

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Fármaco e Medicamentos
Área de Insumos Farmacêuticos

**Planejamento, Síntese e Avaliação de Novos Protótipos de
Antipsicóticos**

Eliseu Ortega de Oliveira

**Tese para obtenção do grau de
DOUTOR**

**Orientadora:
Profa. Dra. Maria Amélia B. da Silveira**

**São Paulo
2003**

12761

DEDALUS - Acervo - CQ



30100005739

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

O48p Oliveira, Eliseu Ortega de
Planejamento, síntese e avaliação de novos protótipos de
antipsicóticos / Eliseu Ortega de Oliveira. -- São Paulo,
2003.

258p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Farmácia.

Orientador: Silveira, Maria Amélia Barata da

1. Química farmacêutica 2. Insumos farmacêuticos 3.
Fármaco : Planejamento : Química farmacêutica 4. Fármaco :
Síntese : Química farmacêutica I. T. II. Silveira, Maria
Amélia Barata da, orientador.

615.19 CDD

Eliseu Ortega de Oliveira

**Planejamento, Síntese e Avaliação de Novos Protótipos de
Antipsicóticos**

**Comissão Julgadora
da
Tese para a obtenção do grau de
Doutor**

**Profa. Dra. Maria Amélia Barata da Silveira
orientadora/presidente**

**Profa. Titular Elizabeth Igne Ferreira
1º Examinador**

**Profa. Dra. Ivone de Carvalho
2º Examinador**

**Prof. Dr. Cristóforo Scavone
3º Examinador**

**Prof. Dr. Lanfranco Ranieri Paolo Tronconi
4º Examinador**

São Paulo, 18 Setembro de 2003.

Eliseu Ortega de Oliveira

“Thus I have hopes of being able to achieve something of value through my current studies or with any new ideas that come in the future”.

John Nash – Premio Nobel de Economia em 1994... esquizofrênico

À Deus, por tudo, acima de tudo e de todos.

À minha esposa Miriam.

Aos meus filhos Lucas e Giovana.

Aos meus pais Elias e Marta.

AGRADECIMENTOS

Eliseu Ortega de Oliveira

AGRADECIMENTOS

- À professora Maria Amélia B. Da Silveira. Você acreditou desde o começo. Seu acolhimento, confiança e liberdade incondicionais, demonstrados ao longo da realização deste projeto, foram os pilares sobre os quais construí uma nova e fascinante carreira profissional. Obrigado por estes anos de trabalho, convivência, conselhos e orientação científica.
- Ao Dr. Carlos A. Brandt, você é um amigão do peito. Afinal de contas a nossa química de β -enaminoésteres serviu para alguma coisa, não? Obrigado pela sua amizade e valiosa co-orientação.
- À Professora Elizabeth I. Ferreira. Você com este seu jeito calmo “xuxu-beleza” de ser, sabe como nos cativar e por ordem na casa. Obrigado pela confiança e preciosos conselhos dados em momentos críticos da minha carreira. Para mim é uma honra tê-la como mestre e amiga.
- To Professor Richard A. Glennon. Thanks a lot for your support and understanding on co-directing this project. That was one of the most invaluable experience in my professional and personal life. It was a such pleasure to work with you.
- To Dr. Malgorzata Dukat. Sometime ago I said you were a such “4E” person: you’re full of Energy, you Energize people, have Experience and Edge to get things done. Thanks a lot for your friendship and partnership.
- Thank you Prof. Kellog for helping me with molecular modeling.
- Thank you professors Kier, Young, Dusai and Smith for some good time of chat.
- À professora Veni Felli pelo companheirismo.
- Aos docentes do programa de pós-graduação da FCF-USP pela dedicação e divisão do saber. Aos funcionários da SPG pelo sempre bom e pronto atendimento.
- Aos amigos da FCF-USP pela amizade e companheirismo. Sinto saudades dos sotaques mineiro, goiano, riograndense, campineiro, do pooorto e de todas as variações dialéticas do espanhol. Valeu Maité,

Michelli, Michele Polli, Carla, Kátia, Diogo, Roberto, Mercedes, Kerly e Ana. É inevitável ver os nossos caminhos se distanciando. Guardo no peito os bons momentos e a saudade. Sucesso a todos.

- Ao Roberto, obrigado por sua amizade e apoio “logístico”. Sua seriedade profissional e organização pessoal me impressionam e servem de exemplo.
- Ao Diogo Teixeira, um dia ainda aprendo a ser conciso como você. Talvez o dia em que inventem um fármaco para aumentar o QI! Obrigado pela amizade.
- To all of my best international fellows at VCU-VA. Thanks a lot for your friendship. I'll keep you forever alive in my heart. Just let me say some personal words to: Aziz, Kamel and Maha (“Izido el tina bela”); Babu, Manik and Uma (“Ela Unaru”); to Jean (“Les fis du factor?”); Deniz and Rahime (“Evet! Oros... Oops!”); Annia (“pracowita jak mrowka”); Bondarev and Bondareva (I should got some words in Russian...My bad! Anyway, “Obrigado, sejam felizes e não maltratem os ratinhos”); Lee (“Arigato”. Sorry, I got no Corean!); Giovanni (“Italiani tutti buona gente”. Are you missing MY old Giovanni’s car?); Ryan and Brian (Thank you guys for all the free classes of English.)
- Thank you Sharon and Robin for helping me in each of that small great things.
- Ao Professor Hélio Stefani por ceder gentilmente o seu equipamento para a obtenção dos espectros de CG/MS. Ao Diogo pela execução das análises.
- À Maria Inês de Almeida Gonçalves, pelas análises de RMN. Você foi muito prestativa e atenciosa. Muito obrigado.
- Aos amigos brasileiros moradores de Richmond, em especial aos “brothers” da Brazilian Community Church, pelo apoio sempre presente. Obrigado Pr. Samuel e Leila, Zezinho e Solange, Danilo e Elaine e a todos os demais amigos desta comunidade. Vocês tornaram a nossa vida nos EUA muito mais branda e proveitosa.

- Ao grande Alemão! Véio, você foi grande companheiro. Agradeço a Deus pela nossa amizade. Take care mermão!
- Aos amigos paulistanos Décio, Solange, Flávio, Josmar, Jane, Florival e Rose, pela amizade e apoio constante.
- Ao amigão Flávio Santos. Obrigado pela acolhida e apoio.
- Aos meus pais por sua inabalável crença na educação como maior herança a ser deixada. Obrigado pelo cuidado e presença constante em minha vida.
- À toda a minha família pelo apoio, confiança e torcida permanente.
- À minha irmã Lucimara. Sua energia e motivação me fizeram caminhar “mais rápido”.
- Ao meu sobrinho Thiago pela paciência e bondade, não característicos da idade, em me ceder seu computador.
- Aos meus filhos Lucas e Giovana, pela paciência e palavras sábias dirigidas ao “daddy”. Ok Lucas, acho que agora eu vou poder me divertir! Chega de “tese” né Giovana?
- À Miriam. As esposas de químicos deveriam ter um lugar especial no Céu! O caminho nem sempre foi plano, mas você acreditou e caminhou junto em uma aventura que a princípio não era sua. Comprou o meu sonho. Sorri, chorou, se feriu por vezes. Não tenho outra palavra para definir isto tudo a não ser “amor”. Obrigado. Sua confiança e parceria constantes nos fez vencer. Te amo!
- Àqueles que um dia jogaram pedras no meu caminho, por tornar esta vitória muito mais importante.
- À UNISA pelo apoio concedido.
- Ao CNPq e à CAPES pelas bolsas concedidas.

BIBLIOTECA
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÉUTICAS
R. do Matão, 572 - São Carlos - SP

ÍNDICE

ÍNDICE

RESUMO.....	17
ABSTRACT	19
I - INTRODUÇÃO	21
II – OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA.....	24
III – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	26
3.1. Nosologia das psicoses	26
3.2. Hipóteses neuroquímicas da esquizofrenia.....	30
3.3. Farmacoterapia via agentes antipsicóticos e seus mecanismos de ação.....	35
3.3.1. Sinalização neuronal e o mecanismo de ação dos agentes antipsicóticos....	36
3.3.1.1. Arquitetura neuronal do sistema nervoso central (SNC).....	36
3.3.1.2. Comunicação interneuronal	36
3.3.1.2.1. Geração do impulso elétrico.....	38
3.3.1.2.2. Características fundamentais dos NT	42
3.3.1.3. Mecanismo de ação dos agentes antipsicóticos (AP)	43
3.3.2. Principais classes terapêuticas de agentes antipsicóticos.....	48
3.3.2.1. AP Tricíclicos	48
3.3.2.1.1. AP Fenotiazínicos	48
3.3.2.1.1.1. REA dos Fenotiazínicos.....	49
3.3.2.1.2. AP Tioxantênicos	52
3.3.2.1.3. AP tricíclicos do tipo 6-7-6	52
3.3.2.2. Butirofenonas.....	53
3.3.2.2.1. REA das Butirofenonas.....	54
3.3.2.3. Difenilpiperidinas	55
3.3.2.4. Outras classes terapêuticas de agentes AP	56

3.3.3. Efeitos adversos dos agentes antipsicóticos.....	59
3.3.3.1. Efeitos Extra Piramidais (EEP).....	60
3.3.3.2. Hiperprolactinemia	62
3.3.3.3. Ganho de peso e intolerância à glicose	62
3.3.4. Agentes antipsicóticos tradicionais (AP típicos)	64
3.3.5. Agentes antipsicóticos de segunda geração (AP atípicos).....	67
3.3.5.1. AP atípicos X AP de segunda geração	67
3.3.5.2. Perfil farmacológico dos AP atípicos.....	68
3.3.5.2.1. Alta afinidade com os receptores 5-HT ₂	68
3.3.5.2.2. Alta afinidade com os receptores D ₄	70
3.3.5.2.3. Rápida dissociação nos receptores D ₂	70
3.3.5.2.4. Aripripazol, AP atípico de “3ª geração”.....	73
3.4. Benzamidas como antagonistas de receptores D ₂ e 5-HT ₃	76
3.4.1. Características dos receptores D ₂	78
3.4.2. Requisitos estruturais dos antagonistas dos receptores D ₂	82
3.4.3. Características dos receptores 5-HT ₃	85
3.4.4. Requisitos estruturais dos antagonistas de receptores 5-HT ₃	87
3.4.4.1. Modelo de Peroutka e Schimdt (1989).....	87
3.4.4.2. Modelo de Hibert (1990)	88
3.4.4.3. Modelo de Rizzi (1990).....	89
3.4.4.4. Primeiro modelo de Swain (1991)	91
3.4.4.5. Segundo modelo de Swain (1992).....	92
3.4.4.6. Modelo de Evans (1993).....	93
3.4.4.7. Constructo de Glennon	94
3.5. Derivados nicotínicos agonistas de receptores nACh $\alpha_4\beta_2$ e α_7	95
3.5.1. Características dos receptores nicotínicos nACh $\alpha_4\beta_2$ e α_7	96

3.5.1.1. Agonistas competitivos	97
3.5.1.2. Antagonistas competitivos	99
3.5.1.3. Antagonistas não competitivos (ANC).....	99
3.5.1.4. Moduladores alostéricos positivos	100
3.5.2. Requisitos estruturais dos agonistas de receptores nACh $\alpha_4\beta_2$ e α_7	101
IV – PLANEJAMENTO SINTÉTICO DE NOVOS DERIVADOS PIRROLIDÍNICOS DE BENZAMIDAS E NICOTINA	103
4.1. Aspectos gerais da metodologia de planejamento de fármacos.....	103
4.2. Planejamento sintético dos novos protótipos de agentes antipsicóticos.....	105
4.2.1. Benzamidas metilenopirrolidínicas N-, 2- e 3-substituídas como agentes AP	105
4.2.1.1. Análise retrossintética da obtenção das benzamidas.....	110
4.2.2. Derivados nicotínicos piridinometilenopirrolidínicos N- e 2-substituídos como agonistas de receptores nicotínicos (nACh) $\alpha_4\beta_2$ e α_7	110
4.2.2.1. Análise retrossintética da obtenção dos derivados da série nicotínica (Série IV).....	113
V – MATERIAIS E MÉTODOS.....	115
5.1. MATERIAIS	115
5.1.1. Reagentes e solventes (parte sintética e analítica)	115
5.1.2. Equipamentos (parte sintética e analítica)	116
5.1.3. Equipamentos (modelagem molecular).....	116
5.1.4. Software (modelagem molecular)	116
5.2. MÉTODOS	117
5.2.1. Síntese dos protótipos e intermediários	117
5.2.1.1. Procedimento geral para a síntese dos compostos (EDO-146), (EDO-125), (EDO-145) e (EDO-126) via redução química com $\text{NaHB}(\text{OAc})_3$	117
5.2.1.2. Procedimento geral para a síntese das benzamidas (EDO-140), (EDO-122), (EDO-139), (EDO-123), (EDO-148) e (EDO-149)	117
5.2.1.3. Procedimento geral para a síntese dos aminocompostos (EDO-138), (EDO-120) e (EDO-147)	118

5.2.1.4. Procedimento geral para a síntese dos azido-compostos (EDO-137), (EDO-119) e (EDO-144)	118
5.2.1.5. Procedimento geral para a síntese dos iodo-compostos (EDO-131), (EDO-117) e (EDO-143)	119
5.2.1.6. Procedimento geral para a síntese dos β -enaminoésteres (EDO-128), (EDO-116) ou (EDO-141)	119
5.2.1.7. Síntese de 3-oxo-hept-6-enoato de metila (EDO-121)	120
5.2.1.8. Síntese de 2-acetil-pent-4-enoato de metila (EDO-115).....	121
5.2.1.9. Síntese de 2-(benzilamino-metileno)-pent-4-enoato de metila (EDO-136)	121
5.2.1.10. Síntese de 2-etilaminometileno-pent-4-enoato de metila (EDO-040).....	122
5.2.1.11. Síntese de 2-hidroximetileno-pent-4-enoato de metila (EDO-026)	123
5.2.1.12. Síntese de pent-4-enoato de metila (EDO-025)	123
5.2.1.13. Síntese de 3-benzilamino-acrilato de metila (EDO-134).....	124
5.2.1.14. Síntese de 3-etilamino-acrilato de metila (EDO-094)	124
5.2.2. Métodos Analíticos.....	124
5.2.3. Testes de afinidade com os receptores (<i>binding</i>).....	126
5.2.4. Modelagem molecular.....	126
VI – RESULTADOS	128
6.1. Resultados do Estudo Químico.....	128
6.2. Resultados do Estudo Biológico (<i>binding</i>).....	189
6.3. Resultados do Estudo de Modelagem Molecular	190
VII – DISCUSSÃO	194
7.1. Discussão dos resultados do estudo químico	194
7.1.1. Rotas sintéticas utilizadas na preparação dos compostos	195
7.1.2. Compostos sintetizados.....	199
7.1.2.1. Rota Sintética A – Síntese das Benzamidas da Série I.....	199
7.1.2.1.1. Síntese das benzamidas reduzidas (EDO-146), (EDO-125), (EDO-145) e (EDO-126).....	199

7.1.2.1.2. Síntese das benzamidas (EDO-139), (EDO-123), (EDO-140) e (EDO-122)	201
7.1.2.1.3. Síntese dos amino-compostos (EDO-138) e (EDO-120)	202
7.1.2.1.4. Síntese dos azido-compostos (EDO-137) e (EDO-119)	203
7.1.2.1.5. Síntese dos iodo-compostos (EDO-131) e (EDO-117)	204
7.1.2.1.6. Síntese dos compostos β -enaminoésteres (EDO-128) e (EDO-116).....	206
7.1.2.1.7. Síntese do β -cetoéster (EDO-121)	206
7.1.2.2. Rota sintética B – Síntese das Benzamidas das Séries II	207
7.1.2.2.1. Síntese das benzamidas (EDO-148) e (EDO-149)	207
7.1.2.2.2. Síntese do amino-composto (EDO-147).....	208
7.1.2.2.3. Síntese do azido-composto (EDO-144).....	208
7.1.2.2.4. Síntese do iodo-composto (EDO-143)	209
7.1.2.2.5. Síntese do composto β -enaminoéster acíclico (EDO-141)	209
7.1.2.2.6. Síntese do β -cetoéster (EDO-115).....	209
7.1.2.3. Rota sintética C – Síntese das Benzamidas da Série III.....	210
7.1.2.3.1. Síntese do β -enaminoéster (EDO-040)	212
7.1.2.3.2. Síntese do β -enaminoéster (EDO-136)	215
7.1.2.4. Rota sintética D – Síntese do intermediário (EDO-026)	217
7.1.2.4.1. Tentativa de síntese do β -enaminoéster (EDO-026) via formilação do acetato de metila	217
7.1.2.4.2. Tentativa de síntese de (EDO-026) à partir da β -propiolactona.....	218
7.1.2.4.3. Tentativa de obtenção de (EDO-026) à partir do acetal (12)	219
7.1.2.4.4. Síntese de (EDO-026) pela reação de formilação de (EDO-025)	220
7.1.2.5. Rota sintética E – Síntese dos Compostos da Série Nicotínia via Iodociclicização.....	222
7.1.2.6. Rota sintética F – Síntese Alternativa dos Compostos da Série Nicotínia via Ácido Piroglutâmico.....	228
7.1.3. Preparação dos sais das benzamidas para os testes de <i>binding</i>	229

7.1.3.1. Tentativa de obtenção do cloridrato da benzamida (EDO-140).....	229
7.1.3.2. Tentativa de obtenção do oxalato da benzamida (EDO-139)	229
7.1.3.3. Tentativa de obtenção do fumarato da benzamida (EDO-140).....	230
7.1.3.4. Tentativa de purificação de (EDO-140) por recristalização de hexano	231
7.1.3.5. Tentativa de purificação de (EDO-140) por CLAE.....	233
7.1.3.6. Purificação de (EDO-140) por CCDP.....	233
7.1.3.7. Preparação do fumarato da benzamida (EDO-139)	234
7.1.3.8. Preparação do cloridrato da benzamida (EDO-122).....	234
7.1.3.9. Preparação do cloridrato da benzamida (EDO-148).....	235
7.2. Discussão dos resultados do estudo biológico (<i>binding</i>).....	235
7.2.1. Afinidade das benzamidas (EDO-139) e (EDO-140) com os receptores D ₂ e 5-HT ₃ - (testes de <i>binding</i>).....	235
7.2.1.1. Hipótese da baixa afinidade devida à baixa basicidade do nitrogênio pirrolidínico	236
7.2.1.2. Hipótese da baixa afinidade devida à intolerância dos receptores D ₂ e 5-HT ₃ às substituições no anel pirrolidínico	237
7.3. Discussão dos resultados de modelagem molecular.....	239
7.3.1. Cálculo das distâncias entre os elementos dos grupos farmacofóricos.....	239
7.3.2. Cálculo da densidade de carga elétrica no sistema β-enaminoéster.....	241
7.3.3. Cálculo das distâncias entre os elementos dos grupos farmacofóricos nos derivados nicotínicos	242
VIII – CONCLUSÕES	244
IX – PERSPECTIVAS.....	247
X – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	249

RESUMO

RESUMO

A esquizofrenia é mal que aflige cerca de 1% da população mundial. Esforços têm sido envidados para o esclarecimento das bases etiológicas deste distúrbio, seu tratamento e provável cura. Embora a ciência moderna tenha avançado bastante neste sentido, há ainda enorme caminho a ser percorrido. O desenvolvimento de fármacos antipsicóticos eficazes tem sido bastante promissor, porém ainda limitado face ao pouco conhecimento dos múltiplos fatores causais deste distúrbio psíquico e de suas interrelações.

Este projeto de pesquisa fundamentou-se no planejamento e síntese de novas benzamidas potencialmente ligantes dos receptores D₂ e 5-HT₃, e de novos compostos piridinometilenopirrolidínicos, prováveis ligantes dos receptores nicotínicos (nAChR) $\alpha_4\beta_2$ e α_7 , cujos antagonistas dos primeiros e agonistas dos últimos retêm potencial ação antipsicótica e podem revelar novos agentes terapêuticos.

O estudo em questão fez uso da metodologia de síntese de pirrolidinas via iodociclização de β -enaminoésteres desenvolvida por De Oliveira *et al.* (1995; Ferraz *et al.*, 1995). Novos compostos intermediários metilenopirrolidínicos foram preparados apresentando grupos carboxi-ésteres na posição 2 do anel ou diferentes substituintes no átomo de nitrogênio. No caso das benzamidas, mantiveram-se os mesmos substituintes do anel aromático em analogia às benzamidas já descritas pela literatura que apresentaram atividade antagonista em receptores D₂ e 5-HT₃ (Hogberg, 1993; Harada *et al.*, 1995a).

A metodologia de síntese empregada permite obter anéis heterocíclicos altamente funcionalizados em três etapas de síntese, fator decisivo na escolha do método, ainda que este tenha apresentado algumas restrições quanto à estereoquímica e reatividade de alguns iodo-compostos intermediários.

Os compostos sintetizados visam dar subsídios ao estudo da relação entre a estrutura e a afinidade (SAFIR) de futuros derivados pirrolidínicos substituídos, em região da molécula ainda pouco explorada, destacando os fatores que concorrem para a seletividade entre os receptores citados.

ABSTRACT

ABSTRACT

Schizophrenia is a severe illness of unknown aetiology affecting about 1% of the world's population. Although some efficient pharmacotherapeutic agents are available, complete cure remains impossible due to a lack of knowledge of the factors underlying this disturbance.

This research project deals with the design and synthesis of new intermediates of substituted methylene pyrrolidiny benzamides as potential antagonists of D₂ and 5-HT₃ receptors and potential agonists or antagonists of nACh receptors ($\alpha_4\beta_2$ and α_7), all of which are possibly involved in the treatment of psychotic disorders. More specifically, it explores routes of synthesis to develop means for functionalizing known agents in such a manner that ring positions not previously examined can now be investigated more fully. The aim of this methodology is to build up a highly functionalized nitrogen heterocycle in just three steps with good yields in straightforward procedures. The new compounds bearing a substituent at the nitrogen atom and/or C-2 in the pyrrolidine ring were prepared by the De Oliveira's *et al.* method of iodocyclization of β -enaminoesters (De Oliveira, 1995; Ferraz *et al.*, 1995). No modifications were made at the aromatic portion of the benzamides, maintaining the best substituents found in the literature for the best activity as D₂ and 5-HT₃ antagonists (Hogberg, 1993; Harada, 1995a).

The planned and effectively synthesized compounds can now serve as entry to a more comprehensive study of SAFIR at the pyrrolidiny ring that can be conducted in the future.

INTRODUÇÃO

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

Eliseu Ortega de Oliveira

I – INTRODUÇÃO

A esquizofrenia, mal que atinge cerca de 1% da população mundial, foi originalmente chamada por Emil Kraepelin, psiquiatra suíço do século 19, de “demência precoce”, para identificar um grupo de pacientes psicóticos jovens que vieram a desenvolver a demência. Euler Bleurer notou que a maioria dos pacientes com psicose e distúrbios afetivos similares não se tornavam gravemente dementes, renomeando o distúrbio para “esquizofrenia” (Meltzer *et al.*, 1999).

Mais do que um distúrbio de característica única, a esquizofrenia se caracteriza por agregado de sintomas diferenciados positivos e negativos, cognitivos e de humor, que juntos concorrem para o agravamento das funções de ordem ocupacional e social dos indivíduos portadores (Marder, 1999).

A clorpromazina e o haloperidol foram os primeiros fármacos a serem introduzidos na terapêutica nas décadas de 50 e 60. Tais medicamentos são bastante eficazes principalmente quanto ao tratamento dos sintomas positivos (ex.: ilusões, delírios, entre outros) e desencadeiam fortes efeitos adversos de ordem motora, conhecidos como efeitos extrapiramidais (EEP).

A introdução da clozapina na terapêutica nos EUA em 1990 causou intensa discussão sobre as bases neuroquímicas da esquizofrenia e dos prováveis mecanismos de ação dos agentes antipsicóticos (AP). A razão para tanto foi o perfil “atípico” deste fármaco, que exibe atividade antipsicótica eficaz, porém não desencadeia os EEP nas doses clínicas administradas (Fleischhacker, 2002).

Fortes evidências sustentam a hipótese da hiperativação dopaminérgica como causa dos distúrbios esquizofrênicos, uma vez que agonistas de dopamina (ex. anfetamina) desencadeiam em humanos os sintomas positivos da esquizofrenia (ex. alucinações) eliminados por administração de antagonistas de dopamina.

Seeman (1987) mostrou a forte correlação entre as doses clínicas dos AP e as suas afinidades pelos receptores de dopamina D₂.

A atipia do comportamento da clozapina foi atribuída à sua afinidade e falta de seletividade frente aos principais receptores envolvidos na esquizofrenia (ex. D₁, D₂, 5-HT₂, α_1 -adrenérgico e α_2 -adrenérgico, H₁ e M₁) (Kapur *et al.*, 2001a). Mais importante é o fato de a clozapina mostrar maior seletividade frente aos receptores 5-HT₂ em comparação com receptores D₂. Isto abriu espaço para a introdução de agentes antagonistas mistos de serotonina-dopamina (SDA), caracterizados por afinidade substancial aos receptores 5-HT_{2a} e alguma afinidade aos receptores D₂ (Marder, 1999), idéia originada e defendida por Meltzer *et al.* (1991).

Kapur *et al.* (2001b) discutem o modelo de Meltzer *et al.* provando ser possível a ação antipsicótica sem a geração dos EEP mesmo entre agentes totalmente seletivos aos receptores D₂, a exemplo da amisulpirida, fármaco pertencente à classe química das benzamidas. Os autores, entretanto, não discordam do fato levantado por Marder (Marder, 1999) de que os antagonistas D₂ possam estar restritos ao tratamento dos sintomas positivos da esquizofrenia, em detrimento dos demais, principalmente os cognitivos e de humor.

Embora tenha-se avançado muito e rapidamente na compreensão e tratamento da esquizofrenia e demais distúrbios psicóticos, ainda resta muito a ser feito, especialmente quanto à introdução de fármacos mais seguros, eficazes e de efeitos adversos diminuídos.

A exploração de novos protótipos de benzamidas, antagonistas seletivos de receptores D₂, contribui significativamente com este avanço, visto ser esta classe de compostos promissora em termos de novos agentes atípicos.

OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA

II – OBJETIVOS E JUSTIFICATIVA

Este trabalho tem como objetivo o planejamento, a síntese e a avaliação inicial de novos protótipos de agentes antipsicóticos da classe das benzamidas e derivados nicotínicos, que contenham um anel pirrolidínico substituído nas posições 2, 3 ou no nitrogênio, em sua estrutura molecular.

Fundamentalmente, procura-se entender quais são os fatores determinantes da afinidade e seletividade entre os receptores estudados (D_2 , $5-HT_3$ e nAChR $\alpha_4\beta_2$ e α_7) frente ao processo de modificação molecular do anel pirrolidínico, em região quase que inexplorada até então por estudos de REA ou SAFIR.

Finalmente, objetivou-se a avaliação da metodologia de síntese da sub-estrutura heterocíclica dos derivados benzamídicos e nicotínicos via iodociclização de β -enaminoésteres.

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

III – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. Nosologia das Psicoses

Segundo Baldessarini (1996), as psicoses estão entre os distúrbios psiquiátricos mais graves, caracterizados pelo prejuízo do comportamento, falta de habilidade no pensar correto e compreensão da realidade. As disfunções psicóticas comumente agregam as falsas crenças (ilusões) e as sensações anormais (alucinações). Há suspeitas de que os distúrbios psicóticos tenham uma base neurobiológica, mas são distintos das síndromes cognitivas dos delírios e demências.

A etiologia de tais distúrbios ainda é desconhecida. Propostas de causas genéticas e de anomalias no neurodesenvolvimento, além de causas ambientais têm sido postuladas. Síndromes representativas desta categoria incluem a esquizofrenia, psicoses breves, disfunções ilusivas, e os aspectos psicóticos comuns nas principais alterações do humor, como a mania e a depressão grave.

As debilidades de ordem psicótica são caracterizadas pelas desorganizações no processo de pensamento, como comunicações ilógicas e idiossincráticas, comportamento inconveniente e irracional e vários graus de alteração do humor que podem variar desde excitação elevada até retraimento emocional grave. As psicoses idiopáticas caracterizadas principalmente pelas disfunções crônicas de pensamento e retraimento emocional e, freqüentemente associadas com ilusões e alucinações são chamadas de esquizofrenia.

A esquizofrenia é distúrbio mental grave que afeta cerca de 1% da população mundial. Cerca de 25% dos pacientes tratados com fármacos adequados são restabelecidos em período de cinco anos e 65% apresentam problemas recorrentes durante vários anos. Cerca de 15% dos pacientes cometem suicídio. Os custos sociais e pessoais desta disfunção psíquica são bastante substanciais, incluindo os custos da farmacoterapia,

hospitalização, médicos e serviços relacionados e a perda da produtividade no ambiente de trabalho (Rowley *et al.*, 2001).

Os sintomas clínicos da esquizofrenia se apresentam de forma bastante acentuada entre a adolescência (aos 15 anos) e a fase adulta (45 anos). Mardem (1999) destaca os sintomas característicos presentes na esquizofrenia: 1) sintomas positivos (ilusões, alucinações, discurso desorganizado, catatonia); 2) sintomas negativos (rebaixamento afetivo, alogia, avolição, edonia); 3) sintomas cognitivos (atenção, memória, funções executivas) e 4) sintomas de humor (disforia, tendência ao suicídio e falta de esperança).

O termo “esquizofrenia”, que significa *cisão* (schism) no funcionamento mental, foi introduzido por Eugen Bleuler (1911), psiquiatra suíço. Esta cisão é marcante na demência precoce. A Emil Kraepelin (1896) se atribui os fundamentos do conceito moderno de esquizofrenia. Bleuler, entretanto, ampliou os conceitos de Kraepelin tratando a demência precoce como *disfunção*, caracterizada pela cisão do funcionamento cerebral - que pode ser manifesta ou latente, branda ou grave, ao contrário de uma *doença* grave, crônica, sem causa externa, que acomete indivíduos jovens e saudáveis e tem potencial efeito degenerativo. Esta abordagem Bleuleriana reorientou o conceito de esquizofrenia enfatizando as causas psicológicas subjacentes à sintomatologia observada.

Esta mudança de pensamento foi profundamente influenciada por Sigmund Freud (Martin, 1997) e seus seguidores, que viam a neurose e a esquizofrenia como espectro de disfunções de gravidade emocional variável, mas resultantes do mesmo mecanismo psicológico.

Tais idéias influenciaram a formulação do primeiro Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-I), que implicitamente não enfatizava os fatores biológicos constitucionais da esquizofrenia,. Tal fato ocorreu mesmo em sua segunda versão (DSM-II), publicada vinte anos após (1960), a despeito dos grandes avanços da psicofarmacologia, neurobiologia e genética, que firmaram a importância dos fatores biológicos no comportamento humano. Mesmo as versões subsequentes, o DSM-III, DSM-

III-R e DSM-IV, refletem, em muitos aspectos, retorno aos conceitos de Kraepelin e Bleuler (Martin, 1997).

Talvez a tendência seja devida ao fato de que, a despeito das inúmeras pesquisas biológicas, nenhum marcador biológico ou teste laboratorial é capaz de diagnosticar a esquizofrenia, restando somente a opção do julgamento clínico (Chaves, 1994). Os critérios diagnósticos usados atualmente são o DSM-IV (APA, 1994), da Associação Psiquiátrica America e o CID-10 (OMS, 1993), da Organização Mundial da Saúde.

Segundo Martin, os critérios para diagnóstico da esquizofrenia estabelecidos pelo DSM-IV requerem dois ou mais dos seguintes sintomas característicos, persistentes pelo período mínimo de um mês: ilusões, alucinações, discurso desorganizado, comportamento muito desorganizado ou catatônico e sintomas negativos. Contudo, somente um destes sintomas é suficiente, caso as ilusões sejam bizarras ou as alucinações consistirem em voz, ou vozes, que falam entre si. Após longo período do início do distúrbio, uma ou mais atitudes do comportamento social mostram-se diminuídas, tais como trabalho, auto-cuidado e relações interpessoais. Os sinais dos distúrbios devem perdurar pelo prazo de seis meses, incluindo um mês da fase sintomática ativa. O diagnóstico deve excluir os distúrbios esquizoafetivos e de humor. Estes não devem ser causados pelo uso de medicamentos ou abuso de drogas ou alguma condição genérica.

O DSM-IV classifica a esquizofrenia em cinco subtipos. A esquizofrenia *paranóide*, *desorganizada* (ou *hebefrênica*), *catatônica*, *indiferenciada* e *residual*.

No tipo *paranóide* há predomínio de delírios, mais ou menos estáveis, não aparecendo a desagregação do pensamento e o embotamento afetivo.

O tipo *hebefrênico*, ou desorganizado, característico do início da adolescência, pode apresentar ilusões e alucinações, porém não proeminentes. A desagregação do pensamento, desorganização do comportamento e afeto superficial e inadequado são as suas características marcantes.

A esquizofrenia *catatônica* reúne as características de alterações psicomotoras, como imobilidade, postura inapropriada ou bizarra, movimentos estereotipados, ecolalia e copraxia*, atividade motora excessiva sem propósito ou estímulo externo.

A forma *indiferenciada* é aquela que agrega todos os sintomas da esquizofrenia, com exceção daqueles presentes nas formas já citadas.

Finalmente, a forma *residual*, na qual há evidência contínua de tristeza emocional caracterizada pela presença dos sintomas negativos, ou dois ou mais sintomas característicos da esquizofrenia em forma acentuada (ex.: crendices estranhas e percepções não usuais). Entretanto, não se observa o aparecimento de ilusões, alucinações ou comportamentos desorganizados ou catatônicos.

Segundo Chaves (1994), os transtornos esquizofrênicos caracterizados pelo CID-10 são mais ligados às funções básicas, responsáveis nas pessoas normais pelo senso de responsabilidade, unicidade e direção de si mesmas.

* *Ecolalia* - ato de repetir o som ou palavra que acaba de ouvir;
Copraxia - tique motor que envolve ações involuntárias e obscenas, socialmente inaceitáveis.

3.2. Hipóteses neuroquímicas da esquizofrenia

Pela falta de evidências, aceita-se que a esquizofrenia seja termo englobando grupo de distúrbios, exteriorizados por fenótipo comum e não doença de identidade única (Meltzer *et al.*, 1999a).

Para a explicação da etiologia destas disfunções, destacam-se as hipóteses neuroquímicas dopaminérgicas, serotoninérgicas e glutaminérgicas. Como por si só não explicam a contento, são considerados outros sistemas como o GABAérgico, colinérgico e os mediados por alguns neuropeptídeos transmissores (Rowley *et al.*, 2001; Meltzer *et al.*, 1999b).

A hipótese dopaminérgica baseia-se na observação de que certas substâncias clinicamente eficazes no tratamento da esquizofrenia, como a clorpromazina e o haloperidol (Figura 1), aumentam os níveis de dopamina (DA) e norepinefrina (NE) no cérebro de roedores e possuem alta afinidade pelos receptores D₂ (Carlsson *et al.*, 1963; Creese *et al.*, 1976; Seeman, 1987). Além disso, a administração repetitiva de anfetamina em humanos induz à psicose paranóide, com sintomas similares àqueles observados nos pacientes esquizofrênicos. Apesar disto, há poucas evidências diretas, a partir de estudos neuroquímicos *post-mortem* em pacientes esquizofrênicos não medicados, para substanciar anormalidade da função neuronal da dopamina central. Contudo, estudos clínicos recentes em pacientes esquizofrênicos não medicados mostraram que a administração aguda de anfetamina diminui sensivelmente o potencial de ligação do [¹²³I]-IBZM (Figura 1) aos receptores D₂ e D₃ na região estriatal, verificado mediante SPECT (Single-Photon-Emission-Computerized-Tomography) em relação ao grupo controle, indicando aumento pronunciado na liberação de dopamina em indivíduos esquizofrênicos (Laruelle *et al.*, 1996).

Um dos marcos históricos para a hipótese dopaminérgica, foi a descoberta da clozapina, agente antipsicótico eficaz, que possui baixa afinidade e fraca atividade antagonista aos receptores D₂ nas doses terapêuticas e boa afinidade e atividade antagonista frente aos receptores 5-HT_{2a} e α_2 -adrenérgico (Svenson, 2000). Isto abriu o caminho para a busca

de novos agentes antipsicóticos e revelou que a hipótese dopaminérgica *per se* não é suficiente para explicar esta disfunção complexa.

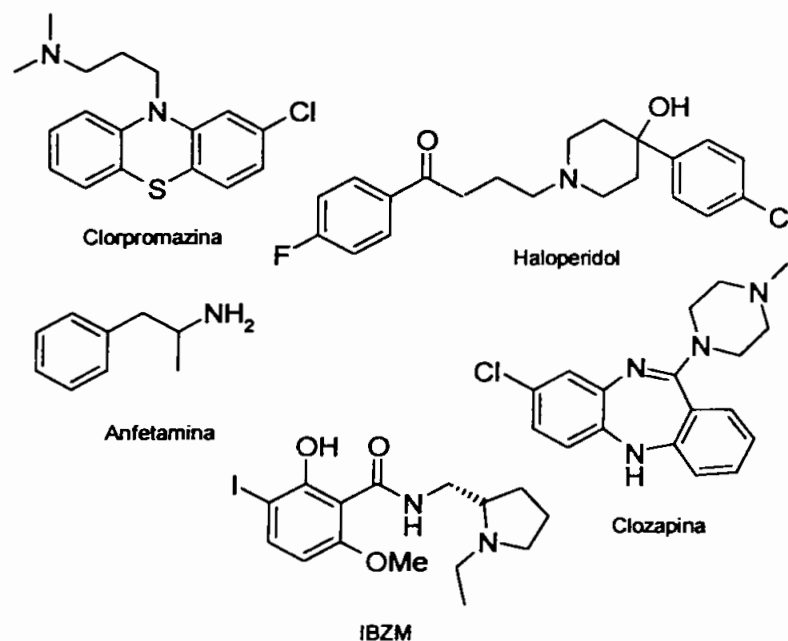


Figura 1 – Alguns ligantes de receptores D₂.

A serotonina (5-HT), mediador responsável por diferentes funções somáticas e de comportamento, também parece estar relacionado com o aparecimento da esquizofrenia (Meltzer *et al.*, 1999a), já que algumas das suas ações podem resultar nos sintomas característicos dessa psicose como as alucinações, cognição, humor, agressão, libido, apetite alterado, atividade motora, limiar da dor, funções endócrinas e sono.

A *hipótese serotoninérgica* fundamenta-se no fato de que vários agonistas de serotonina (5-HT), como exemplo a mescalina, a bufotenina e a LSD (Figura 2), produzem alucinações em humanos e, portanto, sugerem o envolvimento da 5-HT na etiologia da esquizofrenia (Wooley *et al.*, 1954).

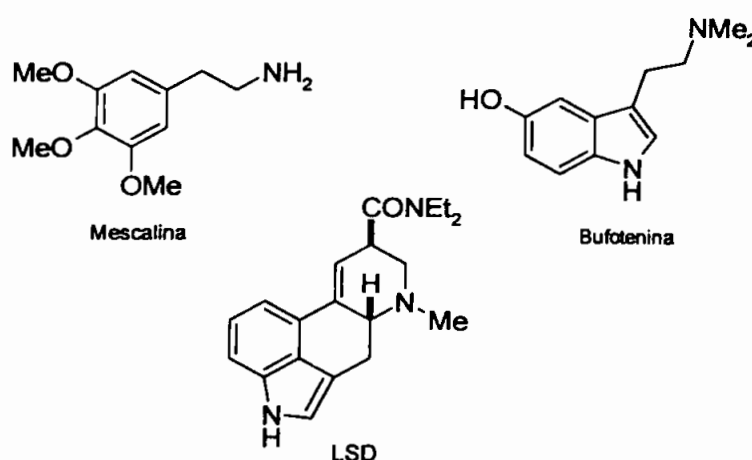


Figura 2 – Alguns agonistas de serotonina

Estudos *post-mortem* recentes mostraram decréscimo na densidade dos receptores 5-HT_{2a}, no córtex de pacientes esquizofrênicos (Burnett *et al.*, 1996; Gurenich *et al.*, 1997).

O argumento mais importante em relação ao papel da 5-HT na esquizofrenia fundamenta-se no mecanismo de ação de novos agentes antipsicóticos ditos atípicos, ou de segunda geração. Tais compostos, além de não produzirem os indesejáveis efeitos motores (EEP), mostram-se eficazes no tratamento das disfunções cognitivas e dos sintomas positivos e negativos. Alguns destes apresentam afinidade balanceada entre os receptores de serotonina e dopamina e por isso são chamados de antagonistas de serotonina-dopamina (SDA), embora existam exemplos de agentes atípicos que não se ligam aos receptores de 5-HT. Alguns exemplos de AP atípicos são a clozapina, a olanzapina, risperidona, ziprazidona, sertindol e o M100907.

A clozapina, antipsicótico atípico (não apresenta os efeitos motores indesejáveis, conhecidos como efeitos extrapiramidais - EEP), exibe alta afinidade pelos receptores 5-HT_{2a} em contraste com os receptores D₂. Nas doses clínicas administradas, a clozapina ocupa cerca de 40% dos receptores D₂, enquanto que a taxa de ocupação dos receptores 5-HT_{2a} é de 85-95% (Nyberg *et al.*, 1996).

Segundo Meltzer *et al.* (1991) a razão entre as afinidades dos ligantes aos receptores 5-HT_{2a} e D₂ em humanos deve ser superior a 1,0 para ausência de EPS, ou seja, a razão pK_i 5-HT₂ / pK_i D₂ > 1,0. Isto está relacionado ao caráter atípico de alguns dos agentes antipsicóticos.

Estudos recentes tentam elucidar se a alta afinidade pelos receptores 5-HT_{2a} *per se* é suficiente para explicar a atividade antipsicótica. Assim, novos antagonistas seletivos de receptores 5-HT_{2a} foram testados como agentes antipsicóticos promissores, entre os quais o composto M1000907 e a fananserina (Rowley *et al.*, 2001) (Figura 3).

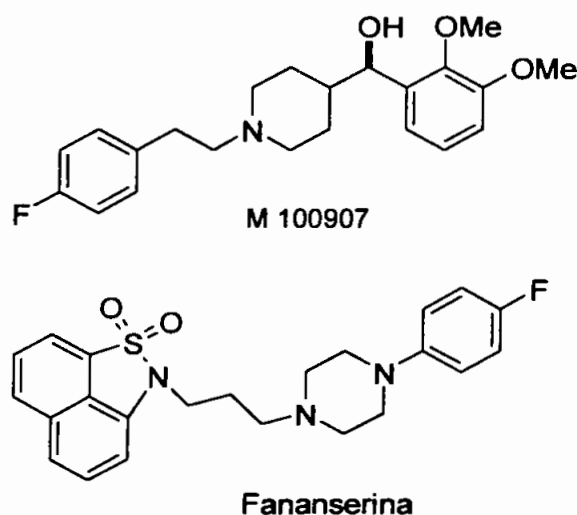


Figura 3 – Novos antagonistas seletivos de receptores 5-HT_{2a}.

Contudo, Kapur *et al.* (2001b) ressaltam que todos os esforços em se produzir um AP sem ação antidopaminérgica ao nível dos receptores D₂ têm sido infrutíferos. Assim, fármacos potenciais que bloqueiam especificamente receptores 5-HT_{2a} (M 100907), D₄ (L-745-850), 5-HT_{2a}/D₄ (fananserina) e D₁ (SCH 23390) falharam em testes clínicos.

A hipótese glutaminérgica sugere que a hipofunção deste sistema nos neurônios do SNC esteja associada com a etiologia da esquizofrenia (Tamminga, 1998; Javitt, 1996; D'Souza *et al.*, 1995). Esta hipótese foi primeiramente postulada devido aos baixos níveis de glutamato encontrados no fluido cerebro-espinal de indivíduos esquizofrênicos (Kim *et al.*, 1980) e

com a constatação de que isto se correlaciona inversamente com a gravidade dos sintomas positivos da esquizofrenia (Faustman, 1999).

Estudos *post mortem* confirmam a modulação (*up regulation*) dos receptores de glutamato, especificamente de *N*-metil-D-aspartato (NMDA), em certas regiões do cérebro, como possível consequência da redução da liberação de glutamato (Sherman *et al.*, 1991; Grinwood *et al.*, 1998; Ishimaru *et al.*, 1994, Toru *et al.*, 1992). A evidência mais forte, porém, vem do fato de que indivíduos normais experimentam sintomas parecidos com a esquizofrenia sob administração de antagonistas não competitivos de NMDA- como a cetamina e a fenciclidina (Figura 4). Tais sintomas são exacerbados em pacientes esquizofrênicos sob as mesmas condições (Krystal *et al.*, 1994; Cohen *et al.*, 1959).

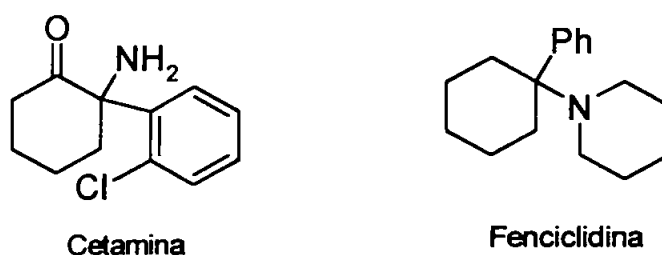


Figura 4 – Antagonistas não competitivos de NMDA.

Grande ênfase tem sido dada à hiperfunção dos sistemas dopaminérgico e serotoninérgico. Sabe-se que o sistema colinérgico também está associado a estes sistemas, principalmente com o primeiro, no qual o aumento dos níveis de acetilcolina (ACh) resulta em decréscimo do nível de dopamina (DA) e vice-versa.

Assim, agonistas de acetilcolina (ACh) podem modular o sistema dopaminérgico e indiretamente agirem como antipsicóticos (Bymaster, 1999).

Sinopse elucidativa de todos os sistemas neuroquímicos envolvidos na esquizofrenia é dada por Meltzer *et al.* (1999b), na qual listam-se as hipóteses dopaminérgica, serotoninérgica, GABAérgica, glutamatérgica,

colinérgica e de alguns neuropeptídeos que atuam como neurotransmissores (ex.: neurotensina, colecistocinina-CCK e neuropeptídeo-Y-(NPY)).

A etiologia da esquizofrenia ainda é um campo de pesquisa aberto. Sem dúvida virá a sofrer forte impacto dos avanços tecnológicos deste século, tais como da tecnologia do chip genético, do proteoma, dos animais transgênicos e do aprimoramento das técnicas de mapeamento como o PET (Positron Emission Tomography-Tomografia por Emissão de Pósitrons) e SPECT. Estas tecnologias causarão impactos importantes no processo de desenvolvimento de novos fármacos e na síntese de ligantes específicos como “sondas” farmacológicas úteis na compreensão das bases moleculares da esquizofrenia, bem como das suas possíveis formas de tratamento (Rowley *et al.*, 2001).

3.3. Farmacoterapia via agentes antipsicóticos e seus mecanismos de ação

O tratamento clássico das psicoses, em especial da esquizofrenia, consiste na administração de antagonistas de dopamina (DA). Tais fármacos agem competitivamente com a DA, bloqueando os seus receptores, normalizando assim a frequência de disparos espontâneos dos neurônios dopaminérgicos.

Com a finalidade de se compreender melhor a ação dos agentes AP, detalha-se, a seguir, o processo de sinalização neuronal, as relações entre a estrutura e a atividade (REA) das principais classes de fármacos e as diferenças fundamentais entre os AP tradicionais (ou típicos) e os de segunda geração (atípicos), bem como as implicações teóricas decorrentes desta diferenciação na discussão e refinamento das hipóteses neuroquímicas da esquizofrenia.

3.3.1. Sinalização neuronal e o mecanismo de ação dos agentes antipsicóticos (Siegel *et al.*, 1999)

3.3.1.1. Arquitetura neuronal do sistema nervoso central (SNC)

Os neurônios são células especializadas que permitem a comunicação no SNC. Tal comunicação é tipicamente de natureza elétrica e química. A comunicação no interior do neurônio é principalmente elétrica ao passo que entre os neurônios é geralmente química. Estas células não se unem fisicamente umas às outras, mas são separadas por pequenos “vazios” chamados sinapses. A transmissão sináptica é de natureza química e é efetuada por meio de moléculas especializadas conhecidas como neurotransmissores (NT).

A estrutura do neurônio é composta de alguns elementos fundamentais: dendritos (recebem o sinal de entrada), corpo celular (centro do controle da célula), axônio (transmite o sinal até o terminal) e o terminal (final do axônio que contem o NT) (Figura 5).

3.3.1.2. Comunicação interneuronal

O processo de comunicação entre os neurônios, ou neurotransmissão, inicia-se quando um sinal elétrico, vindo do corpo celular migra através do axônio e atinge o terminal do neurônio. Isto faz com que haja influxo de íons (ex.: Ca^{+2} em neurônios excitatórios) para dentro do terminal, causando a migração das vesículas sinápticas portadoras do NT e sua fusão com a membrana celular, disso resultando o esvaziamento do NT para dentro da fenda sináptica.

O NT é então detectado por estruturas protéicas localizadas nas membranas dos neurônios pós-sinápticos, chamadas de receptores, cuja função é captar o sinal químico e transmiti-lo para dentro da célula. Este sinal será processado e transformado em um novo impulso elétrico que reiniciará o ciclo de propagação entre a extensa rede de neurônios (Figura 6).

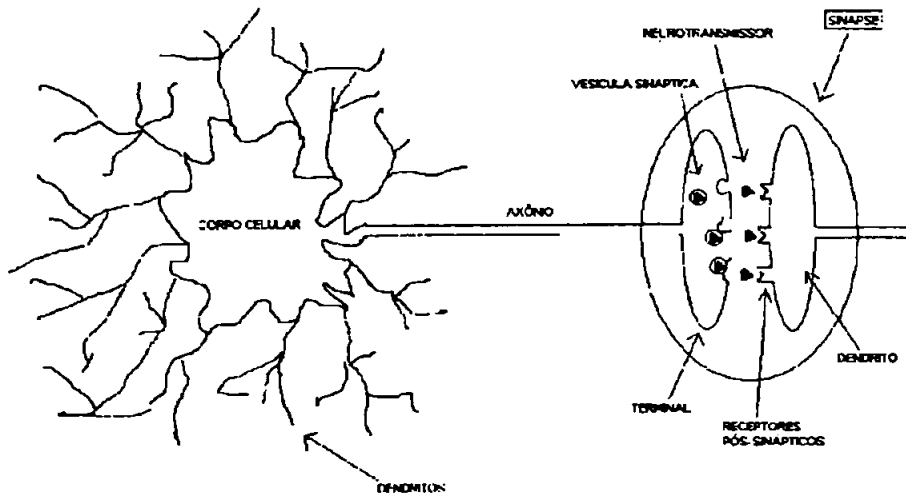


Figura 5 - Estrutura neuronal e sinapse.

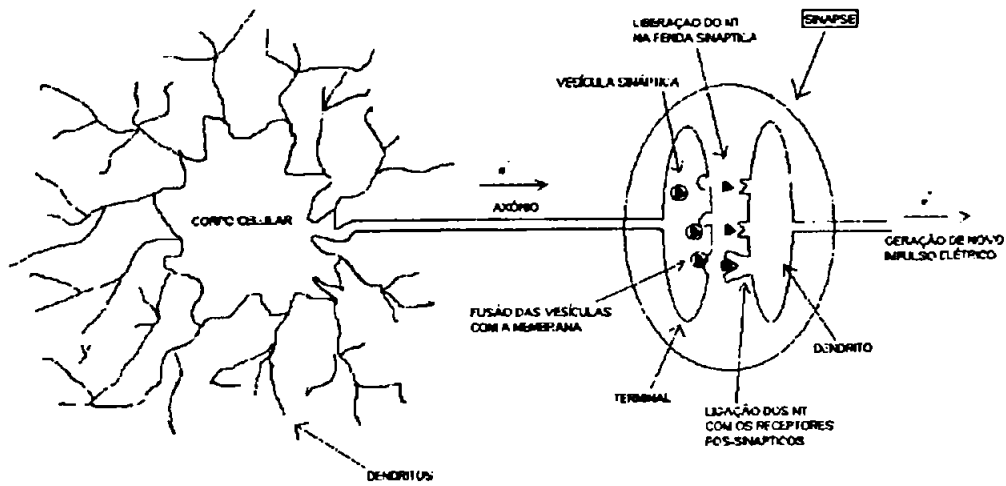


Figura 6 - Etapas da neurotransmissão.

Existem mecanismos de controle que governam todo o processo, desde a geração do sinal elétrico até a biossíntese, degradação, armazenamento, translocação, liberação e ligação dos NT aos seus receptores.

3.3.1.2.1. Geração do impulso elétrico

O impulso elétrico que se propaga através do neurônio, do corpo celular até a parte terminal, é resultado da despolarização elétrica da membrana. Tal impulso é conhecido como *potencial de ação*. O potencial de ação é resultado da difusão passiva de íons, tais como Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^- , através de poros altamente seletivos localizados na superfície da membrana celular e chamados de *canais iônicos*.

Para que se compreenda o mecanismo de geração do potencial de ação faz-se necessária, primeiramente, a definição de alguns termos. São eles o *potencial de equilíbrio*, *potencial de repouso* e o *potencial local*.

Potencial de equilíbrio (ou *potencial de reversão* - E_{rev}) é o potencial de membrana no qual não há fluxo líquido dos íons permeantes à membrana, estando estes em equilíbrio dinâmico. Como resultado, não há fluxo de corrente elétrica. Este potencial pode ser calculado pela equação de Nernst, para cada íon que cruza a membrana plasmática.

$$E_x = 58/z \cdot \log \left[\frac{[X]_{ext}}{[X]_{int}} \right] \text{ a } 20 \text{ }^\circ\text{C}$$

$$E_x = 61,5/z \cdot \log \left[\frac{[X]_{ext}}{[X]_{int}} \right] \text{ a } 37 \text{ }^\circ\text{C}$$

Onde

E_x = potencial de equilíbrio da membrana para determinado íon

z = carga do íon

$[X]_{ext}$ = concentração molar do íon no exterior da membrana

$[X]_{int}$ = concentração molar do íon no interior da membrana

A Tabela I mostra a concentração dos íons mais importantes nos meios intra e extracelulares em neurônios de mamíferos e da lula, e suas permeabilidades relativas através da membrana.

Tabela I – Permeabilidade e concentrações iônicas em membranas biológicas de mamíferos e lula

Íons	Permeabilidade iônica da membrana (Px)	Concentrações molares (mM) dos íons comuns em neurônios de mamíferos e lula	
		Intracelular	Extracelular
Mamíferos			
K ⁺	1	140	5
Na ⁺	0,04	5-15	145
Cl ⁻	0,45	4-30	110
Ca ⁺²		0,0001	1-2
Lula			
K ⁺	1	400	20
Na ⁺	0,04	50	440
Cl ⁻	0,45	40-150	560
Ca ⁺²		0,0001	10

Os potenciais de Nernst (potenciais de equilíbrio) para estes íons são calculados a seguir.

$$E_{K^+} = 61,5/1 \cdot \log(5/140) = -89 \text{ mV}$$

$$E_{Na^+} = 61,5/1 \cdot \log(145/18) = 56 \text{ mV}$$

$$E_{Cl^-} = 61,5/(-1) \cdot \log(110/17) = -64 \text{ mV}$$

$$E_{Ca^{+2}} = 61,5/2 \cdot \log(1/0,0001) = 123 \text{ mV}$$

Constata-se, experimentalmente, que as membranas celulares em repouso são permeáveis aos íons K⁺ e Cl⁻. Disto resulta potencial elétrico negativo no interior do neurônio. A membrana em repouso é dita *polarizada*. Qualquer perturbação deste equilíbrio causará um acréscimo (despolarização) ou decréscimo (hiperpolarização) do potencial de repouso. Dessa forma, o influxo de íons Na⁺ ou Ca⁺², por exemplo, causa despolarização da membrana, por elevar o seu potencial elétrico. Analogamente, o influxo de Cl⁻ ou K⁺ causa hiperpolarização da mesma.

Todas as células excitáveis (ex. neurônios) apresentam um *potencial de membrana em repouso*.

Embora o conceito de potencial de equilíbrio seja importante na compreensão da gênese do potencial de membrana, as células vivas nunca estão em equilíbrio, pois vários canais iônicos abrem-se e fecham-se durante a excitação elétrica, ou mesmo quando em repouso, quando vários tipos de canais iônicos abrem-se simultaneamente. Assim, os gradientes iônicos se modificam constantemente e sistemas regeneradores, como as bombas iônicas, são necessários.

Portanto, o potencial de repouso da membrana pode ser calculado pela soma das contribuições dos íons permeantes através da equação de Goldman-Hodgkin-Katz, a seguir.

$$E = RT/F \cdot \ln \left(\frac{(P_{Na} \cdot [Na^+]_{ext} + P_K \cdot [K^+]_{ext} + P_{Cl} \cdot [Cl^-]_{int})}{(P_{Na} \cdot [Na^+]_{int} + P_K \cdot [K^+]_{int} + P_{Cl} \cdot [Cl^-]_{ext})} \right)$$

Onde:

E = potencial de repouso

P_x = permeabilidade da membrana para o íon X.

[X]_{ext} = concentração molar do íon no meio extracelular

[X]_{int} = concentração molar do íon no meio intracelular

R = constante universal dos gases (8,31 J/K/mol)

T = temperatura absoluta (K)

F = constante de Faraday (96.500 C/mol)

Para fins práticos, a 20 °C, a equação pode ser reescrita como:

$$E = 58 \cdot \log \left(\frac{(P_{Na} \cdot [Na^+]_{ext} + P_K \cdot [K^+]_{ext} + P_{Cl} \cdot [Cl^-]_{int})}{(P_{Na} \cdot [Na^+]_{int} + P_K \cdot [K^+]_{int} + P_{Cl} \cdot [Cl^-]_{ext})} \right)$$

A título de exemplo, o potencial de repouso em um neurônio de lula pode ser calculado usando-se os dados da Tabela I.

$$E = 58 \cdot \log \left\{ \frac{[0,004(440) + 1(20) + 0,45(40)]}{[(0,04(50) + 1(400) + 0,45(560))]} \right\} \\ = -62 \text{ mV}$$

O potencial de repouso das membranas dos neurônios em mamíferos é próximo a -70 mV.

Potencial Local - A abertura de canais iônicos, resultante da interação do NT com o receptor a ele associado, permite a difusão de íons através da membrana, alterando o seu potencial em direção ao potencial de reversão (repouso) do íon em questão. Como exemplo, a abertura dos canais de Na^+ e K^+ nos receptores de ACh por ocasião da ligação do NT faz com que a membrana seja despolarizada até um potencial próximo de 50 mV, que é o potencial de reversão do íon sódio. Estas alterações locais de potencial elétrico são chamadas de potencial local. Um fator importante na geração do potencial local (ou potencial sináptico) é que a força motriz do mesmo reside na diferença entre o potencial de repouso pos-sináptico e o potencial de reversão (ou equilíbrio) do íon que difunde para o interior do neurônio. Quanto maior esta diferença, maior é a intensidade do potencial local.

Potencial de ação - Como já mencionado, o potencial de ação, ou impulso elétrico, ou ainda o “disparo” do neurônio, depende de todo o processo dinâmico de difusão iônica através da membrana. A soma de vários potenciais locais pode dar origem ao potencial de ação quando o valor atinge o limiar de -40 mV (despolarização). Esta soma pode ser *temporal* ou *espacial*. No primeiro caso, há sobreposição entre um impulso que ainda não voltou ao nível basal com um novo potencial local gerado, caso estes sejam no mesmo sentido (mesmo sinal). Caso hajam diferenças de sentido, estes podem anular-se mutuamente. A outra possibilidade é a soma espacial de potenciais locais através de vários pontos adjacentes na membrana. Qualquer valor abaixo do limiar não gera o potencial de ação, sendo este então um processo ativo do tipo “tudo-ou-nada”

Os canais iônicos, ao serem abertos pela ação do NT, permitem um influxo muito maior de Na^+ do que efluxo de K^+ , o que provoca efeito despolarizante auto-alimentado, ou seja, quanto mais Na^+ entra, mais permeável fica o canal iônico a ele.

A corrente despolarizante de Na^+ supera a corrente repolarizante de K^+ e o neurônio então atinge o potencial limiar para disparo. Isto porque há

uma diferença na cinética de abertura e fechamento dos canais de Na^+ e K^+ , sendo os primeiros mais rápidos. Outro fato importante é a possibilidade dos canais de Na^+ sofrerem inativação tendo conseqüências importantes na cessação do efeito e regeneração do potencial de repouso.

A fase de retorno ao valor base (potencial de repouso) é conhecida como repolarização. Nesta fase, o neurônio fica insensível a novos estímulos (período refratário).

Os canais de sódio se fecham por processo lento de desativação enquanto que os canais de K^+ permanecem abertos e o efluxo de K^+ contribui para a repolarização da membrana ao nível basal. O neurônio estará pronto para um novo disparo (potencial de ação) quando os canais de sódio se recuperarem de seu estado inativo para o estado de repouso e a membrana atingir o seu potencial de repouso.

3.3.1.2.2. Características fundamentais dos NT

Mais de 100 peptídeos e 10 pequenas moléculas compõem o universo de substâncias neurotransmissoras, incluindo fundamentalmente 4 classes químicas: aminoácidos, aminas, peptídeos e gases. A tabela II mostra as substâncias mais comuns em cada classe.

Tabela II: Os NT mais comuns e suas classes químicas

Aminoácidos	aminas	peptídeos	gases
Ácido γ -aminobutírico (GABA)	Acetilcolina (ACh)	Encefalina (Enk)	Óxido nítrico (NO)
Glutamato (Glu)	Dopamina (DA)	N-Acetilaspargilglutamato (NAAG)	Monóxido de carbono (CO)
Glicina (Gly)	Epinefrina Histamina Norepinefrina (NE) Serotonina (5-HT)	Neuropeptídeo Y Somatostatina Y Substância P Polipetídeo intestinal vasoativo (VIP)	

Por definição, uma substância deve respeitar os seguintes critérios para ser considerada um NT:

- 1) Deve estar presente no terminal do neurônio
- 2) As enzimas necessárias para a biossíntese devem estar presentes no terminal (para a maioria do NT) ou no corpo celular (para os neuropeptídeos)
- 3) A substância deve ser liberada do neurônio pré-sináptico sob estimulação
- 4) A substância quando aplicada de fora, deve reproduzir o efeito da estimulação neuronal
- 5) A ação da substância, quando exógena, deve ser bloqueada por antagonistas competitivos da mesma forma para com a estimulação endógena
- 6) Deve haver um mecanismo de terminação do efeito (tais como transporte e metabolismo).

3.3.1.3. Mecanismo de ação dos agentes antipsicóticos (AP)

A proposição de um mecanismo de ação para os agentes AP fundamenta-se nas hipóteses neuroquímicas anteriormente discutidas. É um tanto quanto ingênuo propor um mecanismo de ação definitivo dos AP visto a própria etiologia da esquizofrenia ainda não ser plenamente conhecida. Porém, um fato que é comum a todos os agentes AP conhecidos é a afinidade com os receptores de dopamina D₂. Seeman (1987) provou a existência de forte correlação entre as doses clínicas de AP e suas afinidades pelos receptores D₂.

Portanto, a hipótese dopaminérgica clássica ainda é a que melhor explica o fenômeno da esquizofrenia e o antagonismo competitivo dos AP com a DA o mais plausível mecanismo de ação (Kapur *et al.*, 2001b). Com isso não se quer dizer que as outras hipóteses (serotoninérgica, glutaminérgicas, entre outras) não sejam válidas, mas que necessitam de melhor fundamentação. A discussão sobre a origem da atipicidade nos agentes AP feita à frente esclarecerá melhor este ponto de vista.

A Figura 7 mostra estas etapas, auxiliando a compreensão dos pontos de ação possíveis para os AP.

1º) O primeiro passo é a captação da L-tirosina, bioprecursor da DA, para dentro do neurônio.

Embora seja teoricamente possível interferir na oferta deste aminoácido, este não é um alvo efetivo para a manipulação terapêutica.

2º) No interior dos neurônios dopaminérgicos meso-corticais a L-tirosina é oxidada a diidroxifenilalanina (L-DOPA) por ação da enzima tirosina hidroxilase (TH) e transportada até as terminações. Esta é a fase limitadora da velocidade da biossíntese da DA.

A síntese de inibidores enzimáticos ainda é restrita a estudos farmacológicos e não aplicável clinicamente.

3º) A L-DOPA é então descarboxilada à DA por ação da DOPA descarboxilase (piridoxalfosfato). A DA é então armazenada em vesículas.

Existem alguns agentes depletos de armazenamento de NT, disponíveis no mercado (ex.: reserpina, tetrabenazina), que não são muito seletivos.

4º) As vesículas portadoras de DA se fundem à membrana em consequência da despolarização do neurônio e propagação do potencial de ação. Isto ocorre na dependência de íons Ca^{+2} . Após fusão, a DA é despejada na fenda sináptica.

O lítio inibe a liberação de DA, provavelmente por interferir no processo de fusão da vesícula com a membrana. Sais de lítio têm sido usados como moderadores de humor. Outros agentes, como a anfetamina, funcionam como agonistas indiretos de DA, por facilitarem a liberação da DA.

5º) Uma vez presente na fenda sináptica, a DA migra em direção aos receptores do tipo D₁ (D₁ e D₅) e D₂ (D₂, D₃ e D₄) presentes no neurônio pós-sináptico e aos auto-receptores (D₂). Os primeiros (tipo D₁) estão associados à proteína G_s, que estimula a enzima adenilciclase, responsável pela síntese de AMP cíclico. Isto inicia uma cascata de passos intracelulares, envolvendo a síntese de segundos mensageiros, que, em última instância, resultará no efeito final de abertura dos canais iônicos. Por outro lado, a ligação da DA com os receptores do tipo D₂ leva à atenuação do efeito, pois estes

receptores estão ligados à proteína Gi, que inibe a síntese de AMP cíclico via inibição da adenilciclase.

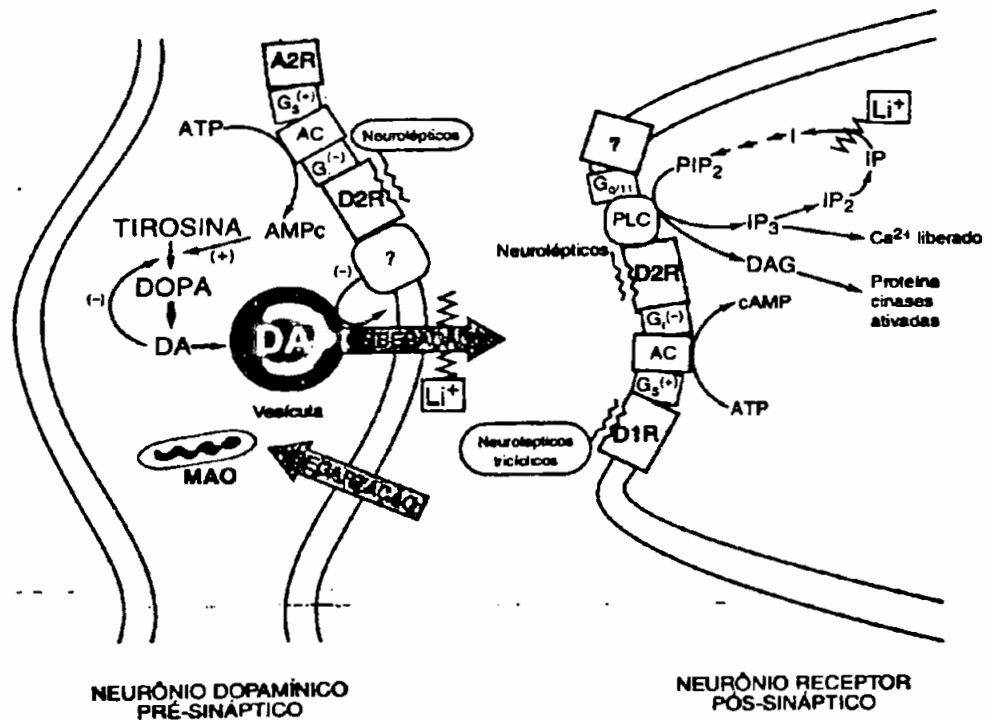


Figura 7 – Pontos de ação dos agentes antipsicóticos.

(Fonte: Baldessarini, 1996)

Estes dois tipos de receptores (D₁ e D₂) funcionam, de forma análoga, ao “acelerador” e “freio”, respectivamente, de um automóvel.

Os receptores do tipo D₂ estão funcionalmente ligados à fosfolipase C (PLC). As subunidades βγ liberadas após a ativação de Gi ativam os canais de K⁺ e estimulam a PLC, que converte o bifosfato de fosfatidilinositol (PIP₂) em trifosfato de fosfatidilinositol (PI₃) e diacilglicerol (DAG), com respectiva modulação secundária de Ca⁺² e proteínas quinases (PKC).

A ação da DA nos autoreceptores D₂ somatodendríticos (localizados no corpo celular) ativa a proteína Gi e inibe a biossíntese da DA dependente de AMP cíclico. Isto ocorre pela diminuição da fosforilação da tirosina hidroxilase (TH) responsável pela formação da L-DOPA. Efeito oposto é resultante da ativação dos receptores de adenosina A₂.

A ativação dos auto-receptores D_2 presentes na região terminal limita a liberação da DA para a fenda sináptica, possivelmente pela modulação das correntes de Ca^{+2} e K^+ .

Sem dúvida alguma os principais alvos na pesquisa de novos fármacos ativos no SNC são os receptores. A finalidade de uso de AP tem sido explorar o efeito bloqueador (antagonismo competitivo) destes sobre os receptores cerebrais D_1 e D_2 . Todos os agentes AP (ou neurolépticos) bloqueiam os receptores e auto-receptores D_2 . Alguns, como os agentes tricíclicos (ex.: fenotiazínicos, tioxantênicos, clozapina), bloqueiam também os receptores D_1 . Ainda não se tem explicação clara do porquê do efeito antipsicótico ser especificamente relacionado com os receptores D_2 puros. Estudos recentes mostraram que antagonistas específicos dos receptores D_3 e D_4 falharam na clínica. Adiante, será feita discussão mais abrangente sobre este assunto ao se falar sobre os AP atípicos (ou de segunda geração). Os sais de lítio também atuam como moderadores de humor por inibirem a fosfatase responsável pela hidrólise do IP e liberação do inositol.

