



**FACULTAD DE CIENCIAS**  
**PROGRAMA DE LICENCIATURA EN CIENCIAS MENCIÓN**  
**BIOLOGÍA O QUÍMICA**

**SINTESIS Y EVALUACION BIOLÓGICA DE NUEVOS**  
**DERIVADOS HETEROCICLICOS DEL TIPO BENZOIMIDAZOL-**  
**ETANOLAMINA CON POTENCIAL ACTIVIDAD**  
 **$\beta_3$ -ADRENERGICA**

**TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE**  
**LICENCIADA EN CIENCIAS MENCIÓN QUÍMICA**

**PAULA FERNANDA COLLAO GARCIA**

Director de tesis:

**DR. JAIME MELLA RAIPAN**

**Valparaíso, Chile**  
**2017**

*A mi hija Agustina*

## **AGRADECIMIENTOS**

Primero que todo quiero agradecer a Dios.

A mis padres Fernando y María Isabel por darme una nueva oportunidad de culminar esta etapa, a mis hermanos Christian, Pablo y Coni por todo el cariño y la dedicación conmigo y mi hija Agustina. A mi novio Wilson quien ha sido un gran apoyo durante todo este tiempo.

A mis compañeras y amigas, Bárbara, Andrea, Karina, Shalóm, Mariana y Maryana con quienes compartí durante todo este tiempo.

A los Profesores que fueron parte de mi formación durante este proceso. En especial a la Dra. Marisol Tejos por todo el apoyo y con quien aprendí bastante de la Química Orgánica, y fui durante varios periodos su ayudante en conjunto con la Profesora María Teresa Ruz, quien también ha sido un gran apoyo durante estos años. A Dra. Waleska con quien he compartido durante estos dos últimos años y ha sido una gran persona conmigo.

A mi profesor tutor Jaime Mella por toda la dedicación y apoyo durante este proceso, quien siempre tiene palabras de aliento, aunque las cosas no estén tan bien.

Se agradece el financiamiento de FONDECYT de Inicio 11130701.

## INDICE DE CONTENIDOS

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>9</b>
<b>1. Características del receptor <math>\beta_3</math>-AR</b> .....	<b>12</b>
<b>2. Alcances terapéuticos del receptor <math>\beta_3</math>-adrenérgico</b> .....	<b>13</b>
2.1 Receptores $\beta_3$ en el cerebro .....	14
2.2 Receptores $\beta_3$ en el miocardio .....	15
2.3 Receptores $\beta_3$ en los vasos sanguíneos .....	16
2.4 Receptores $\beta_3$ en el tracto gastrointestinal .....	17
2.5 Receptores $\beta_3$ en el músculo esquelético .....	17
2.6 Receptores $\beta_3$ en el sistema respiratorio .....	18
2.7 Receptores $\beta_3$ en el sistema reproductivo. ....	18
2.8 Receptores $\beta_3$ en el tejido adiposo .....	19
<b>3. Ligandos afines al receptor <math>\beta_3</math>-adrenérgico.</b> .....	<b>20</b>
3.1 Agonistas $\beta_3$ adrenérgicos. ....	20
3.2 Antagonistas y agonistas inversos $\beta_3$ adrenérgicos. ....	22
<b>4. Métodos de síntesis de Heterociclos de tipo Benzimidazoles.</b> .....	<b>26</b>
4.1 Síntesis clásica de benzimidazoles. ....	27
<b>II. HIPOTESIS Y OBJETIVOS</b> .....	<b>30</b>
<b>2.1 Hipótesis.</b> .....	<b>30</b>
<b>2.2 Objetivos</b> .....	<b>30</b>
2.2.1 Sintéticos: .....	30
2.2.2 Biológicos: .....	30
2.2.3. Computacional: .....	30
<b>III. MATERIALES Y METODOS</b> .....	<b>31</b>
<b>3.1. Materiales y métodos químicos</b> .....	<b>31</b>
<b>3.2 Materiales y métodos biológicos.</b> .....	<b>32</b>
3.2.1 Diseño Experimental en ratas: .....	32
3.2.2. Homogenización de tejido adiposo marrón: .....	32
3.2.3 Cuantificación de proteínas: .....	33
<b>IV. DESARROLLO EXPERIEMTAL</b> .....	<b>34</b>
<b>4. Síntesis de los compuestos con cadena de estructura general benzoimidazo-2-alkil-etanolamina.</b> .....	<b>34</b>
Síntesis de 2-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)etan-1-amina dihidrocloruro. ....	34
Síntesis de (1R)-2-[[2-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)etil]amino]-1-feniletanol. ....	35
Síntesis de 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)propan-1-amina dihidrocloruro. ....	36
Síntesis de (R)-2-((3-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)propil)amino)-1-feniletan-1-ol. ....	37
Síntesis de 4-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)butan-1-amina dihidrocloruro. ....	38
Síntesis de 5-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)pentan-1-amina dihidrocloruro. ....	39
Síntesis de (R)-2-((5-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)pentil)amino)-1-feniletan-1-ol. ....	40
<b>V. RESULTADOS Y DISCUSION</b> .....	<b>41</b>

<b>5.1 Parte Química:</b> .....	<b>41</b>
Síntesis de derivados <i>N</i> -(benzoimidazo-2-alkil)-feniletanolamina .....	45
<b>5.2. Evaluación Biológica</b> .....	<b>48</b>
5.2.1 Peso corporal de los animales sometidos a la evaluación farmacológica.....	48
5.3 Cálculos computacionales .....	53
<b>VI. CONCLUSIONES</b> .....	<b>55</b>
<b>VII. REFERENCIAS</b> .....	<b>56</b>

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> Diferentes catecolaminas: Adrenalina (izquierda), Noradrenalina (derecha) 9	9
<b>Figura 2:</b> Isoprenalina.....	9
<b>Figura 3:</b> Amibegron.....	10
<b>Figura 4:</b> Mirabegron .....	11
<b>Figura 5:</b> Vibegron.....	11
<b>Figura 6:</b> Modelo de la estructura primaria del receptor $\beta_3$ . .....	13
<b>Figura 7:</b> Distribución de los receptores $\beta_3$ -AR en diferentes tejidos. ....	14
<b>Figura 8:</b> Vía de señalización de $\beta_3$ -AR en cardiomiocitos.....	15
<b>FIGURA 9:</b> Estructuras de Agonistas $\beta_3$ -AR de primera y segunda generación. ....	21
<b>FIGURA 10:</b> Agonistas inversos $\beta_3$ adrenérgicos.. .....	23
<b>Figura 11:</b> Antagonistas selectivos $\beta_3$ adrenérgicos.....	24
<b>Figura 12:</b> Relaciones estructura-actividad más importantes para la unión al receptor $\beta_3$ .....	26
<b>Figura 13:</b> Obtención de benzimidazoles a partir de o-nitroarilaminas aciladas. ....	27
<b>Figura 14:</b> Obtención de benzimidazoles a partir de o-fenilendiamina, ácidos carboxílicos, anhídridos de ácido, ésteres y/o amidas. ....	28
<b>Figura 15:</b> Obtención de benzimidazoles a partir de o-fenilendiamina y nitrilos. ....	28
<b>Figura 16:</b> Obtención de benzimidazoles a partir de o-fenilendiamina y ésteres imínicos o tioésteres. ....	29
<b>Figura 17:</b> Obtención de benzimidazoles a partir de o-fenilendiamina y aldehidos.....	29
<b>Figura 18:</b> Estructura general de los compuestos sintetizados .....	41
<b>FIGURA 19:</b> Mecanismo de ciclación mediante el procedimiento de Phillips ....	43
<b>Figura 20:</b> Espectro de RMN de protón ( $H^1$ ) del compuesto 2-(1H-benzo[d]imidazol-2-il) etan-1-amina. ....	44
<b>Figura 21:</b> Mecanismo de reacción de 2-feniloxirano y benzoimidazo-2-alkil-etanoamina. ....	46

<b>Figura 22:</b> Espectro de RMN de protón ( $H^1$ ) de (1R)-2-[[2-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)etil]amino]-1-feniletanol. En el centro de la figura se muestra una ampliación de la zona aromática que muestra la naturaleza de doble doblete de cada señal y el multiplete correspondiente al fenilo del fragmento fenil-etanol-amina. ....	47
<b>Figura 23:</b> Distribución electrónica en base a la electronegatividad obtenida del cálculo de Milliken. ....	53
<b>Figura 24:</b> Distribución electrónica obtenida del cálculo de Fukui.....	54

## RESUMEN

En el presente trabajo reportamos la síntesis de nuevos derivados heteocíclicos con potencial afinidad beta-3 adrenérgica humana. Los compuestos fueron diseñados en base a nuestros estudios previos de modelación computacional y fueron sintetizados por medio de reacciones clásicas de condensación obteniendo así benzimidazoles intermediarios los cuales se hicieron reaccionar con R-óxido de estireno para generar los productos finales.

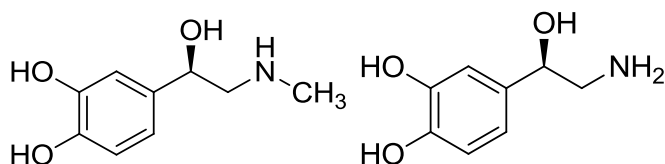
El compuesto de mayor lipofilia fue evaluado en estudios de termogénesis en ratas, hallándose resultados estadísticamente significativos de quema de grasa visceral.

Finalmente proponemos en base a cálculos computaciones posibles puntos de modificación estructural con miras a sintetizar futuros compuestos promisorio



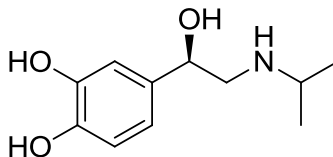
## I. INTRODUCCIÓN

Los receptores adrenérgicos son parte de la familia de receptores acoplados a proteína G (GPCR), estos poseen siete dominios transmembrana (7TMD), los cuales son activados por dos catecolaminas endógenas: la adrenalina y la noradrenalina (**Figura 1**).



**Figura 1:** Diferentes catecolaminas: Adrenalina (izquierda), Noradrenalina (derecha)

En 1948 Ahlquist logró clasificar los adrenoreceptores farmacológicamente utilizando aminas sintéticas, como la isoprenalina (**Figura 2**), en dos subtipos principales:  $\alpha$  y  $\beta^1$ .



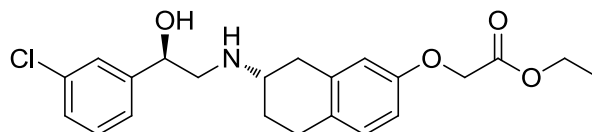
**Figura 2.** Isoprenalina

Los receptores  $\alpha$ -adrenérgicos ( $\alpha$ -AR) median principalmente funciones excitatorias. Fueron diferenciados en  $\alpha_1$  y  $\alpha_2$ . Por otra parte, los receptores  $\beta$ -adrenérgicos ( $\beta$ -AR) median la función inhibitoria y una única función excitatoria, la función cardíaca. Los  $\beta$ -AR fueron clasificados a mediados de 1967 por Lands, conociéndose los  $\beta_1$ -ARs, los cuales predominan en el tejido del corazón y los  $\beta_2$ -ARs, se encuentran distribuidos principalmente en los pulmones donde ayudan a la relajación de la musculatura lisa bronquial<sup>2</sup>.

El descubrimiento de receptores  $\beta_1$ -AR y  $\beta_2$ -AR ha contribuido al diseño de fármacos selectivos para el tratamiento del asma y la hipertensión. Arch, J. R.

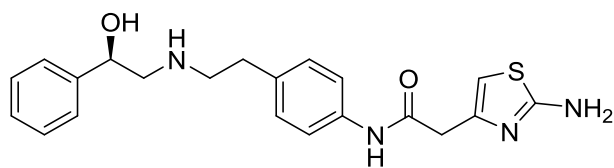
S. *et al.* (1980) descubrieron un nuevo subtipo de receptor  $\beta$ -adrenérgico<sup>3</sup>, llamado  $\beta_3$ -AR el que fue encontrado en varias especies como bovinos, ratas y ratones e incluido el hombre. Este se expresa en varios tejidos como el corazón, el tejido adiposo, la vejiga y el colon<sup>4</sup>.

Debido a su alta distribución, el  $\beta_3$ -AR ha sido un blanco de estudio para el tratamiento de varias patologías como la obesidad, la diabetes tipo II, caquexia, vejiga hiperactiva (OAB), ansiedad y desórdenes depresivos; impulsado al diseño de varios fármacos agonistas  $\beta_3$ -AR para diversos tratamientos de enfermedades. En casos de obesidad, los agonistas  $\beta_3$ -AR producen pérdida de peso en animales obesos sin disminuir la ingesta de alimentos<sup>5</sup>, además en modelos de roedores con diabetes tipo 2 han ejercidos potentes efectos antidiabéticos<sup>6</sup>, en casos crónicos han reducido la hiperglucemia, hiperinsulinemia e hiperlipidemia<sup>7</sup>. En el cerebro de roedores, el agonista  $\beta_3$ -AR SR58611A, Amigebtron (**figura 3**) muestra un perfil antidepressivo<sup>8</sup>, sin efectos secundarios como la taquicardia o alteración de la actividad locomotor<sup>6</sup>, sin embargo, en Julio del 2008, fue discontinuado su uso en Chile, Australia y en Sudáfrica cuando estaba en estudios clínicos de fase III, debido a sus efectos adversos, entre ellos el trastorno de ansiedad generalizado.



**Figura 3:** Amibegron

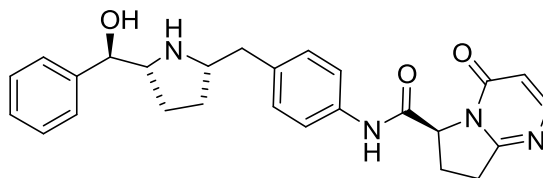
Para la obtención de agonistas y antagonistas farmacológicamente activos, se han llevado muchos esfuerzos sintéticos, siendo el Mirabegron (YM-18) (**figura 4**), el único fármaco aprobado por la FDA para el tratamiento de la vejiga hiperactiva (OAB).



**Figura 4:** Mirabegron

En agosto de 2015, la FDA planteó precauciones con su uso, debido a los casos reportados con angioedema en las vías respiratorias superiores, incluso después de la administración de la primera dosis. De igual forma, la Agencia Reguladora de Medicamentos y Productos Sanitarios (MHRA) del Reino Unido en octubre de 2015 alertó el riesgo de hipertensión grave y eventos cerebrovasculares y cardíacos asociados. Lo que ha planteado dudas sobre la continuidad futura de Mirabegron en el mercado.

A principios de este año una nueva molécula fue reportada por Merck, el Vibegron (**figura 5**), un potente y selectivo agonista  $\beta_3$ -AR humano<sup>9</sup>.



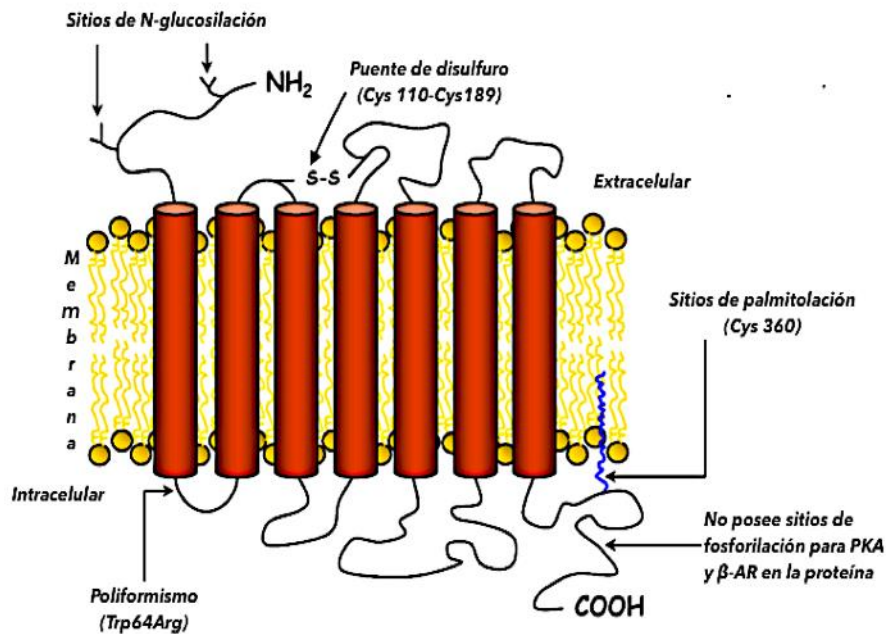
**Figura 5:** Vibegron

Estas evidencias, hacen esencial la elaboración de modelos de relación estructura-actividad que puedan proporcionar información útil para el diseño de nuevos compuestos con afinidad y selectividad para el  $\beta_3$ -AR, asimismo, que provoquen menos efectos secundarios.

## 1. Características del receptor $\beta_3$ -AR

El receptor  $\beta_3$ -AR pertenece a la familia de receptores acoplados a proteína G (GPCR) estos poseen siete dominios transmembrana (7TMD), está compuesto por 408 aminoácidos y el gen que lo codifica en humanos se encuentra en el cromosoma 8p12-p11.2. Fue clonado por Emorine L. y sus colaboradores en 1989<sup>5</sup>; desde entonces el gen ha sido clonado en ratas, ratones, bovinos, monos, perros<sup>6</sup>, ovejas y cabras<sup>7</sup>. En la figura 6, se puede observar que la región *N*-terminal de estos receptores es extracelular y está glicosilada, lo que significa que el nitrógeno del aminoácido se encuentra enlazado a un polisacárido, mientras que el extremo *C*-terminal es intracelular y en el caso del receptor  $\beta_3$  no posee ningún sitio que pueda ser fosforilado por una enzima quinasa tipo A (PKA) o receptores quinasa beta ( $\beta$ -ARK), sitio que se encuentra en los receptores  $\beta_1$  y  $\beta_2$ .

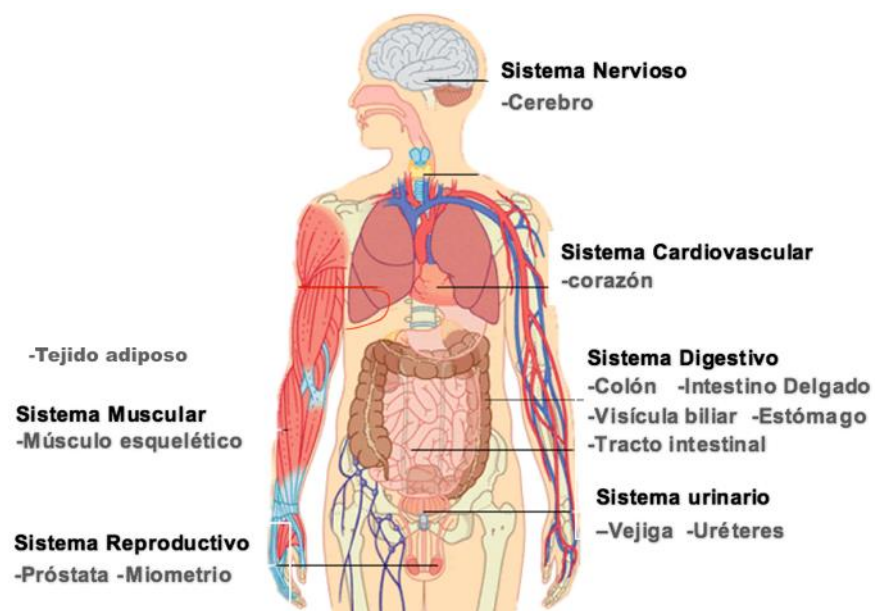
Los dominios de transmembrana TM3, TM4, TM5 y TM6 son esenciales para la unión del ligando, mientras que los dominios TM2 y TM7 están involucrados en la activación de la proteína G<sup>8</sup>. El puente de disulfuro entre Cys110 en el segundo bucle y Cys189 en el tercer bucle extracelular es esencial para la unión del ligando y la actividad del receptor. El residuo de Cys361 en el cuarto dominio intracelular está palmitoilado, es decir, se encuentra unido covalentemente a un ácido palmítico. La palmitoilación ha mostrado mediar la estimulación de la adenilato ciclasa cuando se encuentra un agonista unido al receptor, posiblemente promoviendo la inserción de varios residuos adyacentes en la membrana y así formando un bucle intracelular adicional resultando en una conformación activa para el acoplamiento de proteína G<sup>6</sup>. En la figura 6, se indica el sitio de la mutación natural de Trp a Arg en la posición 64. Este polimorfismo ha sido ampliamente estudiado por su impacto en el desarrollo de la obesidad, diabetes tipo 2 y trastornos relacionados.



**Figura 6:** Modelo de la estructura primaria del receptor  $\beta_3$ .

## 2. Alcances terapéuticos del receptor $\beta_3$ -adrenérgico

Debido a la alta distribución en nuestro organismo y a la regulación de varias funciones fisiológicas que cumplen los  $\beta_3$ -ARs en diferentes tejidos, ha sido de gran importancia el diseño de nuevos fármacos para el tratamiento de patologías que afectan a distintos tejidos (**figura 7**), siendo el tejido adiposo donde se expresa mayoritariamente.



**Figura 7:** Distribución de los receptores  $\beta_3$ -AR en diferentes tejidos.

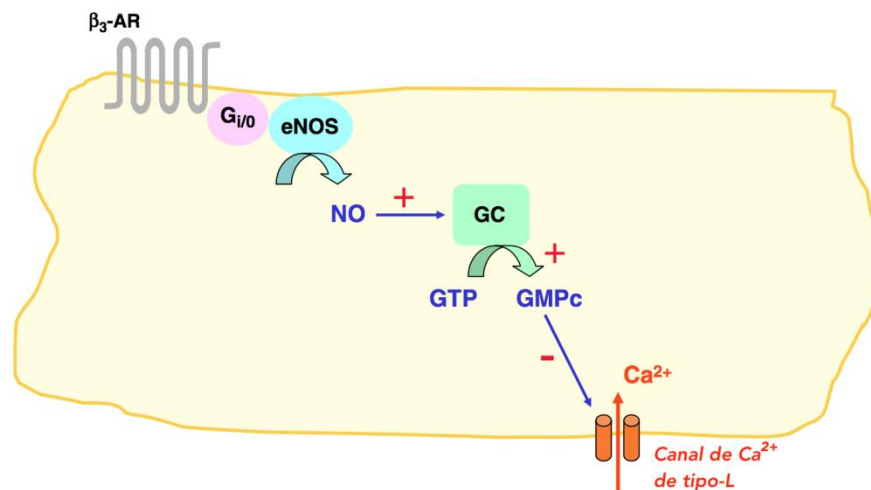
## 2.1 Receptores $\beta_3$ en el cerebro

En un principio los estudios clásicos no detectaron la presencia de  $\beta_3$ -ARs en el cerebro, luego con el uso de la técnica de RT-PCR se detectó la existencia de  $\beta_3$ -AR en ARNm en regiones discretas del cerebro humano y de rata, incluyendo zonas como el hipocampo, la amígdala, la corteza cerebral y el hipotálamo <sup>1010b</sup>, dichas zonas están involucradas en el pensamiento humano y el posible desarrollo de episodios depresivos del trastorno bipolar.

Debido a que la depresión y la ansiedad han sido uno de los trastornos más prevalente en la población mundial según la organización mundial de la salud (OMS), es de suma importancia el desarrollo de alternativas de fármacos agonistas a  $\beta_3$  que no presenten efectos secundarios, tal como es el caso de SR58611A (Amibegron), cuyo perfil farmacológico demostró que el agonista no indujo la sedación, miorelajación, alteración de sueño/vigilia o deterioro de la memoria, en comparación con el diazepam, un ansiolítico clásico <sup>11</sup>.

## 2.2 Receptores $\beta_3$ en el miocardio

En los miocitos auriculares humanos, la activación de los  $\beta_3$ -ARs produce la fosforilación de los canales de calcio de tipo L y el aumento del flujo de calcio a través de la membrana<sup>12</sup>. Los receptores  $\beta_3$  tienen una acción ionotrópica negativa en los músculos ventriculares humanos, la cual esta mediada por la activación de las proteínas inhibitorias  $G_i$ <sup>13</sup>. La estimulación de dichas proteínas no parecía causar la inhibición de la adenilato ciclasa sino una activación de la vía del óxido nítrico (NO), mediante la activación de la NO sintasa endotelial (eNOS). De este modo, NO produce un aumento de guanosina monofosfato cíclica intracelular (cGMP) con la consecuente inhibición de la fosfodiesterasa 3 y/o activación de la fosfodiesterasa 2, la cual puede disminuir la fuerza contráctil del miocardio, estimulada a través de la vía de AMPc. **(Figura 8)**. En el ventrículo humano, en caso de insuficiencia cardíaca, se produjo un aumento de 2 a 3 veces en la cantidad normal de receptores  $\beta_3$ <sup>14</sup>.



**Figura 8:** Vía de señalización de  $\beta_3$ -AR en cardiomiocitos.  $\beta_3$ -AR:  $\beta_3$ -adrenoceptor;  $Ca^{2+}$ : calcio; cGMP: guanosina monofosfato cíclico; eNOS: óxido nítrico sintasa endotelial;  $G_{i/o}$ : proteína  $G_{i/o}$ ; GTP: trifosfato de guanosina; GC: guanilil ciclasa; NO: óxido nítrico; +: Estimulación; -: inhibición.

### 2.3 Receptores $\beta_3$ en los vasos sanguíneos

En diferentes modelos experimentales se confirmó la presencia de  $\beta_3$ -AR en el sistema vascular, este es un mediador importante de la vasodilatación, debido a que su estimulación conduce a una relajación del músculo liso vascular, controlando así la distribución del flujo sanguíneo en diferentes órganos <sup>15</sup>. En caninos, se estudió la acción de agonistas  $\beta_3$ -AR en anillos arteriales pulmonares aislados en condiciones isométricas *in vitro*, en el cual se produjo una vasodilatación dependiente de adenosín monofosfato cíclico (cAMP) <sup>16</sup>, también se estudió su acción en el músculo periférico microvascular mediante la medición de flujo sanguíneo cutáneo y la temperatura de la piel, donde la estimulación produjo vasodilatación en esa zona<sup>17</sup>. En monos Rhesus anestesiados produjo vasodilatación periférica, taquicardia, hipotensión y dependiendo de la dosis de agonista  $\beta_3$ -AR utilizada se produjo lipólisis.

En humanos, se identificaron mediante técnicas de RT-PCR y Western Blot, en el endotelio de la arteria mamaria interna y en arterias coronarias en donde mediaban la vasodilatación por incremento de la síntesis de NO, la vasodilatación es inducida por el incremento de la síntesis de NO e hiperpolarización celular, a través de canales de potasio activados por el cambio de la concentración de calcio <sup>18</sup>.

Debido a que la vasodilatación es muy importante para mantener el equilibrio en el organismo, el deterioro de esta función fisiológica en los seres humanos podría contribuir al desarrollo clínico de hipertensión o enfermedades cardiovasculares que se desarrollan en personas de edad avanzada frecuentemente. López, C. O. A et al. (2016) plantean que los  $\beta_3$ -AR que dependen de la relajación de los vasos sanguíneos, se ven afectados en animales de mayor edad y sugieren que el mecanismo causante es la activación de la proteína G, produciendo una reducción en la producción de cAMP <sup>19</sup>. Si se logran comprender las causas de la disminución relacionada con la edad en la señalización-vasodilatación que median los  $\beta_3$ -AR, se podría

identificar una nueva diana para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares.

#### **2.4 Receptores $\beta_3$ en el tracto gastrointestinal**

Utilizando agonistas  $\beta_3$  selectivos se estudiaron en el tracto intestinal los  $\beta_3$ -AR, los cuales pueden jugar un papel en la modulación de la movilidad gastrointestinal<sup>20</sup>. Los receptores  $\beta_3$  produjeron una ralentización en el vaciado gástrico y en el tránsito intestinal. En conejillos de india la estimulación de  $\beta_3$ -ARs indujo relajación dependiente de cAMP en el *fundus* del estómago y una relajación independiente de cAMP en el duodeno<sup>21</sup>.

En ratas, los receptores  $\beta_3$  tienen un rol inhibitorio en el control de la secreción ácida inducida por estímulos indirectos (pentagastrina, deoxiglucosa)<sup>22</sup>.

Los receptores  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  y  $\beta_3$  son detectables en el colon humano y la estimulación de cada tipo por agonistas indujo relajación de la musculatura longitudinal del colon<sup>23</sup>.

#### **2.5 Receptores $\beta_3$ en el músculo esquelético**

Los receptores  $\beta_3$  median la inhibición de proteólisis dependiente de calcio, participando en el efecto antiproteolítico de las catecolaminas en los músculos esqueléticos privados de nutrientes<sup>1</sup>. La captura de glucosa en músculo esquelético, directamente estimulada por agonistas de  $\beta_3$ -ARs, pareciera no estar involucrada en la estimulación directa de adenilil ciclasa<sup>24</sup>.

## 2.6 Receptores $\beta_3$ en el sistema respiratorio

En conejos, la existencia de los  $\beta_3$ -ARs se demostró en el epitelio nasal y estos receptores estaban implicados en el control del movimiento del agua y sal a través del epitelio <sup>25</sup>. Los receptores  $\beta_3$  también se encuentran en el músculo liso bronquial de los perros y su estimulación induce bronquiodilatación dependiente de cAMP <sup>26</sup>.

La presencia de receptores  $\beta_3$  funcionales en los músculos bronquiales parece ser dependiente de la especie. De modo que después de administrar agonistas específicos de receptores  $\beta_3$  se produjo relajación bronquial en perros pero no en humanos, conejillos de indias u ovejas <sup>27</sup>.

## 2.7 Receptores $\beta_3$ en el sistema reproductivo.

Receptores del tipo  $\beta_3$  están presentes en el cuerpo cavernoso del pene, en las células de músculo liso, según lo indicado por los análisis de inmunohistoquímica y *Western Blot*. Después de la activación de estos receptores por el ligando BRL 37344, se produjo una relajación vascular dependiente de cGMP pero independiente de NO <sup>28</sup>.

Empleando ensayos de radioligandos, análisis de RT-PCR y *Western blotting* se encontró que en el miometrio humano están presentes los receptores  $\beta_2$  y  $\beta_3$ . Ambos fueron identificados en el tejidomiometrial tanto de embarazadas como de no embarazadas. En ambos casos el  $\beta_3$ -AR era el mayoritario <sup>29</sup>. La expresión de  $\beta_3$ -AR y la reactividad inmune del receptor fueron mayores en el miometrio de las mujeres embarazadas. La inhibición de contracciones espontáneas producida por un agonista  $\beta_3$ , SR 59119A, fue significativamente mayor en las embarazadas, en comparación con el miometrio de no embarazadas <sup>30</sup>.

## 2.8 Receptores $\beta_3$ en el tejido adiposo

Los  $\beta_3$ -AR presentes en el tejido adiposo han sido descritos en diferentes modelos de experimentación. Su estimulación mediante agonistas específicos constituye un aspecto central en la lipólisis en el tejido adiposo blanco y la consecuente liberación de ácidos grasos en la sangre. Este efecto es de corta duración, no se extiende por más de 24 horas. Los ácidos grasos libres son la principal fuente para mantener la termogénesis en el tejido adiposo marrón <sup>31</sup>.

El tratamiento crónico con agonistas  $\beta_3$  en roedores obesos insulinoresistentes condujo a una baja en el peso producto de la reducción del tejido adiposo. Un hecho interesante es que este efecto sólo se apreció en animales obesos y no en los normales <sup>32</sup>.

Los efectos metabólicos se pueden considerar como los efectos más interesantes producidos por la estimulación de los adrenoreceptores  $\beta_3$ . Las perspectivas terapéuticas incluyen el empleo de agonistas  $\beta_3$  como droga contra la diabetes y la obesidad.

La relación que existe entre el poliformismo del gen Trp64Arg en  $\beta_3$ -AR con la obesidad y los niveles de lípidos en la sangre fue estudiada en una población en el norte de China el 2015 por Lui. J y sus colaboradores en el cual se concluyó que el polimorfismo en el gen Trp64Arg ADRB3 puede estar asociada con los niveles de lípidos en la sangre de los pacientes chinos con hipertensión. Los pacientes hipertensos con el genotipo Trp64Trp pueden ser responsables de la dislipidemia <sup>33</sup>.

