



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(11) (21) **PI 0405418-0 A**



(22) Data de Depósito: 02/09/2004
(43) Data de Publicação: **02/05/2006**
(RPI 1843)

(51) Int. CI⁷.:
C07D 403/14
A61K 31/496
A61K 31/53
A61P 25/18
A61P 15/10

(54) Título: **USO DE DERIVADOS N-FENILPERAZÍNICOS E COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO OS MESMOS**

(66) Dados da Prioridade Interna: PI0303465-8 05/09/2003

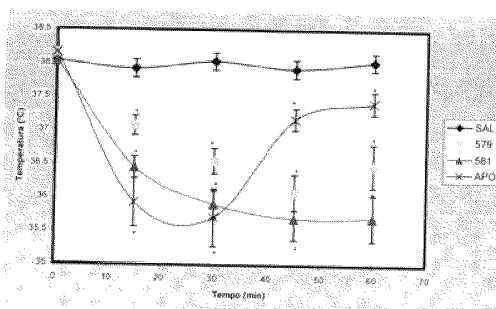
(71) Depositante(s): Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ (BR/RJ), Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS (BR/RS)

(72) Inventor(es): Eliezer Jesus de Lacerda Barreiro, Stela Maris Kuze Rates, Gilda Angela Neves, Teresa Cristina Tavares Dalla Costa, Leandro Tasso, Carlos Alberto Manssour Fraga

(74) Procurador: Alves, Vieira, Lopes & Atem Advogados

(57) Resumo: "USO DE DERIVADOS N-FENILPIPERAZÍNICOS E COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO OS MESMOS". A presente invenção proporciona novos derivados N-fenilpiperazínicos e composições farmacêuticas compreendendo os mesmos, sendo estes novos derivados estruturais da clozapina capazes de atuar em vias dopaminérgicas e/ou serotoninérgicas de ação central; estes compostos demonstraram-se úteis no tratamento de disfunção erétil e também úteis como antipsicóticos, com as vantagens de não acarretarem os efeitos colaterais típicos da clozapina; proporcionarem menor incidência de catatonia quando comparados com outro agente antipsicótico, o haloperidol, e não apresentarem efeito depressor do sistema nervoso central; as moléculas também apresentam efeito hipotérmico, que pode ser útil no tratamento de quadros que apresentem hipertermia.

5



Relatório Descritivo

USO DE DERIVADOS N-FENILPIPERAZÍNICOS E COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO OS MESMOS

5

CAMPO DA INVENÇÃO

A presente invenção se refere a novas moléculas ativas sobre o sistema nervoso central, em sistemas neurotransmissores envolvidos na gênese de desordens neuropsiquiátricas e disfunções sexuais. Mais especificamente, as moléculas da presente invenção referem-se a novos derivados n-fenilpiperazínicos concomitantemente úteis no tratamento da esquizofrenia e da disfunção erétil.

ANTECEDENTES DA INVENÇÃO

15 A dopamina, uma importante amina biogênica, somente teve seu papel como importante neurotransmissor reconhecido a partir da metade da década de 50, quando a idéia de que esta era somente um intermediário na biossíntese de outras catecolaminas, como adrenalina e noradrenalina, foi derrubada através de estudos que demonstraram a presença de quantidades de dopamina no cérebro de mamíferos semelhantes àquelas encontradas de noradrenalina, além de uma marcada diferença na distribuição regional destas duas catecolaminas (COOPER, J.R.; BLOOM, F.E.; ROTH, R.H. The Biochemical Basis of Neuropharmacology. Nova York: Oxford University Press, 1996).

25 As vias dopaminérgicas cerebrais principais são:

- via mesolímbica, a qual é atribuída uma importante função no controle das emoções e motivações;
- via mesocortical, a qual está envolvida em funções cognitivas e parece estar ligada a processos de aprendizagem e memória;
- 30 • via nigroestriatal, pertencente ao sistema extrapiramidal, a qual é associada ao controle das funções motoras; e

- via tuberoinfundibular, a qual libera dopamina no sistema porta do eixo hipotálamo-hipófise, sendo a dopamina liberada responsável pela inibição tônica da secreção de prolactina (MOORE, K.E. & LOOKINGLAND, K.J. Dopaminergic neuronal systems in the hypothalamus. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; WILSON, J.M.; SANYAL, S.; VAN TOL, H.H.M. Dopamine D₂ and D₄ receptor ligands: relation to antipsychotic action. European Journal of Pharmacology 351: 273-86, 1998; STAHL, S.M. Essential Psychopharmacology – Neuroscientific Basis and Practical Applications. 2 ed. Nova York: Cambridge University Press, 2000; VALLONE, D.; PICETTI, R.; BORRELLI, E. Structure and function of dopamine receptors. Neuroscience and Behavioural Reviews 24: 125-32, 2000).

Embora a tuberoinfundibular seja a via dopaminérgica diencefálica mais bem estudada, as células que a compõem representam a minoria dos neurônios dopaminérgicos encontrados no diencefalo. Outras projeções dopaminérgicas hipotalâmicas já foram identificadas, entre elas a periventricular e incertohipotalâmica, as quais acredita-se que possuam um importante papel na regulação do comportamento sexual (MOORE, K.E. & LOOKINGLAND, K.J. Dopaminergic neuronal systems in the hypothalamus. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995).

Até a década de 80 haviam sido identificados apenas dois tipos de receptores dopaminérgicos, denominados D₁ e D₂, diferenciados por suas propriedades farmacológicas, biológicas, fisiológicas e por sua distribuição anatômica. Durante cerca de 10 anos estes dois receptores foram associados à maioria dos efeitos atribuídos ao sistema dopaminérgico. Porém, o advento das técnicas de biologia molecular levou a uma modificação desta classificação. A clonagem do receptor D₂, em 1988, levou a subsequente identificação de outros subtipos de receptores, classificados de D₁ a D₅. Esta descoberta

alterou profundamente o entendimento da distribuição anatômica dos receptores e da farmacologia do sistema dopaminérgico (CIVELLI, O. Molecular biology of the dopamine receptor subtypes. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; MANSOUR, A. & WATSON, S.J. Dopamine receptor expression in the central nervous system. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995).

Levando em consideração a seqüência primária de aminoácidos, sua organização genômica e, ao menos em parte, sua atividade biológica, os diferentes subtipos de receptores dopaminérgicos podem ser divididos em dois grupos: *D₁-like* (incluindo os subtipos D₁ e D₅) e *D₂-like* (incluindo os subtipos D₂, D₃ e D₄) (CIVELLI, O. Molecular biology of the dopamine receptor subtypes. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995).

Todos os cinco receptores dopaminérgicos conhecidos exercem sua ação biológica através da ligação e ativação de diferentes proteínas G e, assim como os demais receptores metabotrópicos, possuem em sua estrutura sete segmentos hidrofóbicos transmembranares rodeados por três alças extracelulares e três intracelulares (CIVELLI, O. Molecular biology of the dopamine receptor subtypes. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995). Ambas as famílias de receptores possuem em sua cadeia C-terminal sítios de fosforilação ou de adição de palmitato que parecem estar envolvidos na dessensibilização agonista-dependente destes receptores (VALLONE, D.; PICETTI, R.; BORRELLI, E. Structure and function of dopamine receptors. Neuroscience and Behavioural Reviews 24: 125-32, 2000).

Em termos de atividade biológica, os receptores *D₁-like* interagem com o complexo protéico G_s, que ativa a enzima adenilato ciclase e, conseqüentemente, aumenta a síntese de adenosina monofosfato cíclico (AMPC). Esta estimulação leva a ativação da proteína quinase A (PKA)



resultando, entre outros efeitos, em alterações nas correntes neuronais de cálcio e também na mobilização do cálcio armazenado no meio intracelular. Os dados quanto a influência destes receptores sobre o efluxo de potássio são, até o momento, conflitantes. Um efeito inibitório da síntese de ácido araquidônico mediado pela ativação de receptores do subtipo D₁ foi demonstrado em células de estriado de ratos (CIVELLI, O. Molecular biology of the dopamine receptor subtypes. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; VALLONE, D.; PICETTI, R.; BORRELLI, E. Structure and function of dopamine receptors. Neuroscience and Behavioural Reviews 24: 125-32, 2000; HIROI, N.; MARTIN, A.B.; GRANDE, C.; ALBERTI, I.; RIVERA, A.; MORATALLA, R. Molecular dissection of dopamine receptor signaling. Journal of Chemical Neuroanatomy 23: 237-42, 2002). Assim como a maioria dos receptores metabotrópicos, os genes que codificam os receptores D_{1-like} não possuem íntrons (CIVELLI, O. Molecular biology of the dopamine receptor subtypes. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; EMILIEN, G.; MALOTEAUX, J.; GEURTS, M.; HOOGENBERG, K.; CRAGG, S. Dopamine receptors – Physiological understanding to therapeutic interventional potential. Pharmacology and Therapeutics 84: 133-56, 1999).

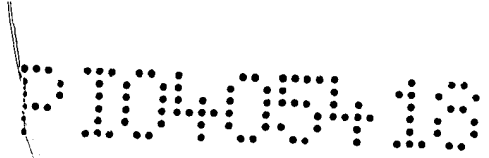
Até o momento não foi identificado um ligante seletivo que consiga diferenciar os receptores D₁ e D₅. Porém, uma diferença importante entre eles reside no fato de que o receptor D₅ possui uma afinidade cerca de 10 vezes superior ao ligante endógeno, dopamina (CIVELLI, O. Molecular biology of the dopamine receptor subtypes. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; SEEMAN, P. Dopamine receptors – Clinical correlates. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; COOPER, J.R.; BLOOM, F.E.; ROTH, R.H. The Biochemical Basis of Neuropharmacology. Nova York: Oxford University Press, 1996; HRIB, N.J. The dopamine D₄

receptor: a controversial therapeutic target. *Drugs of the Future* 25 (6): 587-611, 2000).

O receptor D_1 é o mais amplamente distribuído dos receptores dopaminérgicos e expresso em maiores níveis que os demais. É encontrado principalmente no estriado, núcleo accumbens, tubérculo olfatório, córtex cerebral e amígdala (CIVELLI, O. *Molecular biology of the dopamine receptor subtypes*. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) *Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress*. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; MANSOUR, A. & WATSON, S.J. *Dopamine receptor expression in the central nervous system*. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) *Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress*. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; EMILIEN, G.; MALOTEAUX, J.; GEURTS, M.; HOOGENBERG, K.; CRAGG, S. *Dopamine receptors – Physiological understanding to therapeutic interventional potential*. *Pharmacology and Therapeutics* 84: 133-56, 1999; VALLONE, D.; PICETTI, R.; BORRELLI, E. *Structure and function of dopamine receptors*. *Neuroscience and Behavioural Reviews* 24: 125-32, 2000; HURD, Y.L.; SUZUKI, M.; SEDVALL, G.C. *D_1 and D_2 dopamine receptor mRNA expression in whole hemisphere sections of the human brain*. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 22: 127-37, 2001).

O receptor D_5 possui um padrão de expressão muito mais restrito que o receptor D_1 . Sua presença foi detectada no hipocampo, núcleo mamilar lateral e no núcleo parafascicular do tálamo (CIVELLI, O. *Molecular biology of the dopamine receptor subtypes*. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) *Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress*. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; VALLONE, D.; PICETTI, R.; BORRELLI, E. *Structure and function of dopamine receptors*. *Neuroscience and Behavioural Reviews* 24: 125-32, 2000). Suas funções permanecem não muito claras, principalmente devido a ausência de um ligante seletivo que permita sua diferenciação do receptor D_1 (EMILIEN, G.; MALOTEAUX, J.; GEURTS, M.; HOOGENBERG, K.; CRAGG, S. *Dopamine receptors – Physiological understanding to therapeutic interventional potential*. *Pharmacology and Therapeutics* 84: 133-56, 1999).

A ligação de agonistas aos receptores *D₂-like* resulta na ativação de uma proteína G_i ou G_o, exercendo uma influência negativa sobre a atividade da adenilato ciclase e, conseqüentemente, inibindo a síntese de AMPc (CIVELLI, O. Molecular biology of the dopamine receptor subtypes. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; COOPER, J.R.; BLOOM, F.E.; ROTH, R.H. The Biochemical Basis of Neuropharmacology. Nova York: Oxford University Press, 1996). A estimulação do subtipo de receptor *D₂* ainda pode levar à modulação de outros mecanismos intracelulares, que não a inibição da atividade da adenilato ciclase. Entre eles pode-se incluir efeitos diretos estimulando canais de potássio e inibindo canais de cálcio, bem como modulação da produção de fosfatidilinositol e aumento da síntese de ácido araquidônico. (COOPER, J.R.; BLOOM, F.E.; ROTH, R.H. The Biochemical Basis of Neuropharmacology. Nova York: Oxford University Press, 1996; OAK, J.N.; OLDENHOF, J.; VAN TOL, H.H.M. The dopamine *D₄* receptor: one decade of research. European Journal of Pharmacology 405: 303-327, 2000; VALLONE, D.; PICETTI, R.; BORRELLI, E. Structure and function of dopamine receptors. Neuroscience and Behavioural Reviews 24: 125-32, 2000; HIROI, N.; MARTIN, A.B.; GRANDE, C.; ALBERTI, I.; RIVERA, A.; MORATALLA, R. Molecular dissection of dopamine receptor signaling. Journal of Chemical Neuroanatomy 23: 237-42, 2002). Compostos capazes de ligarem-se seletivamente a subtipos de receptores *D₂-like* já foram identificados (CIVELLI, O. Molecular biology of the dopamine receptor subtypes. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; SEEMAN, P. Dopamine receptors – Clinical correlates. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; COOPER, J.R.; BLOOM, F.E.; ROTH, R.H. The Biochemical Basis of Neuropharmacology. Nova York: Oxford University Press, 1996.; HRIB, N.J. The dopamine *D₄* receptor: a controversial therapeutic target. Drugs of the Future 25 (6): 587-611, 2000).



