatos con α -aminocetonas, oxidación de sales de becimidazolium, 1,2-dihalogenocenos con arilureas, ácidos antránilicos con difenilfosforilazida, anhídridos ftálicos con azida de sodio bajo condiciones acidas fuertes, entre otros (López *et al.*, 2016).

Otro método de síntesis es el reportado por Liang y colaboradores en 2019, donde generaron una síntesis multicomponente de bencimidazonas a partir de arilaminas, di-alquilaminas y alcoholes utilizando una oxidación catalizada por cobre unida a aminaciones carbono-hidrógeno y carbofuncionalización destructiva de grupos alquilo, obteniendo rendimientos de hasta 84% (Liang *et al.*, 2019c). Sin embargo, estos métodos se asocian a reacciones multietapa con reactivos costosos, algunas condiciones inertes, condiciones ácidas fuertes y sobre todo con técnicas de purificación difíciles y poco amigables con el medio ambiente, por lo que otros investigadores se han dado a la tarea de buscar otros métodos de síntesis de estos compuesto por ejemplo, el reportado Xu y colaboradores en 2019, en donde generaron derivados de bencimidazonas y benzoxalonas mediante una cascada de ciclación deshidrogenativa; esta estrategia evita la necesidad de una catálisis basada en metales de transición y de agentes oxidantes, generando productos completamente sustituidos que van de 20-88 % de rendimiento (Xu *et al.*, 2019).

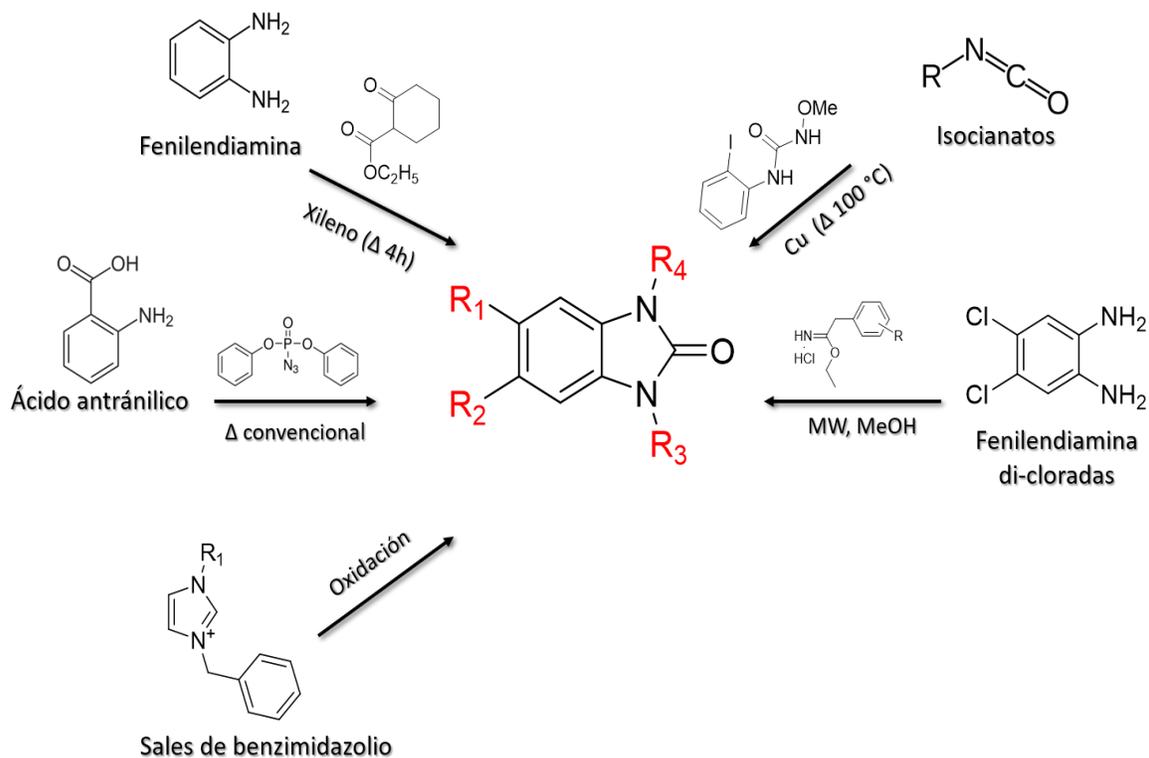


Figura 11.- Variaciones en los componentes de las rutas sintéticas para la generación de bencimidazolonas. Se muestran, diferentes modificaciones en las rutas de síntesis para generar bencimidazolonas, haciendo cambios en componentes iniciales, tiempo de reacción y fuentes de energía (las cuales van desde calor convencional hasta irradiación por microondas).

IV. JUSTIFICACIÓN

La hiperglucemia, es un estado fisiológico normal donde los niveles de glucosa sobrepasan los niveles normales en el organismo ($80-100 \text{ mg}\cdot\text{dl}^{-1}$); sin embargo, gracias a hormonas como la insulina, este estado es contralado hasta regresar a sus niveles basales. Cuando existen alteraciones en la acción de la insulina, este estado puede mantenerse por tiempo prolongado y generar complicaciones en el organismo e incluso derivan enfermedades como obesidad, enfermedades cardiovasculares y DMII; siendo estas enfermedades de relevancia en salud pública. En la actualidad, una de las principales estrategias terapéuticas para tratar este tipo de patologías es el control de los niveles de glucosa en sangre mediante la inhibición y/o activación de moléculas de interés como α -glucosidasa, α -amilasa y GK; existiendo en la literatura diferentes estudios que indican que compuestos de origen natural o sintéticos presentan actividad inhibidora contra dichas moléculas, sin embargo, muchos de estos compuestos generan efectos adversos que deterioran la calidad de vida de los pacientes y existen pocos compuestos en el mercado que cumplan esta función, lo cual genera una necesidad de la búsqueda de nuevos compuestos que actúen sobre estas moléculas. Por tal motivo, en nuestro grupo de trabajo se propone realizar el diseño, evaluación *in silico*, síntesis y evaluación biológica *in vitro* de derivados de bencimidazolonas con potencial en el control de glucemia como agentes antihiperglucemiantes e hipoglucemiantes.

V. HIPÓTESIS

Los derivados de bencimidazolonas diseñados mediante análisis *in silico* y obtenidos mediante rutas sintéticas, presentan actividad en el control de glucemia, esto al evaluarlos en ensayos *in vitro*.

VI. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

Diseñar y sintetizar derivados de bencimidazolonas con potencial uso en el control de glucemia mediante la combinación de irradiación por microondas y calor convencional para su evaluación preclínica mediante ensayos *in silico* e *in vitro*.

6.2. Objetivos específicos

- 7.2.1. Determinar los valores de energía de afinidad, interacción de residuos de aminoácidos, predicción de propiedades biológicas, farmacocinéticas y toxicológicas de los derivados de bencimidazolonas contra α -glucosidasa, α -amilasa y GK, mediante ensayos de acoplamiento molecular y programas bioinformáticos (Pharmaexpert, SwissADME y admetSAR).
- 7.2.2. Sintetizar los derivados de bencimidazolonas con el mejor perfil *in silico* contra las enzimas y/o receptores α -glucosidasa, α -amilasa y GK.
- 7.2.3. Evaluar la actividad inhibidora *in vitro* de los derivados de bencimidazolonas contra las enzimas α -glucosidasa, α -amilasa y GK.

VII.MATERIALES Y MÉTODOS

7.1. Lugar de trabajo

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el Laboratorio de investigación en Farmacia, Farmacobiología y Toxicobiología (LIFFT) de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas, Laboratorio de productos naturales de la Facultad de Ciencias Químico-Biológicas y “Laboratorio de ambiental” de la Facultad de Ingeniería civil, de la UAS, en colaboración con el Centro de graduados e investigación en química, del instituto tecnológico de Tijuana y el centro de investigación en alimentación y desarrollo (CIAD).

7.2. Técnicas analíticas

Los espectros obtenidos de la caracterización por resonancia magnética nuclear (RMN) de ^1H (400 MHz) y de ^{13}C (100 MHz) se realizaron en un equipo bruker 400 MHz utilizando DMSO- d_6 con tetrametilsilano (TMS) como estándar interno. Los valores de los desplazamientos químicos (σ) fueron expresados en partes por millón (ppm). Los valores de las constantes de acoplamiento (J) se expresaron en Hertzios (Hz) en todos los casos.

La detección de los pesos moleculares de los compuestos se realizó en un cromatógrafo de gases Varian titan 4000 acoplado a un espectrómetro de masas con trampa de iones con columna cpsil 24CBMS de 30 mm X 0.25 mm de diámetro interno. Los puntos de fusión se obtuvieron en un aparato Stuart modelo SMP30 y sin corrección, los valores se reportan como un promedio de 3 experimentos por separado.

Las reacciones se realizaron bajo irradiación de microondas y se llevaron a cabo en tubos Pirex de (10 mL) sellados con una tapa de silicona en un reactor de microondas monomodal (Discover-SP modelo 909150 equipado con Explorer 12 hybrid modelo 909505 con 725 Watts de potencia máxima, CEM corp) con 100 Watts de potencia inicial, además del uso de calor convencional mediante placa de calentamiento Thermo Fisher Scientific.

8.3 Diseño experimental para ensayos *in silico*, síntesis, y ensayos *in vitro*

Los derivados de bencimidazolonas se diseñaron según sustituyentes y estructuras de importancia para el control de glucemia (átomos de nitrógeno, halógenos, electroaceptores, entre otras) reportados en la literatura; estos compuestos se analizaron por acoplamiento molecular para observar la posible actividad contra las dianas terapéuticas, posteriormente, se realizó un estudio predictivo de actividades biológicas, toxicológicas y características fisicoquímicas asociadas a farmacocinéticas, farmacodinámica, lo cual permitió delimitar la síntesis de compuestos. Los compuestos con mejor perfil *in silico*, fueron sintetizados por una combinación de irradiación con microondas y calor convencional para genera el núcleo de bencimidazolonas y bencimidazolonas monosustituidas; las cuales fueron sometidos a ensayos *in vitro* por espectrofotometría para evaluar la actividad de estos compuestos contra los diferentes blancos terapéuticos (**figura 12**).

8.4 Ensayos *in silico*

8.4.1 Diseño de derivados de bencimidazolonas para ensayos *in silico*

Los derivados de bencimidazolonas (**2a-u**) se diseñaron según sustituyentes y estructuras de importancia para el control de glucemia (grupos bencilo, átomos de

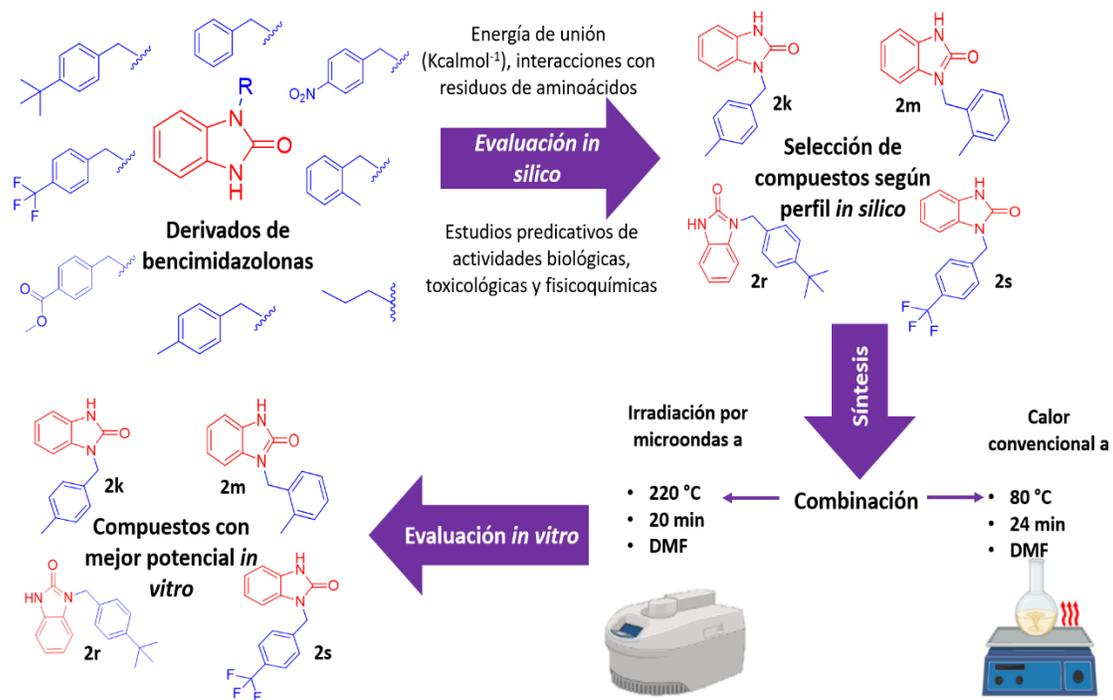


Figura 12. Estrategia experimental de ensayos *in silico*, síntesis y ensayos *in vitro*. Se realizó un diseño de compuestos y un análisis de acoplamiento molecular contra las moléculas de interés para observar las interacciones de las bencimidazolonas con estas, los compuestos con mejor afinidad a estos blancos terapéuticos fueron sintetizados por irradiación de microondas/calor convencional a partir de anhídrido isatóico; posteriormente, se evaluó su actividad inhibitora *in vitro* por espectrofotometría contra las enzimas de interés.

nitrógeno, halógenos, entre otras) reportados en la literatura usando el programa ChemDraw v22 y obtener el código SMILES de cada uno de los compuestos evaluados mediante el mismo programa.

8.4.2 Análisis predictivo de perfil de actividades biológicas (PASS) online.

Los derivados de bencimidazolonas (**2a-u**) se evaluaron mediante el uso de PASS online (<http://www.pharmaexpert.ru/passonline/predict.php/>), esta herramienta bioinformática, permite estimar el perfil probable de actividad biológica de un compuesto orgánico similar a un fármaco basándose en su fórmula estructural y la estimación se basa en un análisis de las relaciones estructura-actividad para un amplio conjunto de moléculas que incluye sustancias farmacológicas, candidatos a fármacos en diversas etapas de la investigación clínica y preclínica, agentes farmacéuticos, sondas químicas y compuestos presentes en una base de datos. Esta comparación permite determinar la probabilidad de ser biológicamente activo (P_a) o de no ser biológicamente activo (P_i), contra diferentes actividades biológicas (Filimonov, *et al.*, 2014).

Inicialmente, se introducen los códigos SMILES determinados anteriormente en el programa pharma expert e iniciar el estudio de predicción de actividades, los resultados obtenidos en el estudio PASS, son probabilidades de ser biológicamente activo contra una gran variedad de actividades, por lo que se realizó un filtrado de resultados donde los valores de $P_a > P_i$, además de realizar una búsqueda de actividades relacionadas con el control de glucemia (Filimonov, *et al.*, 2014).

Los resultados fueron determinados como % de probabilidad de ser biológicamente activo (Pa) y de no ser biológicamente activo (Pi) mostrándose en un cuadro comparativo para los compuestos evaluados.

8.4.3 Determinación del perfil ADME de derivados de alquilbencimidazolonas

Los parámetros farmacocinéticos o las propiedades de similitud con los fármacos de los compuestos seleccionados se determinaron mediante la herramienta en línea SwissADME (<http://www.swissadme.ch/>), esto para determinar parámetros fisicoquímicos, farmacocinéticos y el potencial de estos compuestos a ser biológicamente activo (drug-likeness), esto mediante los lineamientos de los filtros o reglas de Lipinski y Veber (Daina *et al.*, 2017). Estas reglas, determinan características importantes en la determinación de la biodisponibilidad oral; las cuales pueden ser, el peso molecular (Pm) ($< 500 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$), cantidad de sitios aceptores de hidrógeno (Sah) (< 10 sitios), cantidad de sitios donadores de hidrógeno (Sdh) (< 5 sitios), lipofilidad (LogP) (≤ 4.15), número de enlaces rotables (nER) (≤ 10) y área de superficie polar (TPSA) ($< 140 \text{ \AA}$ indican una buena absorción intestinal y $\text{TPSA} < 70 \text{ \AA}$ un fácil paso por barrera hematoencefálica) (Bhutani *et al.*, 2018). Cuando existen fallos en alguno de estos parámetros, sugieren una baja biodisponibilidad oral.

Inicialmente, se introduce el código SMILE determinados para los derivados de alquilbencimidazolonas en la interfaz del programa SwissADME, para obtener los resultados de los parámetros relacionados con los criterios de los parámetros de Lipinsky y Veber; los resultados se muestran en una tabla con los valores individuales

de cada parámetro y los posibles fallos a los criterios antes mencionados (Bhutani *et al.*, 2018).

8.4.4 Determinación de propiedades toxicológicas predictivas de derivados de alquilbencimidazolonas.

Las propiedades toxicológicas de los compuestos seleccionados se determinarán utilizando la herramienta en línea admetSAR (<http://lmm.d.ecust.edu.cn/admetSAR2/predict/>). Esta herramienta bioinformática evalúa (según la estructura) diferentes pruebas de toxicidad como, la inhibición de transportadores de grupos orgánicos (aniones y cationes) (OATP, MATE) los cuales son de relevancia para el metabolismo y excreción de sustancias en el organismo; también pruebas de carcinogénesis, mutagénesis, cardiovasculares, hepatotoxicidad, toxicidad oral aguda, entre otros; utilizando algoritmos de aprendizaje automático que incluyen bosque aleatorio (RF), máquina de vectores de soporte (SVM) y k vecinos más cercanos (kNN) para construir los modelos a partir de datos que se obtienen de bases de datos como DrugBank, ChEMBL y CPDB, artículos científicos revisados y proyectos de cribado de alto rendimiento como Tox21. (Yang, *et al.*, 2019).

Inicialmente, se introduce el código SMILE determinados para los derivados de alquilbencimidazolonas en la interfaz del programa admetSAR, para obtener los resultados de probabilidad (%) de los compuestos evaluados para cada uno de las pruebas evaluadas; estos valores se presentan en un cuadro comparativo indicando si el compuesto puede generar efectos toxicológicos de ese tipo (% +) o de no presentarlo (% -) (Osman *et al.*, 2021).

8.4.5 Método para la realización del acoplamiento molecular

Para realizar el acoplamiento molecular, los derivados de bencimidazolonas se diseñaron usando el programa ChemDraw v16, posteriormente se realizó la optimización de las estructuras tridimensionales (3D) de los compuestos mediante el programa Spartan V14 y Chimera V1.16 hasta obtener la conformación de mínima energía utilizando la teoría MMMF94's; de la misma forma, se asignaron las cargas de Gasteiger utilizando el programa Avogadro v1.2.0 (Morris *et al.*, 2009; Pettersen *et al.*, 2004). Las estructuras optimizadas se guardaron con formato SYBYL mol2. Posteriormente, las estructuras 3D cristalizadas de las enzimas α -amilasa pancreática humana PDB ID: 5E0F con 1.4 Å de resolución), α -glucosidasa humana (PDB ID: 5NN8 con 2.45 Å de resolución), y GK humana (PDB ID: 3IMX con 2 Å de resolución) se descargaron de la base de datos Protein Data Bank (PDB). Antes de los cálculos de docking, se removieron las moléculas de agua, ligandos y iones que no se encuentren en los sitios activos. El sistema se solató con hidrógenos polares y cargas de *Kollman* en el programa AutoDock Tools v1.5 (Aispuro-Pérez *et al.*, 2020; Mughal *et al.*, 2018). El análisis de acoplamiento molecular se realizó en el programa AutoDock Vina, cargándose el formato mol2 del paso anterior, posteriormente se adicionaron los ligandos y se utilizó un cubo tridimensional de tamaño 74 x 70 x 90 puntos (X, Y, Z) centrado en el centro de la enzima α -glucosidasa, 80 x 72 x 66 puntos (X, Y, Z), y en el sitio alostérico de GK 66 x 62 x 40 puntos con 0.375 Å de espaciado. Los cálculos de docking se realizaron utilizando el algoritmo genético de Lamarckian para la búsqueda de las conformaciones de menor energía del ligando. La evaluación de los derivados de bencimidazolonas en el docking consistió en un total de 200 corridas por

compuesto, que se llevaron a cabo con un tamaño de población de 150 individuos, un máximo de 25 millones de evaluaciones de energía, un máximo de 270,000 generaciones, una tasa de mutación de genes de 0.02 y una tasa de cruce de 0.8. El análisis de grupos fue realizado en los resultados obtenidos usando la media cuadrática (RMS) con tolerancia de 2.0 Å. Las conformaciones de menor energía libre de unión fueron examinadas con el programa Accelrys, Discovery Studio Visualizer v17.2.0.16349 para visualizar las diferentes interacciones con aminoácidos (Aispuro-Pérez *et al.*, 2020; Yeye *et al.*, 2020).

Los resultados obtenidos fueron expresados en parámetros de energía de unión (EU Kcal·mol⁻¹), tipo y tamaño de enlace formado (Å).

8.5 Método general para la síntesis de bencimidazolonas

La metodología propuesta en este proyecto partió de la reacción de anhídrido isatóico como compuesto limitante (**1**) con azida de trimetilsilano (1.4 mmol) y *N,N* dimetilformamida (DMF) (2 mmol), mediante el uso de irradiación por microondas (130 °C por 20 minutos) para generar el núcleo de bencimidazolona (**2**). Este compuesto se utilizó como base para la alquilación con bromuros de alquilo (1.5 mmol), carbonato de potasio (base) (1.0 mmol) y DMF (2 mmol), y mediante calor convención (70 °C /24 h) generar los derivados de bencimidazolonas monosustituidas (**3**), para su posterior purificación por columna cromatográfica. Nuestro grupo de investigación tiene amplia experiencia en la síntesis orgánica y uso de azidas para la inserción del heteroátomo de nitrógeno en compuestos heterocíclicos. La síntesis de los derivados se realizó a partir de las bencimidazolonas que presentaron actividad *in silico* (**figura 13**).

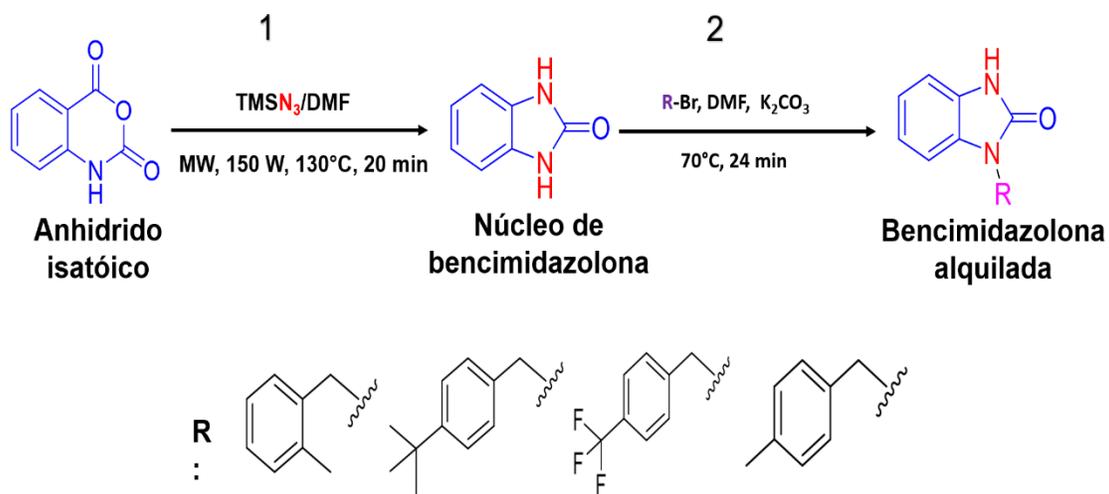


Figura 13. Esquema de síntesis de derivados de benzimidazolonas mediante la combinación de irradiación por microondas y calor convencional. 1) En el primer parte de la síntesis se usó anhidrido isatóico como compuesto limitante, azida de trimetilsilano y DMF en condiciones de microondas para generar el núcleo de bencimidazolonas. 2) Posteriormente, este compuesto se usó para la alquilación con bromuros de bencilo en condiciones de calor convencional para generar bencimidazolonas alquiladas.

8.6 Ensayos *in vitro*

8.6.1 Evaluación de la actividad inhibidora contra α -glucosidasa.

La determinación de la inhibición de la enzima α -glucosidasa (EC 3.2.1.20) se realizó siguiendo los procedimientos reportados por Custódio y colaboradores en 2015 y Aispuro-Pérez y colaboradores en 2019. En una placa de Elisa de 96 pozos se agregó 100 μL de la enzima α -glucosidasa (EC 3.2.1.20) a una concentración de 1 $\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$ disuelta en buffer de fosfatos (0.1 M a pH 7). Posteriormente, se agregó 50 μL de las bencimidazonas sintetizadas (utilizando DMSO 5% en metanol como disolvente) a las concentraciones de 1, 10, 100, 500 y 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ utilizando como control negativo la reacción enzimática sin inhibidor (se adicionaron 50 μL de metanol) y como control positivo el fármaco acarbosa a 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Después, la placa se incubó a 25°C por 10 min; luego, se agregó 50 μL del sustrato *p*-nitrofenil- α -D-glucopiranososa (concentración de 5 mM). Posteriormente, se incubó a 25°C por 5 min. Todas las evaluaciones se llevaron a cabo por duplicado en un solo experimento. Una vez concluida la incubación, se realizó la lectura de las absorbancias a una longitud de onda a 405 nm y se determinó el porcentaje de inhibición mediante la siguiente fórmula:

$$\% \textit{inhibicion} = \frac{\textit{Abs control} - \textit{Abs muestra}}{\textit{Abs control}} \times 100$$

Donde:

Abs control = absorbancia de la reacción enzimática sin inhibidor.

Abs muestra = absorbancia de la reacción con las diferentes concentraciones de inhibidor.

Los porcentajes de inhibición calculados fueron ingresados al programa informático GraphPad Prism v6 para determinar la IC₅₀ (Custódio *et al.*, 2015; Kwon *et al.*, 2008).

8.6.2 Evaluación de la actividad inhibidora contra α -amilasa.

La determinación de la inhibición de la enzima α -amilasa se realizó siguiendo la metodología reportada por Mendoza-Meza y Medina-Valdés, 2015. En una placa de Elisa de 96 pozos se agregaron 75 μ L de la enzima α -amilasa (AMY2) (concentración de 0.5 mg·mL⁻¹ en buffer de fosfatos a 0.1 M y pH 6.9), 75 μ L de las bencimidazolonas (concentraciones de 1, 10, 100, 500, 1000 μ g·mL⁻¹ en metanol) y se incubó por 10 minutos a 25°C. Se utilizó como control negativo la reacción enzimática sin inhibidor (se adicionaron 75 μ L de metanol) y como control positivo acarbosa a 100 μ g·mL⁻¹. Posteriormente, se adicionaron 75 μ L de almidón (concentración de 0.1% p/v en buffer de fosfatos a 0.1 M y pH 6.9) para iniciar la reacción y se incubó por 10 minutos a 25°C. Luego, se agregaron 62.5 μ L del ácido dinitrosalicílico (DNS, concentración de 96 mM en una solución acuosa de sulfito de sodio al 0.05%, hidróxido de sodio al 1% y fenol al 0.2%) y se colocaron en agua hirviendo por 5 minutos, pasado este tiempo, se dejó a enfriar a temperatura ambiente y se tomó lectura en el espectrofotómetro a una longitud de onda a 580 nm. El porcentaje de inhibición fue calculado siguiendo la fórmula:

$$\% \textit{inhibicion} = \frac{\textit{Abs control} - \textit{Abs muestra}}{\textit{Abs control}} \times 100$$

Donde:

Abs control = absorbancia de la reacción enzimática sin inhibidor.

Abs muestra = absorbancia de la reacción con las diferentes concentraciones de inhibidor.

Los porcentajes de inhibición calculados fueron ingresados al programa informático GraphPad Prisma versión 6 para determinar la IC₅₀ (Meza & Valdés, 2015).

8.6.3 Evaluación de la actividad activadora contra glucocinasa.

Para el estudio de activación, se utilizó el kit comercial “Hexokinase colorimetric assay kit”, generando la determinación de la cantidad de nano moles por minuto por mililitro (nmol·min⁻¹·mL⁻¹) de dinucleótido de nicotinamida reducido (NADH) generados por la enzima glucocinasa, el cual se lee a una longitud de onda de 450 nm; por parte de los derivados de bencilbencimidazolonas (concentraciones de 0.1-200 µg·mL⁻¹), control positivo y el estándar de NADH (reacción enzimática normal).

Inicialmente, se realizaron los cálculos correspondientes para generar las concentraciones necesarias; después, se realizó una curva del estándar de NADH, utilizando diluciones para generar 0, 2.5, 5, 7.5, 10 y 12.5 nmol, dicha curva se utilizó para determinar los nmol generados por los compuestos (valor de B en fórmula).

De la misma forma, se determinó el intervalo de tiempo de reacción (Δ tiempo); donde se utiliza como tiempo final los minutos donde la absorbancia anterior al tiempo donde la absorbancia sea mayor que el máximo de la curva estándar y el tiempo inicial el primer intervalo de lectura (5 minutos). La actividad enzimática se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Activación de GK} = \frac{\text{nmol de NADH} - \text{Factor de dilución}}{(\Delta \text{Tiempo})(\text{Volumen de compuesto})}$$

Donde:

Nmol de NADH = Nano moles generados de NADH.

Δ Tiempo = intervalo de tiempo de reacción

Los resultados fueron expresados como nmol de NADH generados y se observó su aumento en la actividad comparando con los nano moles generados en la curva estándar.

8.7 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos de los ensayos *in vitro* de inhibición (α -glucosidasa y α -amilasa), así como el de activación enzimática (GK) fueron recolectados en una base de datos en Microsoft Excel y posteriormente exportados al software estadístico SPSS v.15; utilizando medias \pm error estándar de la media (EEM) donde fueron analizados mediante una ANOVA de 1 vía y una prueba post hoc de Dunnett; donde valores de $p < 0.05$ se consideraron estadísticamente significativos.

VIII. RESULTADOS

9.1 Ensayos *in silico* de derivados de alquilbencimidazolonas

Se diseñaron 22 derivados de alquilbencimidazolonas (**2a-u**) los cuales presentaron en su estructura grupos aromáticos, átomos de nitrógeno, halógenos, etc., los cuales son considerados por diversos autores grupos funcionales importantes para el control de glucemia (**cuadro 1**).

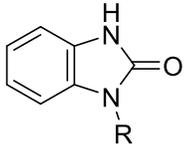
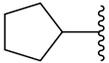
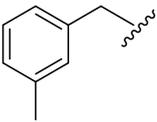
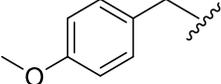
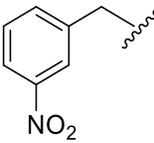
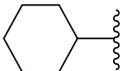
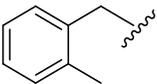
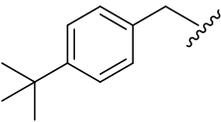
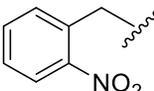
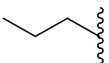
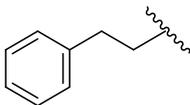
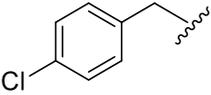
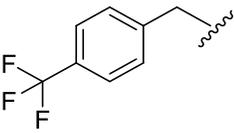
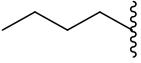
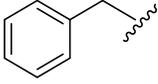
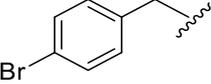
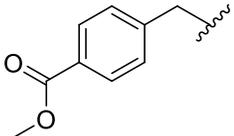
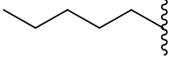
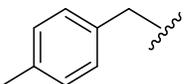
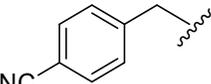
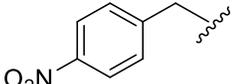
9.2 Determinación de la predicción del perfil PASS de derivados de alquilbencimidazolonas

El estudio de predicción de actividades biológicas (PASS) para los 22 derivados de alquilbencimidazolonas mostraron que dichos compuestos, presentan probabilidad de ser biológicamente activo (Pa) para actividades contra la dermatitis atópica, estimulante de la función renal, protector contra mucosas, inhibidor de gastrina, activación de algunos canales de potasio entre otras.

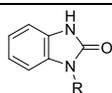
Además de las actividades antes mencionadas, se observó que esta familia de compuestos podría tener efectos promotores de insulina con valores de Pa desde un 25 a 60% de probabilidad. De la misma forma, se observaron actividades asociadas al control de glucemia como actividad antidiabética o la Inhibición de la enzima degradadora de insulina, presentando valores de Pa que van hasta 50% de probabilidad; siendo los compuestos **2j**, **2k**, **2l**, **2p**, **2q**, **2r**, **2s**, **2t** y **2u** los que presentaron los mejores valores de Pa (**Cuadro 2**).

Analizando los resultados obtenidos, los compuestos **2t** y **2u**, presentaron bajas probabilidades de ser biológicamente activos para el control de glucemia,

Cuadro 1. Lista de sustituyentes de compuestos alquilbencimidazolonas

				
Alquilbencimidazolonas (2)				
R	R	R	R	R
 A	 f	 K	 o	 t
 B	 g	 L	 p	 u
 C	 h	 m	 q	
 D	 i	 N	 r	
 e	 j	 ñ	 s	

Cuadro 2. Relación de actividades biológicas encontradas en PASS de los derivados de alquilbencimidazolonas.



Alquilbencimidazolonas

R	Predicción de actividad	Valor de Pa (%)	Valor de Pi (%)
2j	Antidiabética sintomática	30	4
	Inhibidor de insulysin	45	9
	Promotor de insulina	59	2
-2k	Antidiabética sintomática	29	5
	Inhibidor de insulysin	39	9
	Promotor de insulina	60	2
2l	Antidiabética sintomática	26	7
	Antidiabética	25	12
	Inhibidor de insulysin	41	9
	Promotor de insulina	55	5
2p	Antidiabética sintomática	30	4
	Antidiabética	20	17
	Promotor de insulina	33	8
2q	Antidiabética sintomática	28	5
	Antidiabética	31	8
	Inhibidor de insulysin	25	19
2r	Promotor de insulina	51	3
	Antidiabética sintomática	30	4
	Inhibidor de insulysin	39	9
2s	Promotor de insulina	51	3
	Antidiabética sintomática	30	4
	Inhibidor de insulysin	32	10
2t	Promotor de insulina	37	8
	Antidiabética sintomática	30	5
2u	Promotor de insulina	25	20
	Antidiabética sintomática	20	15

al obtener valores de $P_a < 30\%$ y con pocas actividades relacionadas a este propósito.

9.3 Determinación del perfil ADME de derivados de alquilbencimidazolonas

Una vez indicada la posible actividad en el control de glucemia por parte de los derivados de alquilbencimidazolonas, se realizó un análisis del perfil de absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME), esto para determinar parámetros fisicoquímicos, farmacocinéticos y el potencial de estos compuestos a ser biológicamente activo (drug-likeness), esto mediante los lineamientos de los filtros o reglas de Lipinski y Veber (Bhutani *et al.*, 2018).

Como se mencionó anteriormente, estas reglas, determinan características importantes en la determinación de la bioviabilidad biodisponibilidad oral; estas características pueden ser, el peso molecular (P_m) ($< 500 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$), cantidad de sitios aceptores de hidrógeno (S_{ah}) (< 10 sitios), cantidad de sitios donadores de hidrógeno (S_{dh}) (< 5 sitios), lipofilidad (LogP) (≤ 4.15), número de enlaces rotables (n_{ER}) (≤ 10) y área de superficie polar (TPSA) ($< 140 \text{ \AA}$ indican una buena absorción intestinal y $\text{TPSA} < 70 \text{ \AA}$ un fácil paso por barrera hematoencefálica). Cuando existen fallos en alguno de estos parámetros, sugieren una baja biodisponibilidad oral (Daina *et al.*, 2017).