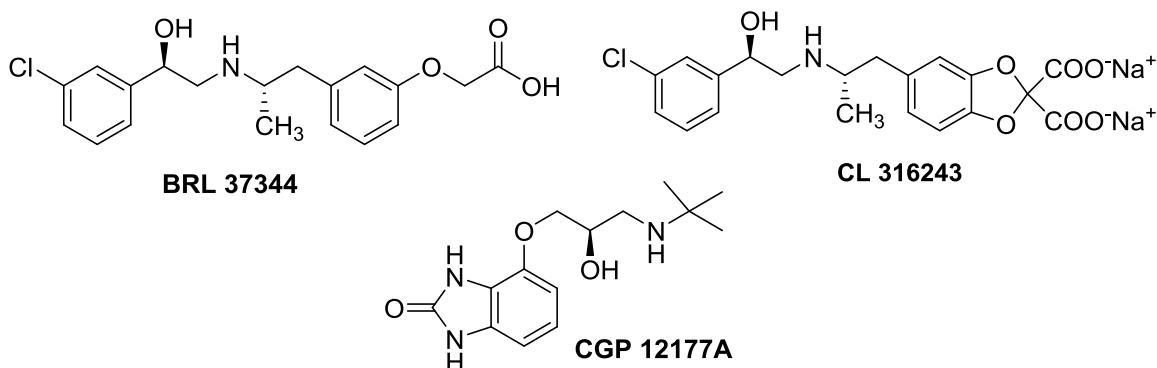
### **3. Ligandos afines al receptor $\beta_3$ -adrenérgico.**

A pesar de la similitud que existe entre los subtipos de receptores  $\beta$ -adrenérgicos, existe evidencia de que los ligandos se unen de manera diferente al  $\beta_3$ -AR respecto a como lo hacen con los  $\beta_1$ - y  $\beta_2$ -ARs. Ciertos números de ligandos se comportan como antagonistas en  $\beta_1$  y  $\beta_2$  son agonistas parciales o totales en  $\beta_3$ . Adicionalmente se ha desarrollado un número de ligandos que muestran alta selectividad por el receptor  $\beta_3$ , lo que demuestra que existen diferencias explotables entre estos subtipos de receptores<sup>34</sup>, los cuales presentan diferentes características y actividades particulares, según sean agonistas, antagonistas o agonistas inversos. Estos tipos se definen a continuación.

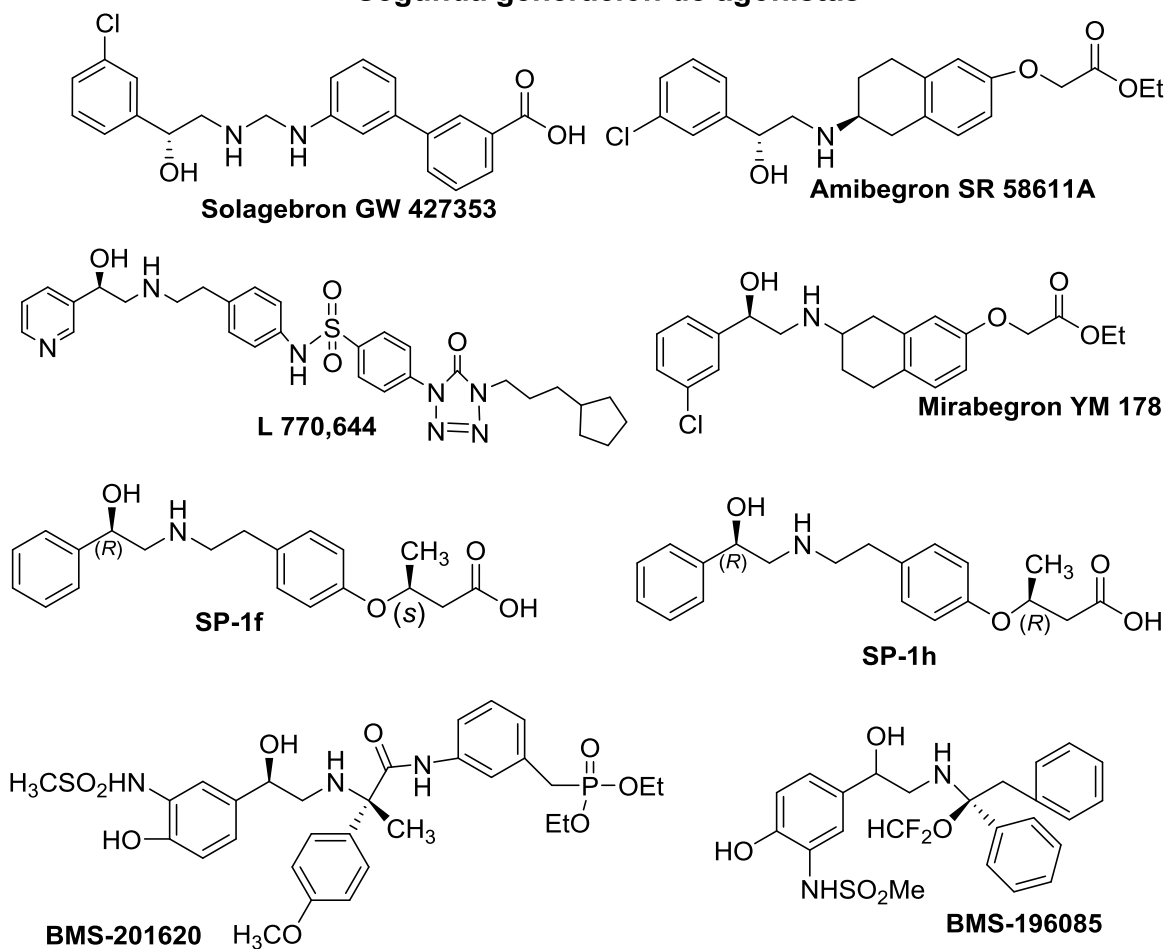
#### **3.1 Agonistas $\beta_3$ adrenérgicos.**

Desde su descubrimiento, el receptor  $\beta_3$  atrajo el interés de la industria farmacéutica ya que parecía jugar un papel en la regulación del balance energético y homeostasis de la glucosa, expresándose tanto en el tejido adiposo blanco humano como en el marrón. En adipocitos de roedores los receptores  $\beta_3$  tienen ese papel fisiológico establecido. Los agonistas  $\beta_3$  sirven de tratamiento crónico en animales obesos y diabéticos, y hay reportes que reducen la adiposidad y mejoran la diabetes tipo II<sup>35</sup>. Los efectos de agonistas  $\beta_3$  observado en roedores llevó al desarrollo del compuesto para el tratamiento de la obesidad y la diabetes tipo II en humanos, pero los estudios clínicos no fueron satisfactorios debido a la mala actividad y selectividad de estos compuestos en el humano. Los agonistas  $\beta_3$  adrenérgicos más conocidos de primera y segunda generación (**figura 9**).

### Primera generación de agonistas



### Segunda generación de agonistas

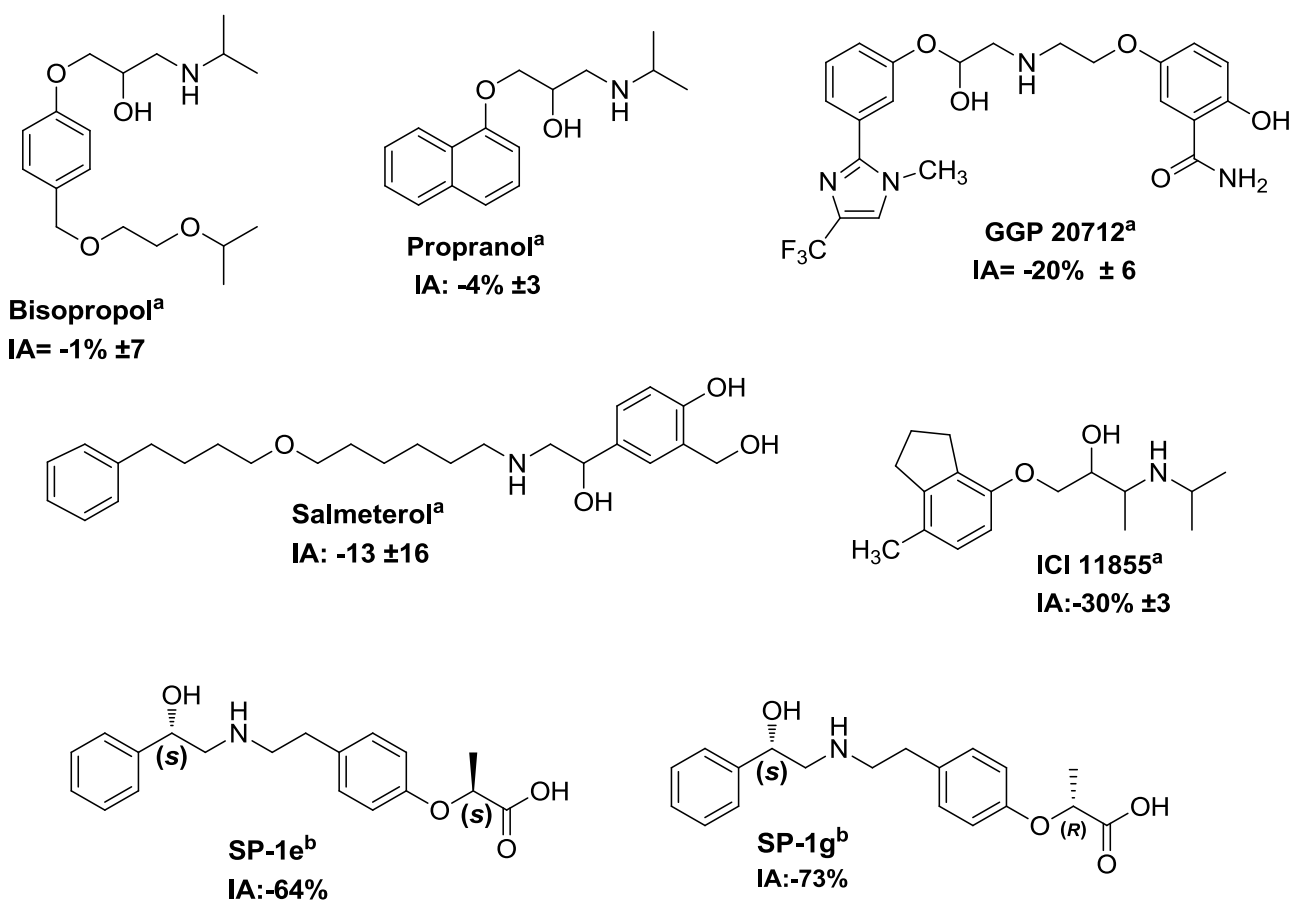


**FIGURA 9:** Estructuras de Agonistas  $\beta_3$ -AR de primera y segunda generación.

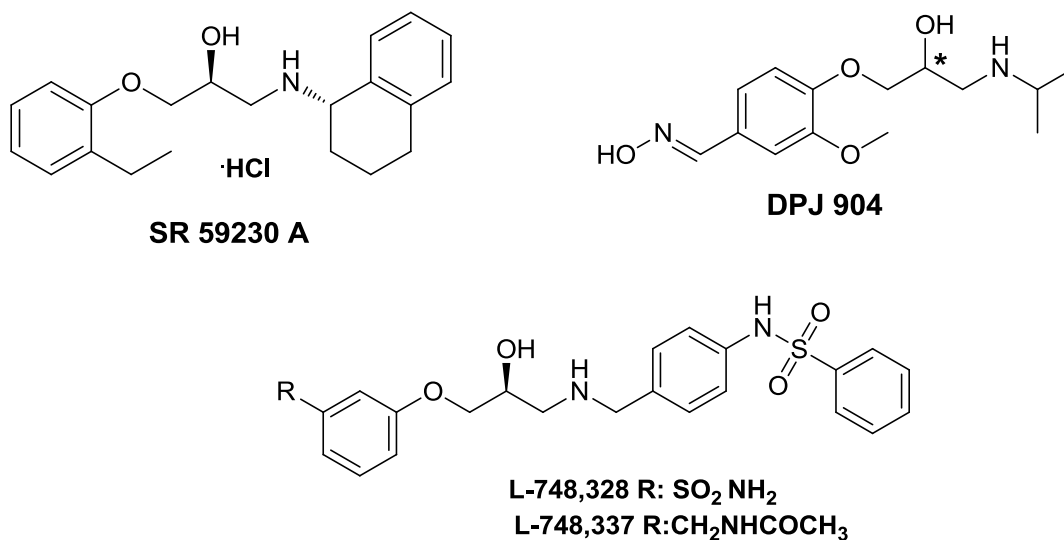
En adultos jóvenes sanos, los  $\beta_3$  juegan un papel de menor importancia en el control de la lipólisis y nutrición del flujo de sangre en el tejido adiposo abdominal subcutáneo humano<sup>36</sup>. Mientras que en el adipocito blanco adulto, fue detectada una baja expresión de  $\beta_3$ -AR<sup>37</sup>. Los resultados de estudios recientes confirman que el efecto antidiabético de los agonistas  $\beta_3$  CL316,243 y SR58611 (**Figura 9**) se debe a la relación mecanicista entre el receptor de ácidos grasos libres (GPR40) y la señalización adrenérgica en los tejidos adiposos y pancreáticos de las células- $\beta$ <sup>38</sup>.

### **3.2 Antagonistas y agonistas inversos $\beta_3$ adrenérgicos.**

A diferencia del receptor  $\beta_1$  y el  $\beta_2$ , son pocos los agonistas inversos  $\beta_3$  adrenérgicos que se han reportado<sup>39</sup>. Nuevos datos sugieren que algunos antagonistas  $\beta$ -AR clásicos, se comportan bien como agonistas parciales, antagonistas neutros o agonistas inversos en sistemas de células que expresa el tipo nativo o un mutante humano<sup>40</sup>. Por ejemplo, el metoprolol un antagonista  $\beta_1$  selectivo con significativa actividad agonista inversa, ha demostrado ser seguro en el tratamiento de pacientes con insuficiencia cardiaca. Desafortunadamente, los estudios clínicos hasta la fecha con agonistas inversos del  $\beta_2$  y  $\beta_3$  aún no están disponibles. En la figura 10 se muestran agonistas inversos beta-3 adrenérgicos conocidos y en la figura 11 la estructura de antagonistas beta-3 adrenérgicos selectivos.



**FIGURA 10:** Agonistas inversos  $\beta_3$  adrenérgicos.<sup>A</sup>la estimulación de la adenilato ciclasa presenta un porcentaje de estimulación máximo alcanzado por isoproterenol (130 mm). Las actividades de los agonistas inversos se calcularon como el porcentaje de reducción de la actividad de la adenilato ciclasa<sup>39</sup>. <sup>B</sup>ia es el valor máximo esperado de la curva de concentración-respuesta, expresada como porcentaje de la respuesta máxima para (R)-(-)-isoproterenol ( $10^{-4}$  M)<sup>41</sup>.



**Figura 11:** Antagonistas selectivos  $\beta_3$  adrenérgicos.

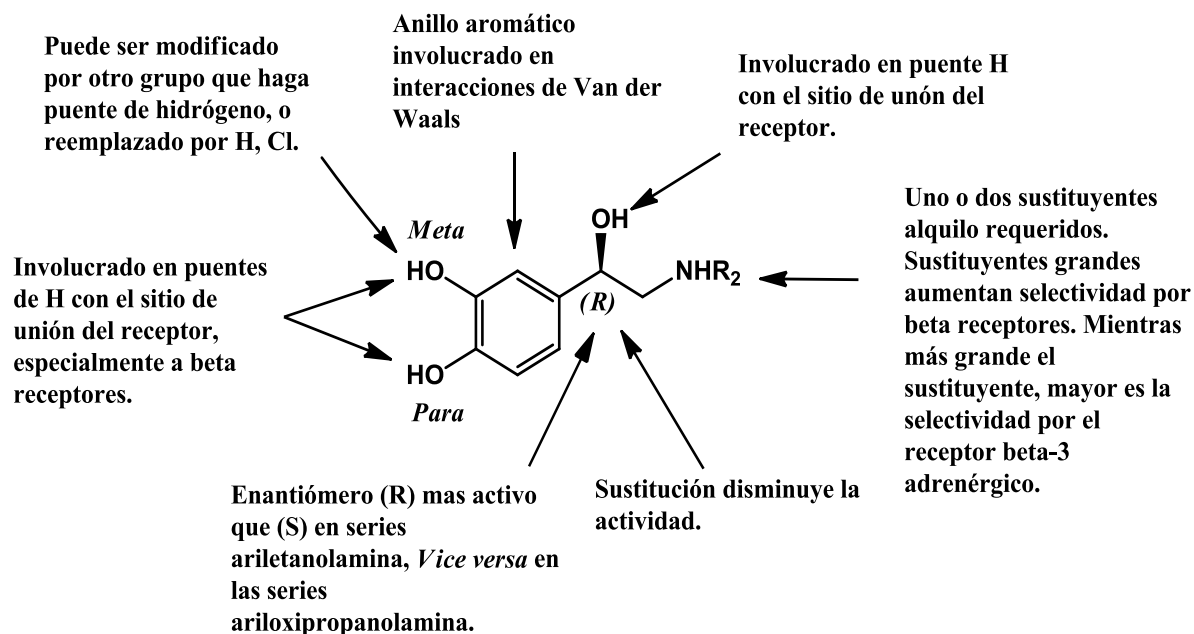
Dentro de los posibles usos de los antagonistas  $\beta_3$ -AR resalta el ser útiles en el tratamiento de la insuficiencia cardiaca avanzada.

El Salmaterol (**Figura 11**) es un fármaco agonista  $\beta_2$ -AR de acción prolongada que está actualmente pre descrito para el tratamiento del asma y obstrucción pulmonar crónica. Este fármaco presente una actividad agonista inversa tanto para  $\beta_1$  y  $\beta_3$  (IA = -33% a -13% respectivamente) ¿qué significan esos valores? Quizás no es tan necesario ponerlos. Se encontró que ICI 118551 es un agonista inverso para los tres subtipos (IA = -22% para  $\beta_1$ -AR, -32% para  $\beta_2$ -AR, y -30% para  $\beta_3$ -AR). Propranolol es un  $\beta$  bloqueador no selectivo que se usa principalmente en el tratamiento de la hipertensión. Fue el primer  $\beta$  bloqueador desarrollado. Se encontró que era un agonista inverso para los tres sub tipos de  $\beta$ -AR (IA = -35% para  $\beta_1$ -AR, -35% para  $\beta_2$ -AR, y -4% para  $\beta_3$ -AR), mientras que el ligando GGP20712 (Figura 9) es altamente selectivo como agonista inverso y además es un potente antagonista  $\beta_1$ <sup>42</sup>.

La mayoría de los ligandos  $\beta_3$ -AR reportados hasta el momento, comparten una estructura general bastante similar, en el que tres porciones moleculares pueden ser identificadas: un fragmento a la izquierda (LHS, del inglés *Left Hand Side*), un conector (LK, del inglés *linker*), y un fragmento a la derecha (RHS, del inglés *Right Hand Side*). LHS es típicamente un fragmento ariletanolamina o ariloxipropanolamina<sup>43</sup>. LK tiene diversas estructuras que incluyen restos tanto conectores aromáticos y alifáticos<sup>44</sup>, RHS suele contener funciones polares y/o ionizables incluyendo ureas, acilamidas, sulfonamidas y grupos sulfónico, fosfónico y carboxílicos<sup>45</sup>.

Varios estudios tratan la relación que existe entre los requerimientos estereoquímicos y la actividad agonista  $\beta_3$  adrenérgica usando compuestos ópticamente activos, lo que demuestra que la actividad hacia el receptor es mayor cuando el centro estereogénico que lleva el grupo hidroxilo en LHS tiene configuración absoluta *R* en la serie de ariletanolaminas, y configuración *S* en la serie de ariloxipropanolaminas (**Figura 12**). Además varias investigaciones han evaluado y sintetizando nuevos grupos de compuestos ópticamente activos con centros estereogénicos adicionales, situados casi exclusivamente en los átomos de carbono adyacentes al nitrógeno amínico con respecto a LHS y LK. Dichos compuestos resultaron ser agonistas completos o parciales o bien antagonistas  $\beta_3$  adrenérgicos<sup>45</sup>.

Según los estudios realizados en el laboratorio con el grupo de investigación de relación estructura-actividad (SAR) para la obtención de compuestos activos con actividad  $\beta_3$ , se presenta un resumen en la figura 12 de las relaciones y variaciones estructurales más importantes a tener en cuenta para la unión de un ligando a los receptores  $\beta_3$ .



**Figura 12:** Relaciones estructura-actividad más importantes para la unión al receptor  $\beta_3$ .

#### 4. Métodos de síntesis de Heterociclos de tipo Benzimidazoles.

El potencial farmacológico del sistema benzimidazólico ha impulsado el desarrollo de estrategias sintéticas para obtener nuevos derivados más potentes y específicos.

Teniendo en consideración que los compuestos que en esta tesis se proponen son de tipo benzimidazol, a continuación, resumiremos los principales métodos de síntesis de este importante núcleo heterocíclico.

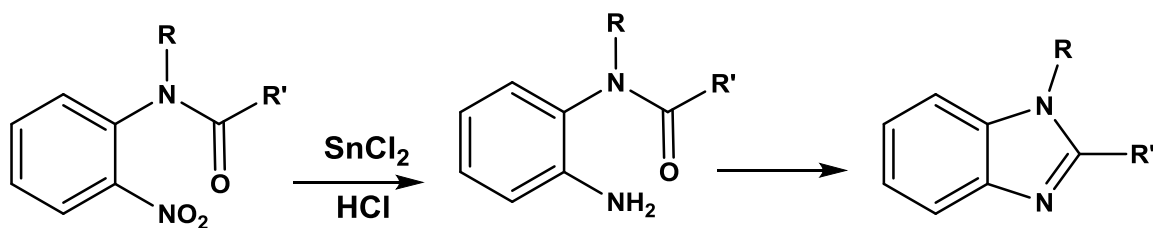
#### 4.1 Síntesis clásica de benzimidazoles.

Las estrategias convencionales consideran al benzimidazol como un derivado de la *o*-fenilendiamina. Numerosas variantes se han desarrollado para esta estrategia dependiendo de la naturaleza de sus precursores, siendo los más importantes<sup>46</sup>:

- a) Formación desde *o*-nitroarilaminas aciladas.
- b) Formación desde *o*-fenilendiamina y ácidos carboxílicos, anhídridos de ácido, ésteres o amidas.
- c) Formación desde *o*-fenilendiaminas y nitrilos.
- d) Formación desde *o*-fenilendiaminas y ésteres imínicos o tioésteres.
- e) Formación desde *o*-fenilendiamina y aldehídos.

##### a) Formación desde *o*-nitroarilaminas aciladas

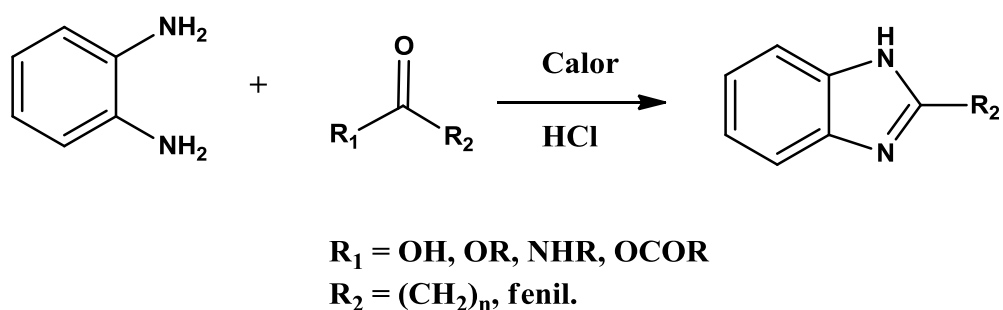
Este procedimiento se basa en la reducción del grupo nitro en posición *orto* al grupo acilamino para transformarlo en una amina, y promover así el ataque nucleofílico al carbonilo del grupo acilo. De esta forma mediante la variación de la porción *o*-Nitro-*N*-acilarilamina, se puede obtener una gran variedad de benzimidazoles. Como agentes reductores se ha utilizado cloruro estañoso y ácido clorhídrico (Figura 13).



**Figura 13:** Obtención de benzimidazoles a partir de *o*-nitroarilaminas aciladas.

**b) Formación desde o-fenilendiamina, ácidos carboxílicos, anhídridos de ácido, ésteres y/o amidas.**

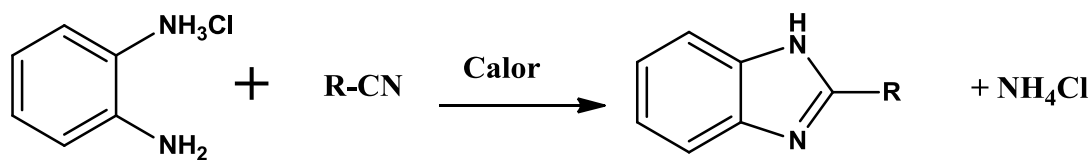
Este método involucra el reflujo de una mezcla equimolar de una o-fenilendiamina con ácidos carboxílicos, anhídridos de ácido o amidas en ácido clorhídrico diluido. En general los sistemas que en R2 presentan grupos alifáticos, tiene mejor rendimiento que los sistemas aromáticos (Figura 14).



**Figura 14:** Obtención de benzimidazoles a partir de o-fenilendiamina, ácidos carboxílicos, anhídridos de ácido, ésteres y/o amidas.

**c) Formación desde o-fenilendiaminas y nitrilos.**

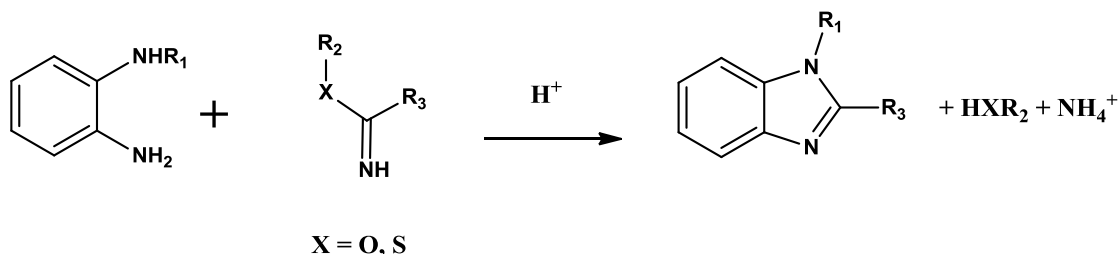
El calentamiento del monoclóhidrato de o-fenilendiamina con un nitrilo alifático o aromático a 200°C lleva a la formación de benzimidazoles sustituidos en posición 2. La presencia de ácido (como clorhidrato) es fundamental para que la reacción se lleve a cabo (Figura 15).



**Figura 15:** Obtención de benzimidazoles a partir de o-fenilendiamina y nitrilos.

**d) Formación desde o-fenilendiaminas y ésteres imínicos o tioésteres.**

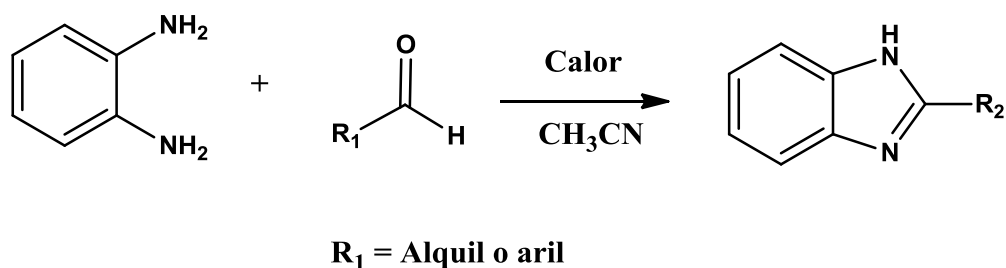
La mezcla de o-fenilendiamina sustituida y un éster imínico o un tioéster imínico en medio alcohólico con dos equivalentes de ácido lleva a la obtención de benzimidazoles sustituidos en posiciones 1 y 3 con formación de la sal de amonio y del respectivo alcohol o tioalcohol. Se ha visto que la adición de más de dos equivalentes de ácido reduce considerablemente el rendimiento (Figura 16).



**Figura 16:** Obtención de benzimidazoles a partir de o-fenilendiamina y ésteres imínicos o tioésteres.

**e) Formación desde o-fenilendiamina y aldehídos.**

Los aldehídos reaccionan con o-fenilendiaminas o derivados para formar benzimidazoles 2-sustituidos o benzimidazoles 1,2-disustituidos (Figura 17). Las condiciones oxidantes que requieren estas reacciones provienen del oxígeno del aire o más convenientemente de un agente oxidante adicionado al medio de reacción.



**Figura 17:** Obtención de benzimidazoles a partir de o-fenilendiamina y aldehídos.

## II. HIPOTESIS Y OBJETIVOS

### 2.1 Hipótesis.

Basados en un cálculo predictivo previamente realizado por nuestro grupo de investigación mediante 3D-QSAR, postulamos que el acomplamiento del heterociclo benzimidazol a un fragmento de feniletanolamina, genera compuestos con actividad beta 3 adrenérgica, que puede medirse mediante experimentos de quema de grasa en ratas.

### 2.2 Objetivos

#### 2.2.1 Sintéticos:

- Sintetizar mediante reacciones clásicas de condensación (Philips) 2-alkilbenzimidazoles
- Acoplar el fragmento benzimidazólico a óxido de estireno para obtener los productos finales benzoimidazo-alkileletanolamina.

#### 2.2.2 Biológicos:

- Evaluar el efecto termogénico de los compuestos sintetizados en experimentos en rata.

#### 2.2.3. Computacional:

- Realizar un cálculo *abinitio* de reactividad que permita proponer una futura expansión de la serie de compuestos a sintetizar.

### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. Materiales y métodos químicos

**Reactivos:** Todos los reactivos y solventes utilizados de calidad PA fueron adquiridos desde Sigma-Aldrich<sup>®</sup> y/o Merck<sup>®</sup>. Los solventes adquiridos en grado técnico fueron purificados por destilación fraccionada y luego secados con sulfato de sodio anhidro para su uso en cromatografía en capa fina, en placas preparativas y en columna.

**Punto de fusión (p.f.):** Se determinó el punto de fusión de los productos utilizando el aparato Stuart Scientific SMP3, se reportaron sus valores no corregidos.

**Espectros de Resonancia Magnética Nuclear (<sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C RMN):** Se registraron en un espectrofotómetro Bruker<sup>®</sup> Avance 400. Los espectros fueron llevados a cabo en diferentes solventes como: cloroformo deuterado (CDCl<sub>3</sub>) al 99,8%, dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d<sub>6</sub>) al 99,9% y agua deuterada (D<sub>2</sub>O) al 99,9%.

**Cromatografía en capa fina:** Se realizaron en cromatofolios de sílica gel de Merck<sup>®</sup> 60F<sub>254</sub>. Se eluyeron con mezclas de acetato de etilo/Etanol en proporciones adecuadas a cada muestra. Los cromatogramas se revelaron con luz ultra violeta (Lámpara UV (254nm y 365nm) Vilber Lourmat).

**Cromatografía en placa preparativa:** Se utilizó sílica gel Merck<sup>®</sup> 60PF<sub>254</sub> con yeso para la preparación de las placas, luego se secaron a temperatura ambiente. Se eluyeron en con mezclas de acetato de etilo/Etanol en proporciones adecuadas a cada muestra y se revelaron con luz ultra violeta (Lámpara UV (254nm y 365nm) Vilber Lourmat). Para identificar cada compuesto. Posteriormente se realizaron lavados con acetona Merck<sup>®</sup> PA, y separó por filtración al vacío en embudo buchner y matraz kitazato utilizando Celite<sup>®</sup>. Todos los productos fueron concentrados bajo presión reducida a 50°C en un rotavapor Heidolph<sup>®</sup>.

**Cromatografía en columna:** Se realizaron con sílica gel Merck<sup>®</sup> 60G (0,032-0,063 nm). Los eluyentes fueron mezclas de diclorometano, acetato de etilo y etanol en gradientes de polaridad. Todos los productos fueron concentrados bajo presión reducida a 50°C en un rotavapor Heidolph<sup>®</sup>.

## **3.2 Materiales y métodos biológicos**

Para la evaluación biológica de los productos sintetizados se llevaron a cabo los siguientes pasos en el laboratorio de Fisiología en la Facultad de ciencias de la universidad de Valparaíso.