Os genes que codificam os receptores *D₂-like* são interrompidos por introns. Até o momento foram identificadas duas variantes do receptor *D₂*, denominadas *D₂₍₄₁₄₎* ou *D_{2S}* (do inglês *short* ou curto) e *D₂₍₄₄₃₎* *D_{2L}* (do inglês *long* ou longo), que diferem entre si por uma seqüência de 29 aminoácidos na terceira alça citoplasmática (CIVELLI, O. Molecular biology of the dopamine receptor subtypes. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; MANSOUR, A. & WATSON, S.J. Dopamine receptor expression in the central nervous system. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; SEEMAN, P. Dopamine receptors – Clinical correlates. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995). Tais isoformas do receptor possuem expressão um pouco diferenciada, porém o *D_{2L}* é geralmente encontrado em maior quantidade. Embora demonstrem características farmacológicas similares, o receptor *D_{2L}* possui uma afinidade aumentada pela subunidade alfa do complexo G, sugerindo diferentes funções fisiológicas para estes receptores. As isoformas *D_{2L}* e *D_{2S}* possuem efeitos diferenciados na inibição de correntes de cálcio e na direta modulação de correntes de potássio, provavelmente via interação com diferentes proteínas G (EMILIEN, G.; MALOTEAUX, J.; GEURTS, M.; HOOGENBERG, K.; CRAGG, S. Dopamine receptors – Physiological understanding to therapeutic interventional potential. Pharmacology and Therapeutics 84: 133-56, 1999; VALLONE, D.; PICETTI, R.; BORRELLI, E. Structure and function of dopamine receptors. Neuroscience and Behavioural Reviews 24: 125-32, 2000).

O gene que codifica o receptor do subtipo *D₄* apresenta cinco exons e se caracteriza por apresentar um alto grau de polimorfismo. Na mais bem caracterizada forma de polimorfismo, cada variante do receptor possui um número diferente de uma unidade de repetição de 48 pares de base no terceiro exon, responsável pela codificação de uma seqüência de aminoácidos da terceira alça citoplasmática. Já foram identificadas cerca de oito variantes

polimórficas em humanos, sendo a forma D_{4.7} a mais prevalente (70%), seguida pelas formas D_{4.2} e D_{4.4} (10-20%). Até o momento não foi demonstrada nenhuma diferença farmacológica entre as variantes polimórficas do receptor D₄ (SEEMAN, P. Dopamine receptors – Clinical correlates. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; EMILIEN, G.; MALOTEAUX, J.; GEURTS, M.; HOOGENBERG, K.; CRAGG, S. Dopamine receptors – Physiological understanding to therapeutic interventional potential. Pharmacology and Therapeutics 84: 133-56, 1999; HRIB, N.J. The dopamine D₄ receptor: a controversial therapeutic target. Drugs of the Future 25 (6): 587-611, 2000; OAK, J.N.; OLDENHOF, J.; VAN TOL, H.H.M. The dopamine D₄ receptor: one decade of research. European Journal of Pharmacology 405: 303-327, 2000; VALLONE, D.; PICETTI, R.; BORRELLI, E. Structure and function of dopamine receptors. Neuroscience and Behavioural Reviews 24: 125-32, 2000).

O receptor D₂ tem expressão predominante em áreas cerebrais como o estriado, tubérculo olfatório e núcleo accumbens. Diferente do receptor D₁, é abundante em regiões do hipotálamo que enervam a pituitária. Porém, este receptor também pode ser localizado em regiões como a parte compacta da substância negra e na área tegmentar ventral, sugerindo uma localização pré-sináptica (MANSOUR, A. & WATSON, S.J. Dopamine receptor expression in the central nervous system. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; EMILIEN, G.; MALOTEAUX, J.; GEURTS, M.; HOOGENBERG, K.; CRAGG, S. Dopamine receptors – Physiological understanding to therapeutic interventional potential. Pharmacology and Therapeutics 84: 133-56, 1999; VALLONE, D.; PICETTI, R.; BORRELLI, E. Structure and function of dopamine receptors. Neuroscience and Behavioural Reviews 24: 125-32, 2000; HURD, Y.L.; SUZUKI, M.; SEDVALL, G.C. D₁ and D₂ dopamine receptor mRNA expression in whole hemisphere sections of the human brain. Journal of Chemical Neuroanatomy 22: 127-37, 2001).

A distribuição neuroanatômica do receptor D₃ é restrita a poucas regiões cerebrais, como as ilhas de Calleja, alguns núcleos septais, hipotálamo e regiões distintas do tálamo e do cerebelo. Este subtipo de receptor também é encontrado na região compacta da substância negra, o que sugere uma possível localização pré-sináptica (MANSOUR, A. & WATSON, S.J. Dopamine receptor expression in the central nervous system. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; VALLONE, D.; PICETTI, R.; BORRELLI, E. Structure and function of dopamine receptors. Neuroscience and Behavioural Reviews 24: 125-32, 2000).

A ocorrência do receptor D₄ parece ser cerca de 10 a 100 vezes menor que a dos receptores D₁ e D₂, possuindo expressão predominante no córtex frontal, amígdala, tubérculo olfatório, hipocampo, giro para-hipocampal (córtex entorrinal), hipotálamo (principalmente na área preóptica medial – MPOA) e mesencéfalo. Níveis relativamente baixos de mRNA deste subtipo de receptor são encontrados na via nigroestriatal em comparação ao sistema mesolímbico (MANSOUR, A. & WATSON, S.J. Dopamine receptor expression in the central nervous system. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; PRIMUS, R.J.; THURKAUF, A.; XU, J.; YEVICH, E.; MCINERNEY, S.; SHAW, K.; TALLMAN, J.F.; GALLAGER, D.W. II. Localization and characterization of dopamine D₄ binding sites in rat and human brain by use of the novel, D₄ receptor-selective ligand [³H]NGD 94-1. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 282 (2): 1020-7, 1997; EMILIEN, G.; MALOTEAUX, J.; GEURTS, M.; HOOGENBERG, K.; CRAGG, S. Dopamine receptors – Physiological understanding to therapeutic interventional potential. Pharmacology and Therapeutics 84: 133-56, 1999; HRIB, N.J. The dopamine D₄ receptor: a controversial therapeutic target. Drugs of the Future 25 (6): 587-611, 2000; OAK, J.N.; OLDENHOF, J.; VAN TOL, H.H.M. The dopamine D₄ receptor: one decade of research. European Journal of Pharmacology 405: 303-327, 2000;

VALLONE, D.; PICETTI, R.; BORRELLI, E. Structure and function of dopamine receptors. *Neuroscience and Behavioural Reviews* 24: 125-32, 2000).

Já foram identificados neurônios que expressam simultaneamente receptores *D₁-like* e *D₂-like*. Esta colocalização é restrita a algumas regiões do cérebro, como a amígdala, o estriado, o hipotálamo e o bulbo olfatório. Porém, estes receptores apresentam predominantemente uma distribuição anatômica diferenciada (MALTAIS, S.; CÔTÉ, S.; DROLET, G.; FALARDEAU, P. Cellular colocalization of dopamine *D₁* mRNA and *D₂* receptor in rat brain using a *D₂* dopamine receptor specific polyclonal antibody. *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry* 24: 1127-49, 2000; GLICKSTEIN, S.B. & SCHMAUSS, C. Dopamine receptor functions: lessons from knockout mice. *Pharmacology & Therapeutics* 91: 63-83, 2001; HURD, Y.L.; SUZUKI, M.; SEDVALL, G.C. *D₁* and *D₂* dopamine receptor mRNA expression in whole hemisphere sections of the human brain. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 22: 127-37, 2001; LIN, J.Y.; DUBEY, R.; FUNK, G.D.; LIPSKI, J. Receptor subtype-specific modulation by dopamine of glutamatergic responses in striatal medium spiny neurons. *Brain Research*, 959: 251-62, 2003).

Estudos anatômicos demonstram que neurônios dopaminérgicos apresentam receptores para dopamina de localização pré-sináptica, que funcionam como autoreceptores, modulando a atividade do próprio neurônio no qual eles se encontram. Estes receptores podem estar localizados no corpo celular, dendritos e axônios terminais. A estimulação dos receptores somatodentríticos acarreta diminuição da frequência de disparos dos neurônios dopaminérgicos, sendo classificados como autoreceptores moduladores de impulso. A estimulação dos autoreceptores presentes nos terminais nervosos inibem a síntese e a liberação de dopamina, sendo denominados autoreceptores moduladores de síntese e autoreceptores moduladores de liberação, respectivamente (CHIODO, L.A.; FREEMAN, A.S.; BUNNEY, B.S. Dopamine autoreceptor signal transduction and regulation. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) *Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress*. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; COOPER, J.R.; BLOOM, F.E.;

ROTH, R.H. The Biochemical Basis of Neuropharmacology. Nova York: Oxford University Press, 1996).

A principal diferença entre os autoreceptores e os receptores dopaminérgicos pós-sinápticos reside no fato de que os primeiros são de 5 a 10 vezes mais sensíveis à ação da dopamina. Isto significa que em baixas concentrações de agonistas, os efeitos mediados pelos autoreceptores serão predominantes, resultando em uma diminuição da neurotransmissão dopaminérgica (COOPER, J.R.; BLOOM, F.E.; ROTH, R.H. The Biochemical Basis of Neuropharmacology. Nova York: Oxford University Press, 1996.).

10 Tanto autoreceptores somatodentrícos quanto terminais podem ser classificados como *D₂-like*, por exibirem propriedades farmacológicas similares a estes (COOPER, J.R.; BLOOM, F.E.; ROTH, R.H. The Biochemical Basis of Neuropharmacology. Nova York: Oxford University Press, 1996.). Estudos de hibridização *in situ* sugerem que o receptor do subtipo *D₂* é o mais provável candidato a atuar como autoreceptor dopaminérgico, devido a sua expressão em neurônios dopaminérgicos da substância negra e área tegmentar ventral (MANSOUR, A. & WATSON, S.J. Dopamine receptor expression in the central nervous system. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; 15 VALLONE, D.; PICETTI, R.; BORRELLI, E. Structure and function of dopamine receptors. Neuroscience and Behavioural Reviews 24: 125-32, 2000). A expressão diferenciada das diferentes isoformas do subtipo *D₂* de receptor indica que o *D_{2S}* seria o autoreceptor nas principais vias dopaminérgicas centrais, enquanto o receptor *D_{2L}* teria uma localização predominantemente 20 pós-sináptica. Somam-se a isto alguns estudos com camundongos *knockout* para o receptor *D_{2L}* que demonstram a manutenção completa de todas as funções exercidas por autoreceptores dopaminérgicos em camundongos normais (EMILIEN, G.; MALOTEAUX, J.; GEURTS, M.; HOOGENBERG, K.; CRAGG, S. Dopamine receptors – Physiological understanding to therapeutic 25 interventional potential. Pharmacology and Therapeutics 84: 133-56, 1999; 30



GLICKSTEIN, S.B. & SCHMAUSS, C. Dopamine receptor functions: lessons from knockout mice. *Pharmacology & Therapeutics* 91: 63-83, 2001).

Alguns estudos de distribuição anatômica e com camundongos geneticamente modificados também apontam para uma provável localização pré-sináptica do receptor D₃, com uma participação principalmente na regulação da liberação de dopamina, mas não da síntese nem dos impulsos neuronais no estriado (MANSOUR, A. & WATSON, S.J. Dopamine receptor expression in the central nervous system. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) *Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress*. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; VALLONE, D.; PICETTI, R.; BORRELLI, E. Structure and function of dopamine receptors. *Neuroscience and Behavioural Reviews* 24: 125-32, 2000; GLICKSTEIN, S.B. & SCHMAUSS, C. Dopamine receptor functions: lessons from knockout mice. *Pharmacology & Therapeutics* 91: 63-83, 2001; JOSEPH, J.D.; WANG, Y.M.; MILES, P.R.; BUDYGIN, E.A.; PICETTI, R.; GAINETDINOV, R.R.; CARON, M.G.; WIGHTMAN, R.M. Dopamine autoreceptor regulation of release and uptake in mouse brain slices in the absence of D₃ receptors. *Neuroscience* 112 (1): 39-49, 2002).

O sistema dopaminérgico possui um papel fortemente estabelecido em vários distúrbios neurológicos e psiquiátricos, como o uso abusivo de drogas estimulantes, como a cocaína e a anfetamina, mal de Parkinson, esquizofrenia, entre outros (BANNON, M.J.; GRANNEMAN, J.G.; KAPATOS, G. The dopamine transporter – Potential involvement in neuropsychiatric disorders. In: BLOOM, F.E. & KUPFER, D.J. (Ed.) *Psychopharmacology – The Fourth Generation of Progress*. Nova York: Raven Press Ltda, 1995; STAHL, S.M. *Essential Psychopharmacology – Neuroscientific Basis and Practical Applications*. 2 ed. Nova York: Cambridge University Press, 2000). Diversos fármacos que atuam através da modulação da neurotransmissão dopaminérgica são empregados no tratamento destes e outros quadros. Entre eles, podemos destacar os utilizados no tratamento da doença de Parkinson, alguns antidepressivos, fármacos anti-enxaqueca, moduladores do apetite, antieméticos, procinéticos e, mais recentemente, fármacos úteis no tratamento

da disfunção erétil (DE) (GUIMARÃES, F.S. Medicamentos antidepressivos e estabilizadores do humor. In: GRAEFF, F.G. & GUIMARÃES, F.S. (Ed.) Fundamentos de Psicofarmacologia. São Paulo: Ateneu, 1999; LOBO, B.L.; COOKE, S.C.; LANDY, S.H. Symptomatic pharmacotherapy of migraine. Clinical Therapeutics 21 (7): 1118-30, 1999; HOFFMAN, B.B. Catecholamines, sympathomimetic drugs and adrenergic receptor antagonists. In: HARDMAN, J.G & LIMBIRD, L.E. (Ed.). Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10 ed. Nova York: McGraw-Hill, 2001; PASRICHA, P.J. Prokinetic agents, antiemetics and agents used in irritable bowel syndrome. In: HARDMAN, J.G & LIMBIRD, L.E. (Ed.) Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10 ed. Nova York: McGraw-Hill, 2001; STANDAERT, D.G. & YOUNG, A.B. Treatment of central nervous system degenerative disorders. In: HARDMAN, J.G & LIMBIRD, L.E. (Ed.). Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10 ed. Nova York: McGraw-Hill, 2001; BROCK, G. Oral agents: First-line therapy for erectile dysfunction. European Urology Supplements. 1: 12-18, 2002). Contudo, os fármacos dopaminérgicos mais empregados no arsenal terapêutico atual ainda são antipsicóticos, utilizados para o tratamento da esquizofrenia.