6º) Outra possibilidade para a DA presente na fenda sináptica é a sua recaptação para o interior do neurônio pré-sináptico via *transportadores*. Estes são proteínas especializadas, ligados à membrana e semelhantes aos receptores ligados às proteínas G (GPCR). A diferença fundamental entre eles é que os transportadores cruzam a membrana plasmática 12 vezes ao passo que os GPCR a cruzam 7 vezes. Cada NT tem um transportador específico.

Uma vez recaptada para o interior da célula, a DA livre presente no citoplasma pode inibir o seu processo de biossíntese via mecanismo de *feedback*. Outra possibilidade é o metabolismo da DA por ação das enzimas monoaminoxidasas (MAO) presentes na superfície externa das membranas mitocondriais.

A DA que permanece na fenda sináptica também pode sofrer degradação por ação das enzimas catecolaminotransferases (COMT) presentes nas células da glia e também por alguns tipos de MAO (Figura 8).

A tropolona e a pargilina são respectivamente inibidores da COMT e da MAO.

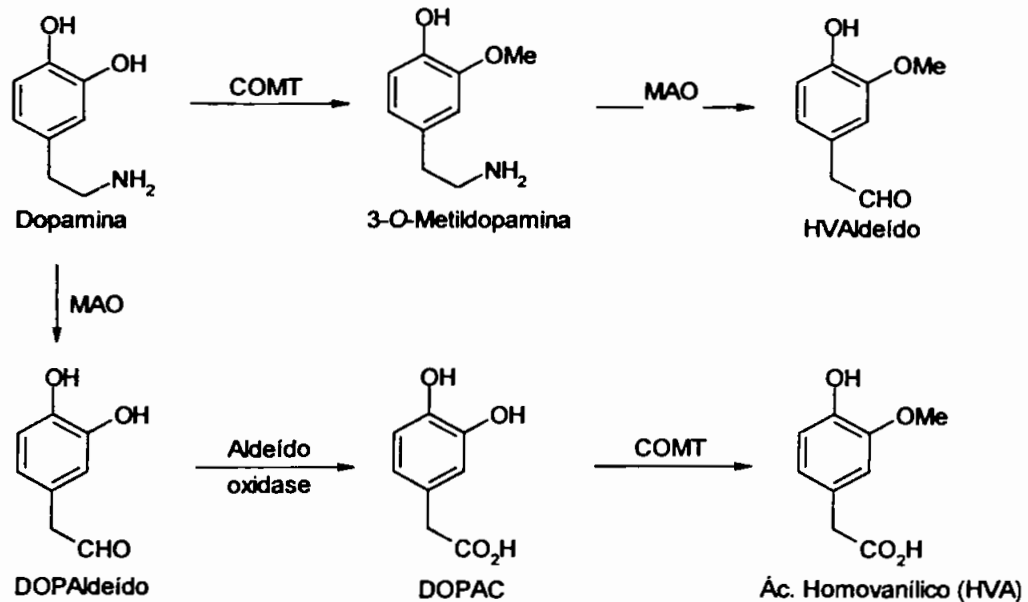


Figura 8 - Dopamina e seus principais metabólitos.

Como comentado anteriormente, a hipótese dopaminérgica embora plausível não é a única candidata a explicar a esquizofrenia. Portanto, o antagonismo competitivo ao nível dos receptores D₁ e D₂ não é o único mecanismo de ação possível para os agentes AP.

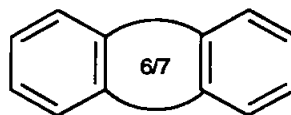
Mais a frente será comentado o papel da serotonina e o uso de antagonistas de receptores 5-HT₃, como também será feita uma análise do envolvimento de agonistas de receptores nicotínicos nACh $\alpha_4\beta_2$ e α_7 e o subjacente processo de modulação da DA via ACh.

3.3.2. Principais classes terapêuticas de agentes antipsicóticos

Os principais agentes AP podem ser divididos nas seguintes classes: tricíclicos (fenotiazínicos, tioxantênicos e tricíclicos do tipo 6-7-6), butirofenonas, difenilbutilaminas e outros (Williams *et al.*, 2002).

3.3.2.1. AP Tricíclicos

Compreende a classe de compostos que apresenta um anel central de 6 ou 7 membros, fundidos por dois anéis benzênicos ou isósteros.



Os exemplos mais comuns são os AP fenotiazínicos e tioxantênicos.

3.3.2.1.1. AP Fenotiazínicos

O anel fenotiazínico apresenta uma torção angular conforme mostra a figura 9.

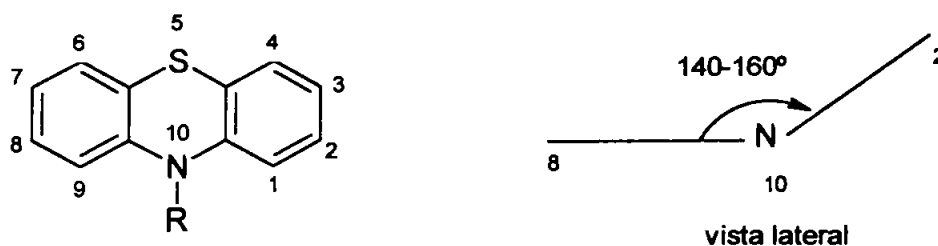


Figura 9 - Sistema de numeração do anel fenotiazínico e sua vista lateral.

Esta é a classe mais antiga e ampla de AP. Até recentemente, foi a mais empregada na terapêutica em todo o mundo. Hoje já divide o mercado com os antipsicóticos de segunda geração, que são os de primeira escolha, devido aos efeitos adversos menos graves (Grady *et al.*, 2003).

O composto protótipo é a clorpromazina, (CPZ) (Figura 10).

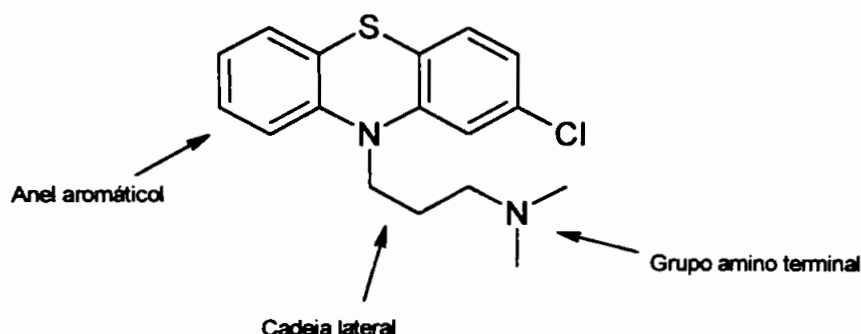


Figura 10 – Estrutura química da clorpromazina (CPZ).

Devido ao seu pioneirismo como AP eficaz, a CPZ tornou-se padrão, pelo qual os demais AP são comparados em termos de potência. Isto é feito através do índice de clorpromazina (ICPZ).

A potência do efeito AP na classe dos fenotiazínicos depende da presença e localização dos grupos ligados ao sistema tricíclico. Alguns compostos mostram atividade anticolinérgica e anti-histamínica. Vários AP desta classe (ex. CPZ) apresentam efeitos indesejáveis conhecidos como efeitos extra-piramidais (EEP), caracterizados por dificuldades motoras e alguns distúrbios hormonais (ex. produção de prolactina).

3.3.2.1.1. REA dos Fenotiazínicos

Sistema aromático

- O anel fenotiazínico é ótimo para a atividade antipsicótica
- Atividade máxima é observada quando existe um grupo aceptor de elétrons na posição 3, ou, preferencialmente, na posição 2. A potência aumenta com a capacidade eletrôn atraente dos grupos, segundo a série: $-CF_3 > -Cl > -C(O)CH_3 \gg -H \gg -OCH_3$
- Substituintes contendo enxôfre aumentam a lipofilicidade, a atividade antipsicótica, mas causam retinopatias.
- Substituintes em outras posições, (exceto 10), diminuem a atividade antipsicótica.

Cadeia lateral:

- Uma cadeia de 3 átomos de carbono unindo o nitrogênio anelar ao da cadeia lateral é necessária para a atividade ótima. Ramificações geralmente diminuem a atividade.
- O encurtamento ou ramificações tem efeito muito pequeno sobre a atividade anticolinérgica e anti-histamínica.

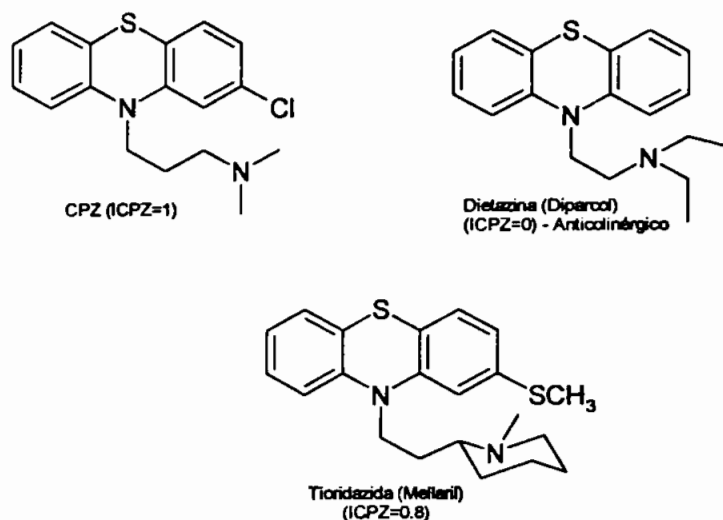


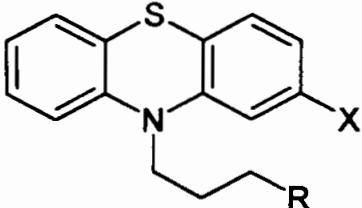
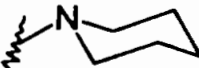
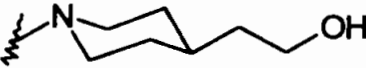
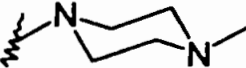
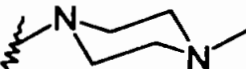
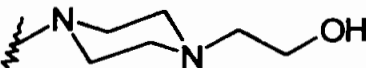
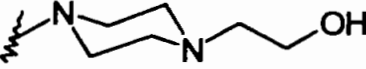
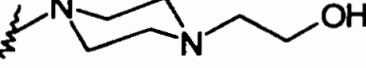
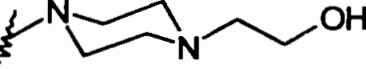
Figura 11 – REA fenotiazínicos – efeito da cadeia lateral.

Grupo amino terminal:

Grupo amínico terciário terminal é requisito essencial para a atividade ótima.

A tabela III a seguir mostra a comparação entre a potência antipsicótica de alguns compostos fenotiazínicos (ICPZ).

TABELA III – REA de fenotiazínicos

R	X	ICPZ	Agente
			
Alquilaminas			
-N(CH ₃) ₂	-Cl	1	clorpromazina (Torazina [®])
-NH-CH ₃	-Cl	0,5	
-N ⁺ (CH ₃) ₃	-Cl	0	
Piperidinas			
	-Cl	~1	
	-COCH ₃	2	piperacetazina (Quide [®])
Piperazinas			
	-Cl	4	proclorperazina (Compazina [®])
	-CF ₃	8	trifluoperazina (Stelazina [®])
	-Cl	10	perfenazina (Trilafon [®])
	-COCH ₃	5	acetofenazina (Tindal [®])
	-COC ₂ H ₅	5	carfenazina (Procetazina [®])
	-CF ₃	25	flufenazina (Prolixina [®])

3.3.2.1.2. AP Tioxantênicos

Os tioxantênicos são bioisósteros (ou equivalentes biológicos) dos fenotiazínicos, nos quais o átomo de nitrogênio anelar é substituído por outro átomo eletricamente denso, um carbono sp^2 , que mimetiza a contribuição eletrônica do nitrogênio no sistema tricíclico. A consequência direta desta substituição é a geração de isômeros geométricos, nos quais a forma ativa é a do isômero Z. A redução da dupla ligação aniquila a atividade antipsicótica.

A REA dos tioxantênicos é a mesma dos fenotiazínicos.

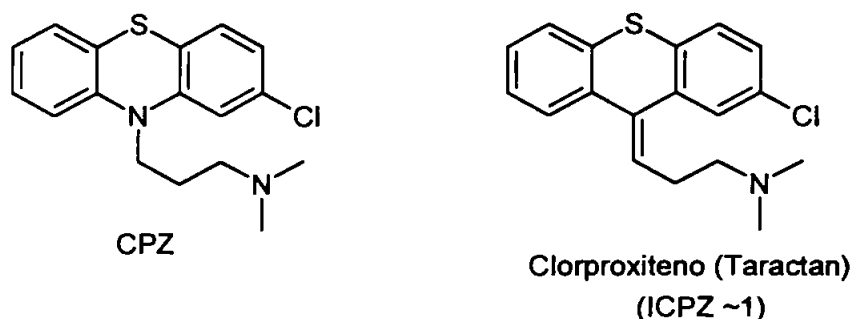


Figura 12 – Bioisosterismo entre fenotiazínicos e tioxantênicos.

3.3.2.1.3. AP tricíclicos do tipo 6-7-6

É importante notar que tanto a natureza quanto a orientação do anel central não são muito importantes para a atividade antipsicótica.

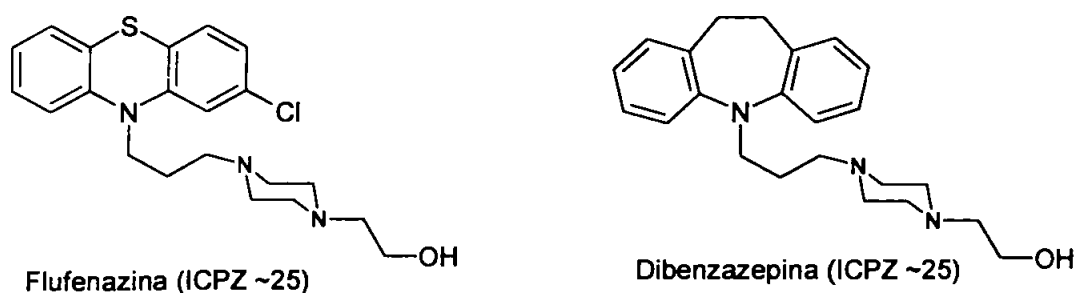


Figura 13 – Equipotência AP da flufenazina e da dibenzazepina.

O sistema tricíclico serve como uma armação das estruturas importantes para a afinidade com o receptor.

Existem vários exemplos de AP nesta classe seguindo a estrutura geral abaixo (Figura 14), onde X e Y podem ser N, O, S, C-sp² ou C-sp³.

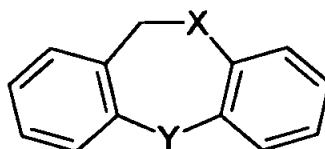


Figura 14– Estrutura geral tricíclicos do tipo 6-7-6.

Alguns exemplos de agentes AP desta classe são mostrados na figura 15.

3.3.2.2. Butirofenonas

As butirofenonas agregam os AP mais potentes. Porém, são os que mais desencadeiam os EEP. Estudos recentes apontam a dissociação lenta destes agentes com os receptores D₂, como a causa principal dos EEP (Kapur *et al.*, 2001b).

O composto protótipo desta classe é o haloperidol, utilizado como AP e no tratamento da síndrome de Tourette. Alguns exemplos de butirofenonas são dados a seguir (figura 16). Nos anéis piperidínicos, os grupos (R₁ e R₂) devem ser um heteroátomo e/ou um C-sp².

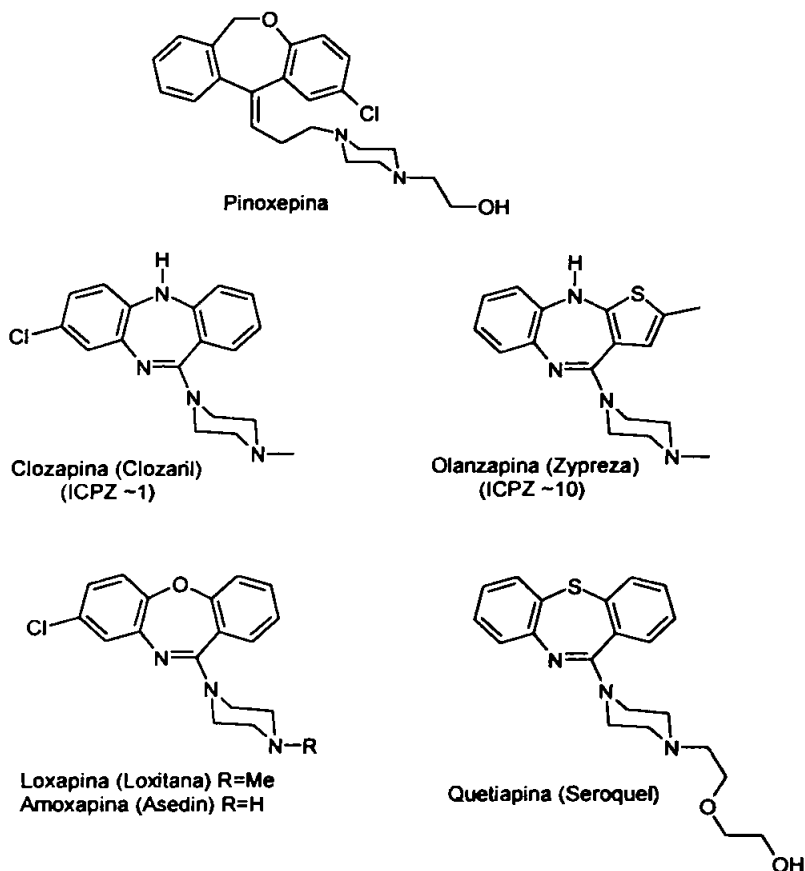


Figura 15 – Alguns exemplos de tricíclicos do tipo 6-7-6.

3.3.2.2.1. REA das Butirofenonas

A figura 17 apresenta a REA das butirofenonas.

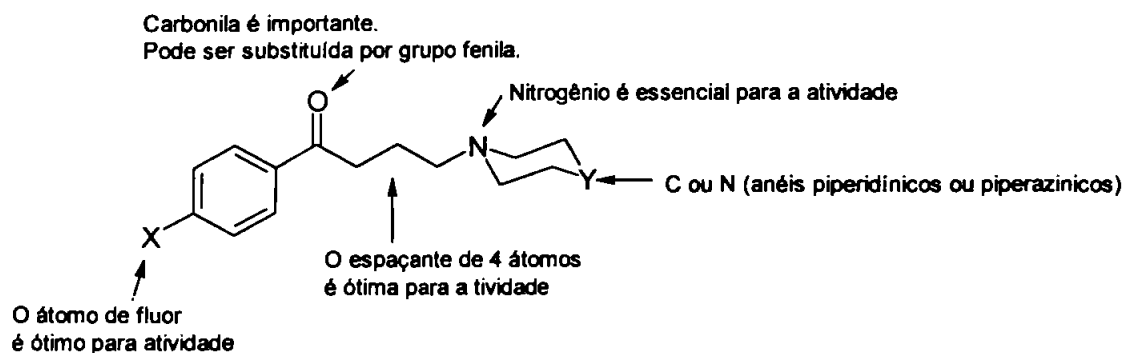


Figura 17 – Resumo da REA de butirofenonas.

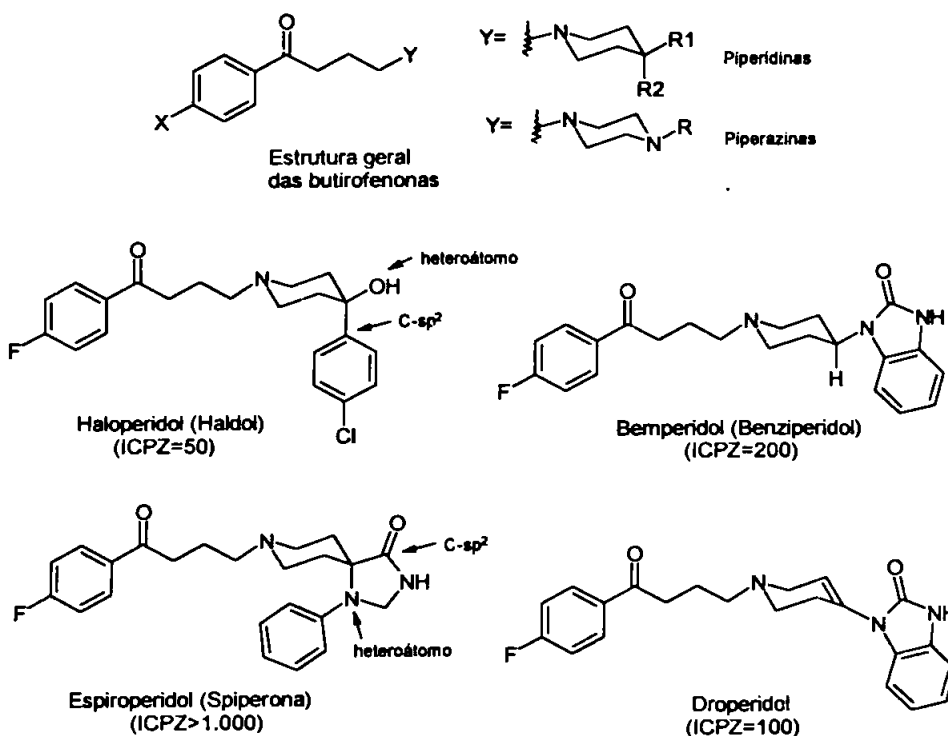


Figura 16 – Exemplos de agentes AP butirofenônicos.

3.3.2.3. Difenilpiperidinas

Esta classe deriva das butirofenonas pela substituição da carbonila por um segundo grupo fenil *p*-substituído. Esta substituição reduz a potência antipsicótica em humanos.

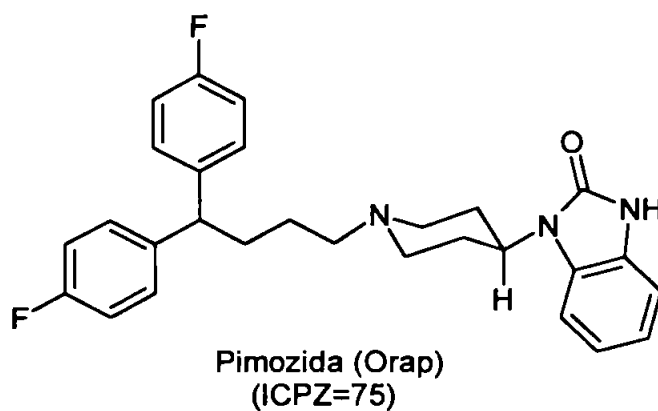


Figura 18 – Pimozida – exemplo de AP da classe das difenilpiperidinas.

A REA das difenilpiperidinas é análoga à das butirofenonas.

3.3.2.4. Outras classes terapêuticas de agentes AP

O desenvolvimento de novos agentes AP é campo fértil de investigação científica, tanto no âmbito acadêmico quanto industrial. Novas classes de fármacos têm surgido como resultado do melhor entendimento dos mecanismos moleculares envolvidos na esquizofrenia. Novas estruturas têm sido planejadas a partir do refinamento de grupos farmacofóricos gerados por mapeamento dos receptores (Marshall, 1979). Além disso, novas hipóteses de mecanismo de ação têm alavancado o desenvolvimento de estruturas diversas das classes tradicionais já citadas. Atualmente, três mecanismos de ação principais têm sido explorados: antagonistas seletivos de receptores D_2 , antagonistas mistos de serotonina-dopamina (5-HT_{2A}/D₂) e, mais recentemente, a combinação de agonismo parcial 5-HT_{1A} e D₂ com antagonismo 5-HT_{2A} e D₂ (ex. aripripazol).

Entre as diferentes classes de agentes AP estão as benzamidas, que serão melhor discutidas em tópico específico. Exemplos de benzamidas são a (S)-sulpirida, (S)-remoxiprida e a (S)-amisulpirida. Outros agentes são a molindona e o sertindol (Figura 19).

A tabela IV mostra série de fármacos introduzidos no mercado nos últimos anos (Mucke *et al.*, 2000), sendo o aripripazol o mais recente, lançado no final de 2002. As figuras 20 e 21 mostram as estruturas químicas destes compostos.

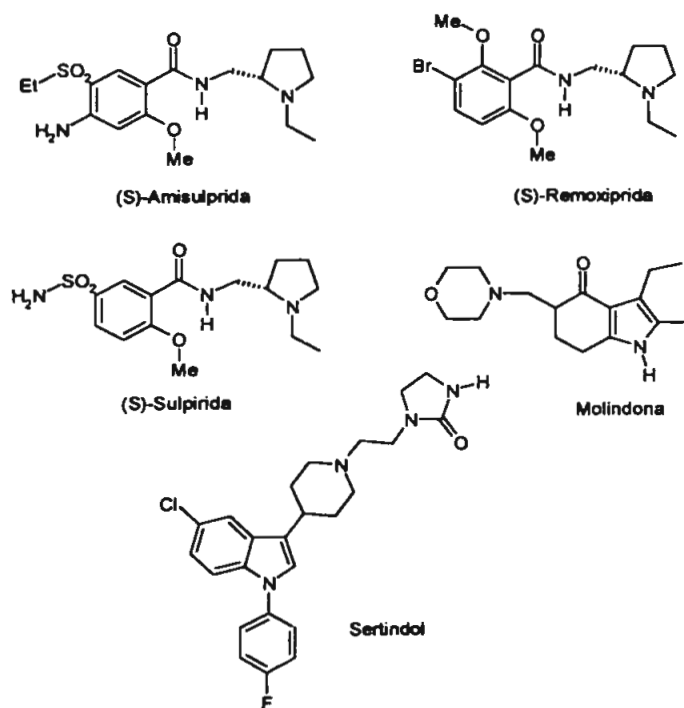


Figura 19 – Agentes AP de classes diversas.

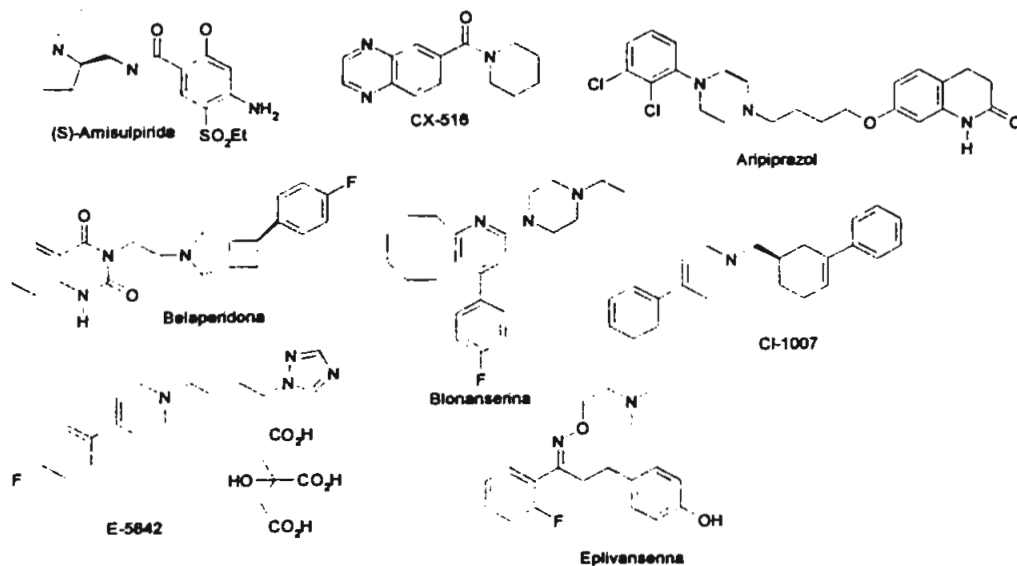


Figura 20 – Agentes AP em fase clínica em 2000.

Tabela IV – Agentes AP em ensaios clínicos (em 2000)*

Fármaco	Companhia	Mecanismo	Fase
(S)-Amisulpirida	Sanofi-Synthélabo	Antagonista D ₂	Fase I/II
CX-516 (Ampalex)	Cortex/Organon	Modulador do receptor AMPA	Fase II
Aripiprazol	Otsuka	Antagonista D ₂ Agonista de auto-receptor de DA	Fase III
Belaperidona	Knoll	Antagonista 5-HT _{2a} Antagonista D ₄	Fase II
Blonanserina	Dainippon	Antagonista 5-HT _{2a} Antagonista D ₂	Fase III
CEE-03-310	CeNeS	Antagonista D ₁	Fase II
CI-1007	Warner-Lambert	Agonista parcial DA Agonista de auto-receptor de DA	Fase II
DU-127090	Solvay		Fase II
E-5842	Esteve	Antagonista do receptor sigma	Fase I
Eplivanserina	Sanofi-Synthélabo	Antagonista 5-HT _{2a}	Fase II
Iloperidona	HMR, Titan, Novartis	Antagonista 5-HT _{2a} Antagonista D ₂	Fase III
Mazapertina	Janssen	Antagonista D ₂	Fase II
Org-5522	Organon	Antagonista 5-HT ₂ Antagonista D ₂	Fase II
Osanetante	Sanofi-Synthélabo	Antagonista de taquinina NK3	Fase II
Perospirona.HCl	Sumitomo	Antagonista 5-HT _{2a} Antagonista D ₂	Pre-registrado
Mesilato de sonepiprazol	Pharmacia & Upjohn	Antagonista D ₄	Fase II
SR-31742 ^A	Sanofi-Synthélabo	Antagonista do receptor sigma	Fase II
SR-48692	Sanofi-Synthélabo	Antagonista de neurotensina	Fase II
Ziprasidona.HCl	Pfizer	Antagonista 5-HT _{2a} Antagonista D ₂	Reg-1998 (SE)

*Dados coletados do Prous Science Ensemble database (Mucke et al., 2000)

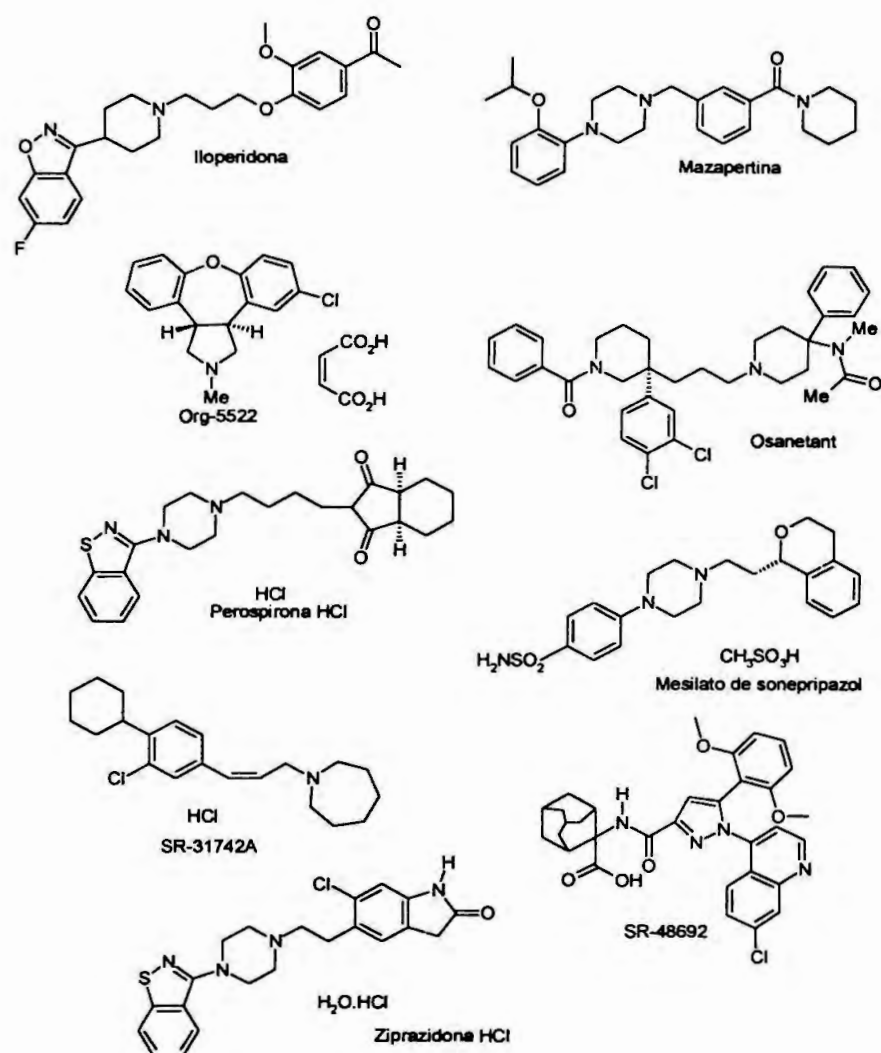


Figura 21 – Agentes AP em fase clínica em 2000 (Cont.).

3.3.3. Efeitos adversos dos agentes antipsicóticos

Os esforços para se desenvolver novos agentes AP têm sido motivados por dois objetivos principais: melhorar a eficiência e diminuir a incidência de efeitos adversos.

De acordo com Kapur *et al.* (2001a) tais efeitos têm contribuído para a desistência ou não comprometimento do paciente com o tratamento farmacoterápico. Segundo o autor, os primeiros agentes AP foram descobertos de forma não planejada (ex. clorpromazina) e por isso

mostraram ação sobre vários tipos de receptores, como os histaminérgicos e colinérgicos. Desta forma, vários efeitos adversos podem ser observados, como, boca seca, distúrbios da motilidade urinária e intestinal, sedação e complicações cardiovasculares.

O reconhecimento de que o efeito antipsicótico provinha do bloqueio dos receptores D₂ mudou o foco nos esforços de desenvolvimento de novos fármacos, buscando-se antagonistas seletivos destes receptores.

Contudo, o aumento significativo da potência antipsicótica trouxe consigo custo adicional, o maior risco de efeitos extrapiramidais e hiperprolactinemia.

A busca por novos agentes livres de tais efeitos, motivada pela descoberta da clozapina, trouxe ao mercado os AP de segunda geração (ou atípicos). Estes possuem perfil farmacológico heterogêneo, atuando em múltiplos tipos de receptores, o que, aliás, levantou novas hipóteses neuroquímicas para a esquizofrenia além da hipótese dopaminérgica.

Embora os EEP sejam mínimos ou praticamente inexistentes entre os AP de segunda geração, "novos" efeitos adversos foram resultantes do uso destas substâncias, como ganho de peso e intolerância à glicose. Atribui-se isto ao próprio perfil farmacológico heterogêneo destes agentes.

3.3.3.1. Efeitos Extra-Piramidais (EEP)

Os EEP têm sido associados com o bloqueio dos receptores D₂ nos neurônios cerebrais das vias nigro-estriatais. Sabe-se que esta região é responsável pela coordenação motora do indivíduo. Embora os AP atípicos sejam praticamente desprovidos de tais efeitos nas doses terapêuticas, ainda assim tais efeitos se apresentam quando o fármaco é administrado em altas doses, explicado pelas taxas altas de ocupação dos receptores (Kapur *et al.*, 2001b).

Alguns dos efeitos EEP mais comuns apresentados pelos AP, são: *distonia aguda, parkinsonismo, acatisia, discinesia tardia e síndrome neuroléptica maligna* (Chaves, 1994).

A *distonia aguda* caracteriza-se por movimentos espasmódicos e involuntários da musculatura do pescoço, boca, língua, olhos e opistótono. Ocorre, em geral, após as primeiras 72 horas, e é freqüente em pacientes do sexo masculino. Pode ser tratada com anticolinérgicos.

Para os sintomas semelhantes ao *parkinsonismo* idiopático, com possibilidade de evolução para ausência total de movimentos, a terapia recomendada é a diminuição da dose de AP e a administração de anticolinérgico. Cabe aqui ressaltar a forte interação entre a via dopaminérgica e a colinérgica, por modulação mútua, em que a inibição do sistema dopaminérgico pelo uso de AP convencionais traz, como consequência, ativação do sistema colinérgico.

Como citado por Elkis (1999), os benzodiazepínicos (BZDs) também podem ser usados no tratamento da síndrome extrapiramidal, pois sendo agonistas gabaérgicos, aumentam a inibição do sistema colinérgico, com consequente desinibição do sistema dopaminérgico na região nigro-estriatal responsável pelas funções motoras. As vantagens do uso de BZDs no tratamento da esquizofrenia, segundo o autor, são o controle rápido da agitação psicótica, a diminuição da ansiedade, diminuição da hostilidade, irritabilidade e insônia, a melhora de sintomas psicóticos em alguns pacientes, a melhora dos distúrbios motores (catatonias, acatisia, e demais EPS), e profilaxia do estresse induzido pela exacerbação do quadro clínico.

A *acatisia* é caracterizada pela inquietação motora, tensão subjetiva e intolerância à inatividade.

O termo *discinesia tardia* (DT) refere-se aos movimentos hiperkinéticos involuntários da face, lábios, língua, mandíbula, pescoço e, eventualmente do tronco, braços e mãos. Aparecem com o uso prolongado da medicação e são muito raros antes de seis meses. Não existe tratamento adequado para DT, restando como opção a retirada da medicação, o que pode resultar em recidiva, ou o uso de AP atípicos como a clozapina e a risperidona. Outros medicamentos como a vitamina E e os bloqueadores de canais de cálcio também podem ser usados como paliativos.

Finalmente a *síndrome neuroléptica maligna*. É anomalia potencialmente fatal, porém rara. Suas características envolvem rigidez muscular, hipertermia e instabilidade do sistema nervoso autônomo - SNA. Podem ocorrer movimentos involuntários, catatonia e alteração de consciência. O tratamento é feito pela administração de bromocriptina, 7,5 mg/dia, após diagnóstico, com controle dos níveis de creatinafosfoquinase e quadro clínico, e suspensão do AP.

A rifuoperazina, de ação ansiolítica e antipsicótica, causa a síndrome neuroléptica maligna.

3.3.3.2. Hiperprolactinemia

Todos os AP tradicionais (típicos) mostram altos riscos de elevação do índice de prolactina, o que está associado com o bloqueio dos receptores D2 nas vias neuronais do sistema tuberoinfundibular.

Contudo, os AP de segunda geração estão praticamente livres deste efeito adverso, com exceção da risperidona, cuja razão precisa ainda é desconhecida. Os altos níveis plasmáticos de risperidona e 9-hidroxi-risperidona fora da barreira hematoencefálica, em comparação com os níveis cerebrais, têm sido os fatores apontados como causadores da elevação de prolactina. As conseqüências imediatas deste aumento são a galactorrêia e aminorrêia. Conseqüências de longo prazo incluem a osteoporose, alteração da função imune e risco de alguns tipos de câncer (Peuskens, 1997).

3.3.3.3. Ganho de peso e intolerância à glicose

O ganho de peso sempre foi problema associado ao uso de agentes AP, contudo ignorado dada a grande atenção aos altos riscos de EEP. Embora os AP atípicos geralmente provoquem baixos EEP, o risco de ganho de peso é extremamente elevado. A ziprazidona é particularmente livre deste efeito, ao contrário da olanzapina e da clozapina (Wirshing *et al.*, 1999; Allison *et al.*, 1999; Goff *et al.*, 1998; Tandon *et al.*, 1998).

O mecanismo de ganho de peso ainda não é bem conhecido. Sabe-se porém que o bloqueio dos receptores 5-HT_{2c} e H₁ está envolvido (Wirshing *et al.*, 1999).

O ganho de peso tem conseqüências graves para a população de esquizofrênicos, pois a maioria destes tem nutrição pobre, 70% são fumantes e a maioria não faz uso da medicina preventiva. Portanto, o risco de doenças cardiovasculares associado ao ganho de peso, é extremamente alto (Kapur e Remington, 2001).

Outro fator de suma importância é o impacto que os agentes AP atípicos têm sobre a intolerância à glicose. Estudos mostram que o risco de diabetes *mellitus* e intolerância à glicose são pelo menos dobrados entre pacientes que fazem uso dos agentes atípicos em relação aos AP tradicionais (Goldstein *et al.*, 1999; Hagg *et al.*, 1998).

A clozapina e a olanzapina são os mais prejudiciais neste quesito, no qual o aumento da incidência de diabetes chega a cerca de 37% em 5 anos de terapia (Henderson *et al.*, 2000). A risperidona apresenta risco menor neste sentido. Faltam dados com relação a quetiapina e a ziprazidona (Kapur e Remington, 2001).

Último fator associado ao uso de AP atípicos é o aumento do nível de lípideos, especialmente os triglicerídeos. O mecanismo subjacente a este distúrbio ainda não está completamente entendido, porém o prejuízo geral à tolerância da glicose parece ser consistente com a resistência à insulina (Ghaeli *et al.*, 1996; Osser *et al.*, 1999).

Desta forma, embora não se tenha ainda conhecimento da etiologia de tais distúrbios, o monitoramento regular do peso e dos níveis de glicose e lípideos são recomendáveis para os usuários de agentes AP de segunda geração.

3.3.4. Agentes antipsicóticos tradicionais (AP típicos)

Os agentes AP têm sido usados clinicamente há cerca de meio século. Os primeiros fármacos úteis para o tratamento da esquizofrenia foram a reserpina e a clorpromazina. É interessante notar a relação entre o nome genérico de “neurolépticos” dado a estes primeiros agentes com sua ação depressora, pois tomam conta do SNC e causam supressão de movimento e comportamento.

A reserpina, de origem natural, é encontrada nos extratos da planta *Rauwolfia serpentina* e usada pelos Índus desde longa data para o tratamento dos sintomas psicóticos.

A descoberta não planejada da clorpromazina como agente AP é um exemplo feliz da obra do acaso. De fato este fármaco, derivado da fenotiazina, foi inicialmente planejado com agente anti-histamínico, agindo como antagonista de receptores H₁ (Booth *et al.*, 2002). Conquanto a fenotiazina tenha sido sintetizada já em 1883, esta não apresentava atividade AP, e sim anti-helmíntica. O caminho para o desenvolvimento da clorpromazina partiu de uma série de modificações moleculares à partir dos benzodioxanos, conforme mostrado na figura 22.

A habilidade da prometazina em prolongar o sono induzido por barbitúricos em roedores, trouxe-a ao mercado farmacêutico como agente potencializador em anestésias clínicas. Para aumentar o seu efeito sedativo, novos derivados fenotiazínicos foram sintetizados e avaliados por Charpentier e Courvoisier, resultando em 1950 na síntese da CPZ nos laboratórios da Rhône-Poulenc (Charpentier *et al.*, 1952)

Logo após a descoberta da CPZ, os cirurgiões franceses Laborit, Delay e Denicker perceberam a sua utilidade em potencializar a ação dos anestésicos e produzir hibernação artificial (Laborit *et al.*, 1952; Delay *et al.*, 1952). Perceberam que a CPZ, por si só, não era capaz de causar perda de consciência, mas somente produzir tendência ao sono com marcante desinteresse pelo ambiente ao redor. Em 1953, Delay e Denicker (Delay *et al.*, 1952) estavam convencidos de que a CPZ causava mais do que a

melhora na sintomatologia da agitação e ansiedade, e sim efeito melhorado do quadro psicótico.

Desta forma iniciou-se era sem precedentes no tratamento da esquizofrenia, de um pequeno passo na modificação molecular de um agente anti-histamínico, cujo efeito adverso era a sedação (prometazina), a um gigantesco salto no planejamento racional de fármacos antipsicóticos.

Hoje em dia, mais de 24 derivados fenotiazínicos e tioxantênicos são usados clinicamente, a maioria dos quais em tratamento de distúrbios psiquiátricos.

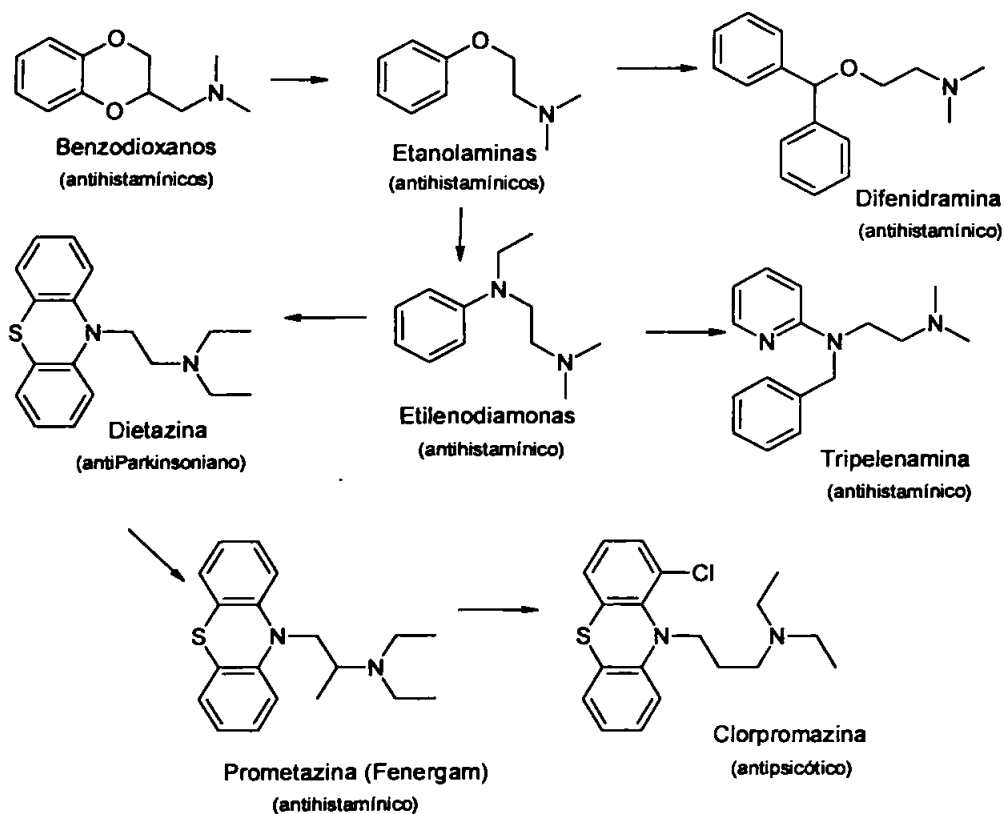


Figura 22 - Desenvolvimento da clorpromazina.

No final dos anos 50, Janssen e colaboradores sintetizaram análogos da meperidina com vistas a aumentar o seu poder analgésico (Janssen *et al.*, 1970). A propiofenona análoga (Figura 23) mostrou potência analgésica 200 superior à meperidina, porém o análogo butirofenônico

também mostrou atividade similar à CPZ. Assim, eliminando-se a atividade analgésica semelhante à morfina, e simultaneamente acentuando-se o carácter antipsicótico semelhante à CPZ, Janssen chegou à estrutura de um dos AP mais potentes até então conhecidos (ICPZ=50), o haloperidol.

Estes dois fármacos, CPZ e haloperidol, são os pilares do desenvolvimento racional de fármacos AP e por cerca de uma década orientaram a entrada de vários outros agentes, fundamentalmente por processos de modificação molecular. Alguns exemplos de fármacos que os sucederam são a espiperona, o trifluorperidol, droperidol, pimozida, penfluridol, fluspirileno, flufenazina, perferazida, flupentixol entre outros.

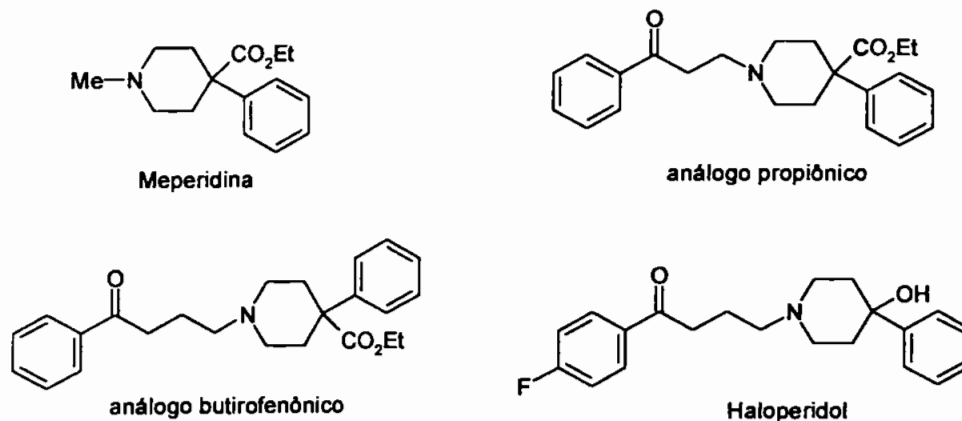


Figura 23 - Planejamento racional do haloperidol.

O haloperidol foi lançado nos EUA em 1959 e introduzido na Europa em 1958. A hegemonia da CPZ e do haloperidol e seus respectivos derivados, permaneceu praticamente sem ameaças até início dos anos 70, quando foi introduzida a clozapina em 1972.

O mecanismo de ação atribuído a estes fármacos, foi o antagonismo competitivo com a dopamina ao nível dos receptores D_2 .

Embora eficazes no tratamento das psicoses, principalmente na melhoria dos sintomas positivos da esquizofrenia, estes agentes AP tradicionais causam graves efeitos adversos de natureza motora, conhecidos como efeitos extra-piramidais (EEP).

Estes agentes AP de primeira geração, são comumente chamados de “antipsicóticos típicos”, porém a denominação mais adequada e recomendada atualmente é “antipsicóticos tradicionais” (Fleischhacker, 2002).

3.3.5. Agentes antipsicóticos de segunda geração (AP atípicos)

3.3.5.1. AP atípicos X AP de segunda geração

A introdução da clozapina, na década de 70^a, foi marco histórico no tratamento da esquizofrenia. Este fármaco mostrou características muito superiores às do haloperidol e CPZ. Principalmente por não induzir os EEP, ser eficaz no tratamento de pacientes resistentes aos AP tradicionais, melhorar os sintomas negativos (ex.: apatia, desmotivação, etc.) e demonstrar benefícios sobre os sintomas cognitivos e os relacionados ao humor (Buchanan *et al.*, 1995).

Todas estas características trouxeram sobre a clozapina o adjetivo “atípico”, por se opor aos padrões característicos dos efeitos dos AP tradicionais. De fato, o termo “atípico” foi, por quase uma década, tomado como sinônimo de “parecido com a clozapina”. Com o tempo, esta terminologia causou confusão no meio científico, pois não foi capaz de categorizar inequivocamente fármacos que surgiram após a clozapina e que mesmo apresentando EEP e hiperlactenemia em doses acima do nível ótimo, ainda assim apresentam perfil clínico semelhante aos AP atípicos. A risperidona é um exemplo característico.

Por esta razão tem sido proposta a mudança do termo “atípico” para “agentes AP de segunda geração” (Fleischhacker, 2002), terminologia homologada pela Associação Mundial de Psiquiatria (WPA).

Em resumo, o termo “atípico”, quando utilizado, deve significar um agente AP com baixos EEP e ausência de elevação sustentada de prolactina (Kapur *et al.*, 2001a).

3.3.5.2. Perfil farmacológico dos AP atípicos

Todos os agentes AP tradicionais e de segunda geração, mostram afinidade significativa com os receptores D₂ (Pickar, 1995; Seeman *et al.*, 1999), embora ainda não esteja esclarecido o que de fato diferencia uma da outra classe.

Pressupõe-se que estes fármacos atuem por mais de um mecanismo de ação devido ao perfil diversificado de afinidades a mais de um tipo de receptor. A clozapina, por exemplo, considerada como o fármaco protótipo da classe dos AP atípicos, mostra afinidade com os receptores D₁, D₂, D₄, 5-HT_{2a}, H₁, M₁ e os adrenérgicos α_1 e α_2 .

Esta afinidade múltipla sugere a qualidade de atípico. Atualmente, algumas teorias concorrem para explicar tal perfil de ação.

3.3.5.2.1. Alta afinidade com os receptores 5-HT₂

Meltzer *et al.* (1989) propuseram a hipótese serotoninodopaminérgica para explicar o caráter atípico. Após avaliarem 37 agentes AP em uso clínico e pré-clínico, tanto tradicionais quanto de segunda geração, constataram que os agentes atípicos apresentavam maior diferença entre as afinidades aos receptores 5-HT₂ e D₂ do que os AP tradicionais. Enunciaram, em linguagem matemática, o seu critério de atipicidade pela seguinte inequação: $[(pK_i \text{ 5-HT}_2)/(pK_i \text{ D}_2)] > 1$. Em outras palavras, o caráter atípico se apresenta quando os agentes mostram maior afinidade para com os receptores 5-HT₂ e a razão entre esta e os receptores D₂ supera a unidade.

Kapur *et al.* (2001b) discordam deste critério simplista e argumentam que não é a maior afinidade com os receptores 5-HT₂ o fator importante, mas sim a *menor* afinidade observada com os receptores D₂.

* A clozapina foi introduzida originalmente na clínica nos EUA em 1972, e logo em seguida retirada devido a casos de agranulocitose. Voltou ao mercado em 1990, após aprovação do FDA (Food and Drug Administration), sob rigoroso controle dos efeitos hematológicos.

Dos 20 AP tradicionais e 17 atípicos, a média de afinidades (pKi) com os receptores 5-HT₂, medidas por testes de *binding*, foi de 8,37 (sd=0,16) e 8,36 (sd=0,25), respectivamente. Não houve, portanto, diferença estatística significativa.

Porém os valores relativos às afinidades com os receptores D₂ foram 8,88 (sd=0,14) para os AP tradicionais e 7,02 (sd=0,25) para os atípicos. Uma diferença altamente significativa (F=43,5, p<0,001).

De acordo com os autores, este mesmo padrão de resultados foi observado em medidas de afinidade *in vivo*.

A primeira idéia que vem à mente é que, ainda que pequena, alguma afinidade com os receptores 5-HT₂ deva existir para se assegurar a atipicidade.

Conquanto os autores não descartem a possibilidade de envolvimento dos receptores 5-HT no processo de esquizofrenia, estes não concordam com a argumentação acima.

Existem AP atípicos sem afinidade significativa com os receptores 5-HT₂, a exemplo da amisulpirida e da remoxiprida. A primeira é particularmente interessante pois é tão eficaz quanto o haloperidol, no tratamento dos sintomas positivos, desencadeia menor incidência dos EEP e é mais efetiva no tratamento dos sintomas negativos. Isto tudo corroboraria com a primeira idéia de interação com receptores múltiplos como o caso da olanzapina e a risperidona, porém a amisulpirida é um fármaco praticamente seletivo dos receptores D₂, com pequena afinidade com os receptores D₃.

Em segundo lugar, a razão de ocupação 5-HT₂/D₂ dos agentes testados não é compatível com os dados de PET em humanos. Doses diárias subterapêuticas de olanzapina (< 5 mg/dia) e risperidona (<2 mg/dia) mostram altas taxas de ocupação dos receptores 5-HT₂ em comparação com os D₂. Entretanto, estas doses não são terapêuticas, tampouco atípicas.

Por fim, outro argumento apresentado pelos autores é a falha da ação antipsicótica em agentes que atuam somente nos receptores 5-HT₂, como o MDL-100907 (Report S, 1999).

3.3.5.2.2. Alta afinidade com os receptores D₄

O antagonismo dopaminérgico ao nível dos receptores D₄, tem sido considerado como uma das razões do carácter atípico dos agentes AP. Isto respalda-se na alta afinidade observada pela clozapina com os receptores D₄ em comparação com os receptores D₂.

Tal hipótese, de início, tem sido rejeitada por que os AP tradicionais, como o haloperidol e a CPZ, mostram afinidade muito maior com os receptores D₄ do que a olanzapina e a clozapina, por exemplo.

Segundo Seeman *et al.* (1997) pode-se argumentar que não seja a alta afinidade com os receptores D₄, *per si*, a responsável pelo carácter atípico, mas sim, a maior razão de afinidades D₄/D₂, analogamente à teoria de Meltzer para os agentes AP serotoninino-dopaminérgicos (SDA).

Os próprios autores refutam tal argumento (Kapur, *et al.*, 2001b) com os mesmos argumentos apresentados para a teoria de Meltzer, ou seja, que a razão D₄/D₂ é maior nos AP atípicos devido às baixas afinidades relativas com os receptores D₂, de vez que o haloperidol mostra maior afinidade do que a clozapina pelos receptores D₄.

Em segundo lugar, existem fármacos AP atípicos em uso clínico que não mostram, praticamente, afinidade com os receptores D₄, como exemplos a quetiapina e amissulpirida.

Finalmente, nenhum dos fármacos seletivos para D₄, ou em combinação destes com receptores 5-HT₂, mostrou, em testes clínicos, alguma evidência de ação antipsicótica (ex. L-745,850 e fananserina) (Bristow *et al.*, 1997; Truffinet *et al.*, 1999).

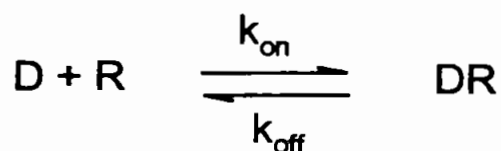
3.3.5.2.3. Rápida dissociação nos receptores D₂

Recentemente Kapur *et al.* (2001b) levantaram a hipótese de que o carácter atípico dos agentes AP é consequência direta da rápida dissociação destes agentes dos receptores D₂.

Segundo os autores, o bloqueio dos receptores D₂ por si só é condição necessária e suficiente para a ação antipsicótica. Contudo, não

descartam a interferência provável de outros sistemas (ex.: receptores 5-HT₂, 5-HT₆, 5-HT₇, D₄ e α_1 adrenérgico) no tratamento dos outros aspectos não psicóticos da esquizofrenia, como o humor e os déficits cognitivos. Porém, isto só poderá ser completamente entendido após controle total do efeito de ocupação dos receptores D₂.

A baixa afinidade dos agentes atípicos é explicada pelos autores como resultante da rápida dissociação destes dos receptores D₂. Ou seja, tais agentes apresentam valor maior da constante de velocidade de dissociação (k_{off}) em relação à constante de associação (k_{on}) com os receptores. A afinidade é medida de equilíbrio termodinâmico, expressa pela constante de equilíbrio de dissociação K_d (ou inibição, K_i), onde $K_d = k_{off}/k_{on}$ (Figura 24).



D=fármaco

R=receptor

DR=complexo fármaco-receptor

k_{on} =constante de velocidade de associação ($\text{mol}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}$)

k_{off} =constante de velocidade de dissociação (s^{-1})

Figura 24 – Constantes cinéticas de ligação e desligamento do fármaco ao receptor.

Teoricamente tanto k_{off} quanto k_{on} poderiam afetar a afinidade, contudo observa-se, experimentalmente, que todos os agentes AP (tradicionais e atípicos) ligam-se aos receptores D₂ com constante de velocidade semelhante, diferenciando-se somente na de dissociação. Desta forma, sendo k_{on} praticamente constante, resulta que o equilíbrio de dissociação (afinidade) dependerá fundamentalmente de k_{off} .

Existem algumas peculiaridades que devem ser levadas em consideração quando se avalia a afinidade de um fármaco *in vitro* (binding) e *in vivo* (PET). No último caso, a dissociação de um fármaco do receptor é

limitada por fenômenos que ocorrem em dois níveis distintos, ao nível molecular (sinapse) e ao nível sistêmico. Ao nível molecular o processo é determinado basicamente por k_{off} , ao passo que ao nível sistêmico é uma função complexa dependente da sua meia vida plasmática, da sua meia vida no cérebro e de k_{off} .

A hipótese da rápida dissociação sugere que a combinação de k_{off} rápida, ao nível molecular e uma ocupação transiente dos receptores D_2 ao nível sistêmico seja suficiente para prover o efeito antipsicótico atípico.

Estima-se que o nível basal de ocupação dos receptores D_2 pela dopamina seja entre 25-40% (Laruelle *et al.*, 1997; Ginovart *et al.*, 1997). Os agentes AP alteram estes valores por competirem com a DA pelos mesmos sítios de ligação dos receptores, desta forma modulando a ação dopaminérgica.

A clozapina dissocia-se cerca de 100 vezes mais rapidamente do que o haloperidol, e mostra menor afinidade com receptor também cerca de 100 vezes. Isto significa que, no processo da interação com o receptor enquanto o haloperidol se dissocia uma vez a clozapina o faz 100 vezes. Como consequência, mesmo que a taxa de ocupação dos receptores seja mais elevada (em resultado de doses mais elevadas), a clozapina ainda assim deixará o receptor com maior prontidão, permitindo o acesso do mediador endógeno. Isto não ocorre com o haloperidol, que bloqueia o receptor por longos períodos de tempo.

A figura 25 mostra que para o fármaco de baixo k_{off} (haloperidol), não há impacto da liberação significativa de DA no neurônio pós-sináptico, o que prejudica a ação fisiológica do NT. Por outro lado, a clozapina (alto k_{off}) não bloqueia por completo a ação da DA, apenas modula o efeito da amina endógena.

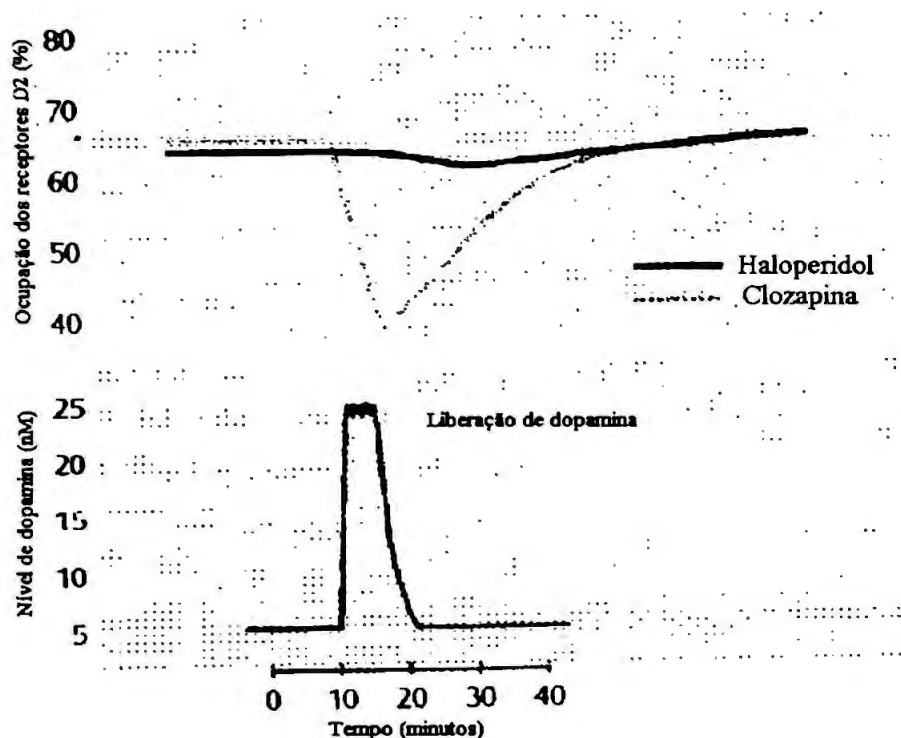


Figura 25 – Impacto de k_{off} na ação fisiológica da DA.

Em conclusão, o caráter atípico de um agente AP, segundo o modelo de Kapur *et al.* (Kapur *et al.*, 2001b), não depende de um perfil de afinidade a múltiplos receptores, mas de dissociação rápida destes dos receptores D₂, o que modula a atuação fisiológica da DA. Segundo os autores, somente a pesquisa futura será capaz de dizer qual é o valor ideal de k_{off} e quais os limites máximos e mínimos de ocupação dos receptores D₂.

3.3.5.2.4. Aripripazol, AP atípico de “3ª geração”

Embora o antagonismo aos receptores de DA nos neurônios pós-sinápticos seja método importante e eficaz no tratamento dos sintomas positivos da esquizofrenia, estes têm consequências indesejáveis, vindas do bloqueio de certas regiões cerebrais específicas, causando os EEP e mudanças hormonais.

Novas abordagens da farmacoterapia à esquizofrenia têm surgido, fundamentando-se na redução da hiperatividade dopaminérgica por meio de mecanismos alternativos, entre eles, a estimulação dos autorreceptores D₂ presentes nos neurônios pré-sinápticos por ação de agonistas.

Estudos têm mostrado que agentes agonistas dos autorreceptores D₂ (ex. OPC-4392) (Figura 26) podem melhorar os sintomas negativos sem causar os EEP (Gravy *et al.*, 2003).

Surgiram, então, hipóteses em que os agentes com ação agonista ao nível dos autoreceptores D₂ e ação antagonista nos receptores pós-sinápticos D₂, deveriam melhorar tanto os sintomas positivos quanto os sintomas negativos da esquizofrenia, sem incidência de EEP.

A seleção de derivados do OPC-4392 resultou na descoberta do aripripazol, um composto que atingiu as expectativas após a realização de testes clínicos.

Alguns estudos farmacológicos mostram que o aripripazol possui propriedades de agonista parcial dos receptores D₂, exibindo respectivamente, propriedades de agonista ou antagonista em sistemas dopaminérgicos hipo e hiper ativados. Mostrou atividade agonista parcial ao nível dos receptores 5-HT_{1a} e antagonista aos receptores 5-HT_{2a}, desta forma se enquadrando na classe dos agentes AP estabilizadores do sistema dopamina-serotonina (SDA).

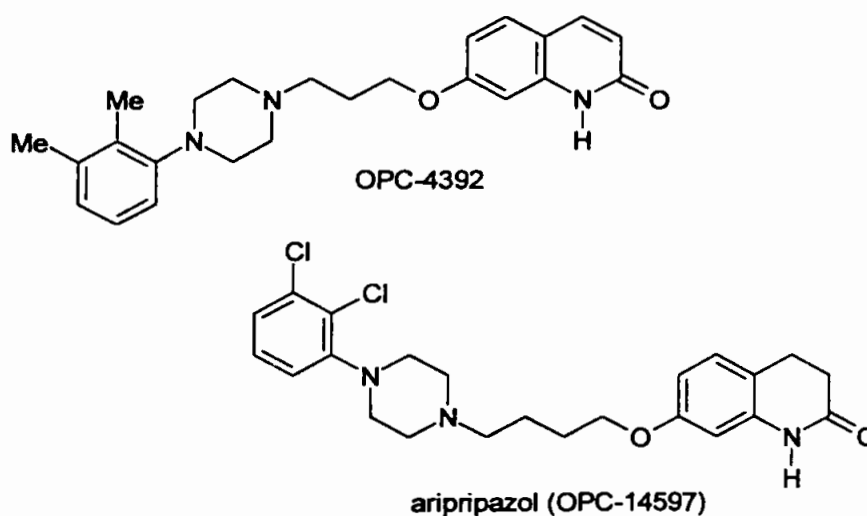
Os dados de testes clínicos mostraram que o aripripazol tem pouco efeito sobre a intolerância à glicose, ganho de peso e elevação na produção de prolactina.

Novos agentes estão em fase de desenvolvimento (Tabela V) explorando novos mecanismos de ação. Representam, sem dúvida, grupo promissor de novos agentes a serem empregados na clínica médica, pois serão mais eficazes, seguros e de melhor perfil quanto aos efeitos adversos.

Tabela V - Alguns fármacos selecionados em desenvolvimento como agentes AP

Fármaco	Classe	Fase	Companhia
Iloperidona	AP atípico	Fase III	Norvatis
CX-516	Modulador do AMPA*	Fase II	Cortex/Organon
Osanetant	Antagonista de neurocinina	Fase II	Senofi-Synthélabo
Bifeprunox	Agonista parcial de DA	Fase II	Solvay/Lundbeck

*AMPA - ácido α -amino-3-hidroxi-5-etil-4-isoxazolpropiónico

**Figura 26 – Desenvolvimento do aripiprazol.**

3.4. Benzamidas como antagonistas de receptores D₂ e 5-HT₃

Certas benzamidas apresentam propriedades anestésica local e antiemética (Augrist, 1982).

A metoclopramida (Figura 27) apresenta limitada atividade anestésica local, mas boa atividade antiemética. A exemplo dos antieméticos fenotiazínicos (ex. prometazina), a metoclopramida mostrou habilidade em agir como antagonista dos receptores D₂ e conseqüentemente como agente antipsicótico (Jenner, 1985).

Devido à grande flexibilidade estrutural conferida por sua cadeia lateral, a metoclopramida liga-se com boa afinidade, mas baixa seletividade, a série de receptores, especialmente os receptores D₂ (IC₅₀=483 nM) e 5-HT₃ (IC₅₀=308 nM) (Harada *et al.*, 1995b). O efeito antiemético atribuído à metoclopramida vem da sua atividade antagonista aos receptores 5-HT₃.

Vários agentes antieméticos e antipsicóticos foram planejados por modificação molecular da metoclopramida. Alguns exemplos de AP são a (S)-sulpirida, (S)-remoxiprida e a (S)-amisulpirida. Entre os antieméticos citam-se a azasetrona, zatosetona e zacoprida (Figura 27).

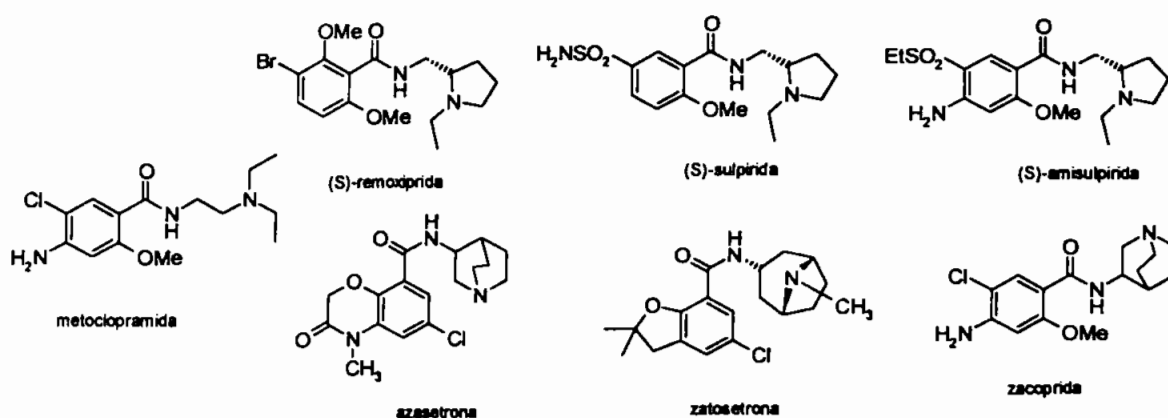


Figura 27- Antipsicóticos e antieméticos antagonistas de receptores D₂ e 5-HT₃, respectivamente.

A (S)-sulpirida apresenta baixa incidência de EEP, possivelmente devido à sua ação preferencial sobre o tecido límbico, em comparação com o estriato. Seu perfil farmacocinético de baixa biodisponibilidade por via oral e baixa penetração na barreira hematencefálica explica esta baixa incidência. Tais propriedades são atribuídas ao seu alto caráter hidrofílico.

Por outro lado, a (S)-remoxiprida é bem absorvida por via oral, apresenta potência antipsicótica comparável ao haloperidol e induz baixo EEP. Contudo, foi retirada do mercado farmacêutico por desencadear alguns casos de anemia aplástica.