Dentro de los resultados se observa **2j, 2k, 2l, 2p, 2q, 2r, 2s, 2t y 2u** cumplen con los parámetros de Lipinski y Veber, ya que se observa que parámetros como la lipofilidad (valores entre 2 y 4), TPSA (37.79 a 83.61 \AA), n_{ER} (2 a 3), se encuentran dentro de los valores considerados como normales, sugiriendo que pueden tener buena absorción intestinal y biodisponibilidad oral (**Cuadro 3**).

Cuadro 3. Análisis de las propiedades fisicoquímicas, farmacocinéticas y drug-likeness de los derivados de alquilbencimidazonas.

Compuesto	Filtro de Lipinski				Violaciones de filtro Lipinski	Filtro de Veber	
	Pm (g mol ⁻¹)	Sah	Sdh	LogP		Ner	TPSA (Å ²)
2j	238.28	1	1	2.82	0	2	37.79 Å ²
2k	238.28	1	1	2.81	0	2	37.79 Å ²
2l	238.28	1	1	2.80	0	2	37.79 Å ²
2p	280.36	1	1	3.69	0	3	37.79 Å ²
2q	292.26	4	1	3.53	0	3	37.79 Å ²
2s	269.26	3	1	1.90	0	3	83.61 Å ²
2t	238.28	1	1	2.82	0	2	37.79 Å ²
2u	224.26	1	1	2.80	0	2	80.31 Å ²

Pm: peso molecular, **Sah:** sitios aceptores de hidrógeno, **Sdh:** sitios donadores de hidrógeno, **LogP:** lipofilicidad, **Ner:** número de enlaces rotables, **TPSA:** área de superficie polar.

9.4 Determinación de las propiedades toxicológicas de derivados de alquilbencimidazolonas mediante admetSAR

Otro aspecto importante en el diseño y desarrollo de nuevos agentes terapéuticos es la determinación de los posibles efectos toxicológicos; para esto, se utilizó el software online admetSAR, el cual evalúa (según la estructura) diferentes pruebas de toxicidad como, la inhibición de transportadores de grupos orgánicos (aniones y cationes) (OATP, MATE) los cuales son de relevancia para el metabolismo y excreción de sustancias en el organismo; también pruebas de carcinogénesis, mutagénesis, cardiovasculares, hepatotoxicidad, toxicidad oral aguda, entre otros.

Dentro de los resultados obtenidos para los derivados de sulfonilbencimidazolonas se observa que todos los compuestos evaluados pueden presentar propiedades toxicológicas (**Cuadro 4**). En el análisis de la posible inhibición de los transportadores de cationes y aniones (OATP2B1, OATP1B1, OATP1B3, MATE1), se observa que los 9 compuestos evaluados inhiben 2 de los 4 transportadores con probabilidades de un 90-100%; asociándose a hepatotoxicidad.

A su vez, todos los compuestos evaluados presentaron un nivel III de toxicidad aguda ($IC_{50} = 50-300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$), categorizando a estos compuestos como tóxicos. Sin embargo, los porcentajes de probabilidad para este parámetro fueron de 60-70%, por lo cual, se necesitan más estudios para corroborar este posible efecto tóxico.

Por otro lado, los 9 compuestos evaluados no presentaron probabilidad de presentar efectos cancerígenos ni mutagénicos al obtener resultados negativos de un 80 y 70% respectivamente.

Cuadro 4. Relación de las propiedades toxicológicas presentadas por los derivados de alquilbencimidazolonas.

Parámetros	Alquilbencimidazolonas								
	2j	2k	2l	2p	2q	2r	2s	2t	2u
Inhibición de OATP2B1	- (100%)	- (86%)	- (85%)	- (86%)	- (100%)	- (86%)	- (100%)	- (100%)	- (100%)
Inhibición de OATP1B1	+ (94%)	+ (93%)	+ (94%)	+ (92%)	+ (96%)	+ (92%)	+ (84%)	+ (85%)	+ (90%)
Inhibición de OATP1B3	+ (95%)	+ (95%)	+ (95%)	+ (95%)	+ (95%)	+ (94%)	+ (94%)	+ (94%)	+ (94%)
Inhibición de MATE1	- (94%)	- (94%)	- (94%)	- (94%)	- (98%)	- (88%)	- (92%)	- (92%)	- (92%)
Hepatotoxicidad	+ (78%)	+ (75%)	+ (80%)	+ (65%)	+ (63%)	+ (74%)	+ (85%)	+ (83%)	+ (82%)
Toxicidad oral aguda	III (68%)	III (68%)	III (68%)	III (62%)	III (54%)	III (60%)	III (68%)	III (68%)	III (69%)
Carcinogénesis	- (87%)	- (87%)	- (87%)	- (89%)	- (87%)	- (86%)	- (82%)	- (83%)	- (83%)
Mutagénesis (pba ames)	- (76%)	- (72%)	- (70%)	- (75%)	- (76%)	- (72%)	+ (77%)	- (69%)	+ (70%)

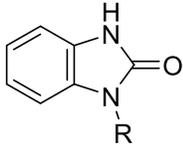
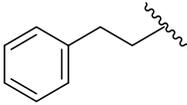
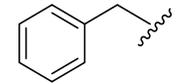
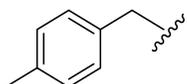
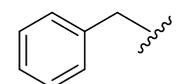
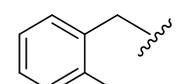
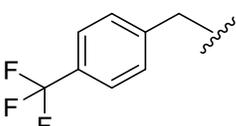
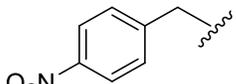
Con base en los resultados de los análisis PASS, perfil ADME y propiedades toxicológicas, se sugiere que los compuestos **2r**, **2t** y **2u** presentan poca probabilidad de tener una actividad en el control de glucemia (valores de Pa de <30%), de la misma forma los resultados del estudio predictivo de toxicidad mostraron que la mayoría de estos compuestos tienen la probabilidad generar daños hepatotóxicos; sin embargo, es necesario realizar estudios *in vitro* e *in vivo* para corroborar estos datos.

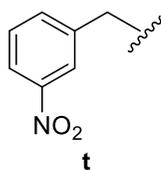
9.5 Estudio de acoplamiento molecular de alquilbencimidazolonas sobre α -glucosidasa

Los compuestos de la familia alquilbencimidazolonas (**2a-u**) fueron analizados en el programa Autodock Vina realizando un modelamiento dirigido en el sitio de unión de α -glucosidasa, obteniendo valores de EU entre -9.2 y -6.3 Kcal·mol⁻¹ (**cuadro 5**), siendo estos valores indicativos de una buena afinidad de unión entre los compuestos y la enzima evaluada (un valor de EU, menor que -5, representa una mayor afinidad); donde los sustituyentes: trifloro, bencilo y *o*-nitro en el anillo bencílico (**2q**, **2i** y **2t**) presentaron los mejores valores de EU contra esta enzima (-8.7, -9.1 y -10.6 Kcal·mol⁻¹ respectivamente).

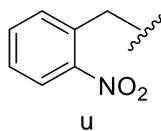
A su vez, se realizó un análisis del tipo de interacciones con los aminoácidos del sitio activo de la enzima α -glucosidasa. Según reportes en la literatura, se indica que los aminoácidos considerados como catalíticos son Asp518, Glu521 y Asp616. Los resultados obtenidos en este análisis indican que en todos los compuestos se presentan enlaces de hidrógeno y/o electrostáticos con al menos uno de los aminoácidos catalíticos (**figura 14**); dando una explicación a la buena formación de enlace mostrada en el acoplamiento molecular.

Cuadro 5. Análisis de acoplamiento molecular (valores de energía de unión y perfil de aminoácidos de sitio activo) de alquilbencimidazolas con mejor actividad sobre α -glucosidasa.

 Alquilbencimidazolas		
α -glucosidasa		
R	EU (kcal mol ⁻¹)	Interacciones
 h	-8.9	Enlace de hidrógeno: N-H---O de Asp616** (2.39 Å) (ángulo = 129.449) C=O---H-N de Arg600 (2.11 Å) (ángulo = 158.573) Enlaces electrostáticos: pi-anión: anillo A --- O de Asp616** (3.7 Å) anillo C --- O de Asp404 (3.62 Å)
 i	-9.1	Enlace de hidrógeno: N-H---O de Asp616** (2.70 Å) (ángulo = 109.721) C=O---H-N de Arg600 (2.93 Å) (ángulo = 71.373) Enlaces electrostáticos: pi-anión: anillo A --- O de Asp616** (3.44 Å)
 j	-8.6	Enlace de hidrógeno: N-H---O de Asp616** (2.81 Å) (ángulo = 114.958) Enlaces electrostáticos: Pi-anión: anillo A --- O de Asp616** (3.56 Å)
 k	-8.4	Enlace de hidrógeno: N-H---O de Asp616** (2.94 Å) (ángulo = 100.191) C=O---H-N de Arg600 (3.13 Å) (ángulo = 39.592) Enlaces electrostáticos: pi-anión: anillo A --- O de Asp616** (3.89 Å) anillo B --- O de Asp616** (4.85 Å)
 l	-8.6	Enlace de hidrógeno: N-H---O de Asp518** (2.54 Å) (ángulo = 121.753) C=O---H-N de Arg600 (3.07 Å) (ángulo = 33.15) C=O---H-N de Arg600 (3.16 Å) (ángulo = 35.216) Enlaces electrostáticos: pi-anión: anillo A --- O de Asp616** (3.54 Å)
 q	-8.7	Enlace de hidrógeno: Ar-F --- H-N de Arg600 (3.66 Å) (ángulo = 60.513) Enlace de halógeno: Halógeno: F --- O de Asp518** (3.15 y 3.86 Å) F --- O de Asp518** (3.20 Å) F --- O de Asp404 (3.36 Å) F --- O de Asp518** (2.94 Å)
 s	-8.3	Enlace de hidrógeno: N-O---O de Ser676 (2.81 Å) (ángulo = 92.286) N-H---O de Asp616** (2.71 Å) (ángulo = 119.936) carbono-hidrógeno: N-O---C-H de Ser676 (3.45 Å)



-9.7



-10.6

Enlace de hidrógeno:

C-O --- H-N de Arg600 (3.15 Å) (ángulo = 53.29)
 N-H---O de Asp518** (2.01 Å) (ángulo = 132.682)
 N-O --- H-N de Arg600 (2.85 Å) (ángulo = 14.496)

Carbono-hidrógeno:

C-O --- H-O de His674 (3.69 Å)

Enlaces electrostáticos:

pi-anión: anillo A --- O de Asp404 (3.90 Å) y O de Asp404 (3.46 Å)

Enlace de hidrógeno:

C-O --- H-N de Arg600* (3.12 Å) (ángulo = 15.008)
 N-O --- H-N de Arg600* (2.83 Å) (ángulo = 59.121)

Enlaces electrostáticos:

pi-anión: anillo A --- O de Asp616** (3.32 Å)
 anillo B --- O de Asp616** (4.18 Å)
 anillo C --- O de Asp616** (4.38 Å)

** aminoácidos catalíticos

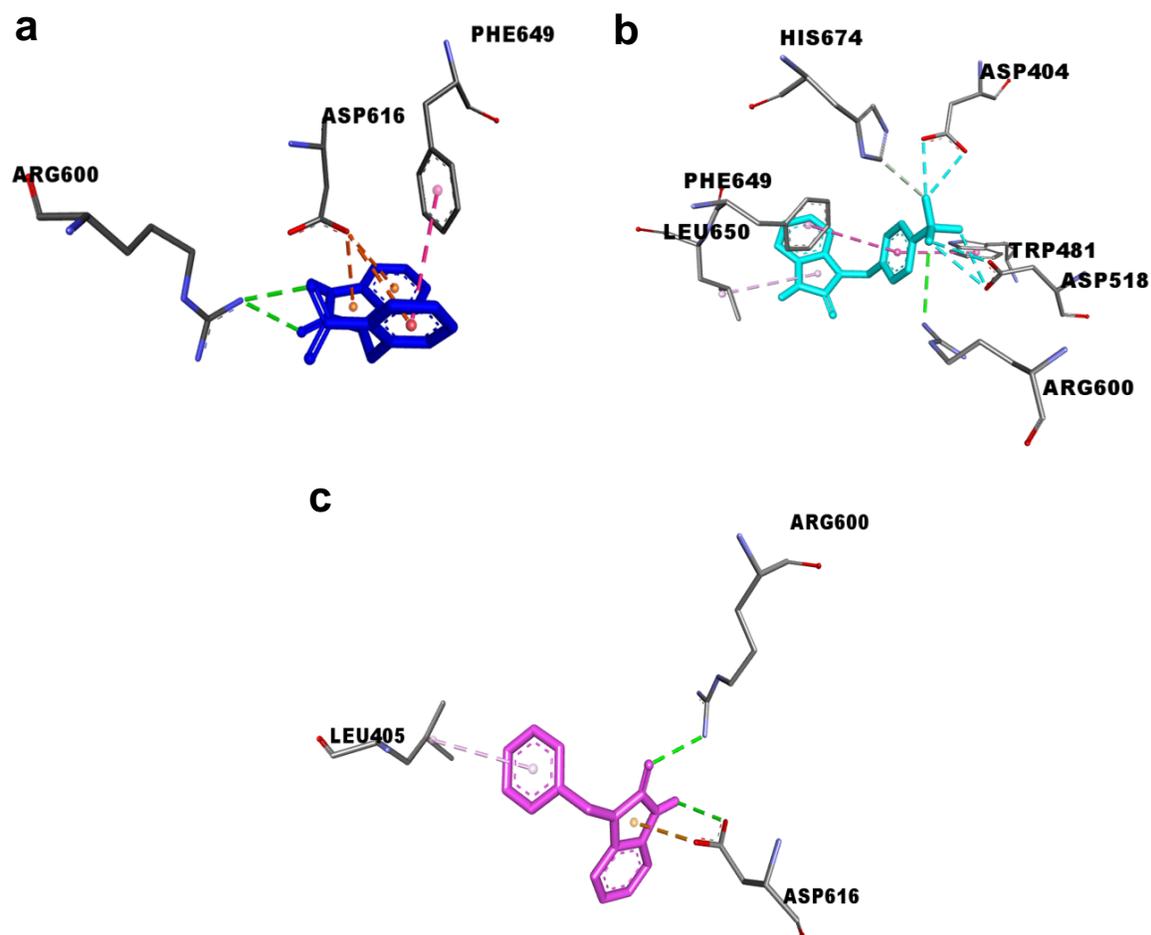


Figura 14. Interacciones de los compuestos 2t (a), 2q (b) y 2i (c) con el sitio activo de α -glucosidasa. Se observa la formación de enlaces de hidrógeno (color verde), electrostáticos (color naranja), halógeno (color azul) e hidrofóbicos (color rosa) con los residuos de aminoácidos catalíticos Asp518 y Asp616; así como residuos de relevancia biológica Arg600 y Asp282.

9.6 Estudio de acoplamiento molecular de alquilbencimidazolonas sobre α -amilasa

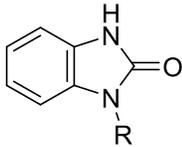
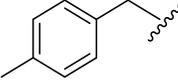
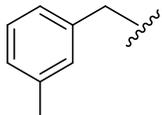
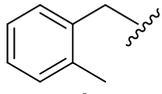
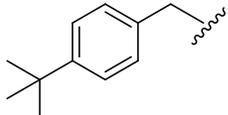
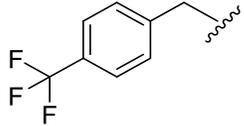
En el caso de los resultados del acoplamiento molecular contra la enzima α -amilasa, se obtuvieron valores de EU varían entre -5.7 y -9.7 Kcal·mol⁻¹ (**cuadro 6**). Siendo los sustituyentes metilo (**2k**), terbutilo (**2p**) y trifloro (**2q**) en el anillo bencílico presentaron los mejores valores de EU contra esta enzima (-9.2, -9.6 y -9.7 Kcal·mol⁻¹ respectivamente). De la misma forma, se evaluaron los tipos de interacciones con los residuos de aminoácidos en el sitio de unión.

Durante el análisis de la cantidad y tipo de enlaces formados, con los aminoácidos catalíticos del sitio activo de esta enzima (Asp197, Glu233 y Asp300), se observa que en todos los compuestos se presentan enlaces de hidrógeno y/o electrostáticos con dos aminoácidos catalíticos, así como con aminoácidos de importancia en la actividad biológica como Trp59, His101, Arg195, His201 y Lys200 (**figura 15**).

9.7 Estudio de acoplamiento molecular de alquilbencimidazolonas sobre glucocinasa

Para evaluar la posible capacidad de unión de la familia alquilbencimidazolonas, se realizó un acoplamiento molecular dirigido en el sitio alostérico de la enzima glucocinasa (este sitio es reportado como un sitio activador de la enzima); los resultados obtenidos en la EU, mostraron valores entre -5.7 y -10.9 Kcal·mol⁻¹ (**cuadro 7**). Siendo los sustituyentes metilo (**2j y 2k**) y trifloro (**2q**) en el anillo bencílico presentaron los mejores valores de EU contra esta enzima (-9.5, -9.5 y -10.9 Kcal·mol⁻¹ respectivamente).

Cuadro 6. Análisis de acoplamiento molecular (valores de energía de unión y perfil de interacciones en sitio activo) de alquilbencimidazonas con mejor actividad sobre α -amilasa.

 Alquilbencimidazonas		
α-amilasa		
R	EU (kcal mol⁻¹)	Interacciones
 J	-8.9	Enlace de hidrógeno: C=O---H-N (pirrol) de Trp59 (2.33 Å) (ángulo = 164.087) N-H---O de Asp300** (2.44 Å) (ángulo = 110.124) Enlaces electrostáticos: Pi-anión: anillo B --- O de Glu233** (3.93 Å) Enlace de hidrógeno: N-H---O de Glu233** (2.53 Å) (ángulo = 122.293) Carbono-hidrógeno: 3MeBn-CH ₂ --- O de Asp197** (3.63 Å)
 k	-9.2	Enlaces electrostáticos: pi-catión: anillo B --- N-H de Arg195 (3.90 Å) pi-anión: anillo A --- O de Asp197** (3.77 Å) anillo B --- O de Asp197** (3.71 Å) y O de Asp300** (4.00 Å) Enlace de hidrógeno: C=O---H-N de Arg195 (2.32 Å) (ángulo = 144.869) C=O---H-N de His299 (2.75 Å) (ángulo = 108.011) C=O---H-N de His299 (2.62 Å) (ángulo = 121.28) Carbono-hidrógeno: 2MeBn-CH ₂ --- O de Asp197** (3.77 y 3.36 Å)
 I	-8.6	Enlaces electrostáticos: pi-anión: anillo A --- O de Asp300** (3.38 Å) y O de Glu233** (3.38 Å) anillo B --- O de Glu233** (4.03 Å) Enlace de hidrógeno: C=O---H-N (pirrol) de Trp59 (2.06 Å) (ángulo = 172.476) N-H---O de Asp300** (2.39 Å) (ángulo = 113.745) Carbono-hidrógeno: 4terBuBn-CH ₂ --- O de Asp197** (3.62 Å)
 p	-9.6	Enlaces electrostáticos: pi-catión: anillo A --- N-H de Arg195 (4.79 Å) pi-anión: anillo A --- O de Asp197** (3.71 Å), O de Glu233** (3.82 Å) anillo B --- O de Glu233** (3.95 Å) Enlace de hidrógeno: N-H---O de Glu233** (2.55 Å) (ángulo = 116.447) Pi-donador de hidrógeno: anillo B --- H-N (pirrol) de Trp59* (3.14 Å)
 q	-8.7	Enlace de halógeno: Halógeno: F --- O de Gln63 (3.20 Å) F --- O de Gln63 (3.18 Å) Enlaces electrostáticos: pi-catión: anillo B --- N-H de Arg195 (3.83 Å)

pi-anión: anillo A --- O de Asp197** (3.99 Å), O de Glu233** (3.56 Å)
 anillo B--- O de Asp197** (3.83 Å)

Enlace de hidrógeno:

N-O---O de Glu233** (2.58 Å) (ángulo = 116.743)
 Me-COO --- H-N de Gln63 (2.28 Å) (ángulo = 147.268)

Carbono-hidrógeno: BnCOO-Me-CH2 --- H-O de Asp197** (3.56 Å)

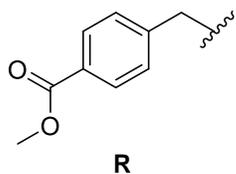
Pi-donador de hidrógeno: anillo B --- H-N (pirrol) de Trp59 (3.20 Å)

Enlaces electrostáticos:

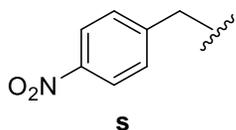
pi-catión: anillo B --- N-H de Arg195 (3.89 Å)

pi-anión: anillo A --- O de Asp197** (3.85 Å) y O de Glu233** (3.61 Å)

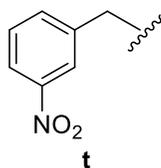
anillo B--- O de Asp197** (3.73 Å) y O de Asp300** (4.13 Å)



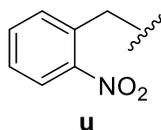
-8.8



-8.6



-8.8



-8.6

Enlace de hidrógeno:

N-O---O de Glu233** (2.54 Å) (ángulo = 117.351)

N-O---O de Asp197** (1.93 Å) (ángulo = 142.786)

Enlace de hidrógeno:

C-O --- H-N de Arg195 (2.34 Å) (ángulo = 148.549)

Carbono-hidrógeno: N-O --- CH de His101 (3.46 Å)

Enlaces electrostáticos:

pi-anión: anillo A --- O de Glu233** (3.26 Å) y O de Asp300** (3.46 Å)

anillo B --- O de Glu233** (3.71 Å) y O de Asp300** (4.67 Å)

Enlace de hidrógeno:

C=O---H-N de Arg195 (2.46 Å) (ángulo = 136.278)

C=O---H-N de Arg195 (2.62 Å) (ángulo = 132.874)

N=O---H-N de Arg195 (2.42 Å) (ángulo = 147.555)

N=O---H-N de His299 (2.43 Å) (ángulo = 125.247)

Carbono-hidrógeno: 4NO2Bn-CH2 --- O de Asp197** (3.52 Å)

Enlaces electrostáticos:

pi-anión: anillo A --- O de Glu233** (3.25 Å) y O de Asp300** (3.22 Å)

anillo B --- O de Glu233** (3.71 Å) y O de Asp300** (3.97 Å)

anillo C --- O de Asp300** (4.19 Å) y O de Asp197** (4.98 Å)

** aminoácidos catalíticos.

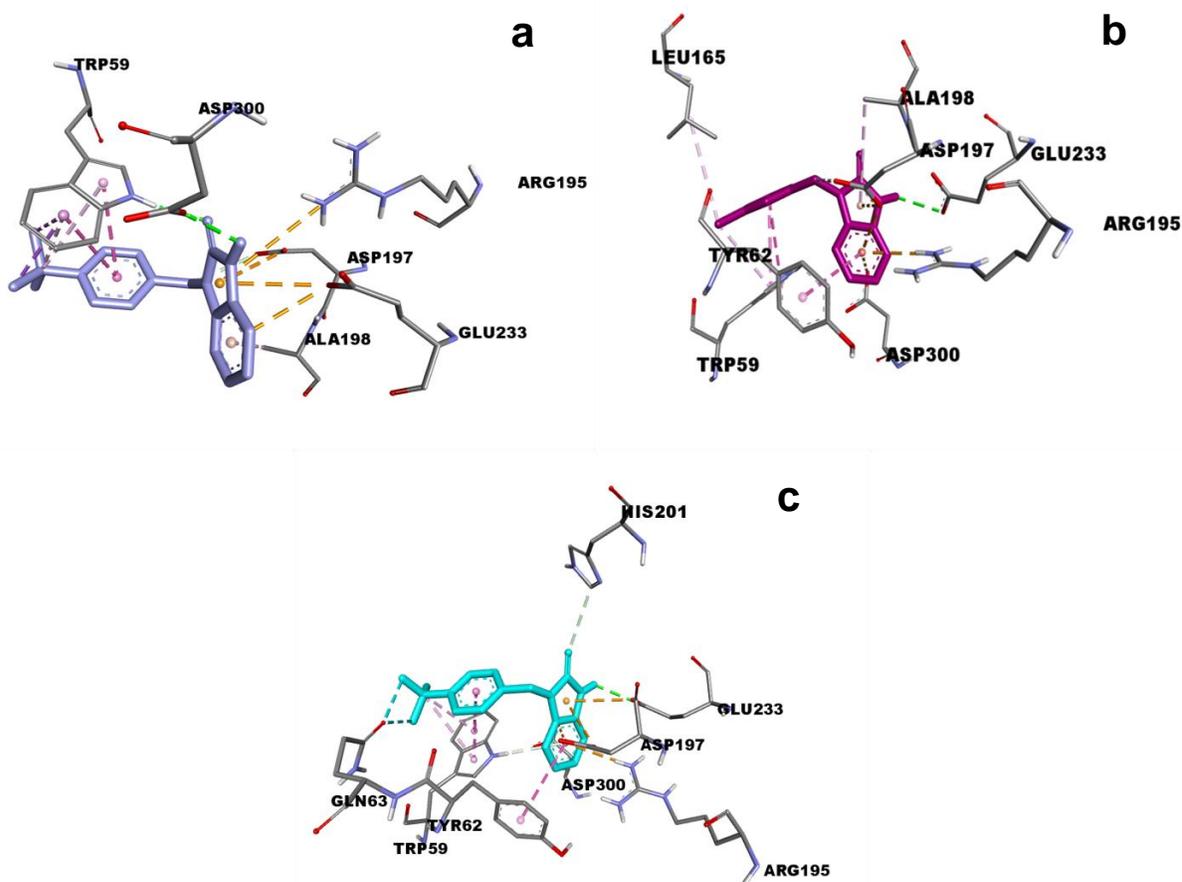
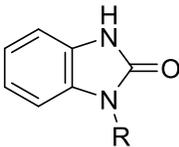
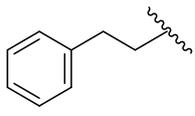
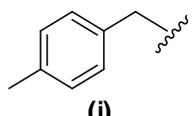
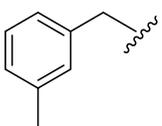
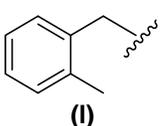
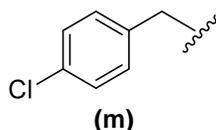


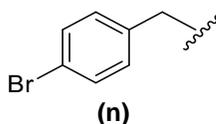
Figura 15. Interacciones de los compuestos 2k (a), 2p (b) y 2q (c) con el sitio activo de α -amilasa. Se observa la formación de enlaces de hidrógeno (color verde), electrostáticos (color naranja), halógeno (color azul) e hidrofóbicos (color rosa/morado) con residuos de aminoácidos catalíticos Asp197, Glu233 y Asp300 y de relevancia biológica Trp59, His101, Arg195, His201 y Lys200.

Cuadro 7. Análisis de acoplamiento molecular (valores de energía de unión y perfil de interacciones en sitio activo) de alquilbencimidazolonas con mejor actividad sobre glucocinasa.

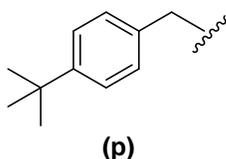
 Alquilbencimidazolonas		
Glucocinasa		
R	EU (kcal mol⁻¹)	Interacciones
 (h)	-9.1	Enlace de hidrógeno: N-H---O-H de Ser64 (2.56 Å) (ángulo = 131.229) Enlaces sulfuro: pi-sulfuro: Anillo B --- S de Met210 (5.05 Å) Enlaces hidrofóbicos: pi-pi Stacked: anillo A --- Ar de Tyr214 (3.97 Å) anillo B --- Ar de Tyr214 (3.64 Å) Pi-sigma: Anillo C --- CH3 de Val455 (3.48 Å) Enlaces sulfuro: pi-sulfuro: Anillo C --- S de Met210 (5.39 Å)
 (j)	-9.5	Enlaces hidrofóbicos: pi-pi Stacked: anillo C --- Ar de Tyr214 (3.71 Å) pi-pi tshaped: anillo A --- Ar de Tyr214 (4.91 Å) alquilo-alquilo: Me --- CH2 de Met210 (4.94 Å) y CH2 de Met235 (3.73 Å) pi-alquilo: anillo A --- CH de Val455 (4.28 Å) Me --- Ar de Tyr214 (4.23 Å)
 (k)	-9.5	Enlaces sulfuro: pi-sulfuro: Anillo C --- S de Met210 (5.39 Å) Enlaces hidrofóbicos: pi-pi Stacked: anillo C --- Ar de Tyr214 (3.71 Å) pi-pi tshaped: anillo A --- Ar de Tyr214 (4.91 Å) alquilo-alquilo: Me --- CH2 de Met210 (4.94 Å) y CH2 de Met235 (3.73 Å) pi-alquilo: anillo A --- CH de Val455 (4.28 Å) Me --- Ar de Tyr214 (4.23 Å)
 (l)	-9.1	Enlace de hidrógeno: N-H---O-H de Ser64 (2.71 Å) (ángulo = 118.008) Enlaces sulfuro: pi-sulfuro: Anillo C --- S de Met210 (4.98 Å) Enlaces hidrofóbicos: pi-pi Stacked: anillo A --- Ar de Tyr214 (4.04 Å) anillo B --- Ar de Tyr214 (3.66 Å) Pi-sigma: Anillo B --- CH3 de Met235 (3.95 Å) Anillo C --- CH3 de Val455 (3.50 Å) alquilo-alquilo: Me --- CH2 de Ile211 (3.43 Å), CH de Val452 (4.19 Å) y CH de Val455 (4.84 Å)



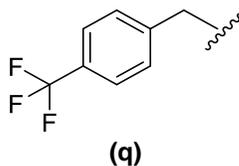
-9.5



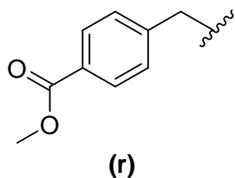
-9.5



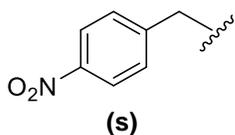
-9.2



-10.9



-9.3



-9.2

Enlaces sulfuro:

pi-sulfuro: Anillo C --- S de Met210 (5.33 Å)

Enlaces hidrofóbicos:

pi-pi Stacked: anillo C --- Ar de Tyr214 (3.73 Å)

Pi-sigma: Anillo A --- CH3 de Val455 (3.99 Å)

Anillo B --- CH3 de Val455 (3.52 Å)

Anillo C --- CH3 de Met235 (3.95 Å)

alquilo-alquilo: Cl --- CH2 de Met210 (4.87 Å), CH2 de Met235 (3.75 Å)

pi-alquilo: Cl --- Ar de Tyr214 (4.20 Å)

Enlace de hidrógeno:

N-H---O-H de Ser64 (2.82 Å) (ángulo = 110.439)

Enlaces sulfuro:

pi-sulfuro: Anillo B --- S de Met210 (4.88 Å)

Enlaces hidrofóbicos:

pi-pi Stacked: anillo A --- Ar de Tyr214 (4.07 Å)

anillo B --- Ar de Tyr214 (3.66 Å)

Pi-sigma: Anillo B --- CH3 de Met235 (3.76 Å)

Anillo C --- CH3 de Val455 (3.56 Å)

alquilo-alquilo: Br --- CH de Leu451 (4.28 Å)

pi-alquilo: Br --- Ar de Trp99 (4.67 Å)

Enlaces sulfuro:

pi-sulfuro: Anillo B --- S de Met210 (5.12 Å)

Enlaces hidrofóbicos:

pi-pi Stacked: anillo A --- Ar de Tyr214 (4.12 Å)

anillo B --- Ar de Tyr214 (3.66 Å)

Pi-sigma: Tbu-Me --- Pirrol de Trp99 (3.93 Å)

pi-alquilo: anillo C --- CH de Val455 (4.39 Å)

Tbu-C --- Pirrol de Trp99 (4.85 Å) y Ar de Tyr215 (4.94 Å)

Enlace de hidrógeno:

N-H---O-H de Ser64 (2.67 Å) (ángulo = 119.346)

Enlaces Halógeno:

Halógeno: F --- O=C de Leu451 (3.14 Å)

Enlaces sulfuro:

pi-sulfuro: Anillo B --- S de Met210 (4.98 Å)

Enlaces hidrofóbicos:

pi-pi Stacked: anillo A --- Ar de Tyr214 (4.07 Å)

anillo B --- Ar de Tyr214 (3.67 Å)

Pi-sigma: Anillo B --- CH3 de Met235 (3.80 Å)

Anillo C --- CH3 de Val455 (3.45 Å)

alquilo-alquilo: F3-C --- CH de Leu451 (4.00 Å)

Enlaces sulfuro:

pi-sulfuro: Anillo B --- S de Met210 (4.95 Å)

Enlaces hidrofóbicos:

pi-pi Stacked: anillo A --- Ar de Tyr214 (4.09 Å)

anillo B --- Ar de Tyr214 (3.68 Å)

Pi-sigma: Anillo C --- CH3 de Val455 (3.62 Å)

COO-Me --- Ar de Trp99 (3.57 Å)

pi-alquilo: COO-Me --- pirrol de Trp99 (4.27 Å)

Enlace de hidrógeno:

N-H---O=C de Ser64 (3.08 Å) (ángulo = 114.862)

Enlaces sulfuro:

pi-sulfuro: Anillo B --- S de Met210 (4.92 Å)

Enlaces hidrofóbicos:

pi-pi Stacked: anillo A --- Ar de Tyr214 (4.01 Å)

anillo B --- Ar de Tyr214 (3.61 Å)

Pi-sigma: Anillo B --- CH3 de Met235 (3.93 Å)

Anillo C --- CH3 de Val455 (3.48 Å)

Al analizar las interacciones con los residuos de aminoácidos del sitio alostérico de GK, se observa que en todos los compuestos se presentan enlaces de hidrógeno y/o hidrofóbicos con residuos de importancia en este sitio (Arg63, Pro66, His218, Ala456 y Tyr215). Cabe mencionar que la posible mejor actividad de algunos derivados de alquilbencimidazolonas, puede deberse; además de la unión a estos residuos, a los enlaces formados con Val452 y Met210 (**figura 16**).

Una vez realizado el estudio de acoplamiento regular de los derivados de alquilbencimidazolonas, se observó que los compuestos **2j**, **2k**, **2l**, **2p**, **2q**, **2r**, **2s**, **2t** y **2u**, pueden actuar en 3 o más de las dianas terapéuticas, presentando buenos valores de EU e interaccionando con aminoácidos de relevancia biológica; por lo que pueden ser considerados agentes potenciales para el control de glucemia. Integrando los estudios predictivos de actividades biológicas, perfil ADME, toxicológicos y docking, se sugiere que los compuestos **2r**, **2t** y **2u**, podrían descartarse para el proceso de síntesis y evaluación *in vitro*, ya que presentan probabilidades bajas de ser biológicamente activo con actividades relacionadas con el control de glucemia.