A esquizofrenia é um transtorno psiquiátrico crônico e incapacitante, uma doença degenerativa de natureza complexa, com manifestações múltiplas e quadros variados. Cerca de 1% da população desenvolve esta doença ao longo da vida, sendo a incidência semelhante em homens e mulheres. Usualmente, este transtorno inicia-se com um episódio agudo, caracterizado por manifestações psicóticas conhecidas como sintomas positivos, como delírios, alucinações, fala e comportamento desorganizados e agitação motora. Metade de todos os pacientes esquizofrênicos apresenta uma sucessão de episódios agudos ao longo de vários anos, intercalados com fases de relativa normalidade (GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S.; ZUARDI, A.W. Medicamentos antipsicóticos. In: GRAEFF, F.G. & GUIMARÃES, F.S. (Ed.) Fundamentos de Psicofarmacologia. São Paulo: Ateneu, 1999; STAHL, S.M. Essencial

Psychopharmacology – Neuroscientific Basis and Practical Applications. 2 ed. Nova York: Cambridge University Press, 2000).

Os chamados sintomas negativos (embotamento afetivo, falta de iniciativa, isolamento social, pensamento estereotipado, anedonia, desatenção, entre outros) tendem a surgir tardiamente e a agravar-se com a progressão da doença. Quando não tratados, os pacientes ficam cada vez mais deteriorados e podem desenvolver um quadro de demência grave (GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S.; ZUARDI, A.W. Medicamentos antipsicóticos. In: GRAEFF, F.G. & GUIMARÃES, F.S. (Ed.) Fundamentos de Psicofarmacologia. São Paulo: Ateneu, 1999; STAHL, S.M. Essential Psychopharmacology – Neuroscientific Basis and Practical Applications. 2 ed. Nova York: Cambridge University Press, 2000).

Com o advento dos medicamentos antipsicóticos, tanto o tratamento como a compreensão das bases neurais da esquizofrenia sofreram uma fundamental transformação. Os antipsicóticos clássicos podem ser divididos em três principais grupos químicos: os fenotiazínicos (tendo como principal representante a clorpromazina), os tioxantênicos (clorprotixeno) e as butirofenonas (haloperidol) (BALDESSARINI, R.J. & TARAZI, F.I. Drugs and the treatment of psychiatric disorders: Psychosis and mania. In: HARDMAN, J.G & LIMBIRD, L.E. (Ed.). Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10 ed. Nova York: McGraw-Hill, 2001). Apesar do grande número de fármacos existentes, ensaios realizados não indicam maior eficácia antipsicótica de um em relação aos outros. Diferem, contudo, quanto à potência, farmacocinética e perfil de efeitos adversos (GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S.; ZUARDI, A.W. Medicamentos antipsicóticos. In: GRAEFF, F.G. & GUIMARÃES, F.S. (Ed.) Fundamentos de Psicofarmacologia. São Paulo: Ateneu, 1999).

Centenas de ensaios clínicos demonstram que estes medicamentos suprimem ou atenuam manifestações psicóticas agudas e reduzem a frequência de recidivas. Em consequência, reduzem o número e o tempo de hospitalizações e viabilizam outras formas de tratamento. Embora úteis para

aliviar os chamados sintomas positivos da esquizofrenia, são pouco eficazes no alívio dos sintomas negativos, além de uma percentagem de pacientes responderem pouco ou nada a essa medicação (GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S.; ZUARDI, A.W. Medicamentos antipsicóticos. In: GRAEFF, F.G. & GUIMARÃES, F.S. (Ed.) Fundamentos de Psicofarmacologia. São Paulo: Ateneu, 1999; BALDESSARINI, R.J. & TARAZI, F.I. Drugs and the treatment of psychiatric disorders: Psychosis and mania. In: HARDMAN, J.G & LIMBIRD, L.E. (Ed.). Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics. 10 ed. Nova York: McGraw-Hill, 2001).

10 A observação de que esta classe de fármacos atua como antagonista de receptores de dopamina e que sua potência clínica está diretamente ligada a sua afinidade pelo receptor do subtipo D₂, bem como a constatação de que compostos que estimulam a neurotransmissão dopaminérgica podem induzir o desenvolvimento de sintomas psicóticos levaram a formulação da hipótese
15 dopaminérgica para a patofisiologia da esquizofrenia. A visão mais moderna desta hipótese postula que uma hiperatividade de neurônios dopaminérgicos da via mesolímbica seria responsável pelo aparecimento dos sintomas positivos, e que os sintomas negativos seriam decorrentes de uma falta de dopamina em certas áreas de projeção da via mesocortical (CRISMON, M.L. & DORSON, P.G. Schizophrenia. In: DIPIRO, J.T. *et al.* (Ed.) Pharmacotherapy – A Pathophysiologic Approach. 3.ed. Stamford: Appleton Lange, 1997; WILSON, J.M.; SANYAL, S.; VAN TOL, H.H.M. Dopamine D₂ and D₄ receptor ligands: relation to antipsychotic action. European Journal of Pharmacology 351: 273-
20 86, 1998.; GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S.; ZUARDI, A.W. Medicamentos antipsicóticos. In: GRAEFF, F.G. & GUIMARÃES, F.S. (Ed.) Fundamentos de Psicofarmacologia. São Paulo: Ateneu, 1999; STAHL, S.M. Essential Psychopharmacology – Neuroscientific Basis and Practical Applications. 2 ed. Nova York: Cambridge University Press, 2000).

Porém, os antipsicóticos clássicos ainda apresentam uma gama de
30 importantes efeitos colaterais indesejáveis. Os chamados efeitos extrapiramidais estão diretamente ligados ao bloqueio dos receptores

dopaminérgicos na via nigroestriatal. Os pacientes podem apresentar quadros de distonia muscular, acatisia, podendo desenvolver Parkinson farmacológico e, com o decorrer do tratamento, discinesia tardia. O aparecimento destes sintomas é a principal causa de abandono do tratamento por parte dos

5 pacientes. O bloqueio de receptores dopaminérgicos na via tuberoinfundibular acarreta num aumento dos níveis séricos de prolactina, com conseqüente aumento de tamanho e sensibilidade das glândulas mamárias, diminuição da libido, amenorréia e galactorréia (CRISMON, M.L. & DORSON, P.G. Schizophrenia. In: DIPIRO, J.T. *et al.* (Ed.) *Pharmacotherapy – A*

10 *Pathophysiologic Approach*. 3.ed. Stamford: Appleton Lange, 1997; GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S.; ZUARDI, A.W. Medicamentos antipsicóticos. In: GRAEFF, F.G. & GUIMARÃES, F.S. (Ed.) *Fundamentos de Psicofarmacologia*. São Paulo: Ateneu, 1999; BALDESSARINI, R.J. & TARAZI, F.I. Drugs and the treatment of psychiatric disorders: Psychosis and mania. In: HARDMAN, J.G &

15 LIMBIRD, L.E. (Ed.). *Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 10 ed. Nova York: McGraw-Hill, 2001).

A procura de substâncias que superassem as limitações dos fármacos existentes no mercado conduziu ao desenvolvimento dos chamados antipsicóticos atípicos. Não existe uma definição universal para inclusão de

20 uma substância neste grupo de compostos. A conceituação mais simples utiliza apenas um critério de inclusão, que é o de produzir o efeito antipsicótico na maioria dos pacientes, com doses que não causam efeitos extrapiramidais importantes. Outros atributos que vêm sendo descritos incluem uma maior eficácia em relação aos sintomas negativos e a não alteração dos níveis

25 séricos de prolactina. Os principais representantes deste grupo são a clozapina e a risperidona (CRISMON, M.L. & DORSON, P.G. Schizophrenia. In: DIPIRO, J.T. *et al.* (Ed.) *Pharmacotherapy – A Pathophysiologic Approach*. 3.ed. Stamford: Appleton Lange, 1997; GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S.; ZUARDI, A.W. Medicamentos antipsicóticos. In: GRAEFF, F.G. & GUIMARÃES, F.S.

30 (Ed.) *Fundamentos de Psicofarmacologia*. São Paulo: Ateneu, 1999).

A clozapina é o único antipsicótico atípico que, até o momento, parece cumprir todos os critérios acima descritos. Além de apresentar efeito de melhoria tanto de sintomas positivos como negativos, 60% dos pacientes que não respondem ao tratamento com antipsicóticos clássicos podem apresentar
5 melhora com o uso da clozapina. Em relação ao seu mecanismo de ação, apresenta seletividade funcional frente aos receptores dopaminérgicos, com uma maior afinidade pelo subtipo D₄, além de efeito bloqueador de receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT_{2A} (CRISMON, M.L. & DORSON, P.G. Schizophrenia. In: DIPIRO, J.T. *et al.* (Ed.) Pharmacotherapy – A
10 Pathophysiologic Approach. 3.ed. Stamford: Appleton Lange, 1997; GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S.; ZUARDI, A.W. Medicamentos antipsicóticos. In: GRAEFF, F.G. & GUIMARÃES, F.S. (Ed.) Fundamentos de Psicofarmacologia. São Paulo: Ateneu, 1999).

O antagonismo de receptores 5-HT_{2A} é a uma característica comum a
15 maioria dos antipsicóticos atípicos utilizados atualmente na terapêutica. É amplamente relatada na literatura a importante influencia do sistema serotoninérgico sobre o sistema dopaminérgico. Sabe-se que a serotonina, através da ativação de receptores 5-HT_{2A}, é capaz de inibir a liberação de dopamina dos terminais axonais de forma diferenciada nas quatro principais
20 vias dopaminérgicas centrais. Conseqüentemente, o antagonismo de receptores 5-HT_{2A} leva a um aumento na liberação de dopamina nestes terminais. Diversos estudos demonstram que a modulação diferenciada da neurotransmissão dopaminérgica nas diferentes vias centrais através desta
25 ação sobre o sistema serotoninérgico seria a responsável pelo perfil atípico de fármacos como a clozapina (STAHL, S.M. Essential Psychopharmacology – Neuroscientific Basis and Practical Applications. 2 ed. Nova York: Cambridge University Press, 2000; BALDESSARINI, R.J. & TARAZI, F.I. Drugs and the treatment of psychiatric disorders: Psychosis and mania. In: HARDMAN, J.G & LIMBIRD, L.E. (Ed.). Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of
30 Therapeutics. 10 ed. Nova York: McGraw-Hill, 2001).

Neurônios serotoninérgicos provenientes dos núcleos da rafe enervam os corpos neuronais dopaminérgicos presentes na substância negra e também se projetam ao estriado, onde as porções terminais de seus axônios se encontram extremamente próximas a sinapses dopaminérgicas. Esta característica anatômica aponta para um duplo controle da serotonina sobre funções dopaminérgicas na via nigroestriatal. Tanto na substância negra quanto no estriado, a serotonina liberada se liga a receptores 5-HT_{2A} presentes em neurônios dopaminérgicos, inibindo a liberação de dopamina no estriado (STAHL, S.M. Essential Psychopharmacology – Neuroscientific Basis and Practical Applications. 2 ed. Nova York: Cambridge University Press, 2000). Portanto, na ação dos antipsicóticos atípicos, o aumento na liberação de dopamina no estriado via bloqueio de receptores serotoninérgicos competiria com o mecanismo inibitório da neurotransmissão dopaminérgica, levando a uma menor propensão ao desenvolvimento de sintomas extrapiramidais.

O antagonismo de receptores 5-HT_{2A} leva a um aumento na neurotransmissão dopaminérgica também na via mesocortical. Diferentemente do estriado, o córtex pré-frontal é uma região extremamente rica em receptores serotoninérgicos, o que faz com que uma ação sobre estes receptores se sobressaia a uma atividade sobre receptores dopaminérgicos. Então, a ação estimulatória indireta sobre a neurotransmissão dopaminérgica seria a predominante no córtex pré-frontal, levando à eficácia no tratamento dos sintomas negativos da esquizofrenia, que também é característica dos antipsicóticos atípicos (STAHL, S.M. Essential Psychopharmacology – Neuroscientific Basis and Practical Applications. 2 ed. Nova York: Cambridge University Press, 2000).

Entretanto, o maior problema com a utilização da clozapina é o aparecimento eventual de agranulocitose (cerca de 1 a 2% dos pacientes). Dada a gravidade e a potencial letalidade deste quadro (em torno de 19%), o uso deste fármaco é restrito na prática clínica a casos refratários aos tratamentos convencionais (GRAEFF, F.G.; GUIMARÃES, F.S.; ZUARDI, A.W.

Medicamentos antipsicóticos. In: GRAEFF, F.G. & GUIMARÃES, F.S. (Ed.) Fundamentos de Psicofarmacologia. São Paulo: Ateneu, 1999).

5 Considerando que os agentes antipsicóticos atualmente disponíveis não curam a esquizofrenia e produzem efeitos adversos importantes, a busca por novas moléculas potencialmente ativas neste quadro psiquiátrico permanece fundamental e continua sendo amplamente realizada.