Hogberg (1993) discute as propriedades AP das benzamidas e seu planejamento racional como antagonistas seletivos de receptores D₂. A propósito, foi nos laboratórios do Dr. Hogberg, na Astra Arcus AB, Suécia, que foi descoberta a remoxiprida.

As benzamidas metilenopirrolidínicas, análogas da remoxiprida, sulpirida e amisulpirida, são, portanto, como classe de compostos, alvos importantes para o desenvolvimento de futuros agentes AP seletivos de receptores D₂ e com baixos EEP.

Evidências indicam que os receptores 5-HT₃ podem regular a liberação de DA no meio cerebral (Meltzer *et al.*, 1991).

A infusão de tropisetrona (ICS-205-930) diretamente no núcleo *accumbens* através de uma sonda de diálise bloqueou a liberação da DA induzida por administração aguda de morfina (Imperato *et al.*, 1989). Estes resultados também foram confirmados com o uso da granisetrona (BRL-43694) (Jiang *et al.*, 1990). A ondasetrona induziu decréscimo do efeito de estimulação dopaminérgica indireta do sistema límbico (Hagan *et al.*, 1990).

Além dessas evidências farmacológicas, alguns estudos comportamentais sustentam a hipótese de que antagonistas de receptores 5-HT₃ atenuam a liberação de DA no núcleo *accumbens* (Costall *et al.*, 1990).

A ação dos antagonistas no sistema mesolímbico é esperada como efeito antipsicótico. Estudos clínicos têm mostrado a eficácia da ondasetrona como agente AP com incidência baixa de EEP (DeVeough-Geiss *et al.*, 1991).

Contudo, a contribuição da modulação dopaminérgica através do antagonismo ao nível dos receptores 5-HT₃ ainda não está bem consolidada, se comparada com a hipótese do antagonismo competitivo ao nível dos receptores D₂ para o efeito antipsicótico.

A razão principal pela qual se decidiu fazer o estudo exploratório de novos derivados de benzamidas metileno-pirrolidínicas substituídas foi avaliar as suas afinidades por estas duas classes de receptores (D₂ e 5-HT₃) e inferir que fatores de seletividade são comuns. Esta é estratégia importante na busca de novos agentes AP de segunda geração (atípicos).

3.4.1. Características dos receptores D₂

A dopamina é neurotransmissor endógeno cuja ação biológica é realizada por meio de receptores específicos, pertencentes a duas grandes famílias: receptores do tipo D₁ e receptores do tipo D₂.

Tais receptores pertencem à superfamília dos receptores acoplados à proteína G (GPCR). Estima-se que existam cerca de 1000 a 2000 proteínas integrais ligadas à membrana, codificadas por 1-2% de todos os genes. De fato 80% de todos os receptores de hormônios e NT estão acoplados à proteína G (Teeter *et al.*, 1994).

Inclusos nesta superfamília estão os receptores adrenérgicos, dopaminérgicos, serotoninérgicos, muscarínicos, receptores de peptídeos, odores, opsinas entre outros.

A função dos receptores ligados à proteína G é mediar a comunicação intercelular via recebimento de um sinal externo por ligação de um mensageiro químico: hormônios, NT, fótons, odor, feromônios, etc, e transmiti-lo (transdução) para o meio intracelular através da ativação das proteínas G. Estas desencadeiam resposta intracelular (ex. geração de segundos mensageiros) através de efetores, que são enzimas ou canais iônicos, que por fim atuam na liberação do NT em direção ao neurônio subsequente.

Pelo fato dos GPCR serem responsáveis por série de reações bioquímicas,

são classificados como receptores metabotrópicos.

Os receptores acoplados à proteína G possuem 7 segmentos helicoidais constituídos de aminoácidos hidrofóbicos que cruzam a membrana plasmática. Estes segmentos são conectados intra e extracelularmente por alças proteicas. A alça aminica terminal é passível de glicosilação, ao passo que a alça carboxilica terminal interna contém possivelmente um resíduo palmitoila o qual permite ligação com a membrana (Strange, 2000), conforme ilustra a figura 28.

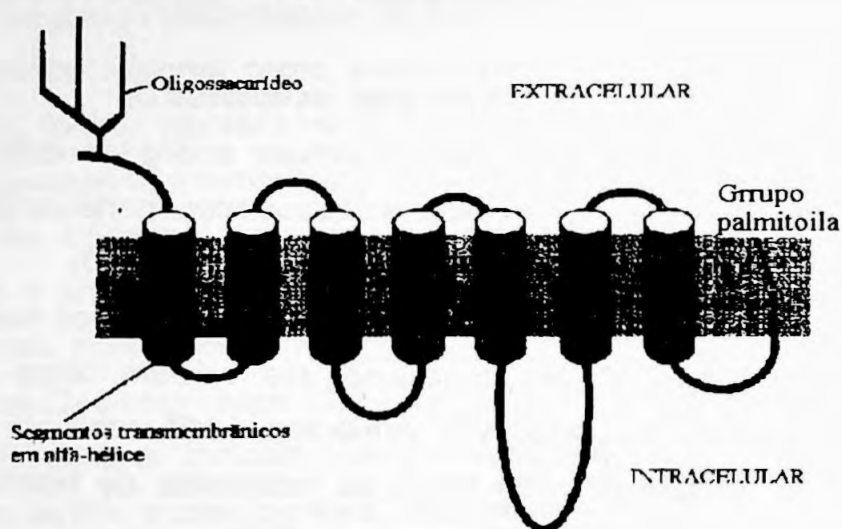


Figura 28 – Estrutura dos receptores metabotrópicos D₂
(Adaptado de Strange, 2000).

As hélices são arranjadas de maneira a formar um poro na membrana, através do qual se liga o NT (Figura 29).

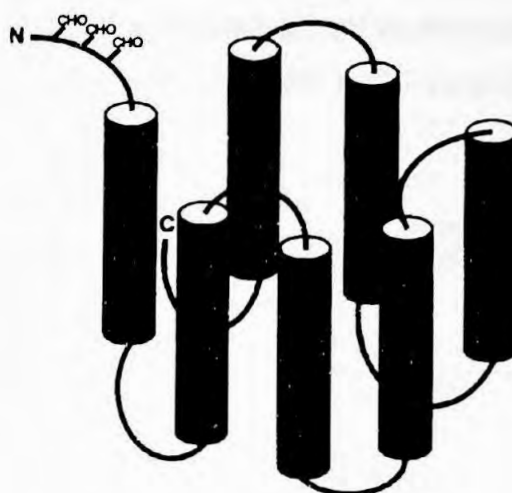


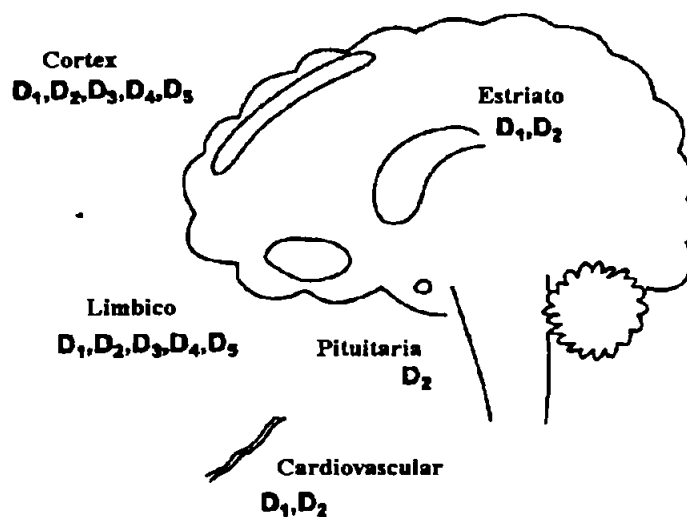
Figura 29 – Formação do poro e sítio de ligação nos receptores D₂
(Fonte: Strange, 2000).

A terceira alça intracelular, que conecta os segmentos transmembrânicos 5 e 6, é mais longa nos receptores D₂ do que nos D₁. Este é o ponto de ligação com a proteína G. Há variações de tamanho desta alça entre os diferentes tipos e subtipos de receptores de DA, inclusive os sub-tipos D₂, podendo-se encontrar receptores D₂ com alça mais longa “D₂ long” ou mais curta “D₂ short” (Figura 28).

Desde a descoberta em 1950 da DA como agente NT, percebeu-se a existência de mais de um tipo de receptor de DA. Porém foi na década de 70 que estudos bioquímicos (ex.: estimulação de produção de AMP cíclico e testes de *binding*) confirmaram esta hipótese, quando foi proposta então a existência de duas subfamílias de receptores, D₁ e D₂ (Strange, 2000).

Foi somente no final dos anos 80, com o advento das técnicas de clonagem de genes, que foi possível a plena caracterização dos 5 cinco tipos de receptores de DA hoje conhecidos. Os receptores da sub-família D₁ na verdade continham dois tipos, os D₁ e D₅, ao passo que os da sub-família D₂, os tipos D₂, D₃ e D₄. Para se evitar confusão, usa-se o adjetivo “parecido com” ou “semelhante a” D₁ ou D₂ quando em referência às duas sub-famílias de receptores de DA.

A distribuição dos receptores de DA no SNC e sistema nervoso periférico (SNP), bem como as características farmacológicas principais são mostradas na (Figura 30) e tabela VI, respectivamente.



**Figura 30 – Distribuição dos receptores de DA nos SNC e SNP
(Adaptado de Strange, 2000).**

Tabela VI - Algumas características moleculares dos receptores de dopamina

	Sub-família-D ₁		Sub-família-D ₂		
	D ₁	D ₅	D ₂	D ₃	D ₄
Características farmacológicas (K_i, nM)	SCH 23390 (0,35) dopamina (2340)	SCH 23390 (0,30) dopamina (228)	espiperona (0,05) racloprida (1,8) clozapina (56) dopamina (1705)	espiperona (0,61) racloprida (3,5) clozapina (180) dopamina (27)	espiperona (0,05) racloprida (237) clozapina (9) dopamina (450)
Localização	caudato/putam en núcleo accumbens tubérculo olfatório hipotálamo tálamo córtex frontal	hipocampo tálamo núcleo mamilário lateral estriato córtex cerebral (baixa densidade em geral)	caudato/putam en núcleo accumbens tubérculo olfatório córtex cerebral (baixa densidade)	núcleo accumbens tubérculo olfatório ilhas de Calleja córtex frontal (baixa densidade)	córtex frontal cérebro médio amígdala hipocampo hipotálamo medula (baixa densidade em geral) retina
Resposta	adenilciclase ↑	adenilciclase ↑	adenilciclase ↓	adenilciclase ↓	adenilciclase ↓
Homologia com receptor D₁ com receptor D₂(curto)	100 44	82 49	44 100	44 76	42 54

(Adaptado de Strange, 2000)

Os receptores do tipo D₂ são importantes na mediação dos efeitos da DA no controle do movimento, certos aspectos do comportamento e secreção de prolactina à partir da glândula pituitária inferior (Strange, 2000).

3.4.2. Requisitos estruturais dos antagonistas dos receptores D₂

Uma vez conhecida a afinidade de um composto, ou conjunto de compostos, com certo tipo de receptor, e provada a sua ação farmacológica (ex. agonista, antagonista) é importante conhecer quais requisitos estruturais governam o processo de interação do composto com o receptor em questão.

Este conjunto mínimo de fatores estruturais dos agentes, necessários à produção da resposta biológica, é chamado de *grupo farmacofórico*.

Os modelos de grupos farmacofóricos são conceitos teóricos construídos à partir de dados experimentais. São úteis no planejamento de

novos ligantes a receptores específicos, com vistas a uma ação biológica específica.

Há complementariedade entre o sítio ativo ou sítio de ligação do receptor e o grupo farmacofórico dos ligantes. O grau de afinidade e a potência da resposta biológica também dependem de outros grupos adjacentes ao grupo farmacofórico, que conferem ao ligante propriedades físico-químicas específicas.

É possível se planejar fármacos *de novo*, ou seja, a partir da estrutura do receptor. Algo como moldar uma chave à partir da cavidade da fechadura. O grande problema é se conhecer com precisão suficiente a estrutura dos receptores. Alguns complexos proteicos podem ser cristalizados e observadas as interações entre o ligante (ex. inibidor) e o receptor (enzima), através de cristalografia de raios-X. Contudo, nem todos os receptores são facilmente passíveis de serem isolados e purificados, a exemplo dos receptores ligados à proteína G (GPCR), os quais estão estrutural e funcionalmente ligados à membrana plasmática. Este é o caso dos receptores D₂. Algumas técnicas de modelagem molecular têm sido utilizadas para se construir um modelo de receptor D₂ baseado nas coordenadas cristalográficas da estrutura da bacteriorrodopsina, modelo análogo tradicional dos GPCRs (Teeter *et al.*, 1994).

Se por um lado, o planejamento *de novo* é limitado por informações diretas da estrutura dos receptores, por outro, existem técnicas que contornam este problema. Pode-se, por exemplo, fazer uso do conhecimento prévio das estruturas de ligantes ativos a receptores específicos, cujo estudo de suas similaridades estruturais podem revelar o seu grupo farmacofórico e sugerir a identidade do sítio de ligação. Tal estratégia foi chamada por Marshal *et al.* (1979) de “*mapeamento do receptor*”. Neste caso, desenvolver um novo ligante, é o processo análogo de se fazer uma nova “chave” observando-se os requisitos mínimos de ligação (grupo farmacofórico) com a “fechadura” (receptor) revelados pela similaridade estrutural de outras “chaves” que a ele se ligam.

O acesso a ligantes rígidos é sempre interessante, pois sua conformação em estado puro é provavelmente bem próxima daquela ativa no meio biológico, o que permite melhor inferir sobre a estrutura do receptor e do processo de interação. Por outro lado, ligantes flexíveis, por assumirem diversas conformações possíveis, não dão informações úteis sobre a forma ativa ao nível da interação com o receptor, o que traz dúvida no estabelecimento do grupo farmacofórico.

Olson *et al.* (1981) desenvolveram um modelo teórico de grupo farmacofórico para antagonistas do receptor D₂ baseado na estrutura de antipsicóticos e ligantes rígidos conhecidos. O grupo farmacofórico descrito, complementar aos grupos funcionais do receptor, foi baseado na análise das estruturas de raio-X dos antagonistas molindona e dexclamol como também do agonista apomorfina (Figura 31).

O autor propõe algumas interações importantes entre o grupo farmacofórico dos antagonistas de DA e os receptores D₂: 1) Ponte salina entre o grupo carboxilato do receptor e o grupo amino positivamente carregado no ligante; 2) interações entre os grupos aromáticos do receptor com o anel aromático e a carbonila; 3) interações hidrofóbicas entre o receptor e os grupos adjacentes ao nitrogênio básico (não essencial).

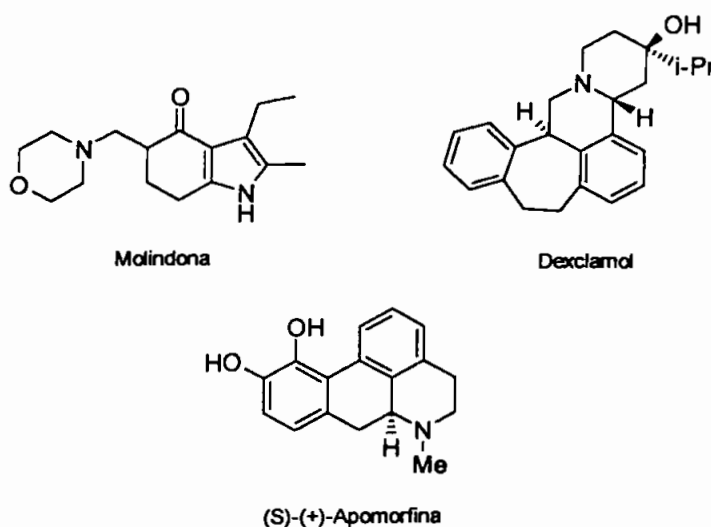


Figura 31 – Estruturas da molindona, dexclamol e apomorfina.

Utilizando-se da estratégia de mapeamento de receptor descrita por Marshal *et al.* (1979), um modelo de grupo farmacofórico foi estabelecido por Rognan *et al.* (1990) compreendendo sete parâmetros. As distâncias medidas são relativas ao N e os centróides dos anéis aromáticos e à cavidade hidrofóbica (HP). Os anéis aromáticos Ar₂ e Ar₃ não são essenciais à atividade (Figura 32).

Os valores em ângstrons são os seguintes: $5.9 < d_1 < 7.7$; $2.5 < d_2 < 3.4$; $d_3 \sim 7.5$; $d_4 \sim 4.5$; $d_5 \sim 3.5$; $0.2 < h < 2.2$; $(76 < \theta < 108^\circ)$.

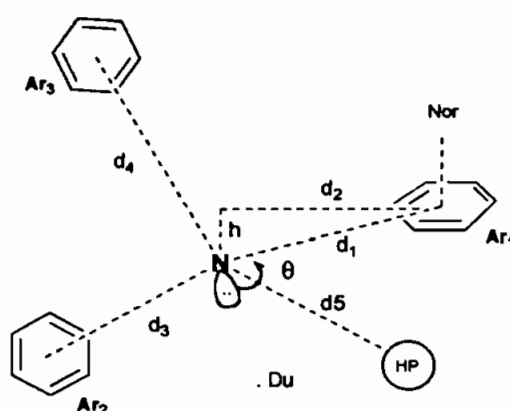


Figura 32 – Modelo de grupo farmacofórico de Rognan *et al.* para antagonistas D₂.

3.4.3. Características dos receptores 5-HT₃

A serotonina (5-hidroxitriptamina, 5-HT) é neurotransmissor envolvido em ampla variedade de efeitos biológicos, tanto em tecidos periféricos quanto no SNC.

Sete classes de receptores de 5-HT (5-HT₁₋₇) incluindo 15 diferentes subtipos (a,b,c...) foram identificados (Lopez-Rodriguez *et al.*, 1999).

Os receptores 5-HT₃ diferem dos demais subtipos por estarem ligados a canais iônicos. Todos os demais receptores de 5-HT estão ligados à proteína G. Os receptores 5-HT₃ são permeáveis aos íons Na⁺, K⁺ e Ca²⁺.

Os receptores 5-HT₃, GABA_A, glicina e nicotínicos (nACh), pertencem à classe dos receptores ligados ao canal iônico, mostram grande homologia na sequência das subunidade de aminoácidos, e devido a isto,

muitos fármacos que atuam sobre um tipo de receptor, podem interagir com outro do mesmo grupo. Por exemplo, alguns antagonistas de receptores 5-HT₃ também atuam sobre os receptores GABA_A (Ye, 2001).

Ao contrário dos receptores ligados à proteína G (GPCRs), que cruzam a membrana 7 vezes, a arquitetura dos receptores *ionotrópicos* (ligados a canal iônico) revela a existência de 5 unidades transmembrânicas, cada uma composta por 4 segmentos α -helicoidais de natureza hidrofóbica que cruzam a membrana plasmática e são conectadas por alças proteicas intra e extracelulares (Figura 33).

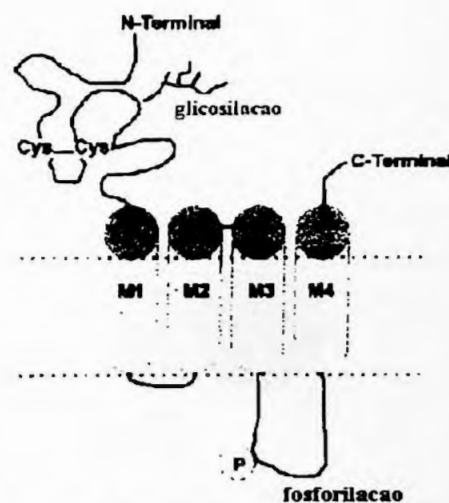


Figura 33 – Estrutura de uma subunidade neuronal de receptor nicotínico.

Estes quatro segmentos helicoidais dobram-se entre si, para formar cada uma das 5 unidades pentaméricas constituintes do canal iônico.

A resposta fisiológica, decorrente da ativação ou bloqueio dos receptores ionotrópicos é bem mais rápida e aguda se comparada aos GPCRs. Isto porque os primeiros estão diretamente associados aos canais iônicos. Os últimos são de ação mais lenta, porém de efeitos mais prolongados.

É importante frisar que, na maioria das vezes, os receptores ionotrópicos e os canais iônicos, constituem conjunto único. Em outras palavras, o “receptor” nada mais é do que um sítio específico de ligação dentro da estrutura do próprio canal iônico.

3.4.4. Requisitos estruturais dos antagonistas de receptores 5-HT₃

Vários são os modelos de grupo farmacofórico para os receptores 5-HT₃, que serão relatados e discutidos a seguir.

3.4.4.1. Modelo de Peroutka e Schimdt (1989)

Este é um modelo bidimensional, formado basicamente por dois pontos: um anel aromático e um átomo de nitrogênio contido em um heterociclo (Figura 34) (Schmidt *et al.*, 1989).

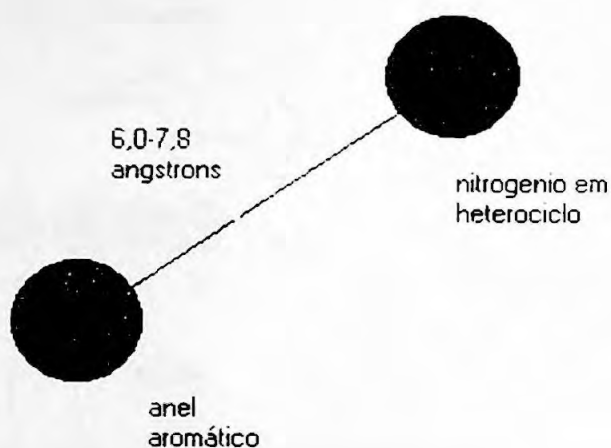


Figura 34 - Modelo de grupo farmacofórico de Peroutka e Schmidt.

Características:

- anel aromático e o átomo de nitrogênio estão no mesmo plano
- as primeiras duas ligações à partir do anel aromático são sempre coplanares com ele
- pelo menos um anel aromático e um heterociclo nitrogenado a 6 ou 7 átomos de distância (6-7,8 Å).

Pontos fortes:

- *screening* de base de dados usando este modelo de grupo farmacofórico, revelou o pizotofeno e a clozapina como possíveis ligantes do receptor 5-HT₃.

Pontos fracos:

- não foram consideradas as energias conformacionais devidas a fatores estéricos, eletrostáticos ou ligações de hidrogênio.
- posicionamento arbitrário do anel aromático e do átomo de nitrogênio no mesmo plano.
- não foram considerados os efeitos da substituição nos anéis aromáticos e da carbonila nas diferentes classes químicas.

3.4.4.2. Modelo de Hibert (1990)

Este é um modelo tridimensional, cujas características fundamentais são: um anel aromático, uma carbonila coplanar e um centro básico (Figura 35) (Hibert *et al.*, 1990)

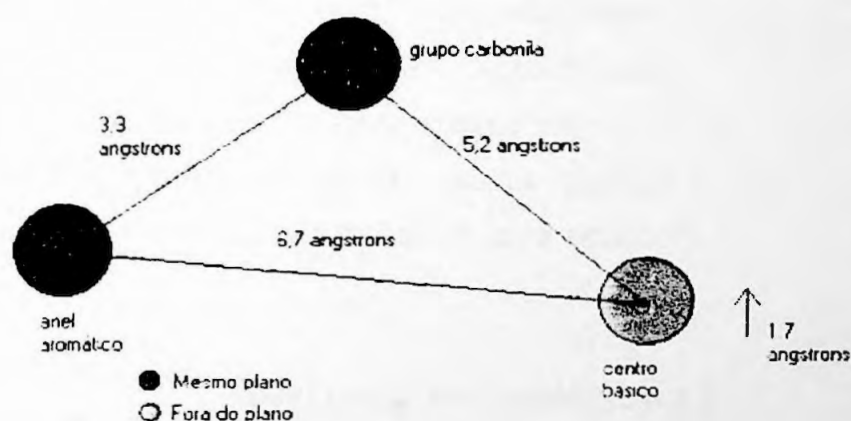


Figura 35 – Modelo de grupo farmacofórico de Hibert *et al.*

Pontos fortes:

- As distâncias são muito próximas do modelo refinado por Evans *et al.* (1993), cujos valores são 3,5; 5,1 e 7,1 Å.
- A 5-HT não se encaixa neste modelo, revelando os diferentes requisitos de ligação para agonistas e antagonistas.
- Modelo qualitativo para grande variedade de compostos (ex. quipazina, figura 36).

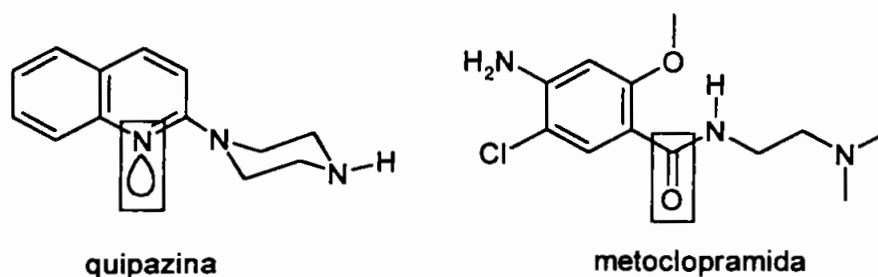


Figura 36 - Equivalência entre o par eletrônico da quipazina e a carbonila da benzamida – revelações do modelo de Hibert.

Pontos fracos:

- Não leva em consideração a avaliação dos campos eletrostáticos (fator importante para *binding*).
- simples superposição dos ligantes: i) algumas moléculas podem interagir com o receptor ocupando diferentes posições; ii) este modelo de grupo farmacofórico corresponde a uma das duas classes conformacionais apontadas por Evans *et al.*.
- a similaridade estrutural é plausível, rápida, mas vinda de solução única. Todas as outras possibilidades poderiam ser obtidas através de um estudo sistemático do método do análogo-ativo.

3.4.4.3. Modelo de Rizzi (1990)

Rizzi *et al.* (1990) ampliaram o modelo de Hibert, por incorporarem interações eletrostáticas no seu modelo de grupo farmacofórico. Este, foi construído com base nas possíveis interações eletrostáticas entre o ligante e o receptor, usando-se para isto sondas (ex.: grupo carboxílico do aspartato e hidroxílico da serina) que mimetizam estas interações. Duas regiões foram então determinadas: um aceptor de ligações de hidrogênio (ex.: grupo carbonila) e um doador de ligações de hidrogênio (ex.: nitrogênio protonado). A superposição destas duas regiões leva ao modelo de grupo farmacofórico de 3 componentes ilustrado na figura 37.

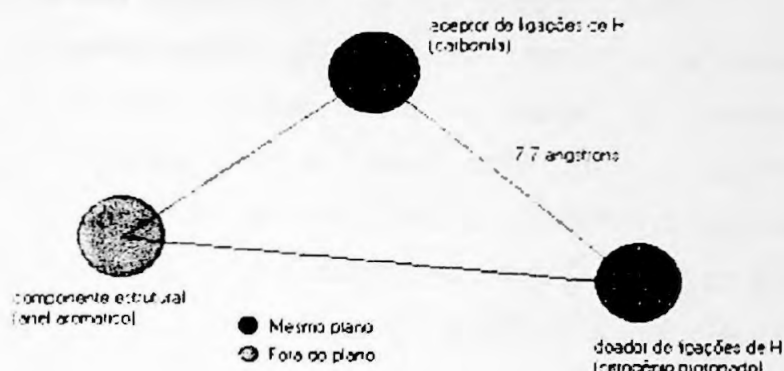


Figura 37 - Modelo de grupo farmacofório de Rizzi.

Características:

- duas interações eletrostáticas (via grupo carbonila e nitrogênio protonado), separadas por 7,7 Å.
- um componente estrutural (ex.: anel aromático) espalhado por ampla região do espaço.

Pontos fortes:

- novos compostos com alta afinidade para os receptores 5-HT₃ puderam ser identificados.
- a sobreposição dos ligantes não precisa ser na base de um átomo sobre outro. A sobreposição de resíduos dos receptores sobre os resíduos dos ligantes é menos restritiva e provavelmente mais realística.
- o modelo usa de boa estratégia para a comparação de ligantes estruturalmente diversos.

Pontos fracos:

- os supostos conformômeros do complexo ligante-receptor têm que ser escolhidos de maneira arbitrária.
- podem ser encontradas conformações estáveis que resultam em modelos de grupos farmacofóricos totalmente diferentes.

3.4.4.4. Primeiro modelo de Swain (1991)

Este modelo utiliza derivados do oxadiazol como sondas moleculares (Swain *et al.*, 1991). Estes compostos são bioisósteros de ésteres. O modelo é tridimensional, caracterizado por: um sistema aromático, um centro básico e um grupo envolvido em ligações de hidrogênio (anel oxadiazólico). Os anéis oxadiazólico e aromático estão no mesmo plano. O sistema aromático e o centro básico estão a uma distância de 8,4-8,9 Å de distância (figura 38).

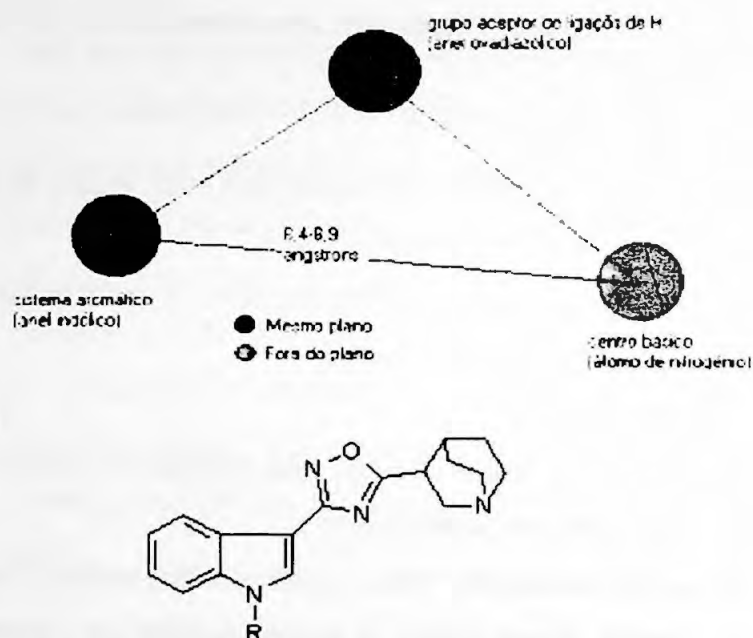


Figura 38 - Primeiro modelo de Swain.

Pontos fortes:

- os estudos de modelagem molecular realizados fundamentam-se em estudos exaustivos de REA.

Pontos fracos:

- os estudos de modelagem molecular foram limitados à comparação dos mapas eletrostáticos de análogos oxadiazólicos e estudos estéricos do fragmento aromático: i) não há menção quanto à faixa de distância entre o anel oxadiazólico e o

nitrogênio azabíclico; ii) não há informação sobre o par eletrônico no nitrogênio azabíclico; iii) não há informação sobre a conformação ou configuração da estrutura azabíclica.

3.4.4.5. Segundo modelo de Swain (1992)

Em modelo mais refinado, Swain *et al.* (1992) analisaram a estrutura de espiroxazolinas indólicas antagonistas de receptores 5-HT₃, com a finalidade de localizar, de forma exata, o átomo básico de nitrogênio e o grupo aceptor de ligações de hidrogênio (ex.: similar à carbonila).

As características fundamentais deste modelo são: um anel aromático, um átomo capaz de aceitar ligações de hidrogênio e coplanar com o anel aromático a uma distância de 4-4,5 Å, e um átomo de nitrogênio básico, quase coplanar (Δ 1,2 Å) com o anel aromático e a 8,6-9,1 Å do seu centro. A distância entre o nitrogênio básico e o átomo aceptor de ligações de hidrogênio é de 5-5,2 Å (Figura 39).

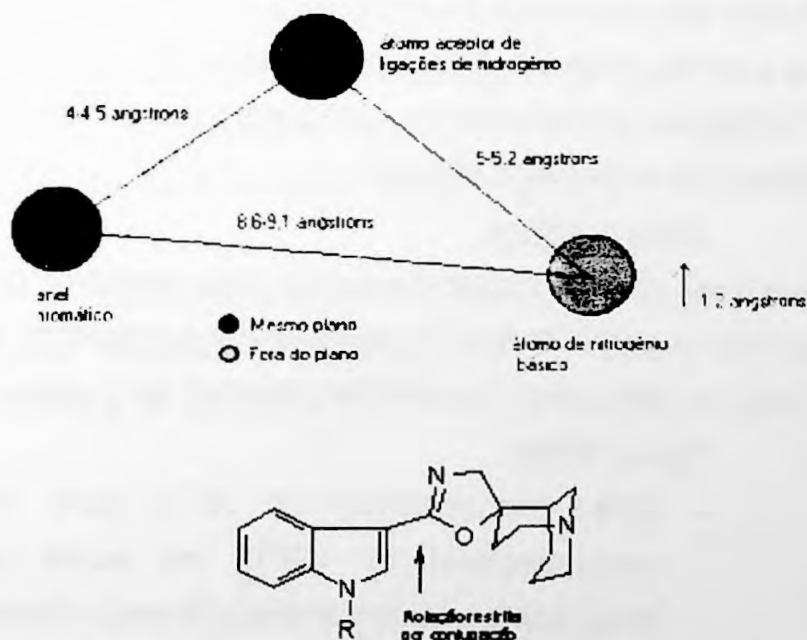


Figura 39 – Segundo modelo de grupo farmacofórico de Swain *et al.*

Pontos fortes:

- tentativa de se localizar precisamente os átomos de nitrogênio eceptor de ligações de hidrogênio.

Pontos fracos:

- conclusão dos autores de que a potência ótima depende da localização coplanar do nitrogênio com o anel aromático.
- assumir a coplanaridade dos anéis aromático e oxazolinico por restrição de rotação devida à conjugação eletrônica - Riizi *et al.* (1990), mostraram que a barreira de energia rotacional é bastante baixa.

3.4.4.6. Modelo de Evans (1993)

O modelo de Evans *et al.* (1993) é o refinamento dos modelos anteriores de Hibert e Rizzi. Este modelo foi gerado por técnicas de modelagem molecular que descrevem o grupo farmacofórico tridimensional para o sítio de ligação dos receptores 5-HT₃ à partir da análise da similaridade estrutural de compostos ligantes de classes químicas diversas (ex.: indóis, indazóis, benzamidas, carbazóis e quinolinas). Foram usadas informações estruturais relevantes oriundas de estudos de relação entre a estrutura e a afinidade (SAFIR).

Características:

- modelo é descrito por um anel aromático ou heteroaromático, um grupo carbonila coplanar (ou equivalente químico) e um centro nitrogenado (nitrogênio terciário ou quaternário) (Figura 40).

Pontos fortes:

- grupo farmacofórico em 3D à partir de minucioso estudo conformacional de SAFIR de vários ligantes agonistas e antagonistas, pertencentes a diversas classes químicas.
- identificação de todas as estruturas de baixa energia para cada ligante, através de análise conformacional.
- identificação de duas formas ativas para cada ligante, implicando em 2 modos possíveis de ligação com o receptor.

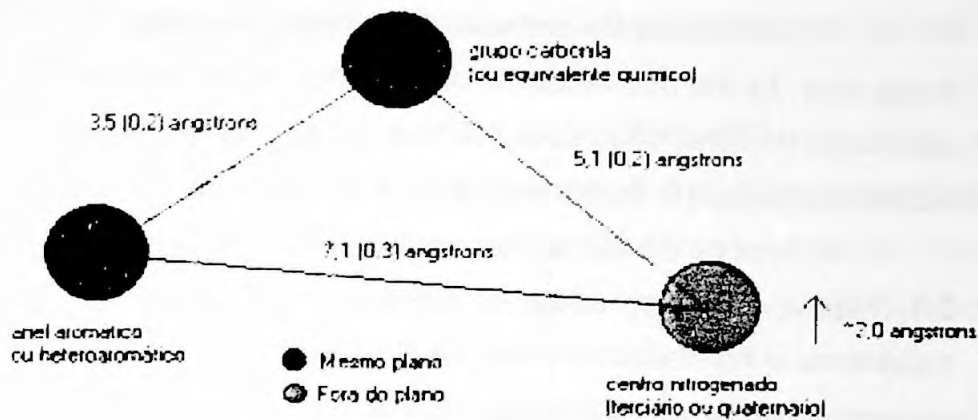


Figura 40- Modelo de grupo farmacofórico de Evans *et al.* para antagonistas de 5-HT₃.

3.4.4.7. Constructo de Glennon

Glennon *et al.* (1990), realizaram estudo rigoroso para identificar a distância entre o anel aromático e o grupo amínico terminal em antagonistas de receptores 5-HT₃, utilizando as conformações de mais baixa energia para vários ligantes de alta afinidade. Baseados em seus estudos de SAFIR, concluíram que esta distância ótima para ligação com o receptor é de 7,2 ± 0,3 Å.

É interessante notar que Glennon *et al.* não chegaram a propor novo modelo de grupo farmacofórico, mas refinaram o modelo bidimensional de Peroutka e Schimdt. A quipazina é a molécula prototípica deste constructo (Figura 41).

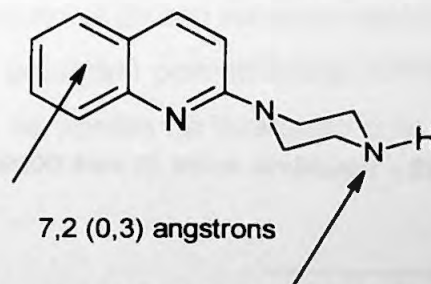


Figura 41 - Constructo de Glennon *et al.*.

3.5. Derivados nicotínicos agonistas de receptores nACh $\alpha_4\beta_2$ e α_7

A modulação do sistema dopaminérgico pela ACh é conhecida de longa data. Existe normalmente um balanço entre os níveis de DA e ACh. O acréscimo do nível de um dos NT causa diminuição do outro, e vice-versa. O modelo de gangorra ilustra bem este fenômeno (Figura 42).

A doença de Parkinson caracteriza-se pelo decréscimo do nível de DA (Figura 42 B) presente no sistema nervoso central. A estratégia de tratamento é normalizar o efeito da DA mediante administração de agonistas dopaminérgicos, ou minimizar os efeitos da ACh por administração de anticolinérgicos (antagonistas de ACh).

A mesma estratégia poderia ser empregada para se tratar a esquizofrenia, por administração de antagonistas de DA ou agonistas de ACh, que atuariam como agentes moduladores do sistema dopaminérgico (Figura 42 C)*.

Em ambos exemplos, procura-se restabelecer o equilíbrio entre os dois NT.

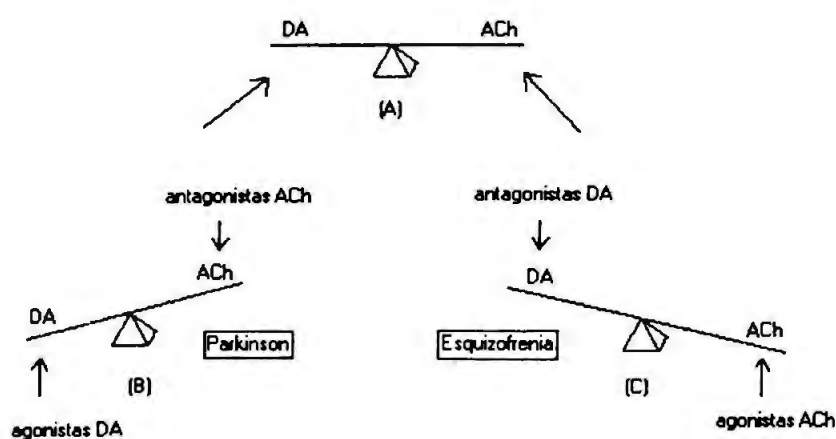


Figura 42 – Equilíbrio entre as vias dopaminérgicas e colinérgicas.

* É importante frisar que esta estreita inter-relação entre a DA e a ACh ocorre proeminentemente ao nível do estriato e relaciona-se, portanto, fundamentalmente com as funções de coordenação motora

3.5.1. Características dos receptores nicotínicos nACh $\alpha_4\beta_2$ e α_7

A exemplo dos receptores de serotonina 5-HT₃, os receptores nicotínicos também pertencem à família dos receptores ligados a canal iônico.

Dependendo de sua localização (ex: SNC ou SNP), mostram predominância de algumas subunidades específicas. Em mamíferos, das 11 subunidades presentes, predominam no SNC as α_4 , α_7 e β_2 . No sistema nervoso periférico (SNP), as subunidades α_3 , α_5 , α_7 , β_4 e β_x (Lukas *et al.*, 1999; Elgoyhen *et al.*, 2001).

Cada uma destas subunidades são formadas por 4 segmentos hidrofóbicos (TM₂ é α -helicoidal) que cruzam a membrana plasmática (figura 33). O conjunto de 5 subunidades, que se arranjam de modo circular, formam um receptor. Os prováveis sítios de ligação dos agonistas são destacados abaixo nas intersecções de subunidades específicas dos principais subtipos de receptores nicotínicos presentes no SNC e SNP (Figura 43) (Sharples *et al.*, 2001).

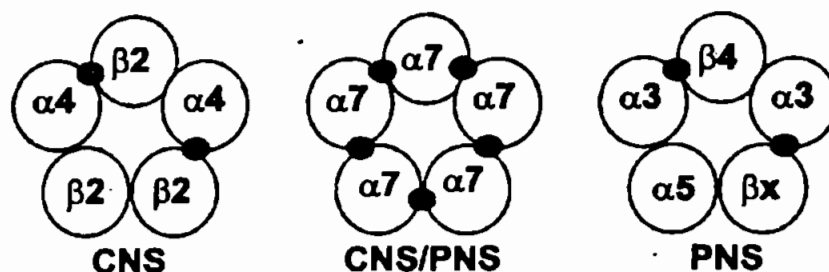


Figura 43 – Principais subtipos de receptores nACh presentes nos SNC e SNP (Adaptado de Sharples *et al.*, 2001).

O esquema estrutural de um receptor nicotínico (nACh) é mostrado a seguir, onde uma das unidades pentaméricas foi retirada para mostrar a luz do canal iônico. Todos os pontos de interação com o receptor são mostrados (Figura 44).

fina. No entanto este conceito de modulação mútua tem sido aplicado à introdução de novos agentes antipsicóticos, a exemplo do PTAC (Bymaster, 1999), agonista parcial M_2 e M_4 .

Os vários tipos de ligantes e formas de interação com o receptor são comentados a seguir.

3.5.1.1. Agonistas competitivos

Os agonistas nicotínicos (ex.: (-)nicotina) interagem com o receptor ao nível do sítio de ligação dos agonistas e induz a uma modificação alostérica na conformação do complexo pentamérico, abrindo o poro condutor de cátions Na^+ , K^+ e Ca^{+2} . Este efeito ocorre com alta velocidade e muda a conformação de “repouso” (canal fechado) para “ativo” (canal aberto) (Figura 45).

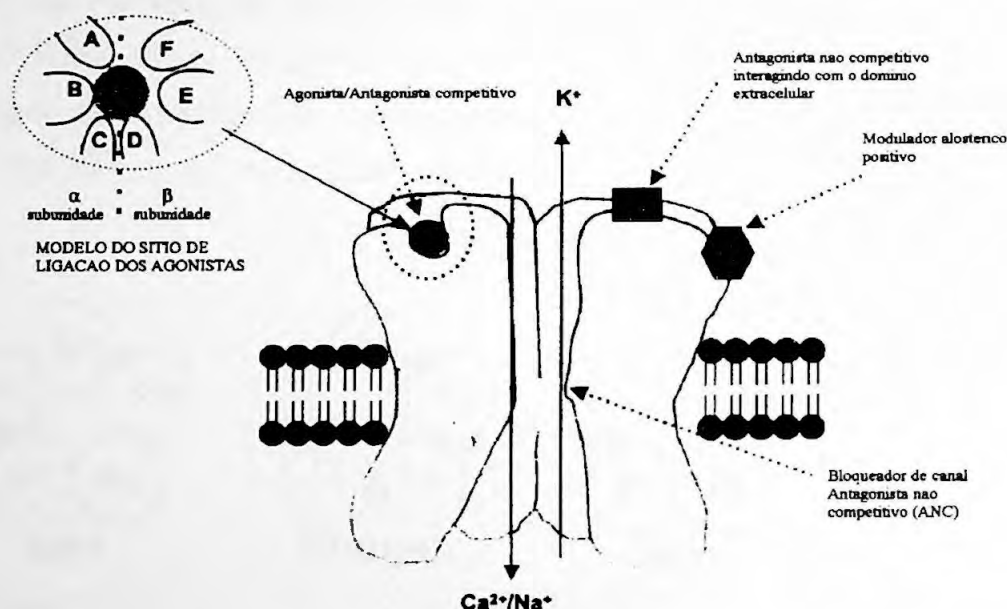


Figura 44 – Pontos de interação de agonistas e antagonistas com os receptores nicotínicos nACh (Adaptado de Sharples *et al.*, 2001).

Os agonistas ligam-se aos receptores nicotínicos com baixa afinidade quando estes se encontram em seu estado “ativado”. A contínua presença do agonista leva ao fechamento do canal por dessensibilização. Neste ponto o receptor fica refratário à ativação, embora mostre maior afinidade para com os agonistas. Os tempos de dessensibilização e

recuperação são muito variáveis dentro dos vários subtipos de receptores. Os receptores $\alpha 7$ mostram desensibilização muito rápida.

A exposição prolongada aos agonistas pode levar o receptor ao estado “inativo”, onde a recuperação é muito lenta. Os receptores $\alpha 4\beta 2$ são propensos a sofrerem inativação por tratamento crônico com nicotina (Kuryatov *et al.*, 2000).

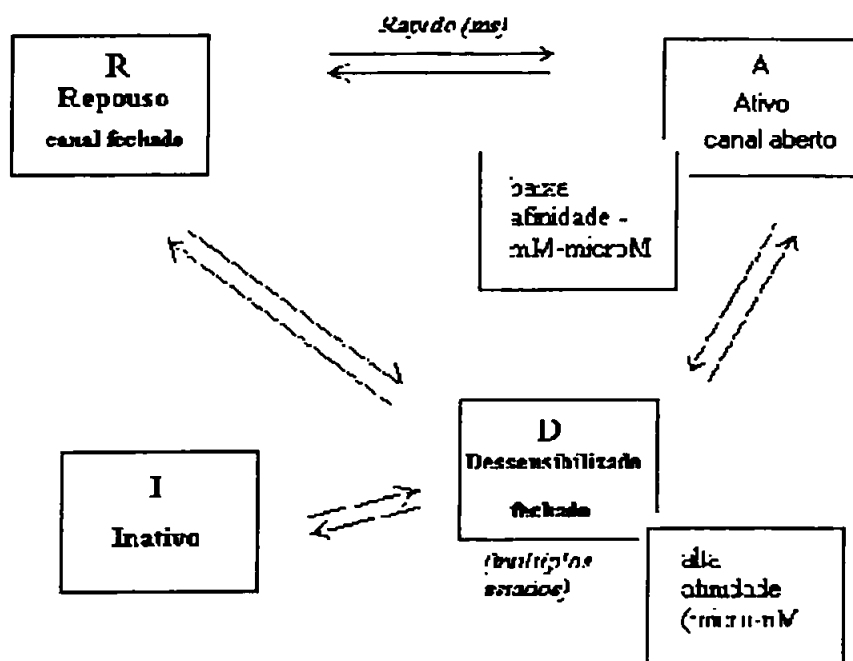


Figura 45 – Pontos de interação de agonistas e antagonista com os receptores nicotínicos nACh (Adaptado de Sharples *et al.*, 2000).

Os estados de repouso, ativado e desensibilizado são reversíveis e podem ser estabilizados por diferentes tipos de ligantes. Os agonistas estabilizam inicialmente os estados “ativados” (canal aberto), enquanto que os antagonistas competitivos os estados de “repouso” ou “desensibilizado” (canal fechado) (Sharples *et al.*, 2000).

A figura 46 mostra a estrutura de alguns agonistas de receptores nicotínicos (nACh). O mediador endógeno dos receptores nicotínicos é a acetilcolina (ACh).

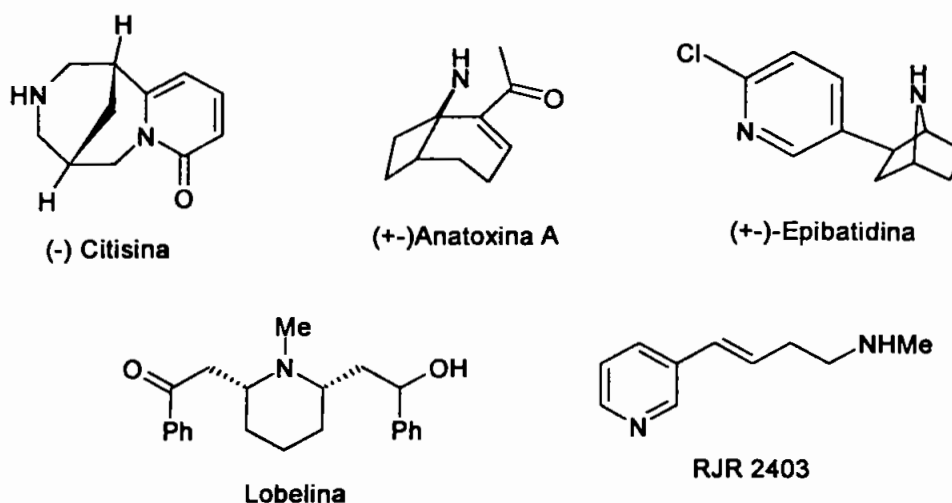


Figura 46 - Alguns agonistas de receptores nicotínicos nACh.

3.5.1.2. Antagonistas competitivos

Os antagonistas competitivos interagem reversivelmente com os receptores nicotínicos nos sítios de ligação dos agonistas ou bem próximo a eles, estabilizando os receptores em uma conformação de canal fechado e impedindo o acesso dos agonistas.

Da mesma forma que para os agonistas, a maioria dos antagonistas são de origem natural.

Os antagonistas mostram pouca seletividade aos subtipos de receptores.

Alguns exemplos de antagonistas competitivos são a metilcaconitina (MLA), a mecamelamina, a α -Bgt, o pancurônio, a α -conotoxina MII, a clorisdamina, entre outros (Figura 47).

3.5.1.3. Antagonistas não-competitivos (ANC)

Os ANC inibem a atividade dos receptores nicotínicos nACh por bloquearem o próprio canal iônico, em sítios de ligação dentro do poro ou próximo a sua entrada.

Uma vez que os ANC atuam em sítios distintos dos agonistas, é relativamente fácil a previsão das suas concentrações necessárias para o bloqueio total de contrações variáveis de agonistas.

Caso o ANC seja um bloqueador do canal, este deve antes ser ativado (aberto) para permitir o acesso do ligante. Estes são tipos de antagonistas dependentes de voltagem (Sharples *et al.*, 2001).

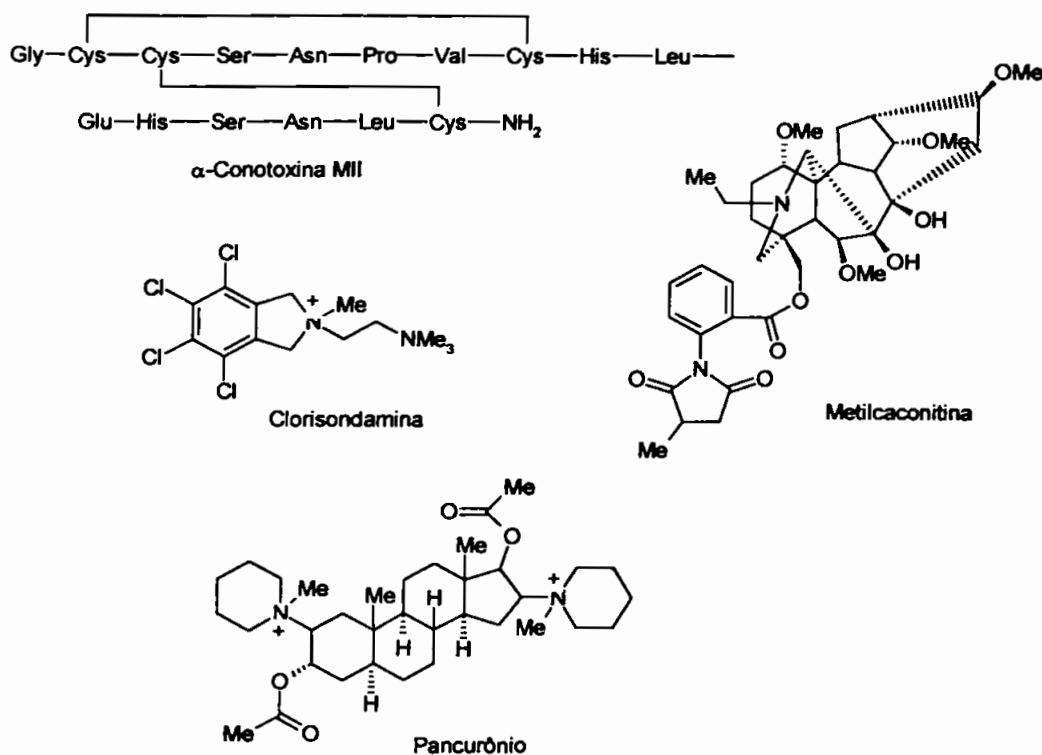


Figura 47 – Alguns antagonistas de receptores nicotínicos nACh.

3.5.1.4. Moduladores alostéricos positivos

Os moduladores alostéricos positivos são ligantes que se unem aos receptores nicotínicos em sítio diferente do sítio de ligação dos agonistas e antagonistas ou mesmo da área do canal iônico. Tais substâncias potencializam os efeitos dos agonistas competitivos.

A galatamina e a fisostigmina têm mostrado habilidade de potencializar concentrações submáximas de agonistas nicotínicos em receptores neuronais $\alpha_4\beta_2$ (Samachocki *et al.*, 2000). Além disso, tais compostos são inibidores da acetilcolinesterase, o que os classifica como fármacos de escolha no tratamento da doença de Alzheimer (Sharples *et al.*, 2001).

3.5.2. Requisitos estruturais dos agonistas de receptores nACh $\alpha_4\beta_2$ e α_7

O modelo farmacofórico descrito para os ligantes dos receptores nicotínicos (nACh), foi elaborado há mais de 30 anos por Beers *et al.* (1970) e posteriormente reexaminados por Sheridan *et al.* (1986).

O grupo farmacofórico estabelecido, identifica os aspectos estruturais comuns a vários agentes nicotínicos. Ele compõe-se de: A) um sítio "ônium" (ex.: o nitrogênio pirrolidínico da nicotina); B) um sítio *ceptor de ligações de hidrogênio* (ex.: átomo de nitrogênio pindínico na nicotina) e C) um centro imaginário no anel pindínico que forma um *dipolo* com B. Estes três pontos são arranjados de forma triangular e distanciados entre si (em Ângstrons), como se segue: A-B=4.8, B-C=1.2 e A-C=4.0 (Figura 48).

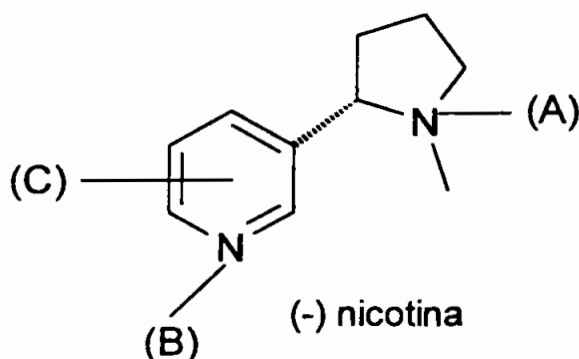


Figura 48 – Grupo farmacofórico dos ligantes nicotínicos (nACh) $\alpha_4\beta_2$ e α_7 .

PLANEJAMENTO SINTÉTICO

IV – PLANEJAMENTO SINTÉTICO DE NOVOS DERIVADOS PIRROLIDÍNICOS DE BENZAMIDAS E NICOTINA

4.1. Aspectos gerais da metodologia de planejamento de fármacos

Segundo Wermuth (1996) existem quatro estratégias de planejamento de fármacos. *A melhora de fármacos já existentes, a triagem sistemática, a exploração de informações biológicas e os métodos de planejamento racional.*

No primeiro caso busca-se fazer cópias melhoradas de fármacos já existentes, cujos mecanismos de ação, farmacocinética e toxicidade já são bem conhecidos. O método baseia-se na modificação molecular de substâncias bioativas buscando aprimorar o seu potencial terapêutico, ou simplesmente introduzir um novo fármaco concorrente no mercado, as famosas cópias “me-too”. Contudo, este é um método interessante visto se ter muitas informações prévias em mãos e poder otimizar os recursos técnicos e financeiros na busca de um novo fármaco.

Este projeto de estudo, de certa forma, pauta-se nesta estratégia, objetivando fazer estudo exploratório de novos derivados heterocíclicos de benzamidas e de derivados metilenopirrolidínicos de nicotina, ambos com potencial ação antipsicótica.

A *triagem sistemática* consiste no teste de ampla gama de substâncias, naturais ou sintéticas, em animais ou sistemas biológicos *in vitro*, sem que haja uma hipótese sobre seu potencial farmacológico ou terapêutico. Existem várias formas de se executar este tipo de busca, porém todas elas geram milhares de candidatos a fármacos, que muitas vezes não justificam o tempo e dinheiro investidos. Uma forma racional de se otimizar a triagem sistemática é fazê-la em certas bibliotecas de compostos que retêm atributos desejáveis previamente determinados pelo investigador. Com o advento da informática e robotização, ficou extremamente fácil sintetizar e

testar (triar) milhares de compostos em um único dia, o que potencialmente aceleraria em muito o processo de descobrimento de fármacos.

A *exploração de informação biológica* feitas em humanos, tais como a etnofarmacologia, os fármacos populares, as observações clínicas de efeitos secundários ou adversos, entre outras, são fontes importantes de planejamento de fármacos. Um bom exemplo, já mencionado neste texto, foi a descoberta da clorpromazina a partir da prometazina, em que a exploração do efeito sedativo da última, enquanto anti-histamínico, levou à descoberta de um antipsicótico. Observações de cunho fisiológico em animais, a farmacognosia vegetal e a microbiologia, também são recursos importantes de desenvolvimento de novos agentes.

A última estratégia, porém não menos importante, são os *métodos de planejamento racional*, que de fato se revestem de um caráter mais científico e menos empírico comparado aos demais. Neste caso a etiologia da doença ou distúrbio, ou pelo menos a base bioquímica afetada, é o ponto chave na descoberta de novos fármacos. Os progressos da farmacologia e biologia molecular em viabilizar a clonagem e expressão de receptores puros, as técnicas de *binding* usando ligantes radiativos seletivos e a utilização da tecnologia computacional, que permite a simulação das interações dos ligantes com os receptores por meio de técnicas diversas, são hoje ferramentas poderosíssimas que fazem parte do dia-a-dia do mundo do planejamento e descoberta de novos fármacos.

Apesar de toda a tecnologia disponível, ainda assim não se pode abrir mão do bom senso e espírito crítico dos cientistas que laboram nesta área do conhecimento. O bom juízo dos prós e contras de cada método é o fator decisivo para o sucesso das descobertas.

Uma vez que este projeto de estudo fundamenta-se em hipóteses bioquímicas já bem estabelecidas para o distúrbio da esquizofrenia, que faz uso de modelos de interação com os receptores D₂ e 5-HT₃ envolvidos, gerados por métodos de planejamento indireto assistidos por computador, e ainda que se utiliza das técnicas de afinidade com os receptores puros clonados (*binding*), claro está que se trata de um planejamento racional. Há

porém que se considerar a natureza exploratória do estudo, utilizando-se dos argumentos do método de modificação molecular.

4.2. Planejamento sintético dos novos protótipos de agentes antipsicóticos

4.2.1. Benzamidas metilenopirrolidínicas N-, 2- e 3-substituídas como agentes AP

Como visto em secções anteriores deste trabalho, a tendência atual é a de se concentrar esforços na busca de novos agentes AP que sejam seletivos aos receptores D₂ (Kapur *et al.*, 2001b). Isto porque existe a hipótese em vigor de que o bloqueio destes receptores é condição necessária e suficiente para a atividade antipsicótica. É de suma importância a discriminação entre as atividades antidopaminérgicas e anti-serotoninérgicas dos agentes AP no tratamento dos sintomas positivos da esquizofrenia. Tal estudo visa validar as duas principais correntes de pensamento, ou seja, as hipóteses de Seeman e de Meltzer (Kapur *et al.*, 2001b; Meltzer *et al.*, 1991).

Este projeto de pesquisa dá contribuição importantíssima para a elucidação desta problemática, visto tratar-se do planejamento e síntese de novas benzamidas derivadas da classe da sulpirida, remoxiprida e amisulpirida, ligantes seletivos dos receptores D₂.

Outro fator importante foi levantado por Evans *et al.* (1993), e consiste na necessidade de se encontrar novos ligantes, mais seletivos aos receptores 5-HT₃, que desvendem os requisitos estruturais mínimos, de natureza estérica, eletrônica e lipofílica, necessários à ligação com o receptor.

As benzamidas são, portanto, excelente modelo de investigação dos fatores que governam a seletividade entre os receptores D₂ e 5-HT₃.

A busca por novos protótipos análogos de benzamidas, além de revelar as características de ligação com os receptores, pode resultar em novos agentes AP, tanto pelo antagonismo D₂, quanto 5-HT₃.

Tendo isto em mente, e percebendo a falta de derivados pirrolidino-substituídos, planejaram-se as três séries de compostos (Figura 49) como exemplos de entrada (ou intermediários iniciais) na busca de novas benzamidas ligantes dos receptores D₂ e 5-HT₃.

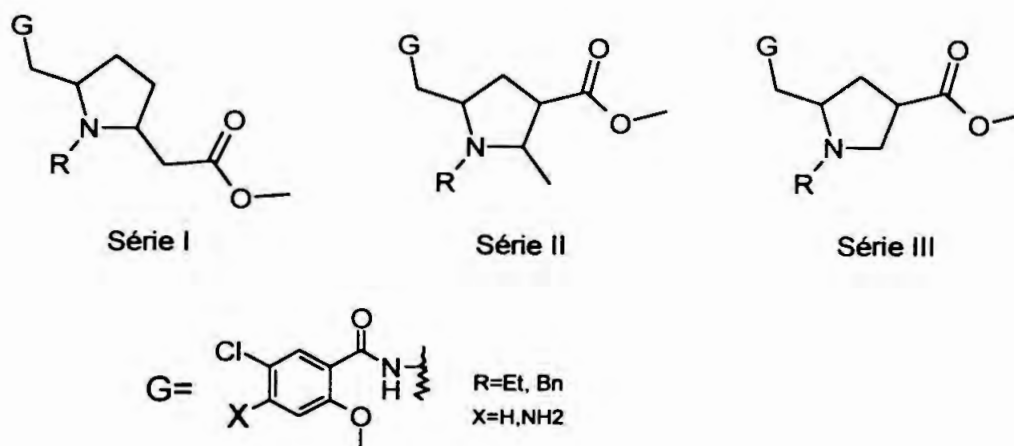


Figura 49 - Novos prováveis ligantes dos receptores D₂ e 5-HT₃.

É importante notar que existem vários estudos de REA e SAFIR (relações entre a estrutura e a afinidade) na região aromática das benzamidas (Hogberg, 1993), porém poucos e incompletos que exploram a região do anel pirrolidínico (Harada *et al.*, 1995a).

A idéia inicial de se explorar novas benzamidas *N*-, 2- e 3-substituídas nos anéis pirrolidínicos baseou-se nos modelos de receptor D₂ estabelecidos por Olson *et al.* (1981) e Rognan *et al.* (1990) que previam certa tolerância a este tipo de modificação. Porém, até então, nenhum trabalho sistemático sustentava tal hipótese.

Em recente busca bibliográfica, encontrou-se o trabalho de Iwanami *et al.* (1981) em que várias benzamidas metilenopirrolidínicas *N*- e 2-substituídas foram submetidas a ensaios biológicos de inibição de estereotipia, entre outros, cujos efeitos são os esperados para antagonistas de DA nos receptores D₂. A tabela VII a seguir resume os dados de REA dos compostos testados e comparados com a sulpirida e a sultoprida.

Outra série de compostos também foi avaliada pelos autores a partir da estrutura genérica (1), sendo que o composto YM-09151-2 foi o que apresentou maior atividade biológica (ED_{50} 0,0076 mg/kg) e alta afinidade com o receptor D_2 ($K_i=0,07$ nM) (Figura 50).

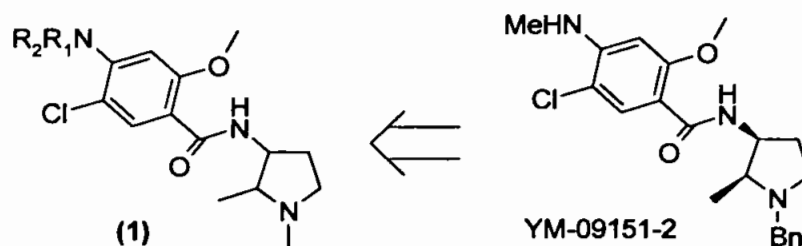
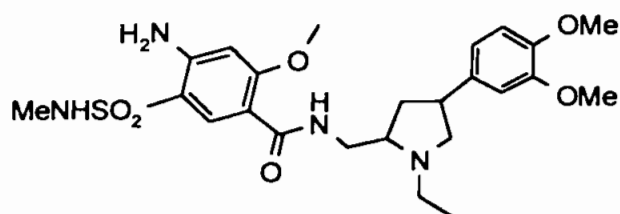


Figura 50 – Atividade antagonista D_2 em benzamidas pirrolidínicas 2,3-dissubstituídas.

Tais achados sustentam a hipótese original de que é possível se explorar as posições 2 e 3 do anel pirrolidínico, além da substituição no átomo de nitrogênio. No estudo apresentado pelos autores, o grupo benzila foi aquele que melhores resultados apresentou em termos de atividade biológica.

O composto DO-766 mostra a substituição do anel pirrolidínico na posição 3 por um grupo volumoso e ainda assim sua afinidade com o receptor D_2 é boa (Figura 51), o que corrobora a idéia geral do estudo exploratório pretendido por este projeto.

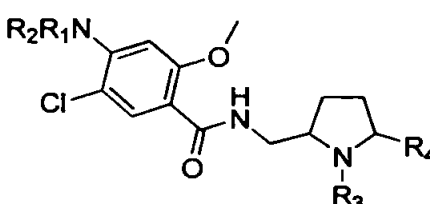
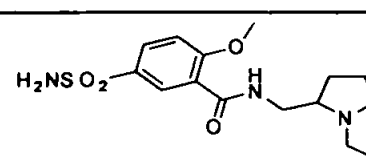
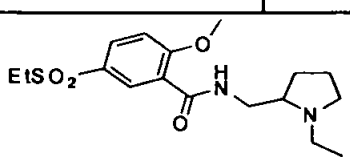


DO-766

$K_i = 8.0$ nM (cis) (D_2)
 $K_i = 3.6$ nM (trans) (D_2)

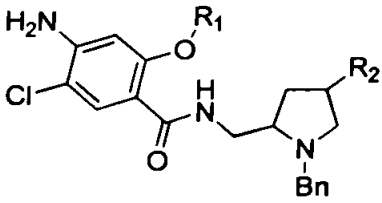
Figura 51 – Atividade antagonista D_2 em benzamidas metileno-pirrolidínicas 2,4-dissubstituídas.

Tabela VII – REA em benzamidas metilenopirrolidinas *N*- e 2-substituídas

	#	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	ED ₅₀ (mg/kg sc)
	1	H	H	Bn	H	1,1
	2	H	H	Bn	Me	0,67
	3	Me	H	Bn	H	0,94
	4	Me	H	Bn	Me	0,35
	5	H	H	Et	H	>30
	6	Me	H	Et	Ph	>30
	7	Me	H	-	-	1
	8	Me	Me	Ph	H	>30
Sulpirida						>100
Sultoprida						18
						
Sulpirida						
						
Sultoprida						

Alguns poucos exemplos são encontrados para benzamidas antagonistas de receptores 5-HT₃ (Harada *et al.*, 1995a). Porém, não se tem dados de afinidade (K_i) e os dados de atividade biológica foram obtidos para ensaios de inibição do reflexo Bezold-Jarisch (bradicardia induzida por 2-metil-5-HT) (Tabelas VIII e IX).

Tabela VIII – Atividade antagonista 5-HT₃ em benzamidas metilenopirrolidínicas 2,4-dissubstituídas

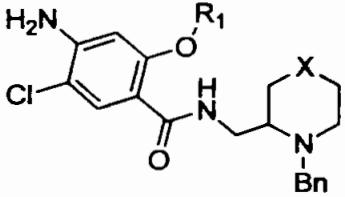
	#	R ₁	R ₂	Inibição do reflexo Bezold-Jarisch (bradicardia induzida por 2-metil-5-HT) - (%)
	1	Et	H	0
	2	Et	Me	0
	3	Me	Me	0
	4	Et	Et	0

Como pode ser observado na figura 49, foram propostas poucas variações sobre o sistema aromático, escolhendo-se trabalhar com os dois padrões de substituição que melhor resultado mostraram em estudos prévios de REA e SAFIR (Harada *et al.*, 1995a; Hogberg, 1993).

Por fim, enfatiza-se a adequação dos protótipos planejados ao modelo de grupo farmacofórico descrito por Evans *et al.* (1993) que é o modelo descritivo mais completo dos antagonistas de receptores 5-HT₃.

Os compostos selecionados nas séries I, II e III têm a finalidade de serem empregados em futuro estudo completo de SAFIR. Não se espera que todos os intermediários mostrem afinidade com os receptores, ainda que a base racional para tal estudo esteja fundamentada nos modelos de grupo farmacofórico já mostrados. Trata-se de estudo exploratório, no qual se busca tirar vantagem da metodologia de síntese empregada e colher informações preliminares fundamentais das propriedades de ligações envolvidas entre os novos compostos pirrolidino-substituídos e os receptores D₂ e 5-HT₃.

Tabela IX – Atividade antagonista 5-HT₃ em benzamidas não pirrolidínicas

	#	R ₁	X	Inibição do reflexo Bezold-Jarisch (bradicardia induzida por 2-metil-5-HT) - (%)
	1	Et	O	0
2	Et	S	2	
3	Me	S	0	
4	Me	SO	0	
5	Et	CH ₂	0	
6	Et	NCH ₃	48	

4.2.1.1. Análise retrossintética da obtenção das benzamidas

Os compostos selecionados para o estudo da SAFIR foram submetidos a metodologia de síntese de pirróis e diidropirróis substituídos desenvolvida por De Oliveira *et al.* (1995; Ferraz *et al.*, 1995) onde os intermediários heterocíclicos foram obtidos por iodociclicização dos β-enaminoésteres apropriados. As análises retrossintéticas A e B resumem este planejamento de síntese (Figuras 52 e 53).