### **3.2.1 Diseño Experimental en ratas:**

Para el presente trabajo se utilizaron 10 ratas macho de la cepa Sprague Dawley obtenidas del bioterio de la Facultad de Ciencias, Universidad de Valparaíso. Todos los animales se alojaron en una habitación de temperatura controlada ( $21 \pm 2^\circ\text{C}$ ) bajo un ciclo de luz de 12 horas con las luces encendidas a las 08:00 horas, con comida y agua *ad libitum*. Las ratas fueron alimentadas con comida estándar de control ( $n = 10$ , dieta estándar contiene 13 % Kcal de grasa, Champion SA, Nutrición Animal, Santiago, Chile) durante todo el estudio. Las ratas se dividieron en dos grupos, uno inyectado con 10 miligramos por kilogramo de peso, por vía subcutánea, del compuesto R4DAT y el otro grupo fue inyectado solamente con el vehículo (suero fisiológico). Las ratas fueron pesadas todos los días durante el tratamiento. Después de 10 días de tratamiento, las ratas fueron dejadas en ayunas a las 10:00 horas y sometidas a eutanasia a partir de las 16:00 horas. La glicemia se midió al momento de la eutanasia con cintas reactivas Accucheck performa. Se recolecto y peso la grasa parda o Brown adipose tissue (BAT), la grasa visceral o Visceral adipose tissue (VAT) y la grasa subcutánea.

### **3.2.2. Homogenización de tejido adiposo marrón:**

El objetivo de la homogenización del tejido es romper la membrana plasmática y conseguir que las proteínas y el material intracelular este expuesto en una fase líquida. Dependiendo de la naturaleza del material biológico a homogenizar y el objetivo del experimento se debe elegir la técnica, en este caso se utilizó el mecanismo de fuerzas de cizalladura producidas por líquido con el dispersor como homogeneizador. Es importante tomar en cuenta que el material biológico

es termolábil y degradable por las propias proteasas de degradación intracelular. Por lo tanto, es indispensable en el protocolo la presencia de aditivos en el medio de homogenización para preservar las propiedades funcionales y estructurales de la fracción de interés, controlar la temperatura y el tiempo en cada etapa. Para este experimento las muestras de tejido adiposo marrón fueron almacenadas a  $-80^{\circ}\text{C}$ , de las cuales se pesaron 30 mg de muestra por cada rata ( $n=10$ ) aproximadamente y se le añadió una solución compuesta por 1,47 ml de buffer de lisis RIPA (Radioimmunoprecipitation assay buffer) más 30  $\mu\text{L}$  de inhibidor de proteasa. Posteriormente se homogenizó el tejido y luego se centrifugó a 1000G durante 5 minutos a  $4^{\circ}\text{C}$  en una centrifuga marca Thermo Scientific modelo Legend Micro 17 y se utilizó el sobrenadante para el posterior análisis de los niveles de las proteínas.

### **3.2.3 Cuantificación de proteínas:**

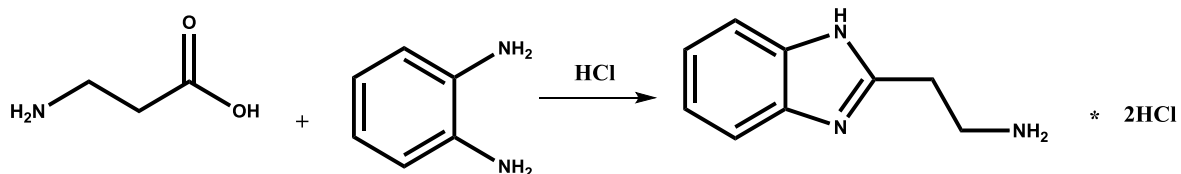
Se utilizó el método de Bradford<sup>47</sup> para determinar la concentración de proteínas. El procedimiento se basa en la formación de un complejo entre el colorante Comassie Blue G-250 y la proteína en solución. El complejo proteína-colorante provoca un cambio en el máximo de absorción del colorante (465-595 nm). De hecho, la cantidad de absorción es proporcional a la proteína presente. El rango de concentración lineal va desde 0.1 a 1.4 mg/ml de proteína utilizando albúmina de suero bovino (BSA) como proteína estándar. El reactivo de Bradford es compatible con agentes reductores (utilizados para estabilizar proteínas en solución) como ventaja ante otros procedimientos similares que no son compatibles (Lowry y BCA). El reactivo de Bradford es compatible únicamente con bajas concentraciones de detergentes. Las ventajas que ofrece es que el reactivo está listo para su uso (no requiere de mezcla o diluciones), con una incubación rápida de cinco minutos se puede proceder a la lectura de la placa, la presencia de azúcares y sustancias reductoras no interfiere con este reactivo, entre otros.

## IV. DESARROLLO EXPERIMENTAL

### 4. Síntesis de los compuestos con cadena de estructura general benzoimidazo-2-alkil-etanolamina.

La síntesis de los compuestos fue realizada en el laboratorio de Química Medicinal de la facultad de Ciencias de la Universidad de Valparaíso Chile.

#### Síntesis de 2-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)etan-1-amina dihidrocloruro.

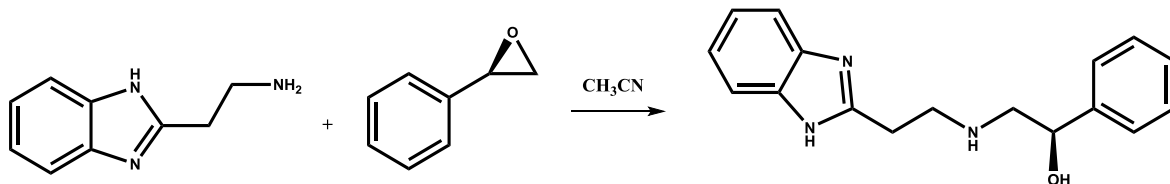


Una solución de 10,8 g (0,1 mol) de o-fenilendiamina y 13,4 g (0,15 moles) de β-alanina en ácido clorhídrico (100 ml, 5,5 M) se mantuvo en agitación y reflujo por 72 horas. El avance de la reacción se siguió mediante cromatografía de placa fina durante el primer día cada 2 horas y los días posteriores cada 12 horas. El crudo de reacción se trató con carbón activo dos veces y se filtró al vacío con papel filtro. Se obtuvo un sólido cristalino de color blanco, 18,3468 g, con 75,8% de rendimiento.

Para generar la base libre respectiva, un gramo de 2-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)-etan-1-amina dihidrocloruro se disolvió en la mínima cantidad de agua y se llevó a pH 10 utilizando una solución saturada de hidróxido de sodio. Se realizaron 10 extracciones con acetato de etilo (50 ml cada una), se desechó la fase acuosa. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó a sequedad, obteniendo 0,4125 g de 2-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)etan-1-amina en su forma de base libre.

%Rendimiento = 75.8%. Pto. fus. = 256.0. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.58 (dd, J = 6.2, 3.2 Hz, 2H), 7.42 (dd, J = 6.2, 3.2 Hz, 2H), 3.61 – 3.38 (m, 4H). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 148.34, 130.49, 126.38, 113.74, 36.51, 24.41. Anal. Elem. C, 67.06; H, 6.88; N, 26.07. IR, 3381.

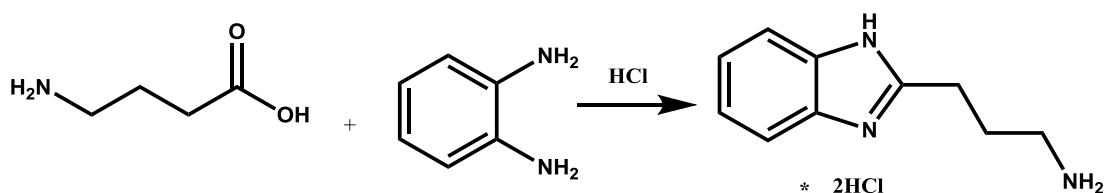
### Síntesis de (1*R*)-2-[[2-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)etil]amino]-1-feniletanol.



Una solución de 2-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)etan-1-amina en su forma de base libre (0,4125g) y 2-feniloxirano (0,3074 g, 1 equivalente) en acetonitrilo (50ml) se mantuvo en agitación y reflujo por un periodo de 1 hora. El avance de la reacción se siguió mediante el uso de cromatografía en placa fina a 15, 30, 45 y 60 minutos, evaporando el crudo de reacción hasta sequedad. El sólido resultante se enjuagó tres veces con hexano (30 ml cada enjuague) y se disolvió en la mínima cantidad de diclorometano. Se purificó por cromatografía de columna utilizando como fase móvil mezclas de diclorometano, acetato de etilo y etanol en polaridades crecientes. El disolvente se evaporó a sequedad obteniéndose un sólido de color blanco, 0,2314g con 32% de rendimiento.

% Rendimiento= 32%. Pto. Fus=230.1 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.64 (dd, J = 6.2, 3.1 Hz, 2H), 7.44 (dd, J = 6.2, 3.1 Hz, 2H), 7.39 – 7.29 (m, 5H), 5.00 (dd, J = 8.9, 3.9 Hz, 1H), 3.64 – 3.51 (m, J = 6.0 Hz, 4H), 3.40 – 3.27 (m, 2H). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 148.69, 139.27, 132.02, 129.06, 128.92, 125.99, 125.79, 114.02, 68.84, 53.26, 44.36, 23.57. Anal. Elem. C, 72.57; H, 6.81; N, 14.94; O, 5.69. IR, 3422.

### Síntesis de 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)propan-1-amina dihidrocloruro.

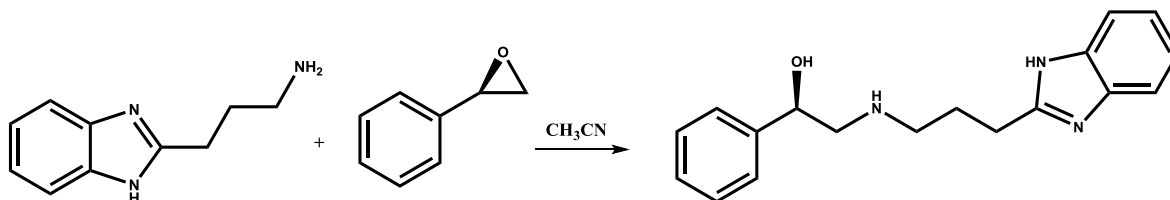


Una solución de 10,8 g (0,1 mol) de o-fenilendiamina y 15,47 g (0,15 moles) de ácido 4-aminobutanóico en ácido clorhídrico (100 ml, 5,5 M) se mantuvo en agitación y reflujo por 72 horas. El avance de la reacción se siguió mediante cromatografía de placa fina durante el primer día cada 2 horas y los días posteriores cada 12 horas. El crudo de reacción se trató con carbón activo dos veces y se filtró al vacío con papel filtro. Se obtuvo un sólido de color rosado claro, 15,5412 g, con 56,6 % de rendimiento.

Para generar la base libre respectiva, un gramo de 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)propan-1-aminadihidrocloruro se disolvió en la mínima cantidad de agua y se llevó a pH 10 utilizando una solución saturada de hidróxido de sodio. Se realizaron 10 extracciones con acetato de etilo (50 ml cada una), se desechó la fase acuosa. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó a sequedad, obteniendo 0,5668 g de 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)propan-1-amina en su forma de base libre.

% Rendimiento= 56.6%. Pto. Fus= 259.1 <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.65 (dd, J = 6.1, 3.2 Hz, 2H), 7.48 (dd, J = 6.1, 3.2 Hz, 2H), 3.29 – 3.19 (t, J= 7.96 Hz, 2H), 3.14 – 3.03 (t, J= 7.85 Hz, 2H), 2.28 – 2.16 (m, 4H). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 151.4, 138.9, 123.0, 115.2, 41.6, 31.4, 26.3. Anal. Elem. C, 68.54; H, 7.48; N, 23.98. IR. 2976.

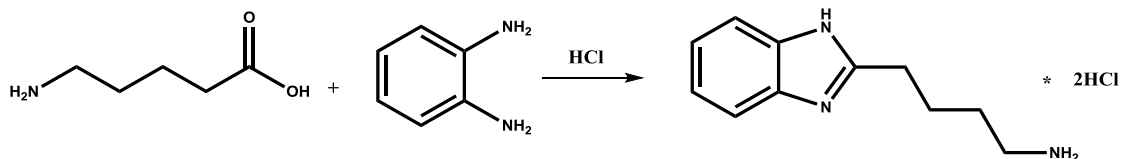
### Síntesis de (R)-2-((3-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)propil)amino)-1-feniletan-1-ol.



Una solución de 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)propan-1-amina en su forma de base libre (0,5668 g) y 2-feniloxirano (0,3886 g, 1 equivalente) en acetonitrilo (50ml) se mantuvo en agitación y reflujo por un periodo de 1 hora. El avance de la reacción se siguió mediante el uso de cromatografía en placa fina a 15, 30, 45 y 60 minutos, evaporando el crudo de reacción hasta sequedad. El sólido resultante se enjuagó tres veces con hexano (30 ml cada enjuague) y se disolvió en la mínima cantidad de diclorometano. Se purificó por cromatografía de columna utilizando como fase móvil mezclas de diclorometano, acetato de etilo y etanol en polaridades crecientes. El disolvente se evaporó a sequedad obteniéndose un sólido de color rosado pálido, 0,3495 g con 36,6% de rendimiento.

% Rendimiento= 36,6%. Pto. Fus.= 91,0. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 7.49 – 7.40 (m, 4H), 7.36 – 7.25 (m, 1H), 7.10 (dd, J = 5.9, 2.9 Hz, 4H), 3.21 (t, J = 6.6 Hz, 2H), 3.12 (dd, J = 12.9, 6.6 Hz, 1H), 2.89 – 2.75 (m, 4H), 2.51 (s, 2H). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO) δ 169.61, 166.66, 155.56, 155.12, 129.27, 126.38, 124.68, 121.50, 50.42, 38.66, 31.14, 23.08, 18.66. Anal. Elem. C, 73.19; H, 7.17; N, 14.23; O, 5.42. IR, 3058.

### Síntesis de 4-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)butan-1-amina dihidrocloruro.

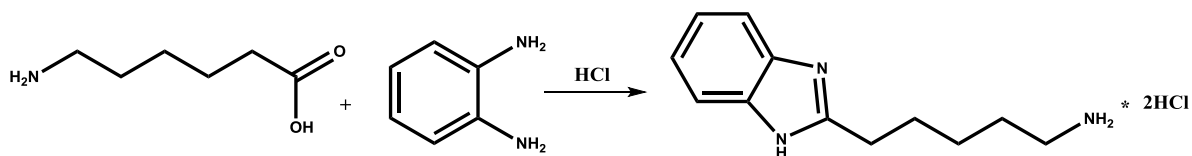


Una solución de 10,8 g (0,1 mol) de o-fenilendiamina y 17,57 g (0,15 moles) de ácido 5-aminopentanoico en ácido clorhídrico (100 ml, 5,5 M) se mantuvo en agitación y reflujo por 72 horas. El avance de la reacción se siguió mediante cromatografía de placa fina durante el primer día cada 2 horas y los días posteriores cada 12 horas. El crudo de reacción se trató con carbón activo dos veces y se filtró al vacío con papel filtro. Se obtuvo un sólido de color rosado claro, 16,439 g, con 57,9% de rendimiento.

Para generar la base libre respectiva, un gramo de 4-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)butan-1-aminadihidrocloruro se disolvió en la mínima cantidad de agua y se llevó a pH 10 utilizando una solución saturada de hidróxido de sodio. Se realizaron 10 extracciones con acetato de etilo (50 ml cada una), se desechó la fase acuosa. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó a sequedad, obteniendo 0,3936 g de 4-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)butan-1-amina en su forma de base libre.

% Rendimiento= 57,9. Pto. Fus.= 268.1. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.71 – 7.66 (m, 2H), 7.53 – 7.48 (m, 2H), 2.98 (t, J = 6.3 Hz, 2H), 2.31 (t, J = 7.2 Hz, 2H), 1.56 – 1.15 (m, 2H). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO) δ 151.14, 138.9, 123.0, 115.2, 42.0, 32.3, 28.0, 28.9. Anal. Elem. C, 69.81; H, 7.99; N, 22.20. IR. 3296.

### Síntesis de 5-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)pentan-1-amina dihidrocloruro.

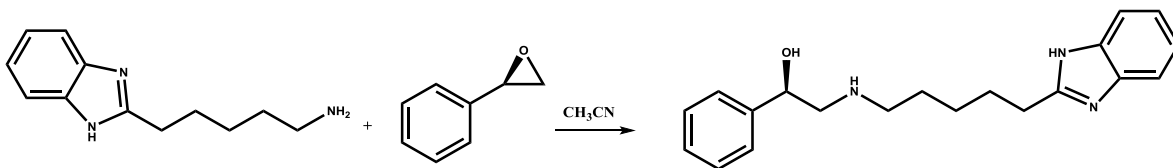


Una solución de 10,8 g (0,1 mol) de o-fenilendiamina y 19,677 g (0,15 moles) de ácido 6-aminohexanoico en ácido clorhídrico (100 ml, 5,5 M) se mantuvo en agitación y reflujo por 72 horas. El avance de la reacción se siguió mediante cromatografía de placa fina durante el primer día cada 2 horas y los días posteriores cada 12 horas. El crudo de reacción se trató con carbón activo dos veces y se filtró al vacío con papel filtro. Se obtuvo un sólido de color rosado claro, 10,5102 g, con 34,6% de rendimiento.

Para generar la base libre respectiva, un gramo de 5-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)pentan-1-aminadihidrocloruro se disolvió en la mínima cantidad de agua y se llevó a pH 10 utilizando una solución saturada de hidróxido de sodio. Se realizaron 10 extracciones con acetato de etilo (50 ml cada una), se desechó la fase acuosa. La fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó a sequedad, obteniendo 0,7151 g de 5-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)pentan-1-amina en su forma de base libre.

% Rendimiento= 34,6%. Pto.Fus= 247,0. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.60 (dd, J = 6.1, 3.1 Hz, 2H), 7.43 (dd, J = 6.1, 3.1 Hz, 2H), 3.09 (t, J = 7.6 Hz, 2H), 2.90 (t, J = 7.4 Hz, 2H), 1.91 – 1.77 (m, 2H), 1.66 – 1.60 (m, 2H), 1.45 – 1.36 (m, 2H). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO) δ 151.4, 138.9, 123.0, 115.2, 42.0, 32.7, 29.2, 26.3, 22.2. Anal. Elem. C, 70.90; H, 8.43; N, 20.67. IR. 3219.

### Síntesis de (R)-2-((5-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)pentil)amino)-1-feniletan-1-ol.



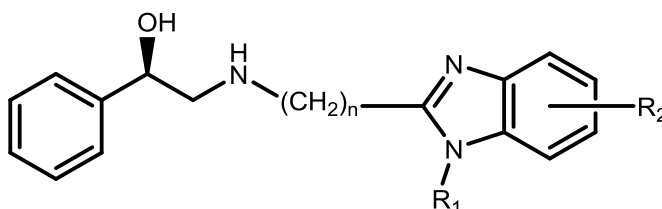
Una solución de 5-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)pentan-1-amina en su forma de base libre (0,7151 g) y 2-feniloxirano (0,4226 g, 1 equivalente) en acetonitrilo (50ml) se mantuvo en agitación y reflujo por un periodo de 1 hora. El avance de la reacción se siguió mediante el uso de cromatografía en placa fina a 15, 30, 45 y 60 minutos, evaporando el crudo de reacción hasta sequedad. El sólido resultante se enjuagó tres veces con hexano (30 ml cada enjuague) y se disolvió en la mínima cantidad de diclorometano. Se purificó por cromatografía de columna utilizando como fase móvil mezclas de diclorometano, acetato de etilo y etanol en polaridades crecientes. El disolvente se evaporó a sequedad obteniéndose un sólido de color rosado claro, 0,6732 g con 59,2% de rendimiento.

% Rendimiento= 59,2%. Pto. Fus= 138,1. <sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.22 (s, 1H), 7.49 – 7.16 (m, 9H), 5.11 (s, 1H), 4.60 (dd, J = 7.7, 4.9 Hz, 1H), 3.52 – 3.19 (m, 2H), 2.84 – 2.65 (m, 2H), 2.62 – 2.54 (m, 2H), 1.85 – 1.55 (m, 2H), 1.48 – 1.12 (m, 4H). <sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO) δ 169.24, 164.84, 161.40, 160.71, 149.16, 146.11, 137.61, 132.82, 130.97, 127.91, 127.64, 125.64, 121.12, 110.77, 77.67, 77.67, 77.34, 39.92, 39.92, 39.29, 39.08. Anal. Elem. C, 74.27; H, 7.79; N, 12.99; O, 4.95. IR. 3422.

## V. RESULTADOS Y DISCUSION

### 5.1 Parte Química:

Se logró llevar a cabo la síntesis de cuatro compuesto con cadena de estructura general benzoimidazo-2-alkil-etanolamina que presentan la estructura que se muestra en la **figura 18** , en el cual se modificó el largo de la cadena “n”.



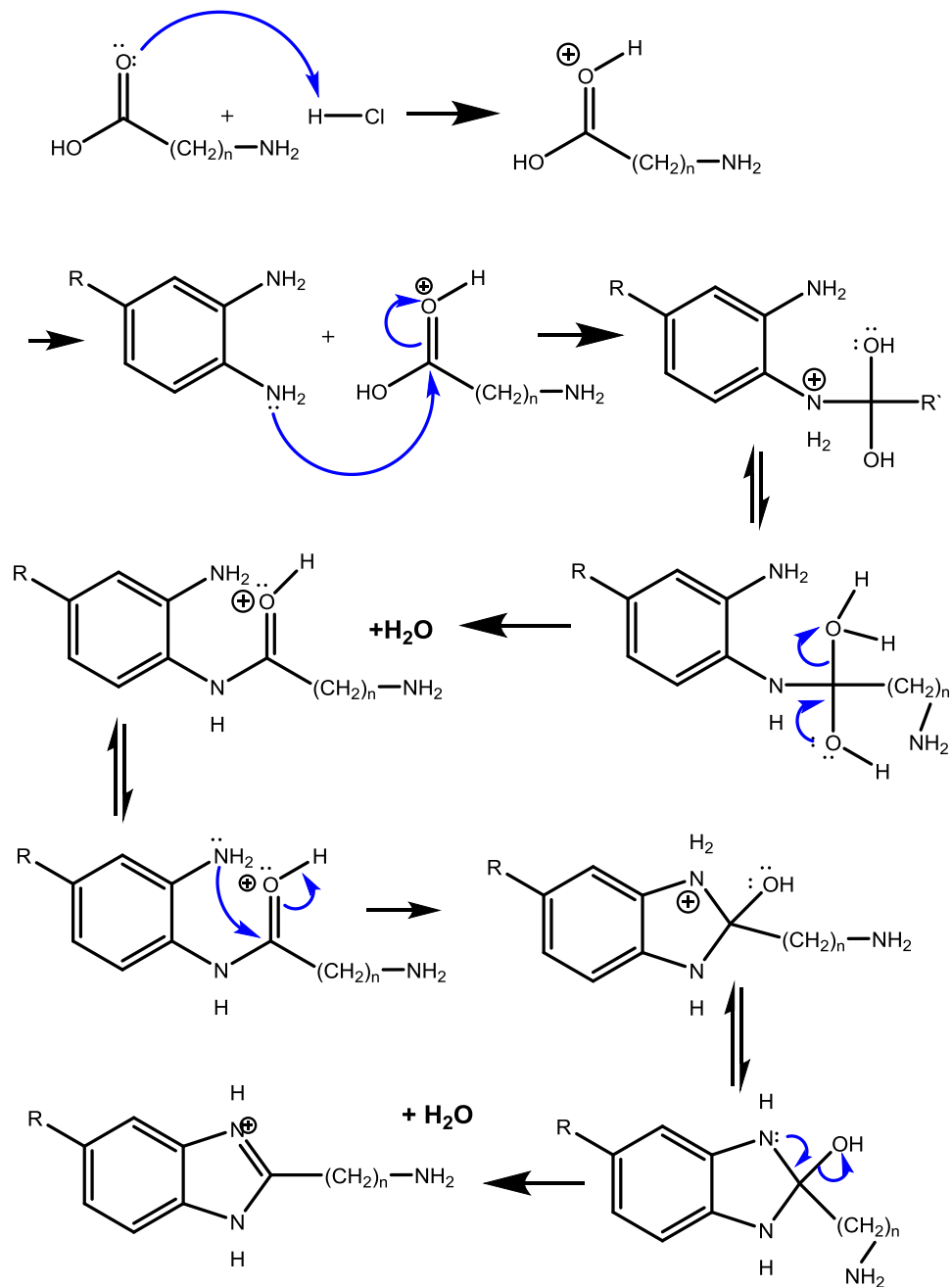
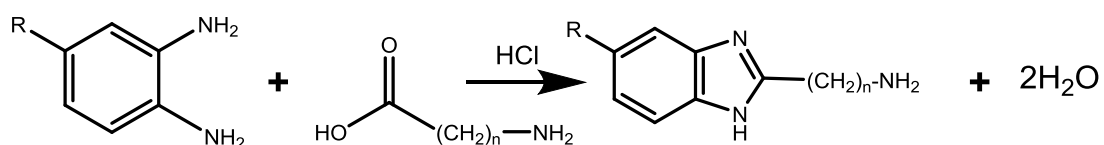
**Figura 18:** Estructura general de los compuestos sintetizados

Para la obtención de los derivados 2-alkilaminobenzimidazol de partida se empleó el procedimiento de Phillips (**figura 19**), el cual se sustenta del principio en que las constantes de equilibrio cambian en función de la temperatura del sistema estudiado de acuerdo a la ecuación de Arrhenius. A elevadas temperaturas los equilibrios ácido-base pierden importancia para dar lugar al ataque nucleofílico del grupo amino sobre el carbonilo activado del ácido carboxílico, lo que genera la amida intermediaria que posteriormente sufre el ataque intramolecular del segundo grupo amino de la o-fenilendiamina, ciclándose gracias a la deshidratación del intermediario carbinolamina, actuando como fuerza motriz de la reacción la aromatización final del sistema benzimidazólico.

La síntesis de la serie de 2-alkilaminobenzimidazoles se llevó a cabo entre la reacción de ortofenilendiamina y aminoácidos varios (especificados en la parte experimental del presente trabajo) en ácido clorhídrico 5.5 M, en agitación y reflujo durante 72 horas de reacción. El crudo obtenido se trató con carbón activo dos veces y se filtró al vacío con papel filtro. Para generar las bases libres respectivas, el crudo filtrado se disolvió en una mínima cantidad de agua

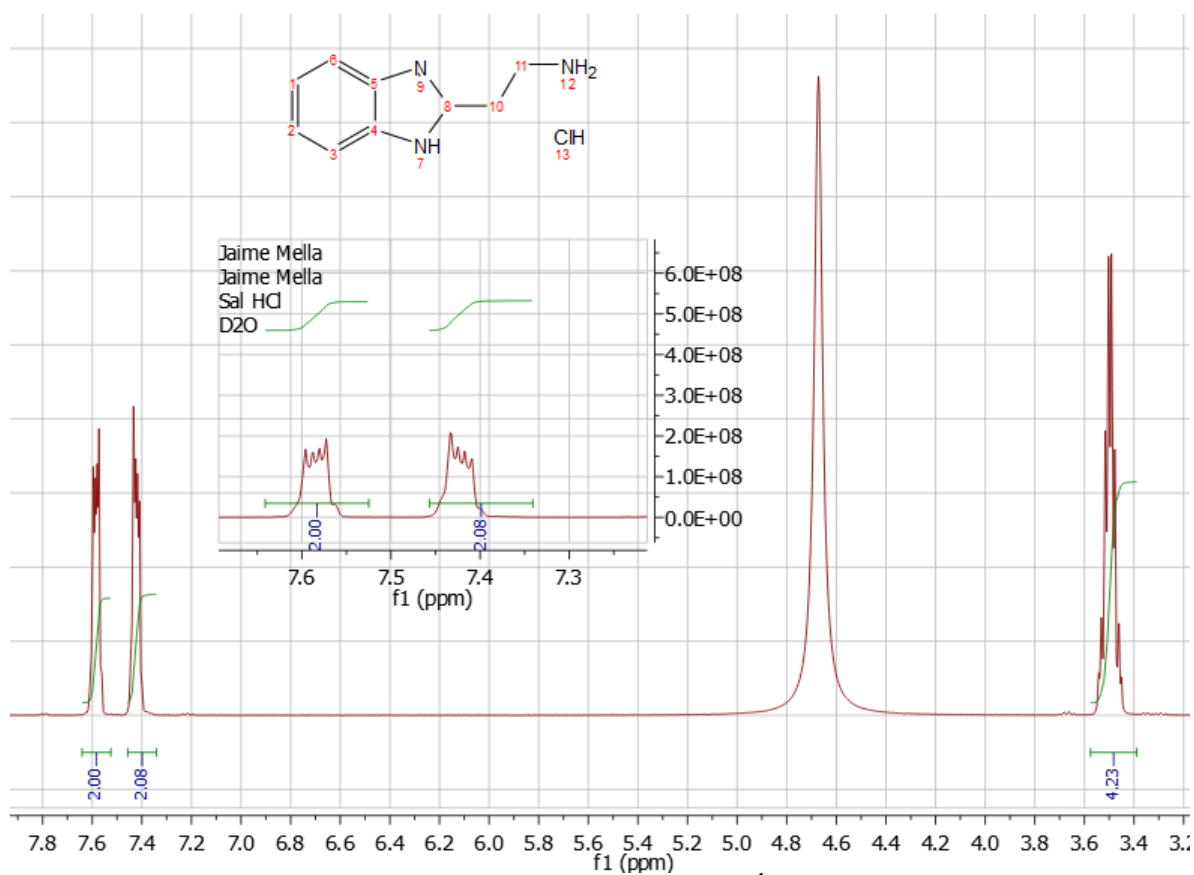
y se llevó a pH 10 utilizando una solución saturada de hidróxido de sodio. Posteriormente, se realizaron 10 extracciones con acetato de etilo (50 ml cada una), se desechó la fase acuosa y la fase orgánica se secó con sulfato de sodio anhidro y se evaporó a sequedad.

Dentro de los inconvenientes de esta reacción se halló el hecho del tiempo excesivamente extenso para la obtención de los derivados (72 h), los rendimientos no superiores al 80%, y la descomposición que se observó en algunos derivados de ortofenilendiamina por el efecto térmico. No obstante, lo anterior, el hecho de ser un método económico y que permite en una sola etapa generar los derivados de partida, justifica con creces su utilización en esta investigación. En futuros trabajos de tesis se evaluará el uso de esta reacción bajo irradiación de microondas.



**FIGURA 19:** Mecanismo de ciclación mediante el procedimiento de Phillips

En la figura 20 se muestra el espectro de protón en agua deuterada para el compuesto de partida de 2-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)etan-1-amina como clorhidrato, con un conector entre el benzimidazol y el grupo amino de 2 carbonos. Se puede apreciar el patrón aromático del núcleo benzimidazol entre 7.4-7.6 ppm, que corresponden respectivamente a los protones de las posiciones 3- y 6-, y 1- y 2-. En el centro de la figura se muestra una ampliación de la zona aromática que muestra la naturaleza de doble doblete de cada señal. Por otra parte en 3.5 ppm se aprecia un multiplete que integra para los 4 protones alquílicos.