Além disso, moléculas com ação dopaminérgica têm sido também bastante investigadas na busca de tratamentos eficazes para outros distúrbios. Uma ação interessante e ainda pouco explorada de agentes dopaminérgicos é a sua potencial utilização no tratamento de disfunções sexuais que acometem
10 ambos os sexos, como anorgasmia feminina, vaginismo, obstrução vaginal dispareunia, insuficiência erétil do clitóris, ejaculação precoce e, principalmente, a disfunção erétil (BRIONI, J.D.; KOLASA, T.; HSIEH, G.; NELLY-ROBERTS, D.L. The use of selective dopamine D₄ agonists for treating
15 sexual dysfunction. WO 02/41894 A2, 2002).

A disfunção erétil (DE), também conhecida como impotência sexual masculina, é definida como a inabilidade persistente (por no mínimo 6 meses) de obter e manter uma ereção firme o suficiente para permitir uma performance sexual satisfatória (WESPES, E.; AMAR, A.; HATZICHRISTOU, D.;
20 MONTORSI, F.; PRYOR, J.; VARDI, Y. Guidelines on erectile dysfunction. European Urology 41 (1): 1-5, 2002). Os casos de DE são geralmente classificados em quatro diferentes tipos de acordo com sua etiologia: psicogênicos, vasculogênicos ou orgânicos, neurológicos e endócrinos. Por muitos anos acreditou-se que os fatores psicológicos eram os principais
25 causadores deste distúrbio. Porém, sabe-se hoje que a DE originária de problemas vasculares é responsável pela grande maioria dos casos relatados, enquanto o hipogonadismo e os fatores psicológicos contribuem em menor escala (ANDERSSON, K.E. Pharmacology of penile erection. Pharmacological
Reviews 53 (9): 417-50, 2001). A idade avançada é o principal fator de risco
30 para o desenvolvimento de DE. Também são fortemente relacionados ao desenvolvimento de DE a preexistência de doenças cardíacas, hipertensão,

níveis altos de colesterol e triglicerídeos plasmáticos, aterosclerose, *Diabetes mellitus*, depressão, hiperprolactinemia e tabagismo (MOREIRA, E.D.; ABDO, C.H.N.; TORRES, E.B.; LOBO, C.F.L.; FITTIPALDI, J.A.S. Prevalence and correlates of erectile dysfunction: Results of the Brazilian study of sexual behavior. *Adult Urology* 58 (4): 583-8, 2001; ANDERSSON, K.E. Pharmacology of penile erection. *Pharmacological Reviews* 53 (9): 417-50, 2001; THOMAS, J.A. Pharmacological aspects of erectile dysfunction. *Japanese Journal of Pharmacology* 89: 101-12, 2002). Outro fator que pode desencadear o desenvolvimento de DE é o tratamento contínuo com antihipertensivos como β -
5 bloqueadores e diuréticos tiazídicos, antidepressivos, antipsicóticos e fármacos com atividade hormonal (THOMAS, J.A. Pharmacological aspects of erectile dysfunction. *Japanese Journal of Pharmacology* 89: 101-12, 2002; WIRSHING, D.A.; PIERRE, J.M.; MARDER, S.R.; SAUNDERS, C.S.; WIRSHING, W.C. Sexual side effects of novel antipsychotic medications. *Schizophrenia Research*
10 56: 25-30, 2002).

A crescente elucidação das bases fisiológicas e bioquímicas da função erétil, nos últimos anos, possibilitou a evolução das opções de tratamento da DE. Heaton e colaboradores (HEATON, J.P.W. Central neuropharmacological agents and mechanisms in erectile dysfunction: the role of dopamine.
20 *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 24: 561-9, 2000) classificaram os agentes utilizados no tratamento da disfunção erétil de acordo com seu mecanismo e local de ação. Esta classificação engloba cinco diferentes categorias e pode ser visualizada na tabela 1.

25

30

Tabela 1: Classificação por modo e local de ação dos tratamentos para disfunção erétil.

Classe	Denominação	Definição
I	Iniciador central	Agentes que têm como seu local de ação primário o SNC e agem através da ativação de eventos neurais que resultam em ereção peniana
II	Iniciador periférico	Agentes que têm como seu local de ação primário estruturas periféricas e agem através da ativação de diferentes mecanismos periféricos que resultam em ereção peniana
III	Condicionador central	Agentes que atuam deslocando o equilíbrio dos fatores presentes no SNC em favor de estímulos pró-eréteis, sem induzir uma ereção <i>per se</i>
IV	Condicionador periférico	Agentes que atuam deslocando o equilíbrio dos fatores presentes em estruturas periféricas em favor de estímulos pró-eréteis, sem induzir uma ereção <i>per se</i>
V	Outros	Outros métodos utilizados para promover a rigidez do pênis, incluindo próteses e procedimentos cirúrgicos

5

No mercado, são atualmente encontradas formas farmacêuticas de aplicação local e de administração oral. A administração oral é fácil, não-invasiva, facilmente reversível e bem tolerada tanto pelo paciente quanto por sua parceira. Assim, os fármacos de administração oral tornaram-se a terapia de primeira escolha para os mais diversos casos de DE, destacando-se entre eles o sildenafil (Viagra[®]) (BROCK, G. Oral agents: First-line therapy for erectile dysfunction. *European Urology Supplements*. 1: 12-18, 2002), o qual é um inibidor seletivo da isoforma 5 da enzima fosfodiesterase (PDE 5), classificado como um agente condicionador da ereção peniana de ação periférica (Classe IV). Outros inibidores de PDE 5 foram sintetizados buscando uma maior seletividade frente às outras isoformas da enzima tendo sido o vardenafil (Levitra[®]) e o taladafil (Cialis[®]) recentemente introduzidos no mercado farmacêutico.

Por outro lado, é de extrema importância o desenvolvimento de fármacos com diferentes mecanismos de ação, que possam beneficiar

20

pacientes até o momento não atendidos pelas terapias atuais. Além disso, diferentes mecanismos de ação podem viabilizar o uso concomitante de dois fármacos, buscando um efeito sinérgico e uma melhor resposta em pacientes não responsivos às terapias isoladas (FRICKER, J. The rise and fall of viagra. Drug Discovery Today 6 (14): 704-6, 2001). Entre os possíveis mecanismos diferenciados destaca-se a utilização de agentes dopaminérgicos.

De uma forma bastante simplificada, o comportamento sexual masculino pode ser dividido em três principais etapas. O primeiro estágio, a libido, está relacionado ao desejo sexual. O segundo estágio é o da excitação, quando são 10 ativados os mecanismos pró-eréteis preparando a genitália para a relação sexual. O terceiro e último estágio é o orgasmo acompanhado da ejaculação (STAHL, S.M. Essential Psychopharmacology – Neuroscientific Basis and Practical Applications. 2 ed. Nova York: Cambridge University Press, 2000).

O estágio da libido é extremamente relacionado ao desejo por sexo e é 15 considerado um fenômeno mediado pelas vias dopaminérgicas centrais ligadas aos mecanismos de recompensa. Acredita-se que esta via, a via mesolímbica, media não somente os mecanismos do desejo sexual, mas também o orgasmo. Uma influência negativa à libido é exercida pela prolactina. Apesar dos relatos de diversos casos de DE diretamente ligada à hiperprolactinemia, a relação 20 entre a prolactina e a função sexual masculina é pouco compreendida (STAHL, S.M. Essential Psychopharmacology – Neuroscientific Basis and Practical Applications. 2 ed. Nova York: Cambridge University Press, 2000).

O segundo estágio da resposta sexual é a ereção. A mensagem neuroquímica que resulta na preparação do pênis para a relação sexual se 25 inicia no cérebro, segue caminhos descendentes através da medula espinhal e é conduzida por fibras autonômicas periféricas simpáticas e parasimpáticas aos tecidos vasculares e à genitália. Os dois principais neurotransmissores pró-eréteis são acetilcolina e o NO (STAHL, S.M. Essential Psychopharmacology – Neuroscientific Basis and Practical Applications. 2 ed. Nova York: Cambridge 30 University Press, 2000). Os mecanismos que levam à ereção peniana serão discutidos mais detalhadamente a seguir.

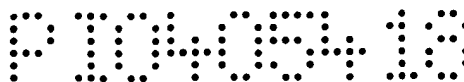
O último estágio da função sexual masculina é o orgasmo, acompanhado de ejaculação. Fibras serotoninérgicas que descem através da coluna espinhal exercem uma função inibitória sobre este comportamento via ativação de receptores 5-HT_{2A}, enquanto fibras descendentes noradrenérgicas facilitam tanto a ejaculação quanto o orgasmo (STAHL, S.M. Essential Psychopharmacology – Neuroscientific Basis and Practical Applications. 2 ed. Nova York: Cambridge University Press, 2000).

A ereção peniana é um fenômeno neurovascular modulado por fatores psicológicos e hormonais, cujo resultado final é o relaxamento da musculatura lisa do pênis. Este fenômeno envolve uma complexa interação entre o sistema nervoso central (SNC) e estímulos locais. É basicamente mediado por reflexos espinhais, pelo processamento de informações no hipotálamo e pela integração de estímulos táteis, visuais, olfatórios, auditivos e imaginários. Anatomicamente, o corpo cavernoso, principal músculo envolvido no processo da ereção, é enervado por pelo menos três vias neuroefetoras responsáveis pela modulação de seu tônus: uma via adrenérgica, uma colinérgica e uma terceira denominada não-adrenérgica e não-colinérgica (NANC). O processo de ereção e detumescência consiste de uma série de complexas interações envolvendo o sistema nervoso autônomo e a subsequente variação no fluxo sanguíneo local, que pode ser dividido em 7 fases, demonstradas na tabela 2 (ANDERSSON, K.E. Pharmacology of penile erection. Pharmacological Reviews 53 (9): 417-50, 2001; THOMAS, J.A. Pharmacological aspects of erectile dysfunction. Japanese Journal of Pharmacology 89: 101-12, 2002).

Tabela 2: Caracterização das fases componentes do processo de ereção e detumescência.

Fase	Características
0	<i>Fase flácida</i> – domínio do sistema nervoso simpático
1	<i>Fase latente ou de preenchimento</i> – após um estímulo sexual, diminuição da neurotransmissão simpática e crescente domínio da enervação parassimpática
2	<i>Tumescência</i> – alterações hemodinâmicas resultantes de um pequeno aumento do fluxo sanguíneo local
3	<i>Ereção completa</i> – alterações hemodinâmicas resultantes do crescente aumento do fluxo sanguíneo local
4	<i>Ereção rígida</i> – alterações hemodinâmicas resultantes do preenchimento total dos sinusóides cavernosos
5	<i>Fase de transição</i> – já revela um aumento da neurotransmissão simpática indicando o início do retorno ao estado inicial
6	<i>Detumescência inicial</i> – início da diminuição da pressão intracavernosa
7	<i>Detumescência rápida</i> – queda da pressão intracavernosa e inativação dos mecanismos venooclusivos

- 5 A contração do corpo cavernoso e da musculatura vascular local é mediada por um estímulo a receptores α_1 -adrenérgicos, limitando o fluxo sanguíneo local e mantendo o estado flácido usual do pênis. A ereção ocorre quando um estímulo erótico, recebido por qualquer um dos cinco sentidos e processado no hipotálamo, resulta na inibição do tônus simpático, no aumento
- 10 da neurotransmissão parassimpática e na liberação de NO pelas vias NANC e por células endoteliais das arteríolas do pênis. O NO é considerado, atualmente, o principal modulador bioquímico da ereção peniana (THOMAS, J.A. Pharmacological aspects of erectile dysfunction. Japanese Journal of Pharmacology 89: 101-12, 2002). O NO ativa a enzima guanilato ciclase,
- 15 responsável pela síntese de guanosina monofosfato cíclica (GMPc). A presença de GMPc na musculatura vascular e do corpo cavernoso resulta, em última instância, na diminuição do influxo de cálcio nestes tecidos, induzindo o



relaxamento muscular. Este efeito permite a entrada de sangue nos sinusóides cavernosos, produzindo a ereção. Igualmente importante ao aumento de fluxo sangüíneo no corpo cavernoso é a inibição do defluxo venoso, fenômeno este que ocorre passivamente através da compressão do plexo venoso pelos sinusóides cavernosos distendidos. No retorno ao estado flácido, o GMPc formado é hidrolisado a GMP (guanosina monofosfato) pela enzima fosfodiesterase tipo 5 (PDE 5), a isoforma predominante no pênis. Nesta etapa é que atuam os inibidores de PDE 5 (sildenafil, vardenafil e taladafil), inibindo a hidrólise do GMPc e conferindo uma ereção mais duradoura (ZARRINDAST, M.; SHOKRAVI, S.; SAMINI, M. Opposite influences of dopaminergic receptor subtypes on penile erection. *General Pharmacology*. 23 (4):671-5, 1992; MARKOWISKI, V.P.; EATON, R.C.; LUMLEY, L.A.; MOSES, J.; HULL, E.M. A D₁ agonist in the MPOA facilitates copulation in male rats. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 47 (3): 483-86, 1994).

Além de NO, as vias NANC são responsáveis pela liberação de diversos outros mediadores que levam ao relaxamento da musculatura lisa do pênis. Entre eles podemos citar neuropeptídeos, como o peptídeo vasoativo intestinal, peptídeo relacionado ao gene da calcitonina, substância P, purinas, como adenosina trifosfato (ATP), aminoácidos descarboxilados, bem como agentes parácrinos como prostaglandinas, bradicinina e fatores endoteliais. Entre os moduladores anti-eréteis podemos mencionar, além da noradrenalina, o neuropeptídeo Y e agentes parácrinos como tromboxano, histamina, endotelina e angiotensina II (BURNETT, A.L. Oral pharmacotherapy for erectile dysfunction: Current perspectives. *Urology*. 54: 392-400, 1999).