4.2.2. Derivados nicotínicos piridinometilenopirrolidínicos N- e 2-substituídos como agonistas de receptores nicotínicos (nACh) α₄β₂ e α₇

Procurou-se estudar uma série de análogos estendidos de derivados da nicotina com o objetivo de se avaliar o potencial de ligação e seletividade aos receptores nicotínicos dos tipos (nACh) α₄β₂ e α₇. Para tanto, foi proposta a série IV de compostos a seguir (Figura 54).

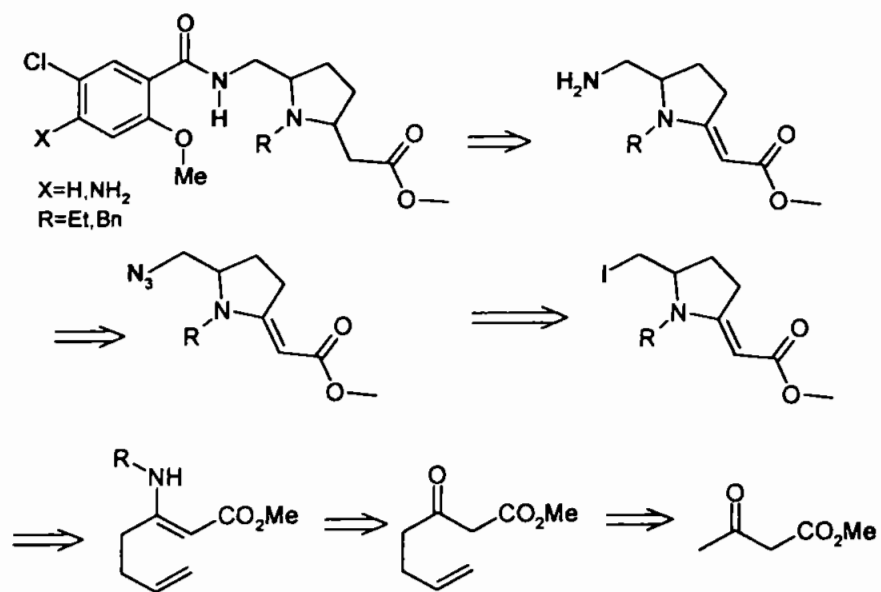


Figura 52 – Análise retróssintética A: Série I.

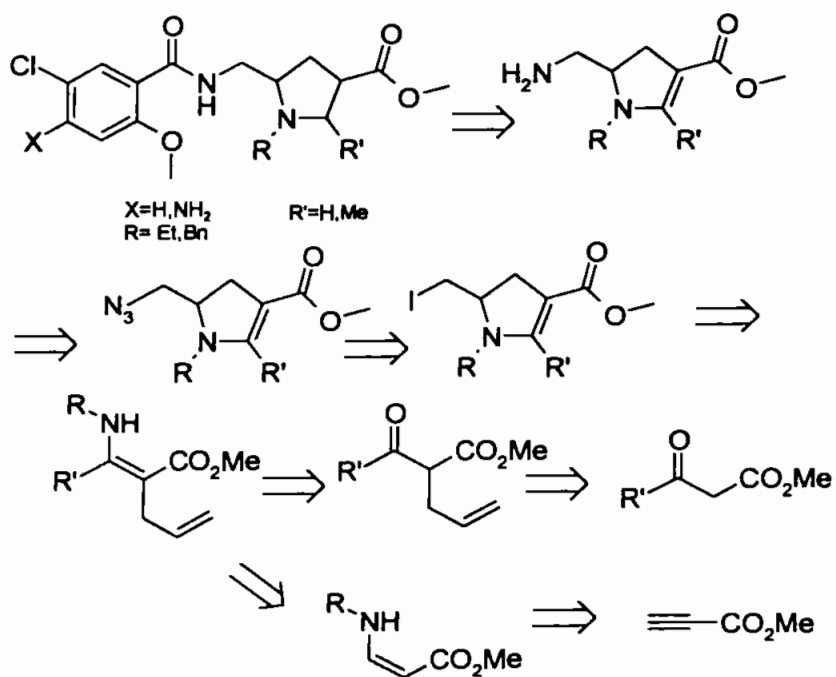


Figura 53– Análise retróssintética B: Séries II e III.

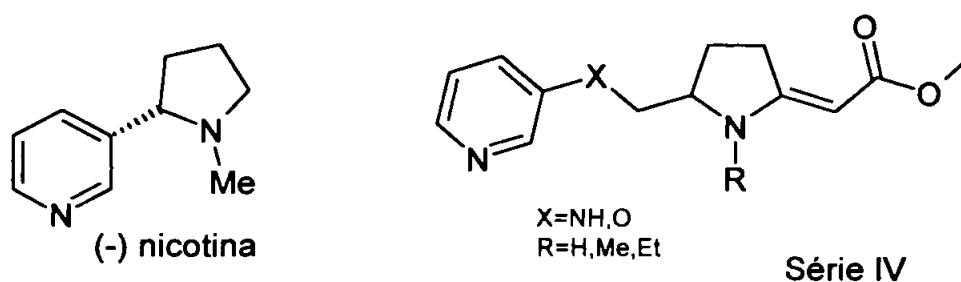


Figura 54 - Série de derivados nicotínicos metilenopirrolidínicos *N*-substituídos.

Glennon *et al.* (2000) destacam a importância dos análogos estendidos de agonistas de acetilcolina (ACh) ao nível dos receptores $\alpha_4\beta_2$ e α_7 . Um exemplo é o caso do DMAC, análogo estendido da anabaseína, cuja seletividade é dez vezes maior aos receptores α_7 e reversa àquela da anabaseína (Figura 55).

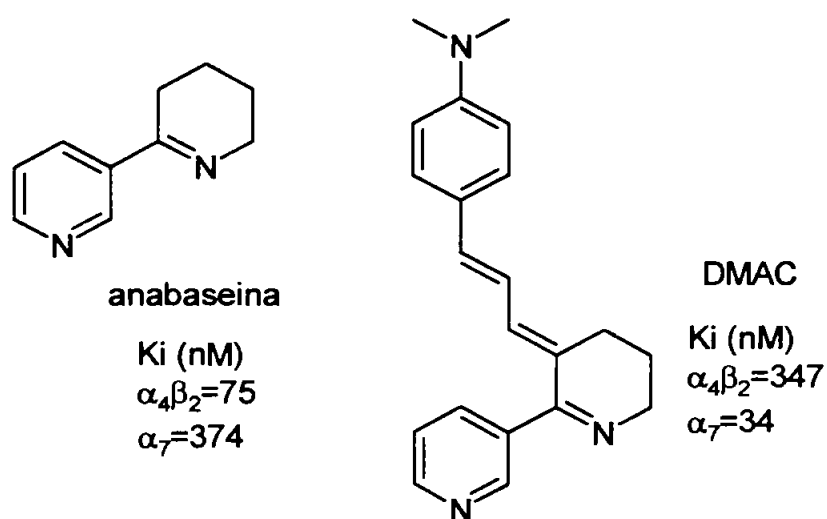


Figura 55 - Análogos estendidos da anabaseína, reversão de seletividade.

É importante frisar que os protótipos pretendidos por este projeto de estudo visam iniciar um estudo exploratório das afinidades e possíveis seletividades entre os receptores nicotínicos já citados. Espera-se que estes apresentem afinidade com os receptores, uma vez que respeitam os requisitos estruturais dos ligantes como visto pelos modelos de grupo farmacofórico.

4.2.2.1. Análise retrossintética da obtenção dos derivados da série nicotínica (Série IV)

O planejamento de síntese utilizado para a obtenção dos derivados metilenopirrolidínicos da série nicotínica foi o mesmo utilizado para a obtenção do intermediário iodocíclico das séries I,II e III já mencionadas (Figura 56).

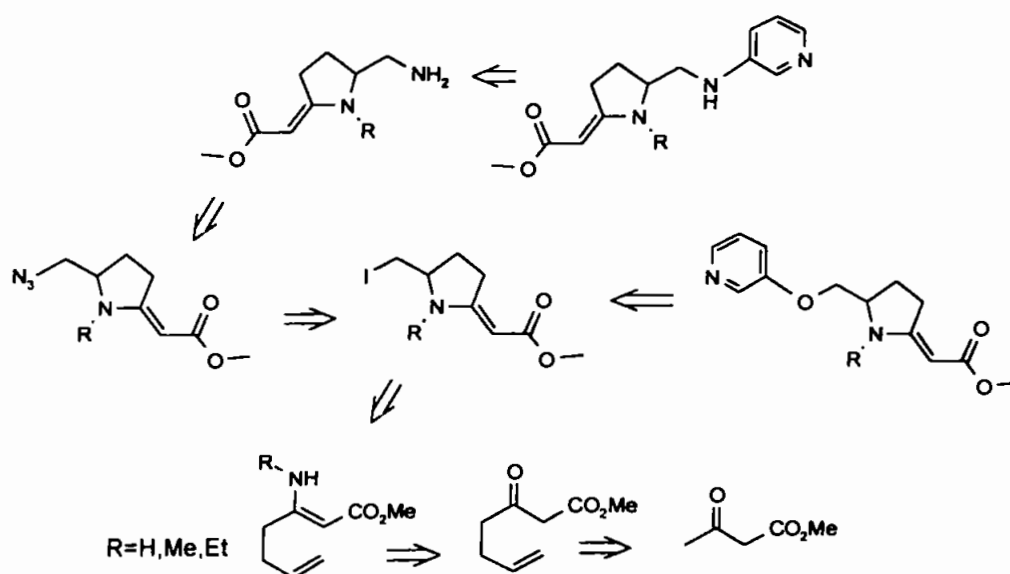


Figura 56 - Análise retrossintética C: série piridínica.

MATERIAIS E MÉTODOS

V – MATERIAIS E MÉTODOS

5.1. MATERIAIS

5.1.1. Reagentes e solventes (parte sintética e analítica)

- 3,3-Dimetoxi-propionato de metila (ALDRICH)
- 3-Hidroxipiridina (ALDRICH)
- Acetato de metila (ALDRICH)
- Acetato de sódio (ALDRICH)
- Acetoacetato de metila (ALDRICH)
- Ácido 4-pentenóico (ALDRICH)
- Ácido acético glacial (ALDRICH)
- Ácido clorídrico concentrado (VWR)
- Ácido fumárico (ALDRICH)
- Ácido *m*-cloro-*o*-metóxi benzóico (ALDRICH)
- Ácido oxálico (ALDRICH)
- Ácido *p*-amino-*m*-cloro-*o*-metóxi benzóico (ALDRICH)
- Ácido sulfúrico concentrado
- Alumina neutra (ALDRICH)
- Amônia (ALDRICH)
- Azida de sódio (ALDRICH)
- Benzeno (ALDRICH)
- Benzilamina (ALDRICH)
- Benzofenona
- Bicarbonato de sódio (ALDRICH)
- Brometo de alila (ALDRICH)
- Brometo de etilmagnésio 3M (ALDRICH)
- Brometo de trietilamônio (ALDRICH)
- Catalisador Lindar[®] (FLUKA)
- Cloreto de sódio (ALDRICH)
- Cloreto de tionila (ALDRICH)
- Cloreto férrico
- Cloridrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (EDCI) (ALDRICH)
- Clorocromato de piridínio (ALDRICH)
- Clorofórmio deuterado (ALDRICH)
- Diclorometano (VWR)
- Diisopropilamideto de lítio 2M (LDA) (ALDRICH)
- Etanol absoluto (ALDRICH)
- Éter etílico anidro (ALDRICH)
- Etilamina 70% (ALDRICH)
- Formato de metila (ALDRICH)
- Hexametilfosforamida (HMPA) (ALDRICH)

- Hidreto de sódio 95% (ALDRICH)
- Iodo (ALDRICH)
- Metanol absoluto (ALDRICH)
- *N,N*-Dimetilformamida (ALDRICH)
- *n*-Butilítio 2,5 M (ALDRICH)
- Priopiolato de metila (ALDRICH)
- Sílica-gel 60 (FLASH) (ALDRICH)
- Sílica-gel 62 (ALDRICH)
- Sódio metálico (ALDRICH)
- Sulfato de cálcio (ALDRICH)
- Sulfato de magnésio anidro (ALDRICH)
- Tetraidrofurano (FISCHER)
- Tolueno (ALDRICH)
- Triacetoxiboroidreto de sódio (ALDRICH)
- Trietilamina (ALDRICH)
- β -Propiolactona (ALDRICH)

Os solventes comerciais, quando não certificados, foram secados e purificados de acordo com os padrões estabelecidos na literatura (Pernin *et al.*, 1980).

5.1.2. Equipamentos (parte sintética e analítica)

- Aparelho de ponto de fusão Thomas Hoover, modelo capilar
- Balança Mettler Toledo Modelo AE 163
- Bomba de alto vácuo rotatória Fisher 2
- Cromatógrafo líquido de alta eficiência HP 1100
- Espectrômetro de Infravermelho Varian
- Espectrômetro de RMN Bruker ADPX-300 equipado para análises de ^1H e ^{13}C
- Espectrômetro de RMN Varian Gemini 300 equipado para análises de ^1H e ^{13}C
- Estufa de secagem Fanem modelo 515C
- Forno Kugelrohr Büchi modelo GKR-51
- Lâmpa de UV SPECTROLINE modelo NF-260C para revelação de placas de cromatogramas
- Rotaevaporador Büchi modelo R-114

5.1.3. Equipamentos (modelagem molecular)

- Workstation SGI O2 com visualização 3D
- Impressora a laser colorida modelo HP Laserjet 5M

5.1.4. Software (modelagem molecular)

- Software Sybyl versão 6.7 da Tripos Inc.

5.2. MÉTODOS

5.2.1. Síntese dos protótipos e intermediários

5.2.1.1. Procedimento geral para a síntese dos compostos (EDO-146), (EDO-125), (EDO-145) e (EDO-126) via redução química com NaHB(OAc)_3 (Cimarelli *et al.*, 1996)

Mistura da benzamida insaturada correspondente (ex. EDO-140) (1 mmol), NaBH(AcO)_3 (1,5 mmol) e AcOH glacial (1 mL), dissolvida em acetonitrila (2,5 mL), foi agitada à temperatura ambiente até consumo final. Após confirmação por CCD ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} - 19:1$) do consumo total de reagente, o produto foi dissolvido em CH_2Cl_2 , lavado sucessivamente com $\text{Na}_2\text{CO}_3(\text{sat})$ (3 X 5 mL), $\text{NaCl}(\text{sat})$ (2 X 5 mL) e secado sobre $\text{MgSO}_4(\text{anidro})$. Após evaporação do solvente, o resíduo foi eluído em uma coluna de sílica-gel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} - 19:1$), resultando em mistura diastereomérica (2 manchas no CCD) de difícil separação. Os rendimentos obtidos foram 90,3% (EDO-146), 70% (EDO-125), 92% (EDO-145) e 68,4% (EDO-126).

5.2.1.2. Procedimento geral para a síntese das benzamidas (EDO-140), (EDO-122), (EDO-139), (EDO-123), (EDO-148) e (EDO-149) (Harada *et al.*, 1995a)

Mistura do ácido benzóico apropriado (5-cloro-2-metoxi-benzóico para [(EDO-139), (EDO-123) e (EDO-149)] ou 4-amino-5-cloro-2-metóxi-benzóico para [(EDO-140), (EDO-122), (EDO-148)] (10 mmol), do amino composto [(EDO-138), (EDO-120) ou (EDO-147)] (10 mmol) e da carbodiimida hidrossolúvel (cloridrato de 1-[3-(dimetilamino)propil]-3-etilcarbodiimida-EDCI) (12 mmol) em solução de CH_2Cl_2 (80 mL) foi agitada à temperatura ambiente até completo desaparecimento do material de partida, acompanhado por CCD ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} - 19:1$).

A mistura reacional foi lavada sucessivamente com água, solução aquosa de de NaOH a 10%, água, e solução saturada de NaCl.

Após secagem em MgSO_4 , o solvente foi evaporado e o produto bruto foi purificado em uma coluna de sílica-gel, usando-se mistura eluente de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (19:1). Após evaporação do solvente, obtiveram-se

produtos sólidos cristalinos de cor amarelo claro. Os rendimentos obtidos foram os seguintes: 75,2% (EDO-140), 75% (EDO-122), 73,5% (EDO-139), 76% (EDO-123), 74% (EDO-148) e 75,1% (EDO-149).

5.2.1.3. Procedimento geral para a síntese dos aminocompostos (EDO-138), (EDO-120) e (EDO-147) (Corey *et al.*, 1975)

As soluções das azidas [(EDO-137), (EDO-119) ou (EDO-144)] (1,63 mmol) em etanol absoluto (20 mL) foram agitadas com catalisador Lindlar[®] (5% Pd/CaCO₃) (0,101 g) por, no mínimo, 8,5 h, sob pressão de hidrogênio em um hidrogenador do tipo Parr. O final da reação foi comprovado por CCD (eluente, hexano/acetato de etila (4:1)) verificando-se o desaparecimento total do material de partida, restando apenas mancha na linha base. Uma segunda eluição com CH₂Cl₂/MeOH (19:1) revelou apenas mancha relativa ao produto.

Após filtração e evaporação do solvente em um rotaevaporador obtiveram-se os produtos desejados na forma de óleos viscosos de cor amarelo claro, que foram eluídos em coluna de sílica-gel CH₂Cl₂/MeOH (19:1). Os rendimentos obtidos foram os seguintes: 88% (EDO-138), 91% (EDO-120) e 70% (EDO-147).

5.2.1.4. Procedimento geral para a síntese dos azido-compostos (EDO-137), (EDO-119) e (EDO-144) (Koziara *et al.*, 1979)

Mistura do iodo-β-enaminoéster [(EDO-131), (EDO-117) ou (EDO-143)] (6 mmol), NaN₃ (24 mmol) e 0,186 g de brometo de tetraetilamônio foi dissolvida em DMF (120 mL) e agitada sob refluxo em um balão até completo desaparecimento do material de partida, visto por CDD (eluente, hexano/acetato de etila (4:1)).

O produto foi então vertido em água destilada (100 mL) e extraído com benzeno (3 X 50 mL). A fase orgânica foi secada com MgSO₄. Após filtração e evaporação do solvente o produto foi submetido à cromatografia em sílica-gel (hexano/acetato) (4:1).

Os rendimentos finais, após purificação, foram os seguintes: 52% (EDO-137), 64% (EDO-119) e 61% (EDO-144).

5.2.1.5. Procedimento geral para a síntese dos iodo-compostos (EDO-131), (EDO-117) e (EDO-143) (DeOliveira, 1995; Ferraz *et al.*, 1995)

Mistura do β -enaminoéster [(EDO-128), (EDO-116) ou (EDO-141)] (40 mmol), iodo (44 mmol) e NaHCO_3 (44 mol) foi agitada em meio de CH_2Cl_2 (200 mL) à temperatura ambiente até consumo total do material de partida, confirmado por (hexano:acetato de etila - 4:1). O produto foi, então, lavado sucessivamente com solução saturada de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (2 X 50 mL) e solução saturada de NaCl (2 X 50 mL). A fase orgânica foi secada sobre MgSO_4 , filtrada e o solvente evaporado em rotaevaporador. O óleo bruto resultante foi purificado por recristalização de etanol gelado. O licor-mãe foi purificado por cromatografia em coluna de sílica gel (hexano/acetato de etila 4:1).

Os rendimentos, após purificação, foram de 49,2% (EDO-131), 53% (EDO-117) e 52,5% (EDO-143).

Os produtos foram analisados e caracterizados por ponto de fusão e RMN ^1H e ^{13}C .

5.2.1.6. Procedimento geral para a síntese dos β -enaminoésteres (EDO-128), (EDO-116) ou (EDO-141)

Para aminas voláteis (EtNH_2) (Baraldi *et al.*, 1983):

Uma suspensão do β -cetoéster [(EDO-121) ou (EDO-115)] (30 mmol), contendo 1,5 mL de ácido acético e acetato de etilamônio (60 mmol) (gerado *in situ* de quantidades equimolares de etilamina 70% (60 mmol) e ácido acético glacial (60 mmol)) em benzeno seco (75 mL), foi refluxada em um aparelho de Dean-Stark durante até completa remoção da água.

Após resfriamento, a mistura foi lavada com solução saturada de NaHCO_3 (2 X 50 mL) e secada com MgSO_4 . O produto foi filtrado e o solvente evaporado à baixa pressão em um rotaevaporador. O produto bruto foi destilado em um aparelho Kugelrohr.

Para aminas não-voláteis ($BnNH_2$) (Braibante et al., 1990):

Uma mistura do β -cetoéster [(EDO-121) ou (EDO-115)] (30 mmol), benzilamina (75 mmol) e alumina neutra (12 g) foi agitada até confirmação do consumo total do substrato acompanhado por CCD (hexano:acetato de etila – 4:1). A suspensão foi então dissolvida em éter etílico e filtrada à vácuo em um kitassato. O solvente foi removido em um rotevaporador e o produto bruto destilado em aparelho Kugelrohr.

Os rendimentos finais, após destilação, foram de 72,4% (EDO-128), 98% (EDO-116) e 85% (EDO-141).

Os produtos foram analisados e caracterizados por RMN 1H e ^{13}C .

5.2.1.7. Síntese de 3-oxo-hept-6-enoato de metila (EDO-121) (Huckin et al., 1974)

Um volume de 250 mL de THF seco e destilado de sódio em benzofenona foi colocado em um balão de fundo redondo de 2 bocas, munido de um condensador de refluxo e sob atmosfera de nitrogênio.

Foi adicionado de uma só vez 2,8 g (110 mmol) de NaH (95%) e a temperatura mantida a 0 °C por meio de um banho de gelo. Acetoacetato de metila (11,6 g; 100 mmol) foi então adicionado gota-a-gota e a solução incolor foi agitada por 10 minutos. A esta solução foram adicionados gota-a-gota 42 mL de nBuLi 2,5M (105 mmol) e a solução alaranjada resultante foi agitada por mais 10 minutos a 0 °C. Em seguida, foi adicionada solução de brometo de alila (13,31 g; 110 mmol) em cerca de 20 mL de THF e a coloração laranja mudou imediatamente para amarelo-claro.

A temperatura da mistura foi, então, lentamente elevada à temperatura ambiente e a mistura deixada sob agitação por mais 15 minutos.

Após este tempo a reação foi finalizada pela adição de solução de HCl (20 mL) conc. em 50 mL de água e 150 mL de éter etílico. A fase aquosa foi extraída com éter (2 X 100 mL). Os extratos orgânicos foram combinados, lavados com água até pH neutro, lavados com solução concentrada de NaCl, secados sobre $MgSO_4$ e filtrados.

Os solventes foram então removidos em rotaevaporador e o óleo resultante destilado à baixa pressão em *short-path*.

Após purificação por destilação, obteve-se o β -cetoéster EDO-121 em 74% de rendimento.

O produto foi analisado e caracterizado por RMN ^1H e ^{13}C .

5.2.1.8. Síntese de 2-acetil-pent-4-enoato de metila (EDO-115) (Sum *et al.*, 1978)

Em balão de 500 mL foi suspenso NaH 95% (2,5 g; 100 mmol) em THF seco e destilado de sódio em benzofenona (250 mL). Em seguida adicionou-se gota-a-gota, sob agitação magnética, acetoacetato de metila (11,6 g; 100 mmol). A mistura foi mantida resfriada com banho de gelo. Após evolução total do gás hidrogênio foi adicionado brometo de alila (14,5 g; 120 mmol) gota-a-gota durante 20 minutos. A mistura foi deixada sob agitação à temperatura ambiente durante uma noite.

O produto foi, então, extraído com éter etílico (250 mL) e lavado com água destilada (100 mL). Após separação, a fase aquosa foi lavada com éter (2 X 50 mL) e os extratos orgânicos combinados foram secados sobre MgSO_4 e filtrados. O solvente foi removido em rotaevaporador resultando em 13,9 g do produto bruto.

A análise de CCD (hexano:acetato de etila – 4:1) revelou a mistura de dois produtos principais resultantes de mono e dialquilação, em proporções não determinadas.

A mistura foi separada por cromatografia em coluna de sílica-gel (2X) usando-se gradiente de polaridade (hexano:acetato de etila – 100:0 \rightarrow 90:10, em intervalos de 0,5 pontos). O rendimento final foi de 4 g (26%).

O produto foi analisado e caracterizado por RMN ^1H .

5.2.1.9. Síntese de 2-(benzilamino-metileno)-pent-4-enoato de metila (EDO-136) (Leonard *et al.*, 1946)

NaH 95% (1,5 g; 60 mmol) foi suspenso em THF (130 mL) seco e destilado de sódio em benzofenona. A mistura foi mantida sob agitação

magnética à temperatura ambiente. Adicionou-se, então, (EDO-134) dissolvido em THF. Brometo de alila (9,1 g; 75 mmol) foi então adicionado gota-a-gota com auxílio de uma seringa. A mistura foi refluxada durante uma noite e o produto extraído com éter etílico. O produto foi decantado e filtrado em coluna de alumina neutra para remoção de sal (NaBr) suspenso finamente dividido. A solução etérea foi sucessivamente lavada com soluções saturadas de cloreto e amônio e cloreto de sódio e secada sobre MgSO_4 anidro.

A remoção do solvente em rotaevaporador resultou num produto oleoso de cor amarelo claro e odor característico. A análise de CCD (hexano:acetato de etila – 4:1) revelou mancha principal longa e contínua, dificultando a análise do produto. Após a adição de algumas gotas de ácido acético glacial na mistura eluente, pôde-se constatar a presença de mancha discreta relativa ao produto principal.

A mistura foi, então, purificada por cromatografia em coluna de alumina neutra, eluindo-se inicialmente com hexano puro e mudando o sistema eluente para (hexano:acetato de etila – 8:1).

O rendimento final foi de 3,5 g (30%). O produto foi analisado e caracterizado por RMN ^1H .

5.2.1.10. Síntese de 2-etilaminometileno-pent-4-enoato de metila (EDO-040) (Baraldi *et al.*, 1983)

A síntese de 2-etilaminometileno-pent-4-enoato de metila (EDO-040) baseou-se no procedimento de Baraldi *et al.* (1983).

Mistura do enol (EDO-026) (0,32 g; 2,3 mmol), ácido acético glacial (0,4 g; 6,3 mmol) e etilamina 70% (0,28 g; 6,3 mmol), em benzeno seco (10,2 mL), foi refluxada em um aparelho de Dean-Stark até completa remoção da água.

Após resfriamento a mistura foi lavada com solução saturada de NaHCO_3 (2 X 50 mL) e secada com MgSO_4 . O produto foi filtrado e o solvente evaporado à baixa pressão em um rotaevaporador. O produto bruto foi analisado por RMN ^1H e confirmada a sua formação.

5.2.1.11. Síntese de 2-hidroximetileno-pent-4-enoato de metila (EDO-026) (Petraghani *et al.*, 1977)

A um balão de duas bocas, munido de agitação magnética e em atmosfera de nitrogênio, foi adicionada solução pronta de LDA 2M (11 mL; 22 mmol) adquirida da Fluka Inc. ao THF (11 mL) seco destilado de sódio em benzofenona. A mistura foi mantida a - 78 °C por meio de banho de gelo seco em acetona.

Com auxílio de uma seringa foi adicionado o composto (EDO-025) (2,28 g; 20 mmol) gota-a-gota e a mistura agitada por 30 minutos.

Adicionou-se, a seguir, formato de metila (1,32 g; 22 mmol) e a coloração levemente amarelada enfraqueceu-se após 30 minutos de reação.

A temperatura foi elevada de -78 °C a 0 °C e a mistura agitada por mais 90 minutos. A cor mudou sensivelmente de amarelo-claro para vermelho escuro.

Solução saturada de cloreto de amônio foi então adicionada (10 mL) e o produto extraído com éter etílico (2 X 30 mL). A solução foi lavada sucessivamente com água e solução saturada de NaCl. O produto foi secado sobre MgSO₄ e filtrado.

Os solventes foram evaporados em rotaevaporador e o óleo resultante purificado por cromatografia em sílica-gel (hexano/acetato de etila - 4:1).

O rendimento final do produto, após purificação foi de 0,32 g (11,3%).

O produto foi analisado e caracterizado por RMN ¹H e ¹³C.

5.2.1.12. Síntese de pent-4-enoato de metila (EDO-025) (Furniss *et al.*, 1989)

Em um balão foi adicionado ácido 4-pentenóico (20 g; 0,2 mol). Cloreto de tionila (28,6 g; 0,24 mol) foi adicionado gota-a-gota, sob agitação, e a mistura refluxada por 30 minutos. Os gases foram capturados por borbulhamento em água, conforme o procedimento padrão. Álcool metílico (50 mL) foi adicionado e a mistura refluxada por mais 15 minutos. O produto

bruto foi diluído em CH_2Cl_2 e lavado sucessivamente com água e solução saturada de NaHCO_3 . O produto foi extraído com CH_2Cl_2 e os extratos orgânicos combinados lavados com solução saturada de NaCl e secados com MgSO_4 . O produto foi filtrado, o solvente evaporado e o material bruto resultante foi destilado à pressão ambiente. O rendimento final do ester metílico (EDO-025) foi de 7,4 g (32%).

5.2.1.13. Síntese de 3-benzilamino-acrilato de metila (EDO-134) (Koike et al., 1997).

A um balão foram adicionados propiolato de metila (4,2 g; 50 mmol), e benzilamina (5,4 g; 50 mmol) em THF (120 mL) seco e destilado de sódio em benzofenona. A mistura foi agitada magnéticamente à temperatura ambiente por 6 horas. A reação foi quantitativa. A remoção do solvente em rotaevaporador resultou 9 g (100%) do produto.

5.2.1.14. Síntese de 3-etilamino-acrilato de metila (EDO-094) (Koike et al., 1997).

A um balão foi adicionado propiolato de metila (4,2 g; 50 mmol) em THF (120 mL) seco e destilado de sódio em benzofenona. A solução foi resfriada à 0 °C e excesso de etilamina (6,2 g; 137 mmol) foi adicionado com auxílio de uma seringa. A mistura foi agitada magnéticamente à temperatura ambiente por 6 horas. O solvente foi evaporado e o produto recristalizado de éter etílico. O rendimento final foi de 4,3 g (67%).

5.2.2. Métodos Analíticos

Cromatografia em camada delgada

Utilizaram-se cromatofolhas AL TLC sílica-gel 60 F254 (MERCK) para acompanhamento das reações. Realizou-se revelação em lâmpada UV e iodo.

Cromatografia em coluna

As separações em coluna foram feitas com sílica-gel 60 (Flash) (FLUKA) e sílica-gel 62 (ALDRICH).

Cromatografia líquida de alta eficiência – CLAE

A análise cromatográfica por CLAE foi realizada em um aparelho Shimadzu SCL-10A VP, coluna de fase reversa Shimadzu C18 e detector de UV na região de 254 nm.

Espectrometria de ressonância magnética nuclear

Os espectros de ressonância magnética nuclear de ^1H e ^{13}C foram realizados em equipamentos Bruker ADPX-300 de 300 MHz e Varian Gemini 300 de 300 MHz. Todos os deslocamentos químicos estão em partes por milhão (ppm) em relação ao padrão interno TMS (tetrametilsilano).

Espectrometria no infravermelho

O espectro de infravermelho foi obtido em espectrofotômetro BOMEM pelo método de filme líquido em cela de NaCl.

Ponto de fusão

Os pontos de fusão foram obtidos em aparelho Thomas Hoover.

Análise elementar

As análises elementares foram feitas por Atlantic Microlab Inc., USA.

Espectrometria de massas

Os espectros de massas (CG/MS) foram realizados em um equipamento Shimadzu QP5050-A acoplado a cromatógrafo G17-A.

5.2.3. Testes de afinidade com os receptores (*binding*)

Os ensaios de *binding* foram realizados no laboratório do Prof. Milt Teitler, no Departamento de Farmacologia do Albany Medical School, Albany, NY. Os testes seguiram o protocolo padrão para receptores clonados e expressos em células CHO. Os princípios básicos e as técnicas utilizadas para *binding* podem ser consultadas na revisão de Deupree e Bylund (2002).

5.2.4. Modelagem molecular

Os estudos de modelagem molecular foram realizados por minimização de energia dos protótipos via algoritmo AM1 implementado no software Sybyl 6.7. Foram medidas as distâncias entre os elementos do grupo farmacofórico e calculadas as densidades de carga em torno dos átomos pelo algoritmo Gasteiger-Hückel.

RESULTADOS

VI – RESULTADOS

6.1. Resultados do Estudo Químico

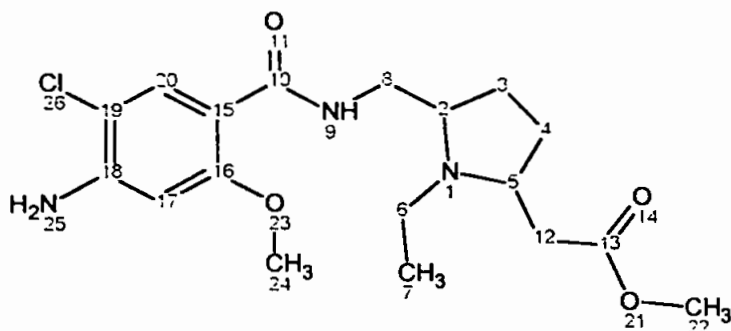
São apresentados a seguir os dados físico-químicos e espectrométricos dos compostos sintetizados. Os dados estão apresentados na seguinte ordem, quando todos presentes:

- nome químico (nº do composto)
- fórmula estrutural
- fórmula molecular e massa molar
- rendimento
- aspecto
- ponto de fusão ou ebulição
- análise elementar
- dados espectrométricos de RMN-¹H
- dados espectrométricos de RMN-¹³C
- dados espectrométricos de IV
- dados espectrométricos de massas
- espectro de RMN-¹H
- espectro de RMN-¹³C
- espectro de IV
- espectro de massas

Abreviações utilizadas na atribuição dos espectros de RMN-¹H:

- s: singleto
- br s: singleto largo
- d: dubleto
- dd: duplo dubleto
- t: tripleto
- q: quarteto
- qt: quinteto
- st: sexteto
- ht: hepteto
- multiplete

**{5-[(4-Amino-5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-1-etil-pirrolidin-2-il}-
acetato de metila (EDO-146)**

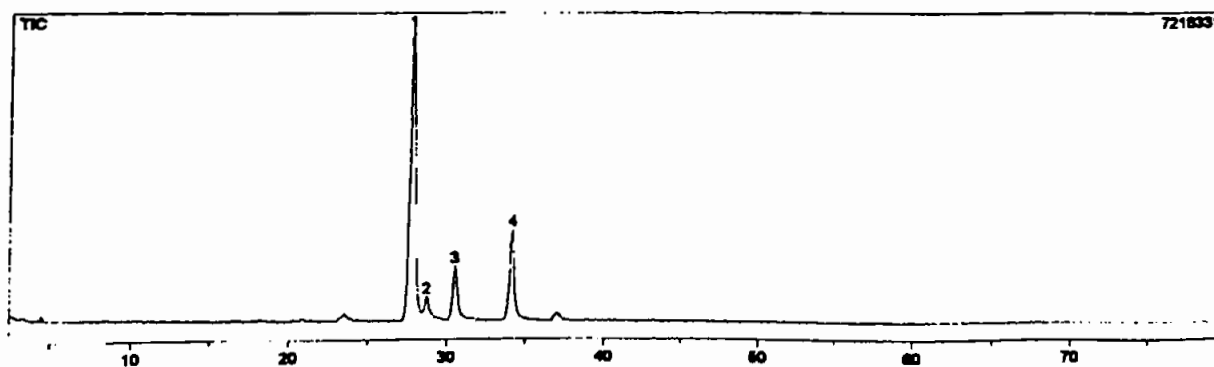
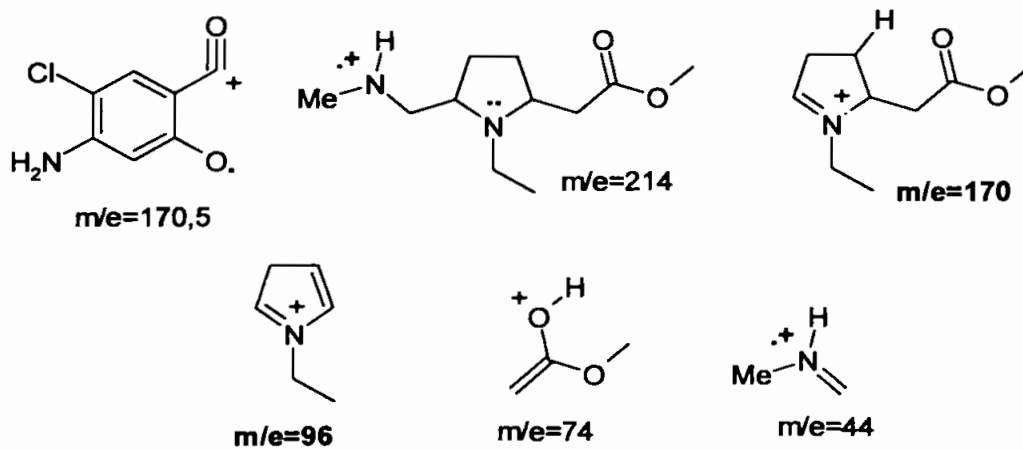


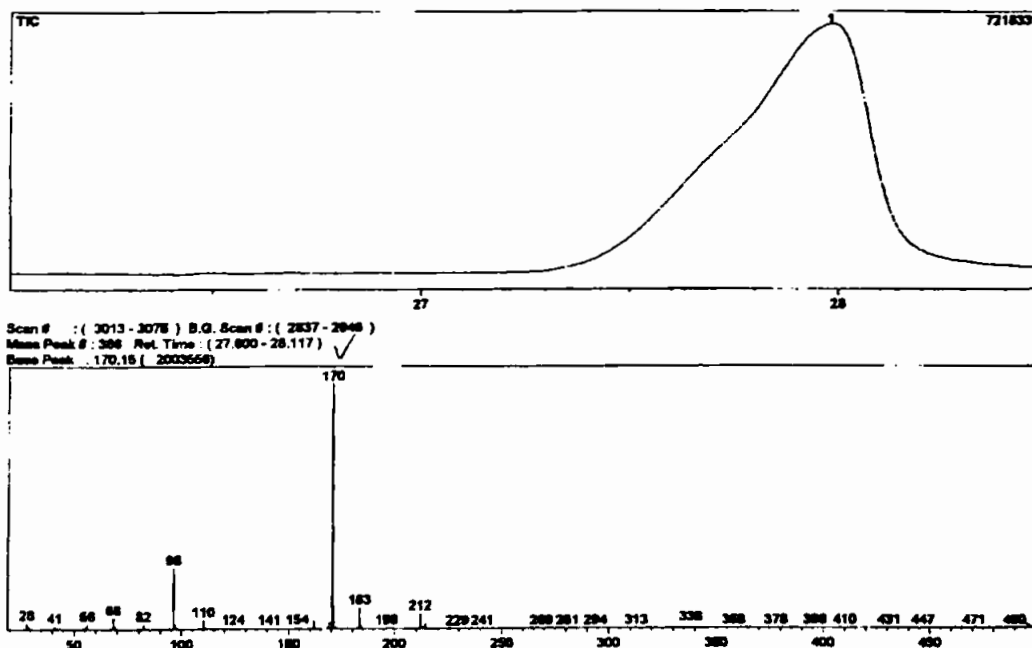
$C_{18}H_{26}ClN_3O_4$ - MM=383,87 g.mol⁻¹

Rendimento: 0,54 g (1,42 mmol); 90,3%

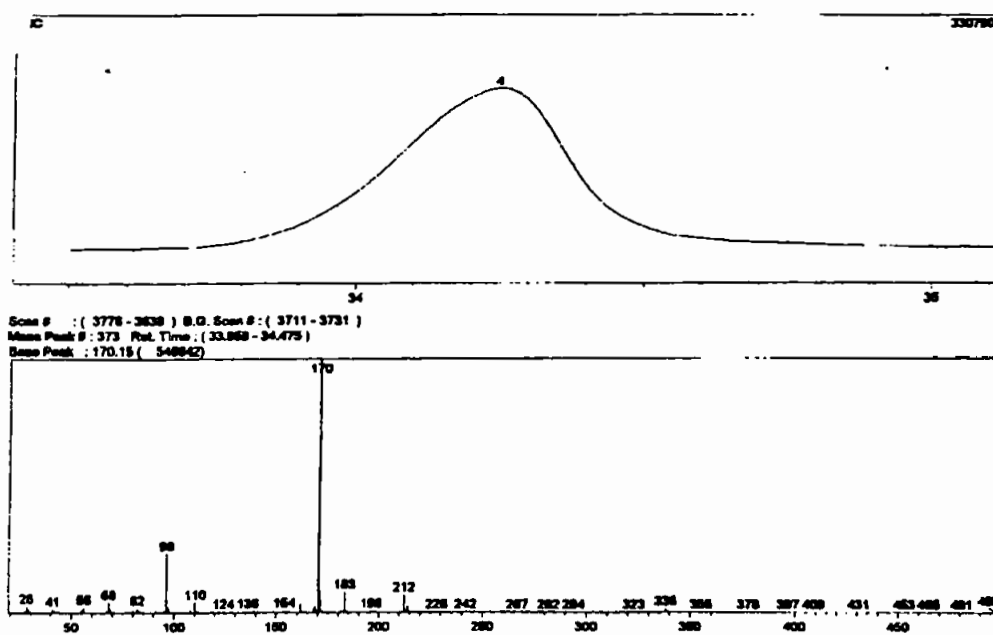
Aspecto: sólido cristalino de cor levemente amarelada

Dados espectrométricos de massa:



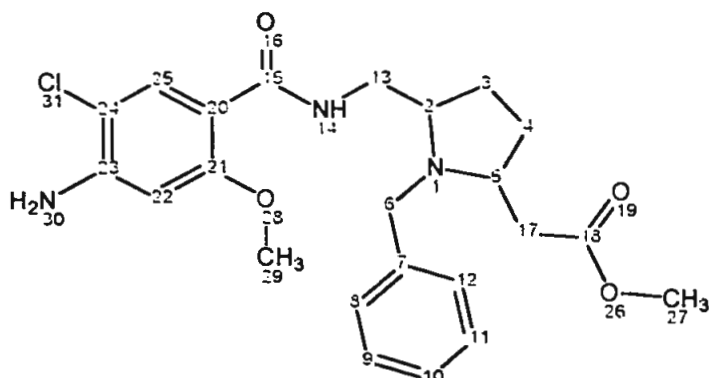


ESPECTRO 1 - Espectro de massas (CG/MS) do {5-[(4-amino-5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-1-etil-pirrolidin-2-il}-acetato de metila (EDO-146) - Isômero A.



ESPECTRO 2 - Espectro de massas (CG/MS) do {5-[(4-amino-5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-1-etil-pirrolidin-2-il}-acetato de metila (EDO-146) - Isômero B.

{5-[(4-Amino-5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-1-benzil-pirrolidin-2-il)-acetato de metila (EDO-125)

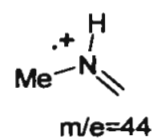
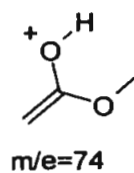
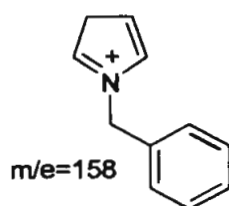
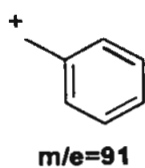
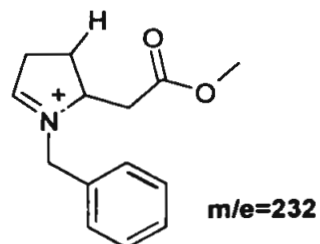
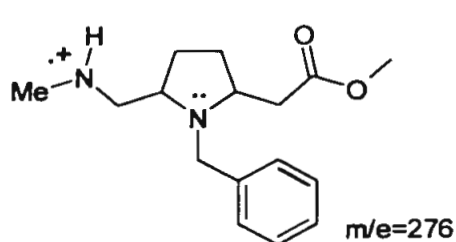
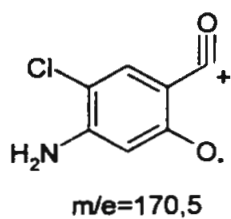


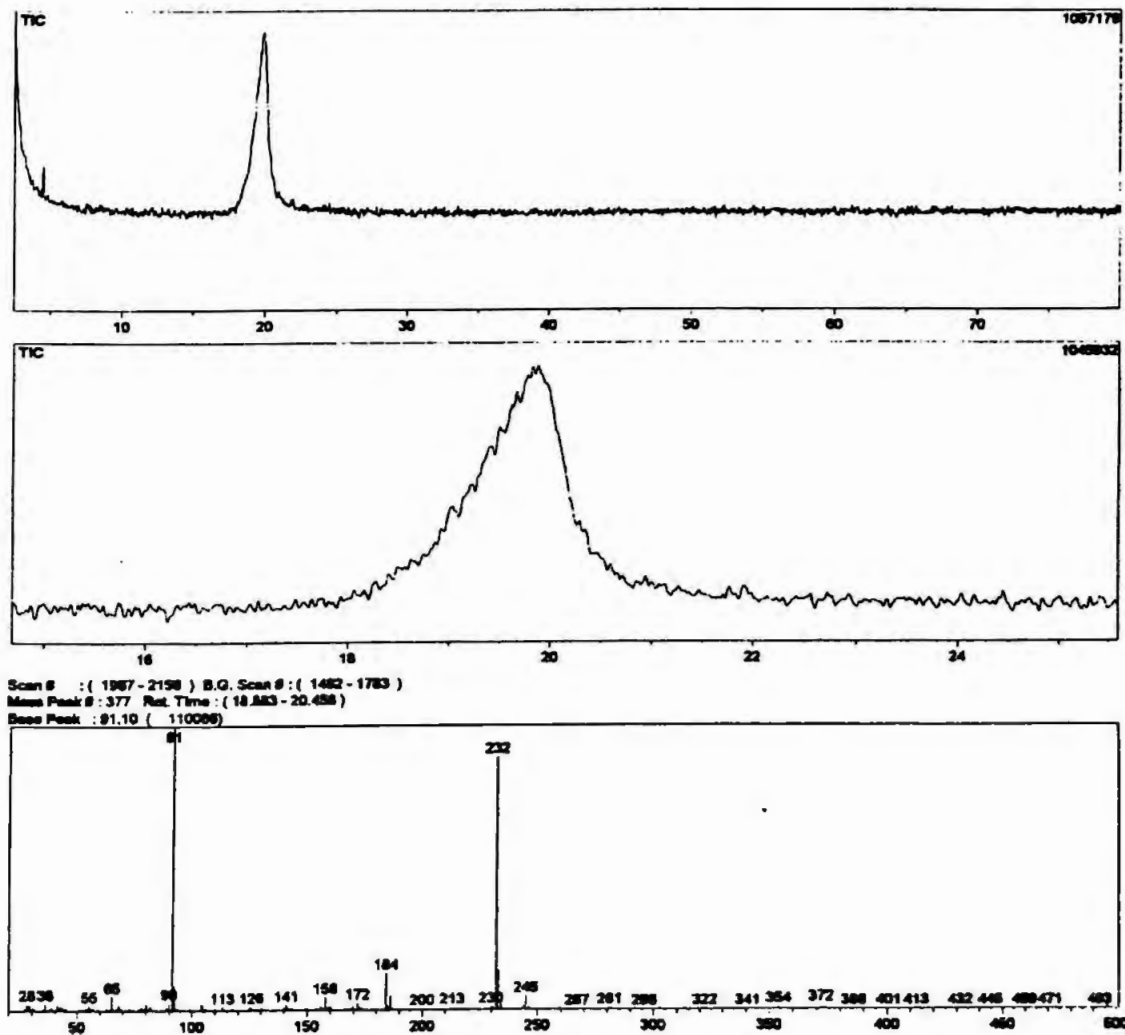
$C_{23}H_{28}ClN_3O_4$ - MM=445,94 g.mol⁻¹

Rendimento: 0,78 g (1,75 mmol); 70%

Aspecto: sólido cristalino de cor levemente amarelada

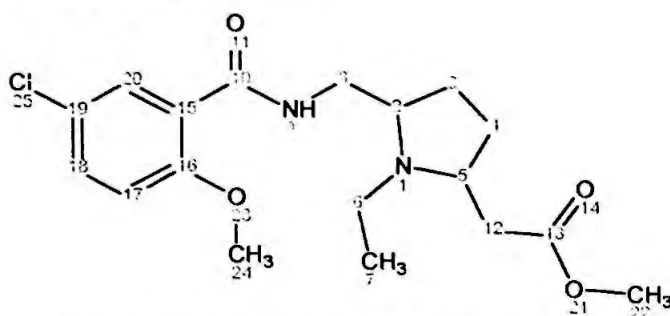
Dados espectrométricos de massas:





ESPECTRO 3 - Espectro de massas (CG/MS) do {5-[(4-amino-5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-1-benzil-pirrolidin-2-il}-acetato de metila (EDO-125) - Isômero A.

{5-[(5-Cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-1-etil-pirrolidin-2-il}-acetato de metila (EDO-145)

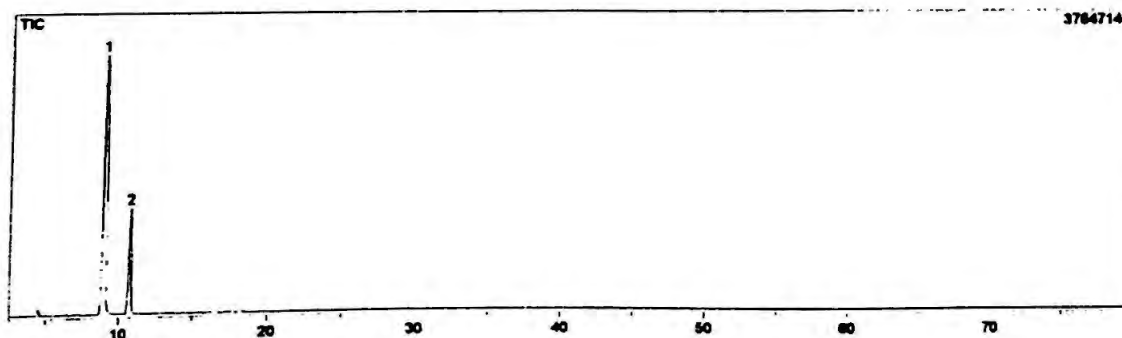
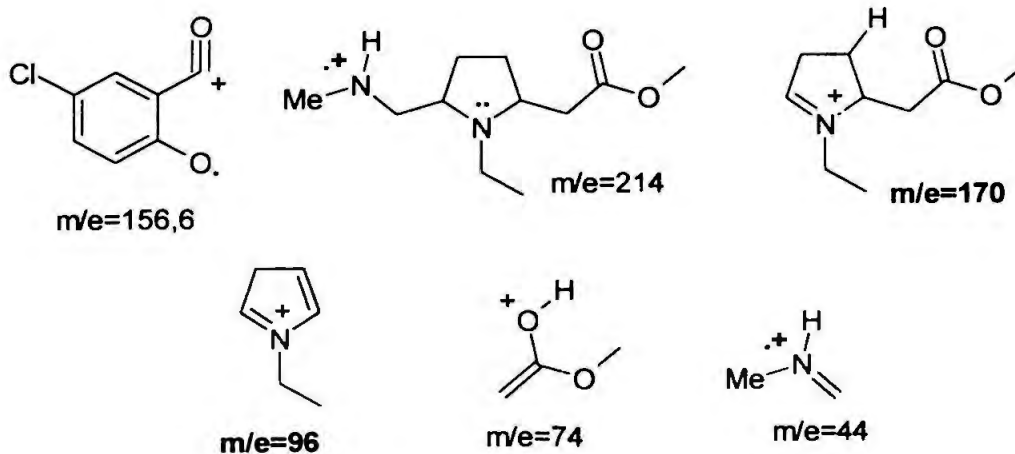


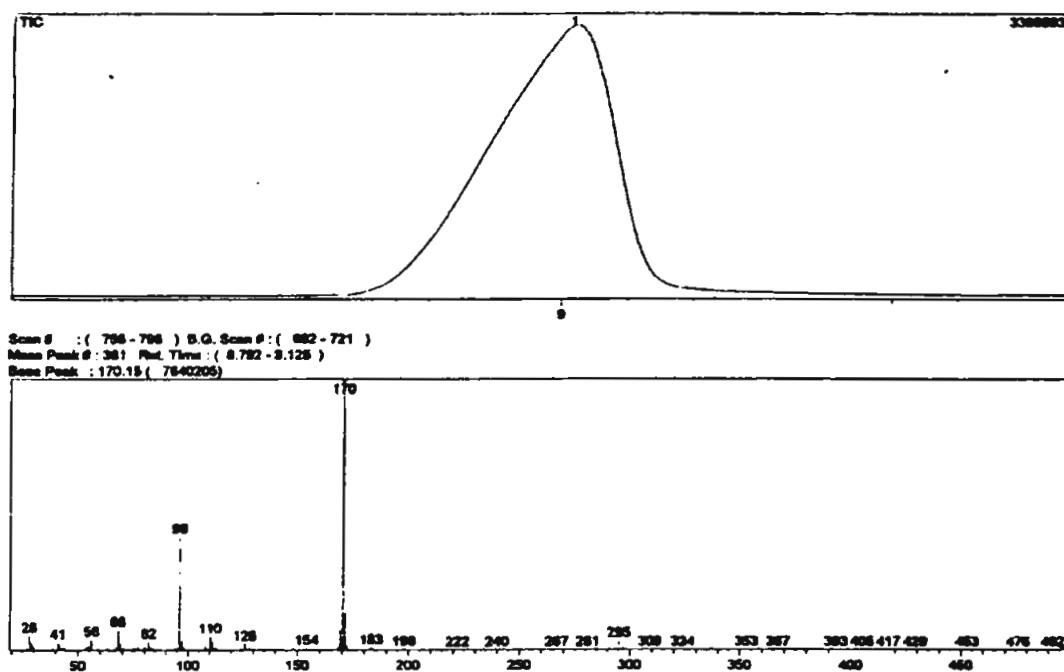
$C_{18}H_{25}ClN_2O_4$ - MM=368,86 g.mol⁻¹

Rendimento: 0,46 g (1,24 mmol); 92%

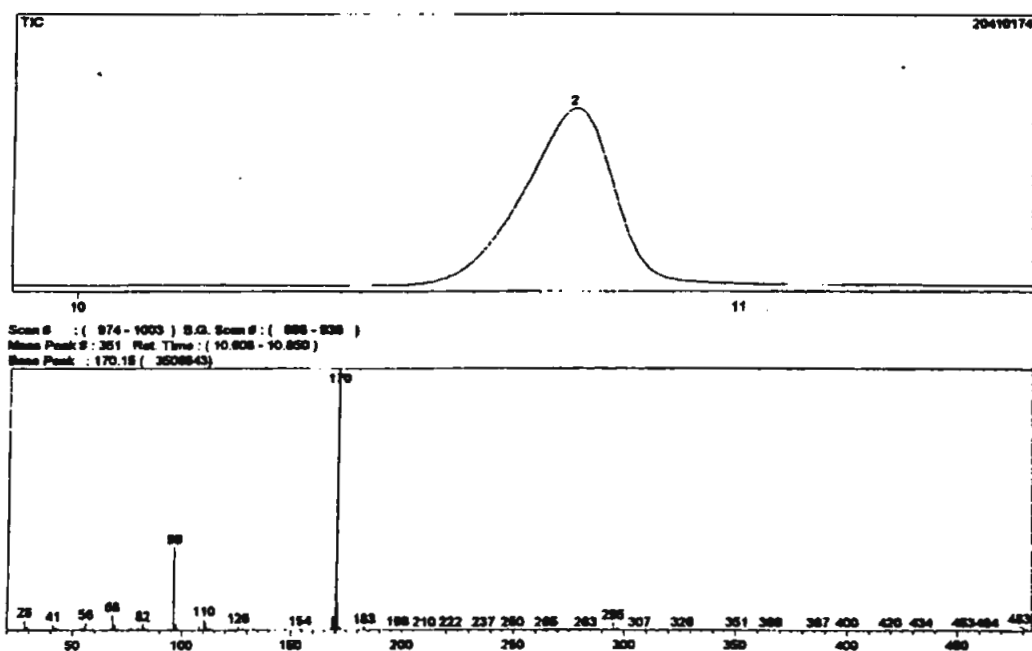
Aspecto: sólido cristalino de cor levemente amarelada

Dados espectrométricos de massas:



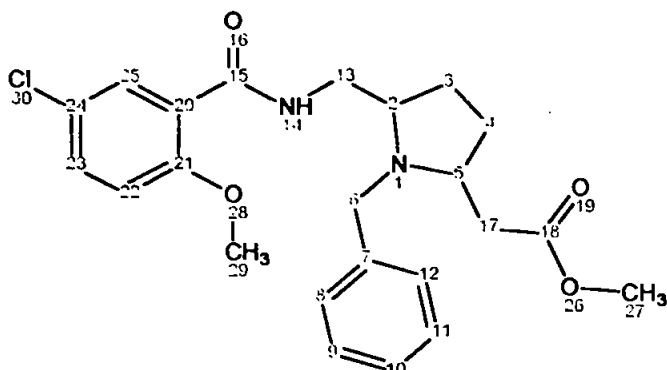


ESPECTRO 4 - Espectro de massas (CG/MS) do {5-[(5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-1-etil-pirrolidin-2-il}-acetato de metila (EDO-145) - Isômero A.



ESPECTRO 5 - Espectro de massas (CG/MS) do {5-[(5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-1-etil-pirrolidin-2-il}-acetato de metila (EDO-145 ou 080 ou 053) - Isômero B.

**{1-Benzil-5-[(5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-pirrolidin-2-il}-
acetato de metila (EDO-126)**

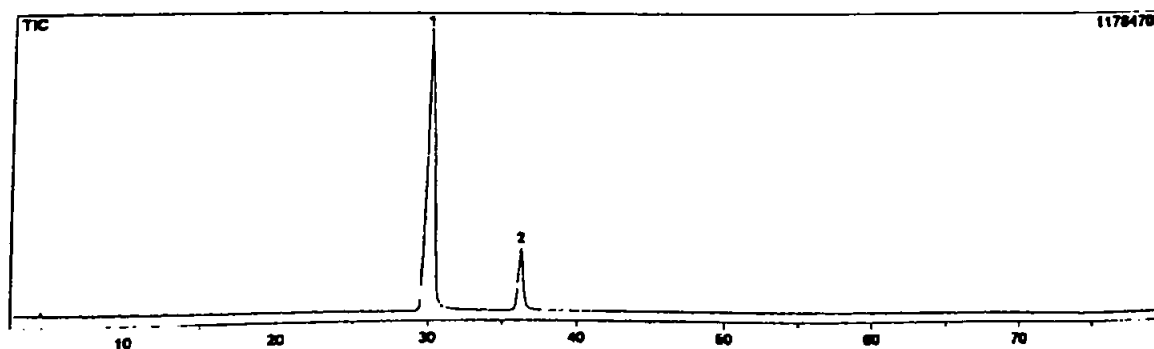
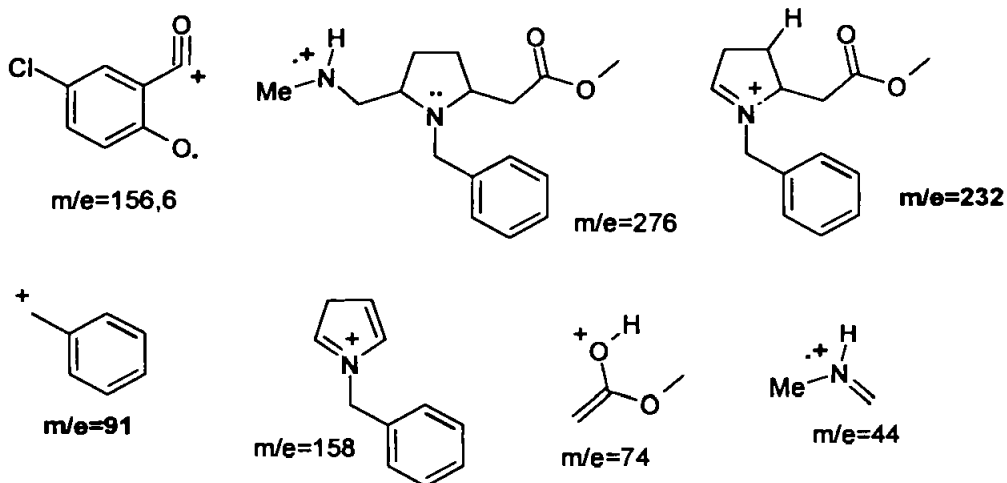


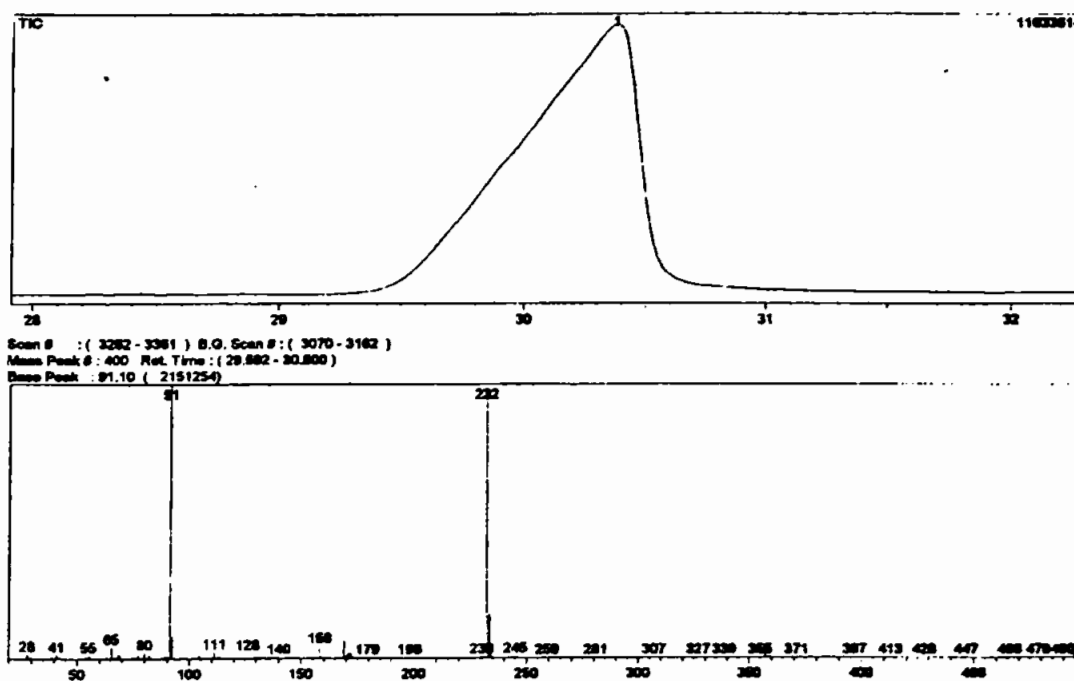
$C_{23}H_{27}ClN_2O_4$ - MM=430,92 g.mol⁻¹

Rendimento: 0,74 g (1,71 mmol); 68,4%

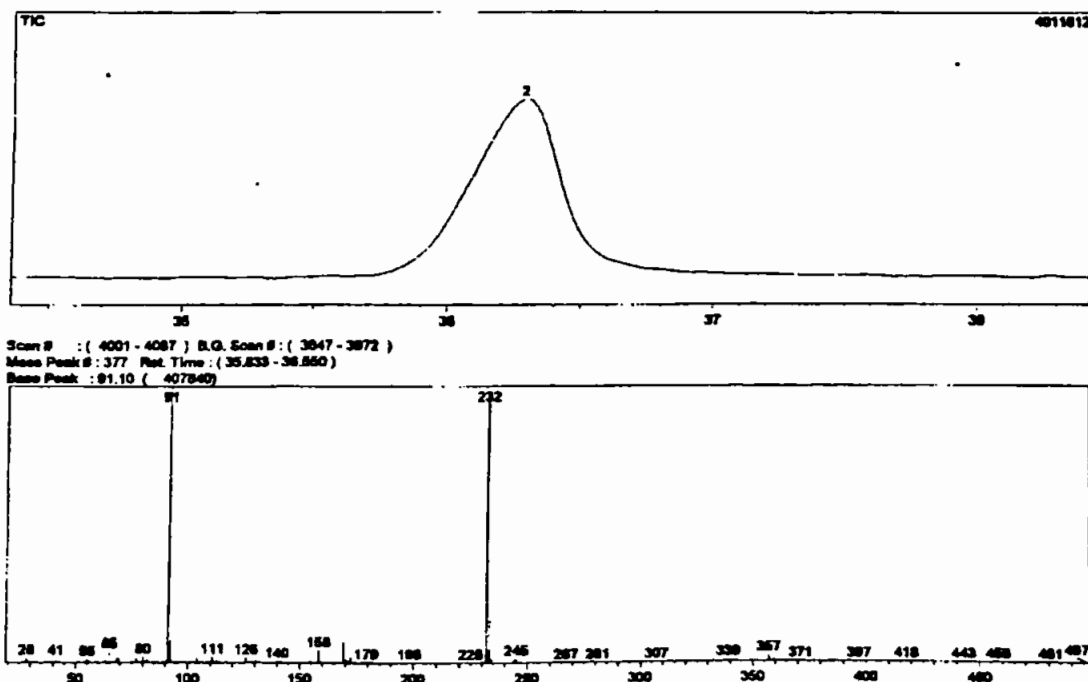
Aspecto: sólido cristalino de cor levemente amarelada

Dados espectrométricos de massas:



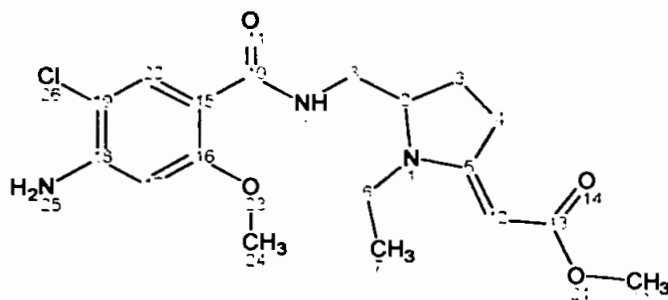


ESPECTRO 6 - Espectro de massas (CG/MS) do {1-benzil-5-[(5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-pirrolidin-2-il}-acetato de metila (EDO-126) - Isômero A.



ESPECTRO 7 - Espectro de massas (CG/MS) do {1-benzil-5-[(5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-pirrolidin-2-il}-acetato de metila (EDO-126) - Isômero B.

{5-[(4-Amino-5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-1-etil-pirrolidin-2-ilideno}-acetato de metila (EDO-140)



$C_{18}H_{24}ClN_3O_4$ - MM=381,86 g.mol⁻¹

Rendimento: 0,72 g (1,88 mmol); 75,2%

Aspecto: sólido cristalino de cor levemente amarelada

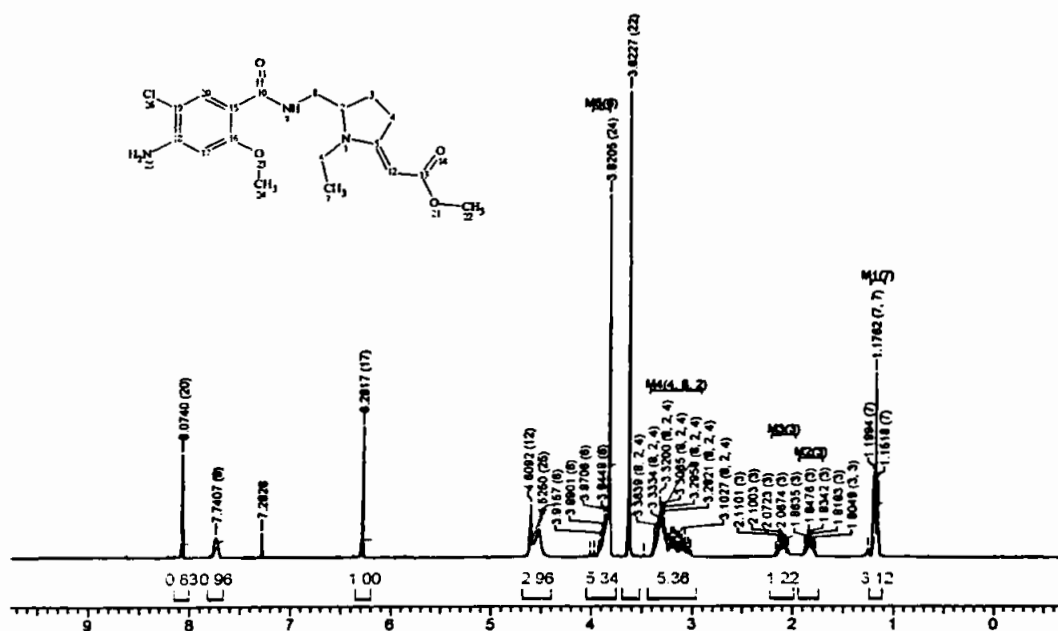
Ponto de fusão: 159-160 °C

Análise elementar:

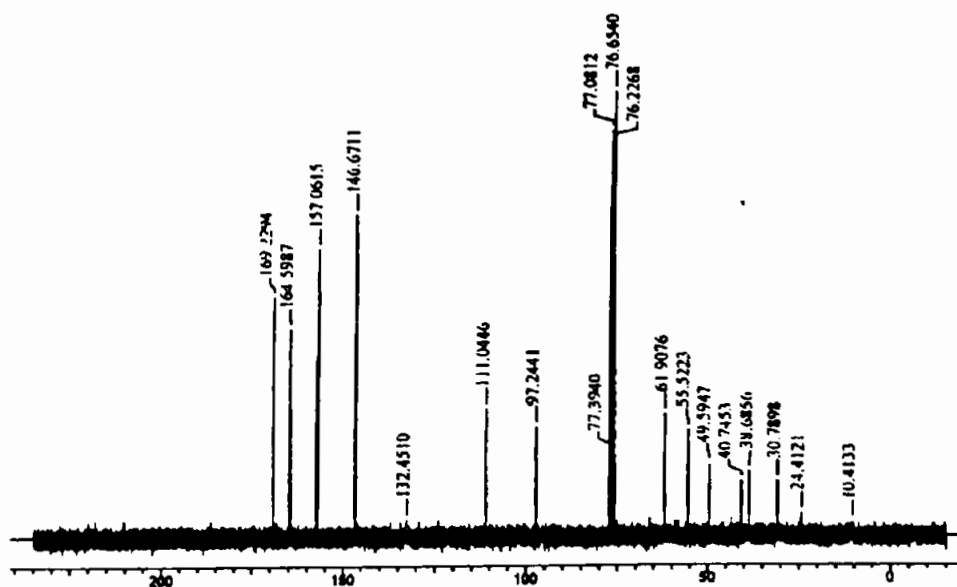
%	Teórico	Experimental
C	56,62	56,40
H	6,33	6,22
N	11,00	10,71

Dados dados espectrométricos de RMN-¹H e RMN-¹³C:

RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)	RMN- ¹³ C (CDCl ₃) δ (ppm)	
1,18(t,J=6.96Hz,3H); H-C7	10,41(C7)	132,45 (C20)
1,80-1,86(m,1H); (H-C3)	24,41(C3)	146,67 (C18)
2,06-2,19(m,1H); (H-C3)	30,79 (C4)	157,06 (C16)
3,03-3,39(m,5H); (H-C2, H-C4, H-C8)	38,69 (C6)	164,56 (C5)
3,62(s,3H); (H-C22)	40,75 (C8)	164,60 (C13)
3,8-3,92(m,2H); H-C6	49,59 (C22)	169,23 (C10)
3,82(s,3H); H-C24	55,52 (C24)	
4,52(br s,2H); NH2-Ar	61,91 (C2)	
4,61(s,1H); H-C12	77,39 (C12)	
6,28(s,1H); H-C17	97,24 (C17)	
7,74(br s,1H); CONH	111,04 (C15)	
8,07(s,1H); H-C20	111,17 (C19)	

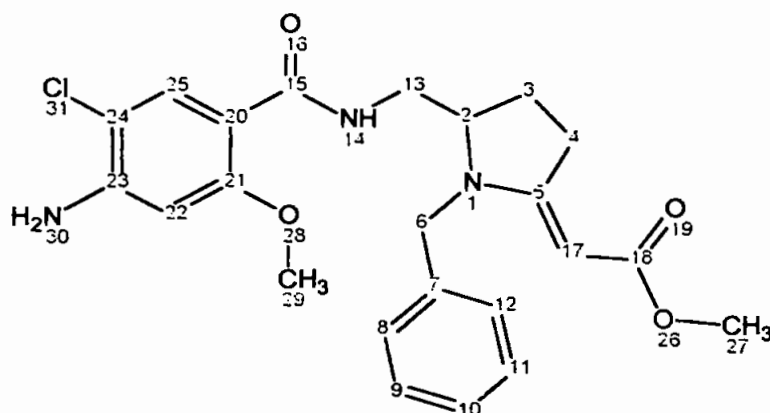


ESPECTRO 8 - Espectro de RMN-¹H de {5-[(4-amino-5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-1-etil-pirrolidin-2-ilideno)-acetato de metila (EDO-140) (δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).