9.8 Estandarización de la ruta de síntesis de derivados de bencimidazolonas

Para la obtención de los derivados de bencilbencimidazolonas, se llevó a cabo una optimización de las condiciones de reacción usando calentamiento por microondas; obteniendo la estructura del núcleo de bencimidazolonas (1,3-dihidro-2H-benzoimidazol-2-ona). Basados en estudios previos realizados en nuestro grupo de trabajo, se utilizó como modelo de reacción inicial, la interacción de anhídrido isotóico con isotóico con azida de tetrametilsilano (TMSA); realizando modificaciones en parámetros como tiempo, temperatura y el uso de disolvente en la reacción.

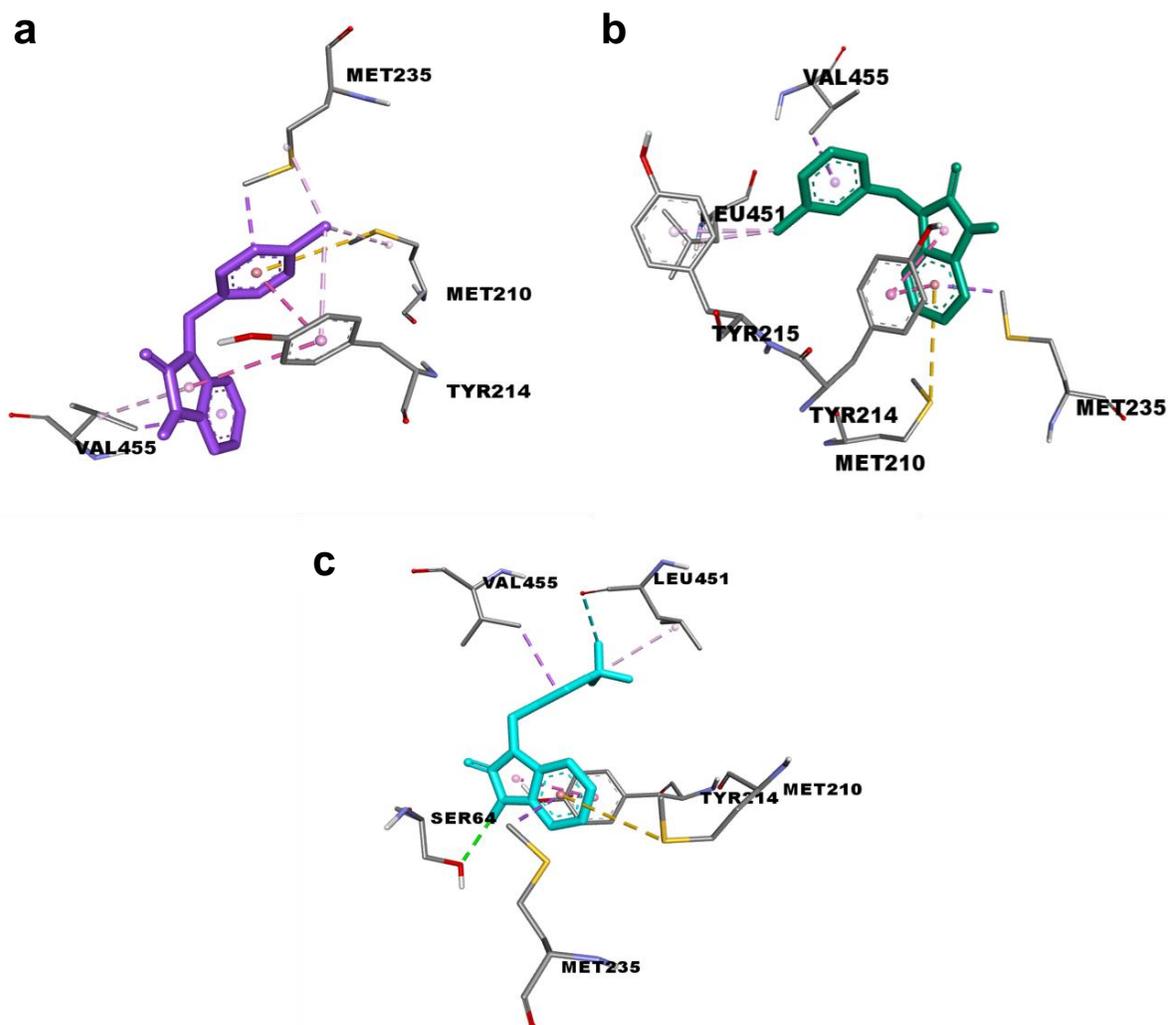


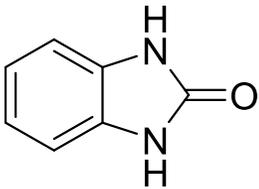
Figura 16. Interacciones de los compuestos 2j (a), 2k (b) y 2q (c) sobre el sitio alostérico de glucocinasa. Se observa la formación de enlaces de hidrógeno (color verde), hidrofóbicos (color rosa/morado) y halógenos (color azul) con algunos aminoácidos del sitio alostérico de la enzima glucocinasa como Arg63, Pro66, His218, Ala456 y Tyr215) y de relevancia biológica como Val452 y Met210.

Inicialmente, se fijó el tiempo y temperatura (20 min y 120°C respectivamente), para evaluar el efecto del uso de distintos disolventes en el rendimiento de producto obtenido. Dentro de estos solventes, se utilizaron compuestos como agua, tolueno, glicerina, DMF, tetrahidrofurano (THF), alcoholes (metanol, etanol, isopropanol), entre otros. Los resultados obtenidos al modificar distintos solventes mostraron que dicha ruta de síntesis necesita de un disolvente en la reacción, ya que, en ausencia de este, no existe formación del núcleo de bencimidazolona (1,3-dihidro-2*H*-benzoimidazol-2-ona). A su vez, se observaron porcentajes de rendimiento entre 48-85%; donde el disolvente DMF obtuvo los mejores valores (85%) (**Cuadro 8**).

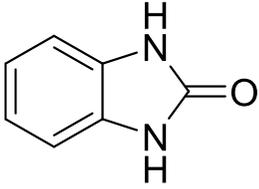
Una vez determinado el disolvente a utilizar en la reacción; se realizaron variaciones en la temperatura modificando este parámetro en intervalos de 10°C (100-140°C); obteniendo rendimientos de producto aislado entre 80 y 90%. Los resultados obtenidos sugieren que la formación del compuesto núcleo de bencimidazolona, se ve afectado por la temperatura, ya que, a 100°C, los reactivos no interaccionan para la formación del compuesto esperado; mientras que el mejor rendimiento se obtuvo a una temperatura de 130°C (91%) (**cuadro 9**).

Finalmente, se analizó el efecto del tiempo de reacción en la ruta de síntesis; para esto, se modificó este parámetro en un intervalo de 5-25 minutos, obteniendo resultados de 51 a 91% de rendimiento. Estos resultados mostraron que el mejor porcentaje de rendimiento (91%) se obtuvo a los 20 minutos (**cuadro 10**). Después de estas pruebas, se determinó que las condiciones óptimas de reacción para la formación de bencimidazolonas son una temperatura de 130°C, un tiempo de 20 minutos y el uso de DMF como disolvente en la reacción. La estructura química del

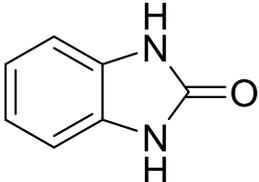
Cuadro 8. Efecto del disolvente en la ruta de síntesis para la obtención del núcleo de bencimidazolonas.

Bencimidazolona	Disolvente	Rendimiento de producto aislado (%)
	Sin disolvente	-
	DMF	85
	Agua	75
	THF	55
	Isopropanol	53
	Etanol	73
	Metanol	51
	Glicerina	67
	Propilenglicol	76
	Tolueno	-
	Acetato de etilo	46

Cuadro 9. Efecto de la temperatura en la ruta de síntesis para la obtención del núcleo de bencimidazolonas.

Bencimidazolona	Temperatura (°C)	Rendimiento de producto aislado (%)
	100	-
	110	80
	120	85
	130	91
	140	87

Cuadro 10. Efecto del tiempo en la ruta de síntesis para la obtención del núcleo de bencimidazolonas.

Bencimidazolona	Tiempo (Min)	Rendimiento de producto aislado (%)
	5	55
	10	69
	15	63
	20	91
	25	51

núcleo de bencimidazolonas se confirmó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG-EM) en modalidad de ionización positiva y por resonancia magnética nuclear (RMN) de protón.

En la **figura 17** se muestra el espectro de RNM de ^1H para el núcleo de bencimidazolona, donde se pueden observar la señal de protones correspondientes a los nitrógenos heterocíclicos del anillo de imidazol en un singulete en la región de 10.62 ppm (señalados con verde); de la misma forma, se observa un singulete en la región de 6.93 ppm correspondiente a los 4 protones del anillo aromático. Además, el compuesto se analizó mediante un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas, mostrando la señal del ión cuasimolecular $[\text{M}+\text{H}]^+$.

La **figura 18** muestra el cromatograma de gases y el espectro de CG-EM en modalidad de ionización química positiva donde se observa un solo pico a un tiempo de retención de 24.78 minutos con una masa molar de $m/z = 139$ uma, el cual corresponde al ión cuasimolecular del núcleo de bencimidazolona, indicando una ruta de síntesis pura (sin la formación de subproductos ni contaminantes), siendo los datos espectroscópicos una evidencia clara que soporta la formación de la estructura planteada.

9.9 Síntesis de derivados de bencilbencimidazolonas con mejor perfil *in silico* mediante calor convencional.

Basados en los estudios de estandarización de la ruta de síntesis de los derivados de bencimidazolonas por irradiación de microondas, se inició la síntesis de los compuestos **2j**, **2k**, **2l**, **2p**, **2q** y **2s**, pertenecientes a la familia

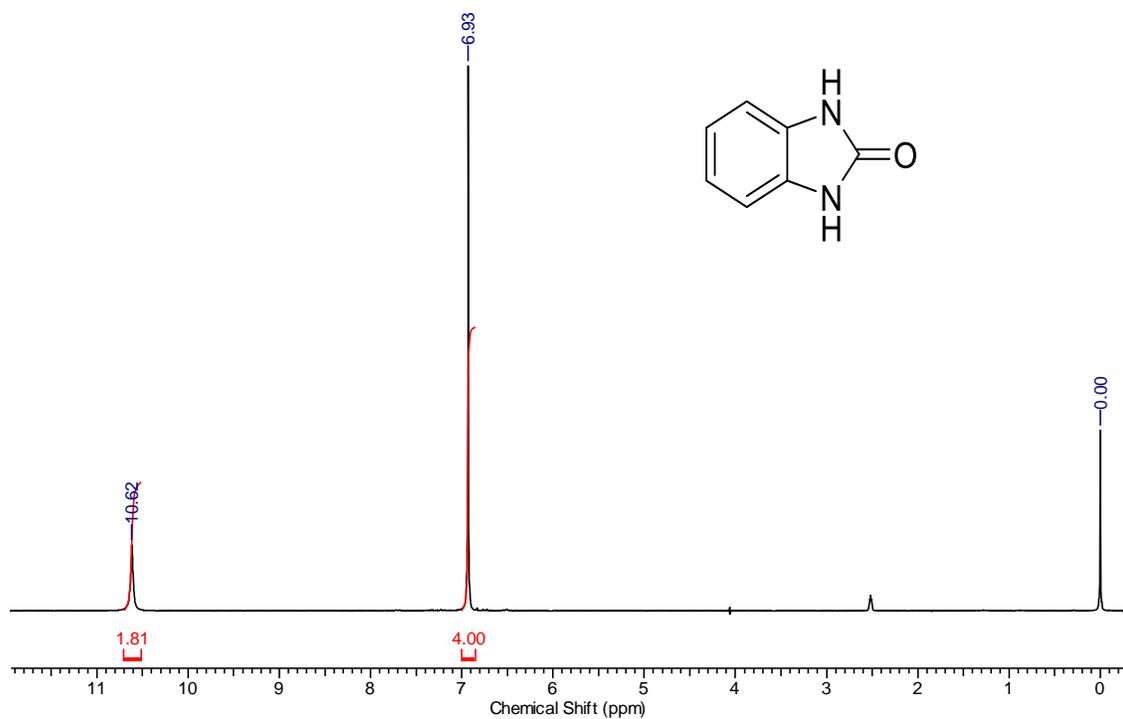


Figura 17.- Espectro de resonancia magnética nuclear de protones (¹H-RMN) del núcleo de bencimidazolona. En el espectro se observa una señal en la región de 6.93 ppm que integra para 4 protones correspondientes para los hidrógenos del anillo aromático de la molécula. También se observa una señal en la región de 10.62 ppm que integra para los protones de los grupos aminos en el anillo de imidazol.

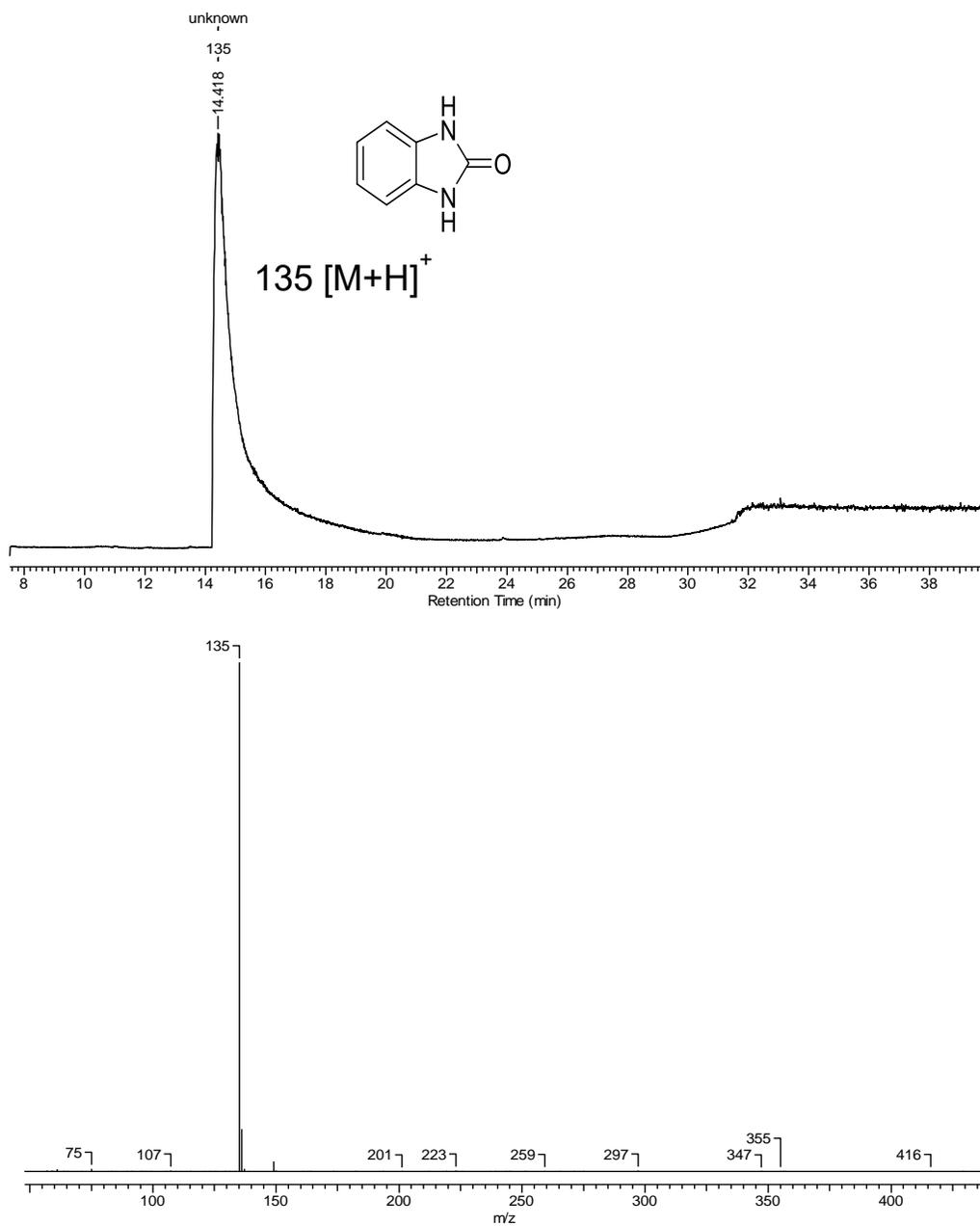


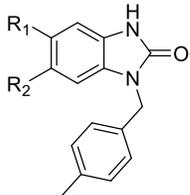
Figura 18.- Cromatograma de gases en modalidad de ionización química positiva del núcleo de bencimidazolonas. A) Cromatograma de gases donde se observa un solo pico con un tiempo de retención de 14.4 minutos, obteniendo el compuesto deseado con alta pureza. **B)** Espectro de masas donde se observa la presencia de un solo pico con masa molecular de 135 uma, que corresponden al ion cuasimolecular del núcleo de bencimidazolona.

bencilbencimidazonas; sin embargo, debido a la naturaleza de la reacción de alquilación; y al uso de una base fuerte (hidruro de sodio) para facilitar la deprotonación del núcleo de bencimidazolona, se presentaron problemáticas en la generación de presión en el equipo de microondas utilizado para la síntesis.

Debido a estas limitaciones, se decidió iniciar la síntesis de estos compuestos mediante rutas de síntesis por calor convencional. Inicialmente, se utilizaron como reactivo limitante el núcleo de bencimidazolona (1,3-dihidro-2*H*-benzoimidazol-2-ona) y como solvente en la reacción DMF (basados en las pruebas de estandarización realizadas anteriormente). Sin embargo, para observar el comportamiento de la reacción, se realizaron variaciones en condiciones de temperatura y tiempo de reacción, usando modificaciones de temperatura ambiente hasta 70 °C en baño de aceite y tiempos de reacción de 24 a 72 horas; esto para la formación del compuesto **2j**. Dentro de los resultados obtenidos al analizar las diferentes condiciones de reacción para la formación de este compuesto, mostraron la formación de un compuesto alquilado (observación de bandas diferentes al núcleo de bencimidazonas en cromatografía de capa fina) con valores de % de rendimiento de compuesto aislado de 9 a 17%, a 70°C y tiempo de 24 horas, las que presentaron un mayor porcentaje (17%) (**cuadro 11**).

La confirmación estructural del compuesto **2j** sintetizado, se realizó un estudio CG-EM en modalidad de ionización positiva de las reacciones procesadas (proceso de separación y limpieza con solventes) y la reacción en crudo (sin procesar). La **figura 19** muestra el cromatograma de gases y el espectro de CG-EM en modalidad de

Cuadro 11. Rendimiento aislado del compuesto **2j** utilizando variaciones de tiempo y temperatura.

Bnz	Masa experimental (mg)	Masa teórica (mg)	Rendimiento (%)	Condiciones de reacción
	30	355.8	9	Temperatura ambiente por 72 h
	42.2	355.8	12	60 °C por 24 h
	60	355.8	17	70 °C por 24 h
	51.3	355.8	15	70 °C por 24 h

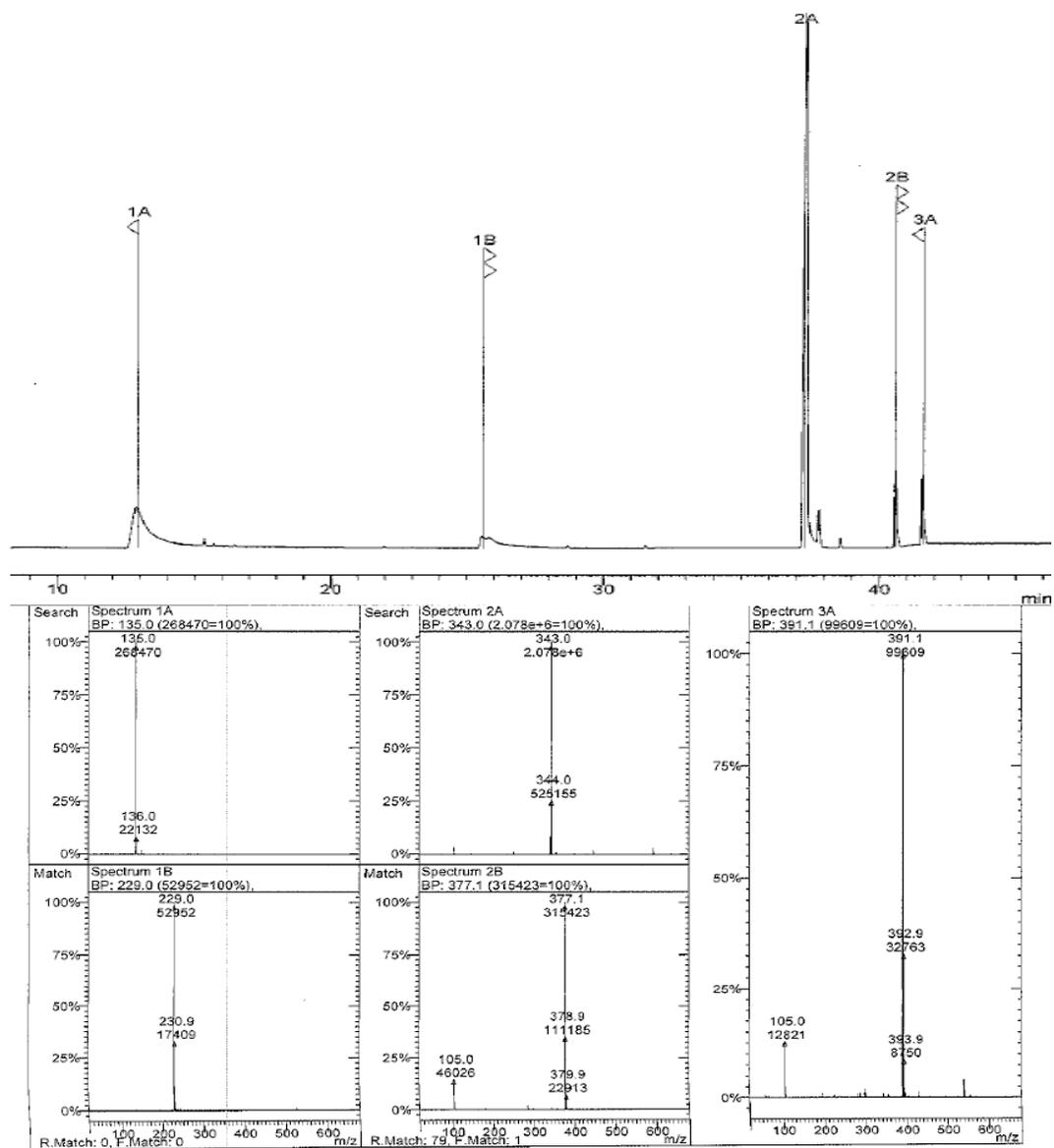


Figura 19.- Cromatograma de gases en modalidad de ionización química positiva prueba inicial de síntesis del compuesto 2j. A) Cromatograma de gases donde se observan 5 señales con tiempo de retención de 13 (1A), 26 (1B), 37(2A), 41 (2B) y 42 (2C) min, donde no se observa el compuesto **2j**. **B)** Espectro de masas donde se observan con masas molares de $m/z = 135$ (1A), 229 (1B), 343 (2A), 377.1 (2B) y 391.1 (2C) una, donde 2A corresponden al ion cuasimolecular del compuesto **2j** disustituido.

ionización positiva de la reacción donde se observan 5 señales a tiempos de retención de 13 (1A), 26 (1B), 37(2A), 41 (2B) y 42 (2C) minutos con masas molares de $m/z = 135$ (1A), 229 (1B), 343 (2A), 377.1 (2B) y 391.1 (2C) una respectivamente; al analizar estas señales espectrométricas, ninguna corresponde al ion cuasimolecular del compuesto **2j** (239 uma), sin embargo, la señal 2A corresponde al ión cuasimolecular del compuesto **2j** disustituido (adición de un *p*-metilbencilo en la posición R4), lo cual indica la formación de un subproducto de reacción en la ruta de síntesis propuesta.

De la misma forma, se realizó un análisis similar en la reacción sin procesar, donde se muestra en la **figura 20** el cromatograma de gases y el espectro de CG-EM en modalidad de ionización química positiva la presencia de 4 señales de mayor intensidad a tiempos de retención de 13 (1A), 25 (1B), 38 (2A) y 41 (2B) minutos con masas molares de $m/z = 135$ (1A), 239 (1B), 343 (2A) y 377.2 (2B) una respectivamente. A diferencia de los resultados mostrados en la reacción procesada, en este caso se observa (además del compuesto disustituido) la presencia del ion cuasimolecular del compuesto **2j** monosustituido, lo cual indica que el proceso de limpieza con solventes elimina el compuesto deseado a sintetizar.

Basados en estos resultados, se decidió realizar una purificación del compuesto por cromatografía en columna, utilizando el producto obtenido en la reacción sin procesar (reacción en crudo); para este proceso, se determinó una proporción de solventes 7:3 de hexano y acetato de etilo para la recolección del compuesto separado, la cual se hizo en intervalos de tiempo cada 30 minutos.

Una vez finalizado este proceso, se realizó un proceso de concentración por rotavapor, para la determinación del % de rendimiento de los compuestos purificados,

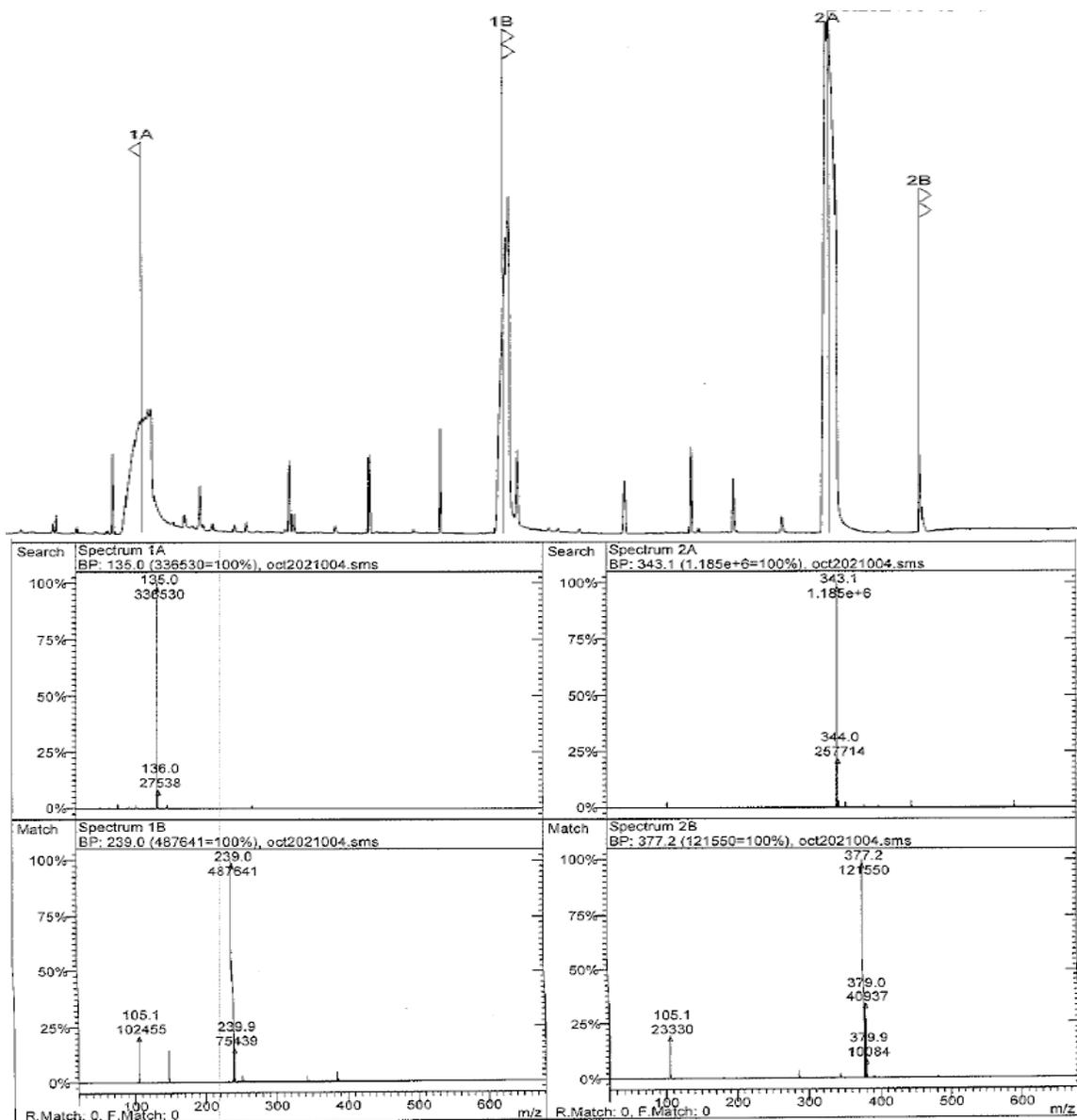


Figura 20.- Cromatograma de gases en modalidad de ionización química positiva de reacción en crudo del compuesto 2j. A) Cromatograma de gases donde se observan 4 señales con tiempo de retención de 13 (1A), 25 (1B), 38 (2A) y 41 (2B) minutos. **B)** Espectro de masas donde se observan con masas molares de $m/z = 135$ (1A), 239 (1B), 343 (2A) y 377.2 (2B) uma, donde 2A y 1B corresponden a los iones cuasimoleculares de compuesto **2j disustituido** y **monosustituido** respectivamente.

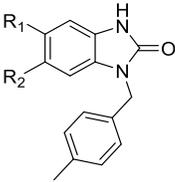
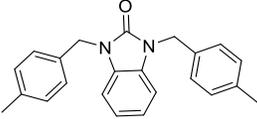
obteniendo como resultado para el compuesto **2j** monosustituido 28 % y 32 % para el compuesto **2j** disustituido; obteniendo 100 y 162 mg de compuesto respectivamente, sugiriendo que el proceso de síntesis y purificación por columna cromatográfica se llevó a cabo de manera adecuada, por lo que la síntesis de los compuestos de la familia aril-bencimidazolonas restantes, se realizaron utilizando esta metodología (**cuadro 12**).

Utilizando las condiciones establecidas para la síntesis del compuesto **2j**, se llevó a cabo la síntesis de los compuestos **2l**, **2p**, **2k**, **2q** y **2s** donde posterior a su purificación por cromatografía en columna, se obtuvieron como resultados la generación de 45, 65,41, 38 y 50 mg de compuesto con % de rendimiento de producto aislado de 13, 16, 25, 23 y 27% respectivamente (**cuadro 13**).

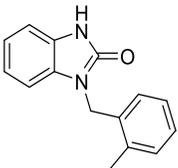
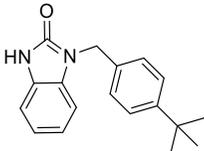
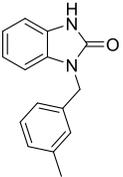
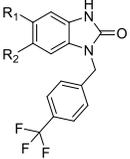
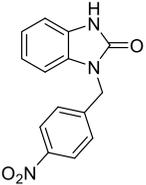
9.10 Confirmación estructural de derivados de bencilbencimidazolonas por CG-EM y RMN.

Para llevar a cabo la confirmación estructural de los compuestos sintetizados anteriormente, se realizó un estudio de CG-EM en modalidad de ionización positiva. Al analizar los resultados de este proceso, se muestra para el compuesto **2j** (compuesto monosustituido), la presencia de 4 señales en el cromatograma de gases a tiempos de retención de 17 (1A), 26 (1B), 27 (2A) y 38 (2B) minutos; con masas molares de $m/z = 149$ (1A), 281 (1B), 239 (2A) y 343.3 (2B) una respectivamente, siendo la señal 2A, correspondiente al ion cuasimolecular del compuesto deseado (**figura 21**).

Cuadro 12. Rendimiento aislado del compuesto **2j** mono y disustituido posterior a purificación por cromatografía por columna.

Bnz	Masa experimental (mg)	Masa teórica (mg)	Rendimiento (%)
	100	355.3	38%
	162	510.52	32%

Cuadro 13. Rendimiento aislado del compuesto **2l**, **2p**, **2k**, **2q** y **2s** posterior a purificación por cromatografía por columna.

Bnz	Masa experimental (mg)	Rendimiento (%)
	45	23
	65	26
	41	25
	38	23
	50	27

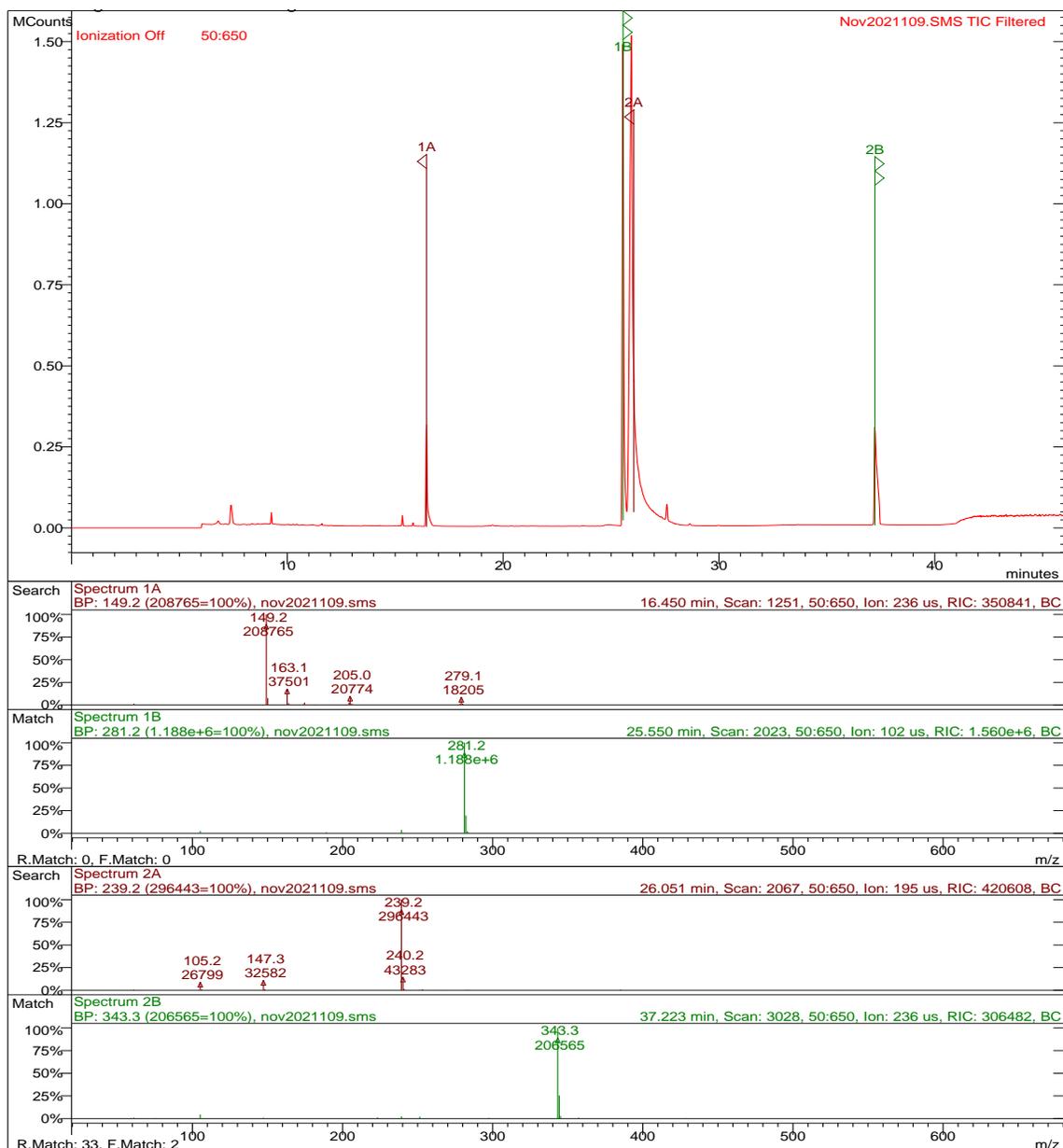


Figura 21. Cromatograma de gases en modalidad de ionización positiva del compuesto 2j. A) Cromatograma de gases donde se observan 4 señales con tiempo de retención de 17 (1A), 26 (1B), 27 (2A) y 38 (2B) minutos. **B)** Espectro de masas donde se observan $m/z = 149$ (1A), 281 (1B), 239 (2A) y 343.3 (2B) uma, donde 2A y 2B corresponden al ion cuasimolecular de compuesto **2j monosustituido** (señal de mayor intensidad).