**Figura 20:** Espectro de RMN de protón ( $H^1$ ) del compuesto 2-(1H-benzo[d]imidazol-2-il) etan-1-amina.

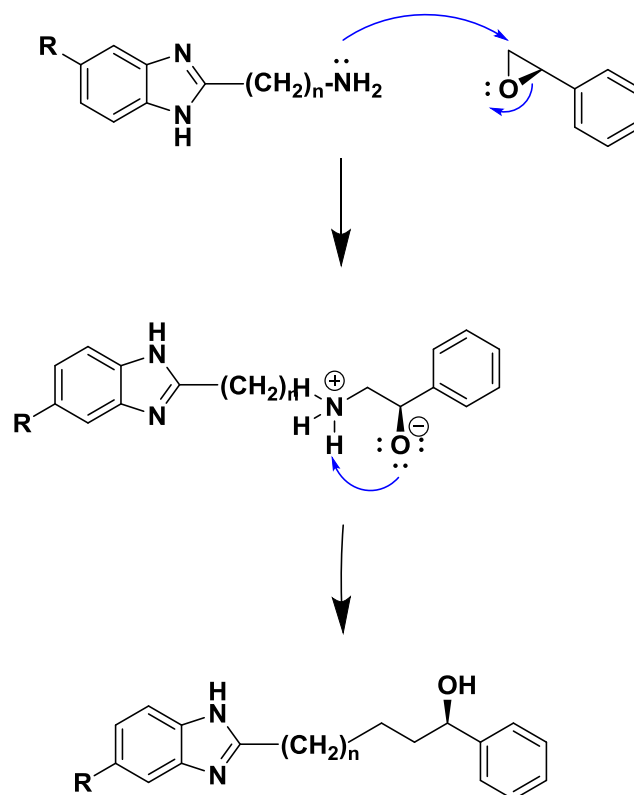
## **Síntesis de derivados *N*-(benzoimidazo-2-alquil)-feniletanolamina**

Finalmente, la obtención de los derivados quirales *N*-(benzoimidazo-2-alquil)-feniletanolamina se consiguió gracias a la reacción entre (*R*)-2-feniloxirano comercialmente disponible y la serie de benzoimidazo-2-alquil-etanoaminas (figura 21). El mecanismo de la reacción transcurre a través del ataque nucleofílico de la amina alquílica sobre el carbono metílico del feniloxirano, lo que genera la apertura del epóxido con retención de la configuración absoluta en el carbono quiral. Se estudiaron distintos disolventes y tiempos de reacción, encontrándose que los disolventes polares apróticos como THF y acetonitrilo presentaron los mejores rendimientos, lo que se explica dado el carácter  $S_N2$  de esta reacción. La apertura del epóxido a través del carbono quiral no fue observada.

El procedimiento general de la reacción entre (*R*)-2-feniloxirano y la serie de benzoimidazo-2-alquil-etanoaminas se llevó a cabo en 50 ml de acetonitrilo y se mantuvo en agitación y reflujo durante 1 hora. El avance de la reacción se siguió mediante cromatografía de capa fina a los 15, 30, 45 y 60 minutos, evaporando el crudo de la reacción hasta sequedad. El sólido resultante se enjuaga tres veces con hexano (30 ml cada enjuague) y se disolvió en una mínima cantidad de diclorometano y fueron purificados por cromatografía de columna con gradiente de polaridad.

Con respecto al seguimiento cromatográfico de la reacción, siempre mostraba una mancha adicional al producto en muy baja cantidad, lo que eventualmente puede corresponder al producto formado por el ataque nucleofílico de un nitrógeno benzimidazólico hacia el epóxido.

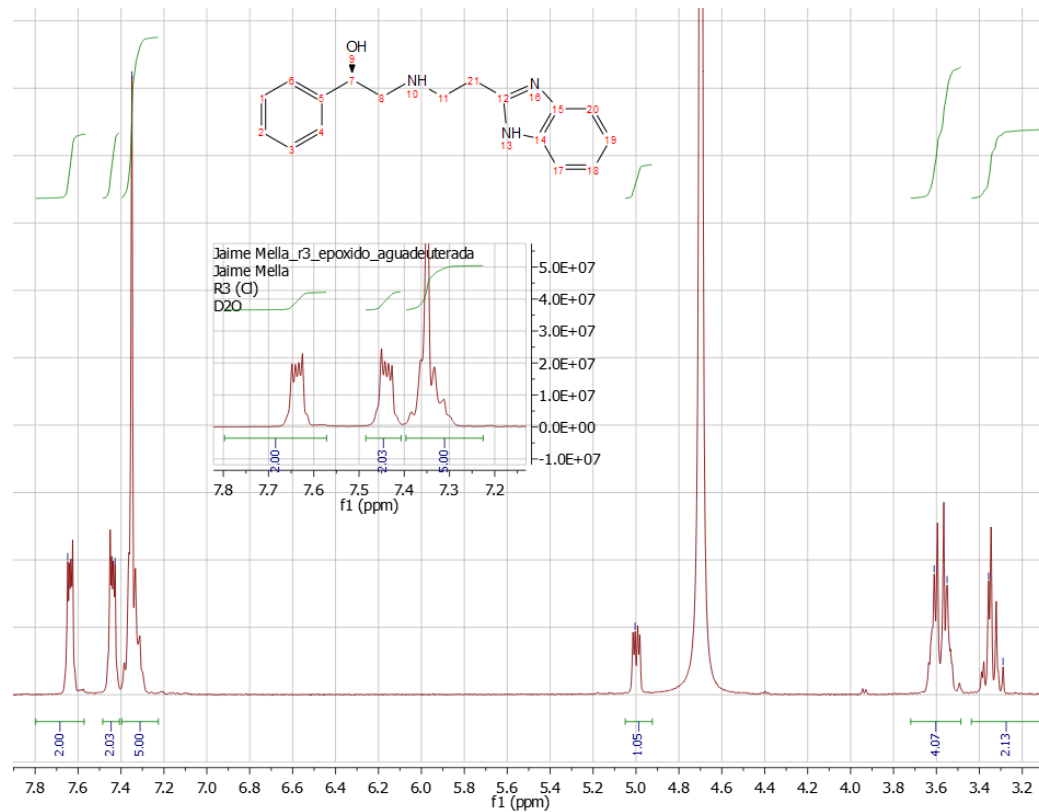
La presencia persistente de restos de epóxido (líquido) al final de las reacciones, demandó un extenso trabajo de purificación por enjuagues con hexano y cromatografía en columna y capa preparativa.



**Figura 21:** Mecanismo de reacción de 2-feniloxirano y benzoimidazo-2-alkil-etanoamina.

En la **Figura 22** se muestra el espectro de protón en agua deuterada para el compuesto final (1*R*)-2-[[2-(1*H*-benzo[*d*]imidazol-2-il)etil]amino]-1-feniletanol como clorhidrato, con un conector entre el benzimidazol y el grupo amino de 2 carbonos. Se puede apreciar el patón aromático del núcleo benzimidazol entre 7.4-7.6 ppm que corresponden respectivamente a los protones de las posiciones 3 y 6, y 1 y 2 del benzoimidazol y un nuevo multiplete en 7.3 ppm al cual corresponden respectivamente a los 5 protones aromáticos perteneciente al fragmento fenil-etanol-amina formado. Cabe destacar la importancia de la nueva señal en 5 ppm correspondiente al protón del carbono vecino al hidroxilo del fragmento feniletanolamina, la cual permite confirmar el ataque nucleofílico del benzimidazol de partida al carbono asimétrico del feniloxirano. Por otra parte

en 3.6 ppm se aprecia un multiplete que integra para los 4 protones alquílicos y en 3.3 los protones del carbono vecino al grupo amino del fragmento feniletanolamina.



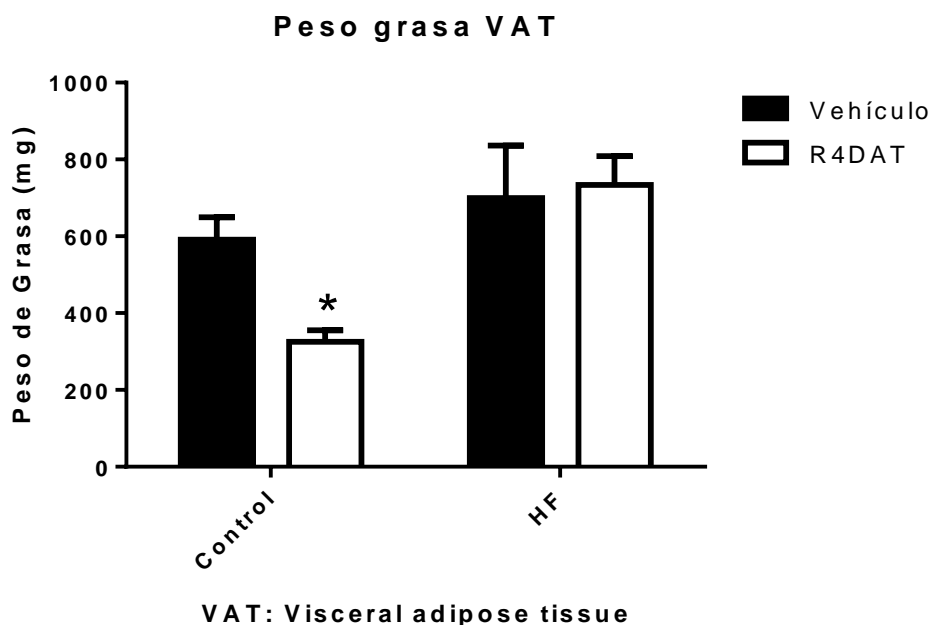
**Figura 22:** Espectro de RMN de protón ( $\text{H}^1$ ) de (1R)-2-[[2-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)etil]amino]-1-feniletanol. En el centro de la figura se muestra una ampliación de la zona aromática que muestra la naturaleza de doble doblete de cada señal y el multiplete correspondiente al fenilo del fragmento fenil-etanol-amina.

## 5.2. Evaluación Biológica

Uno de los compuestos sintetizados (que abreviaremos como R4-DAT) fue empleado en una serie de ensayos biológicos con el fin de evaluar el perfil agonista  $\beta_3$ -AR del compuesto. Los experimentos realizados en ratas y los resultados obtenidos se discuten a continuación.

### 5.2.1 Peso corporal de los animales sometidos a la evaluación farmacológica.

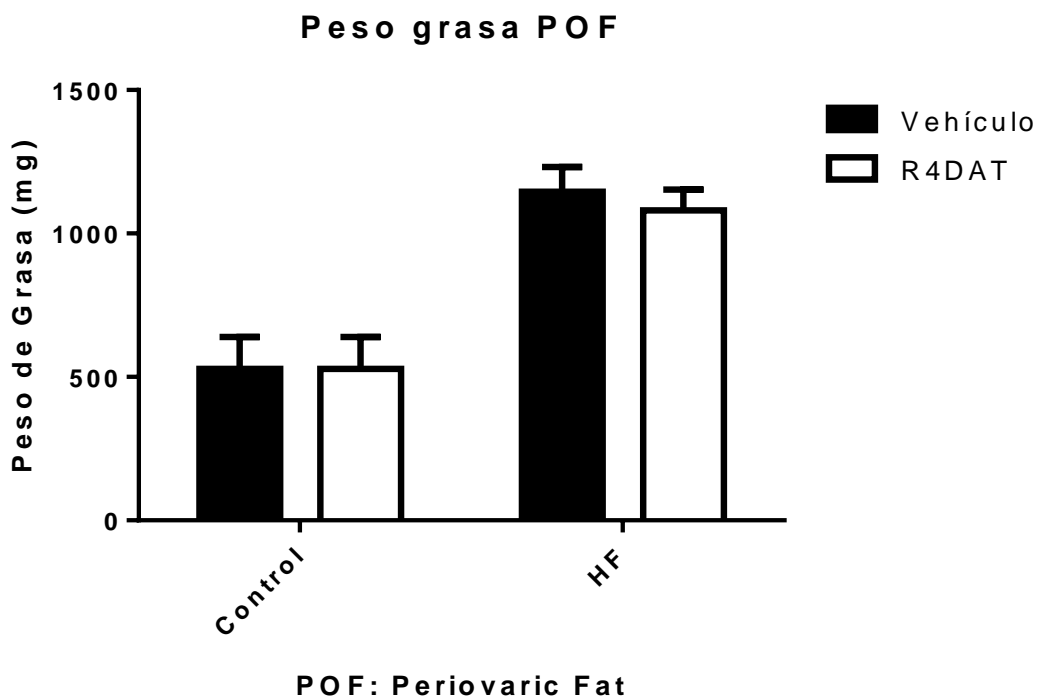
Respecto al peso corporal graso de los animales que estaban suplementados con una dieta estándar, se observa que los animales inyectados con el fármaco control (R4-DAT) tuvieron pérdida de peso estadísticamente significativa de la grasa correspondiente al tejido adiposo visceral respecto al grupo control ( $p < 0.0075$ ) mediante análisis estadístico ANOVA de dos factores (Gráfico 1).



**Gráfico 1:** Relación entre pesos obtenidos de masa grasa visceral expresada en miligramos correspondiente a ambos grupos de estudio suplementada con dieta estándar y dieta alta en grasas e inyectadas con el vehículo y R4DAT.

En cuanto a los resultados obtenidos del peso corporal graso de los animales suplementado con una dieta alta en grasas, se observa que los animales inyectados con el fármaco control (R4-DAT) generan un leve incremento del tejido adiposo visceral con respecto al grupo control inyectado con el vehículo y la dieta alta en grasas (Gráfico 1).

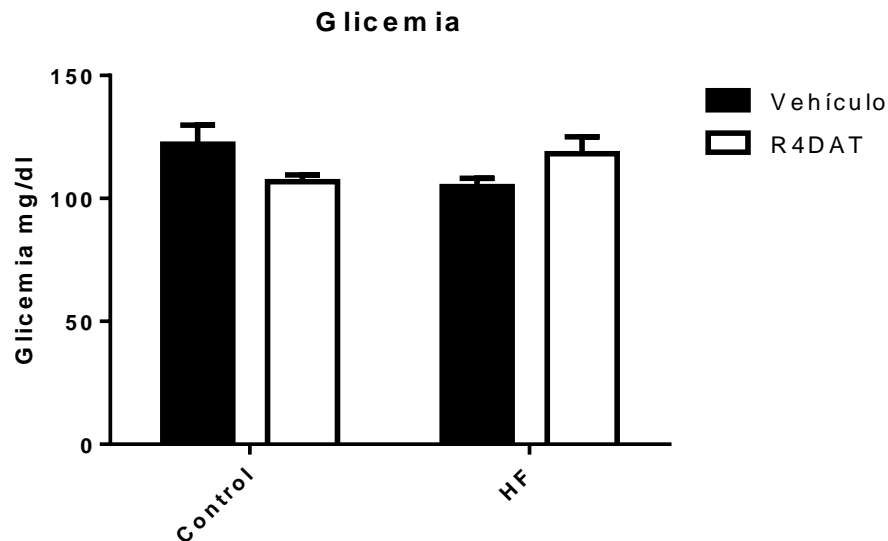
Con respecto a los resultados recopilados, se observa que en la composición de masa grasa periovarica de las ratas hembra no hay diferencia estadísticamente significativa entre los animales suplementados con ambas dietas y el fármaco a evaluar, pero se observa una leve disminución de la grasa en el grupo control de la dieta alta en grasa más el fármaco (Gráfico 2).



**Gráfico 2:** Relación entre pesos obtenidos de masa grasa periovarica expresada en miligramos correspondiente a ambos grupos de estudio suplementados con dieta estándar y dieta alta en grasas e inyectadas con el vehículo y R4DAT.

En cuanto al diseño experimental de dos grupos controles con dietas distintas, se observa que el grupo control suplementado con el fármaco más la dieta alta en grasas genera inconsistencias como modelo experimental, dado que este grupo control incrementa su peso y su glicemia plasmática. Este aspecto podría sugerir que probablemente la alta cantidad de ácidos grasos ingeridos por la dieta no son transportados directa y selectivamente al tejido adiposo marrón como se esperaba, más bien, son almacenados en el tejido adiposo blanco como futura fuente de sustrato energético. Se plantea para futuras investigaciones generar un grupo de ratas control obesas que sean alimentadas con la dieta alta en grasas propuesta durante un mes y posterior a ello, la evaluación farmacológica. Por otro lado, el modelo experimental con ratas control con dieta estándar más el fármaco, demostró una baja de peso significativa en el tejido adiposo visceral (Gráfico 2) y tejido adiposo marrón, en concordancia con lo expuesto en el marco teórico del presente trabajo, se ha observado que el fármaco en estudio puede modular el efecto termogénico en ratas mediante el agonismo del receptor  $\beta_3$ -AR.

Con respecto a la glicemia, se evidencia una disminución en la concentración de glucosa plasmática del grupo de estudio que fue suplementada con la dieta estándar más el fármaco R4DAT.



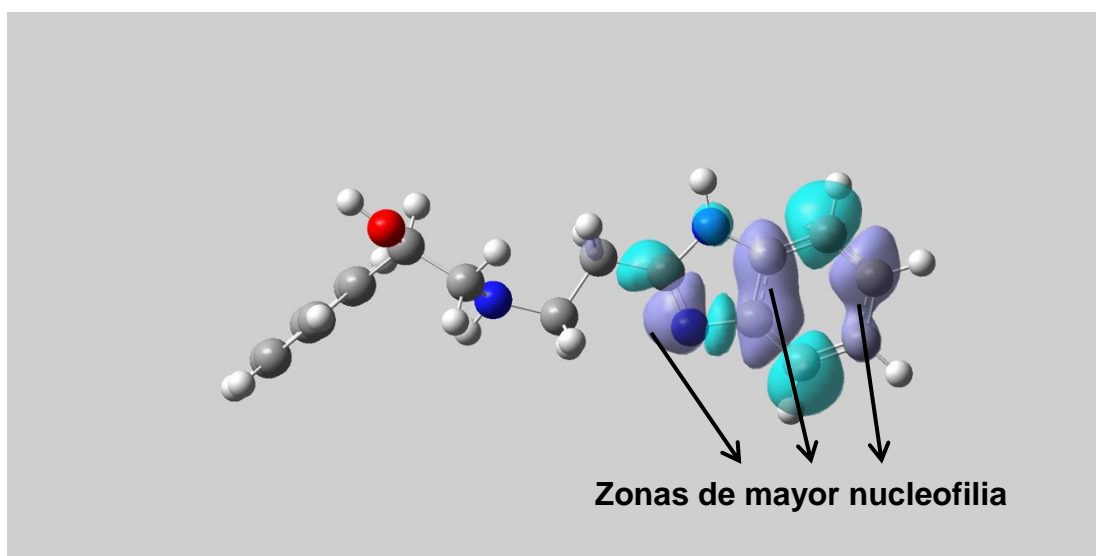
**Gráfico 3:** Relación entre glicemia expresada en miligramos/decilitros y ambos grupos de estudio, suplementada con dieta estándar y dieta alta en grasas e inyectadas con el vehículo y R4DAT.

La disminución de la glicemia en las ratas sometidas a la evaluación evidencia un potencial efecto antidiabético del fármaco en estudio, considerando que las células beta pancreáticas no expresan  $\beta_3$ -AR<sup>32</sup>, no se puede atribuir este efecto a un aumento de la secreción de insulina, por lo tanto, postulamos dos posibles mecanismos. Primero, al aumentar la tasa metabólica por inducción de la termogénesis mediada por  $\beta_3$ -AR, aumenta la liberación de triacilgliceroles en tejido adiposo marrón y blanco<sup>32</sup>, generando un aumento de ácidos grasos plasmáticos y, en consecuencia, desencadena una hiperinsulinemia, esta respuesta fisiológica genera hipoglicemia, lo cual da un sólido argumento con respecto a lo observado en la experimentación. En segundo lugar, la obesidad como tal es una patología que cursa con un proceso denominado resistencia a la insulina, por lo tanto, como consecuencia al agonismo  $\beta_3$ -AR, provoca un aumento de la tasa metabólica, la termogénesis y disminución del tejido graso marrón y blanco, se genera una hiperplasia de las células adiposas marrón debido a un aumento de mitocondrias, lo cual gatilla una sensibilización a la

insulina por parte de las estas células, como también las del tejido músculo esquelético<sup>48</sup>. Por lo tanto, la reducción de glicemia plasmática inducida por  $\beta_3$ -AR se relacionaría como un efecto concomitante a la pérdida de peso, el cual es similar al efecto sensibilizador de insulina generado por agonistas del receptor PPAR- $\gamma$ <sup>32</sup>.



A continuación se realizó un cálculo de Fukui para complementar el cálculo de Mulliken. Éste muestra las zonas de mayor nucleofilia en color morado y las zonas de electrofilia en color calipso en torno al compuesto (**Figura 24**). Se observa que las zonas de mayor nucleofilia se encuentran en el benzimidazol, por lo cual se sugiere alquilar en esta zona (nitrógeno) los compuestos a sintetizar.



**Figura 24:** Distribución electrónica obtenida del cálculo de Fukui

## VI. CONCLUSIONES

1. En este trabajo se logró la síntesis de una serie de compuestos de estructura general *N*-(benzimidazo-2-alkil)-feniletanolamina con potencial actividad beta 3 adrenérgica los cuales fueron diseñados mediante cálculos computacionales 3D-QSAR, los que se realizaron en estudios anteriores.
2. Se llevó a cabo la evaluación biológica del compuesto R4-DAT en el laboratorio de Fisiología Celular de la Universidad de Valparaíso, en donde se demuestra la pérdida de peso y disminución de la glicemia plasmática en ratas, por lo que se postula a esta molécula como un potencial fármaco con actividad beta 3 adrenérgica.
3. Se realizó un cálculo *ab initio* que predice una mejor alquilación en la zona del benzimidazol para R3, con el fin de proponer una nueva serie de moléculas con actividad beta-3 adrenérgica. Esto último se plantea como una proyección del trabajo realizado.

## VII. REFERENCIAS

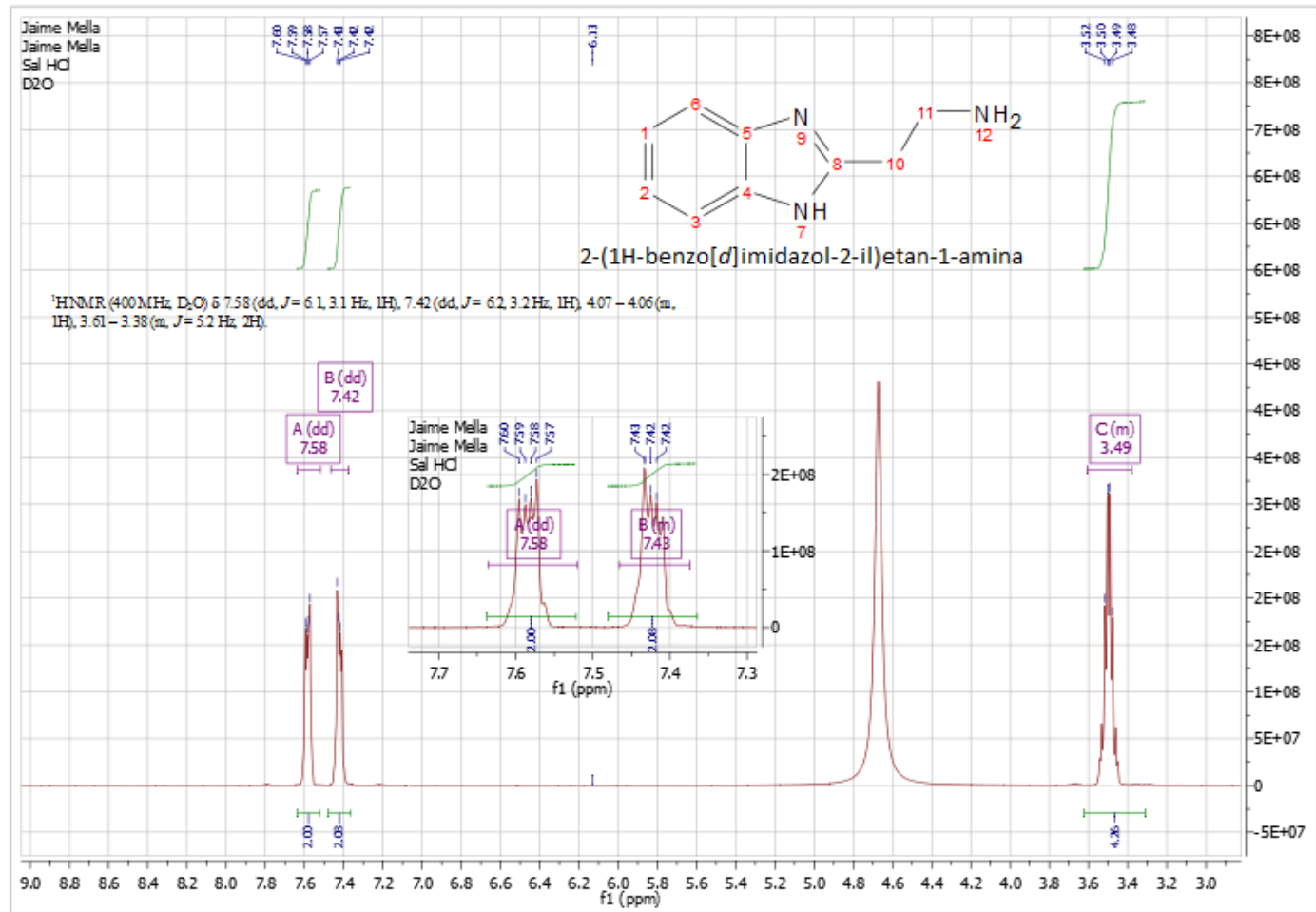
1. Ahlquist, R. P., A study of the adrenotropic receptors. *Am J Physiol* **1948**, *153* (3), 586-600.
2. Lands, A. M.; Arnold, A.; McAuliff, J. P.; Luduena, F. P.; Brown, T. G., Jr., Differentiation of receptor systems activated by sympathomimetic amines. *Nature* **1967**, *214* (5088), 597-8.
3. Arch, J. R.; Ainsworth, A. T.; Cawthorne, M. A.; Piercy, V.; Sennitt, M. V.; Thody, V. E.; Wilson, C.; Wilson, S., Atypical beta-adrenoceptor on brown adipocytes as target for anti-obesity drugs. *Nature* **1984**, *309* (5964), 163-5.
4. Masaki, T.; Vane, J. R.; Vanhoutte, P. M., International Union of Pharmacology Nomenclature of Endothelin Receptors. *Pharmacological Reviews* **1994**, *46* (2), 137-142.
5. Emorine, L. J.; Marullo, S.; Briensutren, M. M.; Patey, G.; Tate, K.; Delavierklutchko, C.; Strosberg, A. D., Molecular Characterization of the Human Beta-3-Adrenergic Receptor. *Science* **1989**, *245* (4922), 1118-1121.
6. Strosberg, A. D., Structure and function of the beta(3)-adrenergic receptor. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology* **1997**, *37*, 421-450.
7. Forrest, R. H.; Hickford, J. G. H., Rapid communication: Nucleotide sequences of the bovine, caprine, and ovine beta(3)-adrenergic receptor genes. *Journal of Animal Science* **2000**, *78* (5), 1397-1398.
8. Strosberg, A. D.; Pietri-Rouxel, F., Function and regulation of the beta 3-adrenoceptor. *Trends Pharmacol Sci* **1996**, *17* (10), 373-81.
9. Edmondson, S. D.; Zhu, C.; Kar, N. F.; Di Salvo, J.; Nagabukuro, H.; Sacre-Salem, B.; Dingley, K.; Berger, R.; Goble, S. D.; Morriello, G.; Harper, B.; Moyes, C. R.; Shen, D. M.; Wang, L. P.; Ball, R.; Fitzmaurice, A.; Frenkl, T.; Gichuru, L. N.; Ha, S.; Hurley, A. L.; Jochowitz, N.; Levorse, D.; Mistry, S.; Miller, R. R.; Ormes, J.; Salituro, G. M.; Sanfiz, A.; Stevenson, A. S.; Villa, K.; Zamlyny, B.; Green, S.; Struthers, M.; Weber, A. E., Discovery of Vibegron: A Potent and Selective beta(3) Adrenergic Receptor Agonist for the Treatment of Overactive Bladder. *Journal of Medicinal Chemistry* **2016**, *59* (2), 609-623.
10. (a) Summers, R. J.; Papaioannou, M.; Harris, S.; Evans, B. A., Expression of beta 3-adrenoceptor mRNA in rat brain. *Br J Pharmacol* **1995**, *116* (6), 2547-8; (b) Rodriguez, M.; Carillon, C.; Coquerel, A.; Lefur, G.; Ferrara, P.; Caput, D.; Shire, D., Evidence for the Presence of Beta-3-Adrenergic Receptor Messenger-Rna in the Human Brain. *Molecular Brain Research* **1995**, *29* (2), 369-375.
11. Stemmelin, J.; Cohen, C.; Terranova, J. P.; Lopez-Grancha, M.; Pichat, P.; Bergis, O.; Decobert, M.; Santucci, V.; Francon, D.; Alonso, R.; Stahl, S. M.; Keane, P.; Avenet, P.; Scatton, B.; le Fur, G.; Griebel, G., Stimulation of the beta(3)-adrenoceptor as a novel treatment strategy for anxiety and depressive disorders. *Neuropsychopharmacology* **2008**, *33* (3), 574-587.

12. Kaumann, A. J., (-)-CGP 12177-induced increase of human atrial contraction through a putative third beta-adrenoceptor. *Br J Pharmacol* **1996**, *117* (1), 93-8.
13. Gauthier, C.; Leblais, V.; Kobzik, L.; Trochu, J. N.; Khandoudi, N.; Bril, A.; Balligand, J. L.; Le Marec, H., The negative inotropic effect of beta3-adrenoceptor stimulation is mediated by activation of a nitric oxide synthase pathway in human ventricle. *J Clin Invest* **1998**, *102* (7), 1377-84.
14. Gauthier, C.; Tavernier, G.; Charpentier, F.; Langin, D.; Le Marec, H., Functional beta3-adrenoceptor in the human heart. *J Clin Invest* **1996**, *98* (2), 556-62.
15. Rozec, B.; Gauthier, C., beta3-adrenoceptors in the cardiovascular system: putative roles in human pathologies. *Pharmacol Ther* **2006**, *111* (3), 652-73.
16. Oriowo, M. A., Different atypical beta-adrenoceptors mediate isoprenaline-induced relaxation in vascular and non-vascular smooth muscles. *Life Sci* **1995**, *56* (15), PL269-75.
17. Berlan, M.; Galitzky, J.; Bousquet-Melou, A.; Lafontan, M.; Montastruc, J. L., Beta-3 adrenoceptor-mediated increase in cutaneous blood flow in the dog. *J Pharmacol Exp Ther* **1994**, *268* (3), 1444-51.
18. Dessy, C.; Moniotte, S.; Ghisdal, P.; Havaux, X.; Noirhomme, P.; Balligand, J. L., Endothelial beta3-adrenoceptors mediate vasorelaxation of human coronary microarteries through nitric oxide and endothelium-dependent hyperpolarization. *Circulation* **2004**, *110* (8), 948-54.
19. Lopez-Canales, O. A.; Castillo-Hernandez, M. C.; Vargas-Robles, H.; Rios, A.; Lopez-Canales, J. S.; Escalante, B., Role of adenylyl cyclase in reduced beta-adrenoceptor-mediated vasorelaxation during maturation. *Braz J Med Biol Res* **2016**, *49* (7).
20. Arch, J. R.; Kaumann, A. J., Beta 3 and atypical beta-adrenoceptors. *Med Res Rev* **1993**, *13* (6), 663-729.
21. Horinouchi, T.; Tanaka, Y.; Koike, K., [Beta 3-adrenoceptor-mediated relaxation of guinea-pig gastric fundus smooth muscle: cAMP-independent characteristics and a primary role of 4-aminopyridine-sensitive voltage-dependent K<sup>+</sup> (K<sub>v</sub>) channels]. *Nihon Yakurigaku Zasshi* **2002**, *120* (1), 109p-111p.
22. Adami, M.; Coruzzi, G.; Sotirov, E.; Bertini, S.; Soldani, G., Pharmacological evidence for beta3 adrenoceptors in the control of rat gastric acid secretion. *Dig Dis Sci* **2003**, *48* (2), 334-9.
23. Shabalina, I.; Wiklund, C.; Bengtsson, T.; Jacobsson, A.; Cannon, B.; Nedergaard, J., Uncoupling protein-1: involvement in a novel pathway for beta-adrenergic, cAMP-mediated intestinal relaxation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* **2002**, *283* (5), G1107-16.
24. Navegantes, L. C.; Resano, N. M.; Baviera, A. M.; Migliorini, R. H.; Kettelhut, I. C., CL 316,243, a selective beta3-adrenergic agonist, inhibits protein breakdown in rat skeletal muscle. *Pflugers Arch* **2006**, *451* (5), 617-24.