ESPECTRO 9 - Espectro de RMN-¹³C de {5-[(4-amino-5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-1-etil-pirrolidin-2-ilideno)-acetato de metila (EDO-140) (δ ppm, CDCl₃, 75 Mz).

{5-[(4-Amino-5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-1-benzil-pirrolidin-2-ilideno}-acetato de metila (EDO-122)



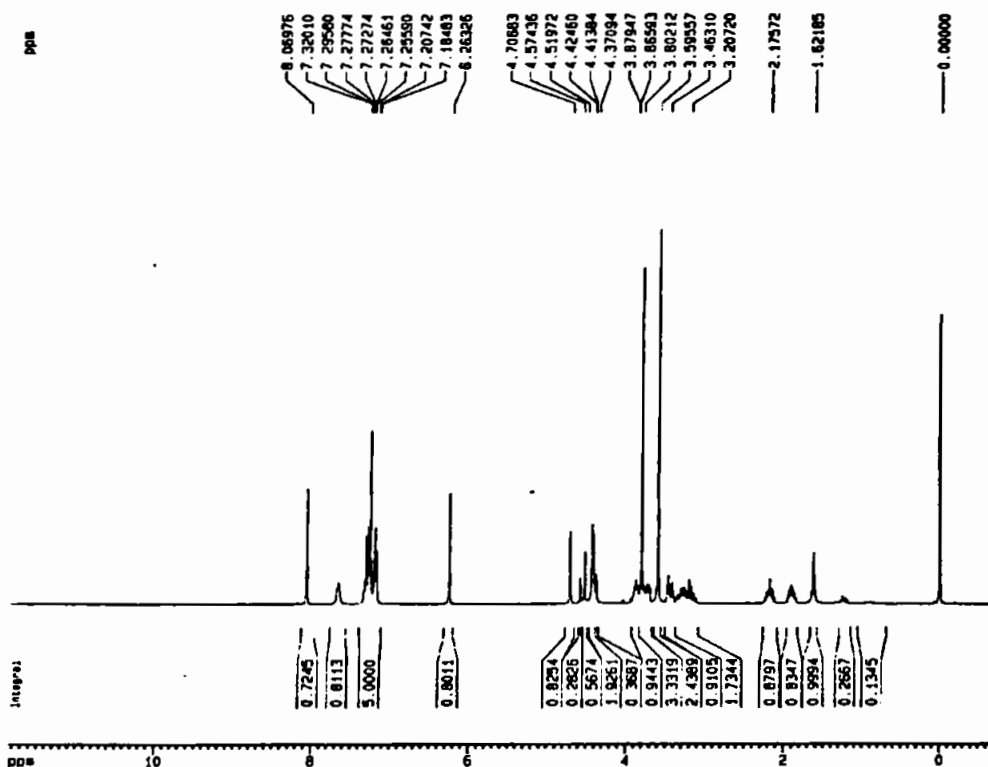
$C_{23}H_{26}ClN_3O_4$ - MM=443,92 g.mol⁻¹

Rendimento: 1,33 g (3,00 mmol); 75%

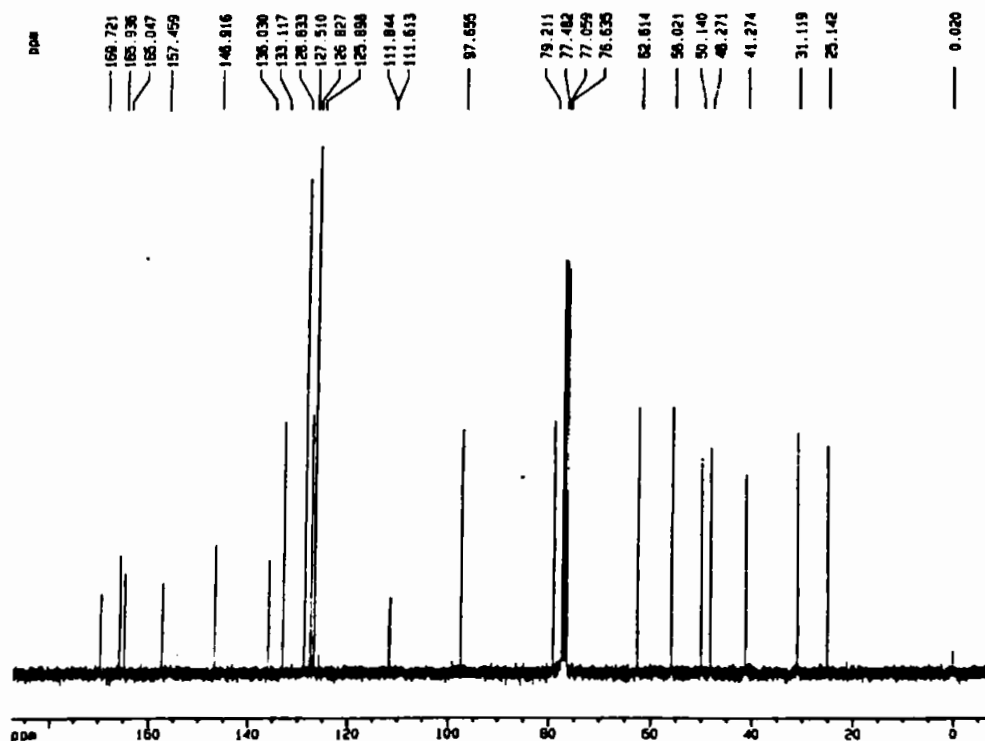
Aspecto: sólido cristalino de cor levemente amarelada

Dados dados espectrométricos de RMN-¹H e RMN-¹³C:

RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)	RMN- ¹³ C (CDCl ₃) δ (ppm)	
1,80-1,95 (m, 1H); H-C3	25,1 (C3)	157,5 (C21)
2,05-2,25 (m, 1H); H-C3	31,1 (C4)	165,0 (C5)
3,10-3,35 (m, 2H); H-C4	41,3 (C13)	165,9 (C18)
3,45 (m, 1H); H-C13 anti	48,3 (C6)	169,7 (C15)
3,60 (s, 3H); H-C27	50,1 (C27)	
3,70-3,80 (m, 1H); H-C13 gauche	56,0 (C29)	
3,80 (s, 3H); H-C29	62,6 (C2)	
3,80-3,90 (m, 1H); H-C2	79,2 (C12)	
4,40 (d, J=16,1Hz, 1H); H-C6	97,7 (C22)	
4,31 (sl, NH ₂); H-N30	111,6 (C20)	
4,55 (d, J=16,1Hz, 1H); H-C6	111,8 (C24)	
4,71 (s, 1H); H-C17	126,8 (C8,C12)	
6,26 (s, 1H); H-C22	127,5 (C10)	
7,19 (d, J=6,8Hz, 2H); H-C8, H-C12	128,8 (C9,C11)	
7,25-7,32 (m, J=6,8Hz, 2H); H-C8, H-C12	133,1 (C25)	
7,65 (sl, NH); H-N14	136,0 (C7)	
8,07 (s, 1H); H-C25	146,9 (C23)	

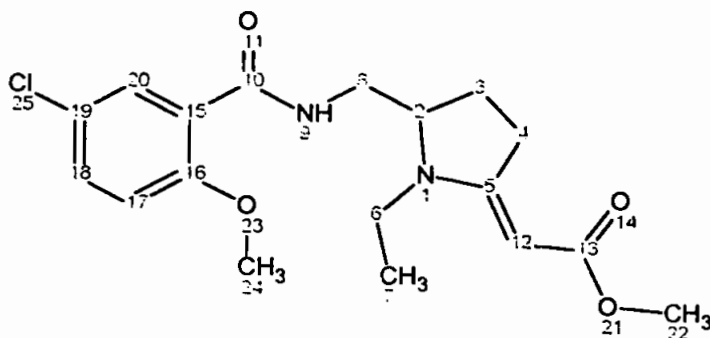


ESPECTRO 10 - Espectro de RMN-¹H de [5-[(4-amino-5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-1-benzil-pirrolidin-2-ilideno]-acetato de metila (EDO-122) (δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).



ESPECTRO 11 - Espectro de RMN-¹³C de [5-[(4-amino-5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-1-benzil-pirrolidin-2-ilideno]-acetato de metila (EDO-122) (δ ppm, CDCl₃, 75 Mz).

**{5-[(5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-1-etil-pirrolidin-2-ilideno}-
acetato de metila (EDO-139)**



$C_{18}H_{23}ClN_2O_4$ - MM=366,84 g.mol⁻¹

Rendimento: 0,67 g (1,84 mmol); 73,5%

Aspecto: sólido cristalino de cor levemente amarelada

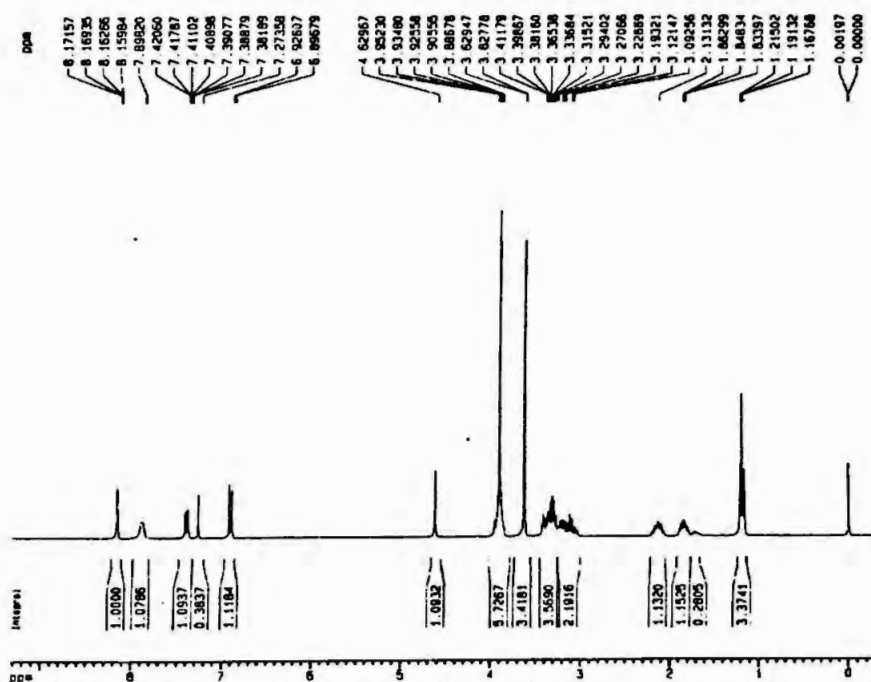
Ponto de fusão: 105-106 °C

Análise elementar:

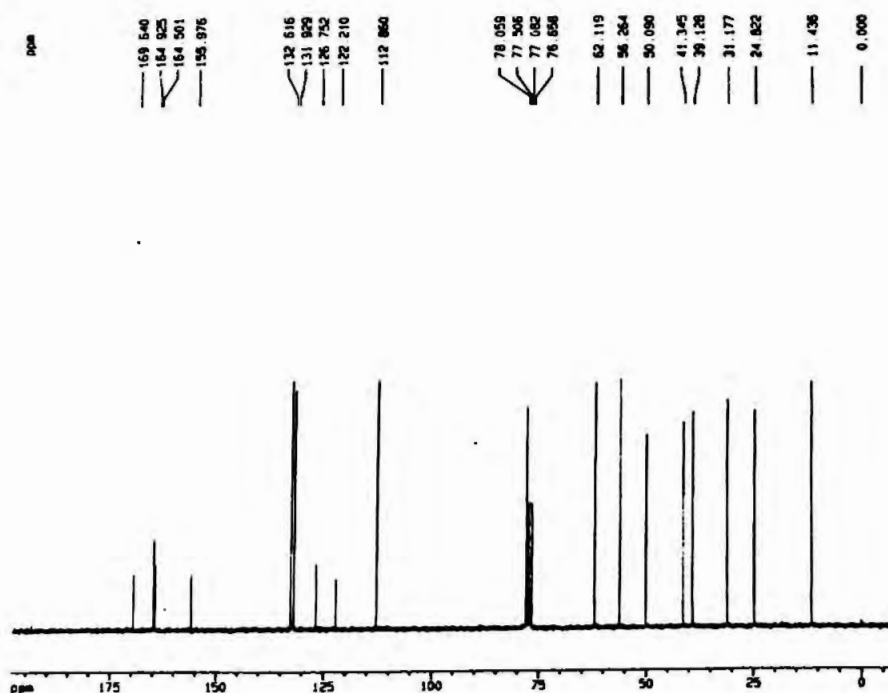
%	Teórico	Experimental
C	58,93	59,03
H	6,32	6,28
N	7,64	7,63

Dados espectrométricos de RMN-¹H e RMN-¹³C:

RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)	RMN- ¹³ C (CDCl ₃) δ (ppm)	
1,20(t,J=6.96Hz,3H); H-C7	11,4 (C7)	131,9 (C18)
1,78-1,86(m,1H); (H-C3)	24,8 (C3)	132,6 (C20)
2,11-2,21(m,1H); (H-C3)	31,2 (C4)	155,9 (C16)
3,10-3,42(m,5H); H-C4, H-C6, H-C8 anti	39,1 (C6)	164,5 (C5)
3,64(s,3H); (H-C22)	41,3 (C8)	164,9 (C13)
3,88-3,97(m,2H); H-C8 gauche, H-C2	50,1 (C22)	169,6 (C10)
3,91(s,3H); H-C24	56,3 (C24)	
4,64(s,1H); H-C12	62,1 (C2)	
6,92(d,J=8,8Hz,1H); H-C17	78,1 (C12)	
7,41(dd,J1=8,8Hz,J2=2,9Hz,1H); H-C18	112,9 (C17)	
7,91(br s,1H); CONH	122,2 (C15)	
8,17(d,J=2,94Hz,1H); H-C20	126,8 (C19)	

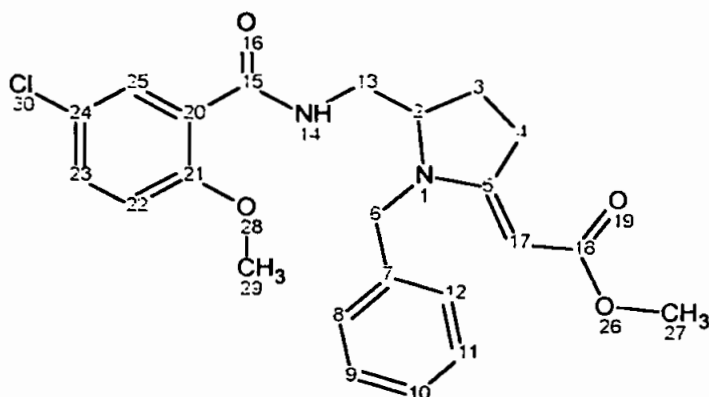


ESPECTRO 12 - Espectro de RMN-¹H de {5-[(5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-1-etil-pirrolidin-2-ilideno}-acetato de metila (EDO-139) (δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).



ESPECTRO 13 - Espectro de RMN-¹³C de {5-[(5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-1-etil-pirrolidin-2-ilideno}-acetato de metila (EDO-139) (δ ppm, CDCl₃, 75 Mz).

**{1-Benzil-5-[(5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-pirrolidin-2-ilideno}-
acetato de metila (EDO-123)**



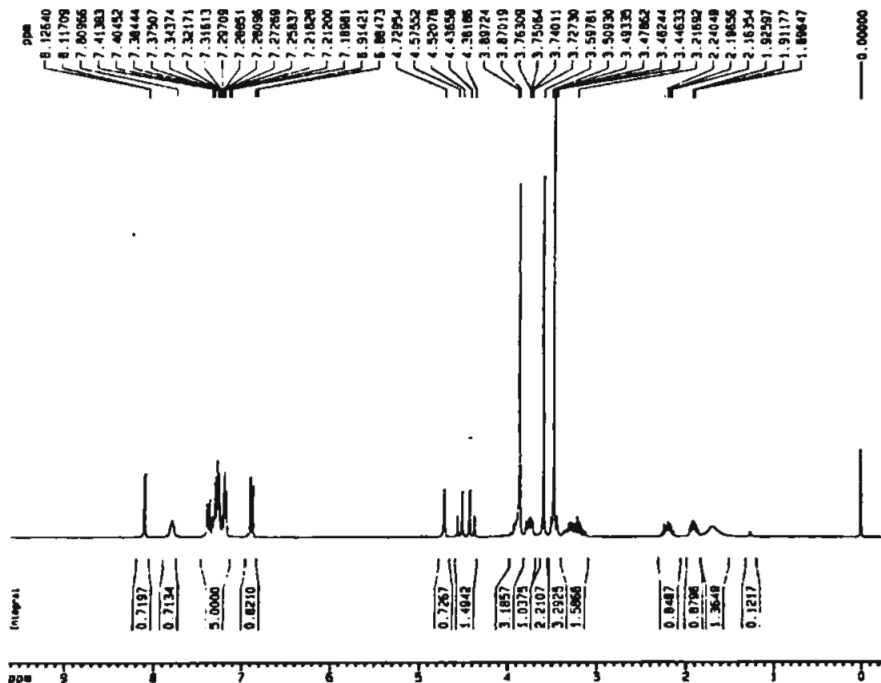
$C_{23}H_{25}ClN_2O_4$ - MM=428,91 g.mol⁻¹

Rendimento: 1,30 g (3,04mmol); 76%

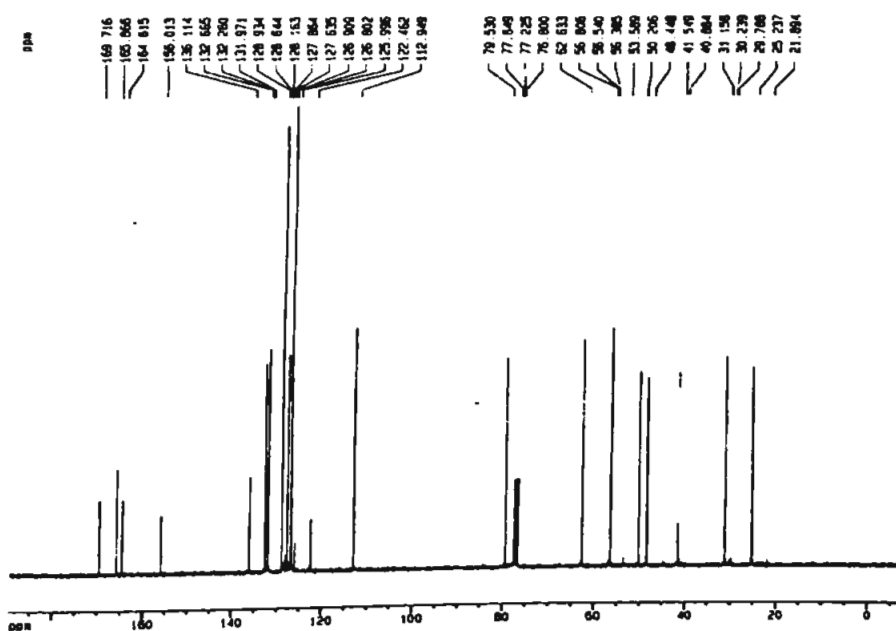
Aspecto: sólido cristalino de cor levemente amarelada

Dados espectrométricos de RMN-¹H e RMN-¹³C:

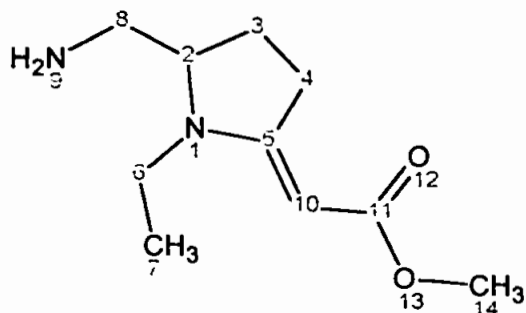
RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)	RMN- ¹³ C (CDCl ₃) δ (ppm)	
1,80-1,95 (m, 1H); H-C3	25,23 (C3)	156,01 (C21)
2,10-2,30 (m, 1H); H-C3	31,15 (C4)	164,62 (C5)
3,18-3,40 (m, 2H); H-C4	41,55 (C13)	165,86 (C18)
3,44-3,51 (m, 1H); H-C13 anti	48,45 (C6)	169,72 (C15)
3,60 (s, 3H); H-C27	50,21 (C27)	
3,72-3,80 (m, 1H); H-C13 gauche	56,38 (C29)	
3,87 (s, 3H); H-C29	62,63 (C2)	
3,85-3,91 (m, 1H)-H-C2	79,53 (C17)	
4,41 (d, J=16,4Hz, 1H); H-C6	112,95 (C22)	
4,55 (d, J=16,4Hz, 1H); H-C6	122,46 (C20)	
4,73 (s, 1H); H-C17	126,80 (C24)	
6,90 (d, J=8,8Hz, 1H); H-C22	126,90 (C8,C12)	
7,20 (d, J=6,7Hz, 2H); H-C8, H-C12	127,64 (C10)	
7,25-7,35 (m, 3H); H-C9, H-C10, H-C11	128,94 (C9,C11)	
7,39 (dd, J=2,8 e 8,8Hz, 1H); H-C23	131,97 (C23)	
7,81 (sl, NH); H-N14	132,67 (C25)	
8,12 (d, J=2,8Hz, 1H); H-C25	136,11 (C7)	



ESPECTRO 14 - Espectro de RMN-¹H de {1-Benzil-5-[(5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-pirrolidin-2-ilideno}-acetato de metila (EDO-123) (δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).



ESPECTRO 15 - Espectro de RMN-¹³C de {1-Benzil-5-[(5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-pirrolidin-2-ilideno}-acetato de metila (EDO-123) (δ ppm, CDCl₃, 75 Mz).

(5-Aminometil-1-etil-pirrolidin-2-ilideno)-acetato de metila (EDO-138)

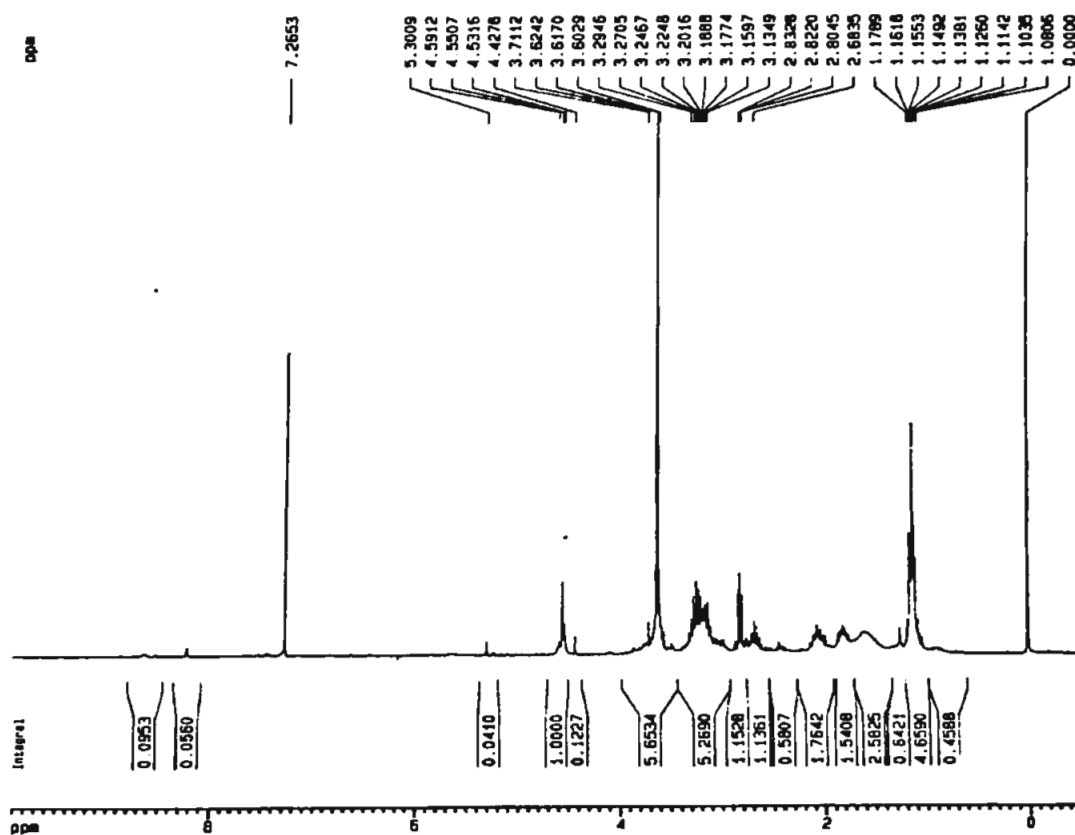
$C_{10}H_{18}N_2O_2$ - MM=198,26 g.mol⁻¹

Rendimento: 1,10 g (5,53 mmol); 88%

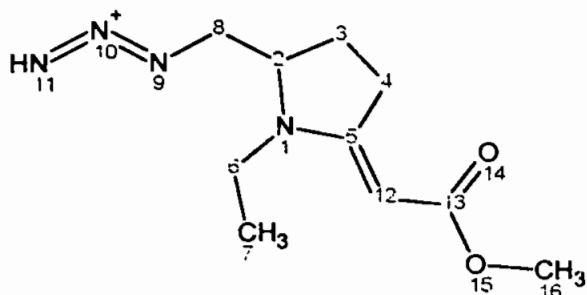
Aspecto: óleo viscoso de cor verde-amarelada clara

Dados espectrométricos de RMN-¹H:

RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)
1,06-1,18 (m, 1H); H-C7
1,74-1,85 (m, 1H); H-C3
1,99-2,14 (m, 1H); H-C3
1,45-1,70 (sl, NH ₂); H-N9
2,63-2,83 (m, 2H); H-C4
3,04-3,32 (m, 4H); H-C6, H-C8
3,62 (s, 3H); H-C14
3,56-3,68 (m, 1H); H-C2
4,55 (s, 1H); H-C10



ESPECTRO 16 - Espectro de RMN-¹H de (5-aminometil-1-etil-pirrolidin-2-ilideno)-acetato de metila (EDO-138) (δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).

(5-Azidometil-1-etil-pirrolidin-2-ilideno)-acetato de metila (EDO-137)

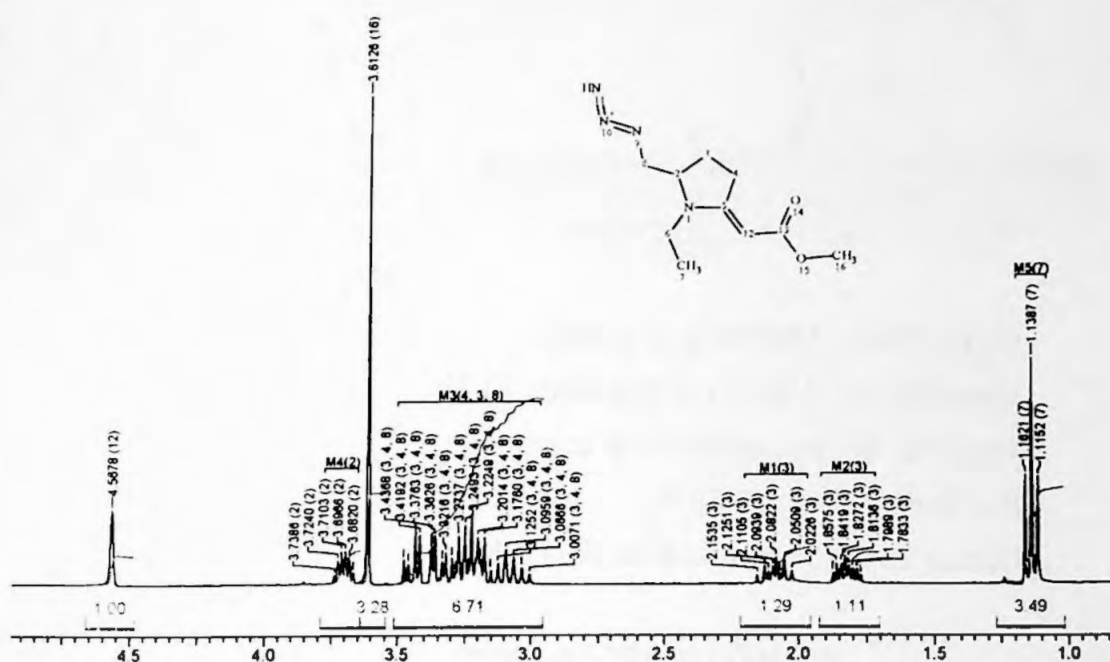
$C_{10}H_{16}N_2O_2$ - MM=224,26 g.mol⁻¹

Rendimento: 1,98 g (8,84 mmol); 52%

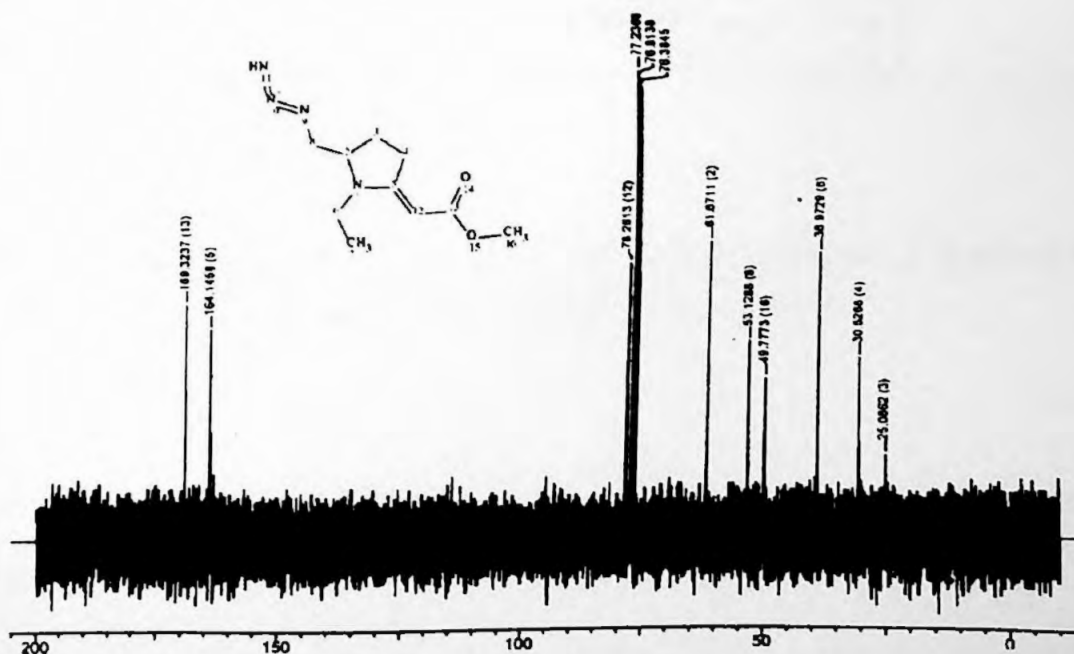
Aspecto: óleo viscoso de cor castanho claro

Dados espectrométricos de RMN-¹H e RMN-¹³C:

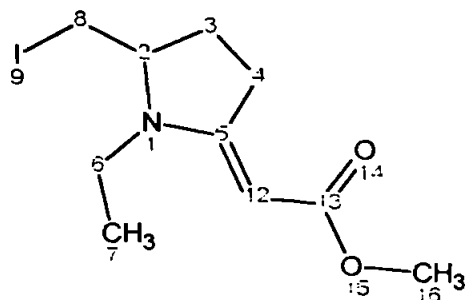
RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)	RMN- ¹³ C (CDCl ₃) δ (ppm)	
1,14(t, J=7.02Hz, 3H); H-C7	25,09 (C3)	164,15 (C5)
1,78-1,86(m,1H); H-C3	30,53 (C4)	169,32 (C13)
2,02-2,15(m,1H); H-C3	38,97 (C6)	
3,0-3,44(m,6H); H-C4, H-C6, H-C8	49,78 (C16)	
3,61(s,3H); H-C16	53,13 (C8)	
3,68-3,74(m,1H); H-C2	61,67 (C2)	
4,57(s,1H); H-C12	78,28 (C12)	



ESPECTRO 17 - Espectro de RMN¹-H de (5-Azidometil-1-etil-pirrolidin-2-ilideno)-acetato de metila (EDO-137) (δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).



ESPECTRO 18 - Espectro de RMN¹³-C de (5-Azidometil-1-etil-pirrolidin-2-ilideno)-acetato de metila (EDO-137) (δ ppm, CDCl₃, 75 Mz).

(1-Etil-5-iodometil-pirrolidin-2-ilideno)-acetato de metila (EDO-131)

$C_{10}H_{16}INO_2$ - $MM=309,15 \text{ g.mol}^{-1}$

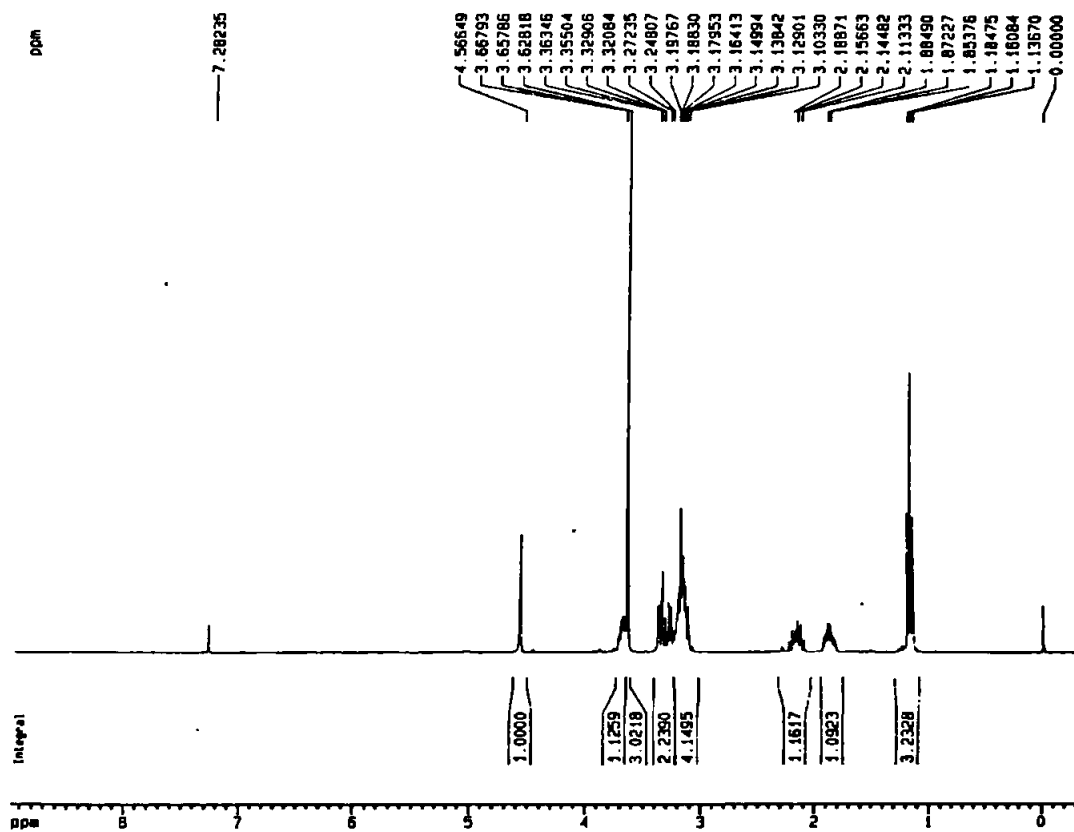
Rendimento: 5,83 g (18,9 mmol); 49,2%

Aspecto: sólido cristalino de cor creme

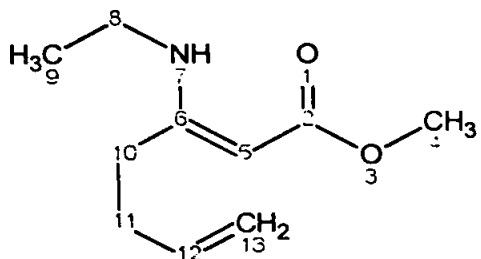
Ponto de fusão: 58-59 °C

Dados espectrométricos de RMN- 1H :

RMN- 1H ($CDCl_3$) δ (ppm)
1,16(t, $J=7,31\text{Hz}$, 3H); H-C7
1,82-1,91(m, 1H); H-C3
1,91-2,21(m, 1H); H-C3
3,10-3,36(m, 6H); H-C4, H-C6, H-C8
3,63(s, 3H); H-C16
3,66-3,76(m, 1H); H-C2
4,57(s, 1H); H-C12



ESPECTRO 19 - Espectro de RMN-¹H de (1-etil-5-iodometil-pirrolidin-2-ilideno)-acetato de metila (EDO-131) (δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).

3-Etilamino-hepta-2,6-dienoato de metila (EDO-128)

$C_{10}H_{17}NO_2$ - MM=183,25 g.mol⁻¹

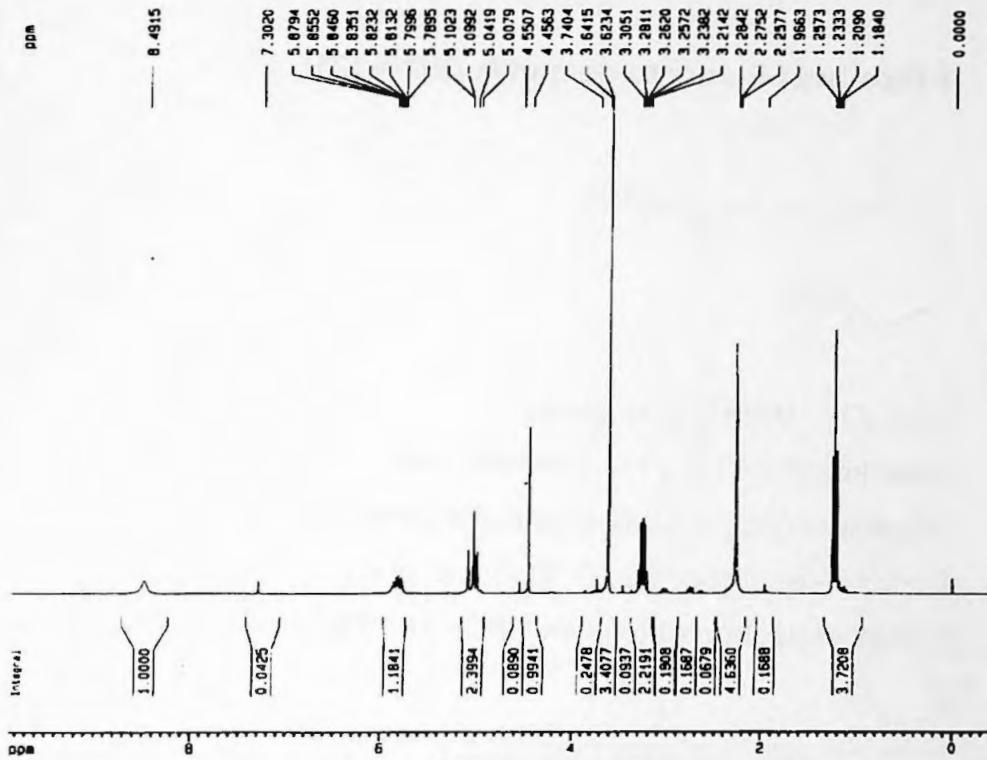
Rendimento: 4,0 g (21,8 mmol); 72,4%

Aspecto: óleo viscoso de cor amarelo claro

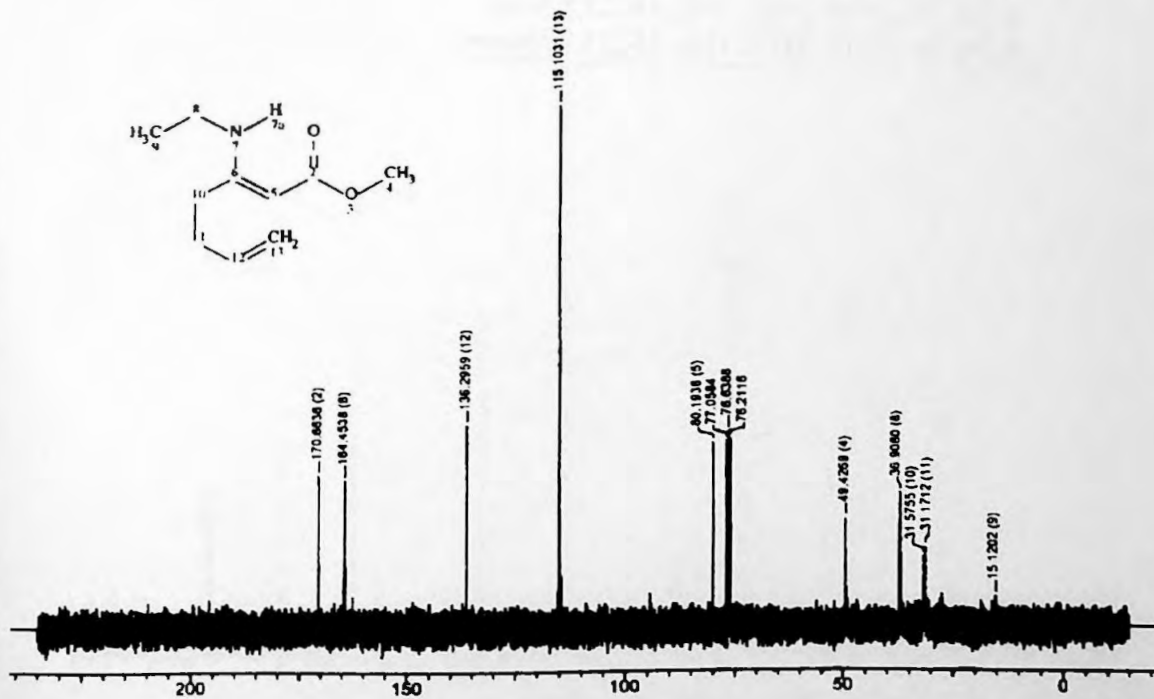
Ponto de ebulição: 100-110 °C (0,03 mmHg)

Dados espectrométricos de RMN-¹H e RMN-¹³C:

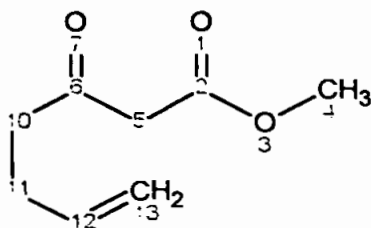
RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)	RMN- ¹³ C (CDCl ₃) δ (ppm)	
1,23 (t, J=7,2Hz, 3H); H-C9	15,1 (C9)	170,7 (C2)
2,7-2,30 (m, 4H); H-C10, H-C11	31,2 (C11)	
3,26 (qt, J=7,2Hz, 2H); H-C8	31,6 (C10)	
3,62 (s, 3H); H-C4	36,9 (C8)	
4,48 (s, 1H); H-C5	49,4 (C4)	
5,02 (d, J=10,2Hz, 1H); H-C13 (cis)	80,2 (C5)	
5,06 (d, J=18,1Hz, 1H); H-C13 (trans)	115,1 (C13)	
5,81-5,90 (m, 1H); H-C12	136,3 (C12)	
8,50 (sl, NH); H-N7	164,5 (C6)	



ESPECTRO 20 - Espectro de RMN-¹H de 3-etilamino-hepta-2,6-dienoato de metila (EDO-128) (δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).



ESPECTRO 21 - Espectro de RMN-¹³C de 3-etilamino-hepta-2,6-dienoato de metila (EDO-128) (δ ppm, CDCl₃, 75 Mz).

3-Oxo-hept-6-enoato de metila (EDO-121)

$C_8H_{12}O_3$ - MM=156,18 g.mol⁻¹

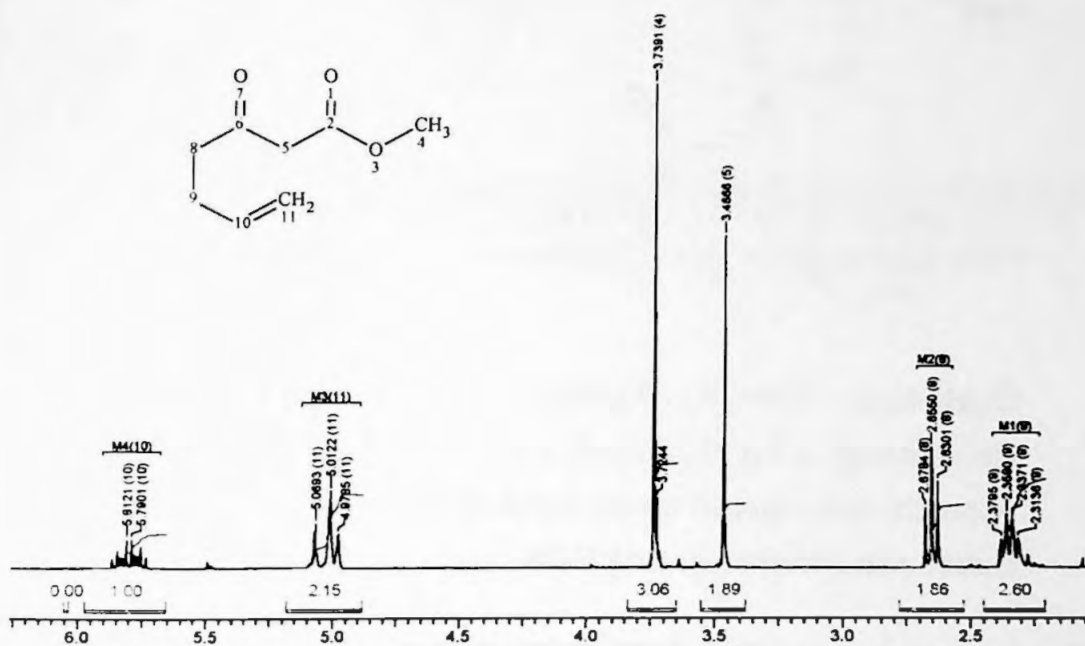
Rendimento: 11,5 g (73,6 mmol); 74%

Aspecto: sólido cristalino de cor levemente amarelada

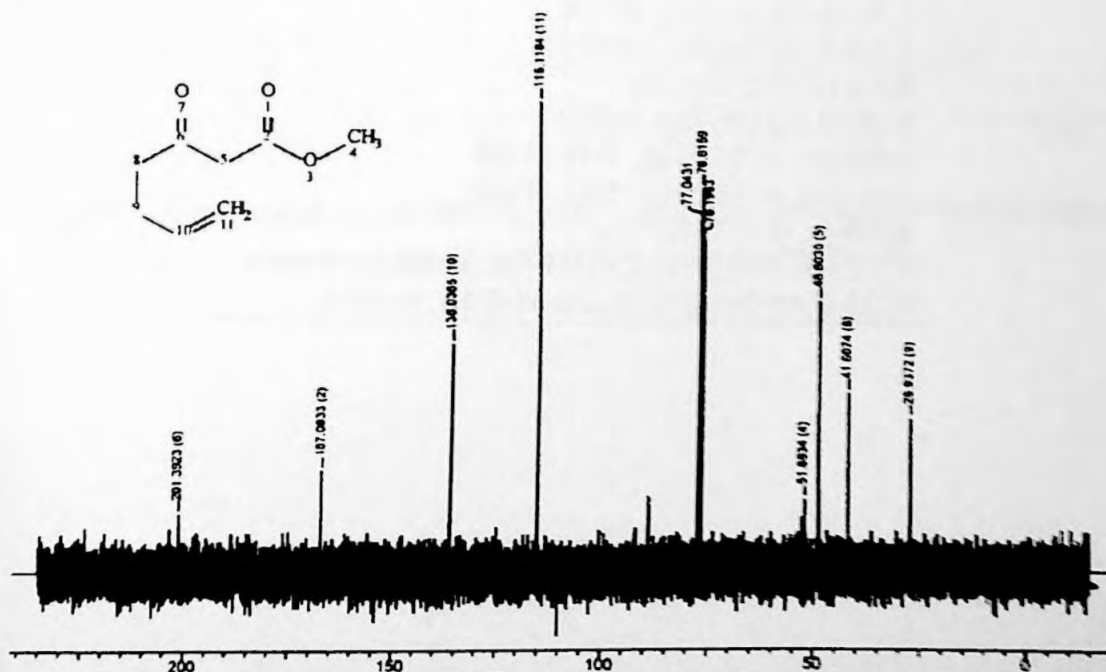
Ponto de ebulição: 85-90 °C (3,8 mmHg)

Dados espectrométricos de RMN-¹H e RMN-¹³C:

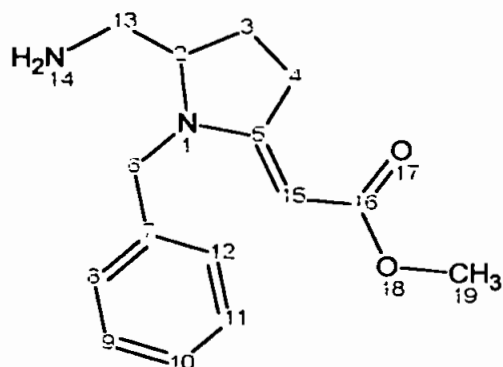
RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)	RMN- ¹³ C (CDCl ₃) δ (ppm)	
2,34 (q, J=7,0Hz, 2H); H-C9	26,9 (C9)	136,0 (C10)
2,65 (t, J=7,0Hz, 2H); H-C8	41,6 (C8)	167,1 (C2)
3,47(s,2H); H-C5	48,6 (C5)	201,4 (C6)
3,74(s,3H); H-C4	51,9 (C4)	~205 (C6-enol)
4,99 (d, J=10,1Hz, 1H); H-C11 (cis)	~80 (C2-enol)	
5,04 (d, J=17,1Hz, 1H); H-C11 (trans)	115,1 (C11)	



ESPECTRO 22 - Espectro de RMN-¹H de 3-oxo-hept-6-enoato de metila (EDO-121)
(δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).



ESPECTRO 23 - Espectro de RMN-¹³C de 3-oxo-hept-6-enoato de metila (EDO-121)
(δ ppm, CDCl₃, 75 Mz).

(5-Aminometil-1-benzil-pirrolidin-2-ilideno)-acetato de metila (EDO-120)

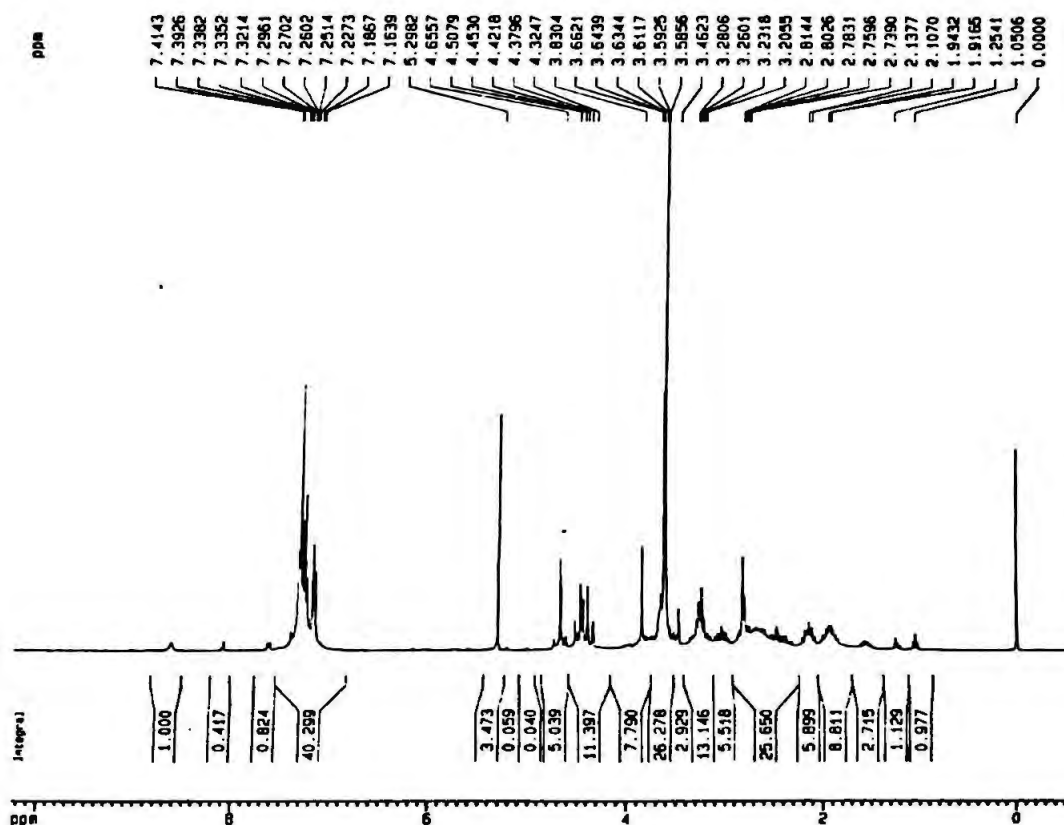
$C_{15}H_{20}N_2O_2$ - MM=260,33 g.mol⁻¹

Rendimento: 2,4 g (9,2 mmol); 91%

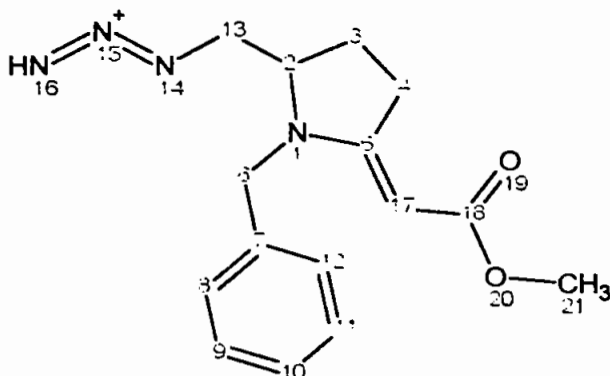
Aspecto: óleo viscoso de cor verde-amarelo claro

Dados espectrométricos de RMN-¹H:

RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)
1,85-2,00 (m,1H); H-C3
2,05-2,20 (m,1H); H-C3
2,30-2,70 (sl,NH ₂); H-N14
2,70-2,90 (m,1H); H-C4
2,90-3,05 (m,1H); H-C4
3,10-3,35 (m,2H); H-C13
3,59 (s,3H); H-C19
3,50-3,70 (m,1H); H-C2
4,35 (d, J=16,5Hz, 1H); H-C6
4,48 (d, J=16,5Hz, 1H); H-C6
4,66 (s,1H); H-C15
7,17 (d, J=6,8Hz, 2H); H-C8, H-C12
7,23-7,41 (m,3H); H-C9, H-C10, H-C11



ESPECTRO 24 - Espectro de RMN^1H de (5-aminometil-1-benzil-pirrolidin-2-ilideno)-acetato de metila (EDO-120) (δ ppm, CDCl_3 , 300 Mz).

(5-Azidometil-1-benzil-pirrolidin-2-ilideno)-acetato de metila (EDO-119)

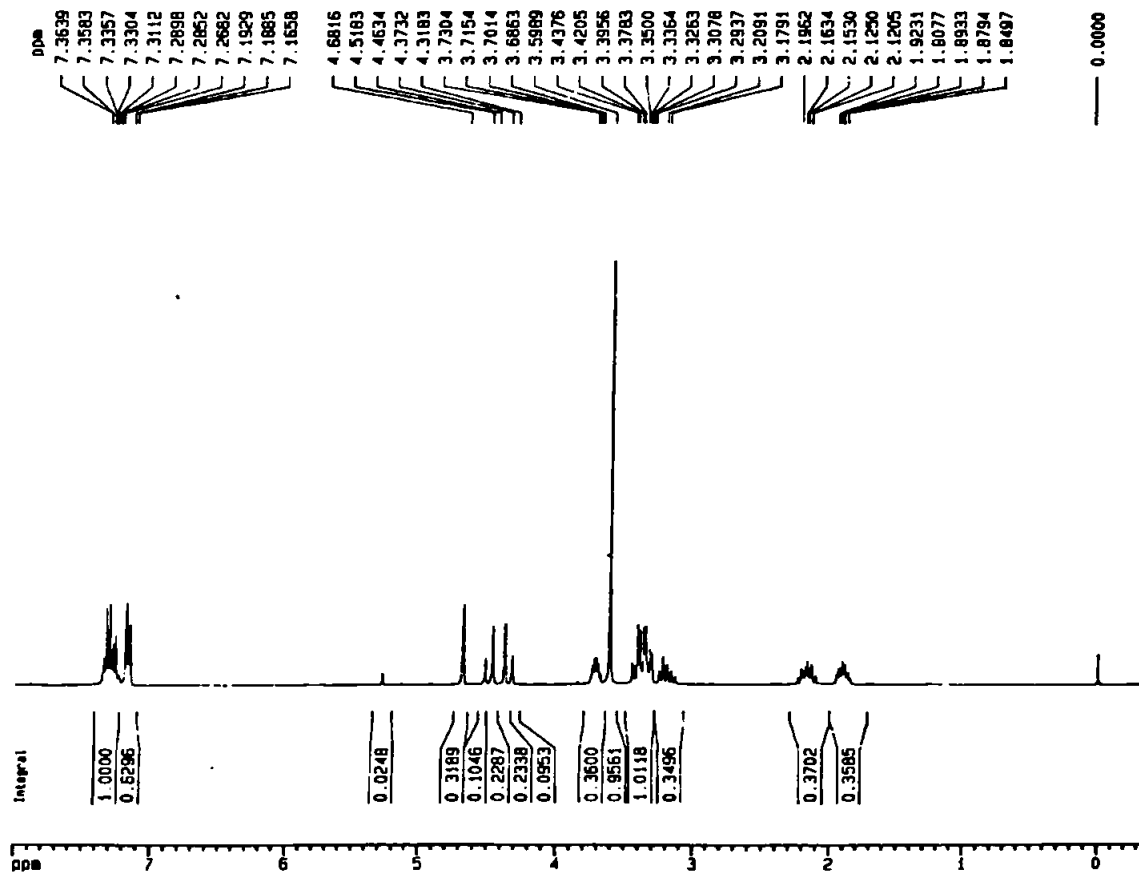
$C_{15}H_{18}N_4O_2$ - $MM=286,33 \text{ g.mol}^{-1}$

Rendimento: 3,45 g (12,1 mmol); 64%

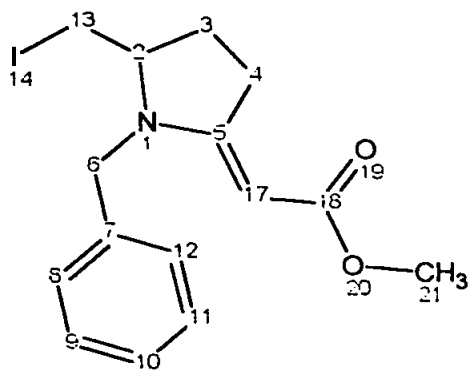
Aspecto: óleo viscoso de cor castanho claro

Dados espectrométricos de RMN- 1H :

RMN- 1H ($CDCl_3$) δ (ppm)
1,84-1,92 (m,1H); H-C3
2,12-2,20 (m,1H); H-C3
3,14-3,24 (m,1H); H-C4
3,29-3,44 (m,1H); H-C4, H-C13
3,60 (s,3H); H-C21
3,68-3,73 (m,1H); H-C2
4,35 (d, $J=16,5\text{Hz}$, 1H); H-C6
4,49 (d, $J=16,5\text{Hz}$, 1H); H-C6
4,68 (s,1H); H-C17
7,17 (d, $J=6,8\text{Hz}$, 2H); H-C8, H-C12
7,26-7,36 (m, 3H); H-C9, H-C10, H-C11



ESPECTRO 25 - Espectro de RMN-¹H de (5-azidometil-1-benzil-pirrolidin-2-ilideno)-acetato de metila (EDO-119) (δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).

(1-Benzil-5-iodometil-pirrolidin-2-ilideno)-acetato de metila (EDO-117)

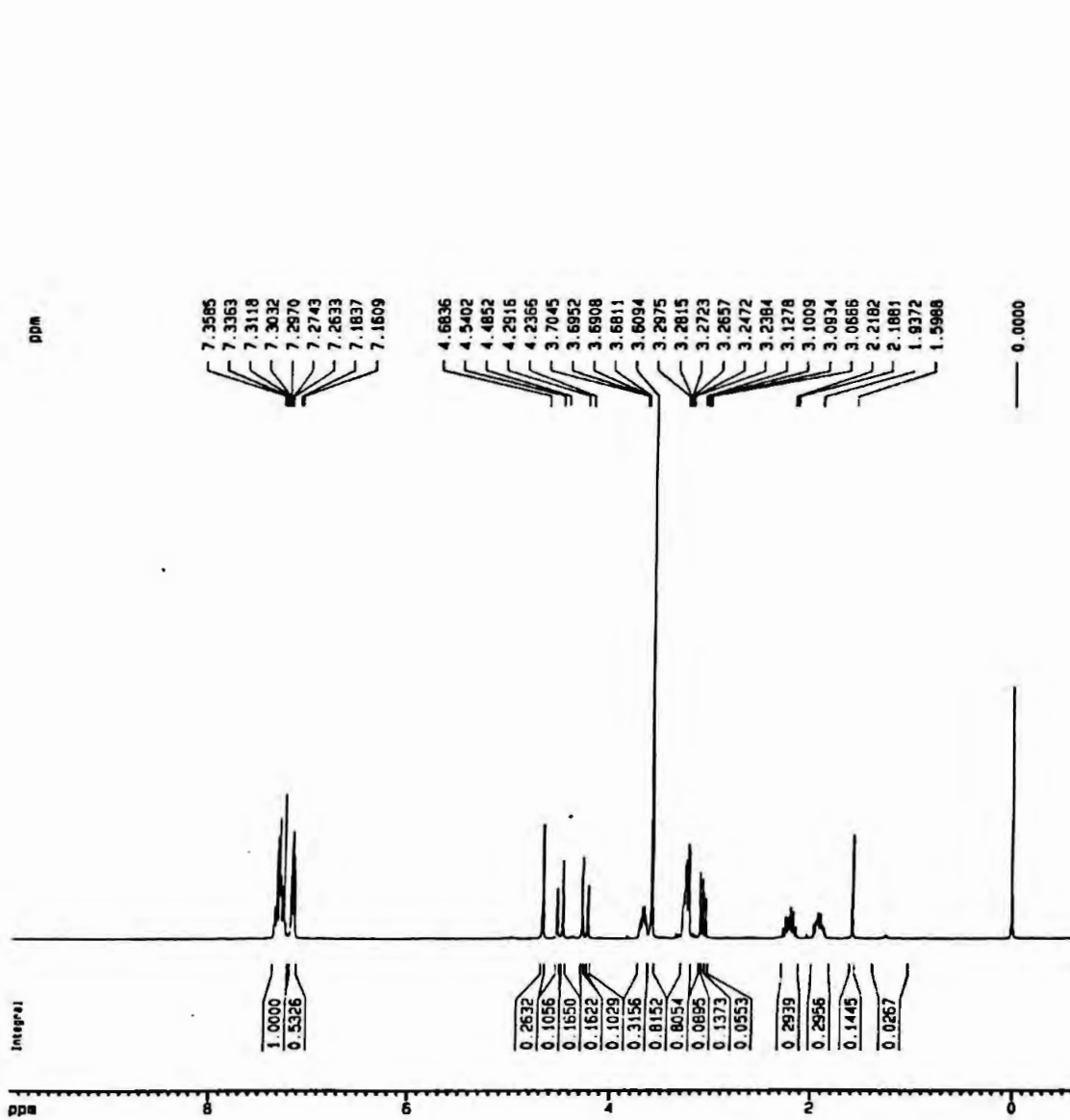
$C_{17}H_{18}INO_2$ - MM=371,21 g.mol⁻¹

Rendimento: 7,62 g (20,5 mmol); 53%

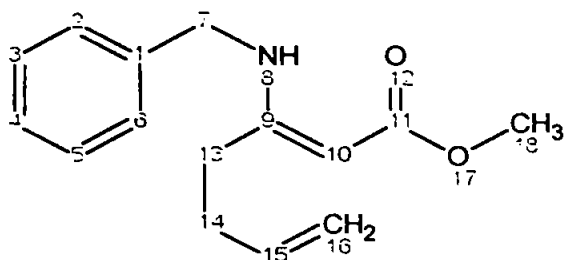
Aspecto: sólido cristalino de cor levemente amarelada

Dados espectrométricos de RMN-¹H:

RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)
1,85-2,00 (m, 1H); H-C3
2,15-2,30 (m, 1H); H-C3
3,09 (dd, J=8,1 e 10,3Hz, 1H); H-C4 anti
3,26 (dd, J=2,6 e 10,3Hz, 1H); H-C4 gauche
3,61 (s, 3H); H-C19
3,65-3,75 (m, 1H); H-C2
4,26 (d, J=16,5Hz, 1H); H-C6
4,50 (d, J=16,5Hz, 1H); H-C6
4,68 (s, 1H); H-C15
7,17 (d, J=6,8Hz, 2H); H-C8 e H-C12
7,25-7,36 (m, 3H); H-C9, H-C10 e H-C11



ESPECTRO 26 - Espectro de RMN- ^1H de (1-benzil-5-iodometil-pirrolidin-2-ilideno)-acetato de metila (EDO-117) (δ ppm, CDCl_3 , 300 Mz).

3-Benzilamino-hepta-2,6-dienoato de metila (EDO-116)

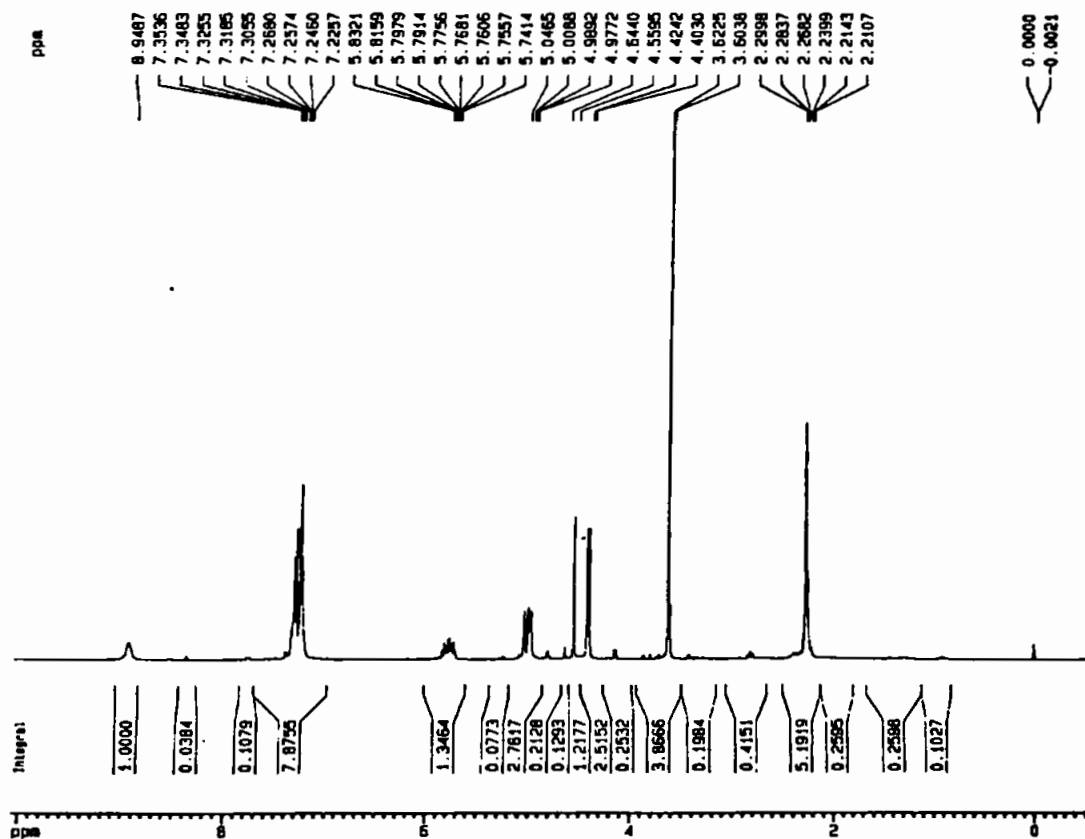
$C_{15}H_{19}NO_2$ - MM=245,32 g.mol⁻¹

Rendimento: 10,0 g (40,9 mmol); 98%

Aspecto: óleo viscoso de cor amarelo claro

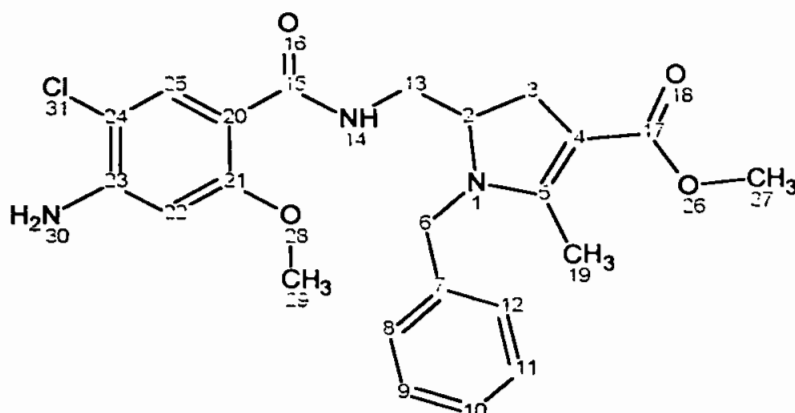
Dados espectrométricos de RMN-¹H:

RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)
2,23-2,30 (m,4H); H-C13, H-C14
3,62 (s,3H); H-C18
4,41 (d, J=6,4Hz, 2H); H-C7
4,56 (s,1H); H-C10
4,99 (d, J=9,5Hz, 1H); H-C16 cis
5,02 (d, J=17,2Hz, 1H); H-C16 trans
5,72-5,85 (m,1H); H-C15
7,22-7,35 (m,5H); H-C2, H-C3, H-C4, H-C5, H-C6
8,95 (sl, NH); H-N8



ESPECTRO 27 - Espectro de RMN^1H de 3-benzilamino-hepta-2,6-dienoato de metila (EDO-116) (δ ppm, CDCl_3 , 300 Mz).