En el caso del compuesto **2l**, se muestra en la **figura 22**, señales correspondientes al cromatograma a tiempos de retención de 26 (1A), 31 (1B) y 32 (2A) minutos con masas molares de $m/z = 239$ (1A), 169 (1B) y 281 (2A) UMA respectivamente; al analizar estos resultados, se puede determinar que la señal 1A corresponde a la masa del ion cuasimolecular para el compuesto deseado. A su vez, el análisis de CG-EM para el compuesto **2p**, mostró señales a tiempos de retención de 8 (1A), 17 (1B) y 32 (2A) minutos con masas molares de $m/z = 147.2$ (1A), 149.2 (1B) y 281.4 (2A) uma respectivamente (**figura 23**). Estos resultados indican que la señal 2A corresponde al ion cuasimolecular del compuesto en cuestión.

Por otro lado, el cromatograma de gases del compuesto **2k** las señales correspondientes 1A y 2B en tiempos de retención de 10.41 y 25.29 min respectivamente; siendo la señal 2B la encontrada de manera mayoritaria. Analizando los espectros de masa se observa que dicha señal (2B), corresponde al ion cuasimolecular del compuesto deseado ($m/z = 239.3$ uma), sugiriendo que el proceso de síntesis para este compuesto fue llevado a cabo de manera adecuada (**figura 24**). A su vez, al analizar el CG-EM del compuesto **2q**, se puede observar la señal 1A (señal mayoritaria) en un tiempo de retención 23.15 min; dicha señal en el espectro de masas corresponde al ion cuasimolecular del compuesto deseado ($m/z = 293.3$ uma) (**figura 25**). De la misma forma el CG-EM del compuesto **2s** muestra una señal mayoritaria (2A) en tiempo de retención de 37.28 min, la cual al analizar el espectro de masas corresponde al ion cuasimolecular del compuesto deseado, el cual presenta una $m/z = 270.1$ uma (**figura 26**).

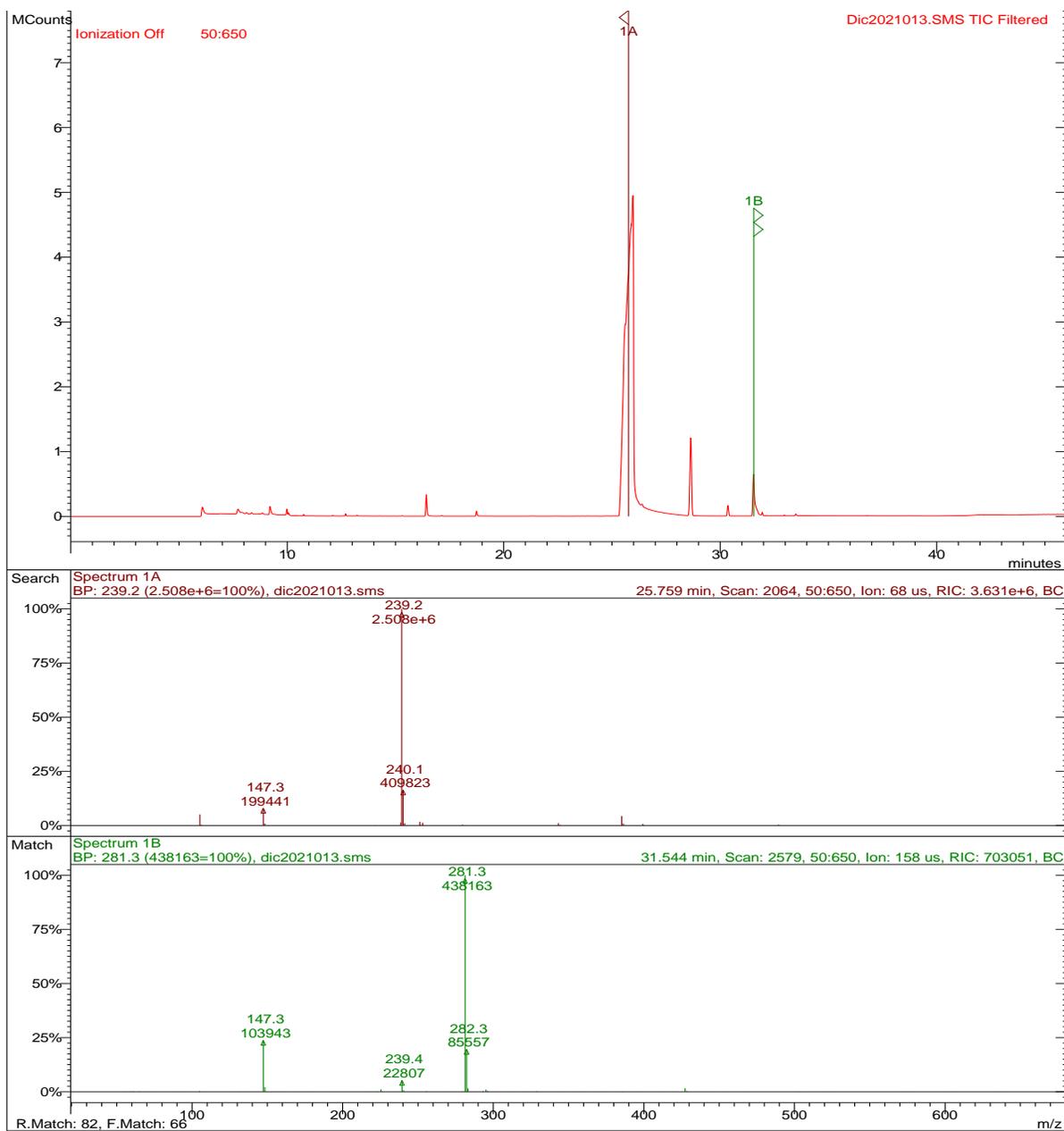


Figura 22.- Cromatograma de gases en modalidad de ionización positiva del compuesto 2I. A) Cromatograma de gases donde se observan 3 señales con tiempo de retención de 26 (1A), 31 (1B) y 32 (2A) minutos. **B)** Espectro de masas donde se observan $m/z = 239$ (1A), 169 (1B) y 281 (2A), donde la señal 1A corresponde al ión cuasimolecular del compuesto 2I (señal de mayor intensidad).

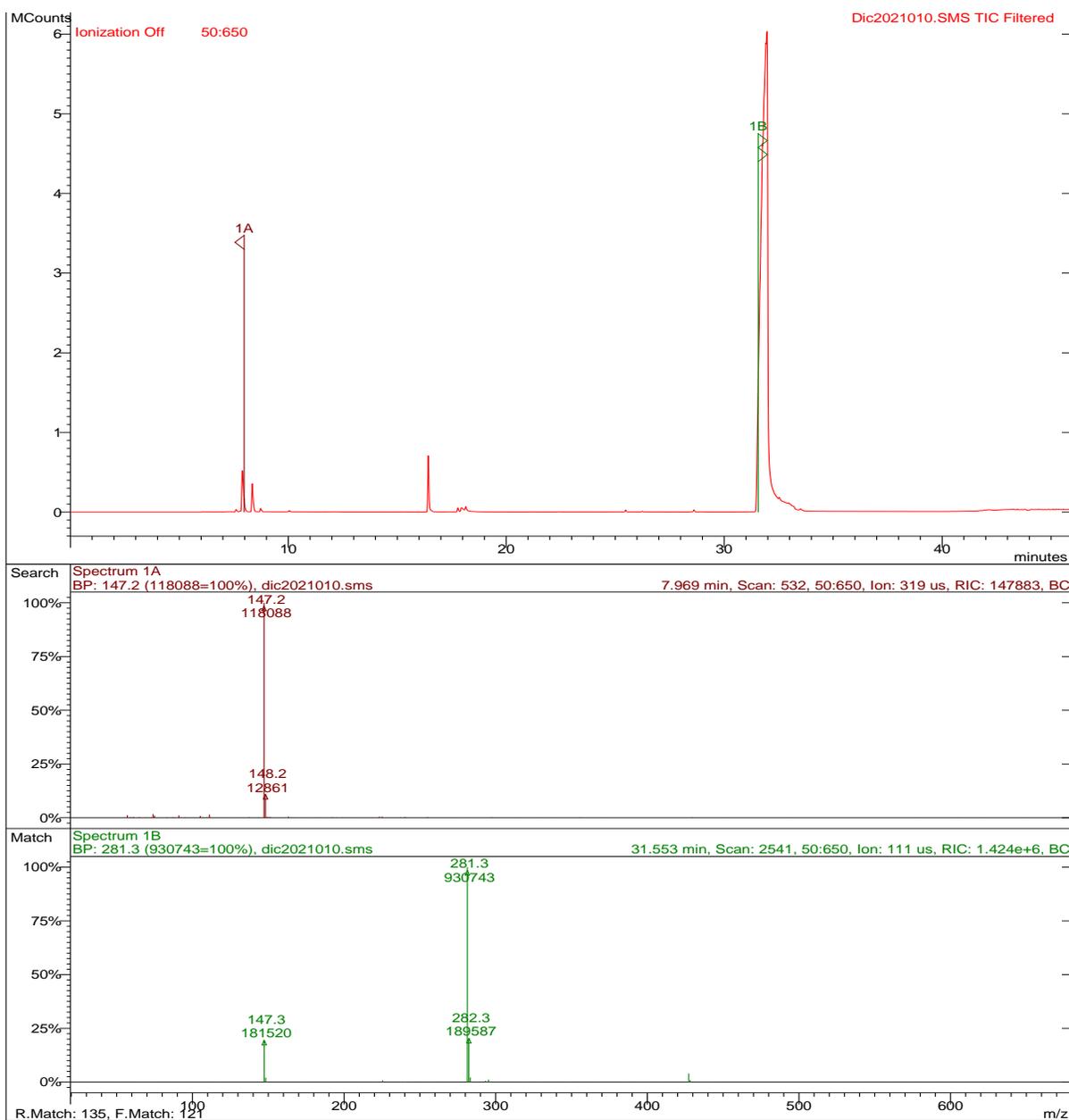


Figura 23.- Cromatograma de gases en modalidad de ionización positiva del compuesto 2p. A) Cromatograma de gases donde se observan 3 señales con tiempo de retención de 8 (1A), 17 (1B) y 32 (2A) minutos. **B)** Espectro de masas donde se observan $m/z = 147.2$ (1A), 149.2 (1B) y 281.4 (2A), donde la señal 2A corresponde al ión cuasimolecular del compuesto **2p** (señal de mayor intensidad).

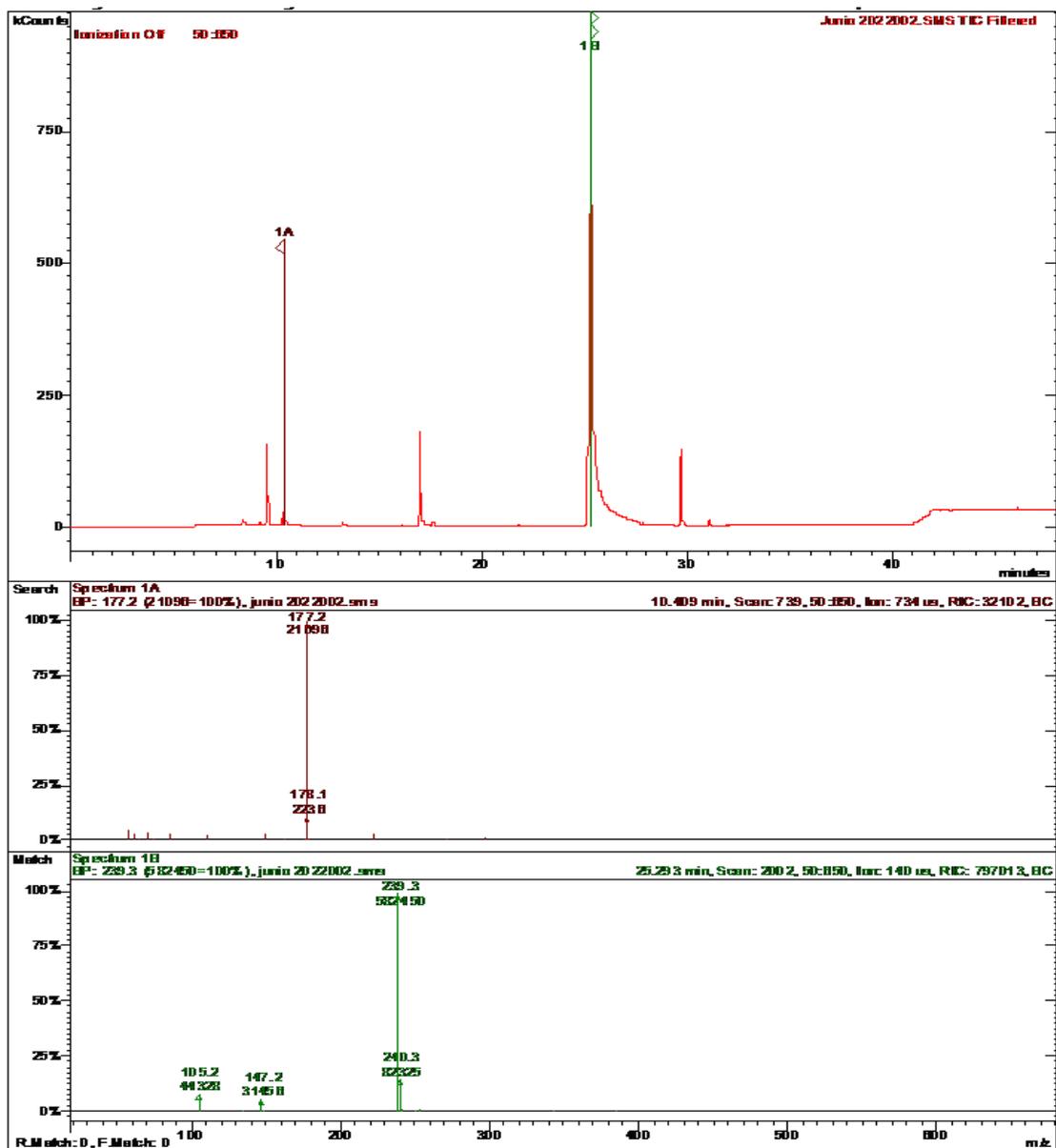


Figura 24. Cromatograma de gases en modalidad de ionización positiva del compuesto 2k. A) Cromatograma de gases donde se observa la señal mayoritaria (2B) en un tiempo de retención de 25.29 minutos. **B)** Espectro de masas donde se observa la m/z de la señal 2B igual a 239.1 uma, el cual corresponde al ion cuasimolecular del compuesto deseado.

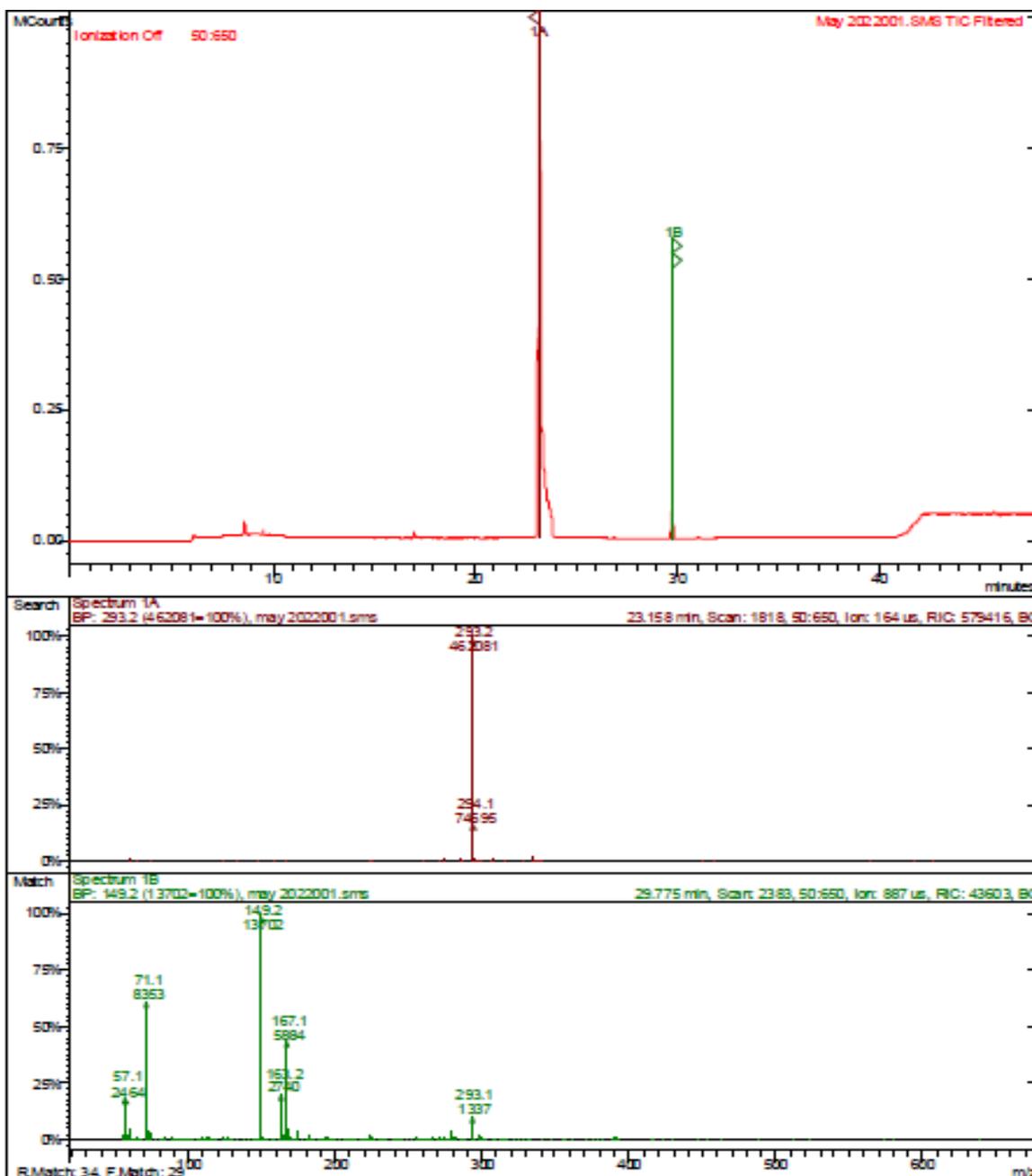


Figura 25. Cromatograma de gases en modalidad de ionización positiva del compuesto 2q. A) Cromatograma de gases donde se observa la señal mayoritaria (1A) en un tiempo de retención de 23.16 minutos. **B)** Espectro de masas donde se observa la m/z de la señal 2B igual a 293.2 uma, el cual corresponde al ion cuasimolecular del compuesto deseado.

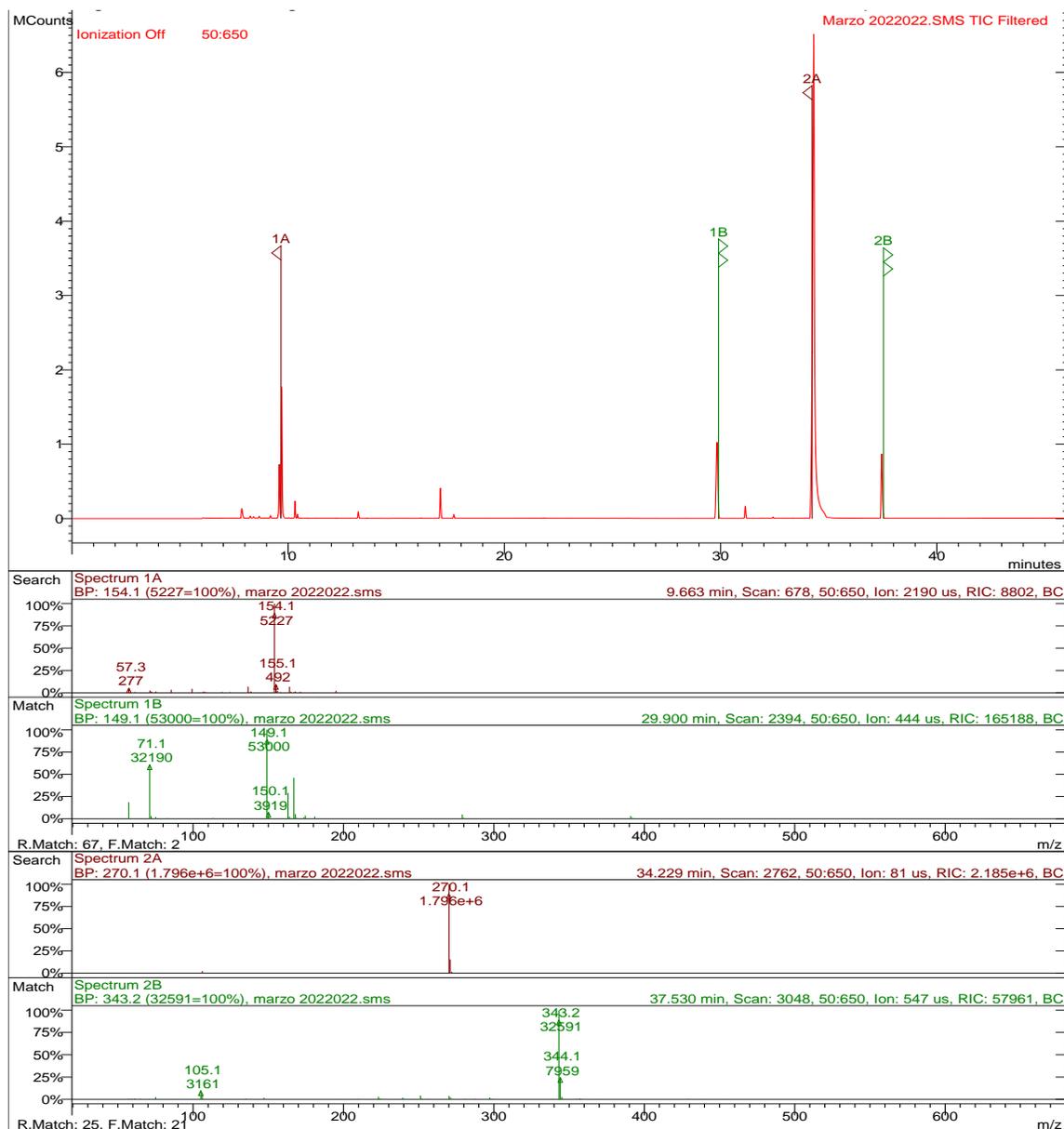


Figura 26. Cromatograma de gases en modalidad de ionización positiva del compuesto 2s. A) Cromatograma de gases donde se observa la señal mayoritaria (2B) en un tiempo de retención de 34.28 minutos. **B)** Espectro de masas donde se observa la m/z de la señal 2B igual a 270.1 uma, el cual corresponde al ion cuasimolecular del compuesto deseado.

Para completar los estudios de confirmación estructural de los sintetizados, se realizó un estudio de resonancia magnética nuclear de protones y carbono 13 (^1H -RMN y ^{13}C -RMN), estos estudios se consideran confirmatorios para dilucidar la estructura de un compuesto. Dentro de los resultados obtenidos de ^1H -RMN para el compuesto **2j**, se muestran en la **figura 27** y se observa un singulete en la región de 10.09 ppm (señalados con azul) el cual corresponde al hidrógeno unido al nitrógeno de heterocíclico del anillo de imidazol; a su vez, se observan 4 multipletes en la región de 7.17-6.78 ppm correspondientes a 8 hidrógenos asociados a los anillos aromáticos (señalados con rosa) del derivado de bencilbencimidazolona; de la misma forma, se observa un singulete en la región de 4.98 ppm, el cual integra para dos hidrógenos asociados al metileno bencílico (señalado con verde), por último, en la región de 2.23 ppm se observa un singulete que corresponde a tres hidrógenos asociados al grupo metilo en la posición *para*- del anillo bencílico.

En el caso del análisis de ^{13}C -RMN (**figura 28**), muestra 15 señales en el rango de 156.0 a 21.2 ppm correspondientes a los carbonos presentes en la estructura del compuesto **2j**, donde destacan las señales correspondientes al carbonilo (156.0 ppm), metileno bencílico (44.5 ppm) y metilo en posición *para*- (21.2 ppm); siendo estas señales importantes en la confirmación de la síntesis del compuesto **2j** mediante proceso de alquilación.

En el caso del compuesto **2l**, se muestra el espectro de ^1H -RMN en el cual se muestra un singulete en la región de 10.19 ppm (señalados con azul) el cual corresponde a un hidrógeno unido al nitrógeno heterocíclico del anillo de imidazol, de

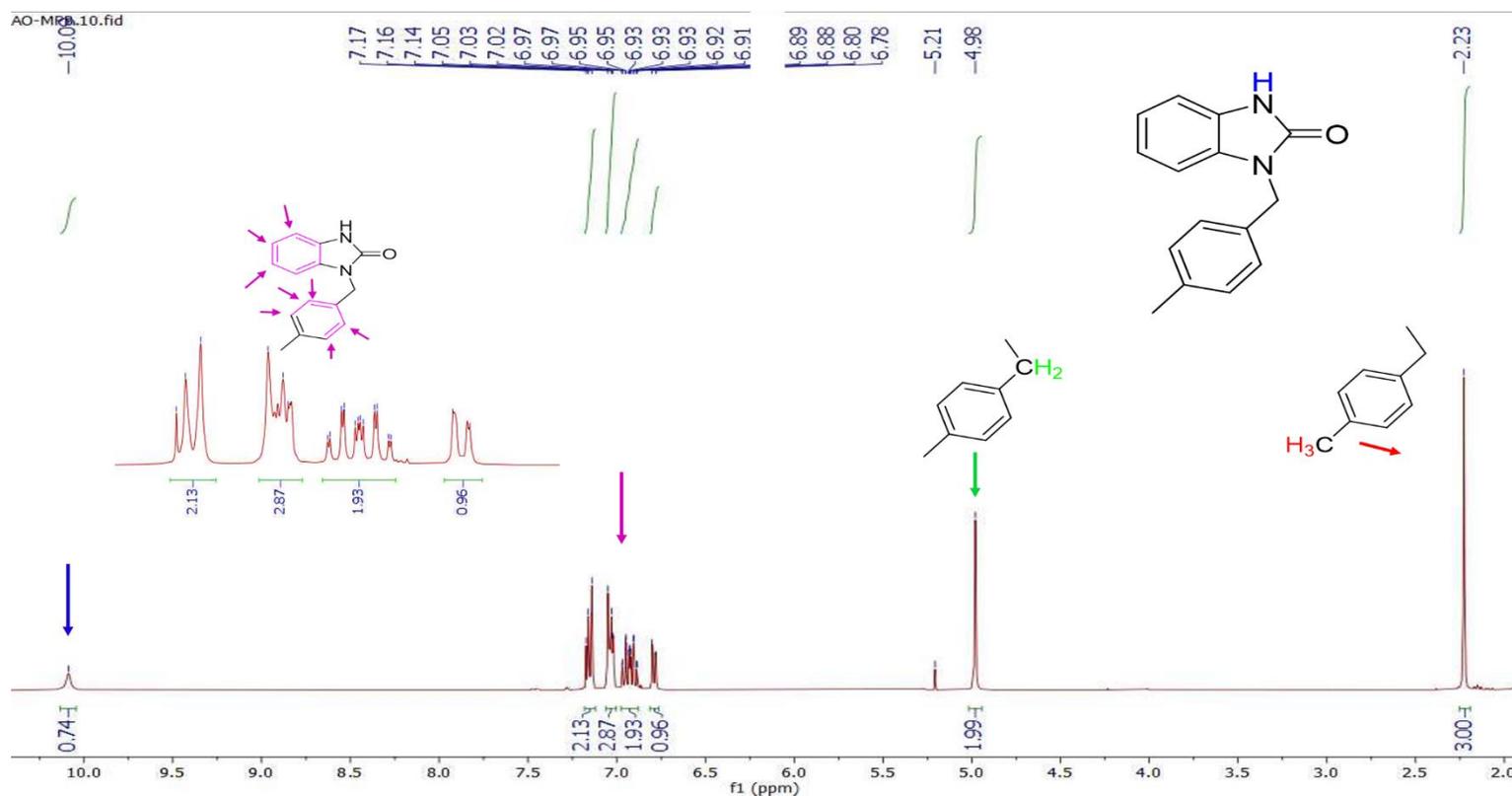


Figura 27.- Espectro de ^1H -RMN del compuesto 2j. Se muestran señales en 10.09 ppm correspondientes al hidrógeno unido al nitrógeno heterocíclico (flecha azul), cuatro multipletes de 7.17-6.78 ppm que integran a hidrógenos asociados a los anillos aromáticos (rosa), un singulete en 4.98 ppm correspondiente a dos hidrógenos asociados al metileno bencílico (verde) y un singulete en 2.23 ppm que integra para tres hidrógenos asociados al sustituyente en la posición *para*.

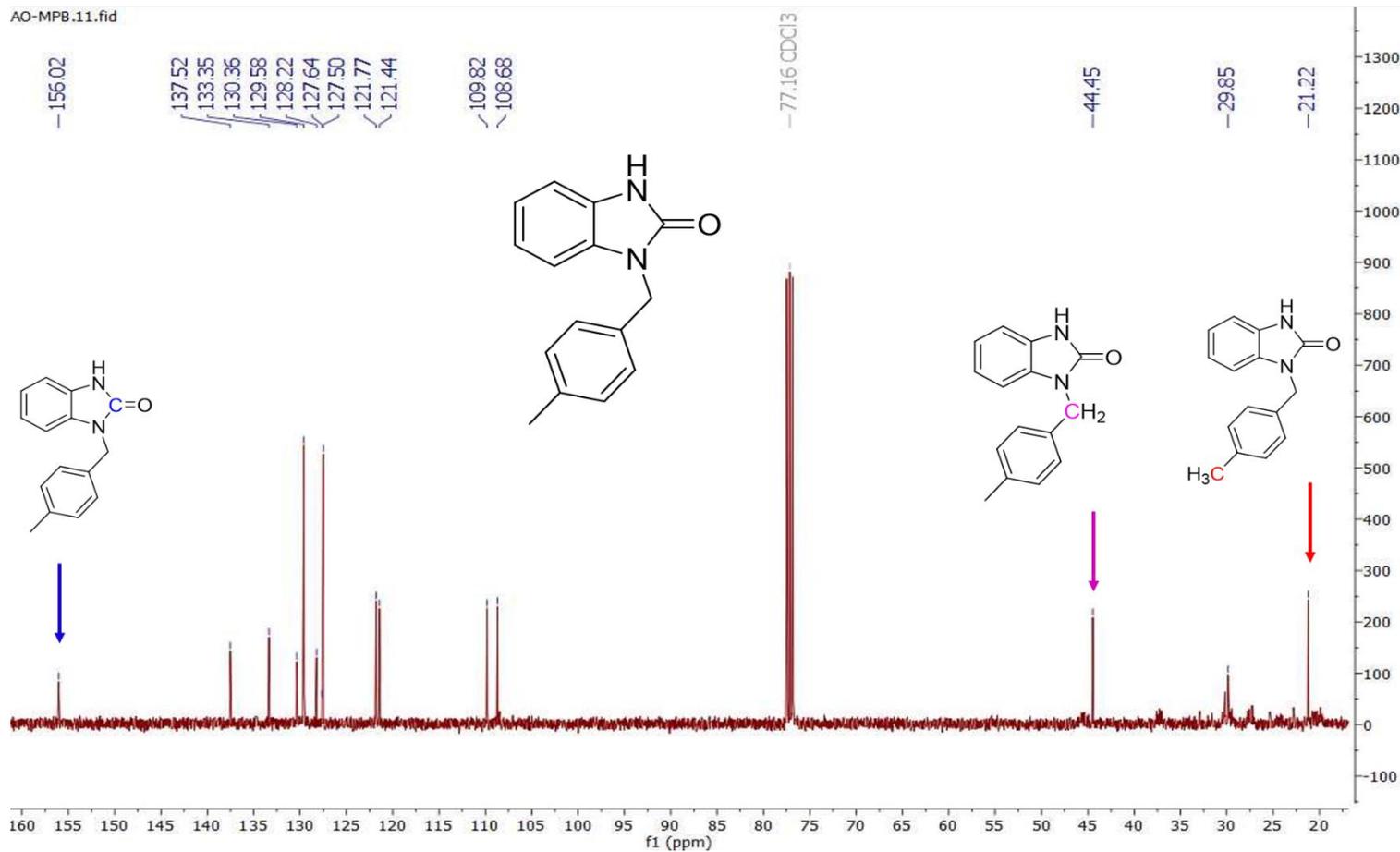


Figura 28.- Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto 2j. Se muestran señales correspondientes a los 15 carbonos presentes en la estructura en un rango de 156.0-21.2 ppm; donde destacan el carbono del grupo carbonilo en 156.0 ppm (flecha azul), carbono del metileno bencílico a 44.5 ppm (rosa), una señal en 21.2 ppm correspondiente al carbono presente en el sustituyente en la posición *para* del anillo bencílico.

la misma forma se observan 5 multipletes en la zona de 7.11-6.67 ppm que integran para 7 hidrógenos correspondientes a los anillos aromáticos de la molécula (señalados con rosa); a su vez, se observa un singulete en la región de 5.02 ppm que corresponden a 2 hidrógenos asociados al metileno bencílico (señalado con verde), además de un singulete en la zona de 2.33 ppm que integra para 3 hidrógenos correspondientes al sustituyente en posición *orto*- en el anillo bencílico (**figura 29**).

Por otro lado, se muestra en el espectro de ^{13}C -RMN 15 señales en el rango de 156.0 a 19.3 ppm los cuales corresponden a los carbonos presentes en la estructura del compuesto **2i**, destacando las señales correspondientes al carbono del grupo carbonilo en la región de 156.0 ppm (azul), el carbono del metileno bencílico en 43.0 ppm (rosa) y el carbono del sustituyente en el anillo bencílico en posición *orto* en la región de 19.3 ppm (**figura 30**).

De la misma forma, para el compuesto **2p** se realizaron los estudios de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN. En el primer caso se observó un singulete correspondiente al hidrógeno unido al nitrógeno heterocíclico de la molécula en 10.31 ppm (señalado con flecha azul); a su vez, se observan 4 multipletes en la zona de 7.26-6.82 ppm que integran para 8 hidrógenos correspondientes a los presentes en los anillos aromáticos (señalados con flecha rosa); por otro lado, se observa un singulete en 4.94 ppm que integra para 2 hidrógenos asociados a los presentes en el metileno bencílico (flecha verde); también se observó un singulete en 1.20 ppm que integra para 9 hidrógenos asociados a los presentes en el sustituyente *ter*-butilo en el anillo bencílico (**figura 31**).