Contudo, apesar de toda ação periférica coordenada necessária para a obtenção de uma ereção, quem comanda a ocorrência da mesma é o cérebro. A visão de que este apenas controla os mecanismos responsáveis pelos reflexos pró-eréteis na medula espinhal é hoje considerada muito simplista. Fortes evidências experimentais demonstram que estruturas supra-espinhais são capazes, por si próprias, de iniciar uma ereção, muito provavelmente via projeções diretas aos núcleos espinhais (WIRSHING, D.A.; PIERRE, J.M.;

MARDER, S.R.; SAUNDERS, C.S.; WIRSHING, W.C. Sexual side effects of novel antipsychotic medications. *Schizophrenia Research* 56: 25-30, 2002).

O hipotálamo é, sem dúvida, a principal estrutura supra-espinhal envolvida no controle e modulação dos mecanismos que levam a ereção. Dentro deste, pode-se destacar duas áreas principais: o núcleo paraventricular (PVN) e a área preóptica medial (MPOA). Porém, outras regiões centrais também estão envolvidas nos mecanismos pró-eréteis, como o núcleo medial dorsal do tálamo, o hipocampo e algumas áreas corticais (GIULIANO, F. & RAMPIN, O. Central neural regulation of penile erection. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 24: 517-33, 2000). A MPOA é a mais forte candidata ao papel de centro integrativo supraespinhal, possuindo função tanto na motivação frente a estímulos sexuais, quanto na coordenação dos reflexos genitais necessários à ereção e à ejaculação, e na coordenação dos movimentos específicos de cada espécie necessários à consumação da cópula (HULL, E.M.; LORRAIN, D.S.; DU, J.; MATUSZEWICH, L.; LUMLEY, L.A.; PUTNAM, S.K.; MOSES, J. Hormone-neurotransmitter interactions in the control of sexual behavior. *Behavioural Brain Research* 105: 105-16, 1999; MELIS, M.R. & ARGOLAS, A. Dopamine and sexual behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 19 (1): 19-38, 1995). Esta região é responsável por receber informações hormonais, sensoriais e de mais uma variedade de origens, processá-las e redistribuí-las a estruturas mais diretamente conectadas com os núcleos espinhais que controlam a ereção, como é o caso do PVN. O PVN contém neurônios pré-motores que se projetam diretamente à medula espinhal e diversos dados experimentais sugerem que esta região seja o centro supra-espinhal dos estímulos pró-eréteis (AGMO, A.; PAREDES, R.G.; RAMOS, J.I.; CONTRERAS, J.L. Dopamine and sexual behavior in the male rabbit. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 55 (2): 289-95, 1996).

Diversos neurotransmissores e neuropeptídeos estão envolvidos no controle dos estímulos pró-eréteis nas diversas regiões centrais envolvidas. Um corpo crescente de evidências tem apontado para um papel fundamental de neuromoduladores como NO, serotonina, ocitocina e dopamina. Esta última

tem se mostrado fundamental na mediação das respostas eréteis em roedores, não roedores, primatas não humanos e homens (HEATON, J.P.W. Central neuropharmacological agents and mechanisms in erectile dysfunction: the role of dopamine. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 24: 561-9, 2000; HULL, E.M.; LORRAIN, D.S.; DU, J.; MATUSZEWICH, L.; LUMLEY, L.A.; PUTNAM, S.K.; MOSES, J. Hormone-neurotransmitter interactions in the control of sexual behavior. *Behavioural Brain Research* 105: 105-16, 1999; AGMO, A.; PAREDES, R.G.; RAMOS, J.I.; CONTRERAS, J.L. Dopamine and sexual behavior in the male rabbit. *Pharmacology, Biochemistry and Behavior* 55 (2): 289-95, 1996).

São três as principais vias dopaminérgicas responsáveis pelo controle da motivação sexual e das respostas genitais e motoras em ratos machos. A ativação da via nigroestriatal está relacionada à resposta a estímulos sexuais, bem como aos aspectos motores necessários a consumação da cópula. A via mesolímbica está estreitamente relacionada a fatores de apetite sexual, como a motivação, a libido e a sensação de recompensa. A via dopaminérgica incertohipotalâmica é a responsável pela liberação de dopamina tanto na MPOA quanto no PVN, sendo esta a via diretamente ligada aos efeitos pró-eréteis de agentes dopaminérgicos (HULL, E.M.; LORRAIN, D.S.; DU, J.; MATUSZEWICH, L.; LUMLEY, L.A.; PUTNAM, S.K.; MOSES, J. Hormone-neurotransmitter interactions in the control of sexual behavior. *Behavioural Brain Research* 105: 105-16, 1999; MELIS, M.R. & ARGIOLAS, A. Dopamine and sexual behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 19 (1): 19-38, 1995).

A habilidade de agonistas dopaminérgicos em induzir ereções penianas é descrita desde 1975 e foi sucessivamente confirmada por um grande número de estudos. Esta investigação teve início a partir da observação do efeito erectogênico da apomorfina (D'AQUILA, P.S.; PANIN, F.; COSSU, M.; PEANA, A.T.; SERRA, G. Dopamine D₁ receptor agonists induce penile erections in rats. *European Journal of Pharmacology* 460: 71-4, 2003). A apomorfina é um agonista dopaminérgico não seletivo com uma afinidade um pouco maior por

receptores *D₂-like*. A administração sistêmica de baixas doses deste composto é capaz de induzir ereções ex-cópula em ratos e camundongos. Este efeito é inibido por baixas doses de antagonistas *D₂* centrais mas não pela administração de domperidona, um antagonista *D₂* periférico, incapaz de ultrapassar a barreira hematoencefálica, confirmando o SNC como o local de ação primário da apomorfina (RAMPIN, O.; JÉRÔME, N.; SUAUDEAU, C.; Proerectile effects of apomorphine in mice. *Life Sciences* 72: 2329-36, 2003; MELIS, M.R. & ARGIOLAS, A. Dopamine and sexual behavior. *Neuroscience and Biobehavioral Reviews* 19 (1): 19-38, 1995).

10 Inúmeros estudos demonstram o efeito erectogênico da administração sistêmica de baixas doses de agonistas *D₂* seletivos, como quinpirol, quinorelano e bromocriptina. Porém, os dados referentes a administração sistêmica de agonistas *D₁* são conflitantes. Primeiramente acreditava-se que os mesmo não possuíam efeito sobre os mecanismos pró-eréteis quando administrados sistemicamente. Mais recentemente, com o desenvolvimento de agonistas plenos de receptores *D₁* foi demonstrada a participação deste tipo de receptores no efeito erectogênico da dopamina em roedores (D'AQUILA, P.S.; PANIN, F.; COSSU, M.; PEANA, A.T.; SERRA, G. Dopamine *D₁* receptor agonists induce penile erections in rats. *European Journal of Pharmacology* 20 460: 71-4, 2003). Evidências sugerem que um pequeno aumento na quantidade de dopamina liberada na MPOA leva à ativação de receptores *D₁-like*, facilitando o desenvolvimento de ereções mediadas pelo sistema nervoso parassimpático (ZARRINDAST, M.; SHOKRAVI, S.; SAMINI, M. Opposite influences of dopaminergic receptor subtypes on penile erection. *General Pharmacology*. 23 (4): 671-5, 1992). Por outro lado, altos níveis de dopamina nesta região resultam na ativação de receptores *D₂-like* favorecendo os efeitos simpáticos, como a detumescência e a ejaculação (HULL, E.M.; LORRAIN, D.S.; DU, J.; MATUSZEWICH, L.; LUMLEY, L.A.; PUTNAM, S.K.; MOSES, J. Hormone-neurotransmitter interactions in the control of sexual behavior. 25 *Behavioural Brain Research* 105: 105-16, 1999). A natureza oposta da ação das duas famílias de receptores dopaminérgicos nesta região é confirmada 30

5 pelo fato de que a ativação de receptores *D₁-like* provoca a inibição da emissão de sêmen, provavelmente prevenindo a ejaculação precoce; enquanto altas doses de agonistas de receptores *D₂-like* inibem os mecanismos eréteis e diminuem a duração da cópula (HULL, E.M.; EATON, R.C.; MARKOWSKI, V.P.; MOSES, J.; LUMLEY, L.A.; LOUCKS, J.A. Opposite influence of medial preoptic *D₁* and *D₂* receptors on genital reflexes: Implications for copulation. Life Sciences. 51: 1705-13, 1992). Estes indícios apontam para uma regulação dos diversos estágios do comportamento sexual masculino através do aumento dos níveis extracelulares de dopamina, mediante a ativação de diferentes famílias de receptores nesta região.

10 Experimentos semelhantes demonstraram que, ao contrário da MPOA, no PVN a ativação de receptores *D₂-like* possui um papel facilitatório sobre os mecanismos eréteis. Em baixas doses, a microinjeção de tanto de apomorfina quanto de agonistas seletivos de receptores *D₂* como a lisurida, o quinpirol e o quinorelano no PVN aumenta o número de ereções, enquanto em doses mais altas ocorre um aumento da emissão de sêmen e uma diminuição nos reflexos penianos (EATON, R.C.; MARKOWSKI, V.P.; LUMLEY, L.A.; THOMPSON, J.T.; MOSES, J.; HULL, E.M. *D₂* receptors in the paraventricular nucleus regulate genital responses and copulation in male rats. Pharmacology, Biochemistry and Behavior. 39: 177-81, 1991; CHEN, K.K.; CHAN, J.Y.; CHANG, L.S. Dopaminergic neurotransmission at the paraventricular nucleus of hypothalamus in central regulation of penile erection in the rat. The Journal of Urology. 162 (1): 237-42, 1999). A microinjeção de agonistas *D₁* nesta área não teve nenhum efeito sobre o número de ereções, porém a administração de um antagonista *D₁* resulta no aumento do número de ejaculações, sugerindo papéis antagônicos das famílias de receptores dopaminérgicos também no PVN. Dados experimentais apontam para o PVN como o local de ação primário da apomorfina na indução da ereção. A administração de apomorfina no PVN, em doses capazes de induzir ereções penianas, leva a um aumento de cerca de 4 a 5 vezes na concentração dos metabólitos do NO nesta região. A pré-administração tanto de haloperidol quanto de L-NAME, um inibidor da enzima

óxido nítrico sintetase – NOS, foi capaz de inibir este aumento na produção de NO, bem como o efeito pró-erétil da apomorfina. O mesmo não foi observado quando da pré-administração de um antagonista seletivo D₁ (MELIS, M.R. & ARGOLAS, A. Role of central nitric oxide in the control of penile erection and yawning. *Progress in Neuro-Pharmacology & Biological Psychiatry*. 21: 899-922, 1997). O PVN também é uma região rica em neurônios que sintetizam ocitocina e se projetam aos núcleos espinhais da região sacrolombar. Em ratos, a administração intracerebroventricular de ocitocina e apomorfina resulta em respostas similares, caracterizadas pela indução de ereções penianas, ambas bloqueadas pelo pré-tratamento sistêmico com um antagonista de receptores de ocitocina. Assim, a principal hipótese para o mecanismo da ação pró-erétil da apomorfina é que a administração desta leva à estimulação de receptores D_{2-like} no PVN, a qual dispara uma cascata de eventos bioquímicos intracelulares que levam à ativação da enzima NOS e o conseqüente aumento na síntese de NO. O aumento da concentração de NO intracelular, por sua vez, estimula a liberação de ocitocina em outras regiões do SNC, como o hipocampo e a medula espinhal, resultando na promoção da ereção peniana (MELIS, M.R. & ARGOLAS, A. Role of central nitric oxide in the control of penile erection and yawning. *Progress in Neuro-Pharmacology & Biological Psychiatry*. 21: 899-922, 1997).

A procura por uma terapia farmacológica ideal para o tratamento da DE tem buscado satisfazer características como eficácia, fácil administração, redução da toxicidade e efeitos adversos, bem como oferecer uma latência e duração de efeito adequadas ao quadro, visando sempre a melhor aceitação do tratamento pelo paciente e sua parceira, bem como a melhoria na qualidade de vida de ambos. O avanço no conhecimento das bases fisiológicas e bioquímicas da ereção peniana e da própria DE abriu novas perspectivas para o desenvolvimento de fármacos pró-eréteis. A observação de que medicamentos corriqueiramente utilizados no tratamento de distúrbios neuropsiquiátricos podem causar ou agravar uma disfunção sexual levou à percepção de que fármacos de ação central também poderiam ser utilizados

para reverter este quadro. Atualmente, a apomorfina pode ser considerada o protótipo farmacológico de uma nova série de fármacos dopaminérgicos de ação central eficazes no tratamento da DE que está prestes a surgir.

Poucos estudos clínicos são disponíveis sobre o efeito de outros agentes dopaminérgicos nos mecanismos eréteis e no tratamento da DE. É
5 relatado que a administração de L-DOPA, um precursor da biossíntese de dopamina, é capaz de induzir ereções em pacientes que sofrem da doença de Parkinson (JIMÉNEZ-JIMÉNEZ, F.J.; TALLÓN-BARRANCO, A.; CABRERA-
VALDIVIA, F.; GASALLA, T.; ORTI-PAREJA, M.; ZURDO, M. Fluctuating penile
10 erection related with levodopa therapy. *Neurology* 52 (1): 210, 1999; ANDERSSON, K.E. Pharmacology of penile erection. *Pharmacological Reviews* 53 (9): 417-50, 2001). O quinorelano é um agonista seletivo de receptores do subtipo D₂ eficaz na indução de ereções em modelos animais. Porém, os estudos clínicos com esta droga foram descontinuados prematuramente antes
15 que sua eficácia pudesse ser comprovada (ANDERSSON, K.E. Pharmacology of penile erection. *Pharmacological Reviews* 53 (9): 417-50, 2001).