5-[(4-Amino-5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-1-benzil-2-metil-4,5-diidro-1H-pirrol-3-carboxilato de metila (EDO-148)



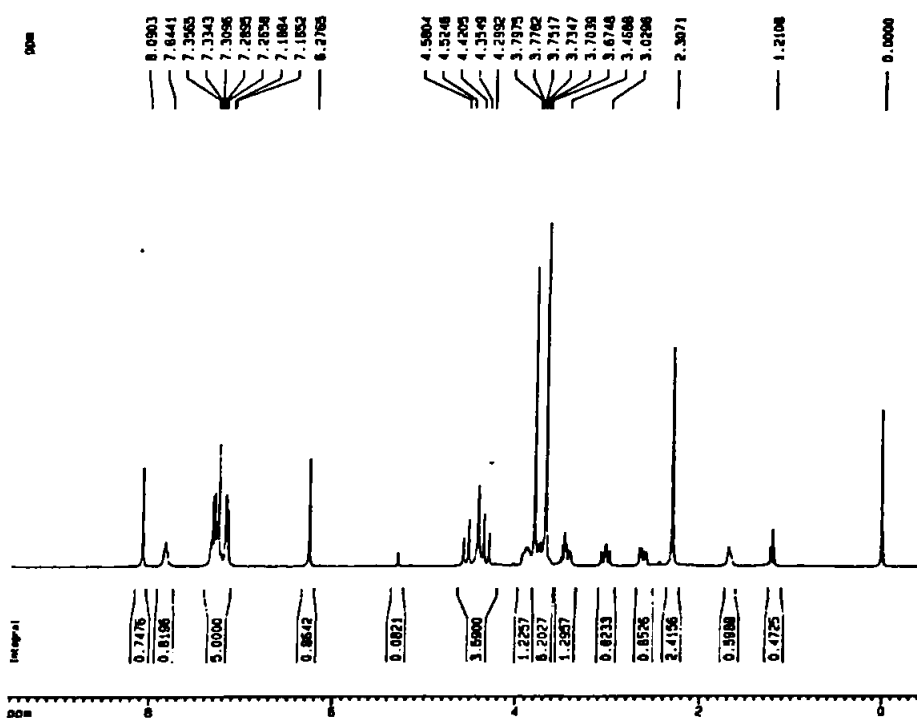
$C_{23}H_{26}ClN_3O_4$ - MM=443,92 g.mol⁻¹

Rendimento: 0,3 g (0,7 mmol); 74%

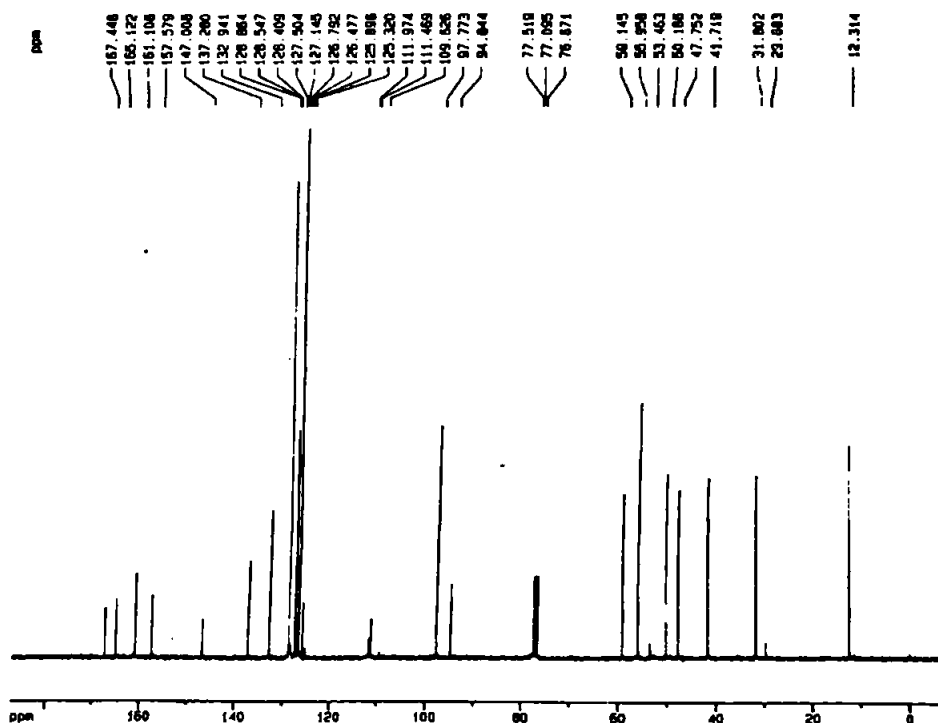
Aspecto: sólido cristalino de cor levemente amarelada

Dados espectrométricos de RMN-¹H e RMN-¹³C:

RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)	RMN- ¹³ C (CDCl ₃) δ (ppm)	
2,31 (s,3H); H-C19	12,31 (C19)	147,01 (C23)
2,62 (dd, J=6,8 e 14,9Hz, 1H); H-C3 gauche	31,80 (C3)	157,57 (C21)
3,03 (t, J=14,9Hz, 1H); H-C3 anti	41,72 (C13)	161,11 (C5)
3,45-3,51 (m,1H); H-C13 gauche	47,75 (C6)	165,12 (C17)
3,67 (s,3H); H-C27	50,19 (C27)	167,45 (C15)
3,67-3,78 (m,1H); H-C13 anti	55,96 (C29)	
3,80 (s,3H); H-C29	59,15 (C2)	
3,81-3,94 (m,1H); H-C2	94,84 (C4)	
4,33 (d, J=16,7Hz, 1H); H-C6	97,77 (C22)	
4,42 (sl, NH ₂); H-N30	111,47 (C20)	
4,55 (d, J=16,7Hz, H); H-C6	111,97 (C24)	
6,27 (s,1H); H-C22	126,80 (C8,C12)	
7,17 (d, J=6,9Hz, 2H); H-C8, H-C12	127,50 (C10)	
7,25-7,36 (m,3H); H-C9, H-C10 e H-C11	128,86 (C9,C11)	
7,84 (sl, NH); H-N14	132,94 (C25)	
8,09 (s,1H); H-C15	137,28 (C7)	

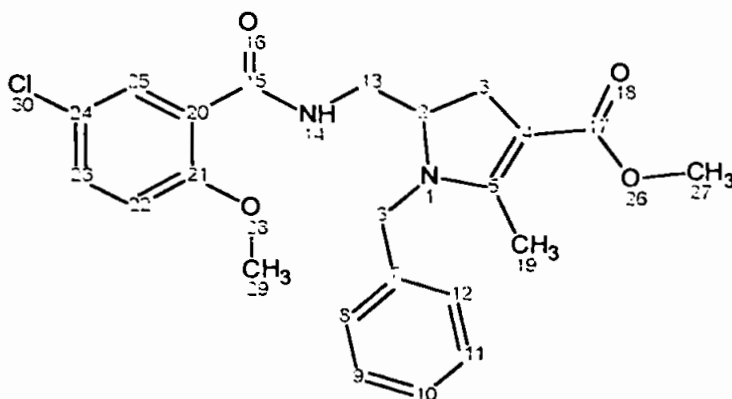


ESPECTRO 28 - Espectro de RMN-¹H de 5-[(4-amino-5-cloro-2-metoxi-benzollamino)-metil]-1-benzil-2-metil-4,5-diidro-1H-pirrol-3-carboxilato de metila (EDO-148)
(δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).



ESPECTRO 29 - Espectro de RMN-¹³C de 5-[(4-amino-5-cloro-2-metoxi-benzollamino)-metil]-1-benzil-2-metil-4,5-diidro-1H-pirrol-3-carboxilato de metila (EDO-148)
(δ ppm, CDCl₃, 75 Mz).

1-Benzil-5-[(5-cloro-2-metoxi-benzoilamino)-metil]-2-metil-4,5-diidro-1H-pirrol-3-carboxilato de metila (EDO-149)



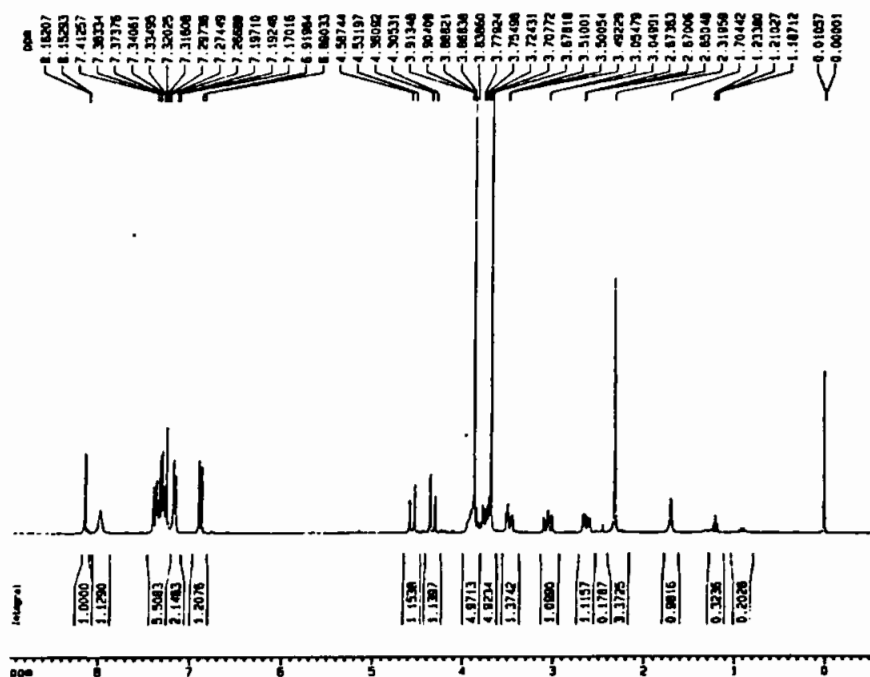
$C_{23}H_{25}ClN_2O_4$ - MM=428,91 g.mol⁻¹

Rendimento: 0,37 g (0,86 mmol); 75%

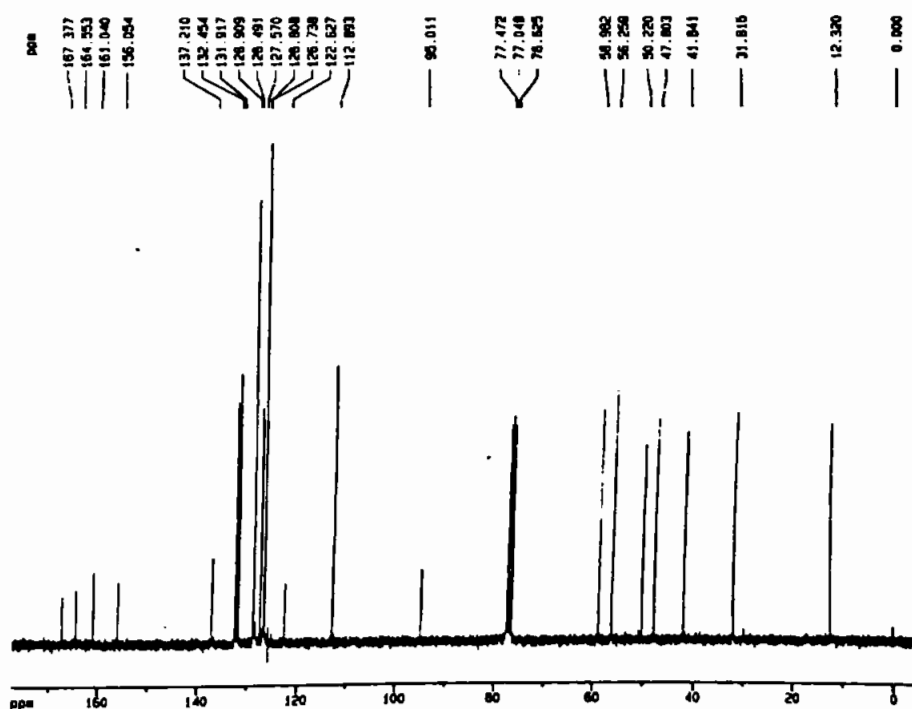
Aspecto: sólido cristalino de cor levemente amarelada

Dados espectrométricos de RMN-¹H e RMN-¹³C:

RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)	RMN- ¹³ C (CDCl ₃) δ (ppm)	
2,32 (s,3H); H-C19	12,32 (C19)	137,21 (C7)
2,63 (dd, J=6,9 e 14,0Hz, 1H); H-C3 gauche	31,81 (C3)	156,05 (C1)
3,05 (t, J=14,0Hz, 1H); H-C3 anti	41,84 (C13)	161,04 (C5)
3,43-3,51 (m,1H); H-C13 gauche	47,80 (C6)	164,55 (C17)
3,67 (s,3H); H-C27	50,22 (C27)	167,38 (C15)
3,60-3,78 (m,1H); H-C13 anti	56,26 (C29)	
3,87 (s,3H); H-C29	58,98 (C2)	
3,86-3,94 (m,1H); H-C2	95,01 (C4)	
4,33 (d, J=16,7Hz); H-C6	112,89 (C22)	
4,55 (d, J=16,7Hz); H-C6	122,63 (C20)	
6,91 (d, J=8,8Hz, 1H); H-C22	126,74 (C24)	
7,18 (d, J=6,7Hz, 2H); H-C8 e H-C12	126,80 (C10)	
7,25-7,37 (m, 3H); H-C9, H-C10 e H-C11	127,57 (C8,C12)	
7,39 (dd, J=2,8 e 8,8Hz, 1H); H-C23	128,91 (C9,C11)	
7,98 (t, J=4,1Hz, NH); H-N14	131,92 (C23)	
8,16 (d, J=2,8Hz, 1H); H-C25	132,45 (C25)	

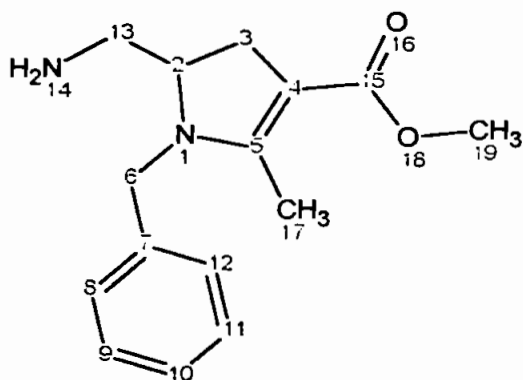


ESPECTRO 30 - Espectro de RMN-¹H de 1-benzil-5-[(5-cloro-2-metoxi-benzoylamino)-metil]-2-metil-4,5-diidro-1H-pirrol-3-carboxilato de metila (EDO-149) (δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).



ESPECTRO 31 - Espectro de RMN-¹³C de 1-benzil-5-[(5-cloro-2-metoxi-benzoylamino)-metil]-2-metil-4,5-diidro-1H-pirrol-3-carboxilato de metila (EDO-149) (δ ppm, CDCl₃, 75 Mz).

5-Aminometil-1-benzil-2-metil-4,5-diidro-1H-pirrol-3-carboxilato de metila (EDO-147)



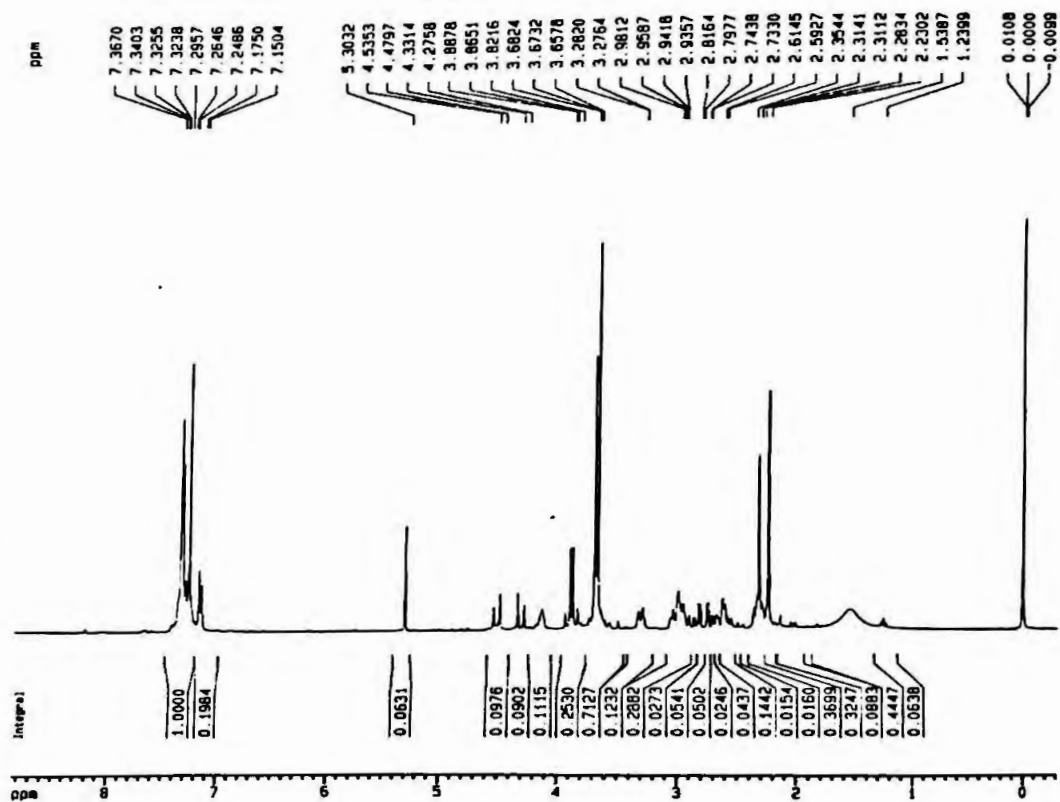
$C_{15}H_{12}N_2O_2$ - $MM=260,33 \text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$

Rendimento: 0,5 g (2,1 mmol); 70%

Aspecto: óleo viscoso de cor amarelo claro

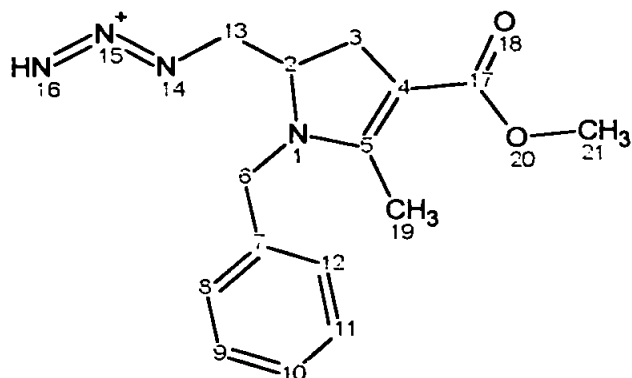
Dados espectrométricos de RMN- ^1H :

RMN- ^1H (CDCl_3) δ (ppm)
2,23 (s,3H); H-C17
2,35 (sl, NH ₂); H-N14
2,50-3,05 (m,2H); H-C3
3,66 (s,3H); H-C19
3,84 (d, J=13,1Hz, 1H); H-C13
3,91 (d, J=13,1Hz, 1H); H-C13
4,30 (d, J=16,7Hz, 1H); H-C6
4,40 (d, J=16,7Hz, 1H); H-C6
7,16 (d, J=7,4Hz, 2H); H-C8 e H-C12
7,24-7,37 (m,2H); H-C9, H-C10 e H-C11



ESPECTRO 32 - Espectro de RMN-¹H de 5-aminometil-1-benzil-2-metil-4,5-diidro-1H-pirrol-3-carboxilato de metila (EDO-147) (δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).

5-Azidometil-1-benzil-2-metil-4,5-diidro-1H-pirrol-3-carboxilato de metila (EDO-144)



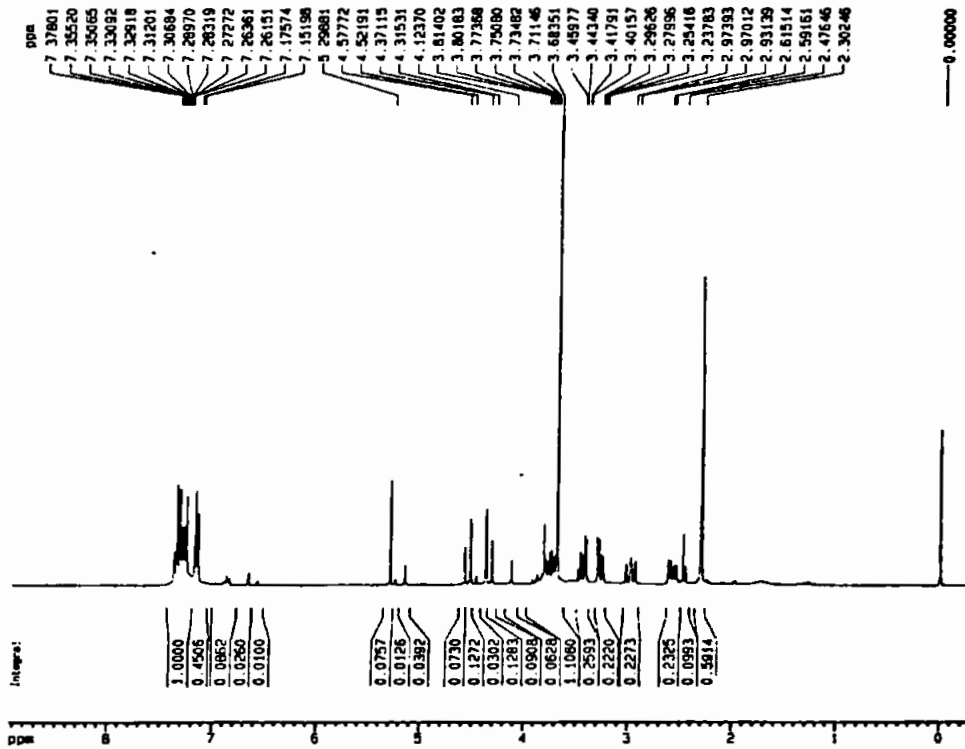
$C_{15}H_{18}N_4O_2$ - MM=286,33 g.mol⁻¹

Rendimento: 1,1 g (3,8 mmol); 61%

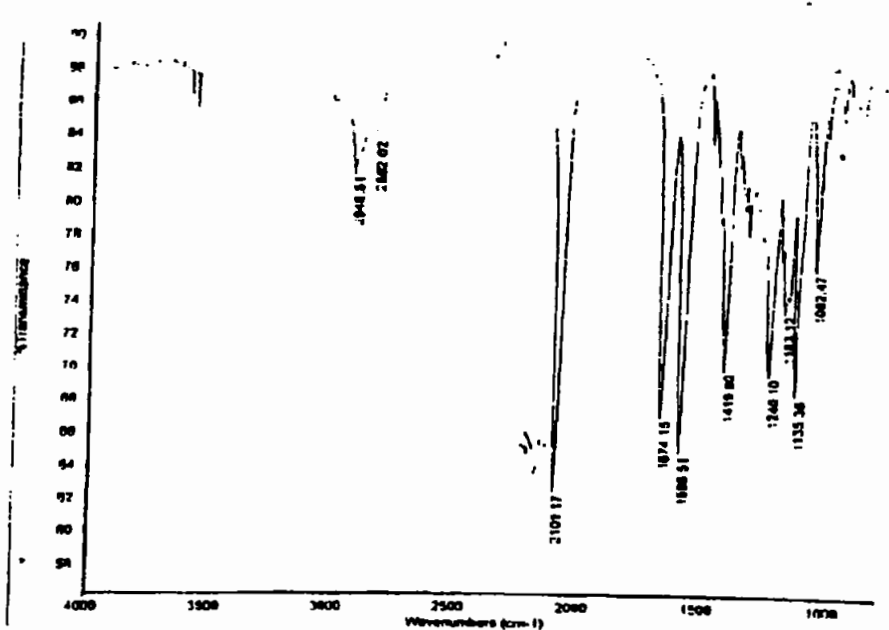
Aspecto: óleo viscoso de cor castanho claro

Dados espectrométricos de RMN-¹H:

RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)
2,30 (s, 3H); H-C19
2,57 (ddq, J=1,3; 7,1 e 15,0Hz; 1H); H-C3 gauche
2,98 (ddq, J=1,3; 11,6 e 15,0Hz; 1H); H-C3 anti
3,26 (dd, J=4,9 e 12,6Hz; 1H); H-C13 gauche
3,42 (dd, J=4,9 e 12,6Hz; 1H); H-C13 anti
3,68 (s, 3H); H-C21
3,68-3,83 (m, 1H); H-C2
4,35 (d, J=16,7Hz, 1H); H-C6
4,55 (d, J=16,7Hz, 1H); H-C6
7,16 (d, J=7,1Hz, 2H); H-C8 e H-C12
7,26-7,39 (m, 3H); H-C9, H-C10 e H-C11

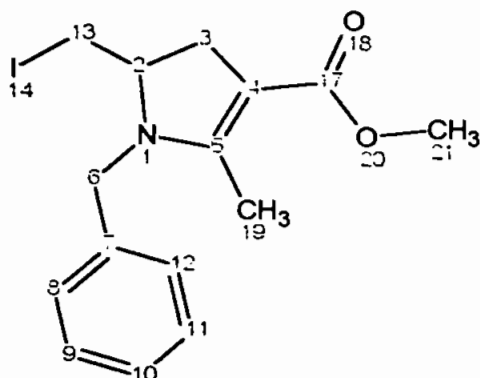


ESPECTRO 33 - Espectro de RMN-¹H de 5-azidometil-1-benzil-2-metil-4,5-diidro-1H-pirrol-3-carboxilato de metila (EDO-144) (δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).



ESPECTRO 34 - Espectro de Infra-vermelho de 5-azidometil-1-benzil-2-metil-4,5-diidro-1H-pirrol-3-carboxilato de metila (EDO-144).

1-Benzil-5-iodometil-2-metil-4,5-diidro-1H-pirrol-3-carboxilato de metila (EDO-143)



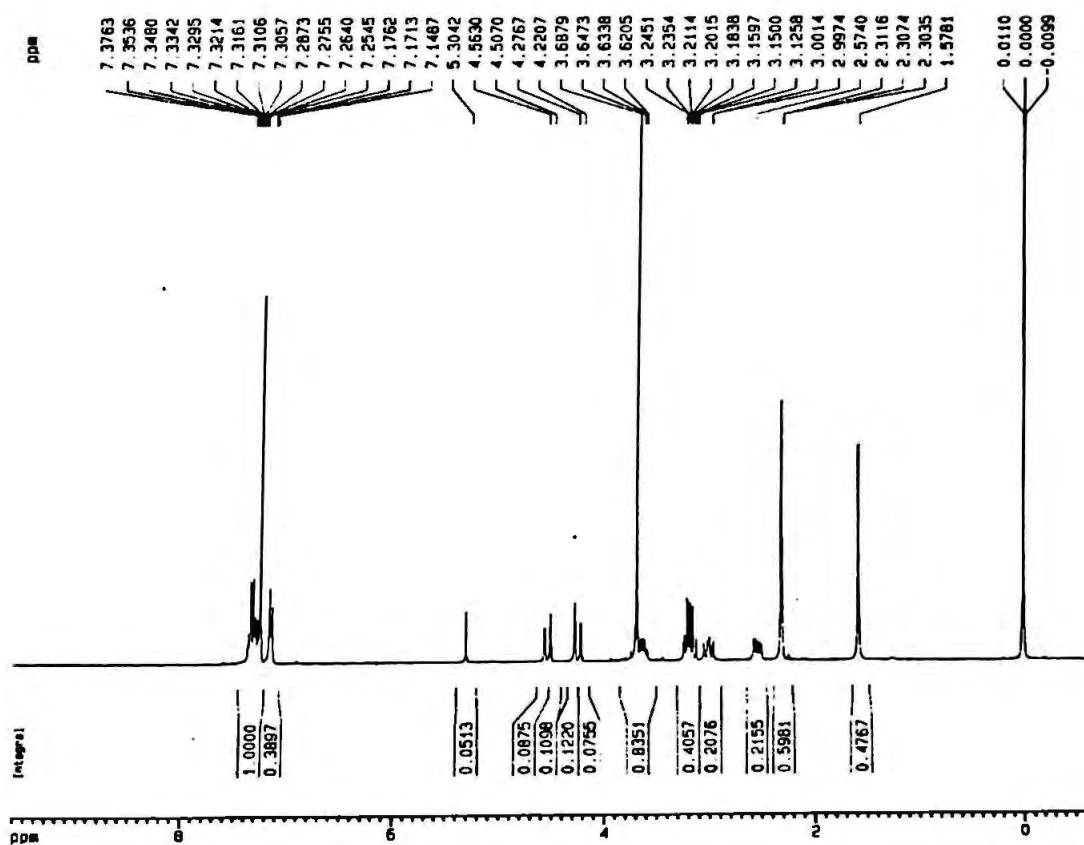
$C_{15}H_{18}INO_2$ - MM=371,21 g.mol⁻¹

Rendimento: 3,2 g (8,5 mmol); 52,5%

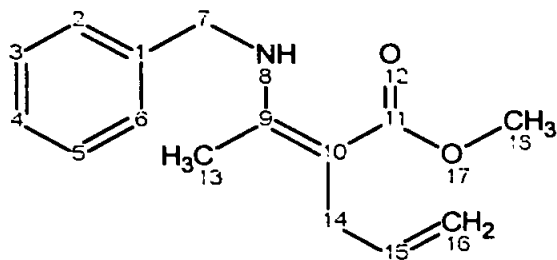
Aspecto: sólido cristalino de cor levemente amarelada

Dados espectrométricos de RMN-¹H:

RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)
2,31 (t, J=1,3Hz, 3H); H-C19
2,54 (ddq, J=1,3; 7,3 e 15,1Hz; 1H); H-C3 gauche
3,01 (ddq, J=1,3; 11, e 15,1Hz; 1H); H-C3 anti
3,15 (dd, J=7,3 e 10,2Hz, 1H); H-C13 anti
3,22 (dd, J=3,0 e 10,2Hz, 1H); H-C13 gauche
3,58-3,70 (m, 1H); H-C2
3,68 (s, 3H); H-C21
7,16 (d, J=6,8Hz, 2H); H-C8 e H-C12
7,25-7,70 (m, 3H); H-C9, H-C10 e H-C11



ESPECTRO 35 - Espectro de RMN- ^1H de 1-benzil-5-iodometil-2-metil-4,5-diidro-1H-pirrol-3-carboxilato de metila (EDO-143) (δ ppm, CDCl_3 , 300 Mz).

2-(1-Benzilamino-etilideno)-pent-4-enoato de metila (EDO-141)

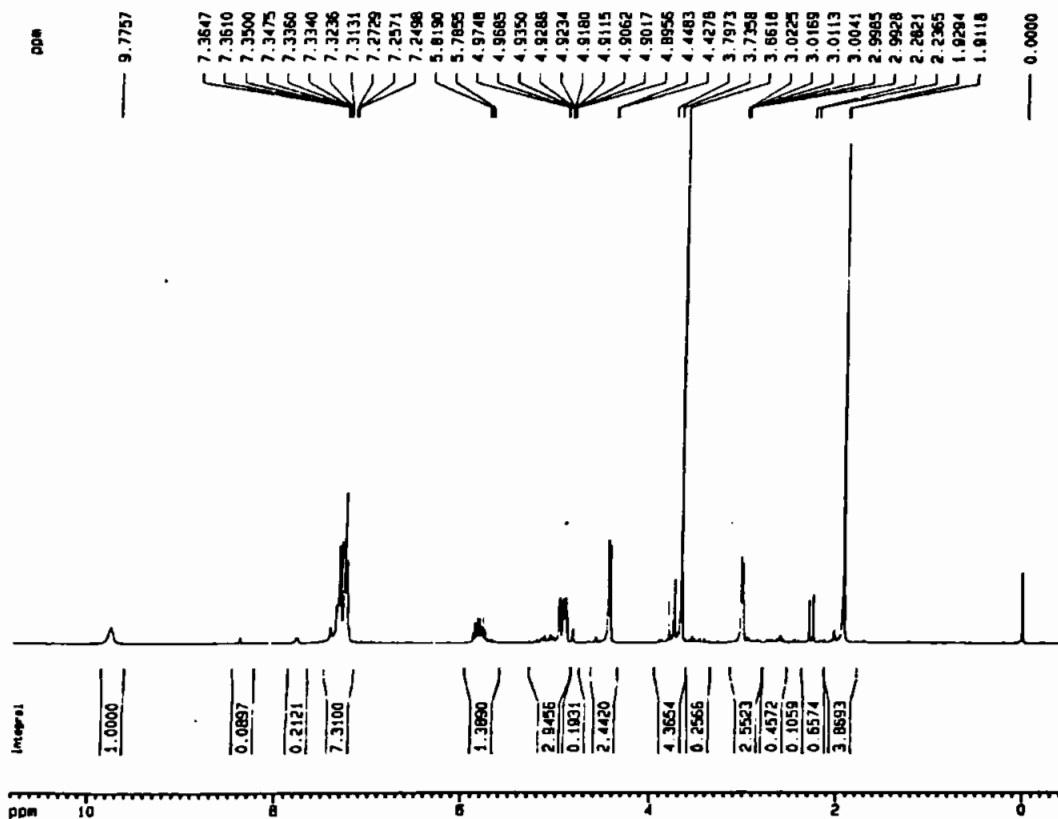
$C_{15}H_{19}NO_2$ - MM=245,32 g.mol⁻¹

Rendimento: 4,2 g (17,1 mmol); 85%

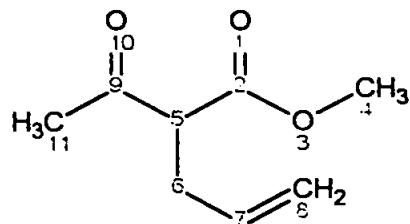
Aspecto: óleo viscoso de cor amarelo claro

Dados espectrométricos de RMN-¹H:

RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)
1,91 (s,3H); H-C13
3,01 (dt, J=1,7; 5,5Hz, 2H); H-C14
3,66 (s,3H); H-C18
4,43 (d, J=6,2Hz, 2H); H-C7
4,88-4,98 (m,2H); H-C16
5,76-5,88 (m,1H); H-C15
7,22-7,43 (m,5H); H-C2, H-C3, H-C4, H-C5, H-C6
9,78 (sl, NH); H-N8



ESPECTRO 36 - Espectro de RMN- ^1H de 2-(1-benzilamino-etilideno)-pent-4-enoato de metila (EDO-141) (δ ppm, CDCl_3 , 300 Mz).

2-Acetil-pent-4-enoato de metila (EDO-115)

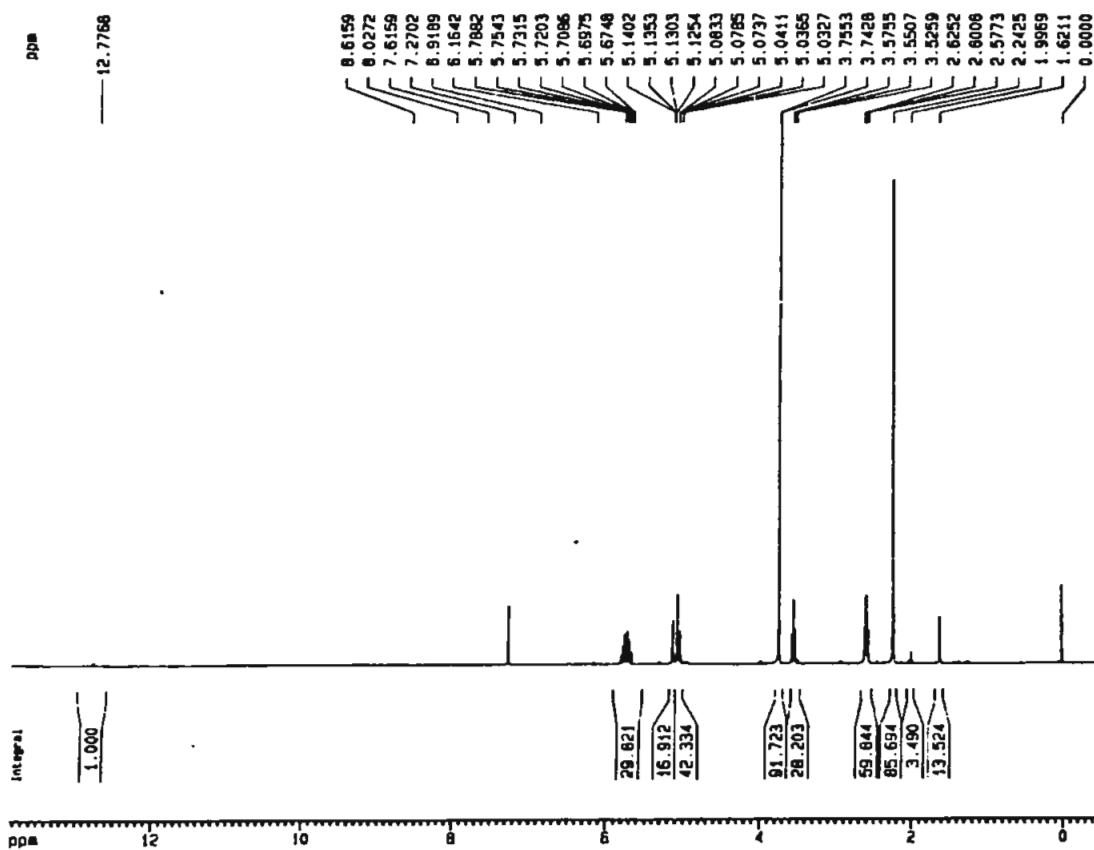
$C_8H_{12}O_3$ - MM=156,18 g.mol⁻¹

Rendimento: 4,0 g (25,6 mmol); 26%

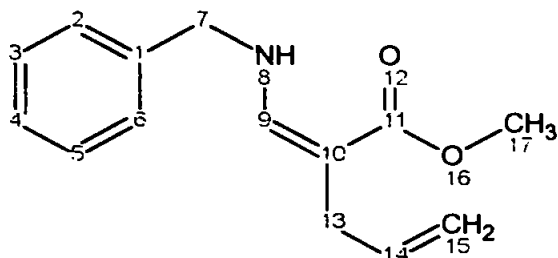
Aspecto: líquido oleoso incolor

Dados espectrométricos de RMN-¹H:

RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)
2,24 (s,3H); H-C11
2,60 (t, J=7,4Hz, 2H); H-C6
3,55 (t, J=7,4 Hz, 1H); H-C5
3,74 (s,3H); H-C4
5,06 (d, J=11,2Hz, 1H); H-C8 cis
5,10 (d, J=15,6Hz, 1H); H-C8 trans
5,67-5,79 (m,1H); H-C7



ESPECTRO 37 - Espectro de RMN-¹H 2-acetil-pent-4-enoato de metila (EDO-115)
(δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).

2-(Benzilamino-metileno)-pent-4-enoato de metila (EDO-136)

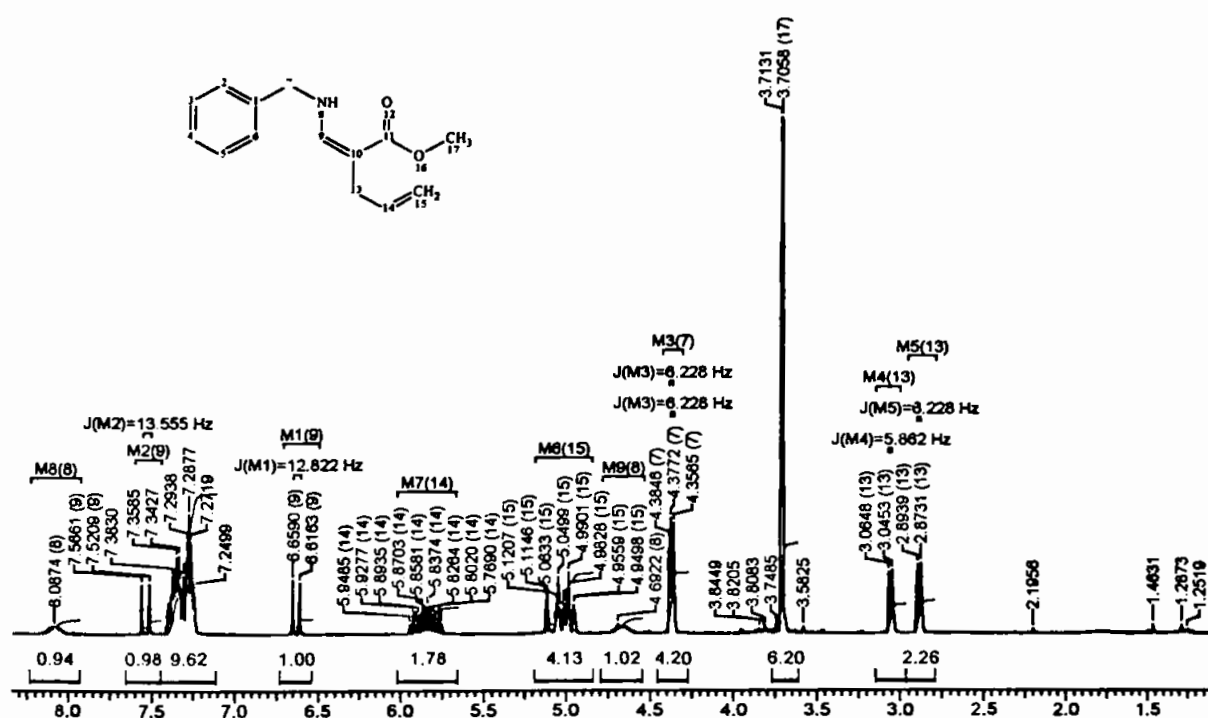
$C_{14}H_{17}NO_2$ - MM=231,29 g.mol⁻¹

Rendimento: 3,5 g (15 mmol); 30%

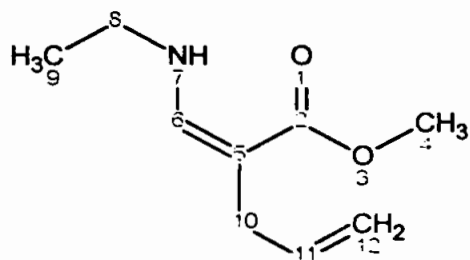
Aspecto: óleo viscoso de cor amarelo claro

Dados espectrométricos de RMN-¹H:

RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)
2,88 (d, J=6,2Hz, 2H); H-C13 (Z)
3,05 (d, J=5,8Hz, 2H); H-C13 (E)
3,71 (s, 3H); H-C17
4,35-4,39 (m, 2H); H-C7 (Z+E)
4,69 (sl, NH); H-N8
4,94-5,12 (m, 2H); H-C15
5,77-5,95 (m, 1H); H-C14
6,63 (d, J=12,8Hz, 1H); H-C9 (Z)
7,24-7,40 (m, 5H); H-C2, H-C3, H-C4, H-C5, H-C6
7,54 (d, J=13,6Hz, 1H); H-C9 (E)
8,09 (sl, NH); H-N8 (Z)



ESPECTRO 38 - Espectro de RMN-¹H de 2-(benzilamino-metileno)-pent-4-enoato de metila (EDO-136) (δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).

2-Etilaminometileno-pent-4-enoato de metila (EDO-040)*

$C_9H_{15}NO_2$ - MM=169,22 g.mol⁻¹

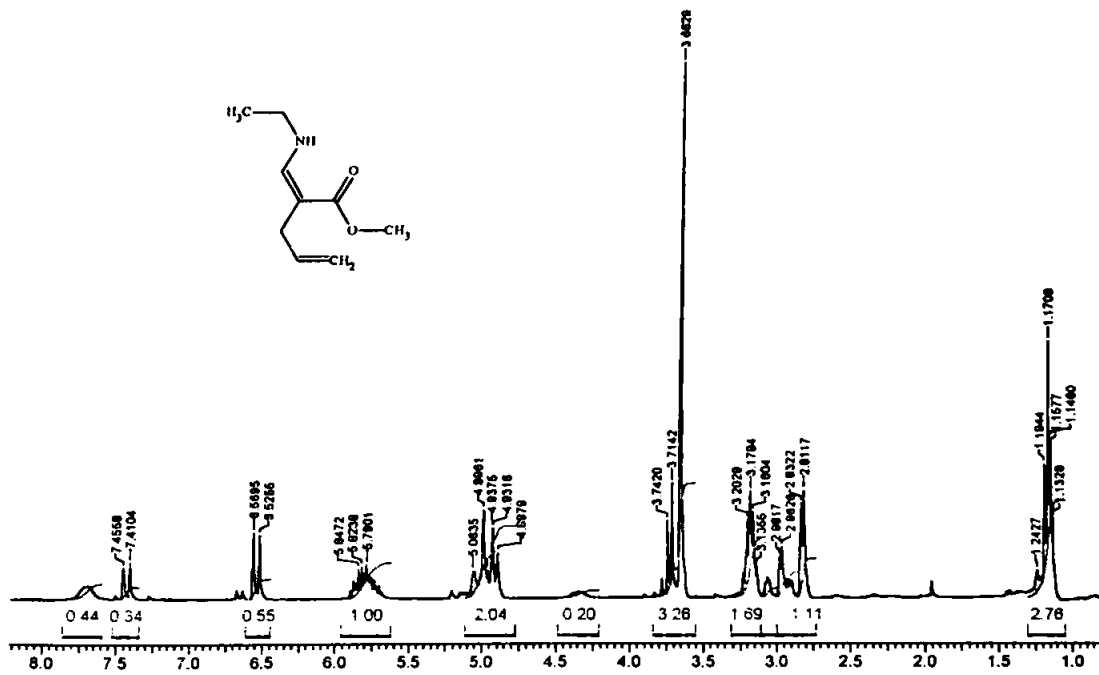
Rendimento: 0,38 g (2,3 mmol); 100%

Aspecto: óleo viscoso de cor amarelo claro

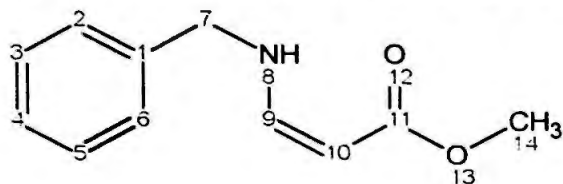
Dados espectrométricos de RMN-¹H:

RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)
1,13-1,23 (m,3H); H-C9
2,82 (d, J=6,2Hz, 2H); H-C10 (Z)
2,97 (d, J=5,7Hz, 2H); H-C10 (E)
3,13-3,21 (m,2H); H-C8
3,66 (s,3H); H-C4
4,30 (sl, NH); H-N7 (E)
4,89-5,06 (m,2H); H-C12
5,60-5,80 (m,1H); H-C11
6,54 (d, J=13,2Hz, 1H); H-C6 (Z)
7,43 (d, J=13,6Hz, 1H); H-C6 (E)
7,70 (sl, NH); H-N7 (Z)

* Produto bruto, analisado sem purificação prévia.



ESPECTRO 39 - Espectro de RMN¹-H de 2-etilaminometileno-pent-4-enoato de metila (EDO-040) (δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).

3-Benzilamino-acrilato de metila (EDO-134)

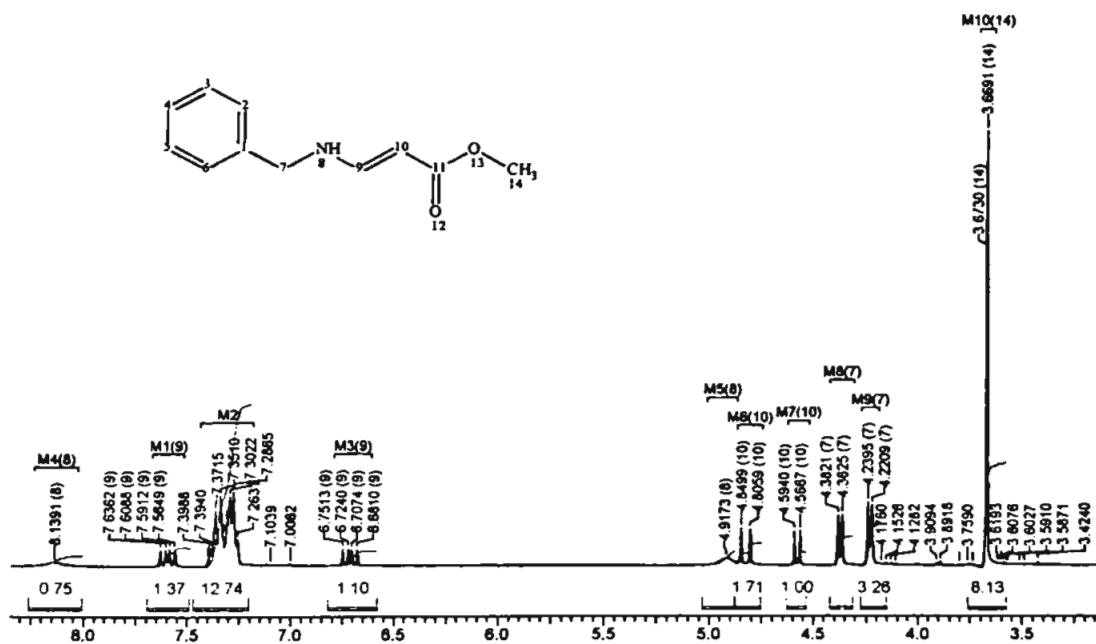
$C_{15}H_{19}NO_2$ - MM=245,32 g.mol⁻¹

Rendimento: 9,7 g (50 mmol); 100%

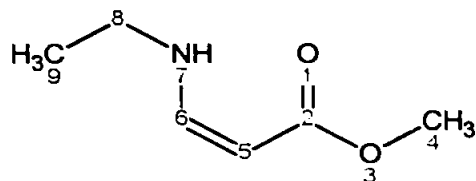
Aspecto: óleo viscoso de cor amarelo claro

Dados espectrométricos de RMN-¹H:

RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)
3,67 (s,3H); H-C14
4,23 (d, J=5,6Hz, 2H); H-C7 (trans)
4,37 (d, J=5,9Hz, 2H); H-C7 (cis)
4,58 (d, J=8,2Hz, 1H); H-C10 (cis)
4,82 (d, J=13,2Hz, 1H); H-C10 (trans)
4,91 (m,NH); H-N8 (trans)
6,71 (dd, J=8,2 e 13,2Hz, 1H); H-C9 (cis)
7,26-7,40 (m,5H); H-C2, H-C3, H-C4, H-C5, H-C6
7,60 (dd, J=8,2 e 13,5Hz, 1H); H-C9 (trans)
8,14 (m,NH); H-N8 (cis)



ESPECTRO 40 - Espectro de RMN-¹H de 3-Benzilamino-acrilato de metila (EDO-134)
(δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).

3-Etilamino-acrilato de metila (EDO-094)

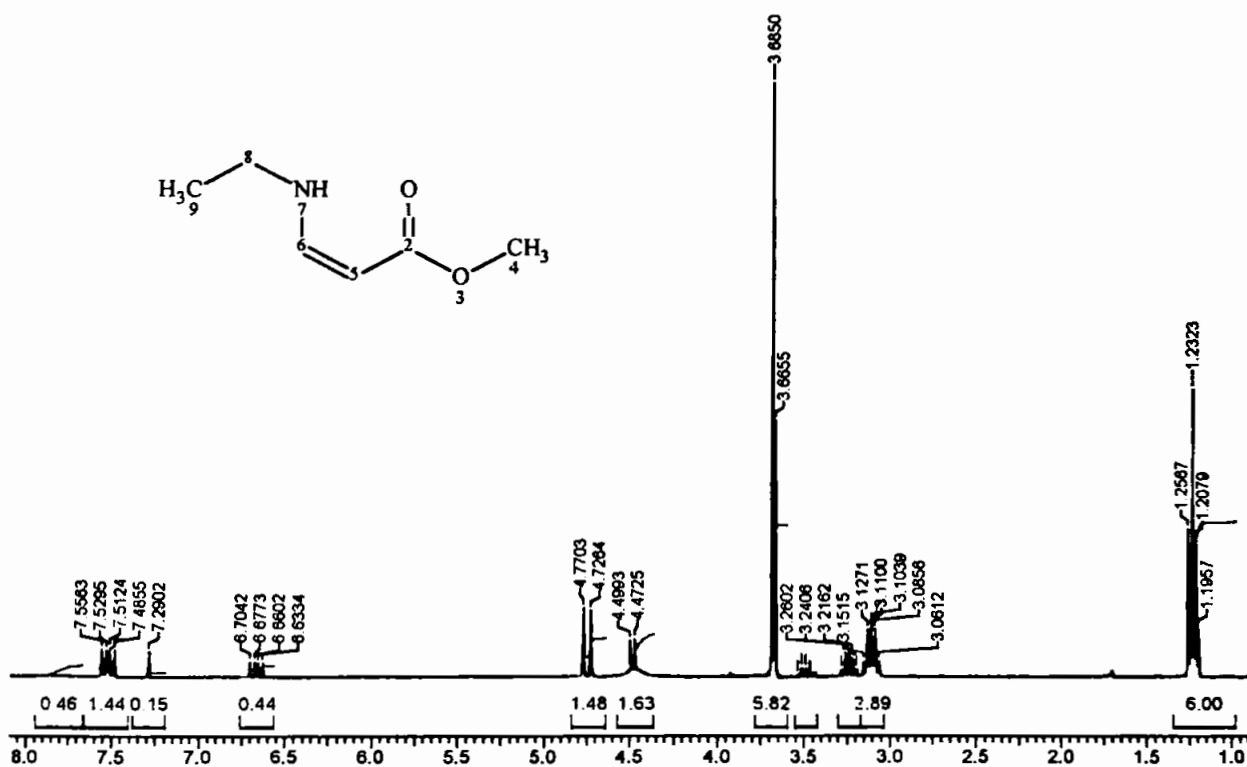
$C_6H_{11}NO_2$ - MM=129,16 g.mol⁻¹

Rendimento: 4,3 g (33,7 mmol); 67%

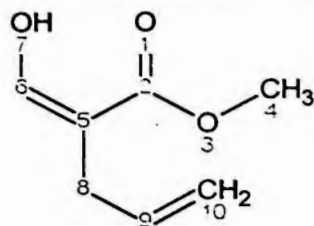
Aspecto: sólido cristalino de cor amarelo claro

Dados espectrométricos de RMN-¹H:

RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)
1,19-1,26 (m,3H); H-C9 (cis+trans)
3,06-3,26 (m,2H); H-C8 (cis+trans)
4,48 (d, J=8,0Hz, 1H); H-C5 (cis)
4,45-4,50 (m,NH); H-N7 (trans)
4,75 (d, J=13,2Hz, 1H); H-C5 (trans)
6,67 (dd, J=8,0 e 13,2Hz, 1H); H-C6 (cis)
7,52 (dd, J=8,2 e 13,2Hz, 1H); H-C6 (trans)
7,70-8,00 (m,NH); H-N7 (cis)



ESPECTRO 41 - Espectro de RMN^1H de 3-etilamino-acrilato de metila (EDO-094)
(δ ppm, CDCl_3 , 300 Mz).

2-Hidroximetileno-pent-4-enoato de metila (EDO-026)

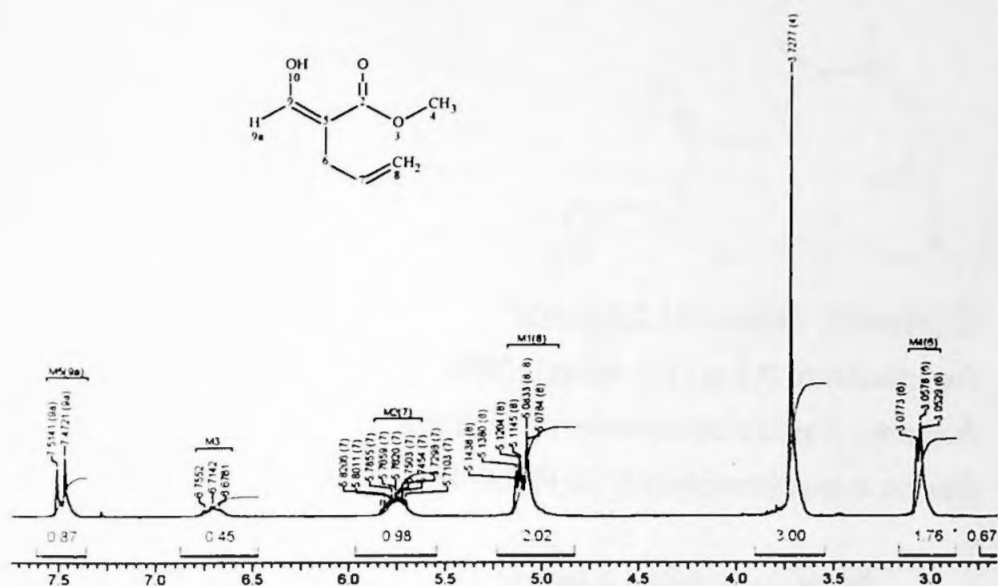
$C_7H_{10}O_3$ - MM=142,16 g.mol⁻¹

Rendimento: 0,32 g (2,3 mmol); 11%

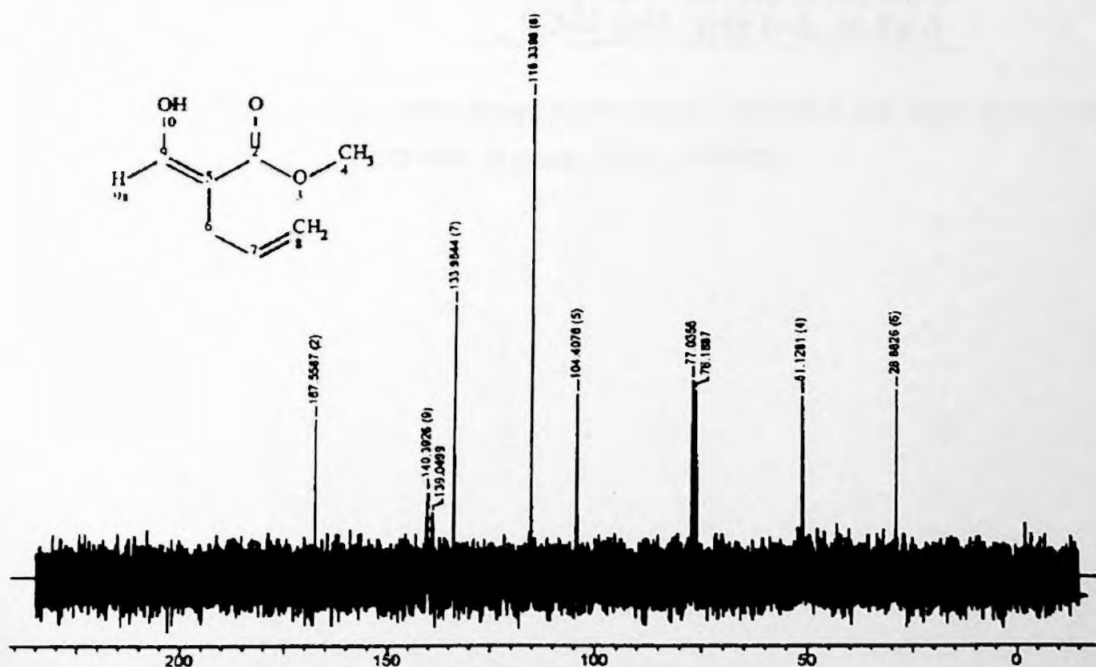
Aspecto: óleo viscoso de cor amarelo claro

Dados espectrométricos de RMN-¹H e RMN-¹³C:

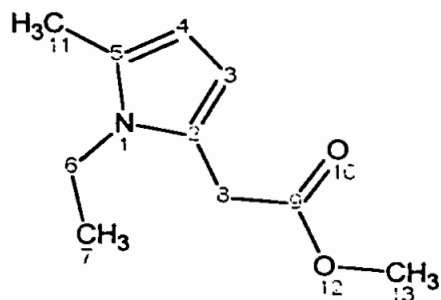
RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)	RMN- ¹³ C (CDCl ₃) δ (ppm)	
3,05-3,08 (m,2H); H-C8	28,88 (C8)	167,56 (C2)
3,73 (s,3H); H-C4	51,13 (C4)	
5,08-5,14 (m,2H); H-C10	104,41 (C5)	
5,71-5,82 (m,1H); H-C9	115,34 (C10)	
6,72 (m,1H); H-C17 (Z)	133,98 (C9)	
7,47-7,51 (m,1H); H-C6 (Z+E)	140,39 (C6)	



ESPECTRO 42 - Espectro de RMN-¹H 2-hidroximetileno-pent-4-enoato de metila (EDO-026) (δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).



ESPECTRO 43 - Espectro de RMN-¹³C 2-hidroximetileno-pent-4-enoato de metila (EDO-026) (δ ppm, CDCl₃, 75 Mz).

(1-Etil-5-metil-1H-pirrol-2-il)-acetato de metila (EDO-068)

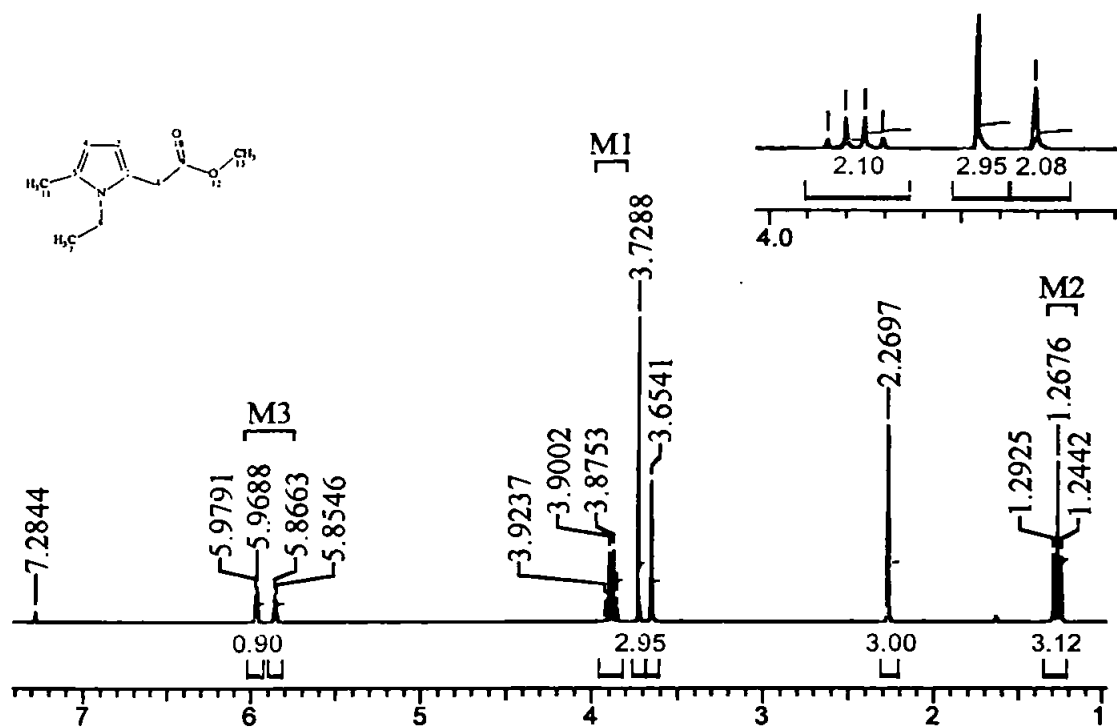
$C_{10}H_{15}NO_2$ - MM=181,24 g.mol⁻¹

Rendimento: 0,2 g (1,1 mmol); 36%

Aspecto: líquido de cor vermelho claro

Dados espectrométricos de RMN-¹H:

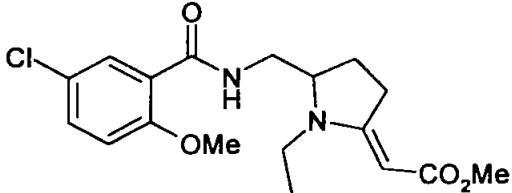
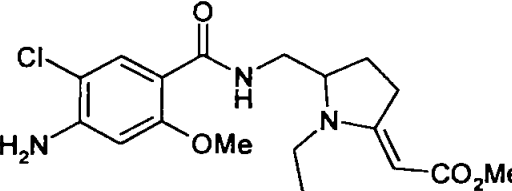
RMN- ¹ H (CDCl ₃) δ (ppm)
1,27 (t, J=7,5Hz, 3H); H-C7
2,27 (s, 3H); H-C11
3,65 (s, 2H); H-C8
3,73 (s, 3H); H-C13
3,89 (q, J=7,5Hz, 2H); H-C6
5,86 (d, J=3,5Hz, 1H); H-C4
5,97 (d, J=3,5Hz, 1H); H-C3



ESPECTRO 44 - Espectro de RMN-¹H de (1-etil-5-metil-1H-pirrol-2-il)-acetato de metila (EDO-068) (δ ppm, CDCl₃, 300 Mz).

2. Resultados do Estudo Biológico (*binding*)

A afinidade de algumas das benzamidas preparadas com os receptores D₂ e 5-HT₃ foram testadas. Os compostos foram usados em sua forma de base livre, dissolvidos em água e DMSO como co-solvente. Os valores de K_i (nM) são mostrados na tabela X a seguir.

Tabela X – Valores de K _i (nM) para os compostos (EDO-139) e (EDO-140)		
COMPOSTOS	K _i (nM)	
	5-HT ₃	D ₂
 EDO-139	>10.000	>10.000
 EDO-140	>10.000	>10.000

3. Resultados do Estudo de Modelagem Molecular

Alguns estudos preliminares de modelagem molecular foram feitos por minimização de energia das estruturas dos compostos planejados usando-se o algoritmo AM1 disponível no software Sybyl versão 6.7 da Tripos Inc.

No caso das benzamidas as distâncias encontradas entre o centróide aromático, o átomo de oxigênio e o átomo de nitrogênio básico da cadeia lateral, componentes do grupo farmacofórico de antagonistas de receptores 5-HT₃, foram estimados e comparados com os valores padrão (Figura 57).

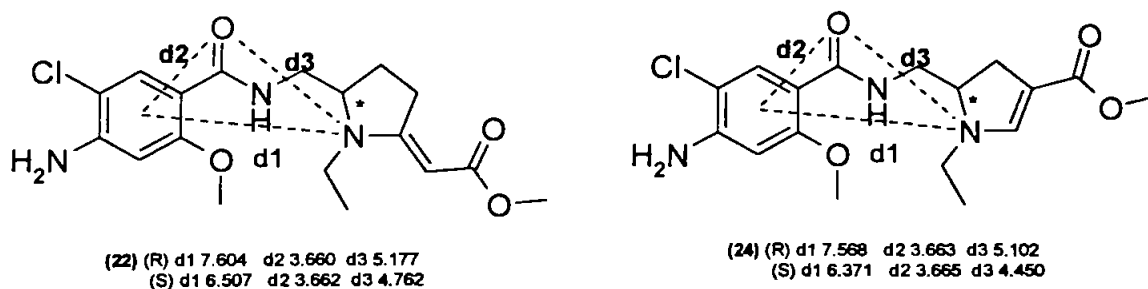


Figura 57 – Distâncias entre os elementos do farmacóforo de algumas benzamidas planejadas.

Os dados obtidos da remoxiprida cujo isômero de configuração (S) é um antagonista de receptores D₂ e de uso clínico como antipsicótico são mostrados na figura 58 (Hogberg, 1993).

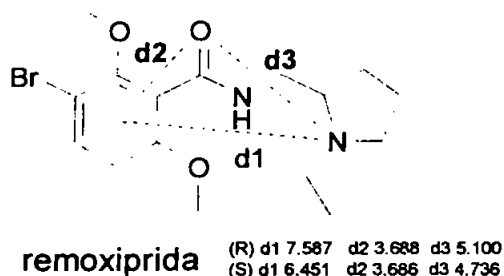


Figura 58 – Estrutura minimizada da remoxiprida Distâncias entre os componentes do grupo farmacofórico.

Fez-se também um estudo da densidade eletrônica envolvida no sistema conjugado β -enaminoéster presente no protótipo (EDO-140) usando-se o algoritmo Gasteiger-Hückel implementado no software Sybyl 6.7 e compararam-se estes dados com o composto reduzido (EDO-146) (Figura 59).