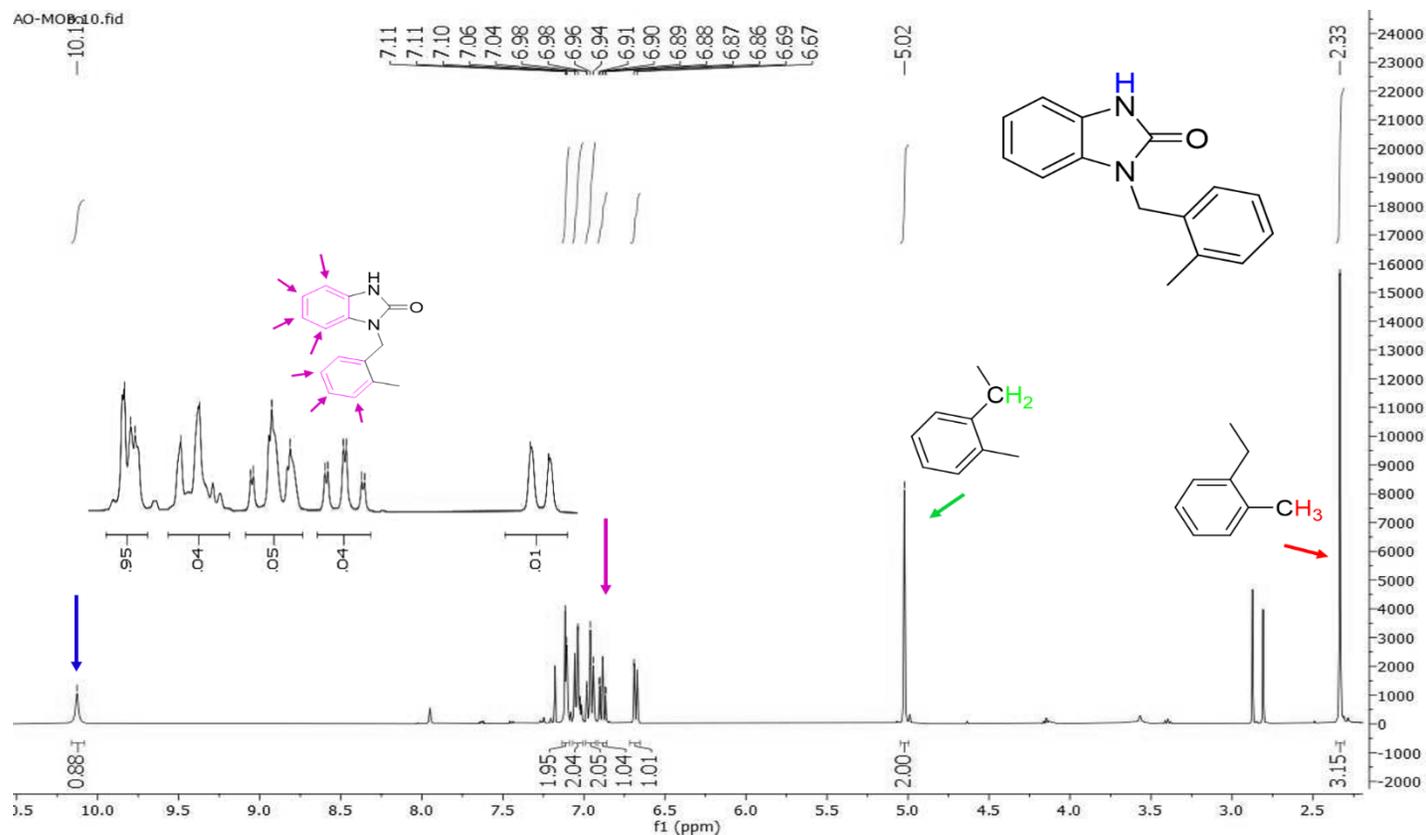


Figura 29.- Espectro de ¹H-RMN del compuesto 2I. Se muestran señales en 10.19 ppm correspondientes al hidrógeno unido al nitrógeno heterocíclico (flecha azul), 5 multipletes en la zona de 7.11-6.67 ppm que integran a 7 hidrógenos asociados a los anillos aromáticos (rosa), un singulete en 5.02 ppm correspondiente a 2 hidrógenos asociados al metileno bencílico (verde) y un singulete en 2.33 ppm que integra para 3 hidrógenos asociados al sustituyente en la posición *orto*.

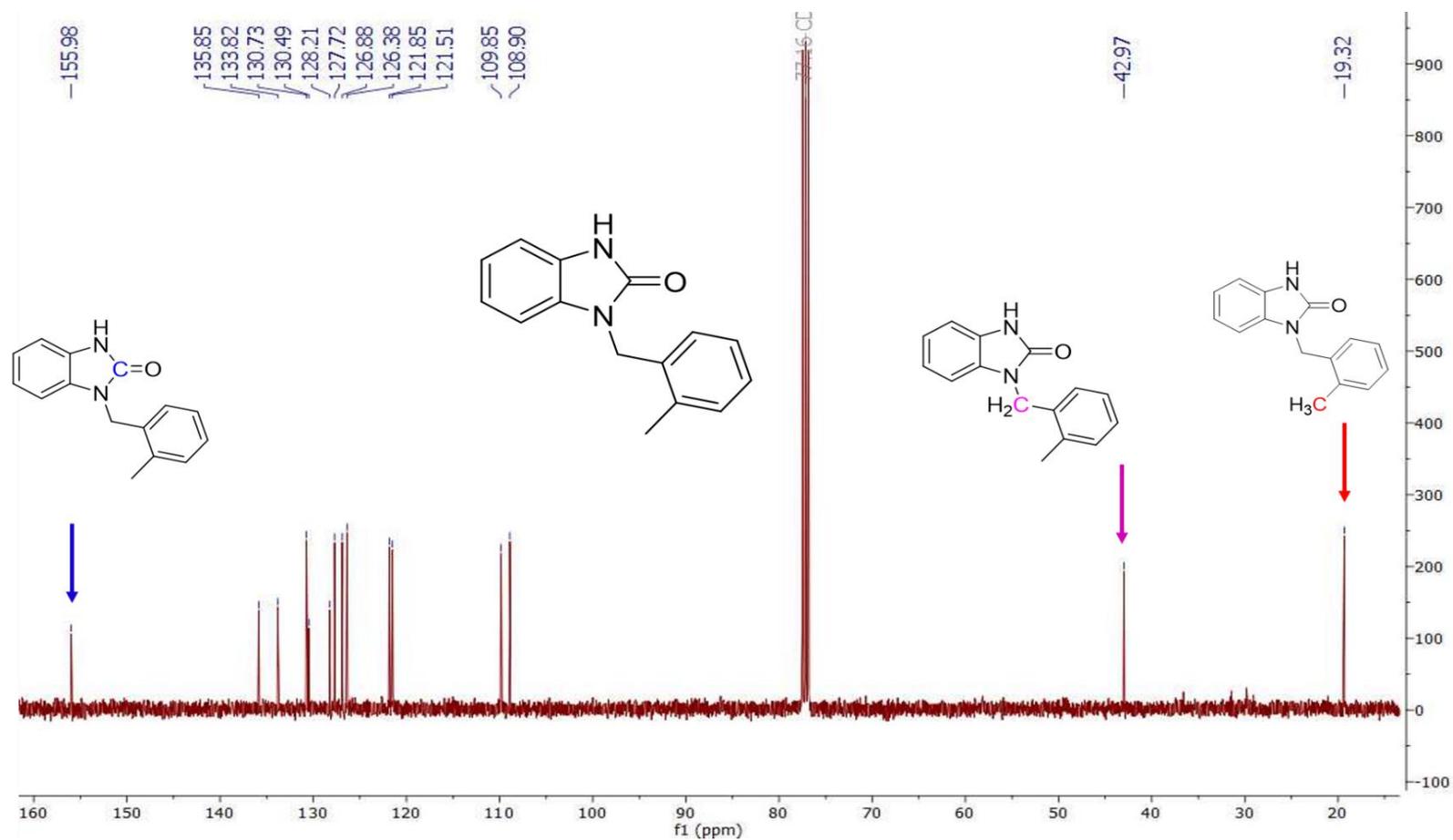


Figura 30.- Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto 21. Se muestran señales correspondientes a los 15 carbonos presentes en la estructura en un rango de 156.0-21.2 ppm; donde destacan el carbono del grupo carbonilo en 156.0 ppm (flecha azul), carbono del metileno bencílico a 44.5 ppm (rosa), una señal en 21.2 ppm correspondiente al carbono presente en el sustituyente en la posición *orto* del anillo bencílico.

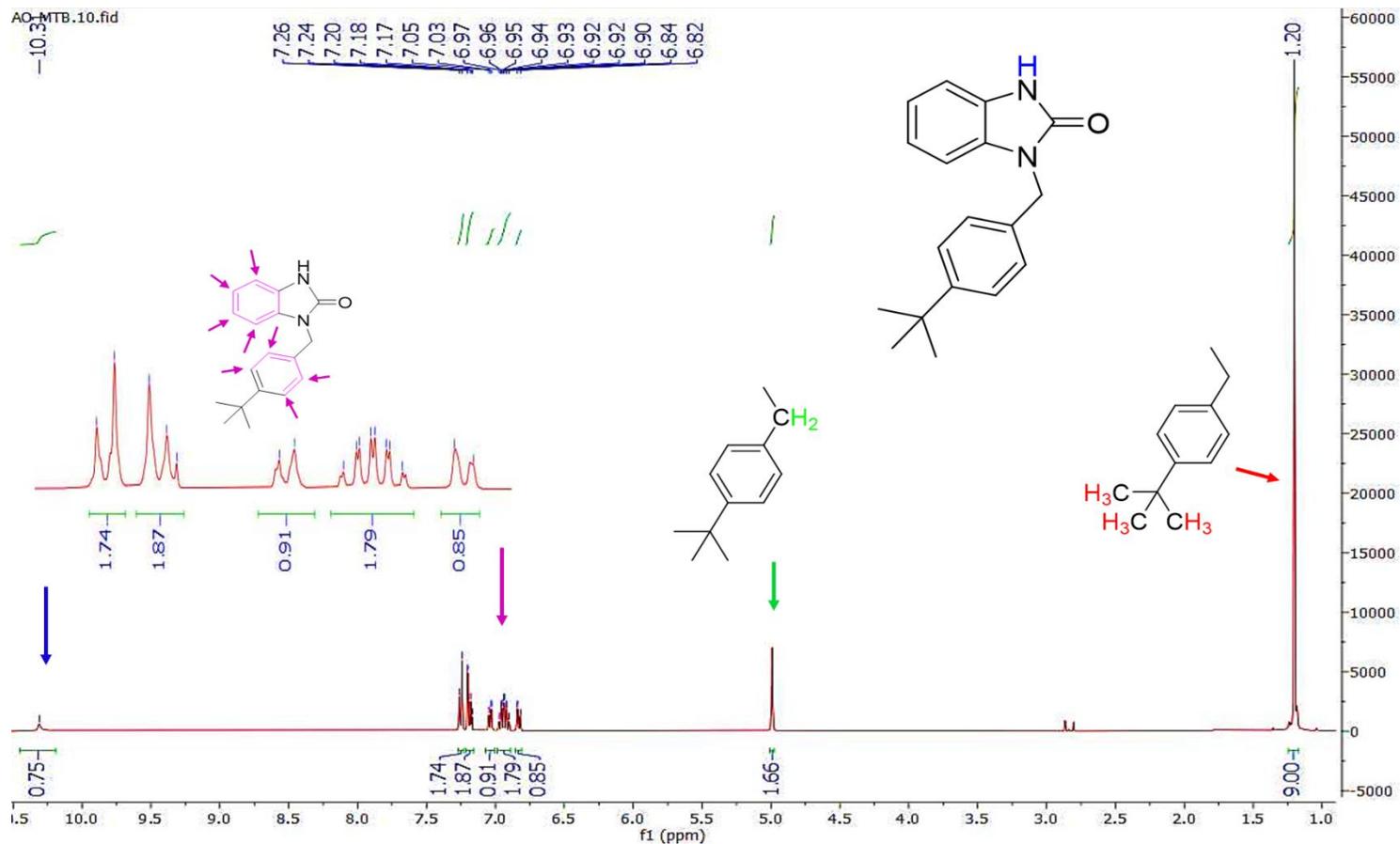


Figura 31. Espectro de $^1\text{H-RMN}$ del compuesto **2p.** Se muestran señales en 10.31 ppm correspondientes al hidrógeno del nitrógeno heterocíclico (flecha azul), 5 multipletes en la zona de 7.26-6.82 ppm que integran a 8 hidrógenos asociados a los anillos aromáticos (rosa), un singulete en 4.94 ppm correspondiente a 2 hidrógenos asociados al metileno bencílico (verde) y un singulete en 1.20 ppm que integra para 9 hidrógenos asociados al sustituyente en el anillo bencílico.

De la misma forma, se muestran en el espectro ^{13}C -RMN las señales correspondientes a los carbonos de la estructura de dicho compuesto, en un rango de 156.1 a 31.44 ppm; dentro de estas señales destacan la correspondiente al carbono del grupo carbonilo en 156.1 ppm (azul), una señal en 44.3 ppm que corresponde al carbono del metileno bencílico (rosa) y la señal en rojo correspondiente al carbono del sustituyente en el anillo bencílico (31.4 ppm) (**figura 32**).

En el caso del compuesto **2k**, el espectro de ^1H -RMN muestra un singulete en la región de 10.36 ppm (señalados con azul) el cual corresponde a 1 hidrógeno unido al nitrógeno heterocíclico del anillo de imidazol, de la misma forma se observan 8 multipletes en la zona de 7.24-6.86 ppm que integran para 8 hidrógenos correspondientes a los anillos aromáticos de la molécula (señalados con rosa); a su vez, se observa un singulete en la región de 5.06 ppm que corresponden a 2 hidrógenos asociados al metileno bencílico (señalado con morado), además de un singulete en la zona de 2.30 ppm que integra para 3 hidrógenos correspondientes al sustituyente en posición *meta*- en el anillo bencílico (**figura 33**).

Por otro lado, se muestra en el espectro de ^{13}C -RMN 15 señales en el rango de 156.5 a 21.9 ppm los cuales corresponden a los carbonos presentes en la estructura del compuesto **2k**, destacando las señales correspondientes al carbono del grupo carbonilo en la región de 156.5 ppm (azul), el carbono del metileno bencílico en 44.9 ppm (rosa) y el carbono del sustituyente en el anillo bencílico en posición *orto* en la región de 21.9 ppm (**figura 34**).

De la misma forma, para el compuesto **2q** se realizaron los estudios de ^1H -RMN y ^{13}C -RMN. En el primer caso se observó un singulete correspondiente al hidrógeno

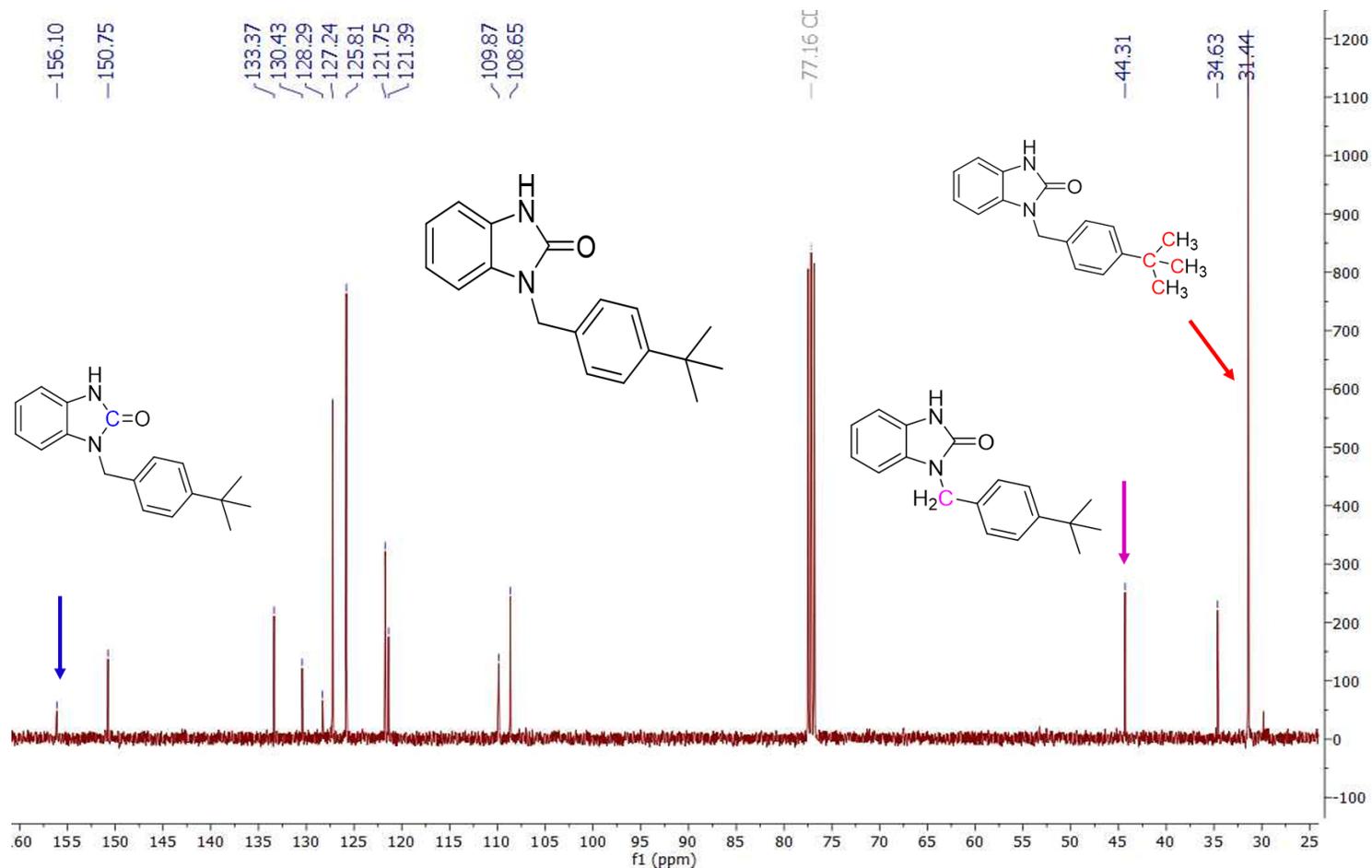


Figura 32. Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto 2p. Se muestran señales correspondientes a los 15 carbonos presentes en la estructura en un rango de 156.1-31.4 ppm; donde destacan el carbono del grupo carbonilo en 156.1 ppm (flecha azul), carbono del metileno bencílico a 44.3 ppm (rosa), una señal en 31.4 ppm correspondiente al carbono presente en el sustituyente del anillo bencílico.

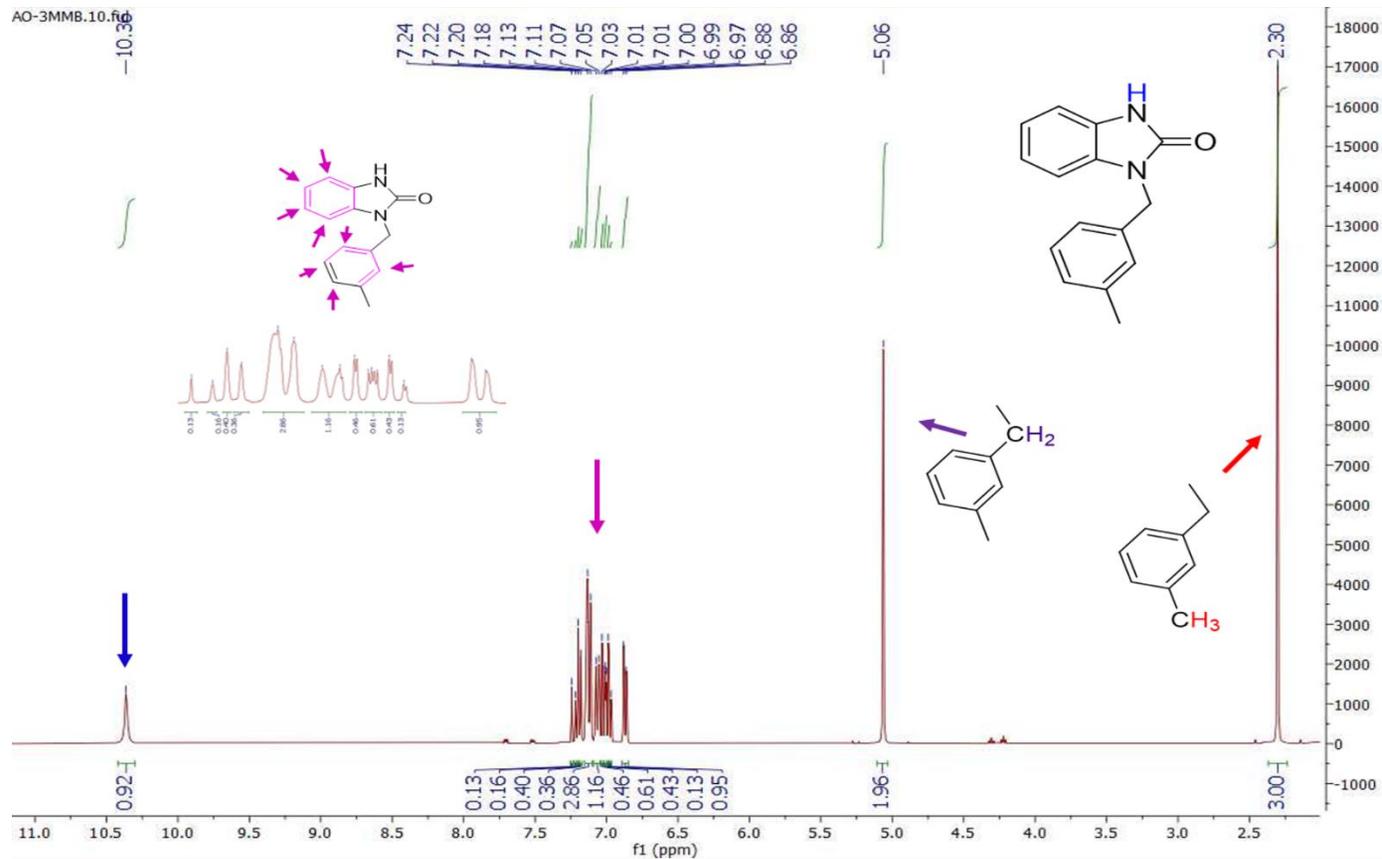


Figura 33.- Espectro de ^1H -RMN del compuesto 2k. Se muestran señales en 10.36 ppm correspondientes al hidrógeno del nitrógeno heterocíclico (flecha azul), 8 multipletes en la zona de 7.24-6.86 ppm que integran a 8 hidrógenos asociados a los anillos aromáticos (rosa), un singulete en 5.06 ppm correspondiente a 2 hidrógenos asociados al metileno bencílico (morado) y un singulete en 2.30 ppm que integra para 3 hidrógenos asociados al sustituyente en posición *meta*- en el anillo bencílico.

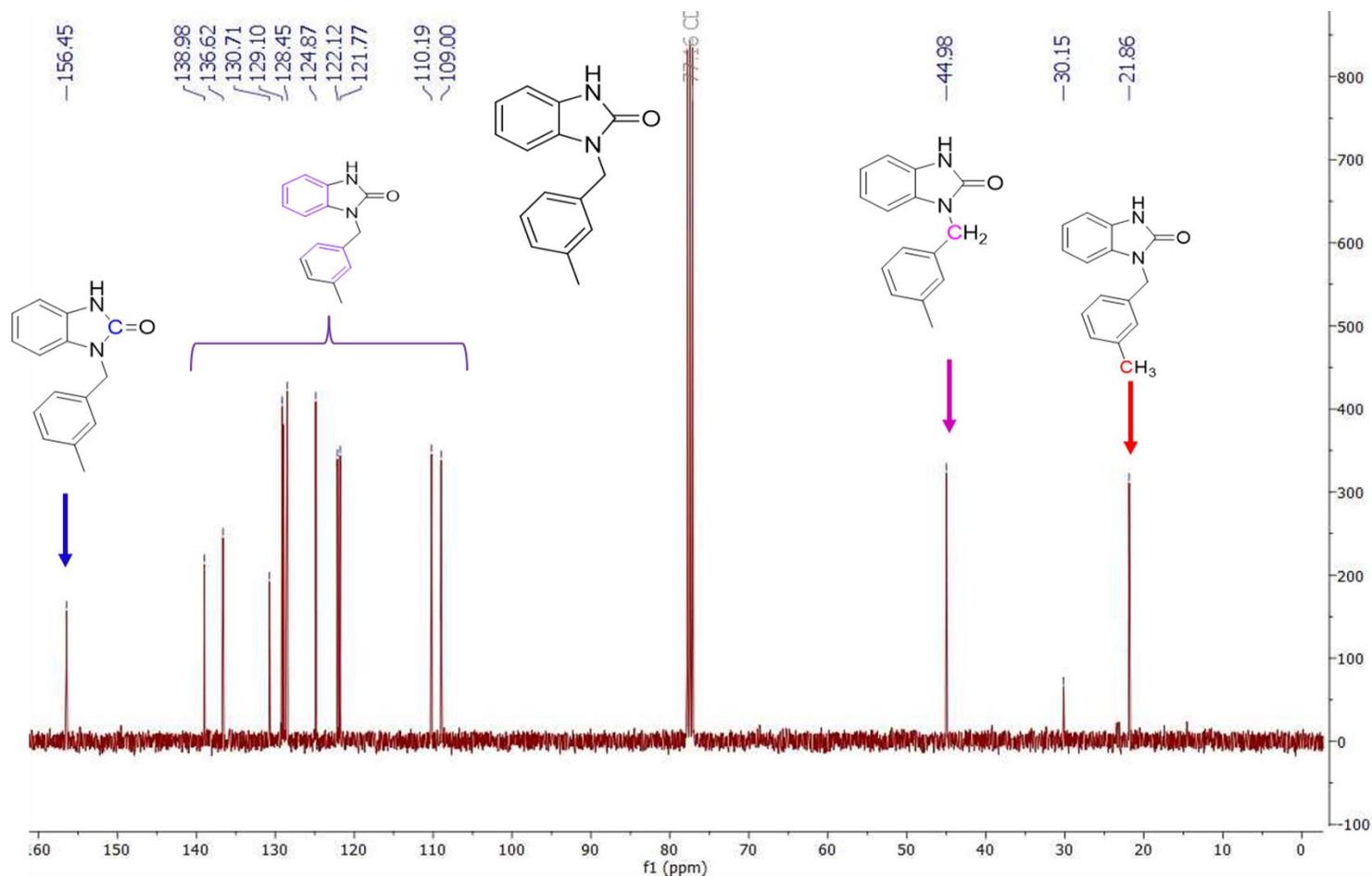


Figura 34. Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto 2k. Se muestran señales correspondientes a los 15 carbonos presentes en la estructura en un rango de 156.5 a 21.9 ppm; donde destacan el carbono del grupo carbonilo en 156.5 ppm (flecha azul), carbono del metileno bencílico a 44.9 ppm (rosa), una señal en 21.9 ppm correspondiente al carbono presente en el sustituyente en la posición *meta*- del anillo bencílico.

unido al nitrógeno heterocíclico de la molécula en 8.35 ppm (señalado con flecha azul); a su vez, se observan 5 multipletes en la zona de 5.61 - 4.85 ppm que integran para 8 hidrógenos correspondientes a los presentes en los anillos aromáticos (señalados con flecha rosa); por otro lado, se observa un singulete en 3.18 ppm que integra para 2 hidrógenos asociados a los presentes en el metileno bencílico (flecha verde) (**figura 35**). A su vez, el espectro de ^{13}C -RMN muestra 14 señales en el rango de 156.0 a 44.2 ppm los cuales corresponden a los carbonos presentes en la estructura del compuesto **2q**, destacando las señales correspondientes al carbono del grupo carbonilo en la región de 156.0 ppm (azul), y el carbono del metileno bencílico en 44.2 ppm (rosa) (**figura 36**).

Por último, el espectro de ^1H -RMN del compuesto **2s**, mostró señales características de la estructura de la molécula, en el rango de 10.03 – 0.84 ppm; observándose un singulete correspondiente al hidrógeno unido al nitrógeno heterocíclico de la molécula en 10.03 ppm (señalado con flecha azul); a su vez, se observan 6 multipletes en la zona de 8.19 – 6.81 ppm que integran para 8 hidrógenos correspondientes a los presentes en los anillos aromáticos (señalados con flecha rosa); por otro lado, se observa un singulete en 5.19 ppm que integra para 2 hidrógenos asociados a los presentes en el metileno bencílico (flecha morada) (**figura 37**).

De la misma forma el espectro de ^{13}C -RMN muestra 13 señales en el rango de 156.0 a 30.2 ppm los cuales corresponden a los carbonos presentes en la estructura del compuesto **2s**, destacando las señales correspondientes al carbono del grupo carbonilo en la región de 156.0 ppm (azul), y el carbono del metileno bencílico en 44.3 ppm (rosa) (**figura 38**).

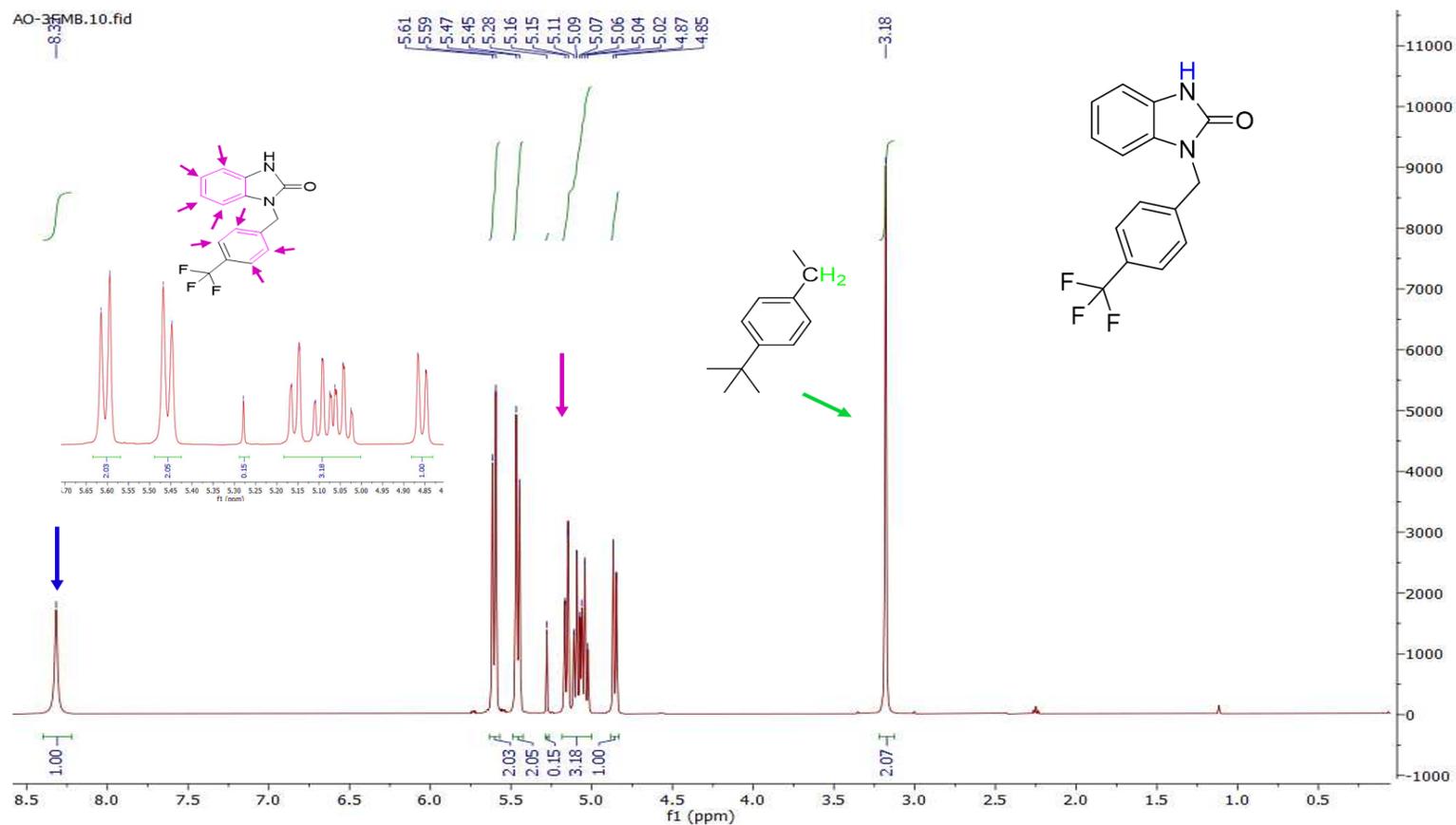


Figura 35. Espectro de ^1H -RMN del compuesto 2q. Se muestran señales en 8.32 ppm correspondientes al hidrógeno unido al nitrógeno heterocíclico (flecha azul), 8 multipletes en la zona de 5.61-4.85 ppm que integran a 8 hidrógenos asociados a los anillos aromáticos (rosa), un singulete en 3.18 ppm correspondiente a 2 hidrógenos asociados al metileno bencílico (morado).

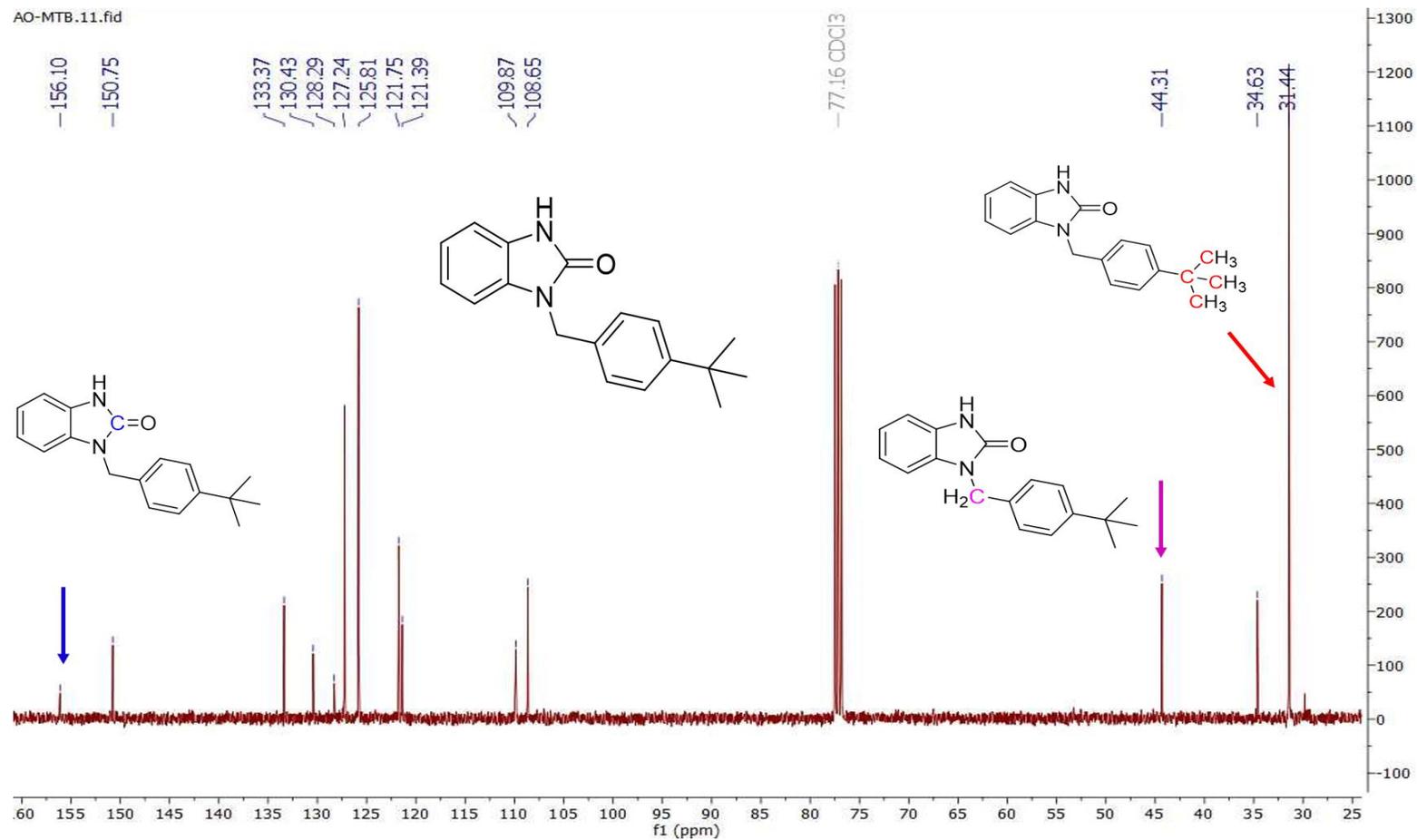


Figura 36. Espectro de ¹³C-RMN del compuesto 2q. Se muestran señales correspondientes a los 15 carbonos presentes en la estructura en un rango de 156.0 a 44.2 ppm; donde destacan el carbono del grupo carbonilo en 156.0 ppm (flecha azul) y carbono del metileno bencílico a 44.2 ppm (rosa).