25. Danner, I.; Escande, D.; Gauthier, C., Beta(3)-adrenoceptors control Cl(-) conductance in rabbit nasal epithelium. *Eur J Pharmacol* **2001**, *422* (1-3), 203-7.
26. Tamaoki, J.; Yamauchi, F.; Chiyotani, A.; Yamawaki, I.; Takeuchi, S.; Konno, K., Atypical beta-adrenoceptor- (beta 3-adrenoceptor) mediated relaxation of canine isolated bronchial smooth muscle. *J Appl Physiol* (1985) **1993**, *74* (1), 297-302.
27. Martin, C. A.; Advenier, C., Beta 3-adrenoceptors and airways. *Fundam Clin Pharmacol* **1995**, *9* (2), 114-8.
28. Cirino, G.; Sorrentino, R.; di Villa Bianca, R.; Popolo, A.; Palmieri, A.; Imbimbo, C.; Fusco, F.; Longo, N.; Tajana, G.; Ignarro, L. J.; Mirone, V., Involvement of beta 3-adrenergic receptor activation via cyclic GMP- but not NO-dependent mechanisms in human corpus cavernosum function. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2003**, *100* (9), 5531-6.
29. Rouget, C.; Bardou, M.; Breuiller-Fouche, M.; Loustalot, C.; Qi, H.; Naline, E.; Croci, T.; Cabrol, D.; Advenier, C.; Leroy, M. J., Beta3-adrenoceptor is the predominant beta-adrenoceptor subtype in human myometrium and its expression is up-regulated in pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab* **2005**, *90* (3), 1644-50.
30. Bardou, M.; Loustalot, C.; Cortijo, J.; Simon, B.; Naline, E.; Dumas, M.; Esteve, S.; Croci, T.; Chalon, P.; Frydman, R.; Sagot, P.; Manara, L.; Morcillo, E. J.; Advenier, C., Functional, biochemical and molecular biological evidence for a possible beta(3)-adrenoceptor in human near-term myometrium. *Br J Pharmacol* **2000**, *130* (8), 1960-6.
31. Collins, S.; Cao, W.; Robidoux, J., Learning new tricks from old dogs: beta-adrenergic receptors teach new lessons on firing up adipose tissue metabolism. *Mol Endocrinol* **2004**, *18* (9), 2123-31.
32. de Souza, C. J.; Burkey, B. F., Beta 3-adrenoceptor agonists as anti-diabetic and anti-obesity drugs in humans. *Current pharmaceutical design* **2001**, *7* (14), 1433-49.
33. Liu, J.; Zhang, B.; Li, M.; Li, C.; Liu, Y.; Wang, Z.; Wen, J.; Wen, S., [Study on relationship between Trp64Arg polymorphism of beta3-adrenergic receptor gene and obesity and blood lipids]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* **2015**, *95* (20), 1558-62.
34. Deng, C.; Paoloni-Giacobino, A.; Kuehne, F.; Boss, O.; Revelli, J. P.; Moinat, M.; Cawthorne, M. A.; Muzzin, P.; Giacobino, J. P., Respective degree of expression of beta 1-, beta 2- and beta 3-adrenoceptors in human brown and white adipose tissues. *Br J Pharmacol* **1996**, *118* (4), 929-34.
35. Pang, Z.; Wu, N.; Zhang, X.; Avallone, R.; Croci, T.; Dressler, H.; Palejwala, V.; Ferrara, P.; Tocci, M. J.; Polites, H. G., GPR40 is partially required for insulin secretion following activation of beta3-adrenergic receptors. *Mol Cell Endocrinol* **2010**, *325* (1-2), 18-25.
36. Claustre, Y.; Leonetti, M.; Santucci, V.; Bougault, I.; Desvignes, C.; Rouquier, L.; Aubin, N.; Keane, P.; Busch, S.; Chen, Y.; Palejwala, V.; Tocci, M.; Yamdagni, P.; Didier, M.; Avenet, P.; Le Fur, G.; Oury-Donat, F.; Scatton, B.; Steinberg, R., Effects of the beta3-adrenoceptor (Adrb3) agonist SR58611A

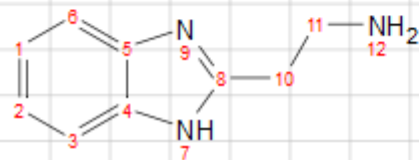
- (amibegron) on serotonergic and noradrenergic transmission in the rodent: relevance to its antidepressant/anxiolytic-like profile. *Neuroscience* **2008**, *156* (2), 353-64.
37. Rodriguez, M.; Carillon, C.; Coquerel, A.; Le Fur, G.; Ferrara, P.; Caput, D.; Shire, D., Evidence for the presence of beta 3-adrenergic receptor mRNA in the human brain. *Brain Res Mol Brain Res* **1995**, *29* (2), 369-75.
38. Nestler, E. J.; Barrot, M.; DiLeone, R. J.; Eisch, A. J.; Gold, S. J.; Monteggia, L. M., Neurobiology of depression. *Neuron* **2002**, *34* (1), 13-25.
39. Hoffmann, C.; Leitz, M. R.; Oberdorf-Maass, S.; Lohse, M. J.; Klotz, K. N., Comparative pharmacology of human beta-adrenergic receptor subtypes--characterization of stably transfected receptors in CHO cells. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* **2004**, *369* (2), 151-9.
40. Perrone, M. G.; Santandrea, E.; Bleve, L.; Vitale, P.; Colabufo, N. A.; Jockers, R.; Milazzo, F. M.; Sciarroni, A. F.; Scilimati, A., Stereospecific synthesis and bio-activity of novel beta(3)-adrenoceptor agonists and inverse agonists. *Bioorg Med Chem* **2008**, *16* (5), 2473-88.
41. Perrone, M. G.; Santandrea, E.; Giorgio, E.; Bleve, L.; Scilimati, A.; Tortorella, P., A chemoenzymatic scalable route to optically active (R)-1-(pyridin-3-yl)-2-aminoethanol, valuable moiety of beta3-adrenergic receptor agonists. *Bioorg Med Chem* **2006**, *14* (4), 1207-14.
42. Nakajima, Y.; Hamashima, H.; Washizuka, K.; Tomishima, Y.; Ohtake, H.; Imamura, E.; Miura, T.; Kayakiri, H.; Kato, M., Discovery of a novel, potent and selective human beta3-adrenergic receptor agonist. *Bioorg Med Chem Lett* **2005**, *15* (2), 251-4.
43. Dow, R. L.; Paight, E. S.; Schneider, S. R.; Hadcock, J. R.; Hargrove, D. M.; Martin, K. A.; Maurer, T. S.; Nardone, N. A.; Tess, D. A.; DaSilva-Jardine, P., Potent and selective, sulfamide-based human beta 3-adrenergic receptor agonists. *Bioorg Med Chem Lett* **2004**, *14* (12), 3235-40.
44. Popp, B. D.; Hutchinson, D. S.; Evans, B. A.; Summers, R. J., Stereoselectivity for interactions of agonists and antagonists at mouse, rat and human beta3-adrenoceptors. *Eur J Pharmacol* **2004**, *484* (2-3), 323-31.
45. Maack, C.; Tyroller, S.; Schnabel, P.; Cremers, B.; Dabew, E.; Sudkamp, M.; Bohm, M., Characterization of beta(1)-selectivity, adrenoceptor-G(s)-protein interaction and inverse agonism of nebivolol in human myocardium. *Br J Pharmacol* **2001**, *132* (8), 1817-26.
46. Hoffmann, C., The chemistry of heterocyclic compounds: imidazoles and its derivatives. In *The chemistry of heterocyclic compounds: imidazoles and its derivatives*, John Wiley & Sons, Inc: Hoboken, NJ, USA. , 1953; Vol. part. I, pp 247-324.
47. Bradford, M. M., A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem* **1976**, *72*, 248-54.
48. Yen, T. T., The antiobesity and metabolic activities of LY79771 in obese and normal mice. *Int J Obes* **1984**, *8* (1), 69-78.

# ANEXOS.

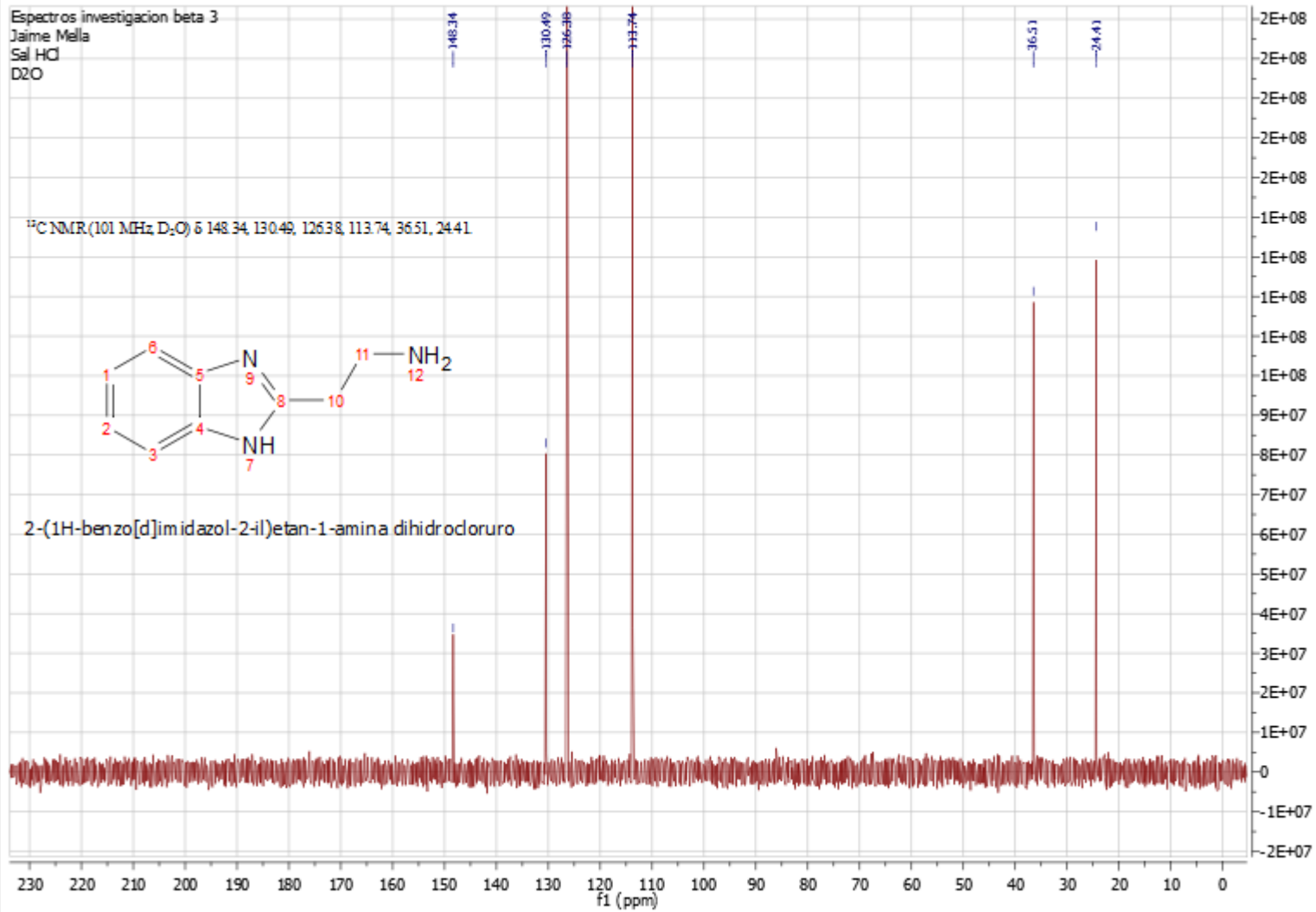


Espectros investigacion beta 3  
Jaime Mella  
Sal HCl  
D2O

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  148.34, 130.49, 126.38, 113.74, 36.51, 24.41



2-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)etan-1-amina dihidrocloruro



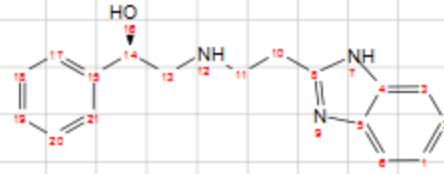
Jaime Mella\_r3\_epoxido\_aguadeuterada

Jaime Mella

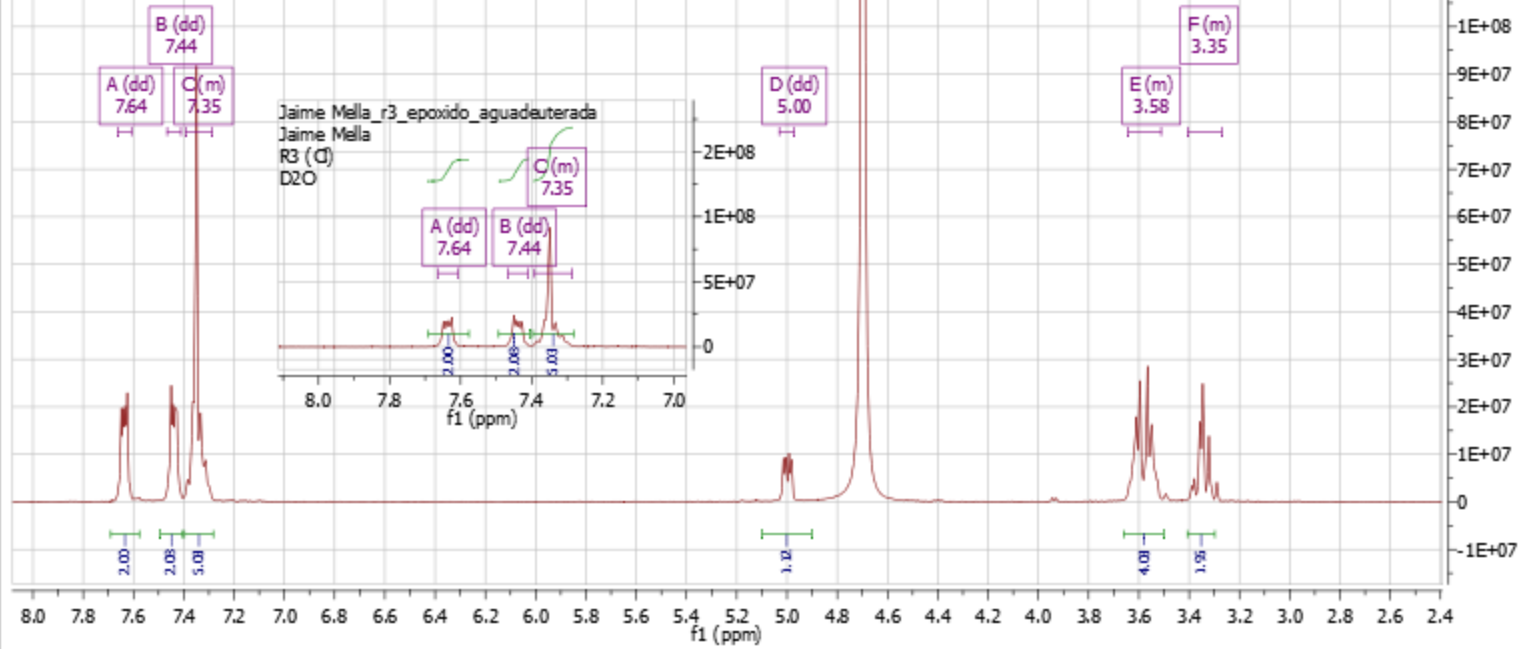
R3 (C)

D2O

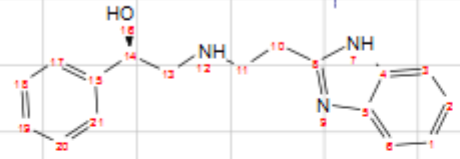
$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  7.64 (dd,  $J = 6.1, 3.1$  Hz, 1H), 7.44 (dd,  $J = 6.2, 3.1$  Hz, 1H), 7.39 – 7.29 (m, 3H), 5.00 (dd,  $J = 8.9, 3.9$  Hz, 1H), 3.64 – 3.51 (m,  $J = 6.0$  Hz, 2H), 3.40 – 3.27 (m, 1H).



(1R)-2-[[2-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethyl]amino]-1-phenylethanol

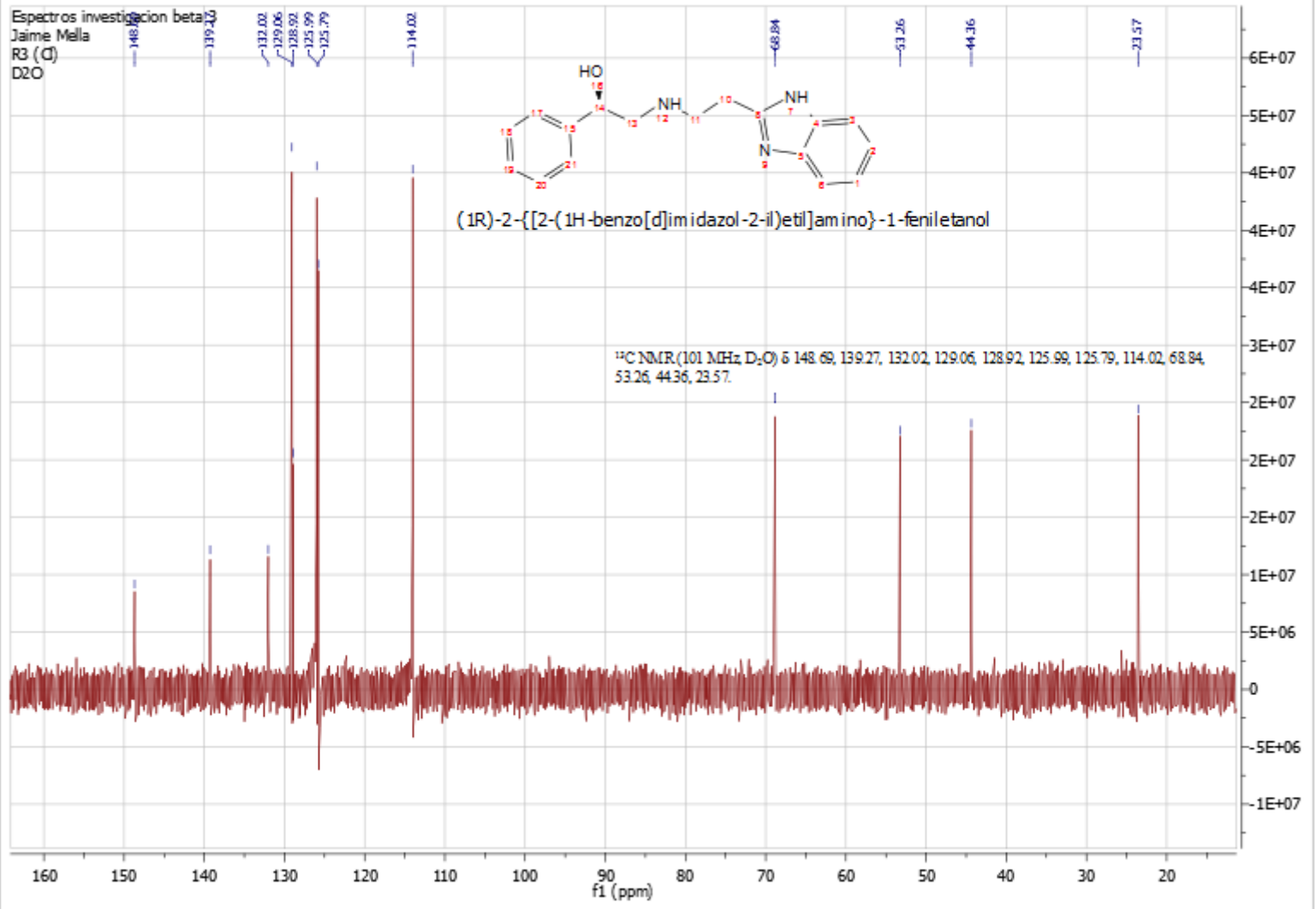


Espectros investigación beta  
Jaime Mella  
R3 (C)  
D2O

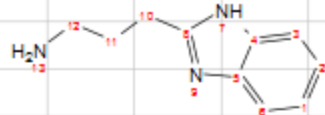


(1R)-2-[[2-(1H-benzodiazol-2-yl)etil]amino]-1-feniletanol

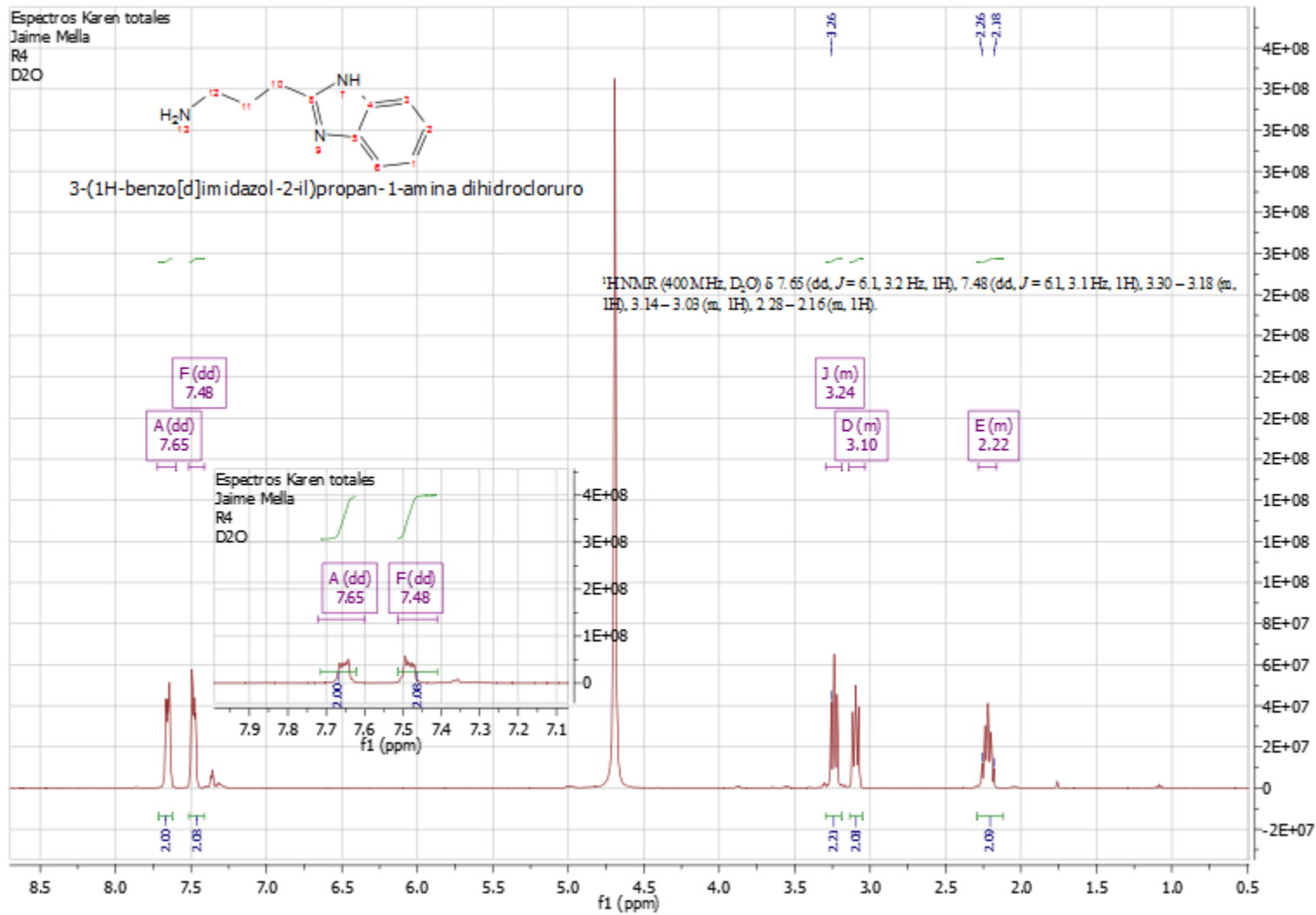
$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz, D<sub>2</sub>O)  $\delta$  148.69, 139.27, 132.02, 129.06, 128.92, 125.99, 125.79, 114.02, 68.84, 53.26, 44.36, 23.57.



Espectros Karen totales  
Jaime Mella  
R4  
D2O

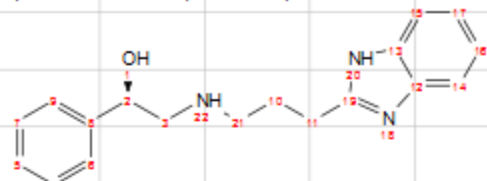


3-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)propan-1-amina dihidrocloruro



G.Recabarren-R4BL

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz, DMSO)  $\delta$  7.49–7.40 (m,  $J=2.8$  Hz, 2H), 7.36–7.25 (m,  $J=8.4$  Hz, 1H), 7.10 (dd,  $J=5.9, 2.9$  Hz, 2H), 3.21 (t,  $J=6.6$  Hz, 1H), 3.12 (dd,  $J=12.9, 6.6$  Hz, 1H), 2.89–2.75 (m,  $J=7.5$  Hz, 1H), 2.51 (s, 1H).



(R)-2-((3-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)propyl)amino)-1-phenylethan-1-ol

A (m)  
7.44

B (dd)  
7.10

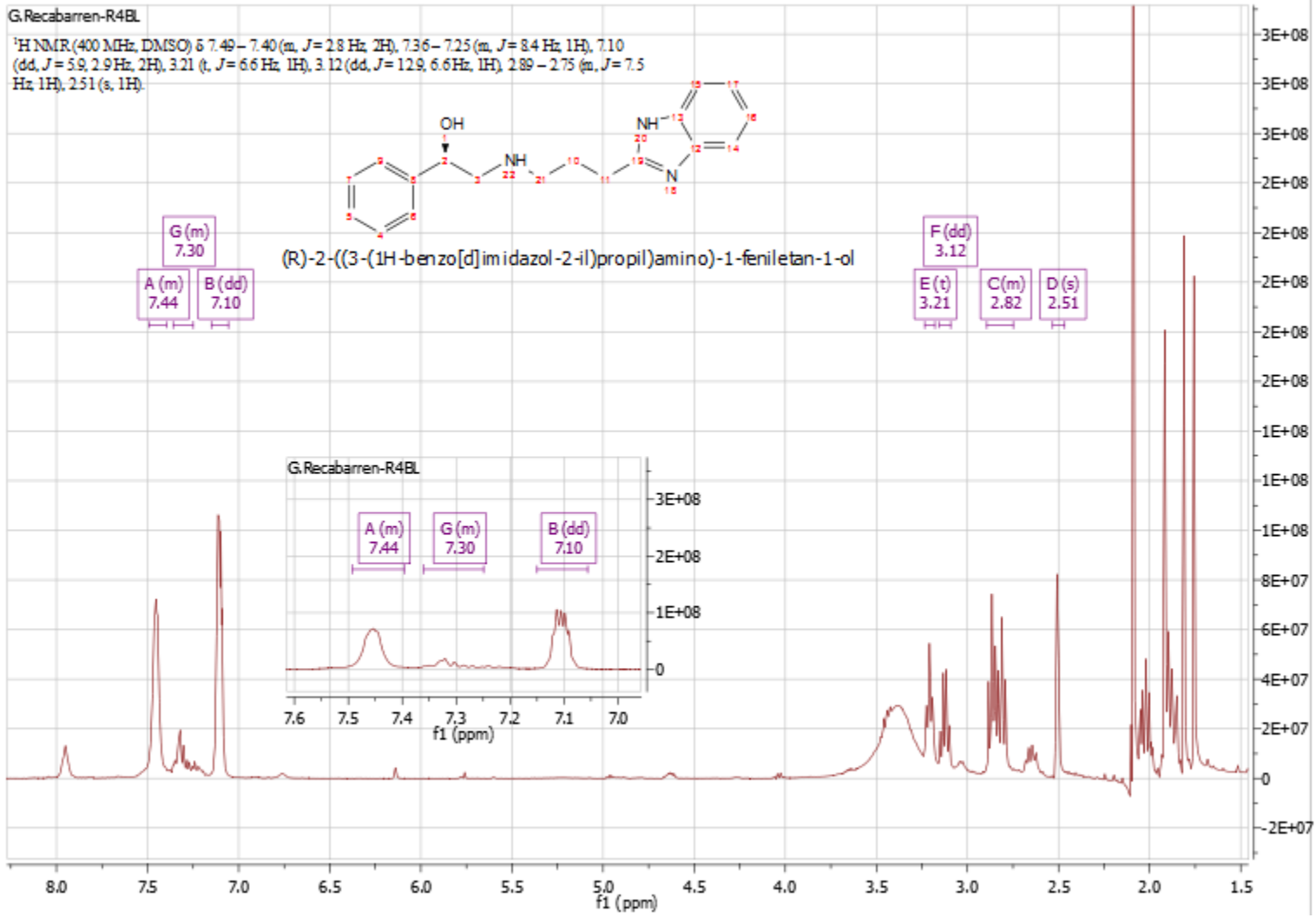
G (m)  
7.30

E (t)  
3.21

C (m)  
2.82

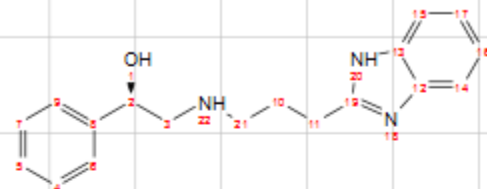
D (s)  
2.51

F (dd)  
3.12

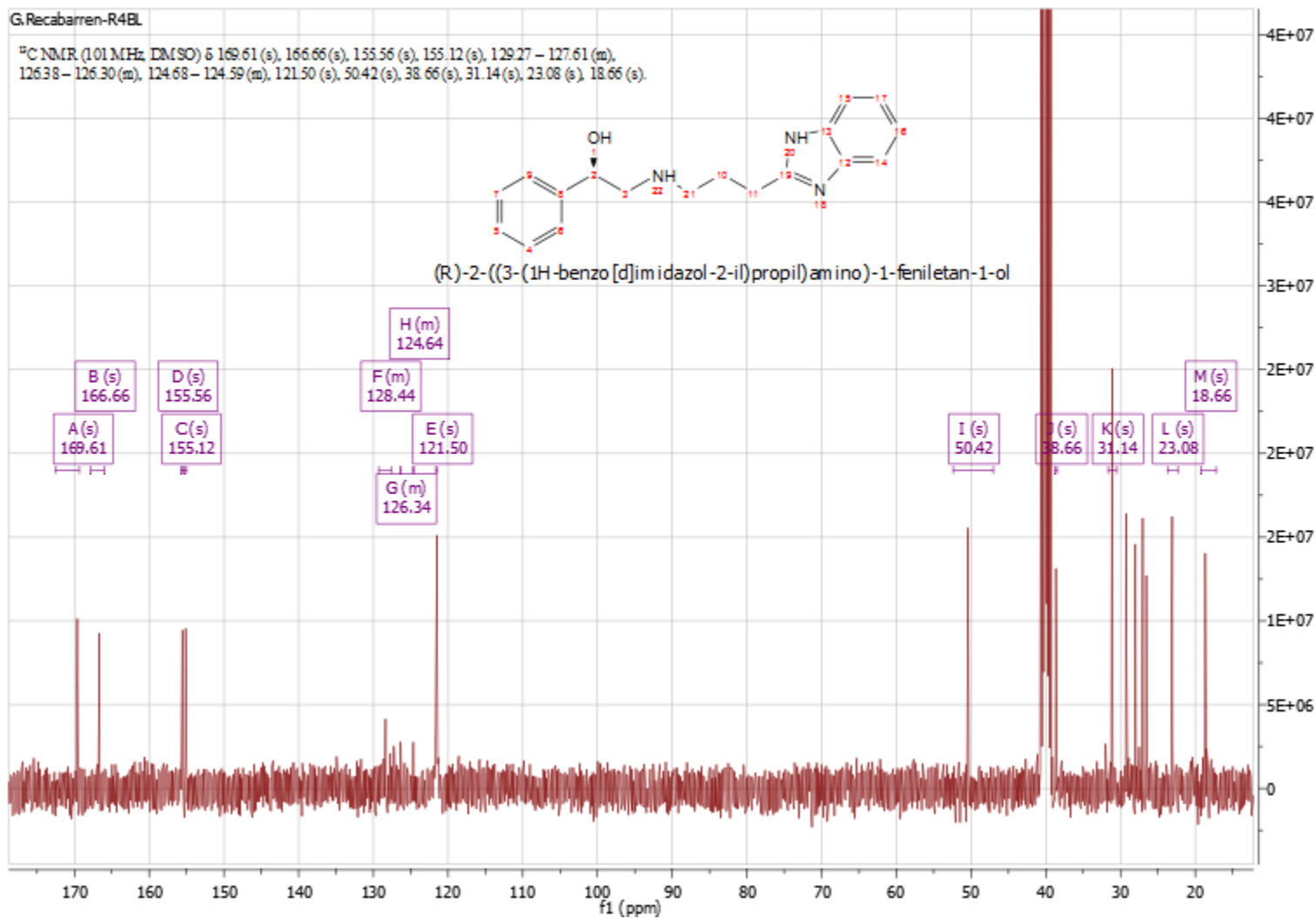


G.Recabarren-R4BL

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz, DMSO) δ 169.61 (s), 166.66 (s), 155.56 (s), 155.12 (s), 129.27 – 127.61 (m),  
126.38 – 126.30 (m), 124.68 – 124.59 (m), 121.50 (s), 50.42 (s), 38.66 (s), 31.14 (s), 23.08 (s), 18.66 (s).