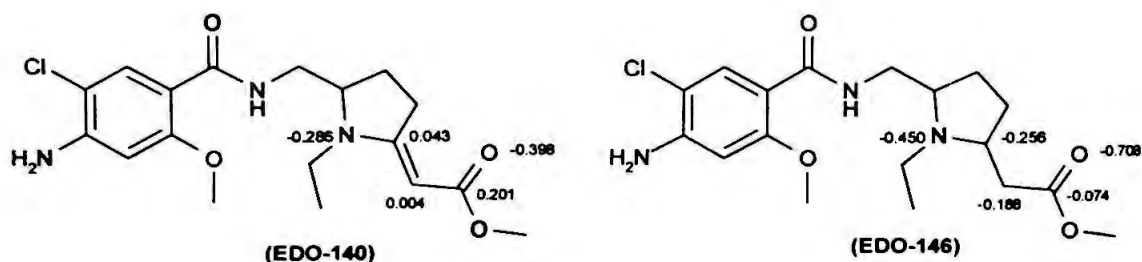


Figura 59 – Densidades eletrônicas calculadas ao redor dos átomos do sistema α,β -conjugado em (EDO-140) e após redução em (EDO-146).

As estruturas minimizadas por mecânica molecular, dos compostos selecionados para os receptores $\alpha_4\beta_2$ e α_7 são mostradas a seguir (Figura 60) e as respectivas distâncias relatadas na Tabela XI.

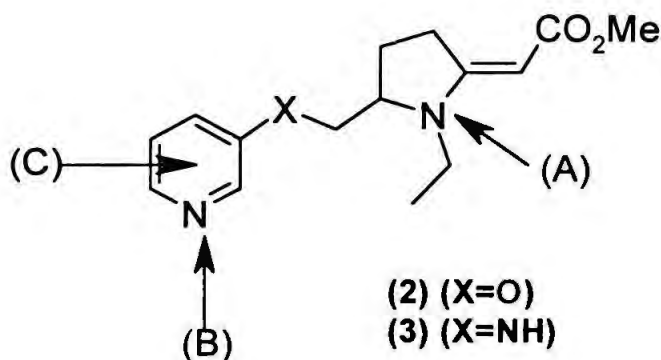


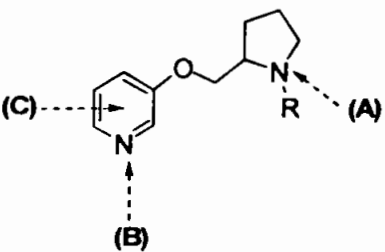
Figura 60 – Componentes do grupo farmacofórico dos protótipos de análogos nicotínicos (2) e (3).

Tabela XI – Distâncias entre os pontos do farmacóforo nos protótipos (2) e (3)

COMPOSTOS	Distâncias entre os pontos A, B e C (Ângstrons)			ENERGIA (kcal.mol ⁻¹)	
	A-B	A-C	B-C		
X=O (2)	(R)	6,311	5,652	1,361	17,543
	(S)	6,495	5,520	1,361	13,911
X=NH (3)	(R)	6,063	5,453	1,358	18,294
	(S)	6,196	5,549	1,358	16,075

Fez-se análise estudo comparativo das estruturas estudadas pelos autores Glennon *et al.* (2000) com os protótipos planejados. A Tabela XII a seguir sumariza as distâncias obtidas por minimização de energia dos compostos relacionados.

Tabela XII – Análogos nicotínicos minimizados relatados por Glennon *et al.* (2000)*

	R	A-B	A-C	B-C	Energia (kcal.mol ⁻¹)	Ki (nM)
H	(R)	6,083	5,549	1,361	13,765	0,14
	(S)	6,532	5,555	1,361	13,752	0,16
Me	(R)	6,088	5,550	1,361	13,055	19,70
	(S)	6,531	5,580	1,361	13,724	0,15
Et	(R)	6,073	5,536	1,361	12,649	NA
	(S)	6,514	5,562	1,361	13,104	NA

*(Exceto R=Et)

DISCUSSÃO

VII – DISCUSSÃO

7.1. Discussão dos resultados do estudo químico

A seguir serão discutidos os resultados do estudo químico realizado visando à síntese das benzamidas e derivados nicotínicos, protótipos de potencial ação antipsicótica, planejados respectivamente por modificação molecular de benzamidas metileno-pirrolidínicas e análogos estendidos da nicotina.

As rotas sintéticas utilizadas na preparação de tais protótipos bem como de seus intermediários encontram-se esquematizadas a seguir (Figuras 61-66).

7.1.1. Rotas sintéticas utilizadas na preparação dos compostos

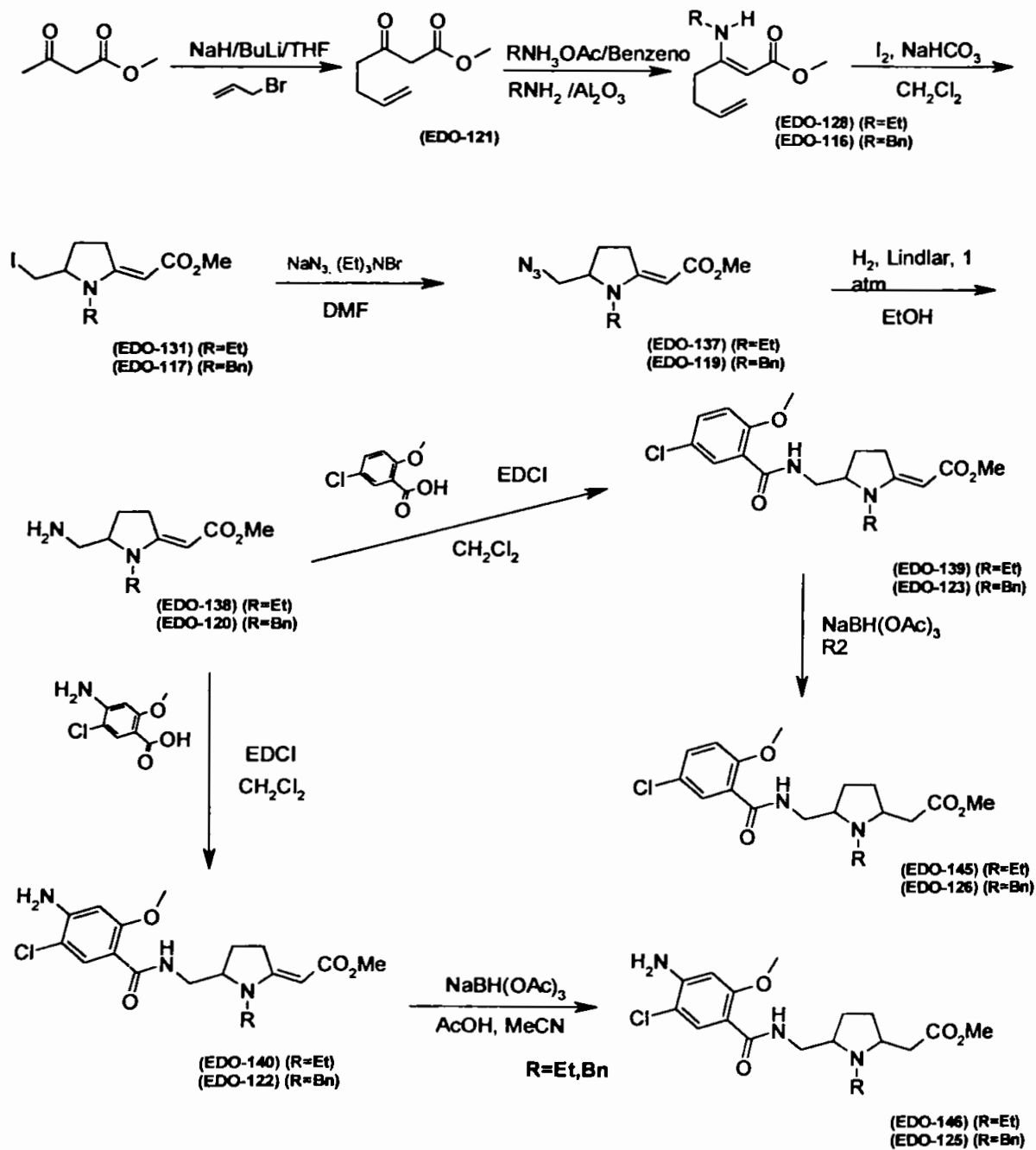


Figura 61 – Rota Sintética A – Síntese das benzamidas da Série I.

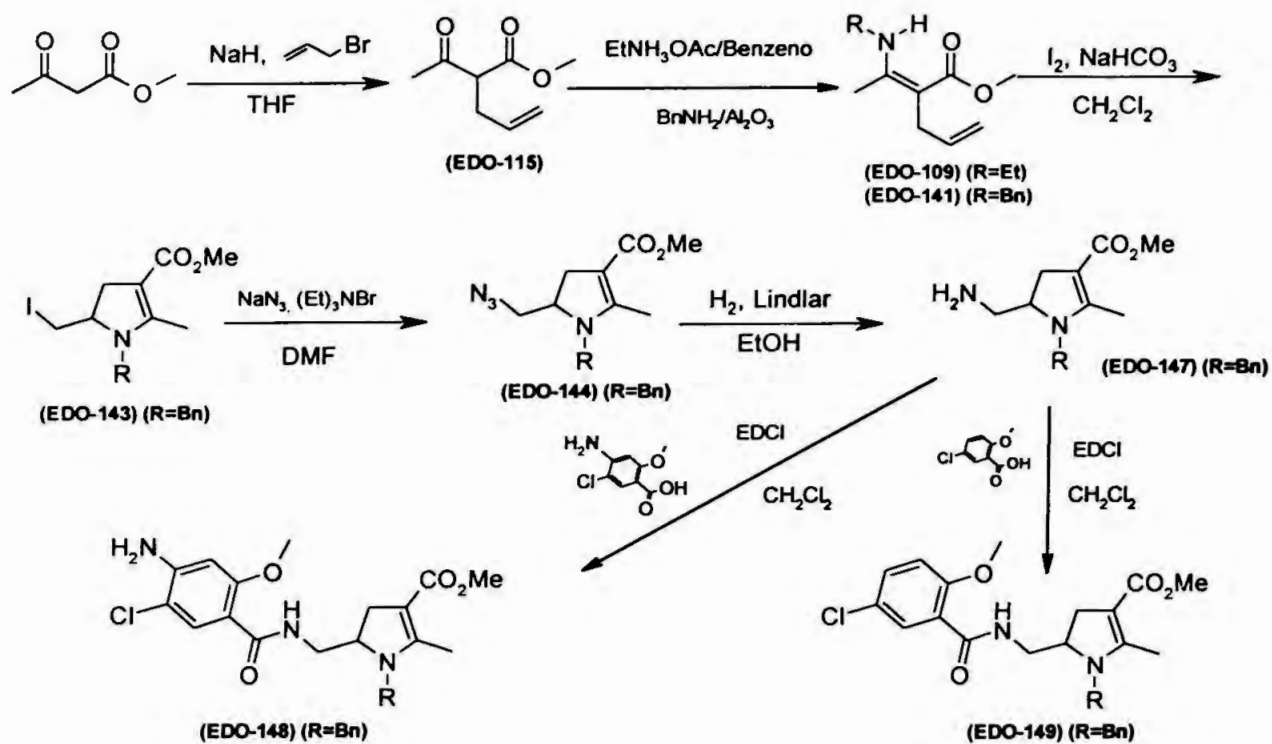


Figura 62- Rota Sintética B – Síntese das benzamidas da Série II.

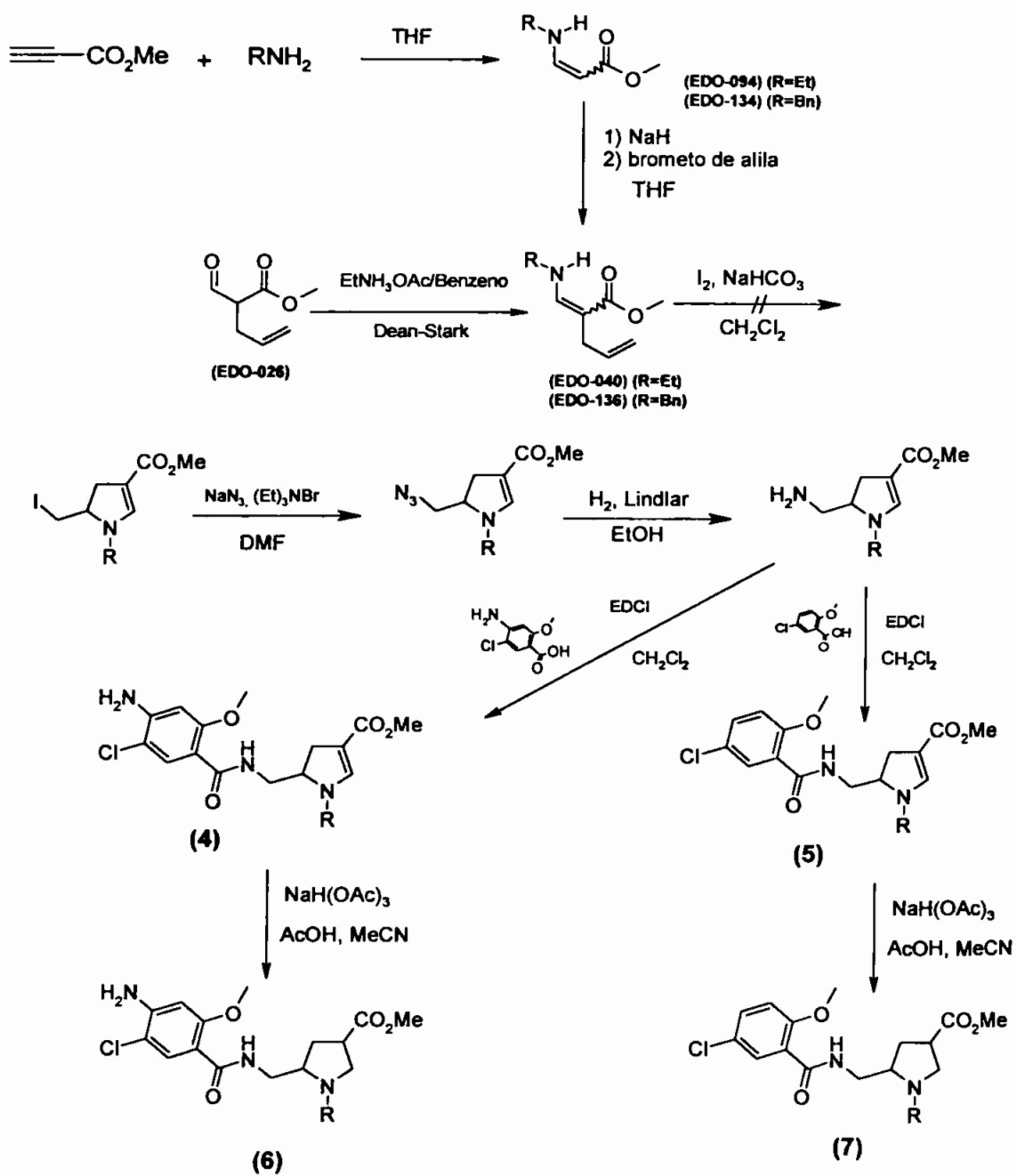


Figura 63 – Rota Sintética C – Síntese das benzamidas da Série III.

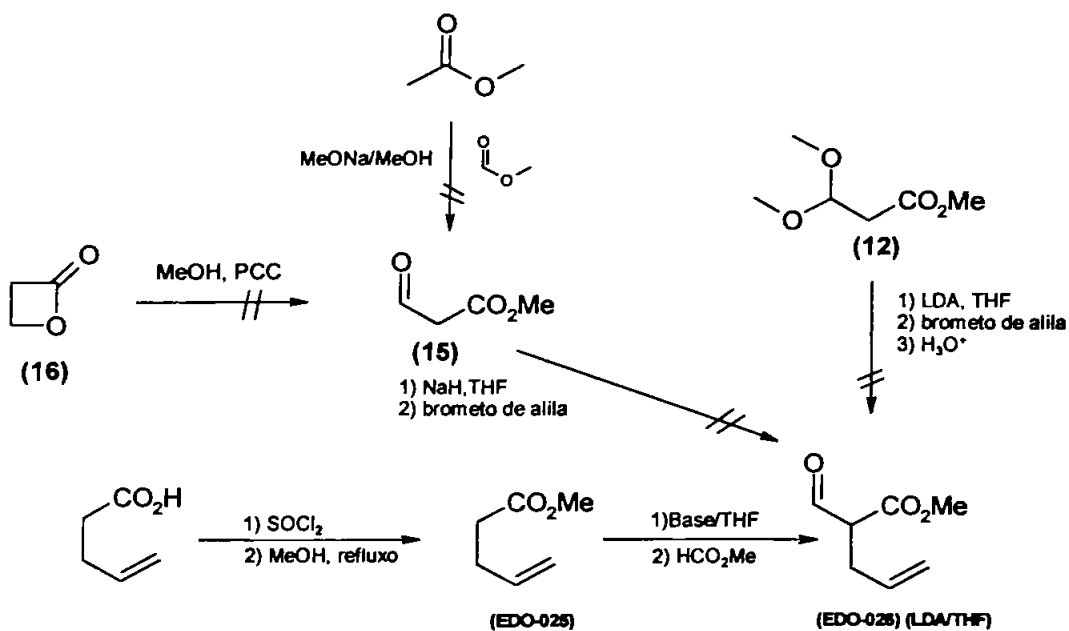


Figura 64 – Rota Sintética D – Síntese do intermediário (EDO-026).

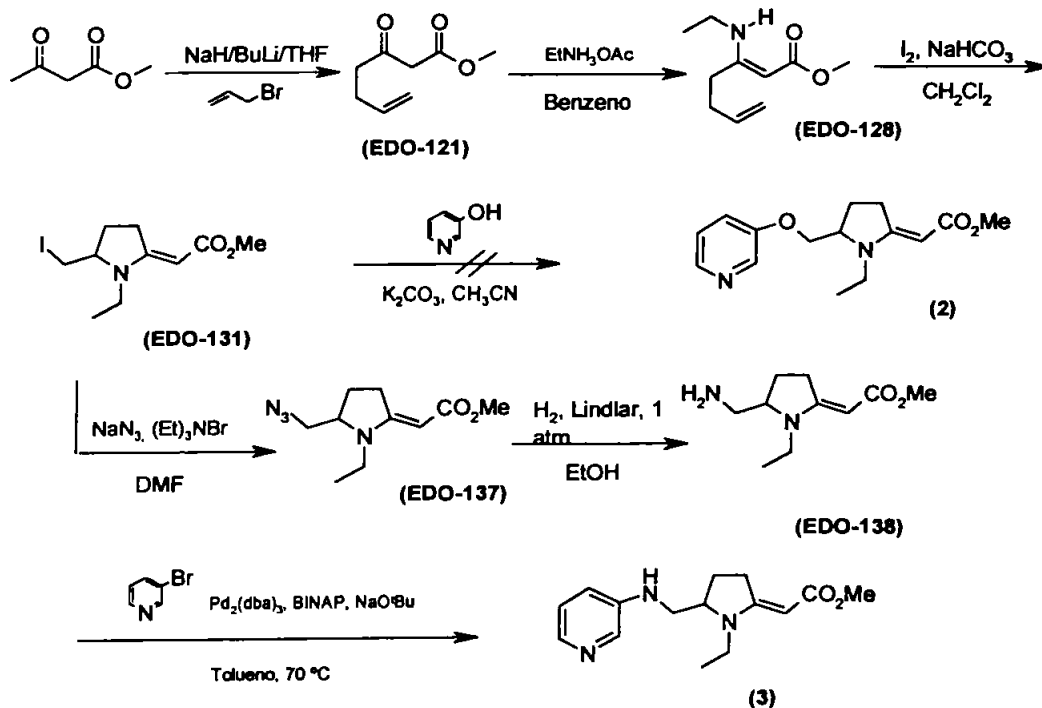


Figura 65 – Rota Sintética E – Síntese dos compostos da Série Nicotínica Via Iodociclização.

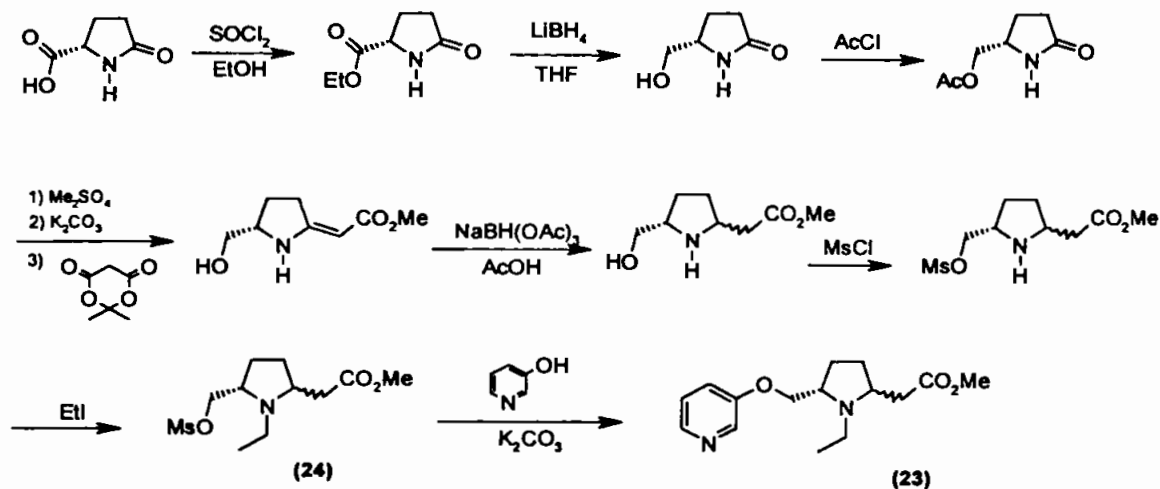


Figura 66 – Rota Sintética F – Síntese Alternativa dos Compostos da Série Nicotínica Via Ácido Piroglutâmico.

7.1.2. Compostos sintetizados

7.1.2.1. Rota Sintética A – Síntese das Benzamidas da Série I

7.1.2.1.1. Síntese das benzamidas reduzidas (EDO-146), (EDO-125), (EDO-145) e (EDO-126)

A fim de se avaliar a hipótese levantada sobre o possível aumento da afinidade dos protótipos aos receptores 5-HT₃ e D₂ pelo aumento da basicidade do átomo de nitrogênio no anel pirrolidínico, foi realizada a redução das duplas ligações exocíclicas de (EDO-140), (EDO-122), (EDO-139) e (EDO-123) pelo uso de $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ em meio de ácido acético e acetonitrila como solvente, resultando respectivamente na formação dos compostos (EDO-146), (EDO-125), (EDO-145) e (EDO-126). O processo de extração consiste na lavagem da mistura reacional com Na_2CO_3 saturado, $\text{NaCl}_{(\text{sat})}$ e secagem sobre MgSO_4 (Cimarelli *et al.*, 1996). Os rendimentos brutos, pré-purificação em coluna, variaram em torno de 90%.

Dos métodos testados, a redução feita mediante o uso de $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ foi a que melhor resultado apresentou chegando em um caso

a 97% de rendimento em 2,5 h (EDO-145). A redução por hidrogenação catalítica usando-se Pd/C 10% (Blot *et al.*, 1997) resultou em mistura de compostos sendo que a maior parte do substrato permaneceu intacta, mesmo após 3 dias de reação (Figura 67).

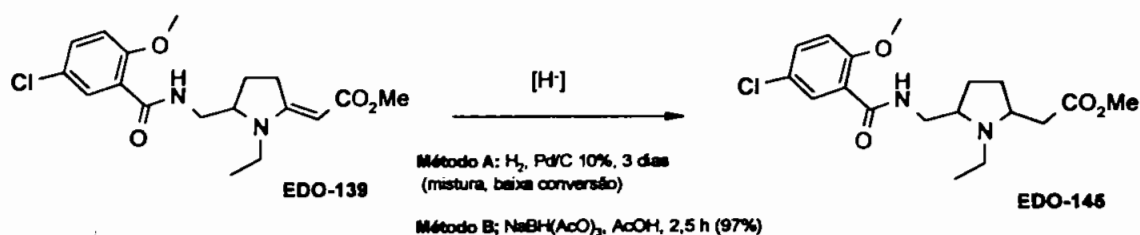


Figura 67 – Redução da dupla exocíclica em (EDO-139).

A consequência direta de tal redução é a formação de um novo centro assimétrico, o que leva à mistura de diastereômeros. O método escolhido para a redução é diastereosseletivo (Cimarelli *et al.*, 1996), resultando na predominância de um dos dois possíveis pares de enantiômeros.

Como foi difícil avaliar a afinidade de mistura de isômeros, por mascaramento nos resultados, tentou-se separar os dois pares de enantiômeros por métodos cromatográficos.

Esta não foi uma tarefa fácil, pois o melhor ΔR_f conseguido em CCD foi de 0,04 para os compostos (EDO-145) e (EDO-146). Tentou-se primeiramente coluna de sílica-gel, porém conseguiu-se somente fração com o enriquecimento de um dos pares. Tentou-se também cromatografia de camada delgada preparativa (CCDP), sem nenhum sucesso. Pode-se alternativamente fazer uso da técnica de cromatografia via cromatotron, ou HPLC preparativa, porém estes métodos não puderam ser explorados dentro do prazo deste projeto de estudo.

Os isômeros benzílicos reduzidos (EDO-125) (Figura 68) mostraram-se mais fáceis de se separar cromatograficamente.

A mistura de (EDO-125) foi parcialmente separada em coluna de sílica-gel, usando-se mistura eluente multicomponente de hexano (fase apolar) e MTBE/CH₂Cl₂ (fase polar).

Após exaustiva experimentação, a condição ideal encontrada para a separação dos isômeros foi 1:2 (apolar:polar), sendo a proporção de MTBE:CH₂Cl₂ igual a 1:2, respectivamente. Nestas condições a mistura apresentou $\Delta R_f \sim 0,1$ e um R_f próximo de 0,2 (ie. o deslocamento de ambas as manchas a 20% do comprimento da placa de CCD).

A fim de se otimizar o R_f da mistura, variou-se a quantidade do componente polar. Para otimizar a resolução ou separação (maior ΔR_f possível), variou-se a razão entre os componentes da fase polar.

Pequena quantidade da fração pura cristalina foi obtida, formada de cristais brancos arredondados, porém em quantidade não suficiente para dar seguimento à preparação dos sais para os testes de *binding*.

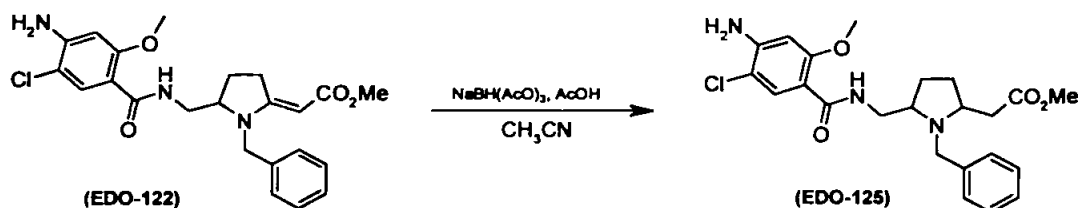


Figura 68 – Redução da dupla exocíclica em (EDO-122).

A mistura foi submetida a análise de cromatografia gasosa acoplada ao espectrometro de massas (CG/MS). Os dados espectrométricos obtidos confirmam a presença dos pares de diastereômeros em cada um dos quatro produtos obtidos*.

7.1.2.1.2. Síntese das benzamidas (EDO-139), (EDO-123), (EDO-140) e (EDO-122)

Os intermediários chave na síntese das benzamidas (EDO-139), (EDO-123), (EDO-140) e (EDO-122) são os aminocompostos compostos

* Ver seção Resultados (página 128).

(EDO-131) e (EDO-117), que levaram aos compostos desejados por meio de uma reação limpa, de fácil extração e de bom rendimento após purificação cromatográfica (75%) (Harada *et al.*, 1995a). A carbodiimida usada (EDCI) para ativar o grupos carboxilas dos ácidos benzóicos comercialmente disponíveis é solúvel em água e seu subproduto reacional é facilmente removido do meio reacional por simples lavagem. O mesmo não aconteceu quando se utilizou DCC (dicicloexilcarbodiimida), pois o subproduto da reação, o DCU (dicicloexiluréia) é bastante solúvel no meio orgânico e é extraído conjuntamente com o produto desejado, o que dificulta bastante a etapa de purificação do composto.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos compostos sintetizados acima citados confirmaram a sua estrutura química (página 128).

A estrutura das benzamidas em questão sugerem a presença de isômeros geométricos (*Z* e *E*). Os espectros de RMN mostram a presença de somente um deles, o isômero *E*. Esta atribuição foi feita inequivocamente por analogia com compostos semelhantes já identificados na literatura (DeOliveira, 1995; Ferraz *et al.* 1995; Petersen *et al.*, 1984). Petersen *et al.* utilizaram o experimento de NOE diferencial (ou NOESY) entre o próton vinílico (H-C12) e o grupo metileno adjacente no anel pirrolidínico (H-C4) para a atribuição da configuração *E* da dupla ligação.

7.1.2.1.3. Síntese dos aminocompostos (EDO-138) e (EDO-120)

Os amino compostos (EDO-138) e (EDO-120) foram obtidos respectivamente por hidrogenação catalítica das azidas (EDO-137) e (EDO-119) em presença de catalisador Lindlar[®] em um hidrogenador Parr. Este procedimento descrito por Corey *et al.* (1975) é seletivo para a redução da função azida na presença de olefinas ou carbonilas, inclusive conjugadas.

O final da reação foi confirmado por cromatografia de camada delgada (CCD) observando-se o consumo total do material de partida, utilizando-se mistura eluente de $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$ (19:1). O tempo de reação foi variável, de 8 horas a 2 dias, e o rendimento bruto em torno de 90%. O produto (EDO-138) foi usado sem purificação prévia para a etapa de

obtenção das benzamidas descritas anteriormente. O produto (EDO-120) foi purificado por cromatografia em coluna de sílica-gel. Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C dos produtos (EDO-138) e (EDO-120) confirmaram as suas estruturas (página 128).

Foi feita uma tentativa para se obter o composto (EDO-138) diretamente a partir do β -enaminoéster iodocíclico (EDO-131). O iodo composto foi dissolvido em amônia líquida dentro de um tubo selado e a mistura deixada sob agitação magnética à temperatura ambiente durante uma noite.

A análise de CCD após extração do produto, mostrou mistura complexa de quatro compostos principais, pelo que se desistiu deste método. A figura 69 ilustra este procedimento.

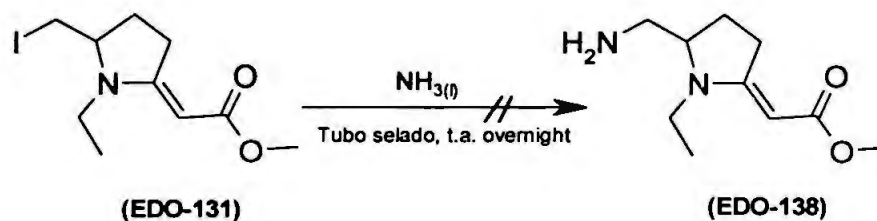


Figura 69 – Tentativa de obtenção de (EDO-138) à partir de (EDO-131).

7.1.2.1.4. Síntese dos azido-compostos (EDO-137) e (EDO-119)

Os azido compostos (EDO-137) e (EDO-119) foram obtidos respectivamente por reação de (EDO-137) e (EDO-119) com NaN_3 em meio de DMF e presença de pequena quantidade de brometo de tetraetilamônio. A mistura reacional foi refluxada durante aproximadamente 12 horas, após confirmação do consumo de todo o material de partida visto por CCD. Este procedimento descrito por Koziara *et al.* (1979) mostrou rendimentos variando de 50-60% após os produtos terem sido purificados por cromatografia de sílica-gel em coluna, usando-se mistura eluente de hexano/acetato de etila em gradiente de polaridade.

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C confirmaram a formação dos produtos (página 128), o que ficou bastante evidenciado pelo deslocamento

do sinal do grupo metilênico ligado ao átomo de iodo no composto (EDO-131) de ca de 9 ppm para ca 53 ppm no composto (EDO-137) (Figura 70).

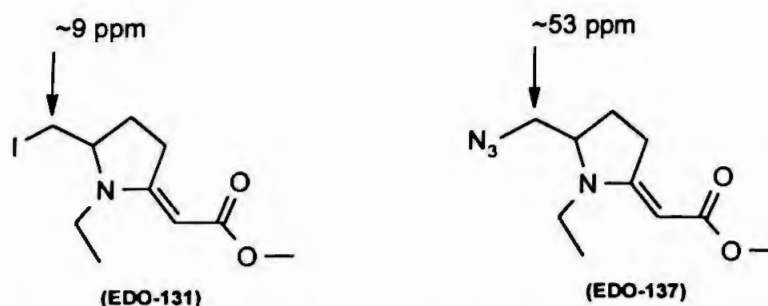


Figura 70 – Comparação entre o deslocamento dos sinais do grupo metileno entre (EDO-131) e (EDO-137).

7.1.2.1.5. Síntese dos iodo-compostos (EDO-131) e (EDO-117)

Os iodo- β -enaminoésteres cíclicos (EDO-131) e (EDO-117) foram obtidos respectivamente dos precursores acíclicos (EDO-128) e (EDO-116) por reação de iodociclicação em presença de NaHCO_3 e em solução de CH_2Cl_2 .

Este processo aplicou a metodologia de síntese de diidropirróis e pirrolidinas desenvolvidas por DeOliveira *et al.* (DeOliveira, 1995; Ferraz *et al.* 1995).

O mecanismo proposto para esta reação está ilustrado na figura 71. A etapa chave do processo é a formação de um complexo- π intermediário, entre a molécula de iodo e a olefina do substrato β -enaminoéster, em uma conformação tal que o nucleófilo interno (o átomo de nitrogênio) alcance a geometria adequada para atacar o carbono mais substituído da dupla ligação, eletricamente deficiente, de forma estereoespecífica (*trans-diaxial*), levando-se à formação do anel de nitrogênio de 5 membros.

Este é o mecanismo mais aceito em contraposição à formação de um intermediário iodônio, pois explica melhor a alta seletividade do iodo para a reação de ciclização face à possível adição 1,2 a dupla ligação, algumas vezes observada por eletrófilos mais fortes como o Cl_2 e Br_2 em reações de lactonização (figura 72).

Estudos teóricos têm sustentado a hipótese de um complexo- π (Chamberlin *et al.*, 1987).

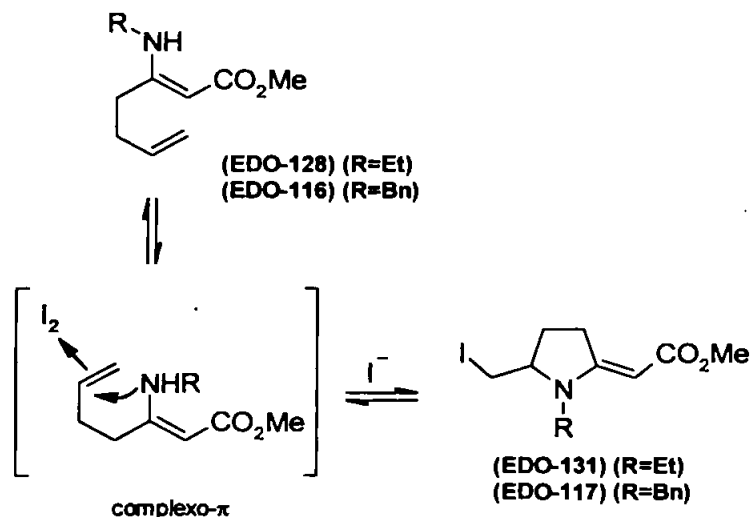


Figura 71– Formação de um complexo- π intermediário na iodociclicização de (EDO-131) e (EDO-117).

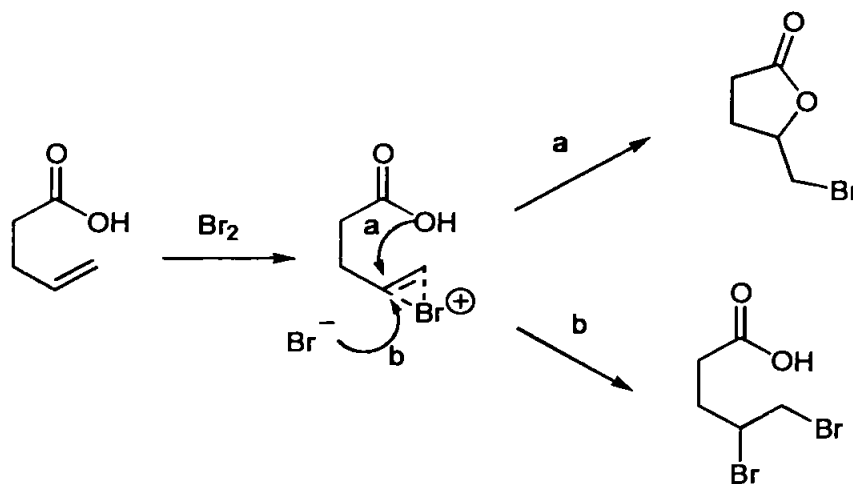


Figura 72 – Possíveis produtos de reação via bromação de ácidos insaturados.

As análises de RMN ^1H e ^{13}C confirmaram a estrutura dos compostos (página 128). Para o composto (EDO-117) (e demais derivados que contêm o grupo benzila ligado ao nitrogênio do anel pirrolidínico) aparecem no espectro de RMN- ^1H dois dubletos em $\delta=4,3$ ppm e $\delta=4,5$ ppm,

com $J=16,8$ Hz, correspondendo aos dois prótons metilênicos do grupo benzila que se desdobram por serem diastereotópicos.

7.1.2.1.6. Síntese dos compostos β -enaminoésteres (EDO-128) e (EDO-116)

Os β -enaminoésteres acíclicos (EDO-128) e (EDO-116) foram obtidos respectivamente pela condensação do acetato de etilamônio e a benzilamina com o β -cetoéster (EDO-121). No primeiro caso, a reação foi realizada na presença de pequena quantidade de ácido acético e em meio de benzeno, a mistura reacional foi refluxada e a água resultante retirada do meio reacional por meio de um aparelho Dean-Stark (Baraldi *et al.*, 1983). No segundo, o composto (EDO-116) foi preparado por condensação direta do β -cetoéster (EDO-121) com benzilamina em meio de alumina neutra e agitação magnética (Braibante *et al.*, 1990). Os rendimentos foram bons, de 72 e 98%, respectivamente para o (EDO-128) e (EDO-116).

Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C de (EDO-128) e (EDO-116) confirmaram as estruturas dos compostos desejados (página 128).

A análise do espectro de RMN de ^1H mostra a existência exclusiva da forma β -enaminoéster sobre o possível tautômero β -iminoéster, pois a primeira é estabilizada por ligação intramolecular de hidrogênio (Figura 73).

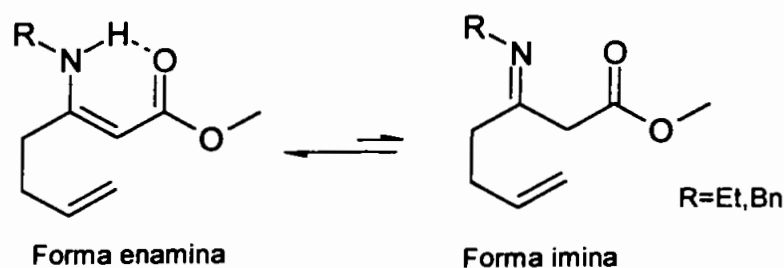


Figura 73 - Tautomerismo enamino-iminoéster.

7.1.2.1.7. Síntese do β -cetoéster (EDO-121)

O β -cetoéster (EDO-121) foi obtido por alquilação do diânion (8) com brometo de alila, obtido do tratamento do acetoacetato de metila, comercialmente disponível, com NaH e nBuLi em solução de THF (figura

74). Este procedimento seguiu a metodologia descrita por Huckin *et al.* (1974), levando a um rendimento reacional de 74% após destilação à baixa pressão. Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C confirmaram a estrutura do composto desejado (página 128), evidenciando inclusive as pequenas quantidades da forma enólica (figura 75).

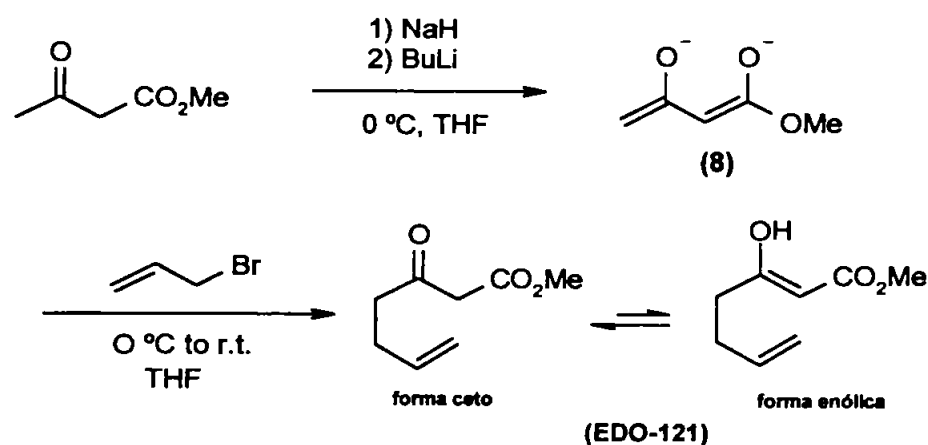


Figura 74 – Síntese de (EDO-121) a partir do acetoacetato de metila.

7.1.2.2. Rota sintética B – Síntese das Benzamidas das Séries II

7.1.2.2.1. Síntese das benzamidas (EDO-148) e (EDO-149) (Harada *et al.*, 1995a)

As benzamidas (EDO-148) e (EDO-149) foram sintetizadas com a finalidade de se explorar novas possibilidades de interação dos derivados pirrolidínicos com o receptores D₂ e 5-HT₃. Não se realizou a redução da dupla ligação endocíclica por razões de praticidade, pois levaria a uma complexa mistura de isômeros de difícil separação. Estes compostos serão testados e os resultados confrontados com aqueles dos compostos (EDO-139) e (EDO-140). Caso os resultados de *binding* sejam mais favoráveis isto poderá indicar a intolerância do receptor ao grupo carboxilato na posição 2, e a tolerância deste na posição 3 do anel. Além disso, por ser um sistema eletronicamente conjugado, pode corroborar ou não a hipótese da

necessidade de alta basicidade do nitrogênio para ligação com o receptor, caso mostre baixa ou alta afinidade, respectivamente.

A síntese destas benzamidas foi análoga àquela da série-I e o seu precursor foi o composto (EDO-147). Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C confirmaram a estrutura destes compostos (página 128). Resultados preliminares ainda não conclusivos mostraram ser possível a formação de cloridratos estáveis destes compostos.

7.1.2.2.2. Síntese do amino-composto (EDO-147) (Corey *et al.*, 1975)

O aminocomposto (EDO-147) foi preparado por hidrogenação catalítica da azida (EDO-144) em hidrogenador Parr, usando-se o catalisador Lindlar[®] disponível comercialmente, e em presença de etanol absoluto. O tempo de reação foi de 4 dias. Todo o material de partida foi convertido e o rendimento, após cromatografia em coluna de sílica-gel, foi de aproximadamente 70%.

7.1.2.2.3. Síntese do azido-composto (EDO-144) (Koziara *et al.*, 1979)

O azido composto (EDO-144) foi obtido por reação de (EDO-143) com NaN_3 em meio de DMF e presença de pequena quantidade de brometo de tetraetilamônio (10% m/m). A reação se completou após 1 hora de refluxo, visto por CCD (Hex:AcOEt – 4:1). Este procedimento apresentou rendimento de 61% após os produtos terem sido purificados por cromatografia de sílica-gel em coluna, usando-se mistura eluente de hexano/acetato de etila em gradiente de polaridade.

O espectro de RMN de ^1H (página 128) confirma a estrutura do composto. As observações feitas para o composto (EDO-137) quanto aos sinais de ^{13}C do grupo metileno ligado ao grupamento azida também são válidas aqui.

Foi realizada também a análise no infravermelho para este composto. Uma banda intensa em $2101,7\text{ cm}^{-1}$ foi a prova conclusiva de que

se tratava de um azido composto. Duas outras bandas, em 1674,15 e 1596,51 cm^{-1} , são características do sistema β -enaminoéster (Espectro 45).

7.1.2.2.4. Síntese do iodo-composto (EDO-143) (DeOliveira *et al.*, 1995; Ferraz *et al.*, 1995)

O iodo- β -enaminoéster cíclico (EDO-143) foi obtido do precursor acíclico (EDO-141) por reação de iodociclicização em presença de NaHCO_3 e em solução de CH_2Cl_2 à temperatura ambiente.

O valor de R_f encontrado para CCD foi de 0,41, utilizando-se mistura eluente de hexano:acetato de etila (4:1) em placa analítica de sílica-gel. Este valor é muito próximo do $R_f = 0,37$ do azido composto correspondente (EDO-144).

O espectro de RMN ^1H confirmou a estrutura do composto pretendido (página 128).

7.1.2.2.5. Síntese do composto β -enaminoéster acíclico (EDO-141) (Braibante *et al.*, 1990)

O β -enaminoéster acíclico (EDO-141) foi obtido da condensação da benzilamina com o β -cetoéster (EDO-115) em meio de alumina neutra e agitação magnética em temperatura ambiente. O rendimento foi bom, de 85%, após destilação em forno horizontal Kugelrohr. O valor de R_f encontrado para CCD foi de 0,74, utilizando-se mistura eluente de hexano:acetato de etila (4:1) em placa analítica de sílica-gel.

O espectro de RMN de ^1H de (EDO-141) confirmou a estrutura do composto desejado e mostrou a predominância da forma tautomérica enamina (página 128).

7.1.2.2.6. Síntese do β -cetoéster (EDO-115) (Sum *et al.*, 1978)

O β -cetoéster (EDO-115) foi obtido por alquilação do enolato do acetoacetato de metila com brometo e alila em solução de THF anidro. A geração do enolato foi realizada por tratamento do acetoaceto de metila com NaH 95% em meio de THF seco. Um dos grandes problemas encontrados

na síntese de (EDO-115) foi a obtenção de subproduto de dialquilação do diânion. A mistura resultante foi separada por cromatografia em coluna de sílica-gel, usando-se mistura eluotrópica de hexano:acetato de etila em gradiente de concentração. O rendimento do produto puro monoalquilado ficou em 26%. Também foi experimentada a alquilação com metóxido de sódio em meio de metanol. Os resultados, porém, mostraram ainda maior proporção do produto dialquilado. Um implemento que talvez possa ser utilizado futuramente é o uso de quantidade em excesso do acetoacetato de metila, ou quantidade de NaH pouco aquém da estequiométrica a fim de se evitar a formação do enolato alquilado tetrassubstituído, gerador do produto de dialquilação. O espectro de RMN de ^1H confirmou a estrutura do composto (EDO-115) desejado (página 128).

7.1.2.3. Rota sintética C – Síntese das Benzamidas da Série III

Esta rota sintética não pôde ser concluída no decurso deste programa de estudos. Porém, muito trabalho foi realizado na busca de soluções para a obtenção das benzamidas (5) e (7) (figura 63).

O primeiro obstáculo encontrado foi a dificuldade de se obter o iodocomposto (EDO-142) em rendimento adequado. Houve ainda a formação de dois produtos principais, observados por CCD, que não puderam ser isolados e caracterizados. Isto inviabilizou a seqüência sintética proposta pela rota C até as benzamidas desejadas.

Outro obstáculo foi encontrar uma solução viável de síntese dos β -enaminoésteres intermediários (EDO-040) e (EDO-136) a partir do intermediário α -alquil- β -cetoéster (EDO-026) em reação de condensação com as aminas correspondentes (etil ou benzilamina). O grande desafio encontrado por esta estratégia foi, sem dúvida, achar uma forma de se preparar (EDO-026).

O composto (EDO-040) foi primeiramente obtido pelo método de Baraldi *et al.* (1983), ou seja, a reação foi realizada na presença de pequena

quantidade de ácido acético e em meio de benzeno, a mistura reacional refluxada e a água resultante retirada do meio reacional por meio de um aparelho Dean-Stark.

O espectro de RMN de ^1H do produto bruto confirma a formação do β -enaminoéster (Espectro 46).

Um ponto a ser enfatizado é que a metodologia de iodociclicização de β -enaminoésteres, partindo-se formalmente de compostos β -dicarbonílicos derivados de aldeídos, está sendo aplicada pela primeira vez. Todos os trabalhos até agora apresentados utilizaram β -cetoésteres e β -dicetonas (Ferraz *et al.*, 1995, 1999).

Esta nova aplicação constitui novo caminho para a obtenção de diidropirróis dissustituídos nas posições 2 e 3, em contraponto àqueles 2,3 e 5-trissustituídos provenientes da ciclicização de β -cetoésteres e β -dicetonas (figura 76).

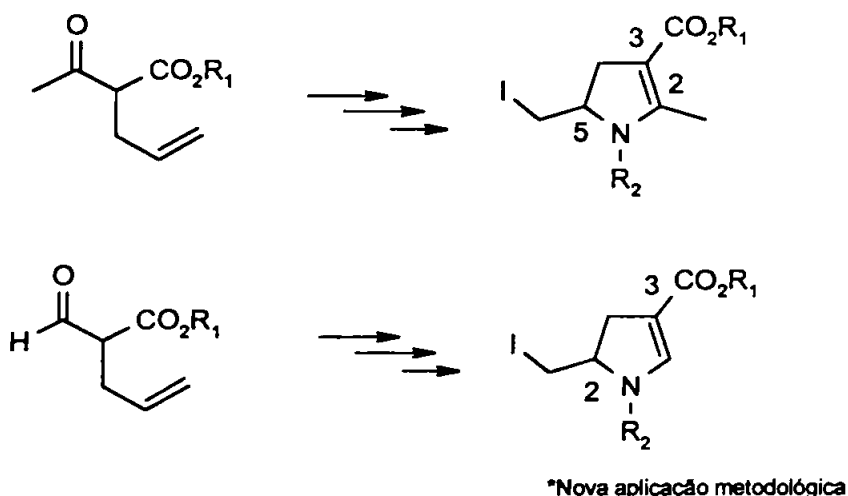


Figura 76 – Nova aplicação da metodologia de iodociclicização de β -enaminoésteres.

A forma mais conveniente e eficaz de síntese encontrada para (EDO-040) ou (EDO-136) foi a partir de (EDO-094) e (EDO-134), respectivamente, sendo que os “enolatos” dos últimos podem ser alquilados na posição alfa de maneira análoga àquela encontrada para a síntese de (EDO-115).

A grande vantagem deste método é a facilidade de se obter os β -enaminoésteres intermediários por reação direta da amina com o propiolato de metila em meio de THF, com rendimento quantitativo. Embora sendo esta a última alternativa explorada, ela foi o procedimento escolhido para se explorar a síntese das benzamidas da série III.

7.1.2.3.1. Síntese do β -enaminoéster (EDO-040) (Baraldi *et al.*, 1983).

Como dito anteriormente, o composto (EDO-040) foi obtido por reação de (EDO-026) com acetato de etilamônio em refluxo de benzeno e remoção azeotrópica de água. Este produto não foi purificado por algumas razões. Primeiramente por ter sido obtida pequena quantidade de material e segundo, por ser este sensível ao meio ácido da sílica-gel, hidrolisando completamente durante o processo de eluição cromatográfica. A forma alternativa, posteriormente descoberta, foi empregar cromatografia em coluna de alumina. Isto foi aplicado com sucesso para o composto (EDO-136).

Um fato curioso surgiu da investigação da literatura quanto à viabilidade de síntese de (EDO-026). Foi a possibilidade de obtenção do β -enaminoéster (EDO-040), via rearranjo similar ao Oxi-Cope que ocorre entre β -aliloxi-acrilatos quando aquecidos entre 150-250 °C (Figura 77) (Croxall *et al.*, 1951).

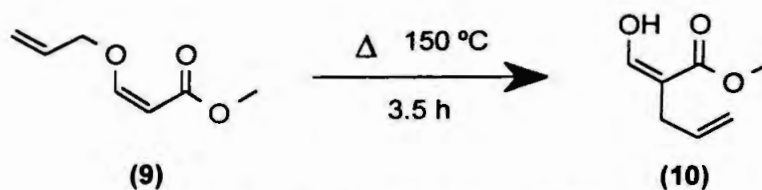


Figura 77– Rearranjo Oxi-Cope de (9).

Gregory *et al.* (1992) demonstraram a factibilidade de um rearranjo análogo, o rearranjo sigmatrópico [3,3] do tipo Aza-Cope, catalisado por ácidos (Figura 78).

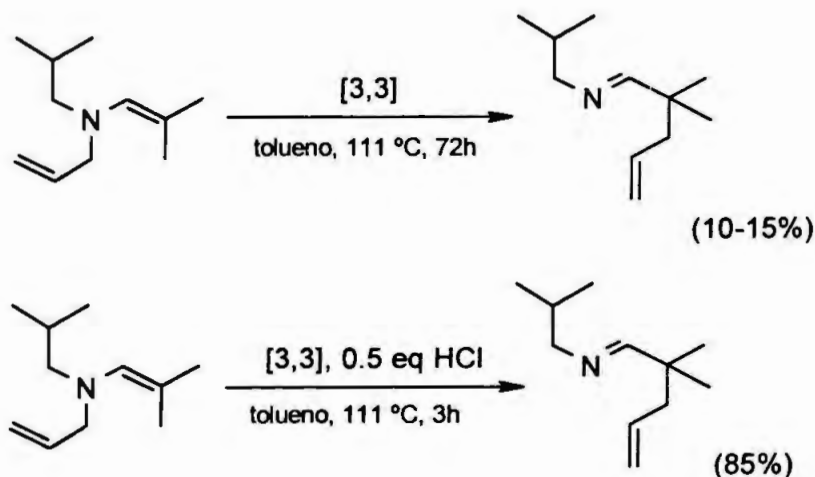


Figura 78– Rearranjo Aza-Cope catalisado por ácidos em enaminas.

Visando à síntese de (EDO-040), tentou-se primeiramente avaliar o método pelo rearranjo *in situ* do *N*-alil- β -enaminoéster (Figura 79) em uma reação “one-pot” a partir de (12), pois tanto a amonólise do acetal, a formação da enamina a partir dos compostos β -dicarbonílicos como ainda o rearranjo sigmatrópico [3,3] Aza-Cope, são todos processos catalisados por ácido. Contudo, houve formação de vários produtos reacionais e não se pôde quantificar a predominância de nenhum deles pela técnica de cromatografia em camada delgada (CCD).

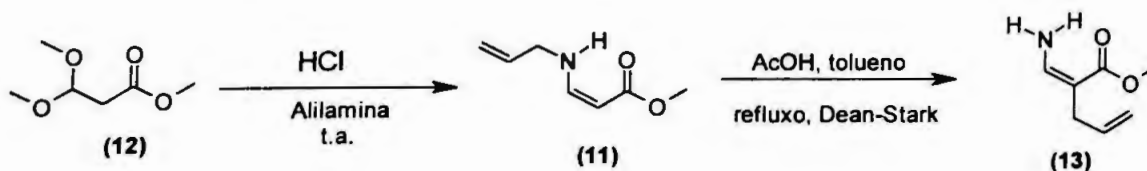


Figura 79 – Tentativa de síntese “one-pot” de (13) via rearranjo Aza-Cope.

Assim, decidiu-se explorar o processo passo-a-passo através de intermediários puros e de estrutura definida.

Visando facilitar o processo e economizar etapas, os alil- β -enaminoésteres desejados (11) poderão ser preparados pela condensação das aminas pertinentes (alilamina ou etilalilamina) com o propiolato de metila em reação bem conhecida e descrita na literatura (Koike *et al.*, 1999). O produto isolado pode ser, então, submetido ao rearranjo Aza-Cope levando possivelmente aos β -enaminoésteres (13) desejados. A fim de se testar este novo método de preparação de β -enaminoésteres pode-se utilizar alilamina (R=H) (Figura 80).

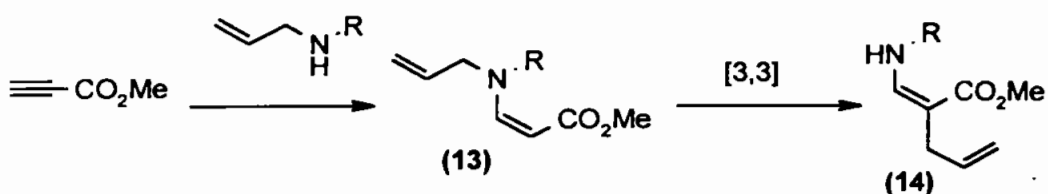


Figura 80 – Possibilidade de preparação de (14) por rearranjo Aza-Cope de (13).

Embora tenha sido cogitada esta rota de síntese para os compostos (EDO-040) e (EDO-136), esta foi deixada de lado em função da possibilidade de alquilação dos β -enaminoésteres (EDO-094) e (EDO-134) com brometo de alila, que é o caminho muito mais conveniente e racional.

Contudo, caso seja confirmada a utilidade do método, terá sido descoberta uma nova aplicação metodológica para o rearranjo Aza-Cope, isto é, a síntese de β -enaminoésteres análogos a (EDO-040).

Fez-se tentativa de síntese de (EDO-040) usando LDA em solução de THF, comercialmente disponível. O rendimento, porém, não foi bom (ca 10%) e houve formação de produtos secundários.

Decidiu-se, então, utilizar LDA preparado *in situ* e tomando o cuidado de conferir a concentração do $n\text{BuLi}$, de usar diisopropilamina anidra e recém-adquirida e ainda de utilizar o THF recém-destilado de sódio

em benzofenona. A reação também foi realizada sob nitrogênio gasoso e seguiu rigorosamente o procedimento descrito por Pinnick *et al.* (1978).

Porém, detectou-se novamente, via CCD, a formação de produtos secundários. Além disso houve o aparecimento de mancha contínua e extensa, quando feita a eluição em placa de CCD com mistura hexano:acetato de etila (4:1), não visível em UV, mas visível após revelação com iodo. Esta mancha se sobrepunha àquela do material de partida e tinha padrão semelhante a ele, o que causou confusão na interpretação dos resultados, inferindo-se primeiramente a não conversão do substrato no produto desejado.

7.1.2.3.2. Síntese do β -enaminoéster (EDO-136)

Várias foram as tentativas de síntese de (EDO-136) a partir de (EDO-134) por reação de alquilação usando-se LDA em THF (ou EtMgBr em Et₂O), e brometo de alila. Diversas condições reacionais foram testadas, como diferentes temperatura, concentração de reagente e tempo de reação. e sempre obteve-se uma mancha contínua e extensa na placa CCD, à semelhança do caso anterior.

Decidiu-se, então, tentar a alquilação do β -enaminoéster (EDO-134) com NaH e brometo de alila em THF adaptando-se o método descrito por Leonard *et al.* (1946). O substrato foi adicionado lentamente sobre a suspensão de NaH 95% em THF seco e recém-destilado de benzofenona, à temperatura ambiente, com auxílio de uma seringa. O brometo de alila foi então adicionado gota-a-gota e a mistura deixada reagir por, no mínimo, 1 hora quando então foi colocada em refluxo durante uma noite. Após filtragem, neutralização e evaporação do solvente o produto resultante, de aspecto oleoso e cor amarelo claro, apresentou cheiro bastante característico, totalmente diferente do material de partida. Este foi submetido a CCD e novamente apresentou a mancha contínua e extensa.

Neste ponto, racionalizou-se que, em função das características inequívocas da presença de um novo composto (ex. principalmente pelo cheiro característico), deveriam-se averiguar com mais cautela os resultados

de CCD. Surpreendentemente, o gotejamento de pequena quantidade de ácido acético na mistura do eluente (hexano:acetato de etila - 4:1) foi suficiente para eliminar totalmente o aspecto de cauda e mostrar uma mancha principal discreta. Este procedimento foi tomado a fim de se bloquear a dispersão do par eletrônico sobre o nitrogênio em torno do sistema enaminoéster altamente conjugado, convertendo-o num sal com conseqüentemente alteração da polaridade da molécula.

Embora tenha-se obtido um rendimento baixo, em torno de 30%, ainda assim acredita-se que este seja um método interessante a ser aprimorado. É preciso otimizar as condições reacionais a fim de se evitar o produto de *N*-alquilação.

Há que se considerar, também, que talvez os β -enaminoésteres alquilados já tenham sido obtidos em outras tentativas (ex. via LDA e EtMgBr), tendo sido mascarados pelo aspecto duvidoso da mancha em CCD. Ressalta-se, também, a dificuldade que é a purificação destes compostos extremamente sensíveis à hidrólise por processos cromatográficos.

Os dois grandes desafios que ainda permanecem são as otimizações das reações de alquilação e iodocilização para esta que é nova aplicação do método de iodociclização na obtenção de análogos pirrolidínicos 3-substituídos de grande importância biológica.

Além disso deve-se lembrar a importância desta rota de síntese na obtenção de benzamidas metilenopirrolidínicas 3-substituídas como ligantes dos receptores D₂ e 5-HT₃ potenciais protótipos de AP.

7.1.2.4. Rota sintética D – Síntese do intermediário (EDO-026)

De fato, esta rota de síntese é complemento da Rota C para a obtenção das benzamidas da série III, onde procurou-se detalhar a síntese e as tentativas de síntese do intermediário chave (EDO-026).

A rota alternativa, primeiramente pensada, da preparação de (EDO-026) a partir de (15) por aquilação deste com brometo de alila foi inviabilizada devido provavelmente à grande reatividade química do substrato que se polimeriza prontamente.

Três diferentes métodos foram usados na tentativa de se preparar (15): metanólise e oxidação da lactona (16), formilação do acetato de etila e alquilação e hidrólise do acetal (12) Nenhum destes métodos se mostrou viável sinteticamente.

Contudo, a síntese de (EDO-026) foi conseguida por formilação do éster metílico do ácido 4-pentenóico (EDO-025).

7.1.2.4.1. Tentativa de síntese do β -enaminoéster (EDO-026) via formilação do acetato de metila

A alquilação do intermediário (15) com brometo de alila levaria ao intermediário (EDO-026). Para tanto tentou-se primeiramente obter este composto através de uma reação de condensação aldólica entre o acetato de metila e o formato de metila em presença de metóxido de sódio em metanol.

O enolato (17) foi gerado *in situ* por adição extra de metóxido de sódio no meio reacional e tentativamente alquilado com vistas ao composto intermediário (EDO-026) (figura 81).

Este procedimento foi uma adaptação do método descrito por Hauer *et al.* (Hauer *et al.*, 1995) para a síntese da escopoletina.

Nenhum produto de estrutura consistente com a esperada pôde ser encontrado e este procedimento foi abandonado.

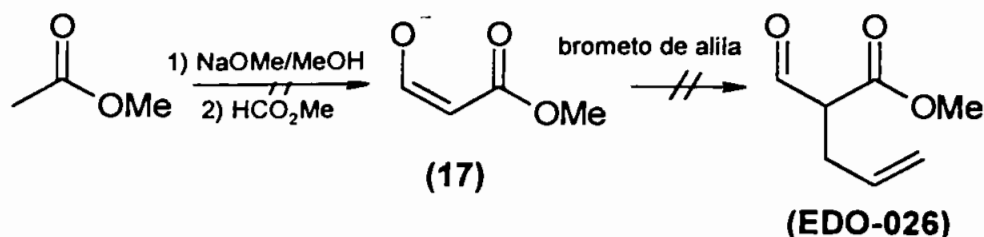


Figura 81 – Tentativa de obtenção de (EDO-026) via formilação do acetato de metila.

7.1.2.4.2. Tentativa de síntese de (EDO-026) a partir da β -propiolactona

A alquilação de (15) com brometo de alila poderia levar ao composto (EDO-026). Portanto, a etapa chave deste processo é a obtenção deste intermediário. Tentou-se usar o método descrito por Gannet *et al.* (1988) que baseia-se na oxidação do β -hidroxiéster (18) pelo PCC em CH_2Cl_2 , obtido à partir da metanólise da β -propiolactona (16) (Corey *et al.*, 1980) (Figura 82).

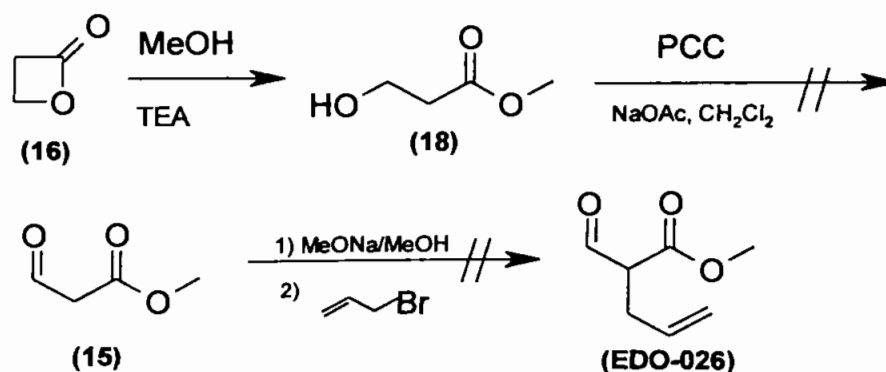


Figura 82 – Tentativa de obtenção de (EDO-026) à partir da β -propiolactona.

Dois tentativas racionais foram feitas na intenção de se obter o intermediário (15). Em todas elas uma espessa goma, praticamente insolúvel, se formou, sendo que o material solubilizado mostrou mistura complexa quando analisado por CCD.

Não se tem ainda explicação para estes fatos, uma vez que o procedimento relatado por Gannet *et al.* (1988) garante a obtenção de (15) em 72% de rendimento após destilação em Kugelrohr. Sabe-se que este aldo-éster é bastante reativo e passível de polimerização, o que pode ter ocorrido devido a alguma falha técnica no procedimento experimental.

De vez que este procedimento não funcionou bem e que a lactona de partida é bastante onerosa para se obter em quantidades desejáveis, partiu-se para a busca de novas soluções de síntese.

7.1.2.4.3. Tentativa de obtenção de (EDO-026) à partir do acetal (12)

Uma vez que o acetal (12) é uma forma protegida do éster (15), tentou-se a alquilação dos enolatos de lítio e sódico com o brometo de alila e posterior hidrólise do intermediário (19) para a obtenção de (EDO-026) (Figura 83).

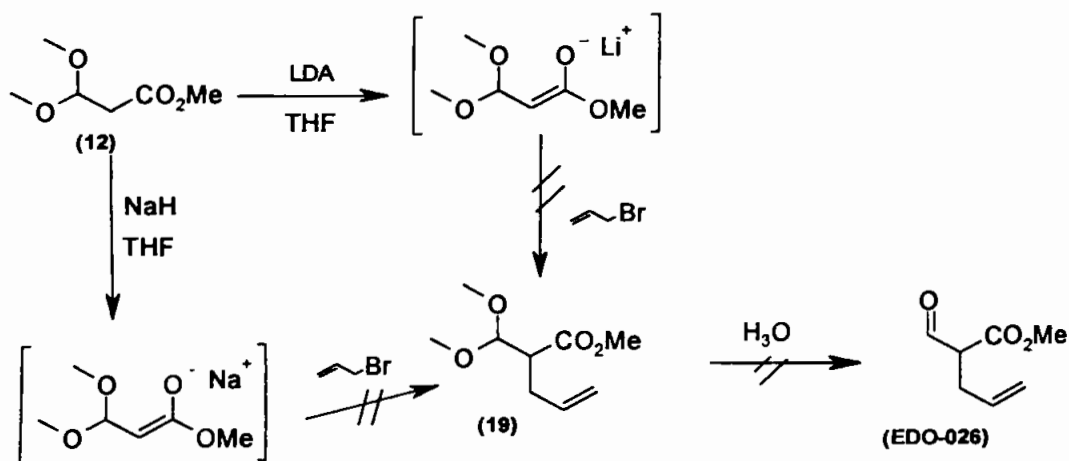


Figura 83 – Tentativa de obtenção de (EDO-026) à partir de (12).

Três tentativas de síntese foram feitas. Duas delas usando-se LDA como base geradora do enolato e uma terceira usando-se base mais fraca, o

NaH, para formação do enolato de sódio. Em todas elas uma mistura complexa de produtos foi obtida.

Uma das explicações possíveis para a obtenção difícil do produto desejado é a provável reação de β -eliminação no substrato (12), provocada pela ação das bases utilizadas, levando à formação do intermediário vinílico (20) (Figura 84).

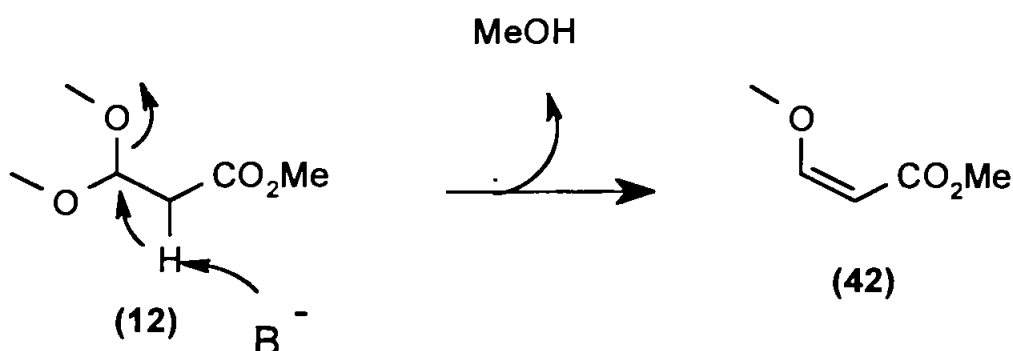


Figura 84 – Provável formação de (20) por β -eliminação em (12).

7.1.2.4.4. Síntese de (EDO-026) pela reação de formilação de (EDO-025)

Um dos caminhos mais diretos para a obtenção de (EDO-026) foi a formilação do enolato do éster metílico do ácido 4-pentenóico gerado pela ação do LDA sobre (EDO-025) em solução de THF, seguindo a metodologia de alquilação de ésteres descrita por Petraghani *et al.* (1977) (Figura 85).

O composto (EDO-025) foi obtido por esterificação do ácido disponível comercialmente, conforme mostra a figura 86.

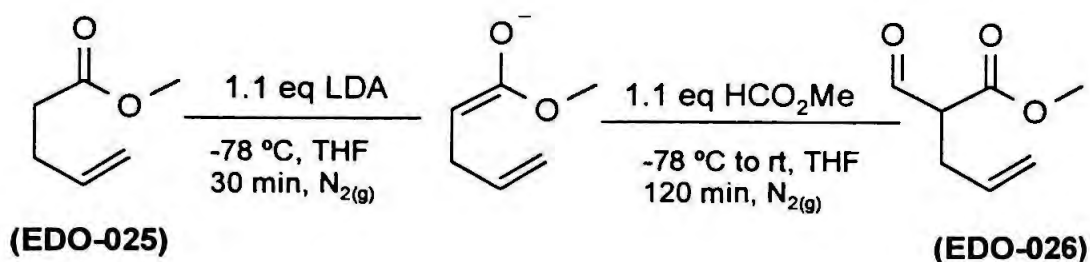


Figura 85 – Obtenção de (EDO-026) por formilação de (EDO-025).