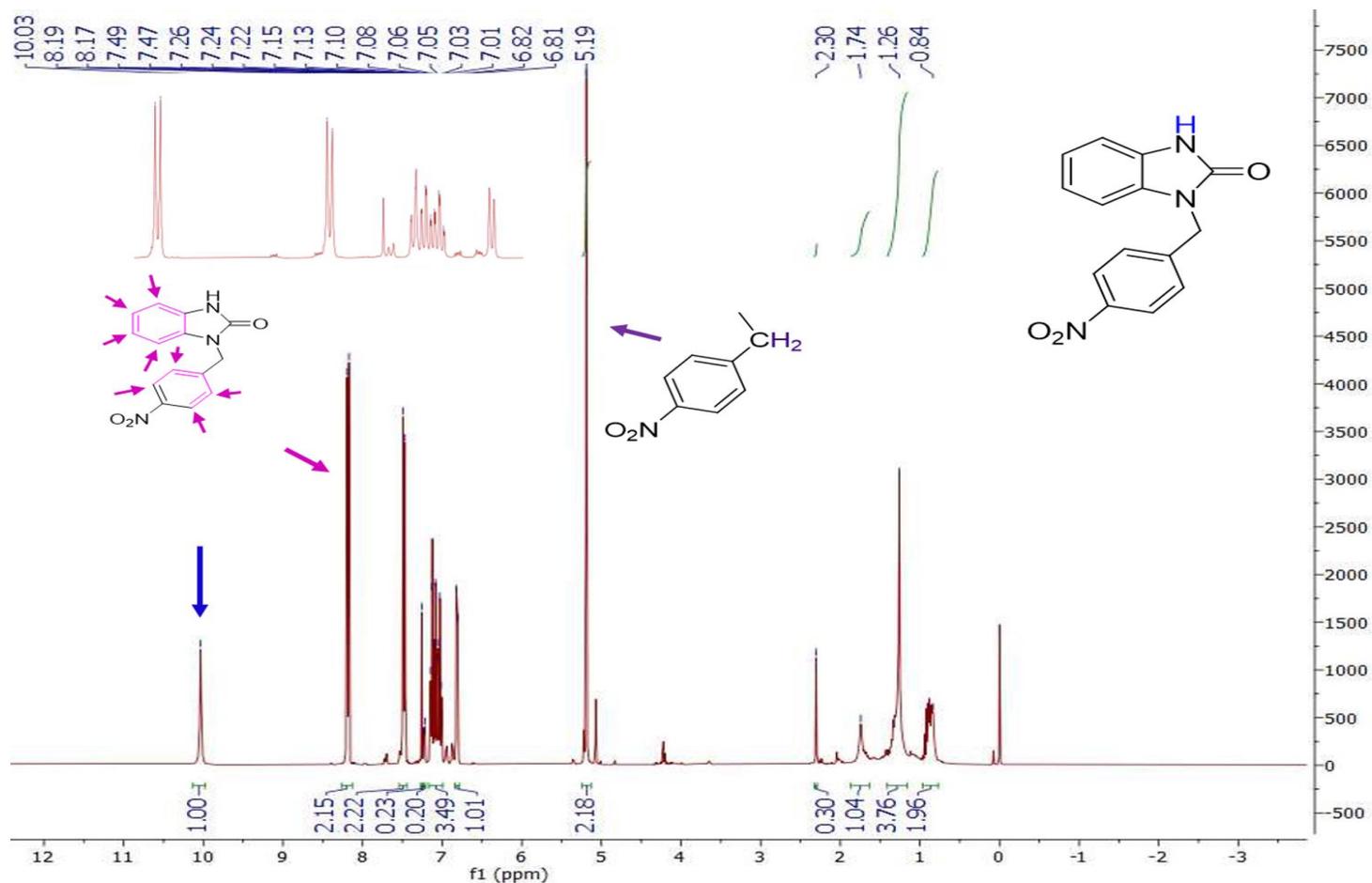


Figura 37. Espectro de ^1H -RMN del compuesto 2s. Se muestran señales en 10.03 ppm correspondientes al hidrógeno del nitrógeno heterocíclico (flecha azul), 8 multipletes en la zona de 8.19-6.81 ppm que integran a 8 hidrógenos asociados a los anillos aromáticos (rosa), un singulete en 5.19 ppm correspondiente a 2 hidrógenos asociados al metileno bencílico (morado).

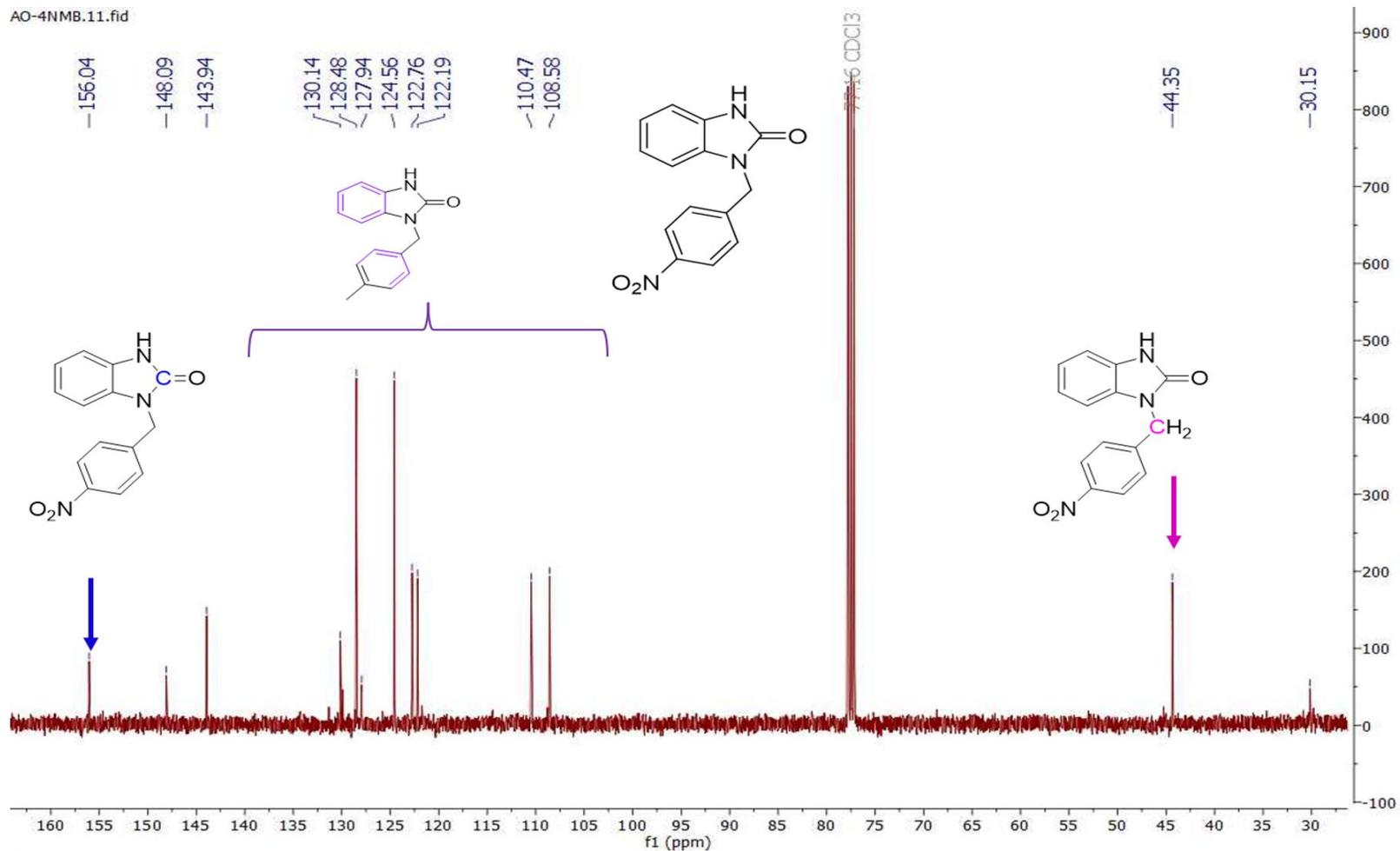


Figura 38. Espectro de ¹³C-RMN del compuesto 2s. Se muestran señales correspondientes a los 13 carbonos presentes en la estructura en un rango de 156.0 a 30.15 ppm; donde destacan el carbono del grupo carbonilo en 156.0 ppm (flecha azul) y carbono del metileno bencílico a 44.3 ppm (rosa)

9.11.- Evaluación de la actividad antihiper glucemiante *in vitro* de derivados de bencilbencimidazolonas.

9.11.1.- Evaluación de la actividad inhibidora *in vitro* de derivados de bencilbencimidazolona contra α -glucosidasa

Se llevó a cabo un estudio de inhibición *in vitro* de los derivados de bencilbencimidazolona **2j**, **2k**, **2l**, **2p**, **2q** y **2s** sintetizados previamente; evaluando un intervalo de concentraciones de 0.1 a 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$.

Al analizar los resultados de la inhibición de esta enzima por parte de los compuestos evaluados, se puede observar que los derivados de bencilbencimidazolonas presentaron porcentaje de inhibición en un rango de 6 a 36% presentando un comportamiento dosis dependiente (**cuadro 14**). Estas evaluaciones mostraron que los compuestos **2p** y **2s** presentaron los menores porcentajes de inhibición contra α -glucosidasa (rango de 7-13 y 9-17% respectivamente). Por otro lado, los compuestos **2j**, **2k** y **2l** presentaron los mejores valores de inhibición contra esta enzima (12-36%). Al comparar estos resultados con el fármaco de referencia (porcentaje de inhibición de 6-57%) a las concentraciones de 0.1-10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, los derivados de bencilbencimidazolonas evaluados presentan valores similares e incluso mejores que acarbose, sin embargo, en las concentraciones más altas (50 y 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), los compuestos evaluados no presentaron una mejor actividad inhibidora que dicho compuesto. Al realizar el análisis estadístico correspondiente, se observa que a la concentración de 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ los compuestos **2j** y **2l**, presentan un aumento en la actividad inhibidora estadísticamente significativo de 3.3 y 4.5 veces más que la actividad mostrada por el fármaco de referencia. Por otro lado, a la concentración de

Cuadro 14. Actividad inhibidora de derivados **2j, 2k, 2l, 2p, 2q, 2s** y **acarbose** contra α -glucosidasa.

Porcentaje de inhibición de derivados de bencilbencimidazolonas					
Bnz	% inhibición 0.1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	% inhibición 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	% inhibición 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	% inhibición 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	% inhibición 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
2j	14 \pm 1.23	20 \pm 0.89*	21 \pm 0.94*	29 \pm 0.45*	-
2k	-	-	14 \pm 0.27*	23 \pm 2.22*	33 \pm 1.55*
2l	12 \pm 2.21	27 \pm 1.98*	35 \pm 0.49	36 \pm 0.30	-
2p	-	7 \pm 0.91	13 \pm 1.34*	-	-
2q	-	-	-	11 \pm 0.74*	35 \pm 2.95*
2s	-	-	-	9 \pm 0.69*	17 \pm 1.35*
Acarbosa	-	6 \pm 1.30	30 \pm 5.20	43 \pm 6.7	57 \pm 0.70

* $p < 0.05$ al compararse con acarbose (control).

10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, el compuesto **2l**, presentó valores de inhibición de $35 \pm 0.49\%$, sin embargo, estos no fueron estadísticamente significativos. De la misma forma para el resto de las concentraciones (10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ a 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), el fármaco de referencia mostró mejores valores de inhibición que los derivados de bencilbencimidazolona, siendo estos estadísticamente significativos, donde fueron 1.42 (**2j**), 2.14 (**2k**), 2.3 (**2p**) veces más alto (10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$); en el caso de la concentración de 50 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, estos resultados fueron 1.48 (**2j**), 2.86 (**2k**), 1.19 (**2l**), 3.90 (**2q**) y 4.77 (**2s**) veces más altos. A su vez, a la concentración de 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, acarbosa presentó valores 1.72 (**2k**), 1.62 (**2q**) y 3.35 (**2s**) veces más altos que los derivados de bencilbencimidazolonas. Estos resultados sugieren que los derivados de bencilbencimidazolonas presentan una actividad inhibidora moderada contra esta enzima.

9.11.2.- Evaluación de la actividad inhibidora *in vitro* de derivados de bencilbencimidazolona contra α -amilasa

En el caso de la enzima α -amilasa, se evaluaron de manera *in vitro* los compuestos **2j**, **2l**, **2p**, **2q** y **2s** evaluando un intervalo de concentraciones de 0.1 a 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$. Al analizar los resultados de esta evaluación, se puede observar que el compuesto **2l**, no presentó porcentajes de inhibición a ninguna de las concentraciones evaluadas. Por otro lado, los compuestos **2j**, **2p**, **2q** y **2s** presentaron porcentajes de inhibición de 2 hasta 19%, donde solo el compuesto **2s** no presentó un comportamiento dosis dependiente, esto al presentar mantener su máxima inhibición desde la concentración más baja evaluada (**cuadro 15**). Sin embargo, al comparar estos resultados con el fármaco de referencia (porcentaje de inhibición de 2-63%) a las

Cuadro 15. Actividad inhibidora de derivados de **2j,2l, 2p, 2q, 2s** y **acarbosea** contra α -amilasa.

Bencimidazolona	% inhibición 0.1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	% inhibición 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	% inhibición 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	% inhibición 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
2j	-	3 \pm 1.4	4 \pm 0.97*	8 \pm 1.8*
2l	-	-	-	-
2p	-	5 \pm 0.6	9 \pm 1.4*	-
2q	3 \pm 0.2	5 \pm 1.63	8 \pm 1.5*	-
2s	14 \pm 2.8*	14 \pm 3.7*	11 \pm 4.8*	15 \pm 5.5*
Acarbosa	2 \pm 1.7	5 \pm 0.7	35 \pm 1.4	63 \pm 2.6

* $p < 0.05$ al compararse con acarbosea (control).

concentraciones antes mencionadas, se observa que los compuestos **2p**, **2q** y **2s** mostraron valores similares o mejores que el acarbosa a las concentraciones de 0.1 y 1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, donde solo el compuesto **2s**, presentó diferencias estadísticamente significativas, las cuales fueron 7.0 (0.1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) y 2.8 (1 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) veces más que el fármaco de referencia. Para el resto de las concentraciones, acarbosa presentó mejores valores de inhibición que los derivados de bencilbencimidazolonas, los cuales fueron estadísticamente significativos, siendo 8.75 (**2j**), 3.88 (**2p**), 4.37 (**2q**) y 3.18 (**2s**) veces mayor a 10 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; a su vez a la concentración de 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ acarbosa presentó valores 7.87 (**2j**) y 4.2 (**2s**) veces mayores.

Estos resultados indican que los derivados de bencilbencimidazolonas presentan una actividad inhibidora baja contra esta enzima; y al comparar los resultados mostrados en este estudio *in vitro* con el potencial mostrado en los estudios *in silico*, no existe coincidencia entre ambos resultados.

9.12.- Evaluación de la actividad hipoglucemiante *in vitro* de derivados de bencilbencimidazolonas.

9.12.1.- Evaluación de la actividad activadora *in vitro* de derivados de bencilbencimidazolona contra glucocinasa.

En el caso de la potencial capacidad activadora de los derivados de bencilbencimidazolonas, se realizó un estudio *in vitro* utilizando el kit comercial “Hexokinase colorimetric assay kit”, generando la determinación de la cantidad de nano moles por minuto por mililitro ($\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$) de NADH generados por la

enzima glucocinasa, de los derivados de bencilbencimidazolonas (concentraciones de 0.1-200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), control positivo y el estándar de NADH (reacción enzimática normal).

Se realizó la evaluación de los compuestos **2j**, **2k**, **2l** y **2q** en concentraciones de 0.1-200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$, donde solo existió actividad a 100 y 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; encontrando valores de $\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$ de 23 a 86 nmol de NADH (**cuadro 16**); por otro lado, el control positivo provisto por el kit comercial generó 66 y 75 nmol de NADH, mientras que la reacción enzimática normal, generó 23 nmol de dicho compuesto. Al comparar los nmol generados de los derivados de bencilbencimidazolonas evaluados con la reacción enzimática normal, se observó que los compuestos **2j**, **2k**, **2l** y **2q** aumentaron la actividad enzimática 1.31 y 2.83 (**2j**), 1.30 (**2k**), 2.30 (**2l**), 1.96 y 3.74 (**2q**) veces más la actividad normal a las concentraciones de 100 y 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ respectivamente; siendo estos resultados estadísticamente significativos. Analizando estos resultados, se observa que los compuestos **2j** y **2q** los derivados de bencilbencimidazolonas con mejor potencial activador contra esta enzima. Al comparar los resultados obtenidos del compuesto **2q** con el control positivo, se observó este derivado presenta una mejor activación enzimática que este control (3.26 veces más).

Cuadro 16. Efecto activador de derivados **2j**, **2k**, **2l** y **2q** contra la enzima glucocinasa.

Activación de glucocinasa de derivados de bencilbencimidazolonas				
Bnz	$\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$ de NADH a 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	$\text{nmol}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{mL}^{-1}$ de NADH a 200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	Aumento de actividad	
				$100\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$
2j	$30 \pm 1.15^*$	$65 \pm 1.00^*$	$1.31 \pm 0.01^*$	$2.83 \pm 0.01^*$
2k	$23 \pm 3.75^*$	$30 \pm 4.35^*$	-	$1.30 \pm 0.04^*$
2l	-	$49 \pm 2.15^*$	-	$2.13 \pm 0.02^*$
2q	$45 \pm 2.25^*$	$86 \pm 3.72^*$	$1.96 \pm 0.02^*$	$3.74 \pm 0.04^*$
Control +	66 ± 3.30	75 ± 3.25	2.86 ± 0.03	3.26 ± 0.03
Estándar NADH	23 ± 0.87			

* $p < 0.05$ al compararse con estándar de NADH.

X. DISCUSIÓN

10.1 Estudios predicción del espectro de actividades para sustancias (PASS) de derivados de bencilbencimidazolonas

Una herramienta *in silico* que ha mostrado relevancia en el diseño y generación de nuevos fármacos, es la determinación del espectro de actividades biológicas (PASS). Esta metodología bioinformática, se basa en una comparación estructura-actividad de los compuestos a evaluar con una base de datos de estudios reportados por diversos grupos de investigación, generando probabilidades de ser biológicamente activo (Pa) y/o inactivo (Pi) (Moreno-Díaz *et al.*, 2008). Dentro de la interpretación de resultados, valores de Pa > 70% es indicativo que la molécula evaluada pueda ser comprobada experimentalmente e incluso podría ser un análogo con actividad farmacológica conocida; de la misma forma valores entre 50 y 70 % de este parámetro indica que el compuesto presentaría una buena actividad experimentalmente, pero con menor actividad; a su vez, valores de Pa menores de 50 %, indica que las estructuras químicas evaluadas presentan poca probabilidad de generar una actividad biológica ((Moreno-Díaz *et al.*, 2008; Torres-Piedra *et al.*, 2010).

Actualmente, existen pocos reportes de estudios que usen estos programas bioinformáticos para el diseño de compuestos con actividad biológica, sin embargo, algunos autores como Parasuraman y colaboradores en 2015, realizaron un estudio de análisis PASS componentes fitoquímicos de extractos hidroalcohólicos de hojas de *O. tenuiflorum*, encontrando como resultado que compuestos como el ácido ursólico y ácido rosmarinico presentan probabilidades mayores de 70% de generar efectos relacionados con el control de glucemia (promotor de insulina, hipoglucémico y

actividad antidiabética); haciendo a los extractos de esta planta, potenciales tratamientos para el control de glucemia (Parasuraman *et al.*, 2015).

Por otro lado, Moreno-Díaz y colaboradores en 2008, evaluaron el perfil de espectro de actividades de derivados de bencensulfamidas; este estudio mostró que esta familia de compuestos presentaba altas probabilidades de generar actividades relacionadas con el control de glucemia como actividad antidiabética y contra la obesidad (valores de Pa entre 60 y 80 %), asociando estos resultados a la similitud estructural con fármacos utilizados para estos propósitos (Moreno-Díaz *et al.*, 2008).

De la misma forma, Torres-Piedra y colaboradores en 2010, realizaron un análisis PASS de derivados de flavonoides, encontrando que compuestos como quercetina y crisina presentaban probabilidad de generar una actividad antidiabética de hasta 30%, que a pesar de considerarse valores bajos (o que no se puedan corroborar experimentalmente); este grupo de investigación indica que si se puede corroborar estas actividades en ensayos *in vitro* o *in vivo*, se puede generar reportes de nuevas moléculas que tengan actividad de este tipo; ya que la comparación estructura-actividad con la base de datos de este programa bioinformático, se genera por estudios experimentales reportados por distintos grupos de investigación (Torres-Piedra *et al.*, 2010).

Al comparar los resultados de este proyecto con lo reportado por estos grupos de investigación, se observa que los derivados de bencilbencimidazolonas tienen una probabilidad moderada de presentar efectos antidiabéticos (30-50%); además de asociarse a otras actividades como la inhibición de enzimas específicas como glucosa 6 fosfatasa o ser promotor de insulina., lo cual puede sugerir que estos compuestos

pueden presentar efectos en el control de glucosa mediante diferentes mecanismos de acción; lo cual, deberá ser corroborado con estudios *in vitro* e *in vivo*.

10.2 Estudios predicción de perfil ADME de derivados de bencilbencimidazolonas

Debido a que la búsqueda y generación de nuevos compuestos con actividad terapéutica, es un proceso largo y complicado, es necesario el uso de metodologías que ayuden a delimitar y asegurar el posible efecto biológico deseado, así como la biodisponibilidad que pueda presentar en un organismo vivo (Bhutani *et al.*, 2018). Ante esto algunos autores como Bhutani y colaboradores en 2018, han empleado algunos programas bioinformáticos para predecir el comportamiento ADME, según parámetros fisicoquímicos y siguiendo los lineamientos de Lipinski; en este estudio se evaluaron derivados de benzotiazoles en el programa Molinspiration; encontrando como resultado que de los 22 compuestos evaluados, solo uno generó una falla en los criterios de Lipinski al presentar más de 10 átomos aceptores de hidrogeno y valores de TPSA mayores de 140 Å, lo cual puede indicar una mala absorción gastrointestinal y paso en la barrera hematoencefálica (Bhutani *et al.*, 2018).

De la misma forma, Osman y colaboradores en 2021, realizaron un estudio *in silico* de las propiedades ADME de los componentes fitoquímicos de extractos de *Bauhinia rufescens* Lam, los resultados mostrados por el programa bioinformático SwissADME que la mayoría de los compuestos evaluados presentan una buena biodisponibilidad oral al cumplir los parámetros considerados como normales para los criterios de Lipinski; sin embargo, algunos componentes como la luteolin-3',7-di-*o*-glucosida, ergocristina, reserpina, entre otros, presentan una masa molecular encima

de $500 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$, lo cual representa problemas en la biodisponibilidad oral (Osman *et al.*, 2021).

A su vez, Kadhse y colaboradores en 2019, realizaron un estudio predictivo de las propiedades farmacocinéticas de derivados de quinazolinonas para determinar su biodisponibilidad oral; este grupo de investigación encontró como resultado que esta familia de compuestos, presentaban valores de masa molecular, número de enlaces rotables, átomos aceptores y donadores de hidrógeno, valores de lipofilicidad y de superficie polar (TPSA) dentro de lo considerado como normal para cumplir los lineamientos de Lipinski (Khadse *et al.*, 2019).

Los resultados obtenidos en el estudio predictivo de propiedades ADME para los derivados de bencimidazolonas son similares a lo reportado por Bhutani y colaboradores en 2018, Osman y colaboradores en 2021, y Kadhse y colaboradores 2019; esto al presentar valores fisicoquímicos y farmacocinéticos indicativos de una buena biodisponibilidad oral, cumpliendo los lineamientos de Lipinski. Aunado a esto, parámetros como TPSA, lipofilicidad y masa molecular, pueden sugerir el comportamiento de los compuestos en su absorción gastrointestinal, paso de la barrera hematoencefálica y paso de membranas respectivamente.

10.3 Estudios predicción de propiedades toxicológicas de derivados de bencilbencimidazolonas

Otra herramienta de relevancia en el diseño y desarrollo de nuevos compuestos con potencial terapéutico es el uso de programas bioinformáticos como admetSAR para la determinación de los efectos tóxicos teóricos que las moléculas evaluadas puedan presentar. Esta determinación se realiza mediante un análisis estructural con

una base de datos con estudios toxicológicos reportados por diversos grupos de investigación; realizando comparaciones de pruebas de carcinogénesis, mutagénesis, hepatotoxicidad, etc. (Khadse *et al.*, 2019).

En la literatura existen pocos reportes de estudios acerca del uso de este tipo de metodologías sobre compuestos naturales o sintéticos; sin embargo, Osman y colaboradores en 2021, realizaron una predicción de propiedades toxicológicas de los componentes fitoquímicos de extractos de *Bauhinia rufescens* Lam, realizando evaluaciones sobre efectos mutagénicos, tumorigénicos, irritantes y en la reproducción; los resultados obtenidos en este estudio mostraron que de los 35 compuestos evaluados solo el ácido aspártico, icarina, metionina, retrocina y haplocido tienen un moderado/alto riesgo de tener estos efectos (Osman *et al.*, 2021).

Por otro lado, Parasuraman y colaboradores en 2015, realizaron un estudio similar donde evaluaron las propiedades toxicológicas de los componentes fitoquímicos de extractos hidroalcohólicos de hojas de *O. tenuiflorum* mediante el programa bioinformático *Lazar*; los resultados obtenidos mostraron la mayoría de los compuestos evaluados no presentaron probabilidad de tener efectos mutagénicos o carcinogénicos (Parasuraman *et al.*, 2015).

De la misma forma, Khadse y colaboradores en 2019, realizaron un estudio de predicción de efectos tóxicos de derivados de quinazolinonas, mediante el programa preADMET. En este estudio se evaluó la probabilidad de estos compuestos para generar efectos carcinogénicos, encontrando como resultado que solo 2 de los 8 derivados evaluados, presentaban probabilidad de ocasionar este efecto (Khadse *et al.*, 2019).

Al comparar los resultados obtenidos en este proyecto de investigación por lo reportado en los estudios antes mencionados se observa una similitud entre estos estudios, ya que los derivados evaluados, tampoco presentan probabilidad de ocasionar efectos carcinogénicos o mutagénicos (60-73%), sugiriendo una posible bioseguridad considerando estos efectos; sin embargo, los compuestos evaluados en esta investigación presentaron alta probabilidad de generar efectos hepatotóxicos, por lo cual es importante realizar los estudios correspondientes para corroborar los estudios *in silico*.

Analizando los resultados de los estudios predictivos de actividades biológicas, perfil ADME y toxicológicas, se observa que de los 9 compuestos (**2j, 2k, 2l, 2p, 2q, 2r, 2s, 2t y 2u**), 3 compuestos (**2r, 2t y 2u**) presentan probabilidades bajas de ser biológicamente activos (20-30%) contra actividades relacionadas en control de glucemia; además, estos son pocas actividades donde destacan como actividad antidiabética sintomática y promotor de insulina, por lo que estos compuestos pueden ser considerados para descartarse en el proceso de síntesis; sin embargo, es necesario realizar un estudio de acoplamiento molecular para observar la posible interacción con las enzimas relacionadas en el control de glucosa, así como su perfil de interacciones con aminoácidos de interés.

10.4 Estudios de acoplamiento molecular de derivados bencilbencimidazolonas sobre α -glucosidasa

Al analizar los resultados de los tipos de enlaces generados en el estudio de interacción de los diferentes compuestos evaluados con esta diana terapéutica; se observa que los 22 compuestos diseñados presentaron enlaces del tipo hidrógeno,

electrostáticos e hidrofóbicos con aminoácidos catalíticos del sitio activo de esta enzima como Asp518 y Asp616, asociando estas interacciones con la alta EU mostrada por parte de las bencimidazonas evaluadas.

En la actualidad, existen pocos reportes en la literatura de estudios de acoplamiento molecular de compuestos de la familia de bencimidazonas contra α -glucosidasa; sin embargo, se han realizado algunos estudios de esta índole de compuestos heterocíclicos con similitud estructural a los compuestos evaluados en este proyecto; por ejemplo, lo reportado por Mentese y colaboradores en 2020, donde evaluaron derivados de bencimidazoles contra esta enzima, encontrando como resultados que 8 compuestos presentaron valores de EU de -8.0 a -10.8 Kcal·mol⁻¹, presentando interacciones de tipo de hidrogeno e hidrofóbicas con residuos de aminoácidos de relevancia para la enzima como Glu277, Asp312 y Arg355 (Menteşe *et al.*, 2020). Al comparar los resultados obtenidos en nuestro proyecto con los de este grupo de investigación se observa que estos son similares, al presentar valores de espontaneidad de enlace e interacciones con aminoácidos similares; lo cual puede deberse a la similitud estructural (núcleo de anillo aromático unido con anillo de imidazol) por parte de ambas familias de compuestos.

A su vez, Hussain y colaboradores en 2019, realizaron un estudio de docking molecular de derivados de pirrolidinas y tiazolidinas contra este blanco terapéutico, obteniendo como resultados valores de EU de -6 a -9 Kcal·mol⁻¹; de la misma forma, se analizaron las interacciones con los residuos de aminoácidos de estas familias de compuestos, mostrando que la interacción con aminoácidos catalíticos como Asp214

y Glu276 (considerados por este grupo de investigación como aminoácidos catalíticos), es de importancia para la inhibición de esta enzima (Hussain *et al.*, 2019).

Por otro lado, Adib y colaboradores en 2018, realizaron un estudio de derivados de pirimidin-dionas contra esta enzima, encontrando que algunos de estos compuestos heterocíclicos presentan una mejor formación de enlace contra α -glucosidasa que el fármaco de referencia acarbosa, al presentar valores de EU de hasta $-8.9 \text{ Kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, así como la unión con aminoácidos de importancia biológica para la actividad enzimática como Glu304, Arg312, Thr307 (Adib *et al.*, 2018).

Al comparar los resultados obtenidos en el análisis de docking molecular de los derivados de bencilbencimidazolonas, se observa que la mayoría de los valores de EU obtenidos para estas familias, así como a la formación de enlace con aminoácidos como Asp y Glu son similares a lo reportado por Hussain y colaboradores y Adib y colaboradores, sugiriendo que estos compuestos pueden presentar un potencial inhibidor contra esta enzima, sin embargo, es necesario complementar estos estudios *in silico* con pruebas de inhibición *in vitro* para corroborar el potencial de estos compuestos.

10.5 Estudios de acoplamiento molecular de derivados bencilbencimidazolonas sobre α -amilasa

El estudio de acoplamiento molecular realizado a los derivados de bencimidazolonas diseñados para este blanco terapéutico, mostró que los compuestos **2v**, **2w**, **2x** presentaron la mejor espontaneidad de formación de enlace con el sitio activo de α -amilasa; presentando formación de enlace con al menos 2 de los 3 aminoácidos considerados como catalíticos (Asp197, Glu233 y Asp300), siendo estos

enlaces del tipo hidrógeno, electrostáticos e hidrofóbicos; presentando distancias en los enlaces $\leq 2 \text{ \AA}$, siendo esto una posible explicación a la buena energía de unión mostrada por nuestros compuestos, ya que la facilidad de formación de enlace aumenta según la cercanía entre los residuos de aminoácidos y los sitios activos de los compuestos.

Actualmente, existen pocos reportes en la literatura sobre este tipo de ensayos *in silico* de derivados de bencimidazonas sobre la enzima α -amilasa; sin embargo, grupos de investigación como Oloruntoba-Yeye y colaboradores en 2020, realizaron un análisis de acoplamiento molecular “ciego” (sobre toda la estructura enzimática) de derivados de triazoles, encontrando como resultado que estos compuestos presentan interacción con el sitio activo y alostéricos de la enzima, mostrando valores EU de hasta $-6.5 \text{ Kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$, sugiriendo una posible acción inhibidora del tipo competitiva e indirecta (Yeye *et al.*, 2020).

Por otro lado, en nuestro grupo de trabajo Aispuro-Pérez y colaboradores en 2019, han realizado este tipo de estudios por parte de derivados de iminas, encontrando como resultados que por lo menos 3 de los compuestos evaluados muestran valores de EU de -6 a $-7.37 \text{ Kcal}\cdot\text{mol}^{-1}$; reportando interacciones del tipo hidrógeno, electrostáticas e hidrofóbicas con aminoácidos como Asp. Glu, Arg, entre otros; siendo estos residuos de aminoácidos relevantes para la acción enzimática (Aispuro-Pérez *et al.*, 2020).

Al comparar los resultados obtenidos en este proyecto de investigación, se observa los valores de espontaneidad de enlace de las familias sulfonil y aril bencimidazonas son mejores que las reportadas por Oloruntoba-yeye y

colaboradores y Aispuro-Pérez y colaboradores, lo cual puede deberse a la gran cantidad de enlaces formados con los aminoácidos catalíticos de la enzima; sugiriendo que este tipo de compuestos pueda presentar un mejor potencial inhibidor contra este blanco terapéutico que los derivados de triazoles e iminas; sin embargo es necesario realizar los estudios *in vitro* para corroborar este potencial.

10.6 Estudios de acoplamiento molecular de derivados bencilbencimidazolonas sobre glucocinasa

En el caso del ensayo de acoplamiento molecular de los compuestos evaluados contra la enzima glucocinasa, se realizó en el sitio alostérico reportado en la literatura, obteniendo como resultados valores de EU de -9.1 a -11.1 Kcal·mol⁻¹, asociando estos valores a la formación de enlace de hidrogeno e hidrofóbicos con aminoácidos como Arg63, Pro66, His218, Ala456 y Tyr215; además de aminoácidos como Val452 y Met210. Aunado a esto, al analizar las distancias de los enlaces formados, se observa que los derivados de bencilbencimidazolonas presentan distancias de 1.95 a 3.5 Å; siendo esto una posible explicación a la buena energía de unión.