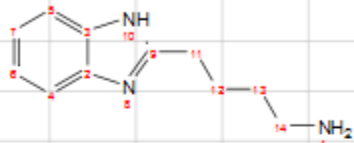


(R)-2-((3-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)propyl)amino)-1-phenylethan-1-ol

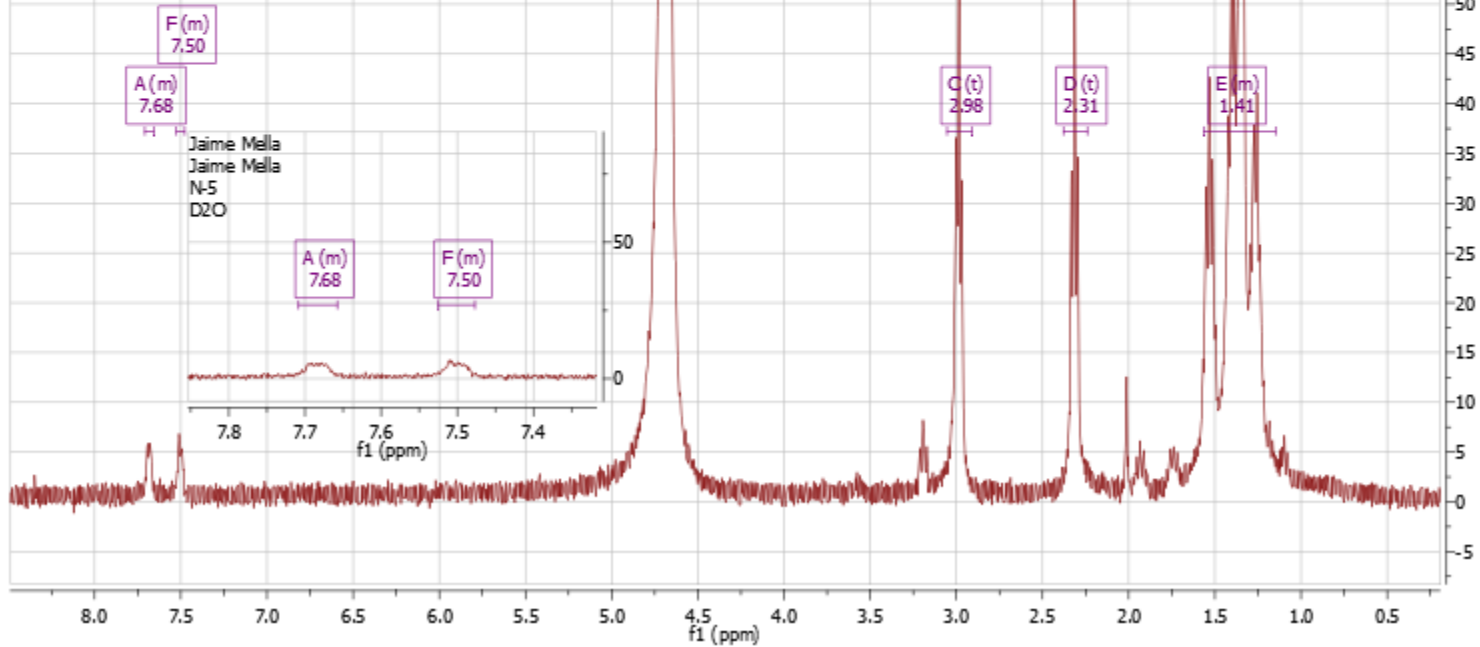


Jaime Mella  
Jaime Mella  
N-5  
D2O

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  7.71–7.66 (m, 3H), 7.53–7.48 (m, 3H), 2.98 (t,  $J = 6.3$  Hz, 3H), 2.31 (t,  $J = 7.2$  Hz, 3H), 1.56–1.15 (m, 23H).

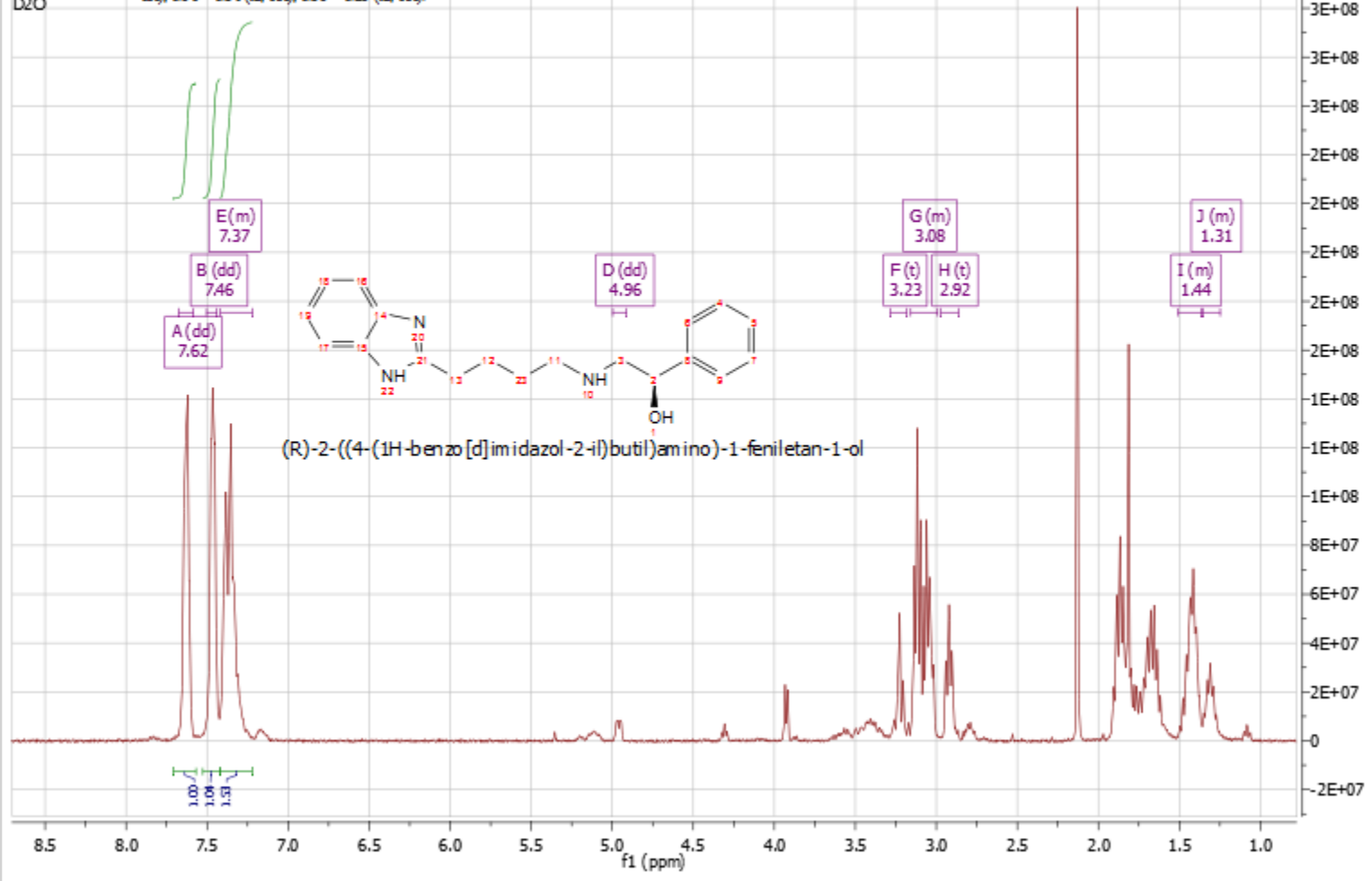


4-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)butan-1-amina dihidrocloruro



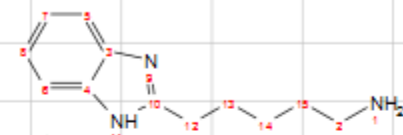
Jaime Mella  
Jaime Mella  
R5  
D2O

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.62 (dd, *J* = 7.5, 5.3 Hz, 1H), 7.46 (dd, *J* = 6.0, 3.1 Hz, 2H), 7.42–7.22 (m, 3H), 4.96 (dd, *J* = 8.5, 4.2 Hz, 1H), 3.23 (t, *J* = 10.8 Hz, 1H), 3.16–2.99 (m, 1H), 2.92 (t, *J* = 7.5 Hz, 1H), 1.51–1.36 (m, 1H), 1.35–1.25 (m, 1H).

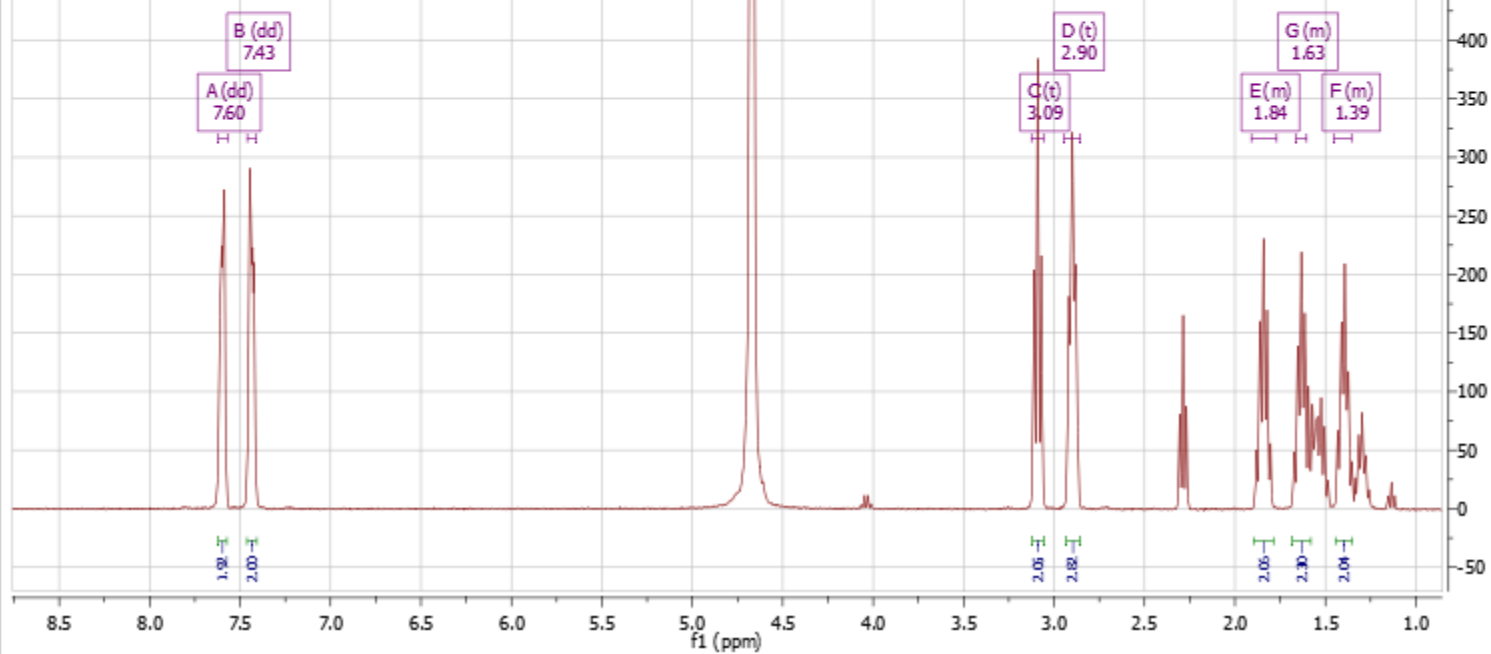


Jaime Mella  
Jaime Mella  
N-6  
D2O

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  7.60 (dd,  $J = 6.0, 3.1$  Hz, 1H), 7.43 (dd,  $J = 6.1, 3.1$  Hz, 1H), 3.09 (t,  $J = 7.6$  Hz, 1H), 2.90 (t,  $J = 7.4$  Hz, 1H), 1.91 – 1.77 (m, 1H), 1.66 – 1.60 (m, 1H), 1.45 – 1.36 (m, 1H).



5-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)pentan-1-amina dihidrocloruro

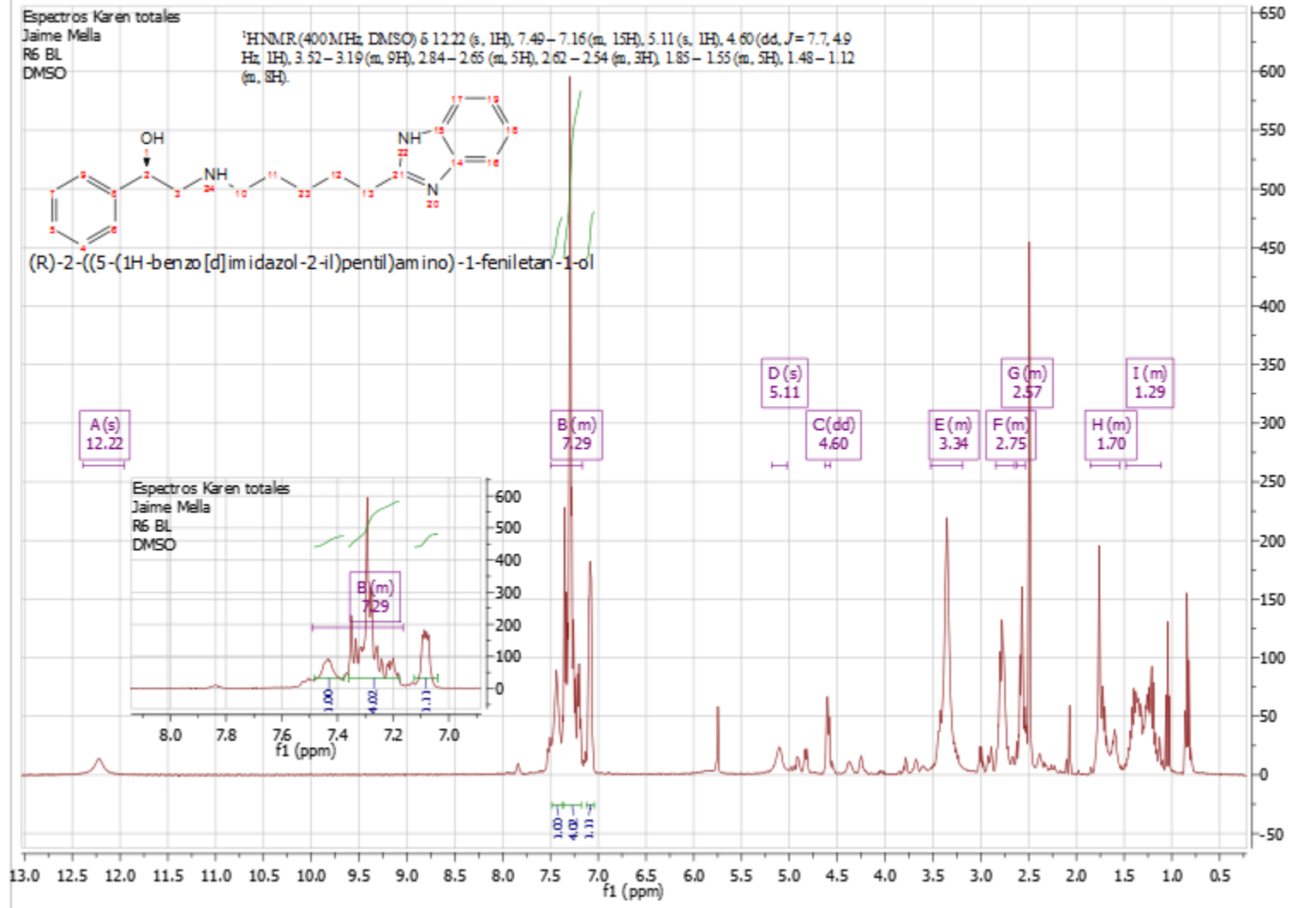


Espectros Karen totales  
Jaime Mella  
R6 BL  
DMSO

<sup>1</sup>HNMR(400MHz DMSO) δ 12.22 (s, 1H), 7.49-7.16 (m, 15H), 5.11 (s, 1H), 4.60 (dd, J=7.7, 4.9 Hz, 1H), 3.52-3.19 (m, 9H), 2.84-2.65 (m, 5H), 2.62-2.54 (m, 3H), 1.85-1.55 (m, 5H), 1.48-1.12 (m, 3H).

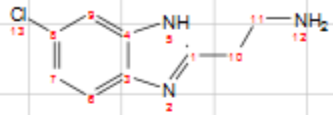


(R)-2-((5-(1H-benzodimidazol-2-yl)pentil)amino)-1-pheniletan-1-ol

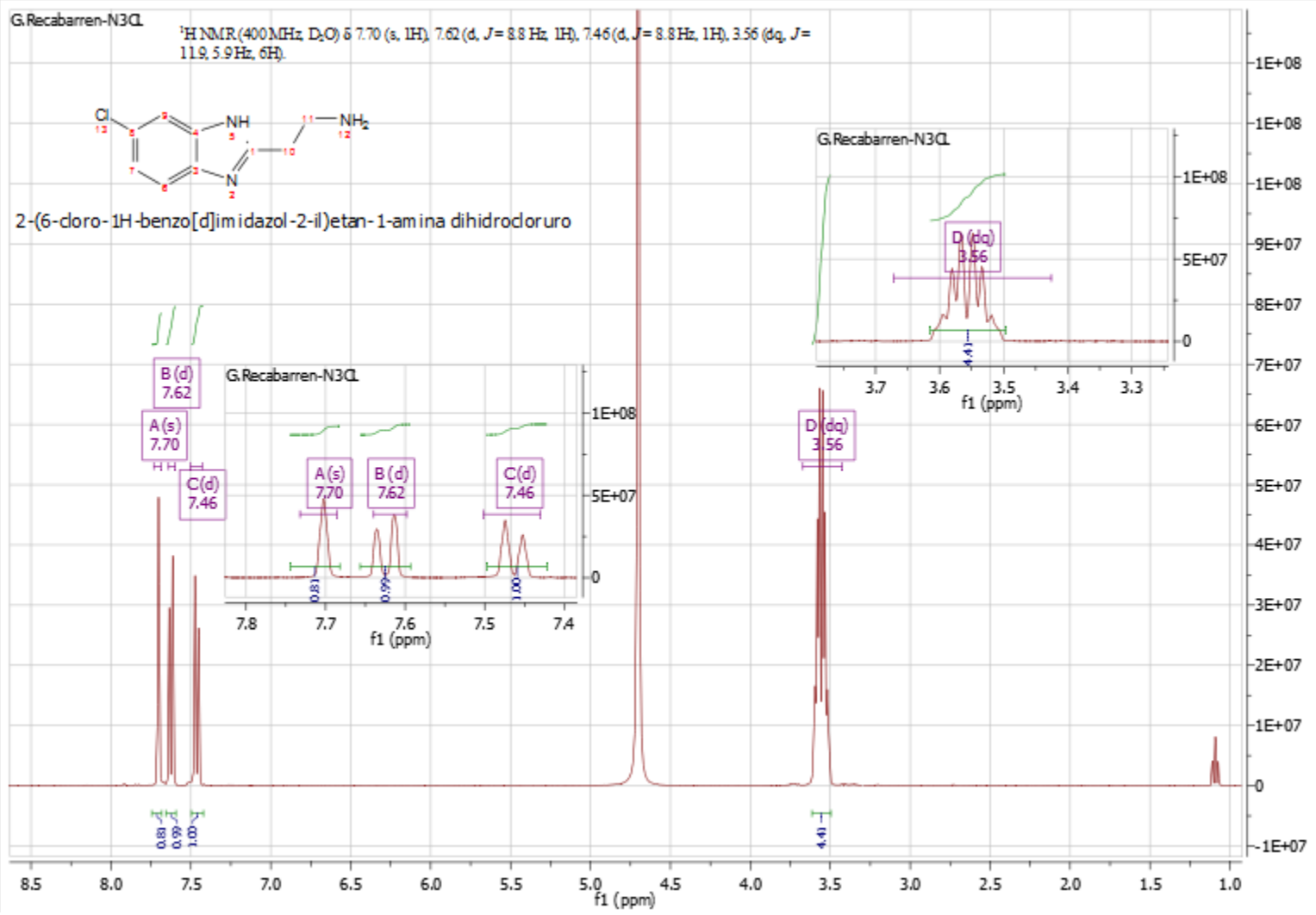


G.Recabarren-N3Cl

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, D<sub>2</sub>O) δ 7.70 (s, 1H), 7.62 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.46 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 3.56 (dq, J = 11.9, 5.9 Hz, 6H).

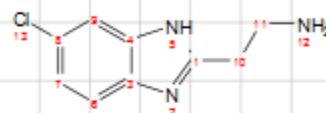


2-(6-cloro-1H-benzo[d]imidazol-2-il)etan-1-amina dihidrocloruro

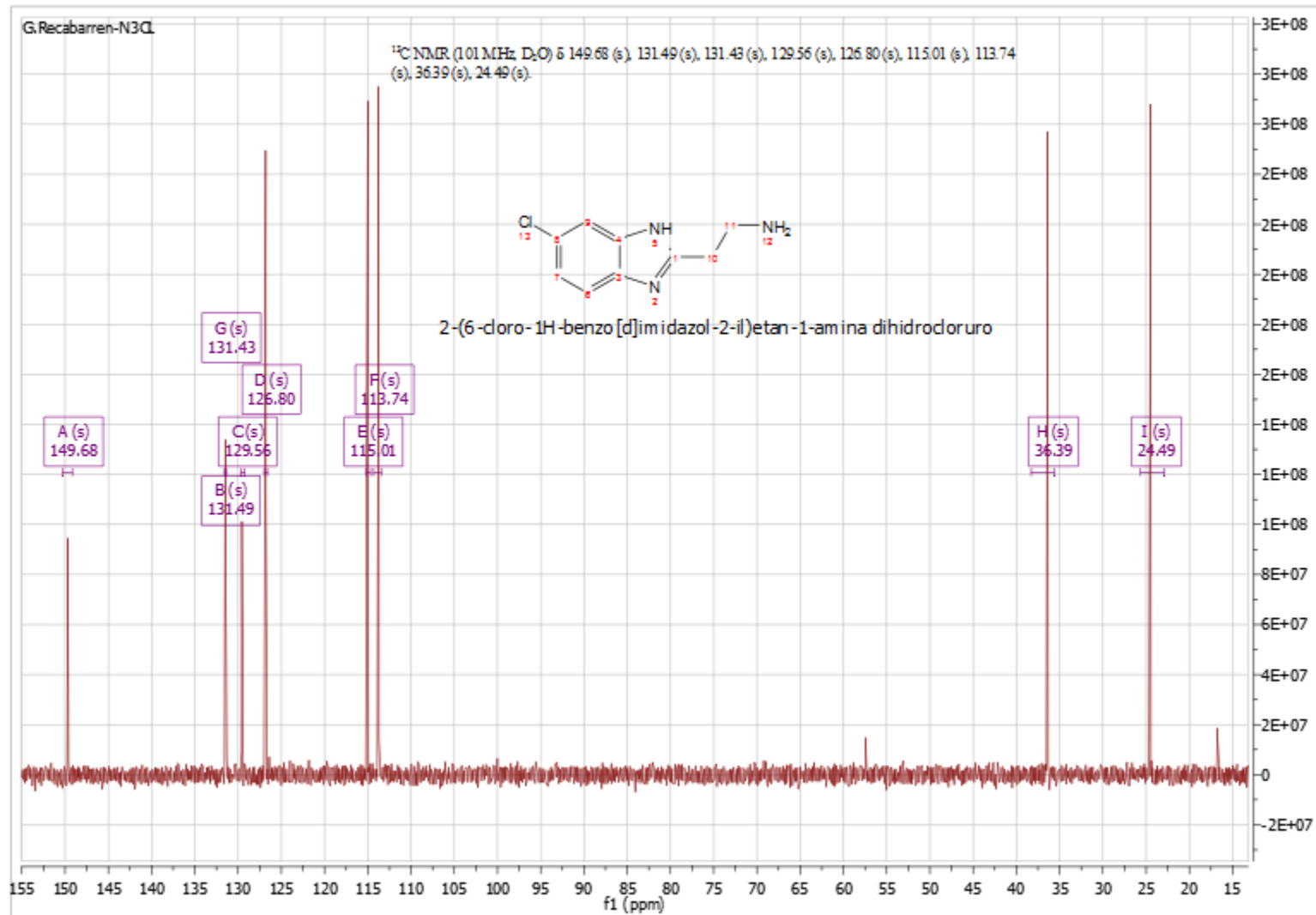


G.Recabarren-N3Cl

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  149.68 (s), 131.49 (s), 131.43 (s), 129.56 (s), 126.80 (s), 115.01 (s), 113.74 (s), 36.39 (s), 24.49 (s).

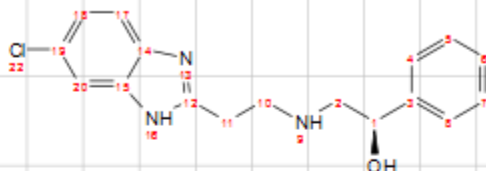


2-(6-cloro-1H-benzo[d]imidazol-2-il)etan-1-amina dihidrocloruro

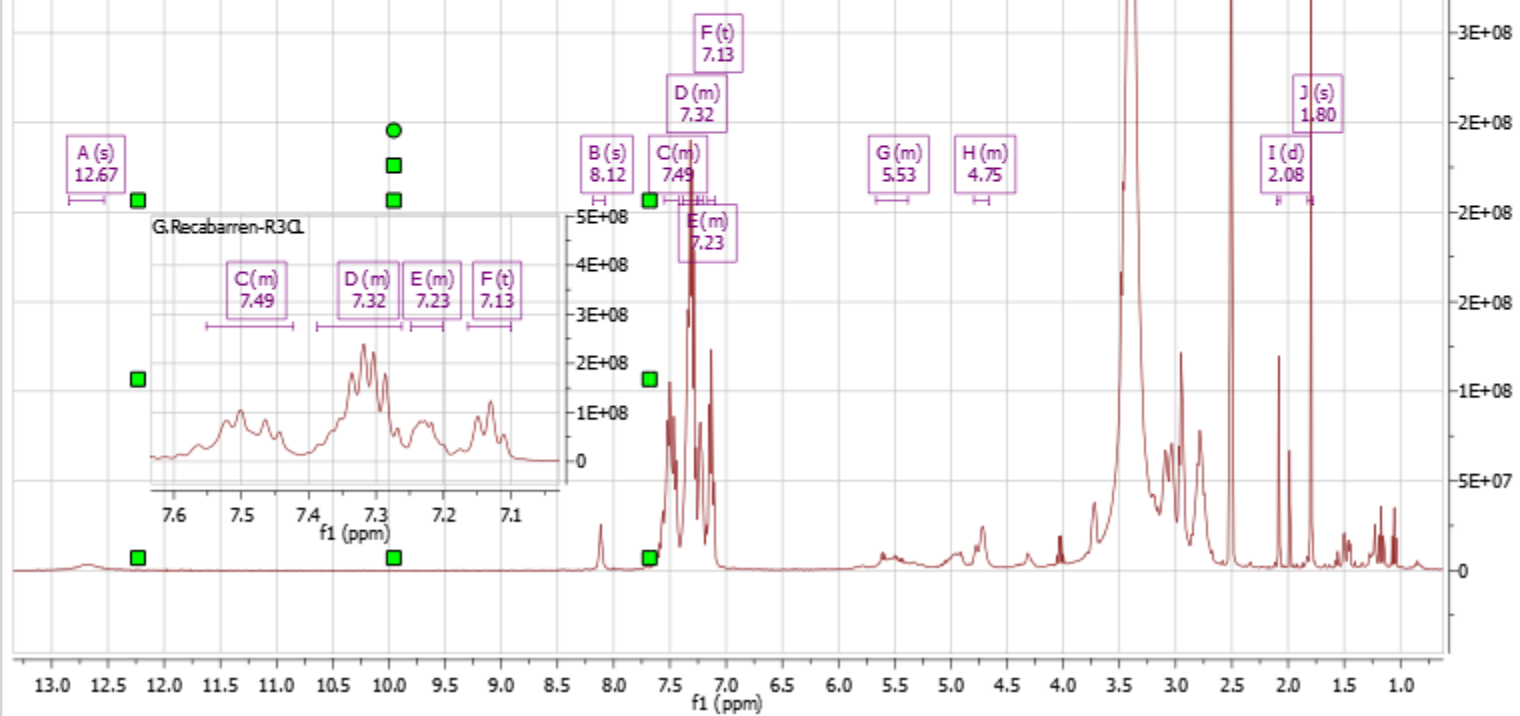


G.Recabarren-R3Q

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.67 (s, 1H), 8.12 (s, 1H), 7.55–7.42 (m, *J* = 8.2 Hz, 1H), 7.39–7.26 (m, 2H), 7.25–7.20 (m, 4H), 7.13 (t, *J* = 7.7 Hz, 6H), 5.67–5.38 (m, 2H), 4.79–4.66 (m, 3H), 2.08 (d, *J* = 3.7 Hz, 1H), 1.80 (s, 4H).