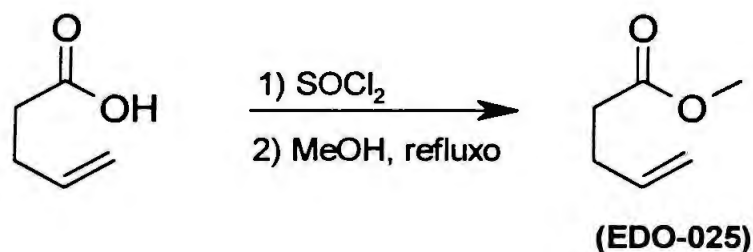


Figura 86 – Obtenção de (EDO-025) via esterificação Do ácido 4-pentenóico.

O composto (EDO-026) foi obtido com 11% de rendimento após purificação em coluna de sílica gel eluindo-se com mistura de hexano:acetato de etila (4:1). Quantidade apreciável de material, identificada como substrato não reagido, permaneceu na mistura. Como alternativa para melhora futura deste processo poderia ser o uso de maior quantidade de agente formilante (formato de metila). Bertz *et al.* (1982) relataram uma razão de 10:1 entre no número de equivalentes do agente formilante e de substrato em procedimento de síntese bastante relacionado com o trabalho em questão. A pequena quantidade de material obtido, impossibilitou a sequencia reacional até as benzamidas desejadas.

O espectro de RMN de ^1H confirmou a formação do éster (EDO-026) onde este aparece em sua forma enólica (página 128).

7.1.2.5. Rota sintética E – Síntese dos Compostos da Série Nicotínia via Iodociclização

Esta nova rota de síntese foi proposta para a preparação dos compostos **(2)** e **(3)** (Figura 65). Alguns fatores impediram a reação de acoplamento do composto (EDO-131) com a 3-hidroxi piridina o que resultaria na formação do derivado nicotínico estendido **(2)**. Não foi possível realizar dentro do prazo deste projeto a reação de acoplamento entre (EDO-138) e a 3-bromopiridina catalisada por $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$, BINAP e em meio de NaOBu^t que levaria ao derivado aminado **(3)**.

Contudo várias tentativas de síntese de **(2)** foram efetuadas, porém sem sucesso.

O acoplamento direto do iodo composto (EDO-131) com a 3-hidroxi piridina em presença de K_2CO_3 , aparentemente simples, resultou somente no produto de desidrohalogenação (EDO-068) (Figura 87), comprovado por análise de RMN- ^1H (página 128).

Este resultado não era esperado, pois o azido composto (EDO-137) foi prontamente preparado em refluxo de DMF e em presença de um ânion básico (N^{3-}) a partir de (EDO-131) (Figura 88).

De fato, produto de β -eliminação também é formado neste processo, provavelmente devido ao efeito do aquecimento e a presença da base forte, especialmente em temperaturas mais elevadas. A figura 89 mostra o intermediário instável **(21)**, produto de β -eliminação, que se rearranja prontamente para formar o pirrol (EDO-068).

Algumas tentativas foram feitas para se evitar esta reação indesejável. Tentou-se, sem sucesso, o acoplamento entre o composto (EDO-131) e a 3-hidroxi piridina na ausência de K_2CO_3 em refluxo de CH_2Cl_2 e em presença de 1 equivalente de Et_3N para captura do HI liberado. Nenhum produto foi formado.

Adicionou-se então pequena quantidade de resina aniônica Amberlite® IRA 400 Cl e a mistura foi agitada e monitorada por CCD

durante 5 dias à temperatura ambiente. Nenhum produto foi formado (Figura 90).

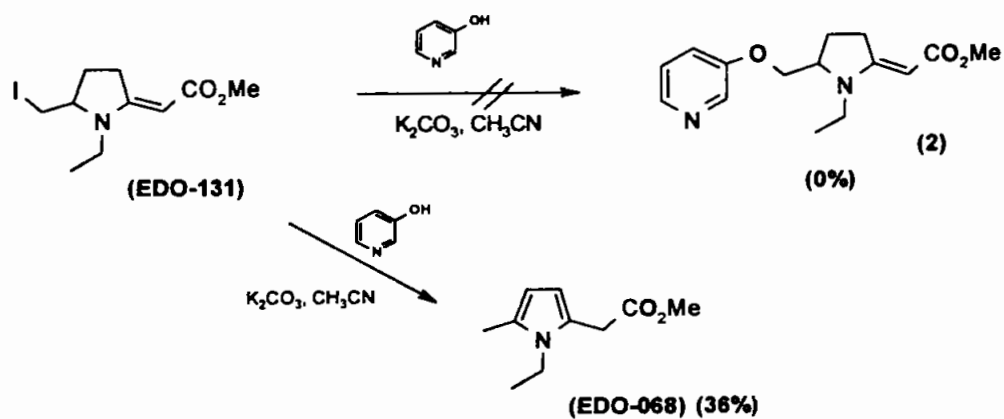


Figura 87 – Competição entre os mecanismos E_2 e S_N2 no composto (EDO-131).

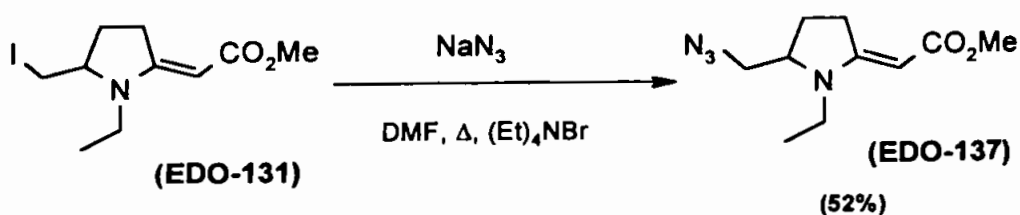


Figura 88 – Obtenção de (EDO-137) a partir de (EDO-131) pelo uso de NaN_3 .

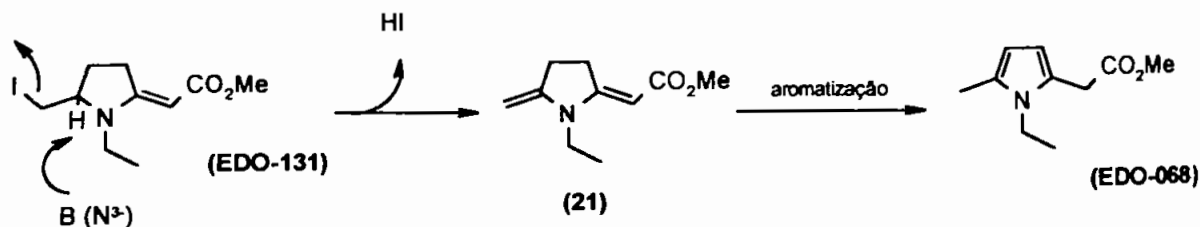


Figura 89 – β -eliminação e aromatização de (EDO-131).

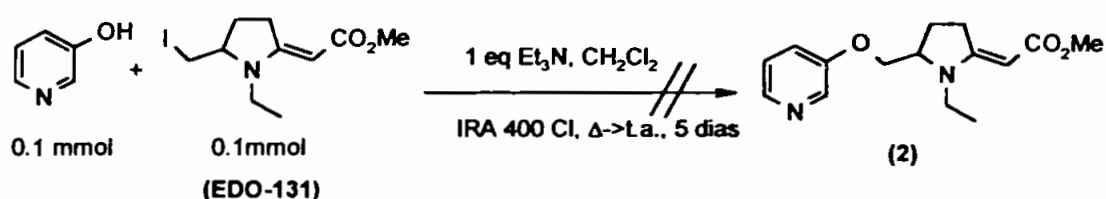


Figura 90 – Tentativa de obtenção de (2) na ausência de K_2CO_3 .

Nova tentativa foi feita desta vez preparando-se o sal sódico da 3-hidroxipiridina e gotejando lentamente uma solução deste em DMF, sobre solução do substrato (EDO-131) em DMF e sob agitação, à temperatura ambiente. Imediatamente verificou-se a formação de um produto. A reação foi seguida por CDD durante 24 horas. Houve completa conversão do substrato no composto (EDO-068) (Figura 91).

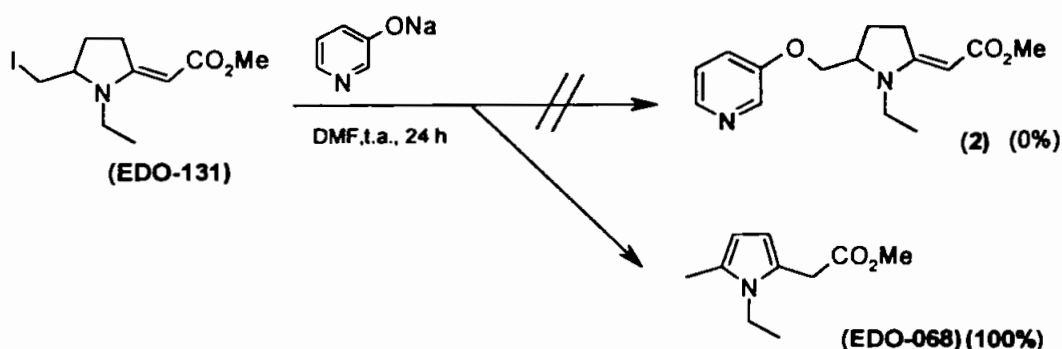


Figura 91– Tentativa de obtenção de (2) usando-se o sal sódico 3-oxi-piridínico em DMF.

Considerando-se que a DMF é solvente fortemente polar e aprótico e que poderia estar aumentando consideravelmente a reatividade do ânion 3-oxipiridínico, fortemente básico, pensou-se na possibilidade de usar um outro solvente, prótico e menos polar, e realizar a reação em condições de catálise por transferência de fase (CTF), em um sistema do tipo sólido-líquido. Este procedimento foi usado para a preparação da azida (EDO-137), sendo a azida de sódio (NaN_3) de baixa solubilidade em DMF.

Realizou-se então a reação entre o sal sódico da 3-hidroxi-piridina e o substrato (EDO-131) em meio de THF e presença de $(Et)_4NBr$. A mistura foi agitada em refluxo de THF por 6.5 h e análise por CCD não mostrou formação de produto. O sistema foi deixado em agitação à temperatura ambiente, durante 4 dias, não havendo modificação nos resultados (Figura 92).

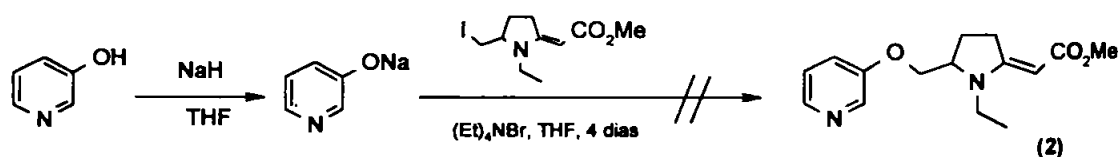


Figura 92– Tentativa de obtenção de (2) por CTF.

A fim de se investigar que efeitos teriam a temperatura (aquecimento) e a presença de base sobre os processos de eliminação neste tipo de composto, Ferraz *et al.* (1999) mostraram que dois mecanismos possíveis podem ocorrer: a eliminação monomolecular E_1 (térmica) e o processo bimolecular E_2 (catalisado por base) (Figura 93).

Em seus achados não houve produto de eliminação térmica (E_1) para o éster etílico (22) análogo de (EDO-131) quando aquecido na ausência de base. Isto sugere que embora o aquecimento desempenhe um papel importante na velocidade do processo ele *per si* não é suficiente para explicar os resultados observados.

De fato, tanto o refluxo em CH_2Cl_2 como em THF, na ausência de base, não resultou na formação de (EDO-068). O uso de K_2CO_3 e do sal sódico da 3-hidroxi-piridina resultou no produto de eliminação, exceto quando usou-se CTF onde nenhum produto foi verificado.

O fato de que o uso do ânion azida (N^3) resulta majoritariamente no produto de substituição nucleofílica (SN_2) chama a atenção em comparação com o ânion 3-oxo-piridínico, indicando a princípio, a maior nucleofilicidade do primeiro.

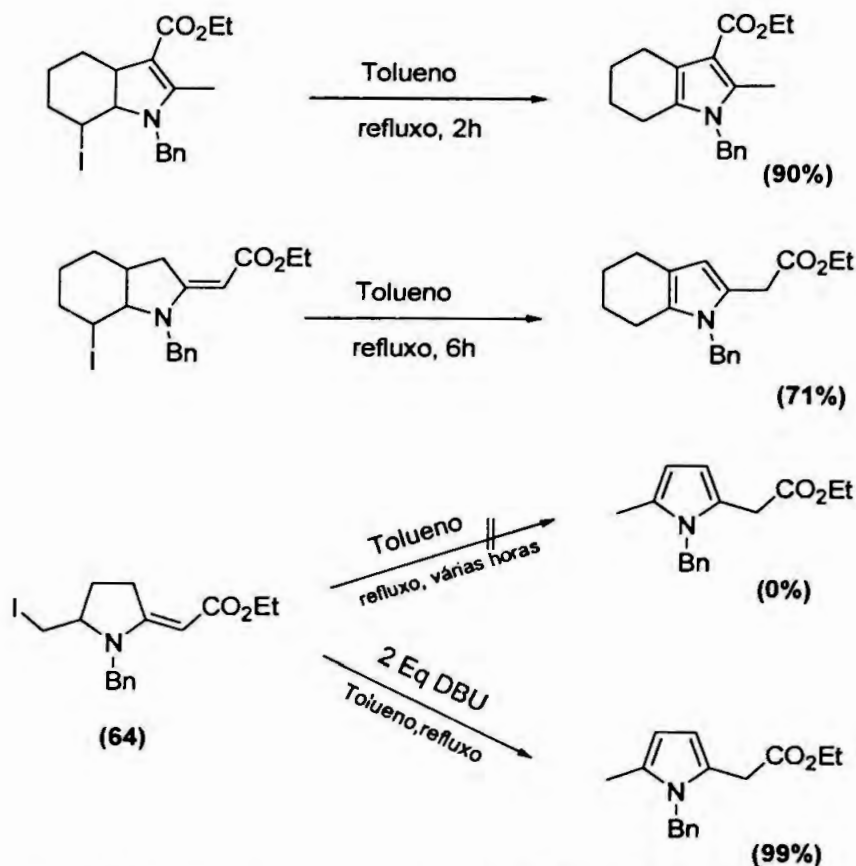


Figura 93– Desidrohalogenação via E₂ (base) e E₁ (térmica).

Contudo estudos feitos por Pearson *et al.* (1968) revelam alguns dados surpreendentes. Os autores estabeleceram algumas constantes de nucleofilicidade (n) para vários ânions em relação ao iodometano. Embora não se tenham os valores para o ânion 3-oxopiridínico, este foi comparado com o ânion fenóxido (Figura 94).

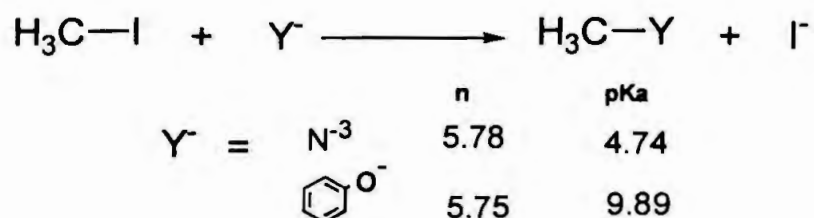


Figura 94 – Constantes de nucleofilicidade (n) e basicidade (pKa) dos ânions azida e fenóxido.

Os valores de nucleofilicidade (n) em relação ao iodometano são praticamente iguais entre os ânions azida e fenóxido. É provável que estes valores sejam ligeiramente diferentes para o haleto primário (EDO-131) e o ânion 3-oxopiridínico, mas não explicam a diferença de reatividade observada. Contudo há que se notar a enorme diferença entre os valores de pKa, sendo o íon fenóxido aproximadamente 10^5 vezes mais básico do que o ânion azida. Isto deve comandar a maior seletividade para os mecanismos E_2 em relação ao SN_2 .

Outro provável fator influente nesta seletividade é a solubilidade dos sais nos meios reacionais. Quando se usou solução do sal sódico 3-oxopiridínico em DMF, este reagiu prontamente levando ao produto de eliminação. Porém nenhum produto foi verificado quando usou-se suspensão daquele sal em THF em condições de CTF.

Poder-se-ia, alternativamente, usar o sal de lítio da 3-oxipiridina em solução de THF e à baixa temperatura. Isto aumentaria a solubilidade da espécie reativa (ânion ou par iônico íntimo) no meio reacional e em segundo lugar porque o caráter σ parcial da ligação Li-O (par iônico íntimo) poderia contribuir para a diminuição da basicidade do reagente e aumento relativo da sua nucleofilicidade (Figura 95).

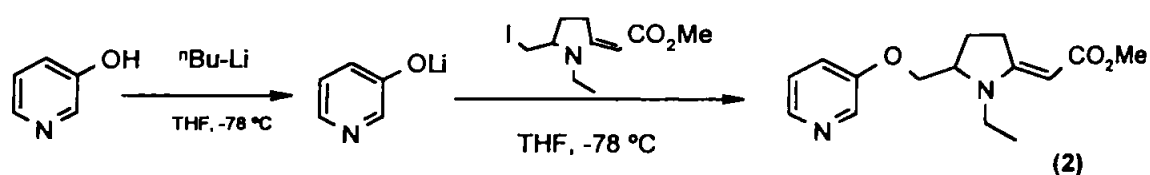


Figura 95 – Provável obtenção de (2) a partir de (EDO-131) pelo uso do sal de lítio da 3-oxopiridina.

7.1.2.6. Rota sintética F – Síntese Alternativa dos Compostos da Série Nicotínia via Ácido Piroglutâmico

Como comentado anteriormente, o intermediário (2) não pôde ser obtido pelos métodos pretendidos (Figura 65).

Propôs-se então a rota alternativa (Rota F) (página 194) para a síntese de (23), que é o análogo reduzido de (2), possivelmente até com maiores chances de afinidade com os receptores nicotínicos $\alpha_4\beta_2$ e α_7 , onde o átomo de nitrogênio pirrolidínico encontra-se mais básico.

Neste caso o acoplamento da 3-hidroxi piridina com o mesilato intermediário (24) deve render preferencialmente o composto (23), visto não haver mais a possibilidade de aromatização para formação do anel pirrólico, termodinamicamente mais estável, na ausência da dupla ligação exocíclica. Ainda assim é possível a formação de uma dupla ligação exocíclica via mecanismo E_2 e migração desta para dentro do anel.

Algumas das vantagens de se usar o ácido piroglutâmico como material de partida é que o anel pirrolidínico já está formado e com estereoquímica definida.

A separação dos diastêromeros em (23) leva a dois isômeros puros em vez de quatro outros de difícil separação, como no método da iodociclização. Além disso pode-se obter todos os quatro isômeros isolados se for usado o ácido piroglutâmico de configuração (R) ou (S), um de cada vez. Isto é fundamental para a investigação dos fatores determinantes das afinidades (*binding*) dos protótipos com os receptores.

Embora a literatura tenha reforçado a preferência dos isômeros (S) para as benzamidas que se ligam aos receptores D_2 (ex. sulpirida, remoxiprida), a introdução de um novo substituinte pode interferir nesta preferência, o que mais uma vez corrobora o valor desta estratégia de síntese por permitir, *a priori*, a síntese e separação de todos os isômeros possíveis.

Outra vantagem do método é a a funcionalização dos derivados do ácido piroglutâmico para β -enaminoésteres, processo bem conhecido e explorado (Than *et al.*, 1996).

Embora existam várias vantagens em comparação com o método da iociclização, o método via ácido piroglutâmico não é capaz de gerar as benzamidas 3-substituídas referidas nas rotas B e C (página 194).

Embora tenha sido iniciada a exploração deste novo método, não houve tempo hábil de finalizar o estudo em questão.

7.1.3. Preparação dos sais das benzamidas para os testes de *binding*

Os testes de afinidade com os receptores (*binding*) são realizados em meio aquoso, o que exige que as bases livres sejam transformadas em compostos protonados hidrossolúveis. Isto é feito por meio da formação de um sal, usualmente um cloridrato, e quando não possível outros sais como o oxalato, fumarato e malato.

Os critérios de pureza são críticos para que se assegure a identidade química da amostra a ser testada.

7.1.3.1. Tentativa de obtenção do cloridrato da benzamida (EDO-140)

O composto (EDO-140) foi dissolvido em éter e uma solução saturada de HCl em éter anidro foi gotejada sob agitação. Um precipitado branco se formou prontamente e foi separado da água mãe por decantação do líquido. Após lavado com éter anidro gelado e filtrado, o sólido liquefez-se à temperatura ambiente, mostrando-se bastante higroscópico e instável.

Repetidas tentativas mostraram-se ineficazes para a obtenção de um sólido estável. Tentou-se então a preparação do sal oxalato.

7.1.3.2. Tentativa de obtenção do oxalato da benzamida (EDO-139)

Uma solução de ácido oxálico (2 equivalentes) em éter anidro foi

agitada em um balão sobre a qual foi gotejada uma solução da benzamida (EDO-139) (1 equivalente) em éter. Não houve formação de precipitado formou-se. O volume da solução foi reduzido pela evaporação parcial do solvente e éter de petróleo foi gotejado sobre a solução remanescente para provocar a precipitação do sal. A mistura foi deixada por vários dias no freezer mas nenhum cristal se formou. Várias tentativas de evaporação do solvente, ressolubilização e reprecipitação foram feitas sem sucesso. Decidiu-se então tentar uma outra forma salina, reagindo-se a base livre com ácido fumárico.

7.1.3.3. Tentativa de obtenção do fumarato da benzamida (EDO-140)

Uma amostra da base livre (EDO-140) (100 mg;1equivalente) foi dissolvida em éter seco e gotejada sobre uma solução de ácido fumárico (61 mg;2 equivalentes) em éter sob agitação. Após redução do volume, a mistura foi deixada no freezer, onde cristais de côr amarelo-claro foram obtidos. Após lavagem com éter gelado e secagem em estufa (60 °C) a baixa pressão, obteve-se 77 mg de um sólido que apresentou ponto de fusão igual a 153-154 °C. Uma pequena quantidade do material (5 mg) foi enviada para análise elementar. Os resultados da análise mostraram excesso de nitrogênio, comparando-se com os dados teóricos previstos (Tabela 13).

Tabela XIII – Análise elementar do sal de ácido fumárico da benzamida (EDO-140)

Elemento	Valor Teórico (%)	Valores Encontrados (%)	
C	50,86	54,60	54,62
H	5,25	6,17	6,08
N	6,84	9,33	9,20

Duas são as possibilidades de explicação de tais resultados. Primeiro, a presença de impurezas na amostra. Segundo, a quantidade de ácido fumárico incorporada no sal foi menor do que a prevista.

A primeira hipótese foi confirmada quando se observou atentamente

a presença de uma segunda mancha diminuta e de fraca intensidade pela análise criteriosa de CCD. Esta mancha esteve praticamente escondida sob a mancha principal. A análise do espectro de RMN de ^1H mostrou de fato um pequeno excesso nas integrais relativas aos prótons vinílicos (δ 4,6287 ppm; intensidade: 1,16), metílicos do grupo éster (δ 3,6435 ppm; intensidade: 3,48) e metílicos do grupo etil ligado ao nitrogênio (δ 1,1969 ppm; intensidade: 3,52) (Figura 96). Estes valores se ajustam bem a um excesso de 16% de algum sub produto não identificado.

Há de se considerar que por vezes os espectros de RMN mostram valores de integrais aproximados, mesmo para compostos puros, razão pela qual não se inferiu a possibilidade de contaminação do produto apenas por análise de RMN. Estes desvios de integrais ocorrem devido à aquisição pouco cuidadosa do espectro, não se ajustando os parâmetros para relaxamento completo dos prótons irradiados, ou seja, o aumento no intervalo entre os pulsos de radiofrequência.

Seguiu-se então para a purificação da amostra.

7.1.3.4. Tentativa de purificação de (EDO-140) por recristalização de hexano

Primeiramente tentou-se purificar a amostra da base livre (EDO-140) por recristalização. O composto mostrou-se bastante solúvel para a maioria dos solventes testados (CH_2Cl_2 , acetato de etila, éter, etanol, etc), com exceção do hexano, no qual a sua solubilidade foi bastante baixa. Após árduo trabalho de dissolução e precipitação dos cristais, obtiveram-se alguns miligramas de um sólido puro de ponto de fusão igual a 159-160 °C. De qualquer forma, como a quantidade obtida foi muito pequena, tentaram-se outras formas de purificação.

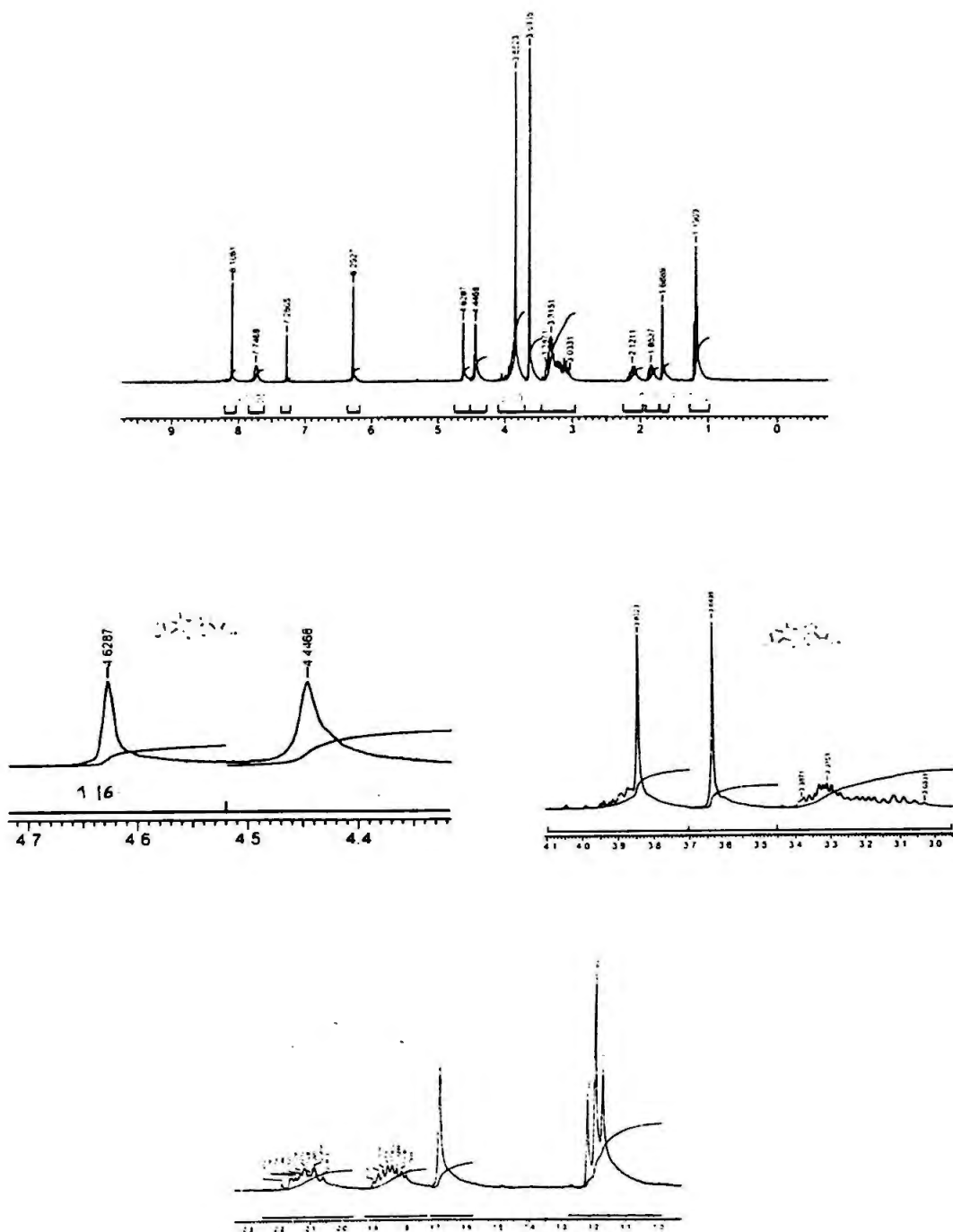


Figura 96 - Espectro de RMN de ^1H de (EDO-140) (300 MHz) (δ ppm, CDCl_3).

7.1.3.5. Tentativa de purificação de (EDO-140) por CLAE

Uma vez que a cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) é um excelente método de análise e separação de misturas complexas, tentou-se utilizar este método para a purificação de (EDO-140). Realizou-se primeiramente um ensaio analítico para a avaliação das condições experimentais para futura separação da mistura.

Foi utilizada solução eluente de acetonitrila:água (95:5) em uma coluna de fase reversa Shimadzu C18 usando-se método isocrático de eluição com detecção dos compostos por absorção no UV na região de 254 nm.

O produto de recristalização em hexano estava praticamente puro, enquanto que o nível de contaminação do composto (EDO-140) foi bem reduzido.

As dificuldades inerentes de acerto das condições para a separação cromatográfica e a falta de uma coluna preparativa no momento, fizeram com que se deixasse de lado a CLAE e se optasse por outra forma mais prática e rápida de purificação de EDO-140.

Tentou-se então o uso da cromatografia de camada delgada preparativa (CCDP).

7.1.3.6. Purificação de (EDO-140) por CCDP

A solução final para a purificação de (EDO-140) foi a utilização de CCDP onde fez-se a eluição da placa preparativa com mistura dos solventes CH_2Cl_2 :MeOH (19:1). A faixa superior que concentrou a impureza do composto foi facilmente separada e a faixa inferior raspada da placa, dispersa em CH_2Cl_2 e filtrada. Após evaporação do solvente à baixa pressão obteve-se um sólido de cor amarelo claro que cristalizou e apresentou ponto de fusão igual a 159-160 °C. O composto foi enviado para *binding* sob forma de base livre. Os espectros de RMN de ^1H e ^{13}C confirmaram a estrutura (página 128).

7.1.3.7. Preparação do fumarato da benzamida (EDO-139)

Uma fração pura da benzamida (EDO-139) (71 mg; 0,2 mmol) obtida por purificação em coluna de sílica gel ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} - 19:1$) foi dissolvida em éter etílico anidro e a solução gotejada sob agitação a uma solução de ácido fumárico (23 mg; 0,2 mmol) em éter.

Éter de petróleo foi adicionado à solução salina formada, o que provocou a precipitação imediata do fumarato. A mistura foi deixada no freezer por uma noite. O licor-mãe foi então drenado e os cristais formados lavados com éter gelado.

Após secagem do produto em estufa (60 °C) à baixa pressão, o sal foi enviado para a análise elementar (Tabela XIV). Os dados médios obtidos apontaram para uma incorporação de 0,56 equivalentes de ácido fumárico por mol de base livre. Foi considerado que a baixa incorporação do ácido poderá ser evitada pelo aumento da quantidade deste na preparação do sal. O sal foi então redissolvido em acetona e adicionado excesso de ácido fumárico. A mistura foi então refluxada e o solvente evaporado. A tentativa de recristalização do sal em éter etílico não foi possível. O precipitado formado, após lavagem do excesso de ácido fumárico, resultou numa mistura de dois cristais de morfologia diferentes.

Tabela XIV – Análise elementar do sal de ácido fumárico da benzamida (EDO-139)

Elemento	Valor Teórico (%)	Valores Encontrados (%)	
C	54,72	56,19	56,33
H	5,64	5,91	5,89
N	5,80	6,33	6,47

7.1.3.8. Preparação do cloridrato da benzamida (EDO-122)

O composto (EDO-122) foi dissolvido em éter etílico anidro e sobre a solução agitada magnéticamente foi gotejada uma solução saturada de HCl em éter anidro, até que não houvesse mais precipitação do sal. A mistura foi então deixada repousar dentro de um freezer por uma noite. Um sólido cristalino de cor branca foi então raspado e lavado com éter fresco gelado e

seco. O sólido foi transferido para um frasco e levado à estufa (60 °C) para secagem à baixa pressão. A afinidade deste composto ainda não foi avaliada com os receptores D₂ e 5-HT₃.

7.1.3.9. Preparação do cloridrato da benzamida (EDO-148)

O cloridrato do composto (EDO-148) foi preparado da mesma forma que o cloridrato de (EDO-122) descrita no item anterior. Este composto não foi enviado para *binding*.

Os demais sais resultantes das outras benzamidas ainda devem ser preparados futuramente. Algumas dificuldades foram encontradas por obtenção de alguns sais muito higroscópicos.

Não há dúvidas que a química orgânica mescla a arte com a ciência. A preparação de sais é exemplo clássico. Muito trabalho é feito até que se domine esta técnica, quase que artesanal, da obtenção de sais cristalinos.

7.2. Discussão dos resultados do estudo biológico (*binding*)

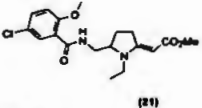
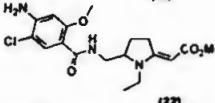
7.2.1. Afinidade das benzamidas (EDO-139) e (EDO-140) pelos receptores D₂ e 5-HT₃ - (testes de *binding*)

Ainda que se tenha resolvido o problema da contaminação do composto (EDO-140) por cromatografia preparativa em camada delgada (CCDP), não foi possível a preparação de um sal da base livre para os testes de *binding*. Esta mesma dificuldade foi encontrada com o composto (EDO-139).

Os compostos foram enviados para os testes de *binding* em sua forma de base livre para serem dissolvidos em água com auxílio de DMSO como co-solvente.

Os dados de *binding* para os receptores D₂ e 5-HT₃ estão sumarizados na tabela XVa seguir.

Tabela XV – Valores de K_i (nM) para os compostos (EDO-139) e (EDO-140)

COMPOSTOS	K_i (nM)	
	5-HT ₃	D ₂
 (21)	>10.000	>10.000
 (22)	>10.000	>10.000

7.2.1.1. Hipótese da baixa afinidade devida à baixa basicidade do nitrogênio pirrolidínico

A hipótese para se explicar as baixas afinidades demonstradas foi a baixa basicidade dos átomos de nitrogênio no anel pirrolidínico, um dos componentes essenciais do grupo farmacofórico de ligantes a ambos os receptores. Isto pode estar impedindo a protonação do nitrogênio no meio fisiológico e impossibilitando a ligação com os receptores através da interação eletrostática com os grupos carboxilato da proteína.

Esta basicidade menor em comparação com os substituintes saturados do anel pirrolidínico deve-se à conjugação presente no sistema β -enaminoéster (Figura 97).



Figura 97 – Conjugação eletrônica no sistema β -enaminoéster.

De fato, os cálculos de mecânica molecular mostrados anteriormente (Figura 59) exibem expressiva diferença entre as densidades eletrônicas medidas em torno dos átomos componentes deste sistema conjugado, especialmente no nitrogênio.

Observando-se os compostos (EDO-140) e (EDO-145) nota-se o aumento significativo desta densidade no nitrogênio quando a dupla ligação é reduzida, com possível aumento da basicidade (Figura 59).

A título de ilustração cita-se a (S)-sulpirida, antipsicótico de uso clínico, com $K_i=7,6$ nM (D_2) (Figura 98).

Dois fatos chamam a atenção. A saturação do anel nitrogenado e a sua não-substituição nas posições 4 ou 5. Isto poderia explicar a baixa afinidade dos compostos (EDO-139) e (EDO-140) devido a suas baixas basicidades no nitrogênio, bem como apontar para a provável intolerância dos receptores a substituintes no anel pirrolidínico.

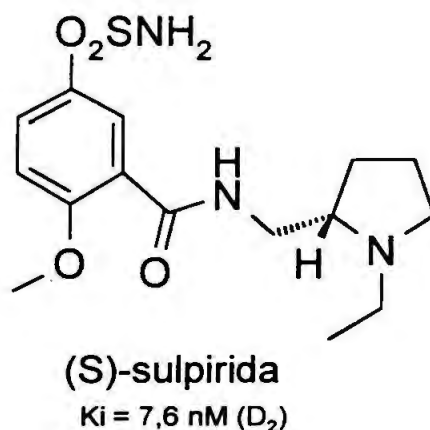


Figura 98 – (S)-Sulpirida – antipsicótico de uso clínico.

O fato de não ter sido possível a preparação de alguns dos sais pode ser interpretado também pela baixa basicidade do átomo de nitrogênio.

7.2.1.2. Hipótese da baixa afinidade devida à intolerância dos receptores D_2 e $5-HT_3$ às substituições no anel pirrolidínico

Como por vezes já comentado, é provável que a baixa afinidade das benzamidas (EDO-139) e (EDO-140) resida na intolerância dos receptores D_2 e $5-HT_3$ a substituições no anel pirrolidínico.

Há contudo o trabalho de Iwanami *et al.* (1981) que, já citado e comentado na secção IV, ítem 4.2.1, à página 105, mostram estudos de

REA de aminopirrolidinas N-,2 e 3 substituídas como agentes antipsicóticos⁵.

A tabela VII resume os achados para os compostos de interesse nas posições N- e 2- (grupos R₃ e R₄, respectivamente). Como pode ser depreendido da rápida observação dos dados, o grupamento benzila é preferido ao etila na substituição junto ao átomo de nitrogênio (R₃). Esta foi a razão pela qual se decidiu preparar as benzamidas N-benzil substituídas. Esperam-se melhores resultados de *binding* para estes compostos.

O grupamento fenila não foi bem tolerado pelo receptor.

Parece haver boa tolerância à substituição na posição 2 (R₄) do anel pirrolidínico, possivelmente até para grupos mais volumosos como o fenila. O item de número #7 na tabela mostra alto valor de ED₅₀ possivelmente devido à presença do grupo etila em R₃.

As substituições no anel aromático (R₁ e R₂) pouco impactam sobre os resultados.

Tendo visto que o objetivo do projeto se volta para a exploração de REA na região do anel pirrolidínico, tomou-se o grupo *p*-amino não substituído (R₁=R₂=H) como referência.

A prova mais importante, sugestiva da tolerância dos receptores às substituições na posição 3[#], foi a síntese e avaliação do composto DO-766 (Página 107), que apresentou bons valores de K_i para os receptores D₂.

Embora todos os ensaios funcionais (ED₅₀) sugiram boa correlação com os dados de afinidade (K_i) aos receptores D₂ (fundamentando-se na hipótese dopaminérgica vigente), o inverso nem sempre é verdadeiro. Ou seja, em termos genéricos, bons ligantes nem sempre apresentam a atividade intrínseca necessária para desencadear o efeito biológico esperado. A afinidade é condição necessária, porém não suficiente para isto. Como já comentado, os estudos da relação entre a estrutura e

* Respectivamente equivalentes às posições 2 e 3 do anel substituído (EDO-140 ou EDO-145).

⁵ Tais estudos, de base funcional e farmacológica, não explicitaram os valores de afinidade (K_i) com os possíveis receptores D₂ envolvidos no processo. Porém, o fato de terem sido usados exemplos comparativos de fortes ligantes a estes receptores, como a (S)-sulpirida (K_i=7,6 nM – D₂) e o achado experimental DO-766 (K_i=6,0 nM – D₂ - cis) (K_i=3,6 nM – D₂ - trans), aponta para provável forte correlação entre a atividade biológica medida e a afinidade com os receptores D₂.

[#] No caso específico do composto DO-766 seria a posição 4.

afinidade (SAFIR) são importantes como ponto de partida na determinação dos fatores estruturais governantes da afinidade de certas classes de compostos a certos receptores, muito mais quando já se tem uma hipótese farmacológica para o mecanismo de ação, mas não prescindem da necessidade da avaliação biológica quando se buscam efeitos biológicos específicos.

São raros os estudos de REA ou SAFIR para benzamidas aminopirrolidino-substituídas. Somente um trabalho foi encontrado (Harada *et al.*, 1995), que mostrou não haver efeito de antagonismo 5-HT₃ para as benzamidas 3-substituídas (R₂) (Tabela VIII, página 109). Isto atesta para a necessidade de exploração mais profunda desta classe de compostos com os receptores 5-HT₃, avaliando todas as outras possibilidades de substituição, no nitrogênio e na posição 2 do anel pirrolidínico.

Os autores, contudo, chegaram a um composto fortemente antagonista 5-HT₃ para uso como antiemético, mostrado no item #6 da tabela IX (página 110). Este composto de anel piperidínico foge porém da séria pirrolidínica em estudo, e foi citado neste trabalho para simples informação.

7.3. Discussão dos resultados de modelagem molecular

7.3.1. Cálculo das distâncias entre os elementos dos grupos farmacofóricos

As distâncias entre os elementos dos grupos farmacofóricos dos antagonistas de receptores D₂ e 5-HT₃ preconizadas pelos modelos de Evans *et al.* (1993) e Rognan *et al.* (1990) foram comparadas com os valores calculados para as benzamidas intermediárias (EDO-140) e (24) via mecânica molecular. As estruturas das benzamidas em estudo e da remoxiprida foram desenhadas e minimizadas via algoritmo AM1 implementado no software Sybyl versão 6.7. As distâncias entre o centro do anel aromático, o grupo aceptor de ligações de hidrogênio (carbonila) e o

grupo doador de ligações de hidrogênio (átomo de nitrogênio pirrolidínico), elementos fundamentais dos grupos farmacofóricos, foram medidas e comparadas com os modelos citados.

A tabela XVI, compara os valores ilustrados pelas figuras 57 e 58 com os modelos de grupos farmacofóricos de Evans e Rognan.

Tabela XVI - Distâncias entre os elementos dos grupos farmacofóricos obtidos por modelagem molecular

Distância em Å	EDO-140 (R)	EDO-140 (S)	24 (R)	24 (S)	Remoxiprida (R)	Remoxiprida (S)	5-HT ₃ Evans	D ₂ Rognan
d ₁	7,604	6,507	7,568	6,371	7,587	6,451	7,1(0,3)	5,9-7,7
d ₂	3,660	3,662	3,663	3,665	3,688	3,686	3,5(0,2)	
d ₃	5,177	4,762	5,102	4,450	5,100	4,736	5,1(0,2)	

Pode-se imediatamente inferir por análise dos dados que os protótipos de configuração (R) são aqueles que melhor se ajustam ao modelo de Evans. O isômero (S) é o biologicamente ativo no agente antipsicótico remoxiprida. Os dados da tabela XVI permitem deduzir que, *a priori*, este isômero não deve ter boa afinidade com os receptores 5-HT₃. A (S)-sulpirida, outro agente AP em uso clínico, de fato mostrou baixa afinidade aos receptores 5-HT₃ com valores de $K_i > 10.000$ nM (Roth, 2003). Aliás, quanto mais restrita for a flexibilidade do átomo de nitrogênio no anel e melhor definida a sua posição no espaço, maior é a afinidade com os receptores 5-HT₃. Isto fica claro quando se compara, por exemplo, a zacoprida ($K_i = 0,42$ nM) com a metoclopramida ($K_i = 260$ nM) (Schmidt *et al.*, 1989) (Figura 27, página 76).

Embora o modelo de Rognan *et al.* (1990) descreva vários parâmetros, o único que se aplicou a esta comparação foi a distância entre o centro do anel aromático e o átomo de nitrogênio. Claro está que todos os protótipos estudados se enquadram dentro do modelo, inclusive a remoxiprida que é sabido ser antagonista seletivo de receptor D₂.

Estes poucos dados de modelagem apenas sugerem a possibilidade de interação dos protótipos com os receptores, não explicando a baixa interação dos protótipos EDO-139 e EDO-140 aos receptores D₂ e 5-HT₃.

Outros fatores, além do grupo farmacofórico, podem estar desempenhando papel importante para a afinidade, como exemplo os fatores eletrônicos e estéricos. Isto poderá ser confirmado em parte por análise dos novos derivados reduzidos (ex. EDO-145).

Outra ferramenta que pode ser de grande auxílio na interpretação e previsão destes fatores é o *docking* dos protótipos com os receptores. Embora não existam coordenadas cristalográficas dos receptores 5-HT₃ disponíveis no PDB – Protein Data Bank, foi encontrado um modelo de receptor D₂ que pode ser útil para este estudo no futuro. Teeter *et al.* (1994) têm trabalho no estabelecimento deste modelo a partir de vários agonistas e antagonistas de receptores D₂, inclusive benzamidas. Seu modelo de receptor D₂ baseia-se na estrutura da proteína bacteriorodopsina.

7.3.2. Cálculo da densidade de carga elétrica no sistema β-enaminoéster

Foram feitos cálculos da densidade de carga eletrônica envolvida no sistema β-enaminoéster altamente conjugado presente no protótipo EDO-140 (Figura 97). Usou-se para isto o algoritmo Gasteiger-Hückel implementado no software Sybyl 6.7 da Tripos Inc. Os valores encontrados, mostrados na figura 59 (página 191) não tem significado físico propriamente dito, mas são parâmetros de comparação entre os sistemas conjugado (EDO-140) e reduzido (EDO-146). Há de se notar grande variação da densidade eletrônica em todo o sistema, particularmente o aumento desta nos átomos do nitrogênio pirrolidínico e do oxigênio carbonílico. Isto pode, como citado, contribuir para o aumento da basicidade do nitrogênio e da afinidade dos compostos frente aos receptores.

7.3.3. Cálculo das distâncias entre os elementos dos grupos farmacofóricos nos derivados nicotínicos

Os derivados nicotínicos projetados (2) e (3) (Figura 60) foram submetidos à minimização de energia por mecânica molecular e medidas as distâncias entre os pontos do grupo farmacofórico descritos por Sheridan *et al.* (1986). Tal procedimento visou a pesquisa da conformidade estrutural dos protótipos pretendidos com o modelo estabelecido para agonistas nicotínicos.

Os resultados vistos na tabela XI mostram valores que distanciam-se um pouco daqueles descritos pelo modelo de Sheridan (Figura 48).

Porém, estudos recentes conduzidos por Glennon *et al.* (2000) em compostos 3-oxometilenopirrolidinilpiridínicos mostraram que apesar destas discrepâncias numéricas, tais compostos ligam-se aos receptores (nACh) $\alpha_4\beta_2$ com boa afinidade. Acrescentou-se a estes compostos o derivado *N*-etil substituído e foram medidas as distâncias entre os pontos do grupo farmacofórico após realizados cálculos de minimização de energia. A tabela XII mostra estes valores de distância além dos valores de K_i para estes compostos.

Dos dados apresentados, pode-se, a princípio, esperar que os compostos planejados (2) e (3) demonstrem afinidade com os receptores. Isto, porém, deverá ser efetivamente testado e considerados os fatores estéricos e eletrônicos vindos do substituinte metileno carboxílico no anel pirrolidínico.

CONCLUSÕES

VIII – CONCLUSÕES

- A escolha da classe química das benzamidas como novos protótipos de agentes AP potenciais foi determinada por serem estas bastante seletivas aos receptores D₂ e ainda demonstrarem potencial de perfil antipsicótico atípico (ex. amisulpirida).
- projeto possibilitou a abertura do estudo de SAFIR (relações entre a estrutura dos ligantes e a afinidade com os receptores) de novas benzamidas metileno-pirrolidínicas substituídas, ligantes potenciais dos receptores D₂ e 5-HT₃ em região ainda pouco explorada, o anel pirrolidínico.
- De vez que as benzamidas também são antagonistas de receptores 5-HT₃ tentou-se explorar os fatores que governariam a sua seletividade entre os receptores 5-HT₃ e D₂.
- Os protótipos até então testados (EDO-139 e EDO-140) não mostraram boa afinidade com os receptores, embora tenham-se preservado os requisitos do grupo farmacofórico exigidos para ligação com os receptores D₂ e 5-HT₃.
- Análogos reduzidos foram sintetizados (EDO-146, EDO-125, EDO-145 e EDO-126) com o propósito de se aumentar a basicidade do nitrogênio, fator provavelmente crítico na afinidade com os receptores.
- A metodologia de síntese de iodo-pirrolidinas desenvolvida (De Oliveira, 1995; Ferraz *et al.*, 1995) mostrou-se muito viável para a obtenção das benzamidas pirrolidino-substituídas das séries I e II (Figura 49, página 106).
- Houve alto grau de inovação quanto à tentativa de obtenção do intermediário EDO-142 necessário à preparação das benzamidas da série III (Figura 49, página 106), processo que futuramente abrirá possibilidade de aplicação da metodologia de síntese para benzamidas metileno-pirrolidínicas *N*- e 3-substituídas.

- Embora o método de iodociclicização tenha se mostrado útil, sofre da falta de controle estereoquímico, o que leva à formação de mistura de isômeros geralmente de difícil separação.
- A possibilidade de uso do ácido piroglutâmico na síntese de metileno pirrolidinas homoquirais é solução interessante, porém limitada à síntese de anéis pirrolidínicos substituídos somente no nitrogênio ou em C-3. Neste ponto a iodociclicização supera este método.
- Foi enfrentado o difícil problema da desidroalogenação e conseqüente aromatização das iodo-metilenopirrolidinas frente a reagentes muito básicos e relativamente pouco nucleofílicos.
- Agonistas nicotínicos de receptores nACh $\alpha_4\beta_2$ e α_7 , também estão envolvidos no processo da esquizofrenia. Os derivados 3-piridino-metileno-pirrolidínicos (2) e (3) (figura 65) foram planejados para este fim, porém as dificuldades de obtenção de (2) a partir do iodo composto (EDO-131) impediram a sua obtenção. A via ácido piroglutâmico foi proposta (figura 66) como alternativa de síntese, porém não investigada dentro do prazo deste projeto.
- As distâncias entre os componentes dos grupos farmacofóricos, medidas por estudos preliminares de modelagem molecular, revelaram a adequação dos protótipos planejados com os modelos propostos, ainda que outros fatores de ordem eletrônica e estérica possam concorrer para a afinidade com os receptores e devam ser investigados.

PERSPECTIVAS

IX – PERSPECTIVAS

- Iniciar grupo de pesquisa em planejamento e síntese de fármacos ativos no SNC em cooperação entre a FCF-USP e VCU-VA.
- Continuar os estudos da química medicinal do SNC em nível avançado através de pós-doutoramento e de intercâmbios científicos.
- Publicar artigo referente ao uso da metodologia de iodociclização de β -enaminoésteres na obtenção de benzamidas, compostos bioativos de interesse farmacoterapêutico como agentes AP.
- Publicar artigo de atualização sobre agentes antipsicóticos e seus mecanismos de ação.
- Publicar artigo sobre metodologia de síntese de iodo-metileno-pirrolidinas não-substituídas na posição 2, análogos do composto EDO-142.
- Investigar a viabilidade de uso do provável rearranjo Aza-Cope em alil- β -enaminoésteres como provável método de síntese orgânica de diidropirróis não-substituídos na posição 2 do hetrociclo de nitrogênio.
- Trabalhar para o crescimento e consolidação da química medicinal no Brasil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

X – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Allison, D.B.; Mentore, J.L.; Heo, M.; *Am. J. Psychiatry* **1999**, *156*, 1686-96.

APA - American Psychiatric Association; Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, 4th Ed., APA Press, Washington, DC, **1994**.

Augrist, B.M. In. Rotrosen, J.; Stanley, M. eds. *The Benzamides: Pharmacology, Neurobiology and Clinical Effects*. New York: Raven Press, **1982**:1.

Baldessarini, R.J.; *Drugs and The Treatment of Psychiatric Disorders*, In: Gilman, A.G. and Limbird, L.E.; *Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 9ª Ed., NY, McGraw-Hill Co. **1996**, 399.

Baraldi, P.G.; Simoni, D.; Manfredini, S.; *Synthesis* **1983**, 902-903.

Beers, W.H.; Reich, E.; *Nature* **1970**, *225*, 917-922.

Bertz, S.H.; Dabbagh, G.; Cotte, P.; *J. Org. Chem.* **1982**, *47*, 2216-2217.

Bleuler, E.; *Dementia Praecox oder Gruppe der Schizophrenien*, In: Aschaffenberg, G., *Handbuch der Geisteskrankheiten*, Denticke, Leipzig, **1911**.

Blot, J.; Bardon, A.; Bellec, C.; Forgeau-Bellassoned, M.C.; Célerir, J. P.; Lhommet, G.; *Tetrahedron Letters* **1997**, *38*, 8511-8514.

Booth, R.G.; Neumeyer, J.L.; *Psychotherapeutic Drugs: Antipsychotic and Anxiolytic Agents*, In: Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 5th Ed., Willimas, D.A.; Lemke, T.L.; **2002**, *17*, 408-33, Lippincot Williams & Wilkins Ed., Philadelphia.

Braibante, M.E.F.; Braibante, H.T.S.; Salvatore, S.J.S.A.; *Química Nova* **1990**, *13*, 67.

- Bristow, L.I.; Kramer, M.S.; Kulagowski, J.; Patel, S.; Ragou, C.I.; Seabrook; *Trends Pharmacol. Sci* **1997**, *18*, 186-8.
- Buchanan, R.W.; *Schizphr. Bull.* **1995**, *21*, 579-91.
- Burnett, P.W.J.; Eastwood, S.L.; Harrison, P.J.; *Neuropsychopharmacology* **1996**, *15*, 443-455.
- Bymaster, F.P. et al.; *Life Sci.* **1999**, *64*, 527-534.
- Carlsson, A.; Lindquist, M.; *Acta Pharmacol. Toxicol.* **1963**, *20*, 140-144.
- Charberlin, A.R.; Mulholland, R.L.Jr.; Kahn, S.D.; Hehre, W.J.; *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 672.
- Charpentier, P.; Gailliot, P.; Jacob, R.; *C. R. Acad Sci.* **1952**, *235*, 59-60.
- Chaves, A.C.; *Rev. Bras. Med.* **1994**, *51*, 3, 310-324.
- Cimarelli, C.; Palmieri, G.; *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 5557-5563.
- Cohen, B.D.; Rosenbaum, G.; Luby, E.D.; Gottlieb, J.S.; *Arch. Gen. Psychiatry* **1959**, *1*, 651-656.
- Corey, E.J.; Albright, J.C.; Barton, A.E.; Hashimoto, S.I.; *J. Am. Chem. Soc.* **1980**, *102*, 1435-1436.
- Corey, E.J.; Nicolau, K.C.; Balanson, R.D.; Machida, Y.; *Synthesis* **1975**, 590-591.
- Costall, B.; Naylor, R.; Tyers, M.; *Pharmacol. Ther.* **1990**, *47*, 181-202.
- Creese, I.; Burt, D.R.; Snyder, S.H.; *Science* **1976**, *192*, 481-483.
- Croxall, W.J., Athyn, B.; Van-Hook, J.O.; *US Patent 2,540,071* **1951**.
- D'Souza, D.C.; Charney, D.; Krystal, J.; *CNS Drug Rev.* **1995**, *1*, 227-260.

De Oliveira, E.O.; Síntese e ciclização de α - e γ -alquenil- β -enaminoésteres, *Master Dissertation* 1995, 192p., IQ-USP, São Paulo SP, Brazil.

Delay, J.; Deniker, P.; Harl, J.; *Ann. Med. Psychol.* 1952, 110, 112-7.

Deupree, J.D.; Bylund, D.B.; *Toctris Reviews* 2002, 18.

DeVeough-Geiss, J.; McBain, S.; Cooksey, P.; Bell, J.M.; In: Meltzer, H.Y. ed. *Novel Antipsychotic Medication*, New York:Raven Press, 1991.

Elkis, H.; Benzodiazepínicos na Esquizofrenia, In: Bernik, M.A.; *Benzodiazepínicos*, EDUSP, 1999, 113-121.

Engoyhen *et al.*; *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2001, 98, 3501.

Evans, S.M.; Huang, B.S.; Feng, D.; Gall, M.; Tsai, C.; Bariso, C.; Taylor, C.A.; *Med. Chem. Res.* 1993, 3, 386-406.

Faustman, W.O.; Bardgett, M.; Faull, K.F.; Pfefferbaum, A.; Csenansky, J.G.; *Biol. Psychiatry* 1999, 45, 68-75.

Ferraz, H.M.C.; De Oliveira, E.O.; Payret-Arrua, M.E.; Brandt, C.A.; *J. Org. Chem.* 1995, 60, 7357-7359.

Ferraz, H.M.C.; Pereira, F.L.C.; Leite, F.S.; Nunes, M.R.S.; Payret-Arrúa, M.E.; *Tetrahedron* 1999, 55, 10915-10924.

Fleischhacker, W.W.; *Psychopharmacology* 2002, 162, 90-1.

Furniss, B.; Hannaford, A.J.; Smith, P.W.G.; Tatchell, A.R.; *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry*, 5th Ed., Longman, UK 1989, 692-693.

Gannet, P.M.; Nagel, D.L.; Reilly, P.J.; Lawson, T.; Sharpe, J.; Toth, B.; *J. Org. Chem.* 1988, 53, 1064-1071.

Ghaeli, P.; Dufresne, R.L.; *Am. J. Health Syst. Pharm.* 1996, 53, 2079-81.

Glennon, R.A.; Dukat, M.; *Pharmaceutica Acta Helvetiae* 2000, 74, 103-114.

Glennon, R.A.; Westkaemper, R.B.; Bartyzel, P.; 1990 Medicinal Chemistry of Serotonergic Agents. In *Serotonin Receptor Subtypes: Basic & Clinical Aspects*; S. J. Peroutka, Ed.; Wiley-Liss: New York; Receptor Biochemistry & Methodology Ser., 15, 19-64.

Goff, D.C.; Posever, T.; Herz, L.; *J. Clin. Psychopharmacol.* 1998, 18, 296-304.

Goldstein, L.E.; Sporn, J.; Brown, S.; *Psychosomatics* 1999, 40, 438-43.

Göthert, M.; Sehlic, E.; in *Serotonergic neurons and 5-HT receptors in CNS*, Ed. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg/New York 1997, 307-350.

Grady, M.A.; Gasperoni, T.L.; Kirkpatrick, P.; *Nature Rev. Drug. Disc.* 2003, 2, 427-8.

Gregory, R.C.; Nancy, S.B.; Stille, J.R.; *J. Org. Chem.* 1992, 57, 461-467.

Grimwood, S.; Slater, P.; Deakin, J.F.W.; Hutson, P.H.; *Neuroreport* 1998, 10, 461-456.

Gurevich, E.V.; Joyce, J.N.; *Biol. Psychiatry* 1997, 42, 529-545.

Hagan, R.M.; Jones, B.J.; Jordan, C.C.; Tyers, M.B.; *Br. J. Pharmacol.* 1999, 99, 227-32.

Hagg, S.; Joelsson, L.; Mjorndal, T.; *J. Clin. Psychiatry* 1998, 59, 294-99.

Harada, H.; Morie, T.; Hirokawa, Y.; Terauchi, H.; Fugiwara, I.; Yoshida, N.; Kato, S.; *Chem. Pharm. Bull.* 1995b, 43, 1912-1930.

Harada, H.; Morie, T.; Hirokawa, Y.; Yoshida, N.; Kato, S.; *Chem. Pharm. Bull.* 1995, 43, 1364-1378.

Hauer, H.; Ritter, T.; Grotemeier, G.; *Arch. Pharm. (Weinheim)* 1995, 328, 737-738.

- Henderson, D.C.; Cagliero, E.; Gray, C.; *Am. J. Psychiatry* **2000**, *157*, 975-81.
- Hibert, M.F.; Hoffman, R.; Miller, R.G.; Carr, A.A.; *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 1594-1600.
- Hogberg, T.; *Drug Design and Discovery* **1993**, *9*, 333-350.
- Huckin, S.N.; Weiler, L.; *J. Am. Chem. Soc.* **1974**, *96*, 1082-1087.
- Imperato, A.; Angelucci, L.; *Neurosci. Lett.* **1989**, *101*, 214-7.
- Ishimaru, M.; Kurumaji, A.; Toru, M.; *Biol. Psychiatry* **1994**, *35*, 84-95.
- Iwanami, S.; Takashima, M.; Hirata, Y.; Hasegawa, O.; Usuda, S.; *J. Med. Chem.* **1981**, *24*, 1224-30.
- Jansen, P.A.; In. Ayd, F.I.; Blackwell, B.; eds. Discoveries in Biological Psychiatry. Philadelphia:Lippincott, **1970**.
- Javitt, D.C.; *Mol. Psychiatry* **1996**, *1*, 16-17.
- Jenner, P.; Marsden, C.D.; In. Harwell, D.C. ed. *Drugs in Central Nervous System Disorders*. New York: Marcel Dekker, **1985**, 149-262.
- Jiang, L.H.; Asby, C.R.; Kasser, R.J.; Werg, R.Y.; *Brain Res.* **1990**, *513*, 56-60.
- Kapur, S.; Remington, G.; *Annu. Rev. Med.* **2001a**, *52*, 503-17.
- Kapur, S.; Seeman, P.; *Am. J. Psychiatry* **2001b**, *158* (3), 360-9.
- Kim, J.S.; Kornhuber, H.H.; Schmid-Burgk, W.; Holzmueller, B.; *Neurosci. Lett.* **1980**, *20*, 379-382.
- King, F.D.; Jones, B.J.; Sanger, G.J.; *5-Hydroxytryptamine-3 Receptor Antagonists* **1994**, Chap. 1 and 2, Ed. CRC Press, Inc.
- Koike, T.; Takeuchi, N.; Tobinaga, S.; *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, *47*, 128-130.

- Koike, T.; Tanabe, M.; Naoki, T.; Tobinaga, S.; *Chem. Pharm. Bull.* **1997**, *45* (7), 1117-9.
- Koziara, A. *et al.*; *Synthesis* **1979**, 527-8.
- Kraepelin, E.; *Lehrbuch der Psychiatrie*, 5th Ed., Barth, Leipzig **1896**, 424-441.
- Krystal, J.H.; Karper, L.P.; Seibyl, J.P.; Freeman, G.K.; Delaney, R.; Bremner, J.D.; Heninger, G.R.; Bowers, M.B.; Charney, D.S.; *Arch. Gen. Psychiatry* **1994**, *51*, 199-214.
- Kuryatov *et al.*; *Eur. J. Pharmacol.* **2000**, *393*, 11.
- Laborit, H.; Huguenard, P.; Alluaume, R.; *Presse Med.* **1952**, *60*, 206-8.
- Laruelle, M.; Abi-Dargham, A.; van Dyck, C.H.; Gil, R.; D'Souza, C.D.; Erdos, J.; McCance, E.; Rosenblatt, W.; Findango, C.; Zoghbi, S.S.; Baldwin, R.M.; Seibyl, J.P.; Krystal, J.H.; Charney, D.S.; Innis, R.B.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **1996**, *93*, 9235-9240.
- Laruelle, M.; D'Souza, C.D.; Baldwin, R.M. *et al.*; *Neuropsychopharmacology* **1997**, *17*, 162-74.
- Leonard *et al.*; *J. Am. Chem. Soc.* **1946**, *68*, 1279.
- Lopez-Rodriguez, M.L.; Benhamú, B.; Marcillo, M.J.; Tejado, I.D.; Orensauz, L.; Alfaro, M.J.; Martin, M.I.; *J. Med. Chem.* **1999**, *42*, 5020-8.
- Lukas *et al.*; *Pharmacol. Rev.* **1999**, *51*, 397.
- Marder, S.R.; *Neuropsychopharmacology* **1999**, *21*, S117-S121.
- Marshal, G.R.; Bosshard, H.E.; Daumkoehler, R.A.; Dunn, D.A. **1979**, *112th ACS Symp.*, 205.
- Martin, A.R.; Antipsychotic Agents, In: Wolff, M.E.; *Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery*, 5th Ed., Wiley-Interscience, **1997**, *5*, 195-253.

Meltzer, H.Y. e Deutch, A.; "Neurochemistry of Schizophrenia", in *Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*, 6th Ed., Siegel, G.J. *et al.* **1999b**, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.

Meltzer, H.Y.; Matsubara, S.; Lee, J.C.; *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1989**, *251*, 238-46.

Meltzer, H.Y.; Park, S.; Kassler, R.; *PNAS* **1999a**, *96* (4), 13591-3.

Metzer, H.Y.; Nash, J.F.; *Pharmacol. Rev.* **1991**, *43*, 587-604.

Missale, C.; Nash, S.R.; Robison, S.W.; Jaber, M.; Carou, M.G.; *Physiol. Rev.* **1998**, *78*, 189-225.

Mucke, H.A.M.; *Drugs of The Future* **2000**, *25* (1), 29-40.

Nyberg, S.; Nakashima, Y.; Nordstrom, A.L.; Halldin, C.; Farde, L.; *Br. J. Psychiatry* **1996**, *168* (S29), 40-44.

Olson, G. L.; Cheung, Ho-Chuen; Morgan, K.D.; Blount, J.F.; Todaro, L.; Berger, L.; Davidson, A.B.; Boff, E.; *J. Med. Chem.* **1981**, *24*, 1025-1034.

OMS – Organização Mundial da Saúde; *Classificação de Transtornos Mentais e de Comportamento da CID-10. Descrições Clínicas e Diretrizes Diagnósticas*, Artes Médicas, Porto Alegre, RS, **1993**, 85-94.

Ossner, D.N.; Najarian, D.M.; Dufresne, R.L.; *J. Clin. Psychiatry* **1999**, *60*, 767-70.

Pearson, R.G.; Sobel, H.; Songstad, J.; *J. Am. Chem. Soc.* **1968**, *90*, 319-326.

Perrin, D.D.; Armarego, W.L.F.; Perrin, D.R.; *Purification of Laboratory Chemicals*, 2^o Ed., Oxford: Pergamon Press, **1980**.

Petersen, J.S.; Fels, G.; Rapoport, H.; *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 453-9.

Petragnani, N.; Brockson, T.J.; Ferraz, H.M.C.; Constantino, M.G.; *Synthesis* **1977**, 112-113.

Peuskens, J.; *Prolactin in Schizophrenia* **1997**, *1*, 5-37, London Franklin Sci. Ed.

Pickar, D.; *Lancet* **1995**, *345*, 557-62.

Pinnick, H.W.; Chang, Y.H.; *J. Org. Chem.* **1978**, *43*, 4662.

Report S; *Company Report Hoesch Marion Roussel* **1999**, 2-3.

Rizzi, J.P.; Nagel, A.A.; Rosen, T.; McLean, S.; Seeger, T.; *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 2721-2725.

Rognan, D. *et al.*; *Eur. J. Pharm. – Mol. Pharm. Sec.* **1990**, *189*, 59-70.

Roth, B.; Drug affinities for different serotonin receptors subtypes. Disponível em: <http://www.serotoninclub.org>. Acesso em: 07 Ago. 2003.

Rowley, M.; Bristow, L.J.; Hutson, P.H.; *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 477-501.

Samochocki *et al.*; *Acta Neurol. Scand. Suppl.* **2000**, *176*, 68.

Schimidt, A.W.; Peroutka, S.J.; *Mol. Pharmacol.* **1989**, *36*, 501-511.

Schmidt, A.W.; Peroutka, S.J.; *Mol. Pharmacol.* **1989**, *36*, 505-11.

Seeman, P.; Corbett, R.; Vantol, H.H.M.; *Neuropsychopharmacology* **1997**, *16*, 127-35.

Seeman, P.; *Synapse* **1987**, *1*, 133-52.

Seeman, P.; Tallerico, T.; *Am. J. Psychiatry* **1999**, *156*, 876-84.

Sharpless, C.G.V.; Wonnacott, S.; *Tocris Reviews* **2001**, 19.

Sheridan, R.P.; Nilaukantan, R.; Dixon, J.S.; Venkataraghevan, R.; *J. Med. Chem.* **1986**, *29*, 899-906.

Sherman, A.D.; Hegwood, T.S.; Baruah, S.; Waziri, R.; *Biol. Psychiatry* **1991**, *30*, 1191-1198.

Siegel, G.J. *et al. Basic Neurochemistry: Molecular, Cellular and Medical Aspects*, 6th Ed. **1999b**, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia.

Strange, P.; *Pharmacol. Rev.* **2001**, *53* (1), 119-33.

Strange, P.G.; *Toxic Reviews* **2000**, *15*.

Sum, P.E.; Weiler, L.; *Can. J. Chem.* **1978**, *56*, 2301.

Svenson, T.H.; *Brain Res.* **2000**, *31*, 320-329.

Swain, C.J.; Baker, R.; Kneen, C.; Herbert, R.; Moseley, J.; Saunders, J.; Soward, E.M.; Stevenson, G.I.; Beer, M.; Stanton, J.; Watling, K.; Ball, R.G.; *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 1019-1031.

Swain, C.J.; Baker, R.; Kneen, C.; Moseley, J.; Saunders, J.; Seword, E.M. *et al.*; *J. Med. Chem.* **1991**, *34*, 140-51.

Tamminga, C.A.; *Crit. Rev. Neurobiol.* **1998**, *12*, 21-36.

Tandon, R.; Harrigan, E.; Zorn, S.H.; *J. Serotonin Res.* **1998**, *4*, 159-77.

Teeter, M.M.; Fraimowitz, M.; Stec, B.; DuRand, C.J.; *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 2874-2888.

Than, G.V.; Célerier, J.P.; Lhommet, G.; *Tetrahedron: Asymmetry* **1996**, *7*, 8, 2211-2212.

Thurkauf, A. *et al.*; *J. Med. Chem.* **1995**, *38*, 12, 2251-2255.

Toru, M.; Kurumaji, A.; Kumashiro, S.; Suga, I.; Takashima, M.; Nishikawa, T.; *Mol. Neuropharmacol.* **1992**, *2*, 241-243.

Truffinet, P.; Tamminga, C.A.; Fabre, L.F., Meltzer, H.Y.; Rivière, M.E.; Papillon-Downey, C.; *Am. J. Psychiatry* **1999**, *156*, 419-25.

Vizzi, E.S.; *Pharmacol. Rev.* 2000, 52, 63-89.

Wermuth, C.G.; *The Practice of Medicinal Chemistry*, Academic Press Inc., San Diego, 1999.

Willimas, D.A.; Lemke, T.L.; *Foye's Principles of Medicinal Chemistry*, 5th Ed., 2002, 17, 408-33, Lippincot Williams & Wilkins Ed., Philadelphia.

Wirshing, D.A., Wirshing, W.C.; Kysar, L.; *J. Clin. Psychiatry* 1999, 60, 358-63.

Wooley, D.W.; Shaw, E.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1954, 40, 228-231.

Ye, J-H; *CNS Drugs Reviews* 2001, 7 (2), 199-213.

LIV.	<i>Joaquim de anton</i>
N. E.	-
DATA	<i>20/01/04</i>
PREÇO	-
TOMBAMENTO	<i>26/02/04</i>

L. 17762

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

Data:	<i>20/01/05</i>
Lilacs:	<i>OK</i>
Dedalus:	<i>1362829</i>
MFN:	<i>26383</i>
Terminal:	<i>OK</i>