A bromocriptina é um alcalóide do ergot com ação agonista de receptores D_{2-like}. Alguns relatos apontam para uma potencial utilização deste fármaco no tratamento da DE causada por hiperprolactinemia (LOPEZ-
20 CUBILLANA, P; HITTA-ROSINO, E.; ASENSIO-EGEA, L.; RIGABERT-MONTIEL, M.; HITTA-VILLAPLANA, G.; SERVER-PASTOR, G.; SERVER FALGAS, G. Bromocriptine monotherapy of a prolactinoma causing erectile dysfunction. *Archives Español de Urologia*. 50 (5): 526-8, 1997). Um estudo realizado com 17 pacientes que obtiveram sucesso no tratamento com
25 apomorfina aponta para uma potencial ação pró-erétil deste fármaco, uma vez que oito destes pacientes apresentaram melhora após o tratamento com bromocriptina (LAL, S.; KIELY, M.E.; THAVUNDAYIL, J.X.; STEWART, J.D.; ASSALIAN, P.; ACKMAN, C.F. Effect of bromocriptine in patients with apomorphine-responsive erectile impotence: an open study. *Journal of*
30 *Psychiatry and Neuroscience* 16 (5): 262-5, 1991). Porém, ainda existe a

necessidade da realização de estudos complementares que possam confirmar os efeitos benéficos deste fármaco.

A possibilidade de utilização da bupropiona no tratamento da DE também vem sendo discutida. A bupropiona é um fármaco antidepressivo inibidor da recaptção de aminas bioativas, com uma afinidade muito maior pelo transportador de dopamina (DAT) que de noradrenalina (NAT) e serotonina (5-HTT). Uma das abordagens que vem sendo investigada é a utilização de uma forma de liberação controlada deste fármaco para o tratamento da DE induzida por antidepressivos inibidores seletivos da recaptção de serotonina (ISRS), como a fluoxetina. Diversos estudos relatam a melhoria da performance sexual de pacientes deprimidos em tratamento com ISRS, bem como o aumento do desejo sexual e da freqüência de relações dos mesmos (ASHTON, A.K.; MASAND, P.S.; GUPTA, S.; FRANK, B. Bupropion and sexual dysfunction. *The American Journal of Psychiatry*. 159 (4): 677-8, 2002).

Finalmente, o planejamento racional de novas moléculas que sejam ligantes seletivos de receptores dopaminérgicos não relacionados aos efeitos adversos da apomorfina e que mantenham o efeito pró-erétil desejado é uma estratégia que vem sendo buscada pela indústria farmacêutica. Além desta, outras estratégias como a combinação de diversos agentes pro-eréteis e novos alvos relacionados à disfunção erétil também estão atraindo a atenção de grandes companhias farmacêuticas e centros de pesquisa, e esse crescente interesse pode ser evidenciado pelas diversas patentes concedidas e novos pedidos depositados.

Agentes pro-eréteis, como, por exemplo, inibidores da PDE5 e doadores de NO, e seu uso em conjunto com outros agentes, como por exemplo, agentes dopaminérgicos são objeto de muitas patentes e pedidos de patentes como, por exemplo, EP 1092718, US 6,143,757, WO 00/54773, US 2003/0004170.

O uso concomitante de agentes dopaminérgicos e de outros agentes também produziu inúmeras patentes. A patente norte-americana US 6,530,773

descreve composições contendo agentes dopaminérgicos, como clozapina e haloperidol em conjunto com (S)-2-(benzilamino-metil)-2,3,8,9-tetrahydro 7H-1,4-dioxino{2,3-E}indol-8-ona, um agonista parcial dos receptores D₂ e D₃ no tratamento de desordens psicóticas. Por outro lado, o uso de agentes dopaminérgicos pode ser exemplificado pelos documentos a seguir. A patente norte-americana US 6,432,943 descreve derivados benzodiazepínicos, ativos não só em receptores colinérgicos muscarínicos como também em receptores dopaminérgicos, úteis no tratamento de disfunções sexuais. O pedido de patente US 2002/0103198 descreve novos derivados de acilamino ciclopropano eficazes no tratamento da disfunção erétil por atuarem nos receptores dopaminérgicos D₃. O documento US 2002/013105 descreve novos agonistas dopaminérgicos seletivos para os receptores D₄, agonistas estes diferentes da apomorfina para o tratamento de disfunção sexual, incluindo a disfunção erétil. O pedido de patente US 2001/0056101 revela o uso de uma combinação de antagonistas e agonistas parciais dopaminérgicos no tratamento de desordens do sistema nervoso relacionadas a disfunção do sistema dopaminérgico. O documento WO 02/088093 descreve novos derivados benzimidazólicos úteis no tratamento da disfunção erétil. O documento WO 00/23056 descreve o uso de agentes dopaminérgicos, mais especificamente o uso de ropirinol ou pramipexol, no tratamento da disfunção erétil.

Além do uso de agentes dopaminérgicos, novas abordagens para o tratamento da disfunção erétil estão sendo criadas. O pedido de patente US 2003/0119714 descreve o uso de inibidores do neuropeptídeo Y como agentes pró-eréteis. O documento WO02/069973 descreve o uso de ligantes piperidínicos-piperazínicos em receptores e/ou transportadores muscarínicos, dopaminérgicos e/ou serotoninérgicos para tratamento de diversas condições e doenças, dentre elas a disfunção erétil. O documento US 2003/0008858 descreve o uso de inibidores de β-lactamases como agentes pró-eréteis. O documento WO 02/17963 descreve o uso de uma composição farmacêutica capaz de modular a atividade de um canal de K⁺ ativado por Ca²⁺ (IK_{Ca}) na genitália.

Apesar destas inúmeras abordagens, até o momento não é conhecido relato do uso de derivados da clozapina como agentes dopaminérgicos e/ou serotoninérgicos concomitantemente úteis no tratamento da esquizofrenia e no tratamento de disfunções sexuais e que não apresentem as desvantagens das respectivas drogas disponíveis.

SUMÁRIO DA INVENÇÃO

É um objeto da presente invenção fornecer novas moléculas capazes de atuar em vias dopaminérgicas e/ou serotoninérgicas de ação central e composições farmacêuticas compreendendo as mesmas.

Em um aspecto, as moléculas da presente invenção são ativas em modelos animais preditivos de atividade neuroléptica. É, portanto, um objeto da presente invenção proporcionar novas moléculas úteis no tratamento da esquizofrenia ou de outras manifestações clínicas que requeiram o uso de antipsicóticos e composições farmacêuticas contendo as mesmas.

Em um outro aspecto, as moléculas da presente invenção são derivadas estruturais da clozapina, nas quais não são observados os efeitos colaterais da mesma, como a agranulocitose. É, portanto, um outro objeto da presente invenção proporcionar novas moléculas capazes de atuar em vias dopaminérgicas e/ou serotoninérgicas de ação central e que não apresentem os efeitos colaterais típicos da clozapina e composições farmacêuticas compreendendo as mesmas.

Em um outro aspecto, as moléculas da presente invenção proporcionam menor indução de catatonia quando comparadas ao antipsicótico clássico haloperidol. É, portanto, um outro objeto da presente invenção proporcionar novas moléculas e composições farmacêuticas contendo as mesmas que não acarretem os efeitos extrapiramidais típicos de outros neurolépticos, como o haloperidol.

Em um outro aspecto, as moléculas da presente invenção não potenciaram o tempo de sono barbitúrico. É, portanto, um outro objeto da presente invenção proporcionar novas moléculas e composições farmacêuticas

contendo as mesmas, que não acarretem os efeitos sedativos típicos de outros neurolépticos, como o haloperidol e a clorpromazina.

Em um adicional aspecto, as moléculas da presente invenção revelaram-se capazes de induzir ejaculações e ereções em roedores. É, portanto, um adicional objeto da presente invenção proporcionar novas moléculas e composições farmacêuticas contendo as mesmas, para o tratamento da disfunção erétil e outras disfunções sexuais, como ejaculação precoce, anorgasmia feminina, vaginismo, obstrução vaginal, dispareunia, insuficiência erétil do clitóris.

Em ainda outro aspecto, as moléculas da presente invenção são capazes de causar hipotermia. É, portanto, um outro objeto da presente invenção proporcionar composições farmacêuticas capazes de causar hipotermia e concomitantemente proporcionar os efeitos benéficos descritos acima.

Finalmente, há indícios de que os efeitos destes derivados sejam também relacionados direta ou indiretamente ao sistema serotoninérgico, visto que a administração de uma agonista 5HT2 é capaz de inibir o efeito hipotérmico destas moléculas e que estas são capazes de inibir os comportamentos estereotipados induzidos por um agonista 5HT2 em camundongos. É, portanto objeto da presente invenção proporcionar composições farmacêuticas capazes de inibir o efeito hipertérmico resultante da ativação do sistema serotoninérgico e de exercer efeitos terapêuticos benéficos resultantes do antagonismo de receptores 5HT2, como, por exemplo, efeito sobre distúrbios afetivos.

DESCRIÇÃO DAS FIGURAS

A Figura 1 mostra o perfil farmacocinético plasmático do composto LASSBio-581 obtido após a administração da dose de 10 mg/kg i.v. a ratos Wistar (n = 9). Média \pm DP

A Figura 2 mostra o perfil farmacocinético plasmático do composto LASSBio-581 obtido após a administração das doses de 30 mg/kg i.p. (♦) (n = 8) e 30 mg/kg p.o (▲) (n = 9) a ratos Wistar. Média ± DP

A Figura 3 mostra os perfis de concentração *versus* tempo do composto LASSBio-581 após administração i.v. *bolus* da dose de 10 mg/kg, sendo cérebro (A), baço (B), coração (C), fígado (D), rins (E) e pulmões (F), e onde n = 3/tempo de amostragem.

A Figura 4 mostra o efeito de LASSBio579 e LASSBio581 sobre a temperatura corporal de camundongos. Tratamentos: SAL (salina + polissorbato 80 1% 1 mL/100g *i.p.*, n=20), 579 (LASSBio579 30 mg/kg *i.p.*, n=17), 581 (LASSBio581 30 mg/kg *i.p.*, n=15), APO (apomorfina 1 mg/kg *i.p.*, n=14). Os resultados são expresso em medias ± erro padrão (*diferença significativa em relação ao grupo SAL no mesmo intervalo de tempo. ANOVA de duas vias com medidas repetidas, p<0,001).

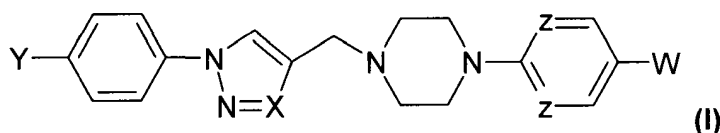
15

DESCRIÇÃO DETALHADA DA INVENÇÃO

Para efeito desta invenção, por “composições farmacêuticas” entende-se toda e qualquer composição que contenha um princípio ativo, com fins profiláticos, paliativos e/ou curativos, atuando de forma a manter e/ou restaurar a homeostase, podendo ser administrada de forma tópica, parenteral, enteral e/ou intratecal. Por “princípio ativo” entende-se todos ou quaisquer compostos de fórmula (I) ou sais farmacêuticamente aceitáveis dos mesmos.

20

Os novos compostos de que trata esta invenção pertencem à classe dos derivados N-fenilpiperazínicos, e seus isósteros, de estrutura geral (I):



25

onde:

X e Z correspondem, independentemente, a N ou CH.

Y e W correspondem, independentemente, a H, F, Cl, Br, I, OH, OMe, OCF₃, NO₂, NH₂, NHAc, N(CH₃)₂, SO₂NH₂, SO₂Me, C₁-C₃ alquila, fenila

Compostos preferenciais da presente invenção são compostos onde Y corresponde a Cl, X corresponde a N ou CH, Z corresponde a CH, W corresponde a H.

A avaliação farmacológica dos novos compostos da presente invenção foi realizada em duas etapas, compreendendo uma etapa de avaliação do perfil farmacodinâmico e outra de avaliação do perfil farmacocinético. Para tanto, são apresentados a seguir, e a título de exemplo, sem com isso limitar o escopo das reivindicações anexas, os resultados de testes com os novos derivados N-fenilpiperazínicos: 1-[1-(4-clorofenil)-1H-pirazol-4-ilmetil]-4-fenil-piperazina, denominado, para efeito da presente invenção, de LASSBio579; e 1-[1-(4-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-ilmetil]-4-fenil-piperazina, denominado, para efeito da presente invenção, de LASSBio581.

A) Perfil Farmacodinâmico

1 - Animais

Foram utilizados ratos Wistar machos adultos pesando entre 200 e 300g e camundongos Swiss CF1 machos adultos pesando de 20 a 30g, ambos provenientes da colônia da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde – FEPPS. Antes dos experimentos, os animais foram adaptados por um período mínimo de 72h no biotério de passagem da Faculdade de Farmácia – UFRGS. Os ratos foram mantidos em caixas plásticas de 28x42x16 cm em grupos de no máximo 5 animais. Os camundongos foram mantidos em caixas plásticas menores (17x28x13 cm) com no máximo 10 animais em cada. A temperatura ambiente foi mantida em 23 ± 2°C, ciclo claro-escuro de 12 horas. Todos os animais tiveram livre acesso a água e alimentação (ração certificada Nuvilab CR1®), exceto quando diferentes condições foram especificadas para cada ensaio.



2 - Ensaio de Toxicidade

2.1 - Determinação da dose letal mediana (DL₅₀) (TURNER, R.A. Screening Methods in Pharmacology. Nova York e Londres: Academic Press, 1965).

5 Para a determinação da dose letal mediana das substâncias, doses compreendidas entre 2,5 e 1500 mg/kg foram administradas a grupos de três camundongos, a fim de selecionar a faixa de dose mais adequada para o cálculo. Após selecionadas cinco doses entre os limites máximo (dose possível de ser administrada que causou o maior número de mortes) e mínimo (maior dose que não causou nenhuma morte) de toxicidade de cada substância, estas foram administradas a cinco diferentes grupos de 8 camundongos cada. Os animais foram observados por até 48 horas, sendo computada a frequência de mortes com ênfase nos intervalos de 1, 2, 6, 12 e 48 horas após a injeção. Para o cálculo da DL₅₀ foi realizada a retificação da curva de mortalidade pelo método dos probitos. O desvio padrão foi calculado de acordo com a fórmula expressa abaixo.

$$D = \frac{2s}{\sqrt{2.2n}}$$

20 onde:

D significa desvio padrão,

n número de animais por dose,

2*s* (diferença entre os valores dos probitos 6 e 4).