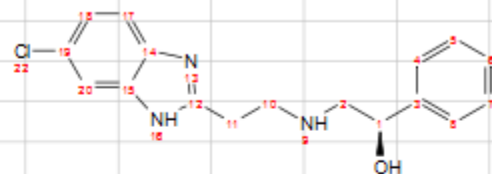


(R)-2-((2-(6-chloro-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethyl)amino)-1-phenylethan-1-ol

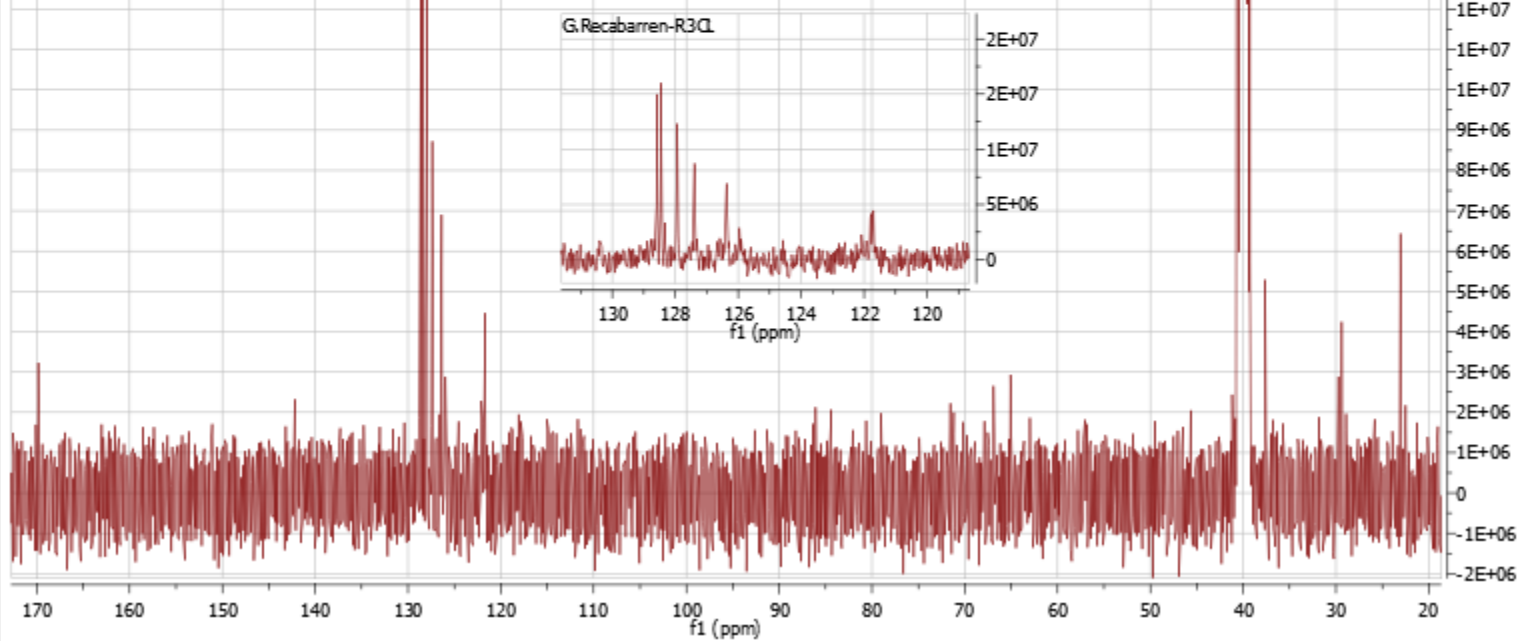


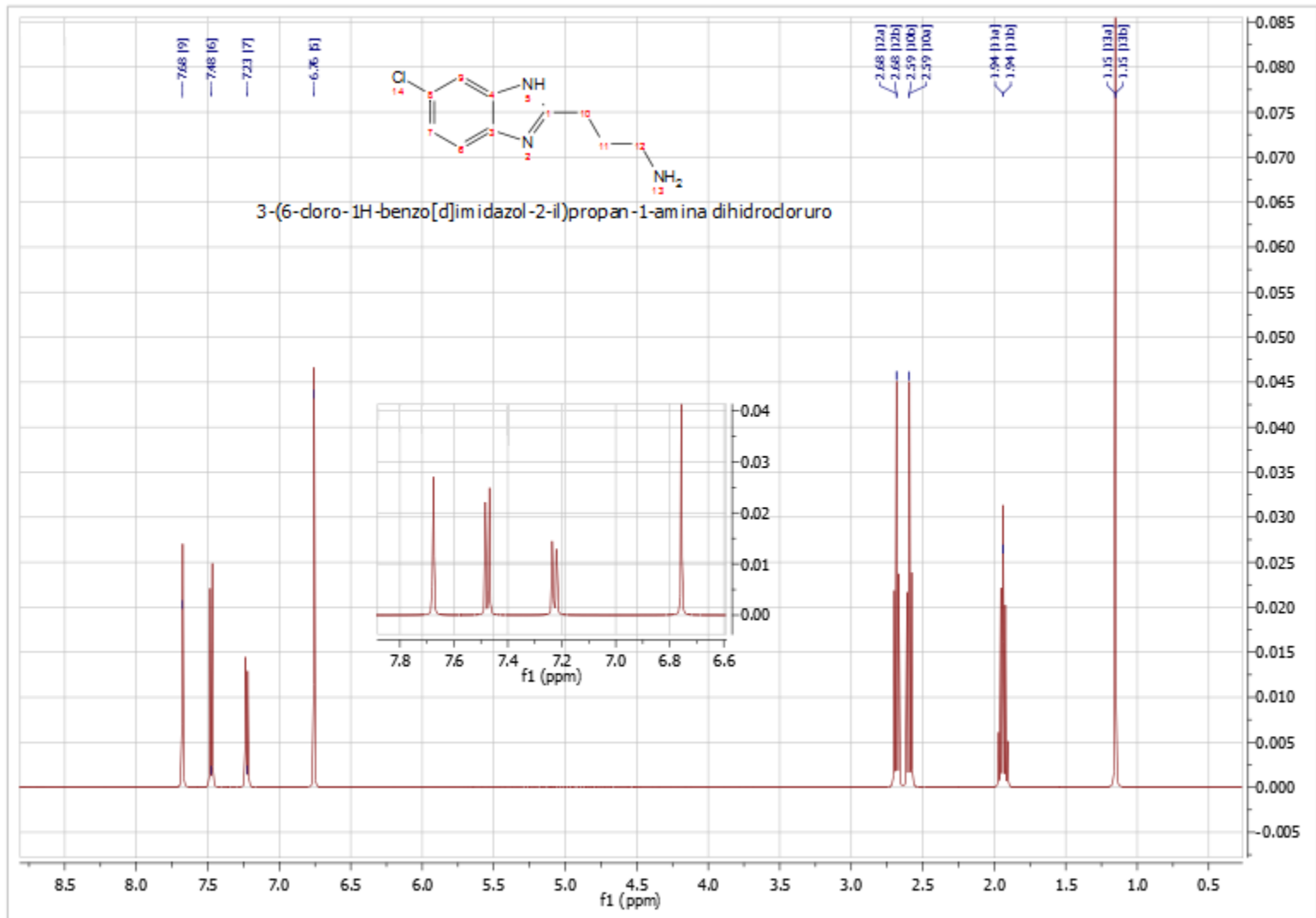
G.Recabarren-R3Cl

$^{13}\text{C}$ NMR (101 MHz, DMSO)  $\delta$  170.74–169.01 (m), 143.18–143.14 (m), 142.65–141.30 (m), 128.58 (s), 128.45 (s), 128.36–128.31 (m), 127.93 (s), 127.39 (s), 126.37 (s), 125.98–125.91 (m), 124.66–124.50 (m), 121.83–121.76 (m), 121.73–121.67 (m), 37.76–37.56 (m), 29.88–29.62 (m), 29.42–29.31 (m), 23.06 (s).

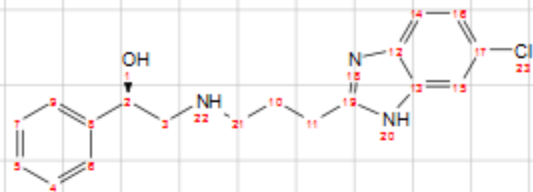


(R)-2-((2-(6-chloro-1H-benzimidazol-2-yl)ethyl)amino)-1-phenylethan-1-ol



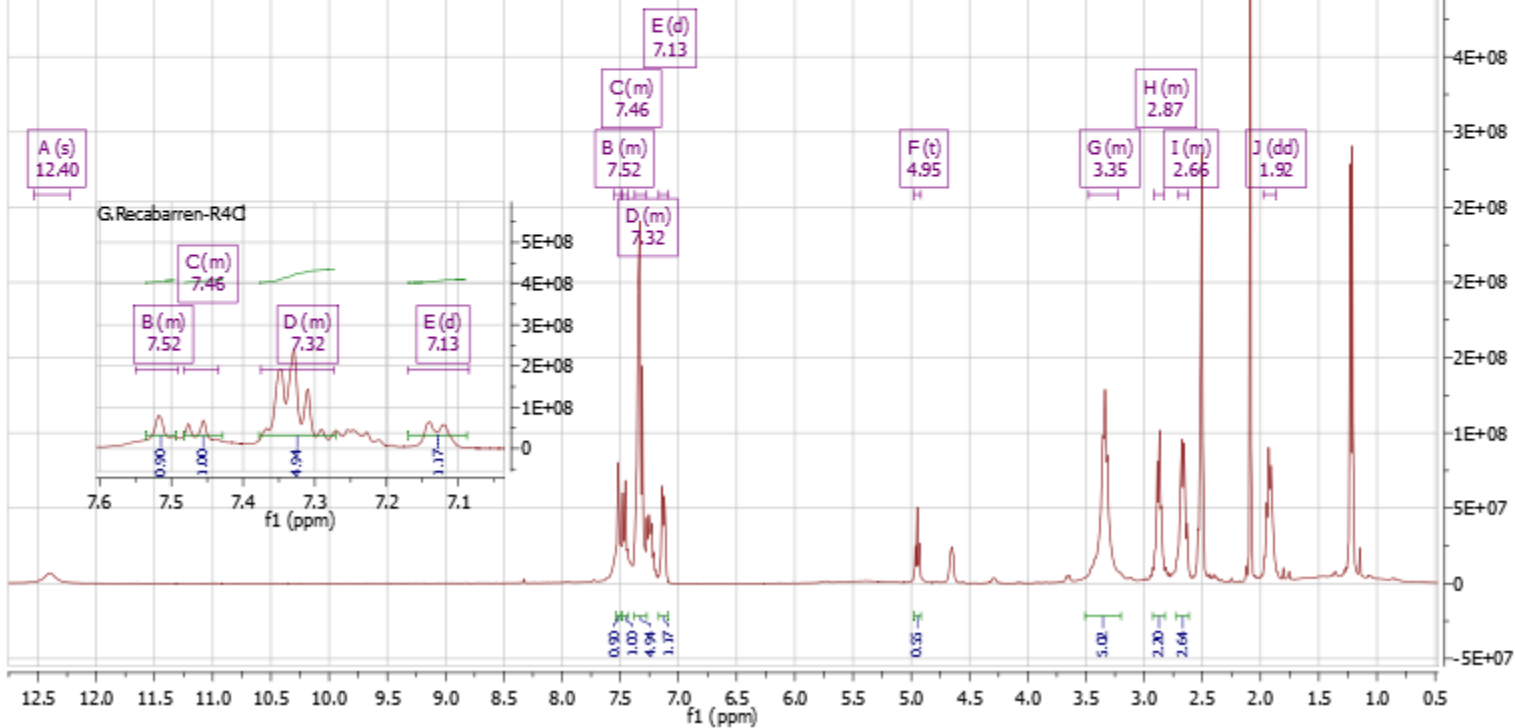


G.Recabarren-R4C



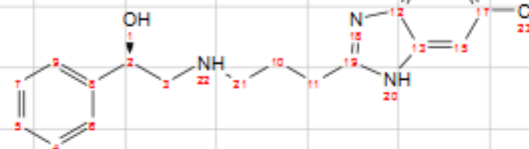
(R)-2-((3-(6-chloro-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)propyl)amino)-1-phenylethan-1-ol

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.40 (s, 1H), 7.55–7.49 (m, *J* = 7.9 Hz, 2H), 7.48–7.43 (m, *J* = 8.4 Hz, 2H), 7.38–7.27 (m, 10H), 7.13 (d, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.95 (t, *J* = 6.7 Hz, 1H), 3.48–3.22 (m, *J* = 6.8 Hz, 10H), 2.92–2.83 (m, *J* = 7.6 Hz, 4H), 2.70–2.62 (m, 5H), 1.92 (dd, *J* = 12.6, 6.4 Hz, 5H)

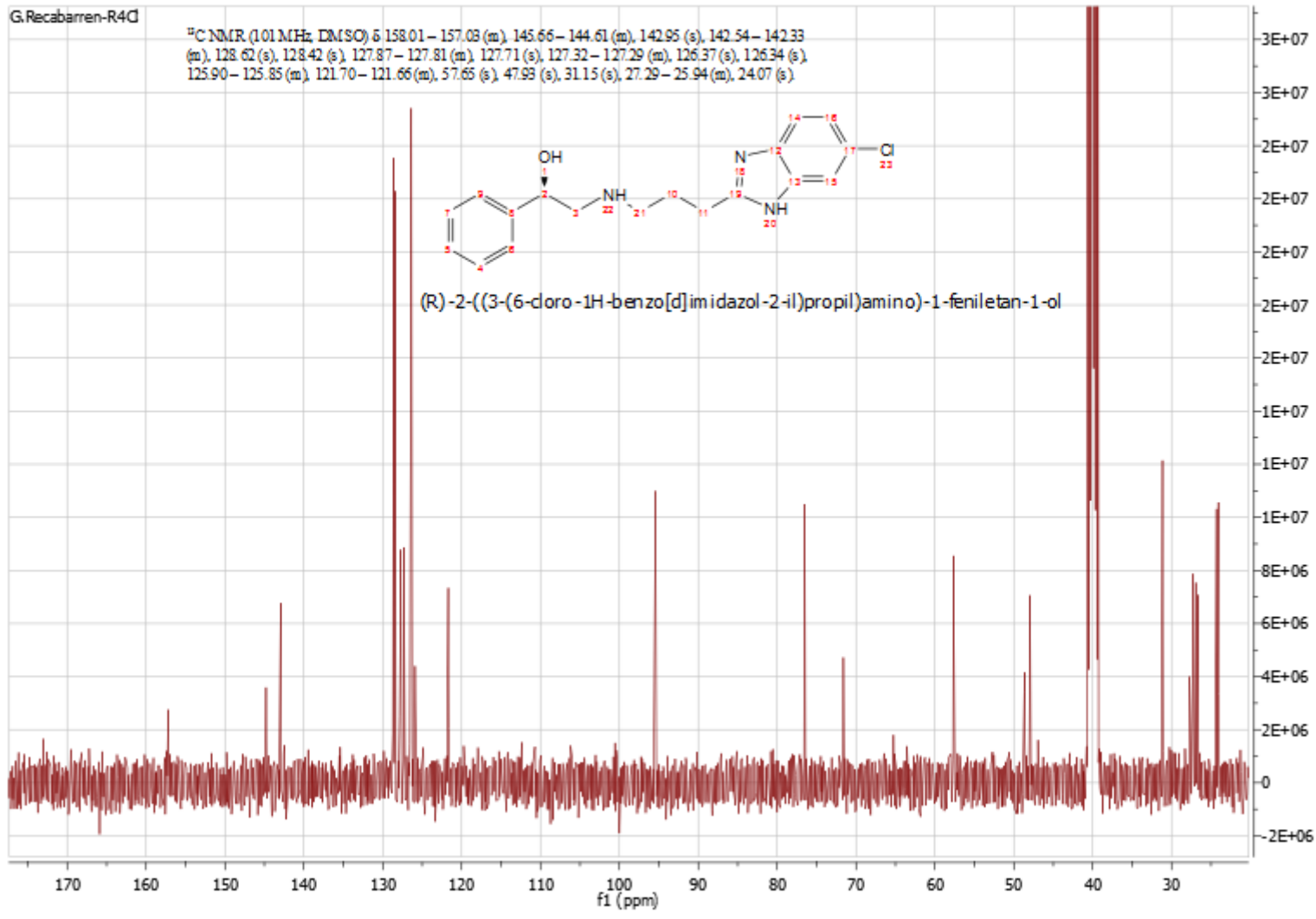


G.Recabarren-R4D

$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  158.01 – 157.08 (m), 145.66 – 144.61 (m), 142.95 (s), 142.54 – 142.33 (m), 128.62 (s), 128.42 (s), 127.87 – 127.81 (m), 127.71 (s), 127.32 – 127.29 (m), 126.37 (s), 126.34 (s), 125.90 – 125.85 (m), 121.70 – 121.66 (m), 57.65 (s), 47.93 (s), 31.15 (s), 27.29 – 25.94 (m), 24.07 (s)

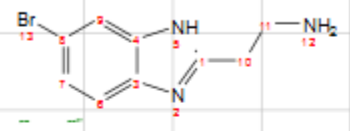


(R)-2-((3-(6-chloro-1H-benzodimidazol-2-yl)propyl)amino)-1-phenyletan-1-ol

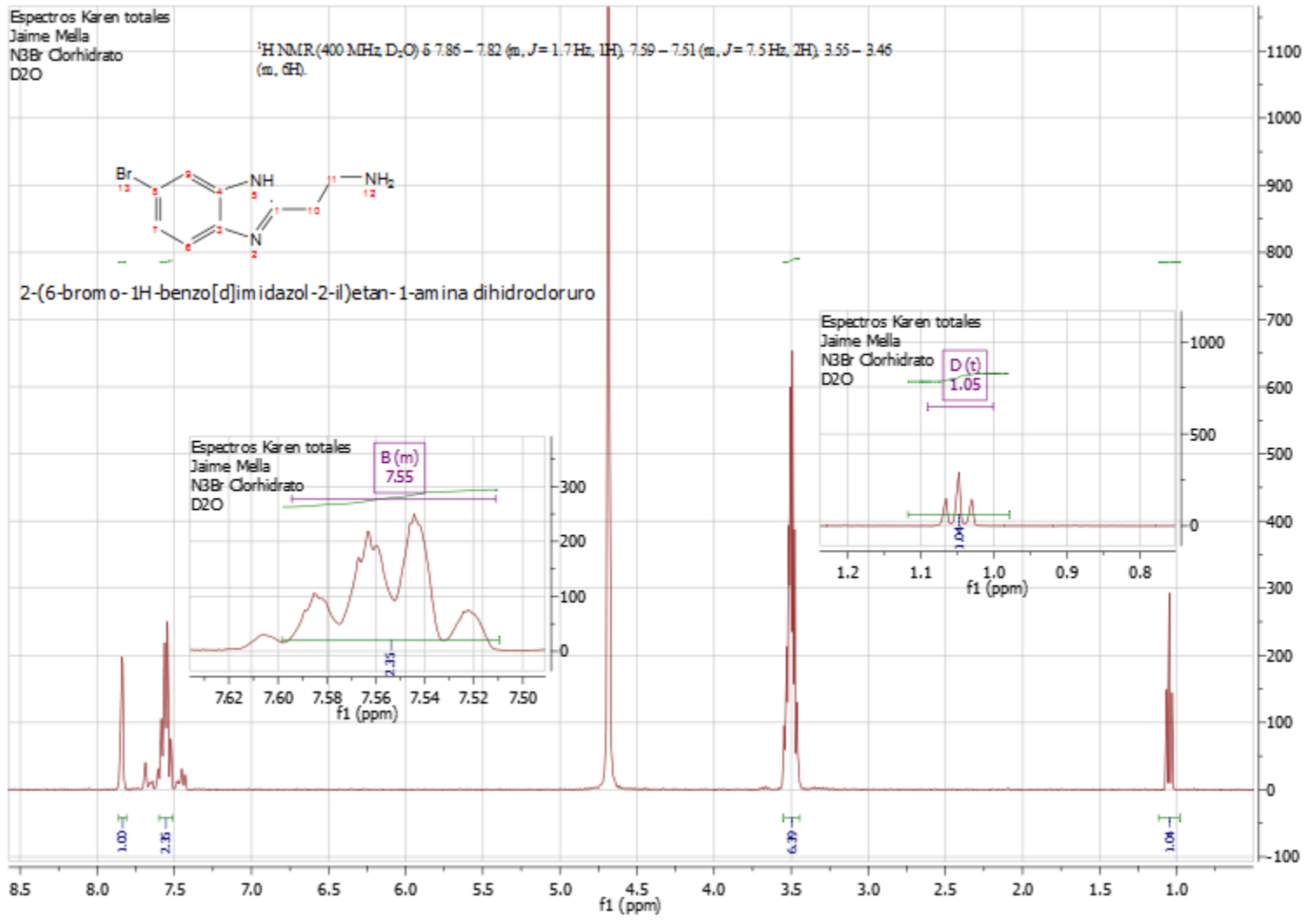


Espectros Karen totales  
Jaime Mella  
N3Br Clorhidrato  
D2O

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  7.86 – 7.82 (m,  $J=1.7$  Hz, 1H), 7.59 – 7.51 (m,  $J=7.5$  Hz, 2H), 3.55 – 3.46 (m, 6H).



2-(6-bromo-1H-benzodimidazol-2-yl)etan-1-amina dihidrocloruro



Espectros Karen totales  
Jaime Mella  
N3Br Clorhidrato  
D2O

B (m)  
7.55

7.62 7.60 7.58 7.56 7.54 7.52 7.50  
f1 (ppm)

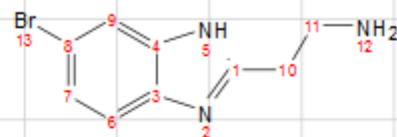
Espectros Karen totales  
Jaime Mella  
N3Br Clorhidrato  
D2O

D (t)  
1.05

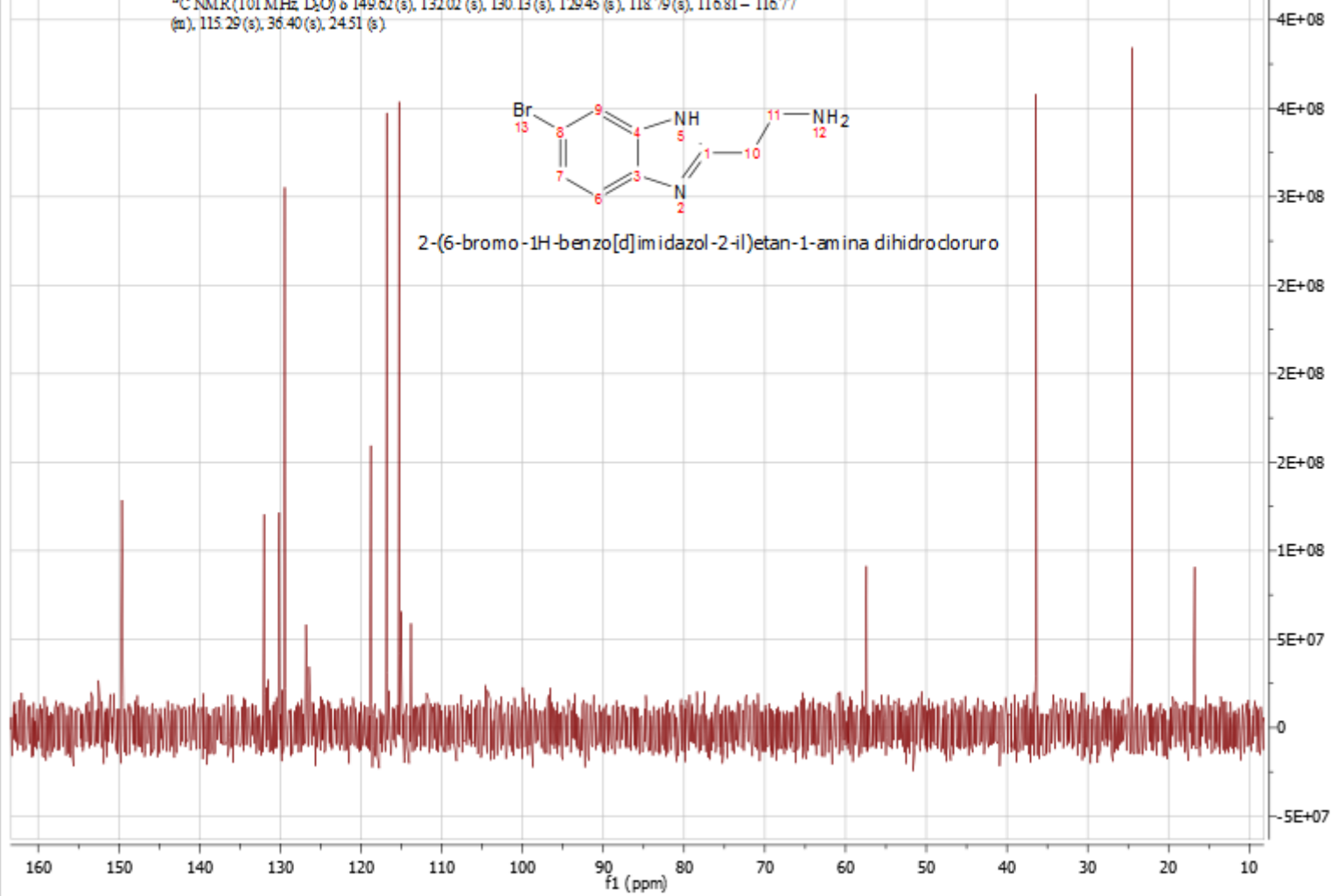
1.2 1.1 1.0 0.9 0.8  
f1 (ppm)

G.Recabarren-N3Br

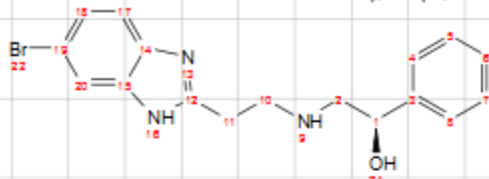
$^{13}\text{C}$  NMR (101 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  149.62 (s), 132.02 (s), 130.13 (s), 129.45 (s), 118.79 (s), 116.81 – 116.77 (m), 115.29 (s), 35.40 (s), 24.51 (s)



2-(6-bromo-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)etan-1-amina dihidrocloruro

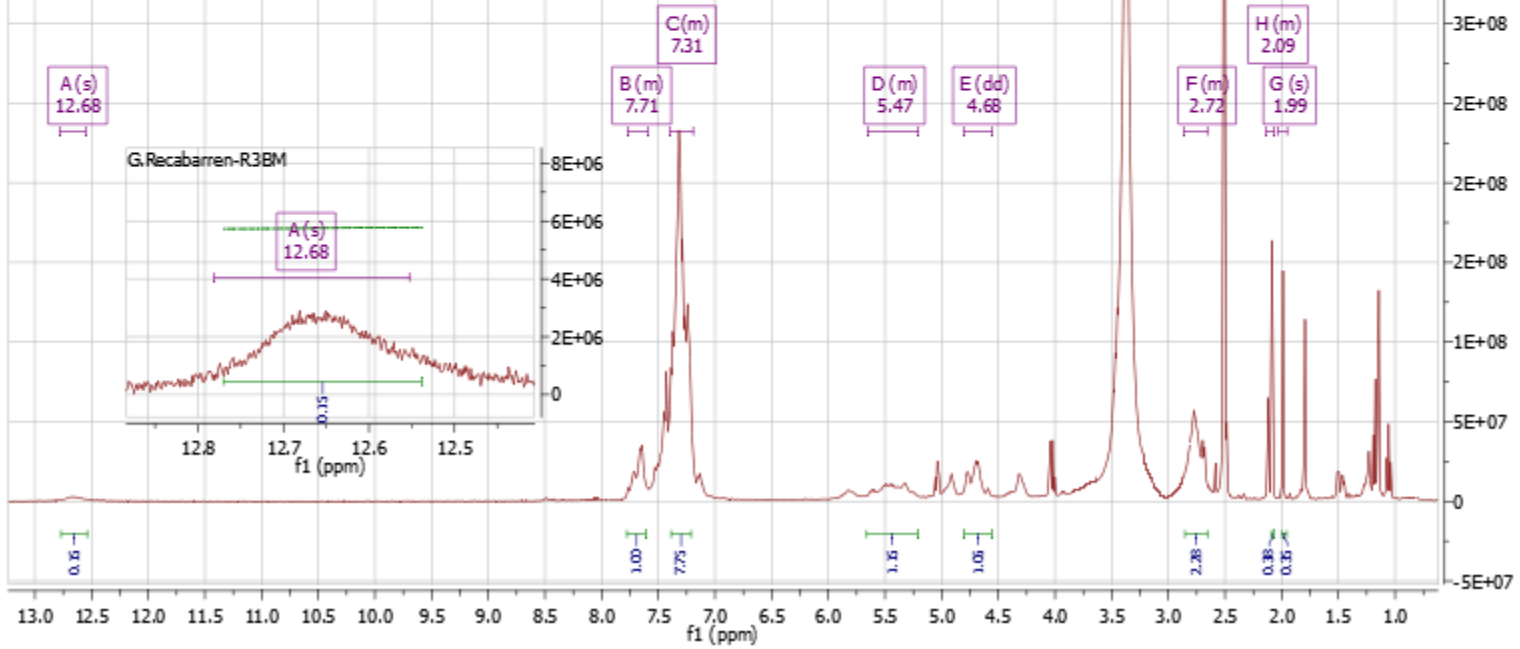


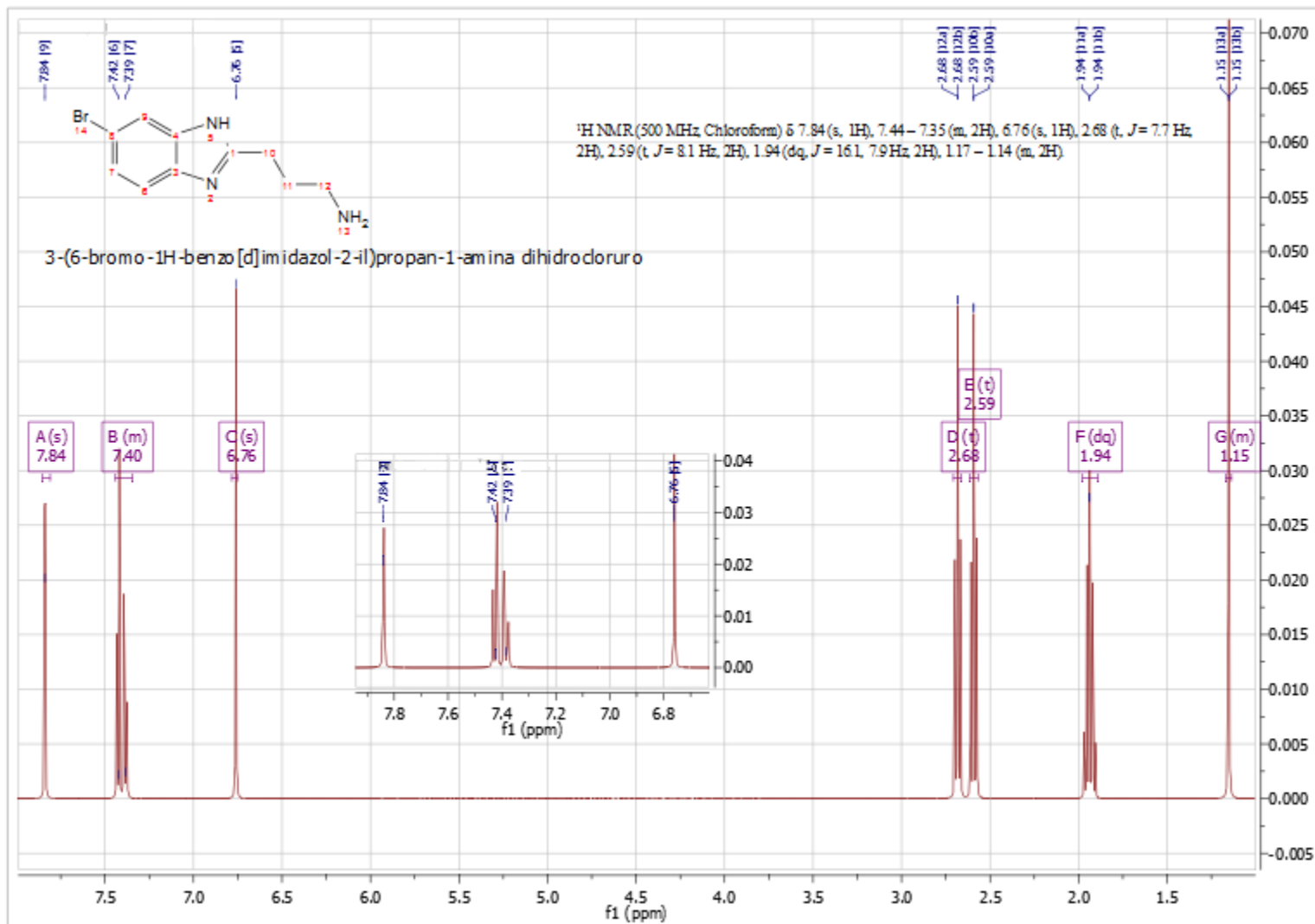
G.Recabarren-R3BM



<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO)  $\delta$  12.68 (s, 1H), 7.77 – 7.59 (m, 7H), 7.40 – 7.19 (m, 57H), 5.65 – 5.21 (m, 8H), 4.68 (dd,  $J = 38.2, 32.2$  Hz, 7H), 2.86 – 2.66 (m, 16H), 2.14 – 2.07 (m, 4H), 1.99 (s, 3H).