Dentro de la literatura, existen estudios de algunos compuestos de carácter heterocíclico que se han evaluado de manera *in silico* contra este blanco terapéutico; por ejemplo Kadhase y colaboradores en 2019 realizaron estudios de acoplamiento molecular de derivados de quinazolinonas en el sitio alostérico de glucocinasa; presentado resultados de energía de unión de -3.64 a -6.64 Kcal·mol⁻¹, dándole importancia para la unión a este sitio la presencia de átomos electro-aceptores como nitrógeno (N), azufre (S) y grupos amina (NH); además de la interacción contra aminoácidos como Arg63 y Tyr215 (Khadse *et al.*, 2019).

De la misma forma, este mismo grupo de investigación, pero un año más tarde, realizaron estudios similares de compuestos híbridos de sulfonamida-benzamidas hetero-sustituidos, obteniendo como resultados una espontaneidad de enlace de -5.6 a -9.5 Kcal·mol⁻¹, donde por lo menos 5 compuestos presentaron mejores valores que el fármaco de referencia dorziaglatina. A su vez, se observó la interacción del tipo hidrogeno e hidrofóbicos con aminoácidos como Arg63, Cys220, Val452 y Tyr215, considerándose a estos residuos del sitio alostérico de glucocinasa como importantes para el aumento de la actividad enzimática (Khadse *et al.*, 2020).

Al comparar los resultados obtenidos para los compuestos alquilbencimidazonas con lo reportado por estos grupos de investigación, se observa que nuestros compuestos tienen una mejor facilidad de formación de enlace con el sitio alostérico de este blanco terapéutico, al necesitarse menor energía para formar enlaces (mejores valores de EU) que los derivados de quinazolinonas e híbridos de sulfonamida-benzamidas hetero-sustituidos respectivamente; así como a la mayor cantidad de enlaces formados con aminoácidos de importancia biológica en el evaluado; haciendo a estos compuestos potenciales activadores de glucocinasa; lo cual se traduce en compuestos estimuladores de la secreción de insulina en el organismo.

Analizando los resultados el perfil *in silico* (estudios predictivos de actividades biológicas, ADME, toxicológicos y acoplamiento molecular) se observó que, de los 22 compuestos diseñados, los compuestos **2j**, **2k**, **2l**, **2p**, **2q**, y **2s**, fueron seleccionados para el proceso de síntesis debido a que los resultados los estudios de predicción antes mencionados mostraron que estos compuestos presentan probabilidades de ser

biológicamente activo de entre 30-55% con actividades como antidiabética sintomática, antidiabética, inhibidor de insulinas y promotor de insulina. De la misma forma, estos derivados de bencil bencimidazolonas no presentaron fallos en los criterios de Lipinsky y Veber. De la misma forma, el estudio de acoplamiento molecular muestra que estos compuestos pueden actuar en 3 o más de las dianas terapéuticas, presentando buenos valores de EU e interaccionando con aminoácidos de relevancia biológica; por lo que pueden ser considerados agentes potenciales para el control de glucemia.

10.7 Estandarización de ruta de síntesis de derivados de bencilbencimidazolonas

Para la caracterización de la ruta de síntesis del núcleo de bencimidazolonas propuesta en este proyecto de investigación, se realizó la selección de diferentes tipos de disolventes en la reacción; utilizando compuestos no polares (como tolueno) y solventes polares próticos o apróticos. Al realizar un análisis del disolvente usado y rendimiento obtenido se observa que, disolventes de carácter no polar, no favorece la formación del compuesto deseado, esto puede deberse a la naturaleza de estos compuestos, donde no pueden formar enlaces de hidrógeno fuertes y se utilizan para disolver reactivos no polares como carbohidratos. De la misma forma, este análisis mostró el uso de solventes polares apróticos aumenta el rendimiento del producto formado; esto puede explicarse debido a la constante dieléctrica (propiedad de conducir y captar energía) de estos compuestos, que es más elevada que algunos disolventes próticos como etanol, metanol e isopropanol.

Al analizar el efecto de los parámetros de temperatura y tiempo sobre rendimiento de producto obtenido, se puede observar un comportamiento dependiente de estos parámetros; ya que, existe un aumento en el rendimiento al aumentar la temperatura y tiempo, así como la disminución de este en los valores máximos evaluados. Esto puede ocurrir debido a que en los valores iniciales no existe la energía ni tiempo necesario para transformar los reactivos a compuestos y al llegar al punto máximo la acción de estos parámetros genera la degradación del compuesto formado, disminuyendo su rendimiento.

10.8 Síntesis de derivados de bencilbencimidazolonas con mejor perfil *in silico* mediante calor convencional

En la actualidad, no se han encontrado reportes en la literatura de la síntesis de esta familia de compuestos bencilbencimidazolonas, utilizando condiciones similares; sin embargo, algunos investigadores han generado rutas de síntesis de algunos derivados de bencimidazolonas con similitud estructural; por ejemplo, Ahmad y colaboradores en 2002, realizaron la síntesis de derivados de sulfonilbencimidazolonas nitrogenadas mono y di sustituidas, mediante el uso de condiciones de medio básico (usando hidróxido de sodio en acetona), una protección del grupo amino de la estructura base mediante la adición de un grupo *ter*-butoxicarbonil y tratamiento con hidruro de sodio/DMF y *ter*-butildicarbonato para su posterior sulfonación en presencia de trietilamina y el uso de temperaturas de 20-140°C. Dentro de los resultados obtenidos por este grupo de investigación encontraron % de rendimiento de esta serie de compuestos que van desde 29 a 97% (Ahmad *et al.*, 2002).

Por otro lado, Abbas y colaboradores en 2015, realizaron la síntesis de derivados de sulfonil-bencimidazolonas mediante una protección de uno de los nitrógenos del anillo de imidazol de la estructura base, usando un grupo *ter*-butoxicarbonil en un condiciones de argón y DMF seco para su posterior sulfonación con cloruros de sulfonilo en condiciones básicas generadas por la adición de trietilamina y dimetilaminopiridina como catalizador; obteniendo buenos porcentajes de rendimiento de producto aislado (Abbas *et al.*, 2015).

Dentro de los estudios de confirmación estructural de este tipo de moléculas por ^1H -RMN y ^{13}C -RNM, es importante la presencia de señales características en la estructura, los cuales son indicativos de que el proceso de alquilación realizado para ingresar el sustituyente propuesto en la ruta fue realizado de manera adecuada; dichas señales son: la presencia del hidrógeno unido al nitrógeno heterocíclico en el anillo de imidazol (lo cual indica la presencia del núcleo de bencimidazolona), señales correspondientes al carbono e hidrógenos del metileno bencílico y las correspondientes al carbono e hidrógenos del sustituyente en el anillo bencílico (los cuales son indicativos de la alquilación del grupo propuesto) (Abbas *et al.*, 2015). Abbas y colaboradores en 2015, realizaron la síntesis y confirmación estructural de derivados de bencimidazolonas, donde encontraron en el estudio de ^1H -RMN las señales correspondientes al hidrógeno unido al nitrógeno heterocíclico en un rango de 11.50-9.75 ppm, así como la presencia de carbono del carbono del grupo carbonilo en 152.0-148.0 ppm (estudio de ^{13}C -RNM) (Abbas *et al.*, 2015). Al comparar nuestros resultados con lo reportado por este grupo de investigación, se puede observar las señales antes mencionadas en la región de 10.0-10.31 (^1H -RMN) y 156.0-156.1 (^{13}C -

RNM) ppm respectivamente; sugiriendo que la síntesis de los derivados de bencilbencimidazolonas se llevó a cabo de manera adecuada.

Al comparar los resultados obtenidos en nuestro proyecto, con lo reportado por los diferentes grupos de investigadores en la literatura, se puede observar que la ruta de síntesis propuesta por diferentes autores genera derivados de bencimidazolonas con rendimientos mejores que lo alcanzado en este proyecto (12-39%). Sin embargo, en la actualidad no existen reportes en la literatura de rutas de síntesis usando las condiciones utilizadas en este proyecto (el uso de irradiación por microondas para la generación del núcleo de bencimidazolonas y el uso de calor convencional para la alquilación de este), generando una ruta sencilla y rápida con rendimientos moderados, lo cual puede ser de relevancia científica para la generación de este tipo de compuestos.

10.9 Evaluación de la actividad inhibidora de derivados de bencilbencimidazolonas sintetizados contra α -glucosidasa

Al realizar un estudio de relación estructura actividad de los compuestos **2j**, **2k** y **2l** (compuestos con sustituyentes metilo en posiciones *orto*, *meta* y *para* en el anillo bencílico) se observó que el compuesto con sustituyente en posición *orto* (**2l**) tiene una mejor actividad inhibidora *in vitro* que el compuesto con sustituyente en *para* (**2j**) y este a su vez mejores que de posición *meta* (**2k**), este comportamiento puede deberse al tipo y distancia de los enlaces formados en el sitio de interacción con la enzima mostrados en los estudios *in silico*. En el primer caso, el compuesto **2l** mostró interacción de tipo de hidrógeno y electrostático con 2 aminoácidos considerados catalíticos (ASP616 y ASP618), mostrando distancias de 2.58, 3.07, 3.16 y 3.54 Å

respectivamente. El compuesto **2j** presentó interacciones de hidrógeno y electrostáticas con solo 1 de los aminoácidos catalíticos (ASP616) con distancias de 2.64, 2.72 y 3.56 Å; por último, el **2l** solo presentó interacciones electrostáticas con solo 1 de los aminoácidos catalíticos (ASP616) con distancias de 3.50 y 4.58 Å. Esta diferencia en las distancias de enlace entre los compuestos puede ser una posible explicación a la actividad inhibidora mostrada en los estudios *in vitro* (**figura 39**).

En la actualidad, existen pocos reportes en la literatura de evaluaciones *in vitro* contra esta enzima por parte de derivados de bencimidazolonas, sin embargo, algunos investigadores como Menteşe y colaboradores en 2021, realizaron un estudio *in vitro* de bencimidazolonas unidas a triheterociclos contra α -glucosidasa; mostrando un porcentaje de inhibición enzimática entre 60 y 92% a la concentración de 100 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$; presentando una actividad similar al fármaco de referencia acarbosa (> 90%) (Menteşe *et al.*, 2021).

Por otro lado, Singh y colaboradores en 2020, evaluaron la capacidad inhibidora *in vitro* de compuestos heterocíclicos como los derivados de bencimidazoles contra α -glucosidasa; los resultados mostraron que 5 de los 10 compuestos evaluados presentaron valores de IC_{50} (4.10 a 9.12 μM) mejores que el fármaco de referencia utilizado en el estudio (15.4 μM) (G. Singh *et al.*, 2020).

Al comparar los resultados obtenidos en este proyecto con lo reportado por los grupos de investigación antes mencionados, se observa que nuestros compuestos presentan menor porcentaje de inhibición que los compuestos reportados por estos grupos de investigación, indicando un menor potencial terapéutico para el control de glucemia mediante un mecanismo antihiperoglucemiante.

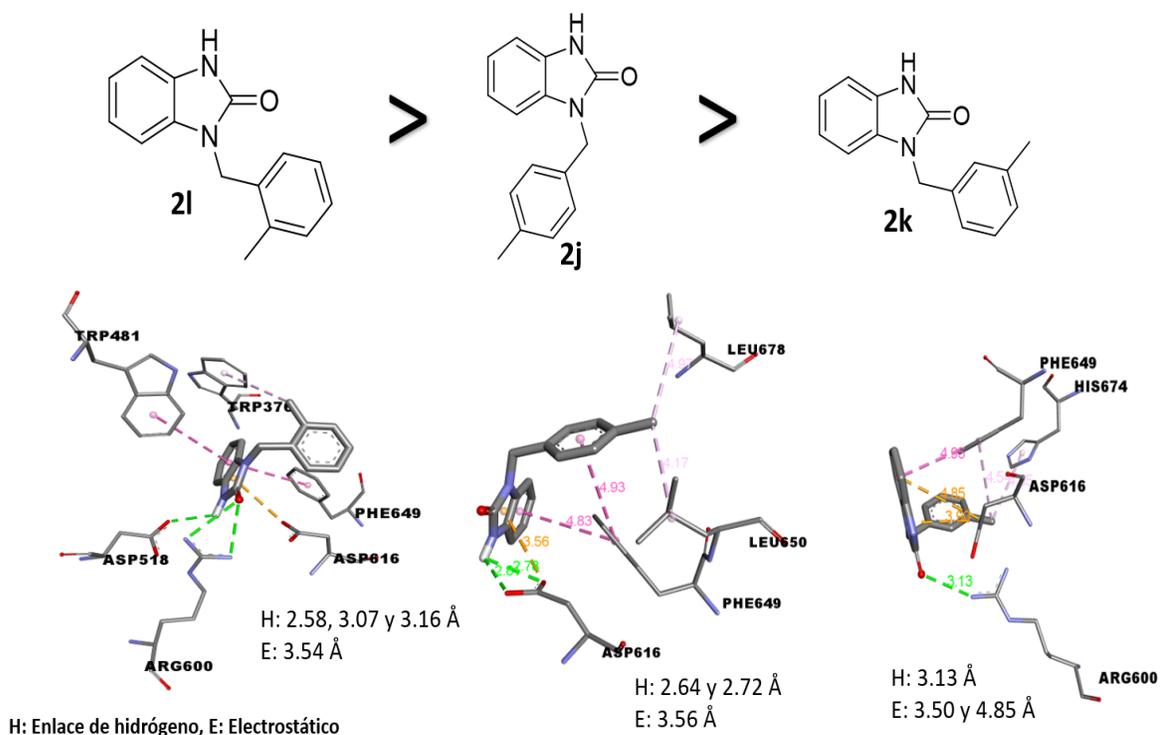


Figura 39.- Relación estructura-actividad de los compuestos 2l, 2j y 2k. Esta evaluación muestra diferencias en el perfil de interacciones con residuos de aminoácidos catalíticos, donde el compuesto **2l**, presenta interacción con dos residuos catalíticos y distancias de 2.58, 3.07, 3.16 y 3.54 Å, siendo distancias más cercanas en comparación de los compuestos **2j** y **2k**.

10.10 Evaluación de la actividad inhibidora de derivados de bencilbencimidazolonas sintetizados contra α -amilasa

Al igual que en la enzima α -glucosidasa, en la actualidad, existen pocos reportes en la literatura de estudios *in vitro* de derivados de bencimidazolonas contra esta enzima, sin embargo, algunos grupos de investigación han realizado estudios de compuestos heterocíclicos o con similitud estructural que esta familia de compuestos. Tal es el caso de lo reportado por Oloruntoba-Yeye y colaboradores en 2020, donde realizaron un análisis de la actividad inhibidora de derivados de triazoles; obteniendo como resultado valores de IC_{50} de 2.04 a 6.5 μ M, considerando a estos compuestos como potentes inhibidores de esta enzima. Sin embargo, al comparar estos resultados con el fármaco de referencia acarbosa (1.92 μ M) ninguno de ellos presentó mejor inhibición enzimática (Yeye *et al.*, 2020).

Al comparar los resultados de inhibición de α -amilasa en el presente proyecto con lo reportado por otros autores, se observa que los derivados presenten un menor potencial terapéutico para el control de glucemia mediante este tipo de mecanismos.

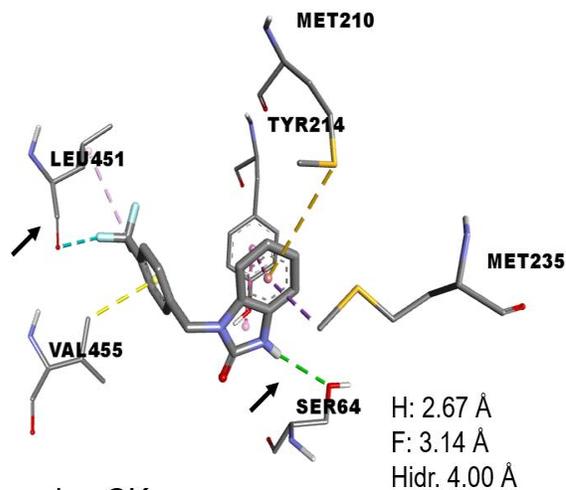
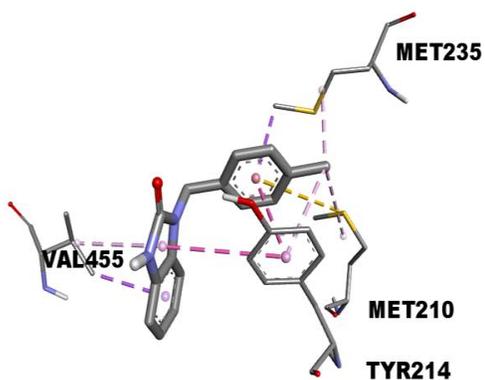
Si bien es cierto, que los derivados de bencilbencimidazolonas evaluados contra las enzimas intestinales mostraron un potencial terapéutico de bajo a moderado, sugiriendo que estos compuestos no generan efectos antihiper glucemiantes; el diseño de este proyecto propone la posible interacción con más de una diana terapéutica, abarcando mecanismos de acción diferentes al antes mencionado; por ejemplo, el efecto hipoglucemiante mediante la activación de enzimas como glucocinasa, estimulando la secreción de insulina.

10.11 Evaluación del efecto activador de derivados de bencilbencimidazolonas sintetizados contra glucocinasa

En la actualidad, una de las dianas terapéuticas sobresalientes para el control de estados hiperglucémicos (uno de los principales factores en el desarrollo de enfermedades metabólicas), es glucocinasa, esta enzima facilita la fosforilación de glucosa para su metabolismo, lo cual se traduce en una mejora en la captación de glucosa en el hígado, además de la estimulación de secreción de insulina, por lo que moléculas que puedan activar esta enzima, pueden ser potenciales compuestos hipoglucemiantes (Khadse y col., 2020).

Los resultados del estudio del efecto activador *in vitro* de los derivados de bencilbencimidazolonas mostraron que los compuestos **2j** y **2q** presentaron los mejores valores de activación enzimática, al realizar un estudio de relación estructura actividad entre ambos compuestos, se observa que presentan interacción con aminoácidos del sitio alostérico de la enzima (Tyr²¹⁴, Met²¹⁰ y Val⁴⁵⁵), en cambio, el compuesto **2q** presenta interacción con aminoácidos diferentes como Leu⁴⁵¹ y Ser⁶⁴ presentando interacciones de hidrógeno, fluoruro e hidrofóbicas con distancias de 2.67, 3.14 y 4.0 Å respectivamente, sugiriendo que esta interacción puede ser una posible explicación a la diferencia en la activación enzimática (**figura 40**).

En la actualidad existen pocos estudios de derivados de bencimidazolonas como potenciales activadores de glucocinasa, sin embargo, algunos investigadores han evaluado compuestos de heterocíclicos contra esta enzima. Por ejemplo, Charaya y colaboradores en 2018, evaluaron derivados de tiazolin benzamidas como potenciales activadores enzimáticos, encontrando como resultado que 4 de los compuestos



Sitio alostérico de GK:
 (Arg63, Ser64, Tyr214,
 Met210, Try215, Leu451,
 Val452 y Val455)

H: Enlace de hidrógeno, F: fluoruro, Hidr: hidrofóbico

Figura 40.- Comparación de relación estructura-actividad de los compuestos 2j y 2q. El análisis comparativo mostró que ambos compuestos se unen a aminoácidos reportados en el sitio alostérico de relevancia biológica para esta enzima. Además, se observa que el compuesto **2q** presenta unión con los residuos Leu451 y Ser64, con distancias de 2.67, 3.14 y 4 Å (Charaya *et al.*, 2018a).

evaluados presentaron una activación de glucocinasa de 1.48 a 1.83 veces más que la actividad enzimática normal (Charaya *et al.*, 2018a).

De la misma forma, Grewal y colaboradores en 2019, realizaron una evaluación de análogos de N-pirinidil-benzamidas contra la enzima glucocinasa, encontrando que 5 compuestos presentaron valores de activación enzimática de 1.9 a 2.07 veces más que la actividad normal (Grewal *et al.*, 2019c).

Al comparar los resultados obtenidos por parte de los derivados de bencilbencilimidazolonas evaluados en nuestro proyecto, con lo reportado por estos grupos de investigación, se observa que los compuestos **2j** y **2q** presentan un mejor potencial activador de glucocinasa que los derivados evaluados por Charaya y colaboradores y por Grewal y colaboradores, siendo estos compuestos candidatos para futuras evaluaciones.

Analizando los resultados obtenidos en el estudio hipoglucemiante de los derivados de bencilbencilimidazolonas, se muestra en la **figura 41**, el posible mecanismo de estos compuestos contra GK; donde, el proceso inicia con el paso del compuesto por la membrana plasmática (debido a los valores de lipofilicidad mostrados en perfil *in silico*); una vez dentro, los derivados de bencilbencilimidazolonas, interaccionan en el sitio alostérico de GK, aumentando la actividad enzimática que se traduce en la estimulación de la secreción de insulina.

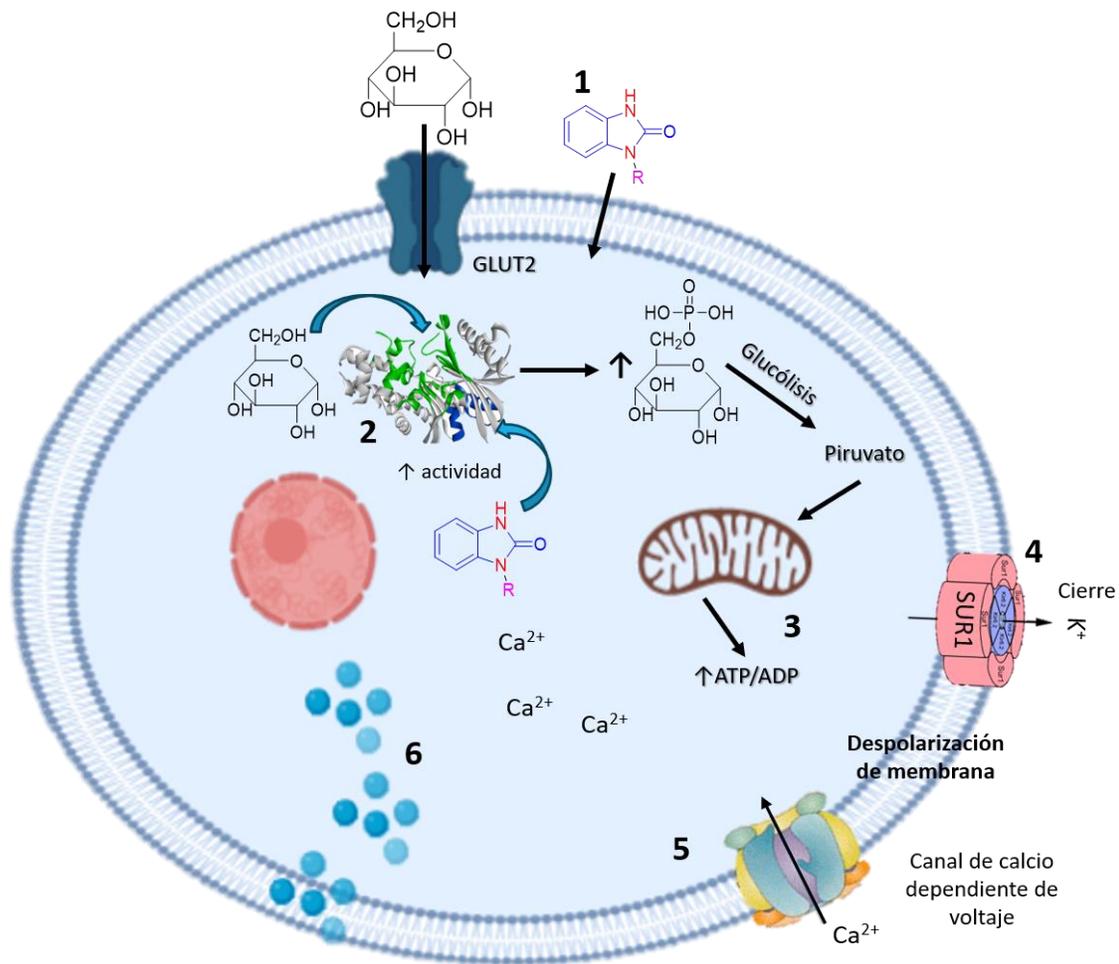


Figura 41.- Propuesta del mecanismo de acción de bencilbencimidazolonas para la activación de GK pancreática. 1. Internalización de los derivados de bencilbencimidazolonas por difusión pasiva. 2. Interacción en el sitio alostérico de GK generando un aumento en la actividad enzimática. 3. Aumento en las concentraciones de GP6, el cual mediante el proceso de glucólisis y respiración celular elevan la concentración de ATP/ADP. 4. Cierre del canal de K^+ , acumulación y la despolarización en la membrana. 5. Activación de los canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje y aumento de las concentraciones de Ca^{2+} intracelular. 6. Generación de la señalización necesaria para la liberación de la insulina.

XI. CONCLUSIONES

11.1.- Conclusión general

Se diseñaron 22 derivados de bencimidazolonas, de los cuales (después de un proceso de evaluación *in silico*) se delimitó la selección de compuestos para sintetizar estos derivados, obteniendo rendimientos moderados. Los compuestos **2j**, **2k**, **2l**, **2p**, **2q** y **2s** mostraron *in vitro* una actividad antihiper glucemiante moderada y una buena actividad hipoglucemiante.

11.2.- Conclusiones específicas

11.2.1.- De los 22 derivados de bencimidazolonas, los compuestos **2j**, **2k**, **2l**, **2p**, **2q** y **2s** presentaron el mejor perfil *in silico* debido a la interacción con aminoácidos de relevancia con al menos 3 de los blancos terapéuticos evaluados y valores de energía de unión similar o mejores que el fármaco de referencia; además del potencial uso en el control de glucemia mostrado en los ensayos bioinformáticos (PASS).

11.2.2.- Los resultados obtenidos por la plataforma admetSAR, mostraron que todos los derivados de bencilbencimidazolonas, tienen probabilidad de presentar problemas de hepatotoxicidad; sin embargo, se tiene que considerar las dosis a utilizarse; así como la determinación de toxicidad *in vivo*.

11.2.3.- Se sintetizaron los compuestos **2j**, **2k**, **2l**, **2p**, **2q** y **2s** con % de rendimiento de producto obtenido moderados que van de 22 a 38%.

11.2.4.- Los 6 derivados de bencilbencimidazolonas presentaron valores de inhibición contra la enzima α -glucosidasa, en un intervalo de 7-36% (comportamiento dosis-dependiente).

11.5.5.- Los 5 derivados de bencilbencimidazolonas evaluados presentaron valores de inhibición contra la enzima α -amilasa, en un intervalo de 2-15%.

11.6.6.- Los compuestos **2j**, **2k**, **2l** y **2q** presentaron un aumento en la actividad de glucocinasa de 1.31 a 3.74 veces que la actividad normal (concentración de 100-200 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) y al comparar con el control positivo (3.26), el compuesto **2q**, presenta una mejor activación de dicha enzima.

XII.PERSPECTIVAS DEL PROYECTO

1. Optimizar la ruta de síntesis de los compuestos bencilbencimidazolonas con potencial terapéutico mediante modificación en las condiciones de reacción, equivalentes usados, temperatura, entre otros.
2. Determinar el perfil de toxicidad aguda *in vivo* de los compuestos con potencial *in vitro* mostrados en este proyecto.
3. Determinar el potencial activador de la enzima glucocinasa *in vivo* en modelo murino para corroborar el potencial mostrado de manera *in vitro*.

XIII. BIBLIOGRAFÍA

- Abbas, M. A., Hameed, S., Farman, M., Kressler, J., & Mahmood, N. (2015). Conjugates of degraded and oxidized hydroxyethyl starch and sulfonyleureas: Synthesis, characterization, and in vivo antidiabetic activity. *Bioconjugate Chemistry*, 26(1), 120–127. <https://doi.org/10.1021/bc500509a>
- Adib, M., Peytam, F., Rahmanian-jazi, M., & Mahernia, S. (2018). treat type 2 diabetes: A simple and efficient synthesis, α -glucosidase inhibition, molecular modeling and kinetic study. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 155, 353–363. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.05.046>
- Ahmad, I., Hameed, S., Duddeck, H., Lenzen, S., Rustenbeck, I., & Ahmad, R. (2002). N-Arylsulfonyl-benzimidazolones as Potential Hypoglycemic Agents. In *Z. Naturforsch* (Vol. 57). www.znaturforsch.com
- Aispuro-Pérez, A., López-Ávalos, J., García-Páez, F., Montes-Avila, J., Picos-Corrales, L. A., Ochoa-Terán, A., Bastidas, P., Montaña, S., Calderón-Zamora, L., Osuna-Martínez, U., & Sarmiento-Sánchez, J. I. (2020). Synthesis and molecular docking studies of imines as α -glucosidase and α -amylase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 94. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103491>
- Aispuro-pérez, A., López-ávalos, J., García-páez, F., Picos-corrales, L. A., Ochoa-terán, A., Montaña, S., Calderón-zamora, L., Osuna-martínez, U., & Sarmiento-sánchez, J. I. (2019). Synthesis and molecular docking studies of imines as α -glucosidase and α -amylase inhibitors. *Bioorganic Chemistry*, 103491. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103491>
- Aittoniemi, J., Fotinou, C., Craig, T. J., De Wet, H., Proks, P., & Ashcroft, F. M. (2009). SUR1: A unique ATP-binding cassette protein that functions as an ion channel regulator. In *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* (Vol. 364, Issue 1514, pp. 257–267). Royal Society. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0142>

- Al-Karmalawy, A. A., Dahab, M. A., Metwaly, A. M., Elhady, S. S., Elkaeed, E. B., Eissa, I. H., & Darwish, K. M. (2021). Molecular Docking and Dynamics Simulation Revealed the Potential Inhibitory Activity of ACEIs Against SARS-CoV-2 Targeting the hACE2 Receptor. *Frontiers in Chemistry*, 9, 227. <https://doi.org/10.3389/FCHEM.2021.661230/BIBTEX>
- Basnet, S., Ghimire, M. P., Lamichhane, T. R., Adhikari, R., & Adhikari, A. (2022). Identification of potential human pancreatic α -amylase inhibitors from natural products by molecular docking, MM/GBSA calculations, MD simulations, and ADMET analysis. *BioRxiv*, 2022.09.26.509544. <https://doi.org/10.1101/2022.09.26.509544>
- Bell, E. W., & Zhang, Y. (2019). DockRMSD: an open-source tool for atom mapping and RMSD calculation of symmetric molecules through graph isomorphism. *Journal of Cheminformatics*, 11(1). <https://doi.org/10.1186/S13321-019-0362-7>
- Bhutani, R., Pathak, D. P., Kapoor, G., Husain, A., Kant, R., & Iqbal, M. A. (2018). Synthesis, molecular modelling studies and ADME prediction of benzothiazole clubbed oxadiazole-Mannich bases, and evaluation of their anti-diabetic activity through in vivo model. *Bioorganic Chemistry*, 77, 6–15. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2017.12.037>
- Charaya, N., Pandita, D., Grewal, A. S., & Lather, V. (2018a). Design, synthesis and biological evaluation of novel thiazol-2-yl benzamide derivatives as glucokinase activators. *Computational Biology and Chemistry*, 73, 221–229. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2018.02.018>
- Charaya, N., Pandita, D., Grewal, A. S., & Lather, V. (2018b). Design, synthesis and biological evaluation of novel thiazol-2-yl benzamide derivatives as glucokinase activators. *Computational Biology and Chemistry*, 73, 221–229. <https://doi.org/10.1016/j.compbiolchem.2018.02.018>

- Codario, R. A. (2011). Type 2 Diabetes, Pre-Diabetes, and the Metabolic Syndrome. In *Type 2 Diabetes, Pre-Diabetes, and the Metabolic Syndrome*. Humana Press. <https://doi.org/10.1007/978-1-60327-441-8>
- Colwell, J. A. (2011). Type 2 Diabetes, Pre-Diabetes, and the Metabolic Syndrome. *Jama*, 306(2). <https://doi.org/10.1001/jama.2011.970>
- Custódio, L., Patarra, J., Alberício, F., Neng, N. da R., Nogueira, J. M. F., & Romano, A. (2015). Phenolic composition, antioxidant potential and in vitro inhibitory activity of leaves and acorns of *Quercus suber* on key enzymes relevant for hyperglycemia and Alzheimer's disease. *Industrial Crops and Products*, 64, 45–51. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.11.001>
- De Lucas, A. I., Vega, J. A., Matesanz, E., Linares, M. L., García Molina, A., Tresadern, G., Lavreysen, H., Trabanco, A. A., & Cid, J. M. (2020). Spiro-oxindole Piperidines and 3-(Azetidin-3-yl)-1 H-benzimidazol-2-ones as mGlu2 Receptor PAMs. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 11(3), 303–308. <https://doi.org/10.1021/acsmedchemlett.9b00350>
- Deng, D., & Yan, N. (2016). GLUT, SGLT, and SWEET: Structural and mechanistic investigations of the glucose transporters. In *Protein Science* (Vol. 25, Issue 3, pp. 546–558). Blackwell Publishing Ltd. <https://doi.org/10.1002/pro.2858>
- Dhameja, M., & Gupta, P. (2019). Synthetic heterocyclic candidates as promising α -glucosidase inhibitors: An overview. In *European Journal of Medicinal Chemistry* (Vol. 176, pp. 343–377). Elsevier Masson s.r.l. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.04.025>
- Ferreira, L. G., Dos Santos, R. N., Oliva, G., & Andricopulo, A. D. (2015). Molecular docking and structure-based drug design strategies. In *Molecules* (Vol. 20, Issue 7). <https://doi.org/10.3390/molecules200713384>
- Fukaya, T., Kodo, T., Ishiyama, T., Nishikawa, H., Baba, S., & Masumoto, S. (2013). Design, synthesis and structure-activity relationship of novel tricyclic benzimidazolone derivatives as potent 18 kDa translocator protein (TSPO)

- ligands. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 21(5), 1257–1267.
<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2012.12.024>
- Galant, A. L., Kaufman, R. C., & Wilson, J. D. (2015). Glucose: Detection and analysis. *Food Chemistry*, 188(April), 149–160.
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.071>
- Gomez-Peralta, F., Escalada San Martín, F. J., Menéndez Torre, E., Mata Cases, M., Ferrer García, J. C., Ezkurra Loiola, P., Ávila Lachica, L., Fornos Pérez, J. A., Artola Menéndez, S., Álvarez-Guisasola, F., Rica Echevarría, I., & Girbés Borrás, J. (2018a). Spanish Diabetes Society (SED) recommendations for the pharmacologic treatment of hyperglycemia in type 2 diabetes: 2018 Update. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición*, 65(10), 611–624.
<https://doi.org/10.1016/j.endinu.2018.08.004>
- Gomez-Peralta, F., Escalada San Martín, F. J., Menéndez Torre, E., Mata Cases, M., Ferrer García, J. C., Ezkurra Loiola, P., Ávila Lachica, L., Fornos Pérez, J. A., Artola Menéndez, S., Álvarez-Guisasola, F., Rica Echevarría, I., & Girbés Borrás, J. (2018b). Spanish Diabetes Society (SED) recommendations for the pharmacologic treatment of hyperglycemia in type 2 diabetes: 2018 Update. *Endocrinología, Diabetes y Nutrición*, 65(10), 611–624.
<https://doi.org/10.1016/j.endinu.2018.08.004>
- Grewal, A. S., Arora, S., Sharma, N., & Singh, S. (2020). *IN SILICO DOCKING STUDIES OF COMPOUNDS FROM PERSIAN SHALLOT AS ALLOSTERIC GLUCOKINASE ACTIVATORS* (Vol. 20).
- Grewal, A. S., Kharb, R., Prasad, D. N., Dua, J. S., & Lather, V. (2019a). N-pyridin-2-yl benzamide analogues as allosteric activators of glucokinase: Design, synthesis, in vitro, in silico and in vivo evaluation. *Chemical Biology and Drug Design*, 93(3), 364–372. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13423>
- Grewal, A. S., Kharb, R., Prasad, D. N., Dua, J. S., & Lather, V. (2019b). N-pyridin-2-yl benzamide analogues as allosteric activators of glucokinase: Design, synthesis, in