25 O composto LASSBio579 obteve um resultado correspondente a 1409 ± 178 mg/kg, enquanto o composto LASSBio581 obteve um resultado correspondente a 708 ± 248 mg/kg.

2.2 - Ensaio piloto de toxicidade sanguínea

30 Os ratos foram divididos em diferentes grupos com cinco animais cada, tratados ou com veículo (solução de polissorbato 80 3% em salina 1mL/kg) ou com algumas das substâncias na dose de 30 mg/kg, sempre pela via

intraperitoneal durante 14 dias (dias 1 a 14). Nos dias 2 (24 horas após o primeiro tratamento) e 15 (após 14 dias de tratamento) os animais foram anestesiados com éter etílico e foi retirada de cada um uma amostra de cerca de 1,5 mL sangue do sinus retro orbital (LAROCHE, M.J. & ROUSSELET, F. Lex Animaux de Laboratoire – Éthique et Bonnes Pratiques. Paris: Masson, 1990), com posterior reposição de volume (1,5 mL de solução salina *i.p.*). As amostras foram acondicionadas em tubos contendo EDTA, mantidas sob refrigeração e imediatamente encaminhadas ao Laboratório de Análises Clínicas Veterinárias da Faculdade de Veterinária (UFRGS) para realização de hemogramas.

No 16º dia os animais foram sacrificados por atordoamento com vapores de éter etílico seguido de deslocamento cervical para retirada do fêmur direito e de duas costelas. Os ossos foram conservados em solução isotônica de formol e encaminhados ao Laboratório de Patologia Veterinária da Faculdade de Veterinária (UFRGS). O material foi descalcificado com solução de ácido nítrico a 5% durante 12 horas a temperatura ambiente, lavado com água destilada e processado de forma convencional para exame histológico (PROPHET, E.B.; MILLS, B.; ARRINGTON, J.B.; SOBIN, L.H. Laboratory Methods in Histotechnology. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, American Registry of Pathology, 1992). As medulas ósseas foram analisadas quanto ao desaparecimento da matriz mielóide.

Os resultados dos hemogramas encontram-se nas Tabelas 3 e 4. Foi denominada de coleta A aquela realizada 24 horas após o primeiro tratamento, e coleta B aquela realizada após os 14 dias de tratamento. As variações encontradas nos valores de hematócrito, concentração de hemoglobina e contagem diferencial de leucócitos, tanto intra quanto intergrupos, encontram-se dentro de valores considerados normais para ratos adultos (JAIN, N.C. Essentials of Veterinary Hematology. 5 ed. Filadelfia: Lippincott Williams & Wilkins, 1993).

Tabela 3: Valores de hematócrito e dosagem de hemoglobina de amostras de sangue retiradas de ratos após 24 horas (coleta A) ou 14 dias (coleta B) de tratamento com LASSBio579 e LASSBio581 30 mg/kg *i.p.*. Grupo controle: SAL (salina + polissorbato 80 3%, 1 mL/kg *i.p.*). Resultados expressos em média \pm desvio padrão.

5

Parâmetro	SAL		579		581	
	Coleta A	Coleta B	Coleta A	Coleta B	Coleta A	Coleta B
Hematócrito (%)	47,0 \pm 1,9	46,6 \pm 2,1	46,4 \pm 1,5	41,3 \pm 1,5	45,8 \pm 0,5	45,2 \pm 0,8
Hemoglobina (g/dL)	17,1 \pm 0,3	17,3 \pm 1,2	17,6 \pm 0,8	15,6 \pm 0,4	16,1 \pm 1,4	16,7 \pm 0,4

10 **Tabela 4:** Contagem diferencial de leucócitos de amostras de sangue retiradas de ratos após 24 horas (coleta A) ou 14 dias (coleta B) de tratamento com LASSBio579 e LASSBio581 30 mg/kg *i.p.*. Grupo controle: SAL (salina + polissorbato 80 3%, 1 mL/kg *i.p.*). Resultados expressos em média \pm desvio padrão.

Contagem Diferencial de Leucócitos (%)	SAL		579		581	
	Coleta A	Coleta B	Coleta A	Coleta B	Coleta A	Coleta B
Neutrófilos bastonados	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,8 \pm 1,1	0,0 \pm 0,0
Neutrófilos segmentados	38,4 \pm 2,6	24,2 \pm 8,5	24,0 \pm 3,4	28,0 \pm 9,5	31,4 \pm 8,8	29,6 \pm 10,2
Eosinófilos	1,0 \pm 0,7	0,6 \pm 1,3	0,6 \pm 0,6	0,8 \pm 1,0	0,8 \pm 0,8	1,2 \pm 1,1
Basófilos	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0
Monócitos	5,8 \pm 2,3	2,4 \pm 1,3	3,4 \pm 2,1	3,3 \pm 3,0	4,6 \pm 0,9	2,8 \pm 1,8
Linfócitos	54,8 \pm 4,4	72,8 \pm 10,3	72,0 \pm 2,4	68,0 \pm 6,3	62,4 \pm 9,3	66,4 \pm 11,7
Total	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0	100,0

15

O exame histopatológico da medula óssea do fêmur e das costelas dos animais sacrificados após os 14 dias de tratamento não revelou diferenças significativas entre animais tratados e controles. Considerando ambos os resultados, pode-se concluir que o tratamento por 14 dias com as substâncias não apresenta indícios de desenvolvimento de discrasias sangüíneas.

20

3 – Bloqueio da estereotipia anfetamínica (CARLINI, E.A. Farmacologia Prática Sem Aparelhagens. São Paulo: Sarvier, 1973).

O teste de bloqueio da estereotipia anfetamínica é um modelo animal baseado na indução de um estado hiper-dopaminérgico. A anfetamina é um potente agente que atua aumentando a liberação de dopamina nos terminais sinápticos. Quando administrada em altas doses em roedores faz com que esses animais desenvolvam um tipo de comportamento estereotipado caracterizado por movimentos repetitivos de balançar a cabeça, cheirar, lambe e morder (LEMBERGER, L.; WITT, E.D.; DAVIS, J.M.; KOPIN, I.J. The effects of haloperidol and chlorpromazine on amphetamine metabolism and amphetamine stereotyped behavior in the rat. The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 174 (3): 428-33, 1970; FELDMAN, D.J.; FRANK, R.A.; KEHNE, J.H.; FLANNERY, R.; BROWN, D.; SONI, S.; BYRD, G.; SHAH, S. Mixed D₂/5-HT₂ antagonism differentially affects apomorphine- and amphetamine-induced stereotyped behavior. Pharmacology, Biochemistry and Behavior 58 (2): 565-72, 1997; ROFFMAN, J.L. & RASKIN, L.A. Stereotyped behavior: Effects of *d*-amphetamine and methylphenidate in the young rat. Pharmacology, Biochemistry and Behavior 53 (4): 1095-102, 1997). Ratos foram tratados com as substâncias testes e 30 min após receberam a injeção de um segundo tratamento, que pode ter sido sulfato de anfetamina 30 mg/kg *i.p.* (ANF) ou solução salina 1 mL/kg *i.p.* (SAL), sendo, então, isolados dos demais por um período 30 min. Após este período, os animais foram colocados individualmente em gaiolas de metal e o desenvolvimento de movimentos estereotipados observado durante 15 min. A intensidade da estereotipia foi avaliada na forma de graus, de acordo com a escala proposta por Carlini (CARLINI, E.A. Farmacologia Prática Sem Aparelhagens. São Paulo: Sarvier, 1973): grau 0 – o animal não apresenta nenhum comportamento estereotipado; grau 1 – apresenta discreta e intermitente atividade de cheirar, mastigar, lambe ou morder; grau 2 – apresenta moderada intensidade de cheirar, mastigar, lambe ou morder; e grau 3 – o animal não responde mais a estímulos, apresentando grande e contínua intensidade de cheirar, mastigar,

lamber ou morder. Os tratamentos utilizados foram solução de polissorbato 80 a 3% em salina 1 mL/kg *i.p.*, LASSBio579 30 mg/kg *i.p.* e haloperidol 0,5 mg/kg *i.p.* Os resultados encontram-se na tabela 5.

- 5 **Tabela 5:** Efeito de LASSBio579 no bloqueio da estereotipia anfetamínica. Tratamentos: SAL (salina + polissorbato 80 3% 1 mL/kg *i.p.*), 579 (LASSBio579 30 mg/kg *i.p.*), HAL (haloperidol 0,5 mg/kg *i.p.*) e ANF (sulfato de anfetamina 30 mg/kg *i.p.*). Resultados expressos em mediana e intervalos interquartis.

Tratamento 1	Tratamento 2	Grau de Estereotipia
SAL (n = 14)	ANF	2,0 (2,0 – 2,0)
579 (n = 08)	SAL	0,0 (0,0 – 0,0)*
579 (n = 12)	ANF	1,0 (1,0 – 1,0)*
HAL (n = 14)	ANF	0,0 (0,0 – 2,0)*

- 10 *diferença significativa em relação ao grupo SAL+ANF (Kruskal-Wallis: H=20,793; p<0,001).

4 – Ensaio de indução de catatonia (CARLINI, E.A. Farmacologia Prática Sem Aparelhagens. São Paulo: Sarvier, 1973).

A indução farmacológica de catatonia representa mais uma ferramenta
 15 comportamental na avaliação e identificação de neurolépticos. Trata-se de um modelo animal de estudo de funções extrapiramidais amplamente utilizado para avaliar o potencial de drogas em causar efeitos motores indesejados (SANBERG, P.R.; BUNSOY, M.D.; GIORDANO, M.; NORMAN, A. The catalepsy test: Its ups and downs. Behavioural Neuroscience 102: 748-59,
 20 1988; WEISS, J.M. & KILTS, C.D. Animal models of depression and schizophrenia. In: SCHATZBERG, A.F. & NEMEROFF, C.B. Textbook of Psychopharmacology 2.ed. Washington: American Psychiatric Press, 1998). A ausência de desenvolvimento de catatonia também é uma observação valiosa na identificação de bloqueadores dopaminérgicos pouco ativos na via
 25 nigroestriatal (MOORE, N.C. & GERSHON, S. Which atypical antipsychotics are identified by screening tests? Clinical Neuropharmacology 12 (3): 167-84, 1989). Camundongos foram delicadamente posicionados sobre uma barra de madeira elevada 6,5 cm do chão, apoiados apenas pelas patas dianteira. Foi mensurado o tempo (s) de permanência dos animais nesta posição incômoda
 30 nos intervalos de 30 e 60 após o tratamento com as substâncias teste. Os

tratamentos utilizados foram solução de polissorbato 80 a 1% 1 mL/100 g *i.p.*, LASSBio579 40 mg/kg *i.p.*, LASSBio581 40 mg/kg *i.p.* e haloperidol 4 mg/kg *i.p.*. Os resultados estão demonstrados na tabela 6.

- 5 **Tabela 6:** Efeito de LASSBio579 e LASSBio581 no teste de indução de catatonia. Tratamentos: SAL (salina + polissorbato 80 1%, 1 mL/100g *i.p.*), 579 (LASSBio579 40 mg/kg *i.p.*), 581 (LASSBio581 40 mg/kg *i.p.*), HAL (haloperidol 4 mg/kg *i.p.*). Resultados expressos em mediana e intervalos interquartis.

Tratamentos	Indução de Catatonia	
	30 min (s)	60 min (s)
SAL (n=14)	1,7 (0,6 – 3,3)	6,6 (2,9 – 15,2)
579 (n=12)	16,7 (7,5 – 34,0)*	19,7 (6,3 – 30,3)
581 (n=12)	16,4 (9,4 – 23,2)*	29,6 (15,1 – 73,8)**
HAL (n=14)	26,8 (11,9 – 77,0)*	70,9 (45,7 – 120,0)**

- 10 *diferença significativa em relação ao grupo SAL no mesmo intervalo de tempo (Kruskal-Wallis, H = 29,64; p<0,001); **diferença significativa em relação ao grupo SAL no mesmo intervalo de tempo (Kruskal-Wallis: H = 27,56; p=0,001).

- 15 **5 – Teste de potenciação do sono barbitúrico** (WILLIANSON, E.; OKPAKO, D.; EVANS, F.J. Selection, Preparation and Pharmacological Evaluation of Plant Material. Chichester: John Wiley & Sons, 1996)

Camundongos foram tratados com as substâncias teste e 30 minutos
 20 após receberam uma injeção de pentobarbital sódico 40 mg/kg pela via intraperitoneal. Foram avaliados os parâmetros latência e duração do sono barbitúrico em minutos, determinados pela perda e retomada do reflexo postural. Foi estabelecido como valor máximo de duração do sono 240 min. Os tratamentos utilizados foram solução de polissorbato 80 a 1%, 1 mL/100g *i.p.*,
 25 LASSBio579 30 mg/kg *i.p.*, LASSBio581 30 mg/kg *i.p.* e diazepam 1 mg/kg *i.p.*. Os resultados podem ser visualizados na tabela 7.

- 30 **Tabela 7:** Efeito de LASSBio579 e LASSBio581 no teste de potenciação do sono barbitúrico. Tratamentos: SAL (salina + polissorbato 80 1% 1 mL/100g *i.p.*), 579 (LASSBio579 30 mg/kg *i.p.*), 581 (LASSBio581 30 mg/kg) e DZP (diazepam 1 mg/kg *i.p.*). Resultados expressos em mediana e intervalos interquartis.