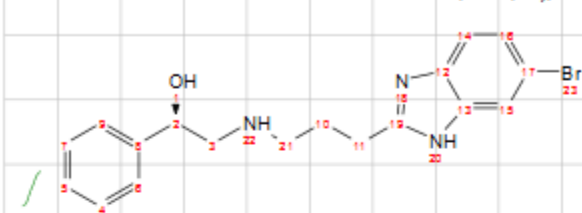
(R)-2-((2-(6-bromo-1H-benzodimidazol-2-yl)ethyl)amino)-1-phenylethan-1-ol



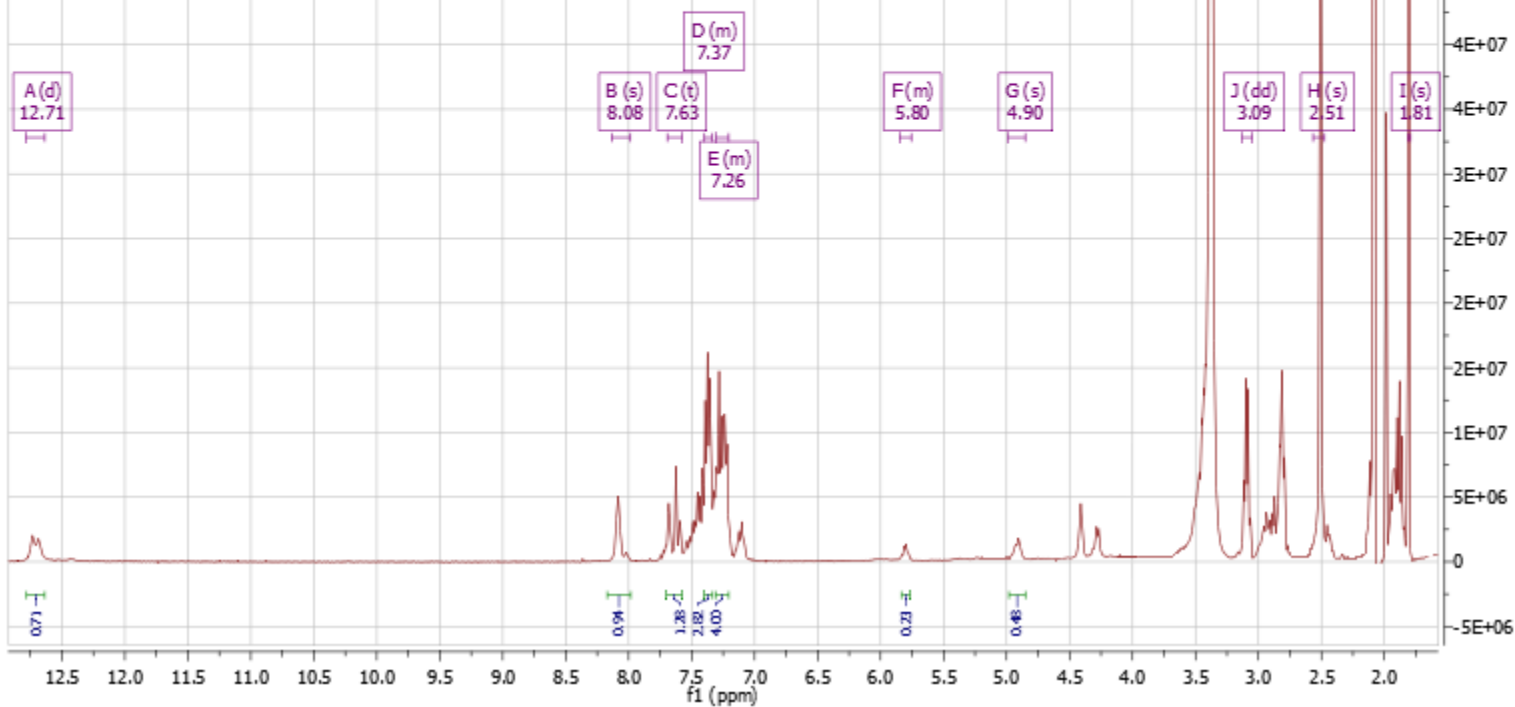


G.Recabarren-R4Br

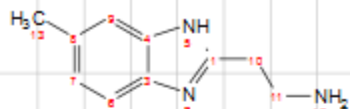
<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 12.71 (d, J = 18.7 Hz, 1H), 8.08 (s, J = 26.1 Hz, 1H), 7.63 (t, J = 17.5 Hz, 2H), 7.40–7.34 (m, 4H), 7.31–7.21 (m, 5H), 5.85–5.76 (m, J = 4.5 Hz, 1H), 4.90 (s, 1H), 3.09 (dd, J = 12.7, 6.5 Hz, 3H), 2.51 (s, J = 9.4 Hz, 7H), 1.81 (s, 3H).



(R)-2-((3-(6-bromo-1H-benzodiazol-2-yl)propyl)amino)-1-phenylethan-1-ol

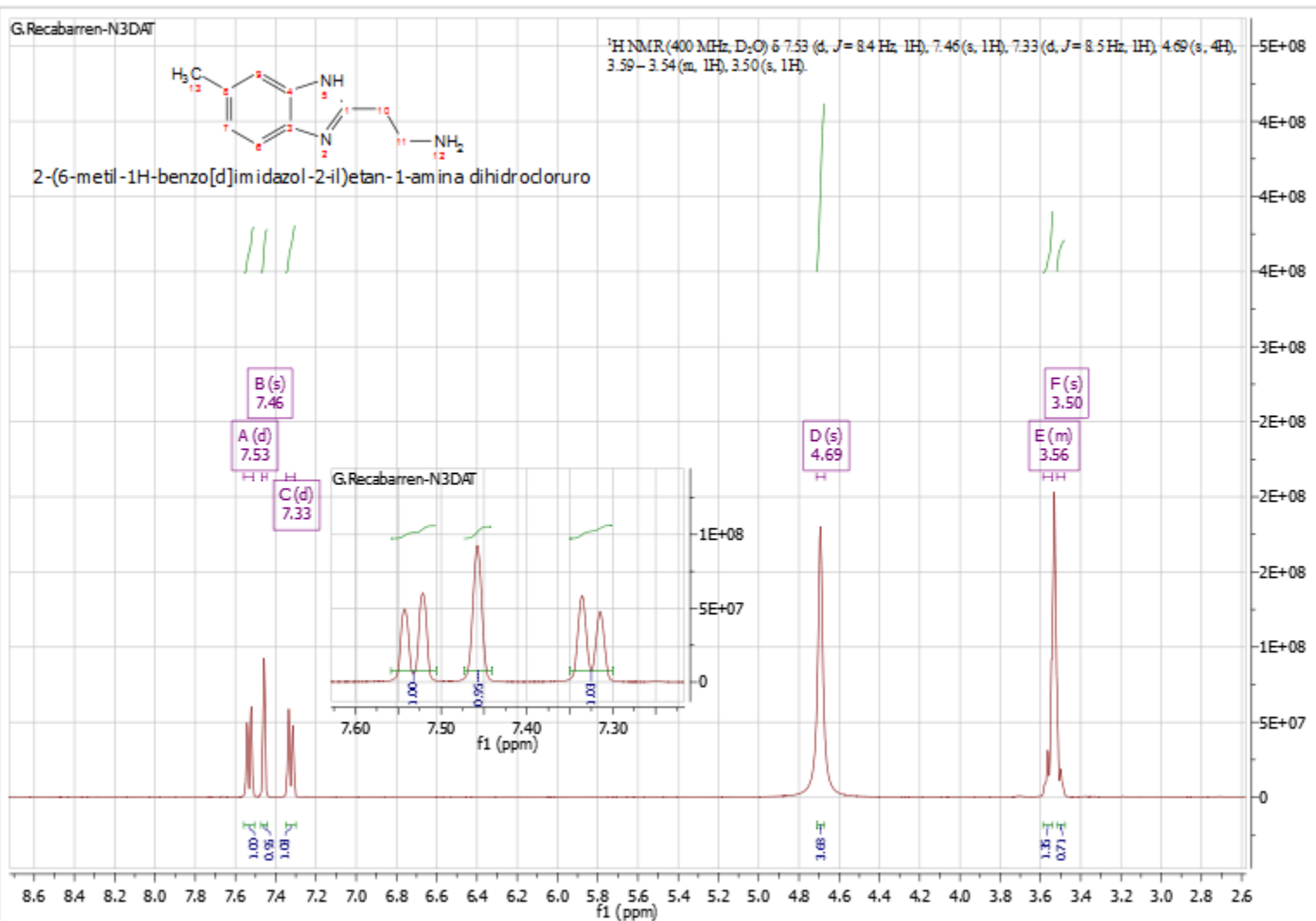


G.Recabarren-N3DAT



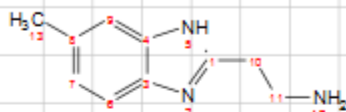
2-(6-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)etan-1-amina dihidrocloruro

$^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ )  $\delta$  7.53 (d,  $J=8.4$  Hz, 1H), 7.46 (s, 1H), 7.33 (d,  $J=8.5$  Hz, 1H), 4.69 (s, 4H), 3.59–3.54 (m, 1H), 3.50 (s, 1H).

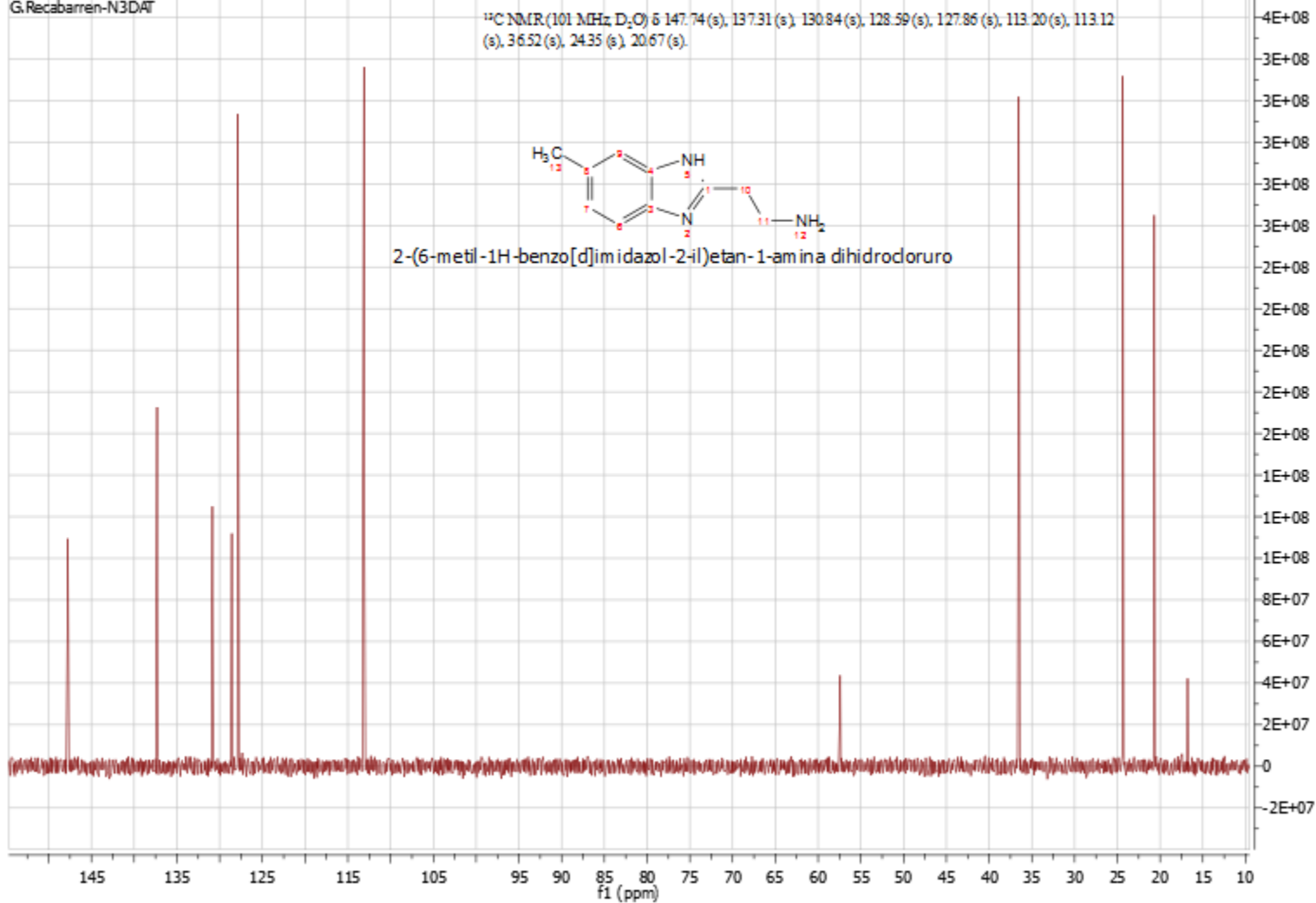


G.Recabarren-N3DAT

<sup>13</sup>C NMR (101 MHz D<sub>2</sub>O) δ 147.74 (s), 137.31 (s), 130.84 (s), 128.59 (s), 127.86 (s), 113.20 (s), 113.12 (s), 36.52 (s), 24.35 (s), 20.67 (s).

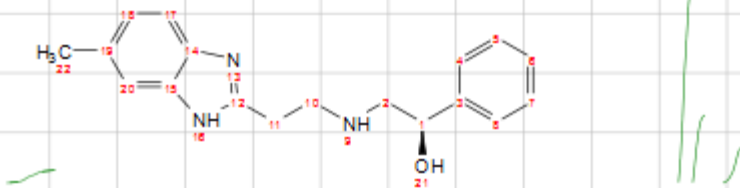


2-(6-metil-1H-benzo[d]imidazol-2-il)etan-1-amina dihidrocloruro

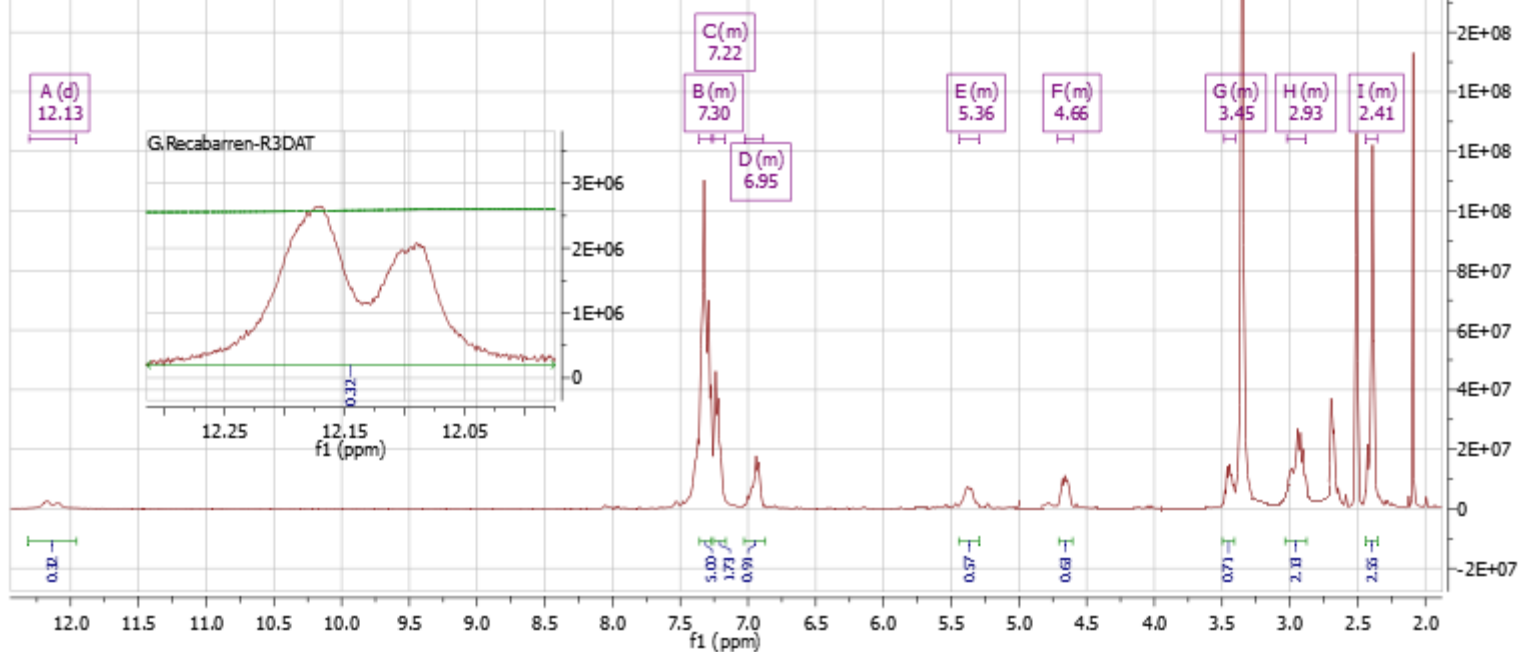


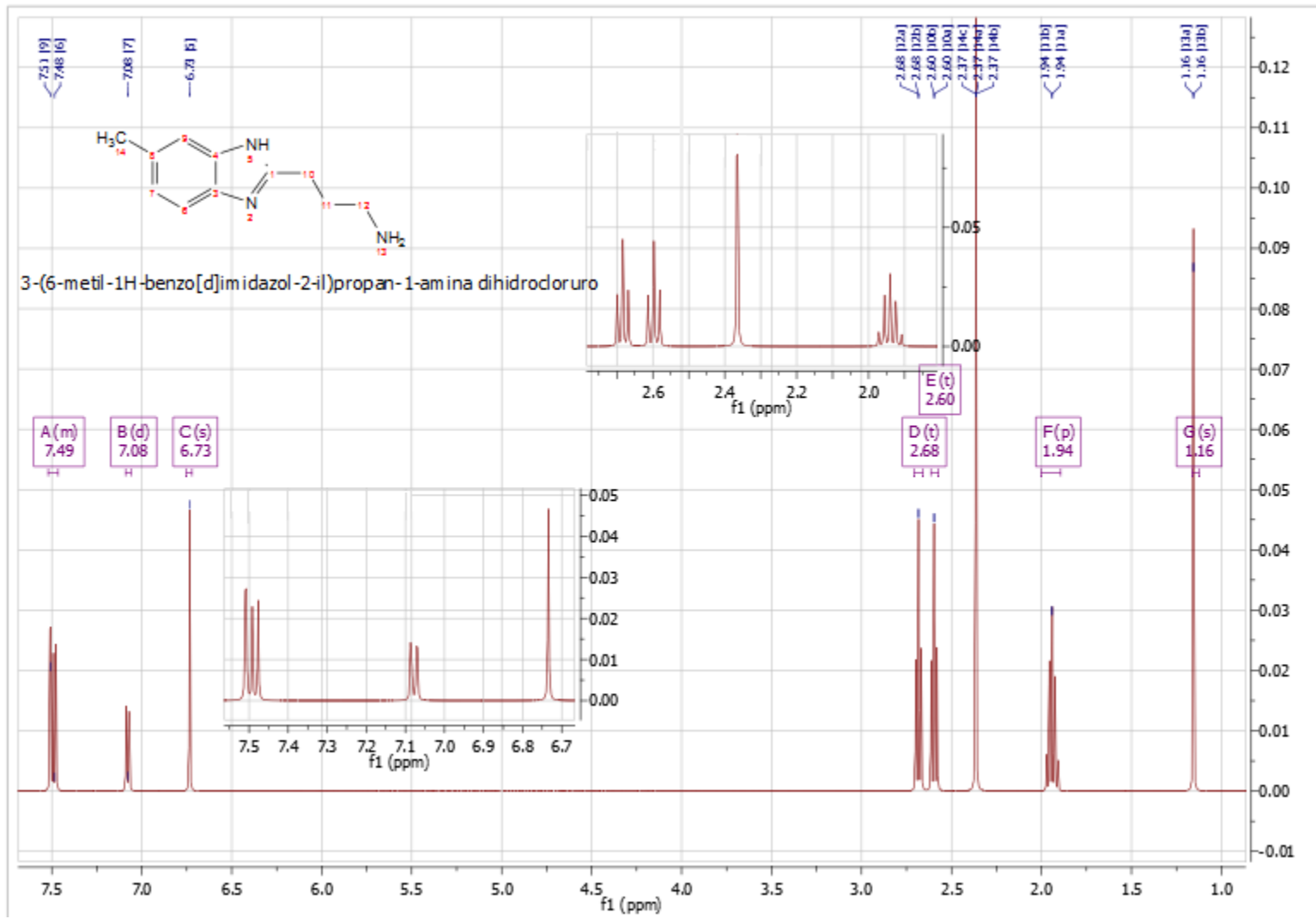
G.Recabarren-R3DAT

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.13 (d, J = 31.7 Hz, 1H), 7.36 – 7.27 (m, 16H), 7.25 – 7.17 (m, 5H), 7.02 – 6.89 (m, J = 6.9 Hz, 3H), 5.44 – 5.29 (m, 2H), 4.71 – 4.60 (m, 2H), 3.48 – 3.40 (m, 2H), 3.02 – 2.88 (m, 6H), 2.44 – 2.35 (m, 3H).



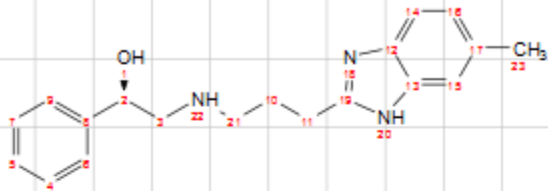
(R)-2-((2-(6-methyl-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)ethyl)amino)-1-phenyletan-1-ol



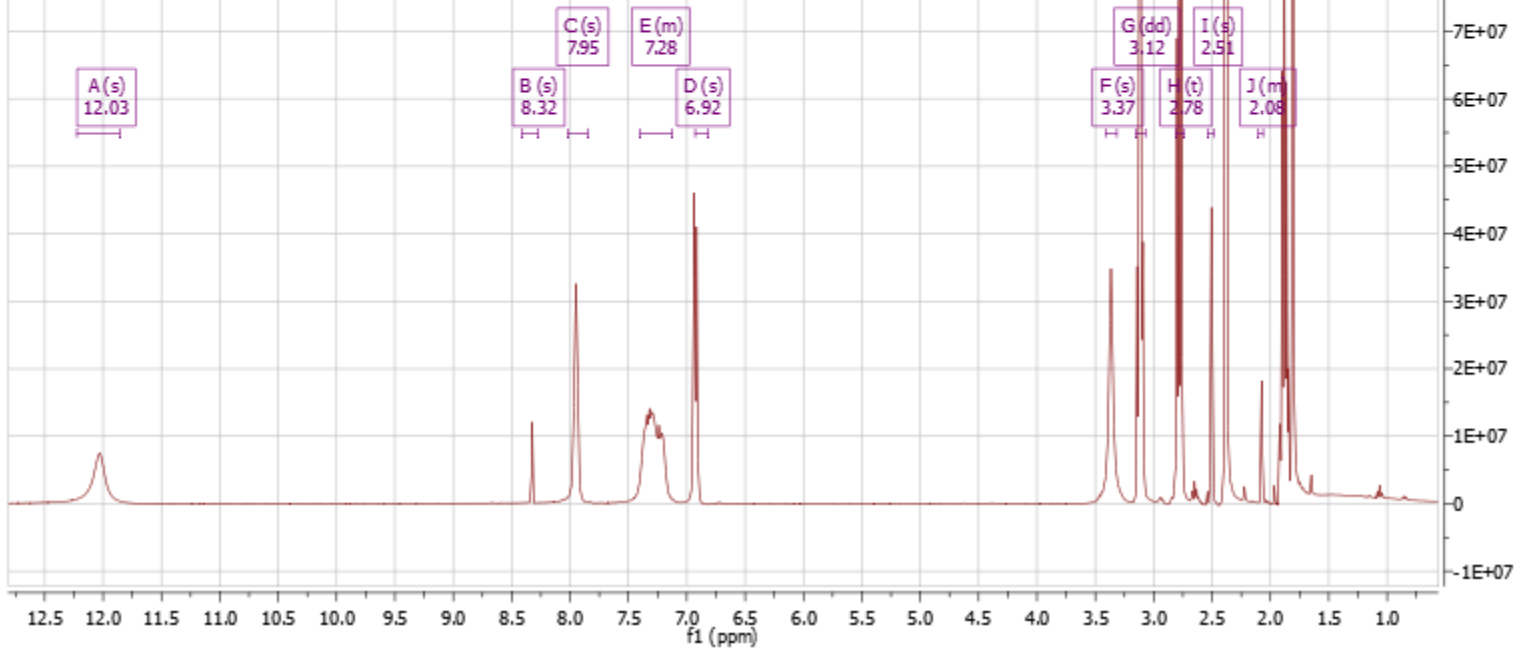


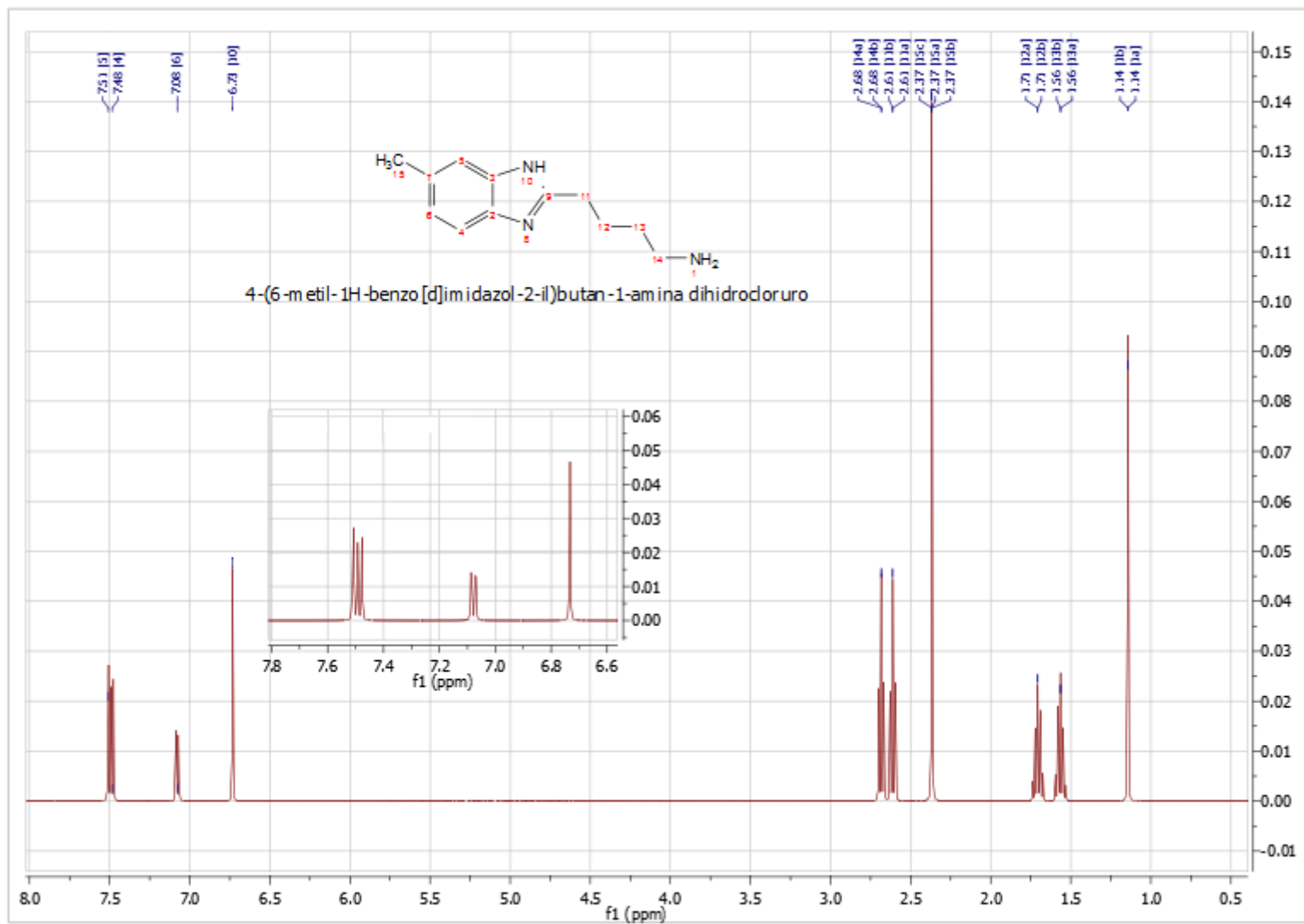
G.Recabarren-R4DAT

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.08 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.95 (s, 1H), 7.40–7.12 (m, 2H), 6.92 (s, 1H), 3.37 (s, 1H), 3.12 (dd, *J* = 12.9, 6.6 Hz, 2H), 2.78 (t, *J* = 7.6 Hz, 2H), 2.51 (s, 1H), 2.10–2.06 (m, *J* = 4.2 Hz, 1H).



(R)-2-((3-(6-methyl-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)propyl)amino)-1-phenylethan-1-ol



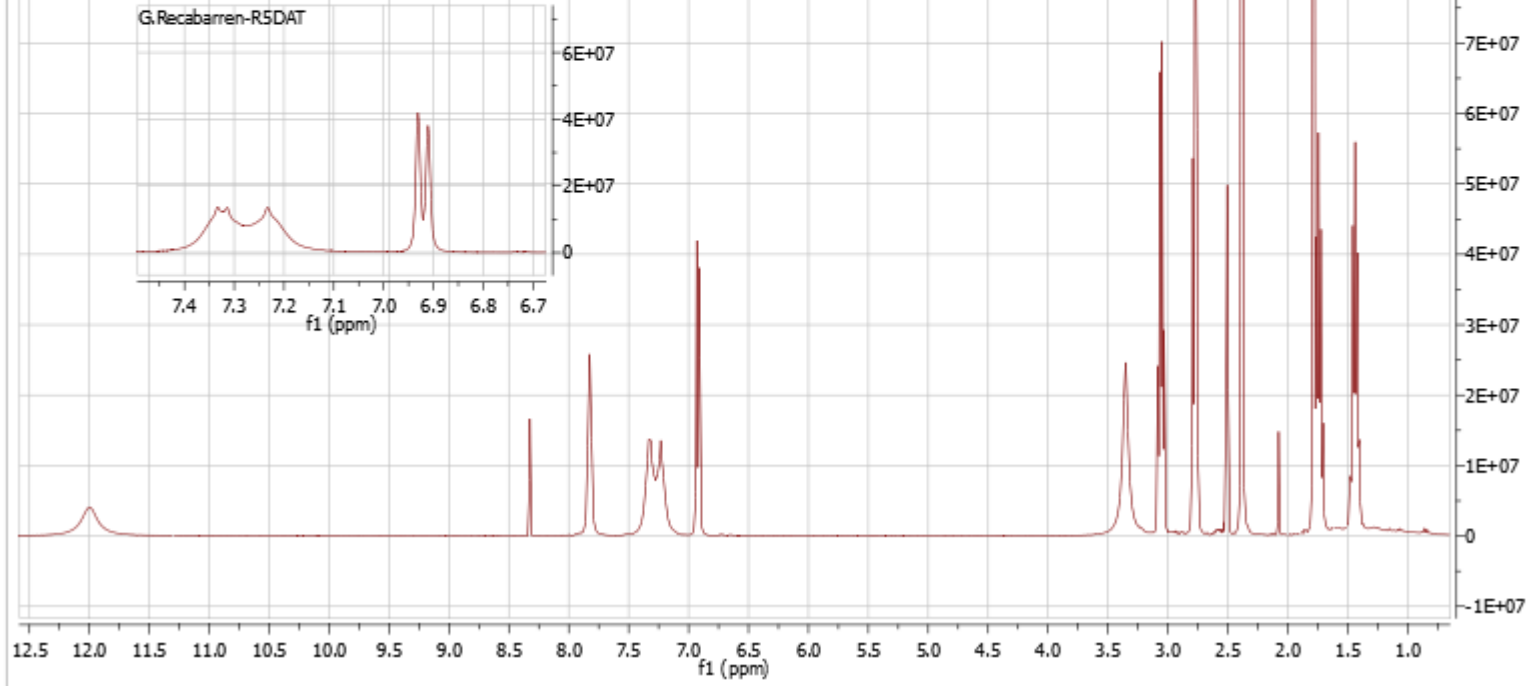


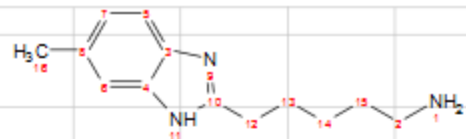
G.Recabarren-R5DAT

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, DMSO) δ 12.00 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 7.43 – 7.12 (m, 3H), 6.92 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 3.35 (s, 2H), 3.06 (dd, J = 12.9, 6.7 Hz, 3H), 2.77 (t, J = 7.5 Hz, 3H), 2.51 (s, 1H), 1.73 (dd, J = 15.3, 7.6 Hz, 3H), 1.49 – 1.39 (m, 3H).



(R)-2-((4-(6-methyl-1H-benzo[d]imidazol-2-yl)butyl)amino)-1-phenylethan-1-ol





5-(6-metil-1H-benzo[d]imidazol-2il)pentan-1-amina dihidrocloruro