- vitro, in silico and in vivo evaluation. *Chemical Biology and Drug Design*, 93(3), 364–372. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13423>
- Grewal, A. S., Kharb, R., Prasad, D. N., Dua, J. S., & Lather, V. (2019c). N-pyridin-2-yl benzamide analogues as allosteric activators of glucokinase: Design, synthesis, in vitro, in silico and in vivo evaluation. *Chemical Biology and Drug Design*, 93(3), 364–372. <https://doi.org/10.1111/cbdd.13423>
- Hussain, F., Khan, Z., Saeed, M., Ahmad, S., Ahmad, A., Rashid, U., Ullah, F., Ayaz, M., & Sadiq, A. (2019). Bioorganic Chemistry dione derivatives. *Bioorganic Chemistry*, 91(July), 103128. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.103128>
- Intagliata, S., Alsharif, W. F., Mesangeau, C., Fazio, N., Seminerio, M., Xu, Y. T., Matsumoto, R. R., & McCurdy, C. R. (2019). Benzimidazolone-based selective σ_2 receptor ligands: Synthesis and pharmacological evaluation. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 165, 250–257. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2019.01.019>
- Janeček, Š., Svensson, B. & MacGregor, E.A. α -Amylase: an enzyme specificity found in various families of glycoside hydrolases. *Cell. Mol. Life Sci.* 71, 1149–1170 (2014). <https://doi.org/10.1007/s00018-013-1388-z>
- Jarontomeechai, T., Kwon, Y.H., Liu, Y. et al. A universal glycoenzyme biosynthesis pipeline that enables efficient cell-free remodeling of glycans. *Nat Commun* 13, 6325 (2022). <https://doi.org/10.1038/s41467-022-34029-7>
- Javaid, K., Saad, S. M., Rasheed, S., Moin, S. T., Syed, N., Fatima, I., Salar, U., Khan, K. M., Perveen, S., & Choudhary, M. I. (2015). 2-Arylquinazolin-4(3H)-ones: A new class of α -glucosidase inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 23(23), 7417–7421. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2015.10.038>
- Kakavanos, R., Hopwood, J. J., Lang, D., Meikle, P. J., & Brooks, D. A. (2006). Stabilising normal and mis-sense variant α -glucosidase. *FEBS Letters*, 580(18), 4365–4370. <https://doi.org/10.1016/j.febslet.2006.06.096>

- Khadse, S. C., Amnerkar, N. D., Dave, M. U., Lokwani, D. K., Patil, R. R., Ugale, V. G., Charbe, N. B., & Chatpalliwar, V. A. (2019). Quinazolin-4-one derivatives lacking toxicity-producing attributes as glucokinase activators: design, synthesis, molecular docking, and in-silico ADMET prediction. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 5(1). <https://doi.org/10.1186/s43094-019-0012-y>
- Khadse, S. C., Amnerkar, N. D., Dighole, K. S., Dhote, A. M., Patil, V. R., Lokwani, D. K., Ugale, V. G., Charbe, N. B., & Chatpalliwar, V. A. (2020). Hetero-substituted sulfonamido-benzamide hybrids as glucokinase activators: Design, synthesis, molecular docking and in-silico ADME evaluation. *Journal of Molecular Structure*, 1222. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128916>
- Khanapurmath, N., Kulkarni, M. V., Joshi, S. D., & Anil Kumar, G. N. (2019). A click chemistry approach for the synthesis of cyclic ureido tethered coumarinyl and 1-aza coumarinyl 1,2,3-triazoles as inhibitors of Mycobacterium tuberculosis H37Rv and their in silico studies. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 27(20), 115054. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.115054>
- Kharade, S. V., Sanchez-Andres, J. V., Fulton, M. G., Shelton, E. L., Blobaum, A. L., Engers, D. W., Hofmann, C. S., Dadi, P. K., Lantier, L., Jacobson, D. A., Lindsley, C. W., & Denton, J. S. (2019). Structure-activity relationships, pharmacokinetics, and pharmacodynamics_ of the Kir6.2/Sur1-specific channel opener VU0071063. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 370(3), 350–359. <https://doi.org/10.1124/jpet.119.257204>
- Kwon, Y. I., Apostolidis, E., & Shetty, K. (2008). In vitro studies of eggplant (*Solanum melongena*) phenolics as inhibitors of key enzymes relevant for type 2 diabetes and hypertension. *Bioresource Technology*, 99(8), 2981–2988. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.06.035>
- Liang, T., Zhao, H., Gong, L., Jiang, H., & Zhang, M. (2019a). Synthesis of Multisubstituted Benzimidazolones via Copper-Catalyzed Oxidative Tandem C–H Aminations and Alkyl Deconstructive Carbofunctionalization. *IScience*, 15, 127–135. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.04.019>

- Liang, T., Zhao, H., Gong, L., Jiang, H., & Zhang, M. (2019b). Synthesis of Multisubstituted Benzimidazolones via Copper-Catalyzed Oxidative Tandem C–H Aminations and Alkyl Deconstructive Carbofunctionalization. *IScience*, *15*, 127–135. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.04.019>
- Liang, T., Zhao, H., Gong, L., Jiang, H., & Zhang, M. (2019c). Synthesis of Multisubstituted Benzimidazolones via Copper-Catalyzed Oxidative Tandem C–H Aminations and Alkyl Deconstructive Carbofunctionalization. *IScience*, *15*, 127–135. <https://doi.org/10.1016/j.isci.2019.04.019>
- Liu, Z., & Ma, S. (2017a). Recent Advances in Synthetic α -Glucosidase Inhibitors. *ChemMedChem*, *12*(11), 819–829. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201700216>
- Liu, Z., & Ma, S. (2017b). Recent Advances in Synthetic α -Glucosidase Inhibitors. In *ChemMedChem* (Vol. 12, Issue 11, pp. 819–829). John Wiley and Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/cmdc.201700216>
- 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>
- Maresch, C. C., Stute, D. C., Alves, M. G., Oliveira, P. F., de Kretser, D. M., & Linn, T. (2018a). Diabetes-induced hyperglycemia impairs male reproductive function: A systematic review. *Human Reproduction Update*, *24*(1), 86–105. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmx033>
- Maresch, C. C., Stute, D. C., Alves, M. G., Oliveira, P. F., de Kretser, D. M., & Linn, T. (2018b). Diabetes-induced hyperglycemia impairs male reproductive function: A systematic review. *Human Reproduction Update*, *24*(1), 86–105. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmx033>
- Meng, X.-Y., Zhang, H.-X., Mezei, M., & Cui, M. (2011). Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. In *Current Computer-Aided Drug Design* (Vol. 7).

- Meng, X.-Y., Zhang, H.-X., Mezei, M., & Cui, M. (2012). Molecular Docking: A Powerful Approach for Structure-Based Drug Discovery. *Current Computer Aided-Drug Design*, 7(2), 146–157. <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>
- Menteşe, E., Baltaş, N., & Emirik, M. (2020). Synthesis, α -glucosidase inhibition and in silico studies of some 4-(5-fluoro-2-substituted-1H-benzimidazol-6-yl)morpholine derivatives. *Bioorganic Chemistry*, 101, 104002. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2020.104002>
- Menteşe, E., Güven, O., Çalışkan, N., & Baltaş, N. (2021). Synthesis and biological evaluation of benzimidazolone bridged triheterocyclic compounds. *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 58(6), 1259–1267. <https://doi.org/10.1002/jhet.4252>
- Meza, D. L. M., & Valdés, R. M. (2015). Inhibición in vitro de las enzimas alfa-amilasa y lipasa pancreática por fracciones fenólicas de extractos etanólicos de hojas de Yacón (*Smallanthus sonchifolius* Poepp. & Endl). *Avances En Química*, 10(1), 33–40.
- MOON, A., KHAN, D., GAJBHIYE, P., & JARIYA, M. (2017a). Insilico prediction of toxicity of ligands utilizing admetsar. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, 8(3). <https://doi.org/10.22376/ijpbs.2017.8.3.b674-677>
- Moreland, R. J., Higgins, S., Zhou, A. Q., VanStraten, P., Cauthron, R. D., Brem, M., McLarty, B. J., Kudo, M., & Canfield, W. M. (2012a). Species-specific differences in the processing of acid α -glucosidase are due to the amino acid identity at position 201. *Gene*, 491(1), 25–30. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2011.09.011>
- Moreland, R. J., Higgins, S., Zhou, A. Q., VanStraten, P., Cauthron, R. D., Brem, M., McLarty, B. J., Kudo, M., & Canfield, W. M. (2012b). Species-specific differences in the processing of acid α -glucosidase are due to the amino acid identity at position 201. *Gene*, 491(1), 25–30. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2011.09.011>
- Moreno-Díaz, H., Villalobos-Molina, R., Ortiz-Andrade, R., Díaz-Coutiño, D., Medina-Franco, J. L., Webster, S. P., Binnie, M., Estrada-Soto, S., Ibarra-Barajas, M., León-Rivera, I., & Navarrete-Vázquez, G. (2008). Antidiabetic activity of N-(6-

substituted-1,3-benzothiazol-2-yl)benzenesulfonamides. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 18(9), 2871–2877. <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2008.03.086>

Morris, G. M., Ruth, H., Lindstrom, W., Sanner, M. F., Belew, R. K., Goodsell, D. S., & Olson, A. J. (2009). Software news and updates AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility. *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), 2785–2791. <https://doi.org/10.1002/jcc.21256>

Mughal, E. U., Javid, A., Sadiq, A., Murtaza, S., Zafar, M. N., Khan, B. A., Sumra, S. H., Tahir, M. N., Kanwal, & Khan, K. M. (2018). Synthesis, structure-activity relationship and molecular docking studies of 3-O-flavonol glycosides as cholinesterase inhibitors. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 26(12), 3696–3706. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2018.05.050>

Nale, D. B., & Bhanage, B. M. (2015). Copper-catalyzed efficient synthesis of a 2-benzimidazolone scaffold from 2-nitroaniline and dimethyl carbonate via a hydrosilylation reaction. *Green Chemistry*, 17(4), 2480–2486. <https://doi.org/10.1039/c4gc02408g>

Nyathi, B., Bvunzawabaya, J. T., Mudawarima, C. V. P., Manzombe, E., Tsotsoro, K., Selemani, M. A., Munyuki, G., & Rwere, F. (2023). Inhibitory and in silico molecular docking of *Xeroderris stuhlmannii* (Taub.) Mendonca & E.P. Sousa phytochemical compounds on human α -glucosidases. *BioRxiv*, 2022.09.16.508336. <https://doi.org/10.1101/2022.09.16.508336>

Osman, W., Ismail, E. M. O. A., Shantier, S. W., Mohammed, M. S., Mothana, R. A., Muddathir, A., & Khalid, H. S. (2021). In silico assessment of potential leads identified from *Bauhinia rufescens* Lam. as α -glucosidase and α -amylase inhibitors. *Journal of Receptors and Signal Transduction*, 41(2), 159–169. <https://doi.org/10.1080/10799893.2020.1800734>

Özil, M., Emirik, M., Beldüz, A., & Ülker, S. (2016a). Molecular docking studies and synthesis of novel bisbenzimidazole derivatives as inhibitors of α -glucosidase.

Bioorganic and Medicinal Chemistry, 24(21), 5103–5114.
<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.08.024>

Özil, M., Emirik, M., Beldüz, A., & Ülker, S. (2016b). Molecular docking studies and synthesis of novel bisbenzimidazole derivatives as inhibitors of α -glucosidase. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 24(21), 5103–5114.
<https://doi.org/10.1016/j.bmc.2016.08.024>

Palin, R., Clark, J. K., Evans, L., Houghton, A. K., Jones, P. S., Prosser, A., Wishart, G., & Yoshiizumi, K. (2008). Structure-activity relationships and CoMFA of N-3 substituted phenoxypropyl piperidine benzimidazol-2-one analogues as NOP receptor agonists with analgesic properties. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 16(6), 2829–2851. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2008.01.005>

Parasuraman, S., Balamurugan, S., Christopher, P. V., Petchi, R. R., Yeng, W. Y., Sujithra, J., & Vijaya, C. (2015). Evaluation of antidiabetic and antihyperlipidemic effects of hydroalcoholic extract of leaves of *Ocimum tenuiflorum* (Lamiaceae) and prediction of biological activity of its phytoconstituents. *Pharmacognosy Research*, 7(2), 156–165. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.151457>

Peng, H. T., Savage, E., Vartanian, O., Smith, S., Rhind, S. G., Tenn, C., & Bjamason, S. (2016). Performance Evaluation of a Salivary Amylase Biosensor for Stress Assessment in Military Field Research. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 30(3), 223–230. <https://doi.org/10.1002/jcla.21840>

Petersen, M. C., & Shulman, G. I. (2018). Mechanisms of Insulin Action and Insulin Resistance. *Physiol Rev*, 98, 2133–2223. <https://doi.org/10.1152/physrev>

Pettersen, E. F., Goddard, T. D., Huang, C. C., Couch, G. S., Greenblatt, D. M., Meng, E. C., & Ferrin, T. E. (2004). UCSF Chimera - A visualization system for exploratory research and analysis. *Journal of Computational Chemistry*, 25(13), 1605–1612.
<https://doi.org/10.1002/jcc.20084>

- Phatak, S. S., Stephan, C. C., & Cavasotto, C. N. (2009). Screenings in Drug Discovery. *Expert Opinion on Drug Discovery*, 4(9), 947–959. <https://doi.org/10.1517/17460440903190961>
- 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>
- Ripphausen, P., Nisius, B., & Bajorath, J. (2011). State-of-the-art in ligand-based virtual screening. *Drug Discovery Today*, 16(9–10), 372–376. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2011.02.011>
- Röder, P. V., Wu, B., Liu, Y., & Han, W. (2016). Pancreatic regulation of glucose homeostasis. In *Experimental & molecular medicine* (Vol. 48, p. e219). <https://doi.org/10.1038/emm.2016.6>
- Roig-Zamboni, V., Cobucci-Ponzano, B., Iacono, R., Ferrara, M. C., Germany, S., Bourne, Y., Parenti, G., Moracci, M., & Sulzenbacher, G. (2017). Structure of human lysosomal acid α -glucosidase-A guide for the treatment of Pompe disease. *Nature Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01263-3>
- Salmaso, V., & Moro, S. (2018). Bridging molecular docking to molecular dynamics in exploring ligand-protein recognition process: An overview. In *Frontiers in Pharmacology* (Vol. 9, Issue AUG). Frontiers Media S.A. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00923>

- Sevilla-Asencio, O. A., Dublán-García, O., Gómez-Oliván, L. M., & López-Martínez, L. X. (2013). Actividad inhibitoria sobre α -glucosidasa y α -amilasa de extractos acuosos de algunas especias utilizados en la cocina mexicana. *CienciaUAT*, 8(1), 42. <https://doi.org/10.29059/cienciauat.v8i1.6>
- Shivanika, C., Deepak Kumar, S., Ragunathan, V., Tiwari, P., Sumitha, A., & Brindha Devi, P. (2020). Molecular docking, validation, dynamics simulations, and pharmacokinetic prediction of natural compounds against the SARS-CoV-2 main-protease. *Journal of Biomolecular Structure & Dynamics*, 40(2), 1. <https://doi.org/10.1080/07391102.2020.1815584>
- Shukla, K., Singh, P., Singh Mahatma, R., Chitrakoot, G., Vishwavidyalaya, G., & Sharma, R. (2015). Amylases: an overview with special reference to alpha amylase Biodeterioration on Khajuraho monuments View project Molecular characterization of Geminivirus/es and their management View project. In *Article in Journal of Global Biosciences*. www.mutagens.co.in
- Shweta, M., Rashmi, D., & Mishra, S. (2019). *In-vitro ADME studies of TUG-891, a GPR-120 inhibitor using Swiss ADME predictor*. <https://doi.org/10.22270/jddt.v9i2-s.2710>
- Singh, G., Singh, A., Singh, V., Verma, R. K., Tomar, J., & Mall, R. (2020). Synthesis, molecular docking, α -glucosidase inhibition, and antioxidant activity studies of novel benzimidazole derivatives. *Medicinal Chemistry Research*, 29(10), 1846–1866. <https://doi.org/10.1007/s00044-020-02605-5>
- Singh, K., Tripathi, P. K., Singh, V. K., Patel, A. K., Srivastava, O. N., Singh, S. K., & Kayastha, A. M. (2020a). In Silico Analysis of New Potent Anti-hyperglycemic Molecule for Diabetes Type 2 Management. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 26(2), 1031–1042. <https://doi.org/10.1007/s10989-019-09905-4>
- Singh, K., Tripathi, P. K., Singh, V. K., Patel, A. K., Srivastava, O. N., Singh, S. K., & Kayastha, A. M. (2020b). In Silico Analysis of New Potent Anti-hyperglycemic

Molecule for Diabetes Type 2 Management. *International Journal of Peptide Research and Therapeutics*, 26(2), 1031–1042. <https://doi.org/10.1007/s10989-019-09905-4>

Sreelatha, K., Sanobar, S. A., Sruthi, K., & Sumakanth, M. (n.d.). *Structure Based Virtual Screening, Design, Synthesis and Biological Evaluation of Imidazoles as Anti-Diabetic Agents*.

Taha, M., Ismail, N. H., Imran, S., Mohamad, M. H., Wadood, A., Rahim, F., Saad, S. M., Rehman, A. U., & Khan, K. M. (2016a). Synthesis, α -glucosidase inhibitory, cytotoxicity and docking studies of 2-aryl-7-methylbenzimidazoles. *Bioorganic Chemistry*, 65, 100–109. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2016.02.004>

Taha, M., Ismail, N. H., Imran, S., Mohamad, M. H., Wadood, A., Rahim, F., Saad, S. M., Rehman, A. U., & Khan, K. M. (2016b). Synthesis, α -glucosidase inhibitory, cytotoxicity and docking studies of 2-aryl-7-methylbenzimidazoles. *Bioorganic Chemistry*, 65, 100–109. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2016.02.004>

Torres-Piedra, M., Ortiz-Andrade, R., Villalobos-Molina, R., Singh, N., Medina-Franco, J. L., Webster, S. P., Binnie, M., Navarrete-Vázquez, G., & Estrada-Soto, S. (2010). A comparative study of flavonoid analogues on streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats: Quercetin as a potential antidiabetic agent acting via 11β -Hydroxysteroid dehydrogenase type 1 inhibition. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 45(6), 2606–2612. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2010.02.049>

Tripathi, P., Ghosh, S., & Nath Talapatra, S. (2019). Bioavailability prediction of phytochemicals present in *Calotropis procera* (Aiton) R. Br. by using Swiss-ADME tool. *World Scientific News*, 131, 147–163. www.worldscientificnews.com

Wati, W., Widodo, G. P., & Herowati, R. (2020). Prediction of Pharmacokinetics Parameter and Molecular Docking Study of Antidiabetic Compounds from *Syzygium polyanthum* and *Syzygium cumini*. *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 23(6), 189–195. <https://doi.org/10.14710/JKSA.23.6.189-195>

- Wei, S., Li, L., Shu, Y., Zhao, K., & Ji, Z. (2017a). Synthesis, antifungal and antitumor activity of two new types of imidazolin-2-ones. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 25(24), 6501–6510. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.10.033>
- Wei, S., Li, L., Shu, Y., Zhao, K., & Ji, Z. (2017b). Synthesis, antifungal and antitumor activity of two new types of imidazolin-2-ones. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 25(24), 6501–6510. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2017.10.033>
- Xu, F., Long, H., Song, J., & Xu, H. C. (2019a). De Novo Synthesis of Highly Functionalized Benzimidazolones and Benzoxazolones through an Electrochemical Dehydrogenative Cyclization Cascade. *Angewandte Chemie - International Edition*, 58(27), 9017–9021. <https://doi.org/10.1002/anie.201904931>
- Xu, F., Long, H., Song, J., & Xu, H. C. (2019b). De Novo Synthesis of Highly Functionalized Benzimidazolones and Benzoxazolones through an Electrochemical Dehydrogenative Cyclization Cascade. *Angewandte Chemie - International Edition*, 58(27), 9017–9021. <https://doi.org/10.1002/anie.201904931>
- Yaribeygi, H., Farrokhi, F. R., Butler, A. E., & Sahebkar, A. (2019). Insulin resistance: Review of the underlying molecular mechanisms. In *Journal of Cellular Physiology* (Vol. 234, Issue 6, pp. 8152–8161). Wiley-Liss Inc. <https://doi.org/10.1002/jcp.27603>
- Yeye, E. O., Kanwal, Mohammed Khan, K., Chigurupati, S., Wadood, A., Ur Rehman, A., Perveen, S., Kannan Maharajan, M., Shamim, S., Hameed, S., Aboaba, S. A., & Taha, M. (2020). Syntheses, in vitro α -amylase and α -glucosidase dual inhibitory activities of 4-amino-1,2,4-triazole derivatives their molecular docking and kinetic studies. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 28(11). <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2020.115467>
- Yoshimizu, M., Tajima, Y., Matsuzawa, F., Aikawa, S. ichi, Iwamoto, K., Kobayashi, T., Edmunds, T., Fujishima, K., Tsuji, D., Itoh, K., Ikekita, M., Kawashima, I., Sugawara, K., Ohyanagi, N., Suzuki, T., Togawa, T., Ohno, K., & Sakuraba, H. (2008). Binding parameters and thermodynamics of the interaction of imino sugars

with a recombinant human acid α -glucosidase (alglucosidase alfa): Insight into the complex formation mechanism. *Clinica Chimica Acta*, 391(1–2), 68–73. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2008.02.014>

Zadhoush, F., Sadeghi, M., & Pourfarzam, M. (2015). Biochemical changes in blood of type 2 diabetes with and without metabolic syndrome and their association with metabolic syndrome components. *Journal of Research in Medical Sciences*, 20(8), 763–770. <https://doi.org/10.4103/1735-1995.168383>

Zeng, Y. F., Lü, Z. R., Yan, L., Oh, S., Yang, J. M., Lee, J., & Ye, Z. M. (2012a). Towards alpha-glucosidase folding induced by trifluoroethanol: Kinetics and computational prediction. *Process Biochemistry*, 47(12), 2284–2290. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.09.005>

Zeng, Y. F., Lü, Z. R., Yan, L., Oh, S., Yang, J. M., Lee, J., & Ye, Z. M. (2012b). Towards alpha-glucosidase folding induced by trifluoroethanol: Kinetics and computational prediction. *Process Biochemistry*, 47(12), 2284–2290. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.09.005>

XIV. ANEXOS

11.1. Productos académicos

11.1.1. - Artículo científico derivado del proyecto de investigación

RSC Advances



PAPER



Cite this: *RSC Adv.*, 2023, 13, 21153

Design, synthesis, *in silico*, and *in vitro* evaluation of benzylbenzimidazolone derivatives as potential drugs on α -glucosidase and glucokinase as pharmacological targets†

Cress Lumadhar Santos-Ballardo, ^a Julio Montes-Ávila, ^{a*} José Guadalupe Rendon-Maldonado, ^a Rosalio Ramos-Payan, ^a Sarita Montaña, ^a Juan I. Sarmiento-Sánchez, ^b Selene de Jesús Acosta-Cota, ^c Adrián Ochoa-Terán, ^d Pedro de Jesús Bastidas-Bastidas ^e and Ulises Osuna-Martínez ^{b*}

Benzimidazolones have shown biological activities, including antihyperglycemic and hypoglycemic, by inhibiting or activating of α -glu and GK. The aim of this study is the rational design of compounds using *in silico* assays to delimitate the selection of structures to synthesize and the *in vitro* evaluation of benzimidazolone derivatives in blood glucose control. A docking of 23 benzimidazolone derivatives was performed; selecting the compounds with better *in silico* profiles to synthesize by microwave-irradiation/conventional heat and evaluate in enzymatic *in vitro* evaluation. Compounds **2k**, **2m**, **2r**, and **2s** presented the best *in silico* profiles, showing good affinity energy (-10.9 to -8.6 kcal mol⁻¹) and binding with catalytic-amino acids. They were synthesized at 70 °C and 24 h using DMF as the solvent and potassium carbonate (yield: 22–38%). The results with α -glu showed moderate inhibition of **2k** (14 ± 1.23 – 29 ± 0.45), **2m** (12 ± 2.21 – 36 ± 0.30), **2r** (7 ± 2.21 – 13 ± 1.34), and **2s** (11 ± 0.74 – 35 ± 2.95) at evaluated concentrations (0.1 to 100 μ g mL⁻¹). The GK activation assay showed an enzymatic activity increase; compound **2k** increased 1.31 and 2.83 more than normal activity, **2m** (2.13-fold), **2s** (2.86 and 3.74-fold) at 100 and 200 μ g mL⁻¹ respectively. The present study showed that the **2s** derivative presents moderate potential as an α -glu inhibitor and a good activator potential of GK, suggesting that this compound is a good candidate for blood glucose control through antihyperglycemic and hypoglycemic mechanisms.

Received 2nd May 2023
Accepted 29th June 2023

DOI: 10.1039/d3ra02916f

rsc.li/rsc-advances

11.1.2.- Titulación de estudiante de licenciatura con un proyecto derivado del presente trabajo de investigación



Facultad de Ciencias Químico-Biológicas Culiacán, Sinaloa, Méx.
DIRECCIÓN

EXAMEN PRESENTADO POR
JOSÉ MIGUEL QUINTERO SOLANO

PARA OBTENER EL GRADO DE LICENCIADO EN BIOTECNOLOGÍA GENÓMICA

No. DE CUENTA
1554185-1

QUSM000308HSLNLGA6



Acta de Examen

2023/035

En cumplimiento del Reglamento Interno de Titulación de la Facultad de Ciencias Químico Biológicas de la Universidad Autónoma de Sinaloa, siendo las **12:00 horas del día 09 del mes de junio del año 2023** se reunieron en el Auditorio QFB Ernesto Camacho Sánchez en la ciudad de Culiacán Rosales, Sinaloa, la C. Dra. Karen Virginia Pineda Hidalgo, Jefa de la Carrera en Biotecnología Genómica así como los ciudadanos Dr. José Guadalupe Rendon Maldonado, Dr. Jesús Ricardo Parra Unda y Dra. Loranda Calderón Zamora nombrados para integrar el Jurado Calificador del Examen Profesional del C. **José Miguel Quintero Solano** quien presentó un trabajo escrito titulado **Evaluación in silico mediante acoplamiento molecular y análisis predictivo farmacocinético/farmacodinámico de derivados de bencimidazolonas como potenciales agentes antihiperoglucemiantes** ejerciendo como Directores de Tesis Dr. Lorenzo Ulises Osuna Martínez y MC. Cress Lumadhar Santos Ballardo.

Se constituyó el jurado fungiendo como Presidente Dr. José Guadalupe Rendon Maldonado, como Secretario Dr. Jesús Ricardo Parra Unda y como Vocal Dra. Loranda Calderón Zamora.

Declarado constituido legalmente el jurado, se procedió a la presentación, interrogación, y réplica del sustentante, y al término de ello, el jurado emite el resultado de: **Aprobado con Mención Honorífica**

Levantándose para constancia la presente acta que firma el Presidente, el Secretario, el Vocal del Jurado, el Sustentante y la Jefa de la Carrera en Biotecnología Genómica que DA FÉ.


PRESIDENTE


SECRETARIO


VOCAL


JEFA DE CARRERA


SUSTENTANTE

11.1.2.– Participación en congresos



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

**EL TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
A TRAVÉS DEL INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TIJUANA**

OTORGA EL PRESENTE

RECONOCIMIENTO

A:

**Cress Lumadhar Santos Ballardo, Lorenzo
Picos Corrales, José Guadalupe Rendón
Maldonado, Juan Ignacio Sarmiento
Sánchez, Julio Montes Ávila, Lorenzo Ulises
Osuna Martínez.**

Por su valiosa participación al impartir la Conferencia
"Diseño, síntesis y evaluación in silico, in vitro e in vivo de derivados de
benzimidazolonas como potenciales compuestos en el uso del control de glucosa
en sangre" dentro del XII Simposio Internacional: Investigación Química en la
Frontera, organizado por el Centro de Graduados e Investigación en Química,
llevado a cabo del 17 de noviembre al 19 de noviembre del 2021.

Tijuana, Baja California, a 18 de noviembre de 2021.

ING. JOSÉ GUILLERMO CÁRDENAS LÓPEZ
DIRECTOR



VIII Simposio

Tendencias actuales en la
búsqueda y desarrollo de fármacos

POSGRADOS
EN CIENCIAS
QUÍMICAS
BIOLÓGICAS



Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química

Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química

Colegio de Química Farmacéutica

Otorgan la presente Constancia a:

cDr. Cress Lumadhar Santos Ballardo

Por presentar el trabajo titulado "**Diseño, síntesis y evaluación *in silico, in vitro* e *in vivo* de derivados de bencimidazolonas como potenciales compuestos en el uso del control de glucemia**" en el marco del VIII Simposio "Tendencias actuales en la búsqueda y desarrollo de fármacos"

Realizado los días 22, 23 y 24 de junio de 2022

"Por Mi Raza Hablará El Espíritu"

Ciudad Universitaria, CdMx, a 15 de julio de 2022.

Dr. Francisco Hernández Luis
Jefe Depto. de Farmacia

Dr. Alfonso S. Lira Rocha
Comité Organizador

Dr. Antonio Romo Mancillas
Comité Organizador



I Congreso Internacional de Investigación Interdisciplinaria en Ciencias Biológicas y de la Salud

CIBYS

La Universidad de Sonora a través de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, el Departamento de Ciencias Químico-Biológicas y el Posgrado en Ciencias de la Salud

otorga la presente

CONSTANCIA

a:

Santos C.L., Montes J., Rendon J.G., Ramos R., Montaña M.S., Sarmiento J.I., Acosta S.J., Ochoa A., Bastidas P.J., Osuna L.U.

Por la ponencia titulada *"Diseño y Evaluación in Silico de Derivados de Sulfonilbencimidazolonas Como Potenciales Fármacos contra α -glucosidasa, α -amilasa, glucocinasa y SUR1"*, impartida en la modalidad Oral el día Viernes 14 de octubre de 2022, dentro del eje temático de Biología y Química / Biology and Chemistry en el I Congreso Internacional de Investigación Interdisciplinaria en Ciencias Biológicas y de la Salud, realizado del 12 al 14 de octubre del 2022 en Hermosillo, Sonora.



Dr. Juan Carlos Gálvez Ruiz

Director de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud



Dr. Enrique Bolado Martínez

Jefe del Departamento de Ciencias Químico-Biológicas



Dra. Verónica López Teros

Coordinador de Posgrado en Ciencias de la Salud





FACULTAD DE
CIENCIAS QUÍMICO BIOLÓGICAS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA



OTORGAN EL PRESENTE

RECONOCIMIENTO

A:

*Quintero Solano José Miguel, Santos Ballardo Cress
Lumadhar, Osuna Martínez Lorenzo Ulises*

POR OBTENER EL **2DO LUGAR** EN LA PRESENTACIÓN DE POSTER CON EL TRABAJO "**EVALUACIÓN IN SILICO MEDIANTE ACOPLAMIENTO MOLECULAR Y ANÁLISIS PREDICTIVO DE COMPUESTOS ARILBENCIMIDAZOLONAS CON POTENCIAL USO EN ESTADOS HIPERGLUCÉMICOS**" EN EL MARCO DEL SIMPOSIUM INTERNACIONAL, 80 ANIVERSARIO DE QFB.



ATENTAMENTE

SURSUM VERSUS

CULIACÁN, SINALOA, OCTUBRE 2022

Eusiel Rubio Castro

DR. EUSIEL RUBIO CASTRO

DIRECTOR FCQB



I Congreso Internacional de Investigación Interdisciplinaria en Ciencias Biológicas y de la Salud

CIBYS

La Universidad de Sonora a través de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, el Departamento de Ciencias Químico-Biológicas y el Posgrado en Ciencias de la Salud

otorga la presente

CONSTANCIA

a:

Quintero J.M., Santos C.L., Osuna L.U.

Por la ponencia titulada "*Acoplamiento molecular de compuestos aril benzimidazolonas con potencial uso en estados hiperglucémicos*", impartida en la modalidad Cartel el día Jueves 13 de octubre de 2022, dentro del eje temático de Biología y Química / Biology and Chemistry en el I Congreso Internacional de Investigación Interdisciplinaria en Ciencias Biológicas y de la Salud, realizado del 12 al 14 de octubre del 2022 en Hermosillo, Sonora.


Dr. Juan Carlos Gálvez Ruiz
Director de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud


Dr. Enrique Bolado Martínez
Jefe del Departamento de Ciencias Químico-Biológicas


Dra. Verónica López Teros
Coordinador de Posgrado en Ciencias de la Salud



XV. SIGLAS Y ABREVIACIONES

- DMII: Diabetes mellitus tipo 2
- GK: Glucocinasa
- SAR: relación estructura actividad
- GLUT: Proteínas facilitadoras del transporte de glucosa
- GLUT2: Proteínas facilitadoras del transporte de glucosa tipo 2
- IRS1: Receptor de insulina tipo 1
- GLUT4: Proteínas facilitadoras del transporte de glucosa tipo 4
- SGLT: Transportadores de glucosa acoplados a sodio
- GAA: Gen de alfa glucosidasa ácida
- AMY: Gen de amilasa
- G6P: Glucosa 6 fosfato
- EU: Energía de unión
- IC₅₀: Concentración inhibidora 50
- TSPO: Proteína translocadora
- MIC: Concentración mínima inhibitoria
- HIV: Virus de inmunodeficiencia humana
- ppm: Partes por millón
- 3D: Tridimensionales
- PDB: Protein data bank
- DMF: Dimetilformamida
- DNS: ácido dinitrosalicílico
- Abs: Absorbancia
- NADH: Dinucleótido de nicotinamida reducido
- Δ Tiempo: Intervalo de tiempo de reacción
- EEM: Error estándar de la media
- PASS: Perfil de espectro de actividades biológicas
- ADME: Perfil de absorción, distribución, metabolismo y excreción

- Pm: Peso molecular
- Sah: Sitios aceptores de hidrógeno
- Sdh: Sitios donadores de hidrógeno
- LogP: Lipofilicidad
- nER: Número de enlaces rotables
- TPSA: área de superficie polar
- TMSA: azida de tetrametilsilano
- THF: tetrahidrofurano
- CG-EM: Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas
- RMN: Resonancia magnética nuclear
- ¹H-RMN: Resonancia magnética nuclear de protones
- ¹³C-RMN: Resonancia magnética nuclear de carbono 13
- UMA: Unidad de masa atómica
- SMILES: Simplified Molecular Input Line Entry Specification