Tratamentos	Latência (min)	Duração (min)
SAL (n = 22)	4,0 (3,0 – 5,0)	35,0 (16,0 – 50,0)
579 (n = 12)	3,0 (2,5 – 4,0)	49,0 (18,5 – 74,5)
581 (n = 12)	3,0 (3,0 – 4,0)	78,0 (41,5 – 90,5)
DZP (n = 25)	3,0 (2,0 – 3,0)*	144,0 (109,3 – 184,3)**

*diferença significativa em relação ao grupo SAL (Kruskal-Wallis: H=25,416; p<0,001)

**diferença significativa em relação ao grupo SAL (Kruskal-Wallis: H=49,194; p<0,001).

6 - Observação preliminar da potenciação de ejaculações induzidas por anfetamina em ratos

Ratos foram tratados com as substâncias testes e 30 min após receberam uma injeção de sulfato de anfetamina 30 mg/kg *i.p.*, sendo então isolados dos demais por um período 30 min. Após este período, os animais foram colocados individualmente em gaiolas de metal, onde foi observada a ocorrência de ejaculações por um período de 15 min. Os tratamentos utilizados foram solução de polissorbato 80 a 3%, 1 mL/kg *i.p.*, haloperidol 0,5 mg/kg *i.p.*, LASSBio579 60 mg/kg *i.p.*. Os resultados são demonstrados na tabela 8, mostrada a seguir.

Tabela 8: Incidência de ejaculações em ratos. Tratamentos: SAL (salina + polissorbato 80 3% *i.p.*); 579 (LASSBio579 60 mg/kg *i.p.*); HAL (haloperidol 0,5 mg/kg *i.p.*); ANF (sulfato de anfetamina 30 mg/kg *i.p.*). Resultados expressos em porcentagem de animais que ejacularam.

Tratamentos	Incidência de Ejaculações
SAL+ANF (n = 14)	43%
579+ANF (n = 12)	58%
HAL+ANF (n = 14)	29%

7 - Avaliação do efeito pró-erétil em camundongos (RAMPIN, O.; JÉRÔME, N.; SUAUDEAU, C.; Proerectile effects of apomorphine in mice. Life Sciences 72: 2329-36, 2003)

Camundongos foram adaptados à sala e à câmara de observação durante a semana anterior do teste, permanecendo uma hora/dia no recipiente. A câmara de observação consiste de um cilindro de vidro com 14 cm de

diâmetro e 15 cm de altura, apresentando perfurações em sua extremidade superior que permitem a troca de ar. No dia dos experimentos os animais foram colocados por 5 min nas câmaras de observação e então receberam os tratamentos com as substâncias teste. Imediatamente após os tratamentos, os camundongos foram recolocados nas câmaras e observados durante 60 min. Foram avaliados os parâmetros: número de animais que apresentaram ereções e número de ereções por animal. Os tratamentos utilizados foram solução de polissorbato 80 a 1%, 1 mL/100g v.o., apomorfina 1,5 µg/kg s.c. e LASSBio579 30 mg/kg v.o. Os resultados são demonstrados na tabela 9, mostrada a seguir.

10

Tabela 9: Avaliação do efeito pró-erétil de LASSBio579 em camundongos. Tratamentos: SAL (salina + polissorbato 80 1% v.o.), 579 (LASSBio579 30 mg/kg v.o.) e APO (apomorfina 1,5 µg/kg s.c.). Resultados expressos em porcentagem para incidência; e média ± erro padrão para número de ereções por animal.

15

Tratamentos	Incidência de Ereções	Número de Ereções por Animal
SAL (n = 13)	54%	0,8 ± 0,2
579 (n = 10)	80%	1,8 ± 0,4**
APO (n = 17)	94%*	2,2 ± 0,3**

*diferença significativa em relação ao grupo SAL (Teste Exato de Fischer, p = 0,025).

**diferença significativa em relação ao grupo SAL (ANOVA, p < 0,001).

20 **8 – Ensaio de aferição da temperatura corporal** (SALMI, P.; JIMENEZ, P.; AHLENIUS, S. Evidence for specific involvement of dopamine D₁ and D₂ receptors in the regulation of body temperature in the rat. *European Journal of Pharmacology* 236: 395-400, 1993; VERMA, A. & KULKARNI, S.K. Differential role of dopamine receptor subtypes in thermoregulation and stereotypic behavior in naive and reserpinized rats. *Archives in Pharmacodynamics* 324: 17-32, 1993).

25

A temperatura retal (°C) de camundongos foi determinada por um termômetro digital (ProCheck®), inserido delicadamente cerca de 1,5 cm no

reto dos animais com auxílio de vaselina líquida. Após esse procedimento, dois protocolos distintos foram seguidos:

Protocolo 1: Imediatamente após a medida da temperatura basal os animais receberam os tratamentos com as substâncias teste. As medidas posteriores da temperatura foram realizadas 15, 30, 45 e 60 minutos após a administração dos compostos. Os tratamentos utilizados foram solução de polissorbato 80 a 1% em salina 1 mL/100g *i.p.*, LASSBio579 30 mg/kg *i.p.*, LASSBio581 30 mg/kg *i.p.* e apomorfina 1 mg/kg *i.p.* Os resultados podem ser visualizados na figura 4.

Protocolo 2: Imediatamente após a medida da temperatura basal (T0) os animais receberam dois diferentes tratamentos com intervalo de 30 min entre si. As medidas posteriores da temperatura foram realizadas 45 e 60 minutos após a administração do primeiro tratamento (T45 e T60, respectivamente). Os tratamentos utilizados foram: SAL (solução de polissorbato 80 a 1% em salina 1 mL/100g *i.p.*), 579 (LASSBio579 30 mg/kg *i.p.*), HAL-A (haloperidol 0,5 mg/kg *i.p.*) e HAL-B (haloperidol 4 mg/kg *i.p.*). Os resultados podem ser visualizados na tabela 10.

Tabela 10: Efeito da pré-administração de haloperidol 0,5 mg/kg *i.p.* (HAL-A) e 4 mg/kg *i.p.* (HAL-B) sobre o efeito hipotérmico de LASSBio579 e LASSBio581 30 mg/kg *i.p.* Resultados expressos em média \pm desvio padrão.

Tratamentos	T0	T45	T60
SAL+SAL (n=12)	38,2 \pm 0,4	38,0 \pm 0,8	38,2 \pm 0,7
HAL-A+SAL (n=12)	38,4 \pm 0,3	38,1 \pm 0,3	38,1 \pm 0,3
HAL-B+SAL (n=14)	37,9 \pm 0,7	37,7 \pm 0,7	37,4 \pm 0,6*
SAL+579 (n=17)	38,0 \pm 0,5	37,1 \pm 0,6* ^{&}	36,5 \pm 0,8* ^{&}
HAL-A+579 (n=16)	38,3 \pm 0,6	36,8 \pm 0,5* [#] [§]	36,6 \pm 0,7* [#] [§]
HAL-B+579 (n=12)	38,0 \pm 0,6	36,2 \pm 0,8* [#] ^{&}	35,7 \pm 1,2* [#] ^{&}

*diferença significativa em relação ao grupo SAL+SAL no mesmo intervalo de tempo; [#]diferença significativa em relação ao grupo HAL+SAL no mesmo intervalo de tempo; [§]diferença significativa de T0 dentro do mesmo grupo; [&]diferença significativa dos demais tempos dentro do mesmo grupo (ANOVA de duas vias com medidas repetidas, $p < 0,001$).

9 – Investigação do Envolvimento do Sistema Serotoninérgico no Efeito Hipotérmico Induzido por LASSBio579

A temperatura retal (°C) de camundongos Swiss CF1 machos adultos foi determinada por um termômetro digital inserido cerca de 1,5 cm no reto dos animais, com auxílio de vaselina líquida. Imediatamente após a aferição da temperatura basal (T0), os animais receberam dois diferentes tratamentos (pré e pós-tratamento) com intervalo de 30 min entre si. As medidas posteriores da temperatura foram realizadas 45 e 60 min após a administração do pré-tratamento (T45 e T60, respectivamente).

Descrição dos tratamentos: SAL (solução de polissorbato 80 a 1% em salina, 1 mL/100g i.p.); DOI ((±)-DOI - agonista 5-HT₂ - 0,5 mg/kg i.p.), 579 (LASSBio579 30 mg/kg i.p.).

Tabela 11: Efeito da pré-administração de (±)-DOI na hipotermia induzida por LASSBio579 30 mg/kg i.p. Resultados expressos em média ± erro padrão.

Pré-tratamento	Pós-tratamento	T0	T45	T60
SAL	SAL	38,2 ± 0,08	37,8 ± 0,24	37,8 ± 0,22
DOI	SAL	38,1 ± 0,13	38,2 ± 0,17	38,2 ± 0,20
SAL	579	38,0 ± 0,11	37,2 ± 0,19 [#]	36,7 ± 0,22 ^{*#}
DOI	579	38,2 ± 0,20	38,2 ± 0,23	37,8 ± 0,26

*diferença significativa em relação ao grupo SAL+SAL no mesmo intervalo de tempo; [#]diferença significativa em relação a T0 dentro do mesmo grupo (ANOVA de duas vias com medidas repetidas: fator tratamento $F_{5,203}=12,474$ $p<0,001$; fator tempo $F_{2,203}=49,682$ $p<0,001$; interação tempo x tratamento $F_{10,203}=25,470$ $p<0,001$).

10 – Bloqueio de Comportamentos Induzidos por (±)-DOI, um agonista 5-HT₂

Inicialmente, camundongos Swiss CF1 machos adultos receberam um pré-tratamento e foram imediatamente colocados nas câmaras de observação para adaptação. Sessenta minutos após, receberam o pós-tratamento, sendo imediatamente recolocados nas câmaras e observados durante trinta minutos.

Foram avaliados durante o período de observação o número de head-twiches (movimentos repentinos com a cabeça completamente distintos da movimentação natural do comportamento exploratório do animal) e ear-scratches (ato de coçar a orelha com uma das patas traseiras).

5

Descrição dos tratamentos: SAL (solução de polissorbato 80 a 1% em salina, 1 mL/100g *i.p.*); DOI ((±)-DOI 2,5 mg/kg *i.p.*), 579 (LASSBio579 60 mg/kg *i.p.*).

Tabela 12: Efeito da pré-administração de LASSBio579 no número de head-twiches (HT) e ear-scratches (ES) induzidos por (±)-DOI. Resultados expressos em mediana e intervalos interquartis.

Pré-tratamento	Pós-tratamento	HT	ES
SAL	SAL	1,5 (0,0 - 3,0)	9,5 (6,0 - 15,0)
SAL	DOI	21,0 (16,0 - 23,8)*	100,0 (53,0 - 136,3)**
579	SAL	0,0 (0,0 - 1,0)	5,5 (2,0 - 11,0)
579	DOI	14,0 (4,0 - 19,0)	34,0 (17,0 - 53,0)

*diferença significativa em relação ao grupo SAL+SAL (Kruskal-Wallis: H=55,345 p<0,001);

**diferença significativa em relação ao grupo SAL+SAL (Kruskal-Wallis: H=47,492 p<0,001).

15

A pré-administração de haloperidol (0,5 mg/kg *i.p.*) não alterou o efeito hipotérmico da substância testada, indicando que este não estaria sendo mediado pela ativação de receptores D₂/D₃. Porém, na dose de 4 mg/kg (*i.p.*), a pré-administração de haloperidol levou a uma potenciação do efeito hipotérmico de LASSBio579 em na dose testada. Além disso, o haloperidol nesta maior dose induziu uma redução na temperatura dos animais *per se*. Este efeito hipotérmico do haloperidol bem como sua reversão pela pré-administração de agonistas de receptores 5-HT₂ são relatados na literatura (YAMADA, J.; SUGIMOTO, Y.; HORISAKA, K. Serotonin₂ (5-HT₂) receptor agonist 1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane (DOI) inhibits chlorpromazine- and haloperidol-induced hypothermia in mice. Biological and Pharmaceutical Bulletin 18 (11): 1580-3, 1995). Já é bem estabelecido o

25

envolvimento de mecanismos serotoninérgicos centrais no controle da temperatura corporal em roedores. A administração sistêmica tanto de serotonina quanto de agonistas 5-HT_{1A} levam a uma diminuição na temperatura corporal, enquanto a estimulação de receptores 5-HT_{2A/C} produz um efeito hipertérmico. Ainda é relatada a facilitação do efeito hipertérmico de agonistas 5-HT₂ pela co-administração de antagonistas 5-HT_{1A} (NASH, J.F.; MELTZER, H.Y.; GUDELSKY, G.A. Antagonism of serotonin receptor mediated neuroendocrine and temperature responses by atypical neuroleptics in the rat. *European Journal of Pharmacology* 151: 463-9, 1988; SALMI, P. & AHLENIUS, S. Evidence for functional interactions between 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} receptors in rat thermoregulatory mechanisms. *Pharmacology and Toxicology* 82: 122-7, 1998). A clozapina, que possui uma alta afinidade por receptores 5-HT₂, apresenta a capacidade de bloquear a resposta hipertérmica induzida pela administração de agonistas 5-HT₂ (NASH, J.F.; MELTZER, H.Y.; GUDELSKY, G.A. Antagonism of serotonin receptor mediated neuroendocrine and temperature responses by atypical neuroleptics in the rat. *European Journal of Pharmacology* 151: 463-9, 1988; SALMI, P.; KARLSSON, T.; AHLENIUS, S. Antagonism by SCH 23390 of clozapine-induced hypothermia in the rat. *European Journal of Pharmacology* 253: 67-73, 1994).

Os resultados aqui descritos demonstram que a administração de (±)-DOI previne a hipotermia causada por LASSBio 579, o qual, por sua vez, inibe os comportamentos estereotipados induzidos pelo (±)-DOI em camundongos, indicando que o mecanismo de ação central dos derivados N-fenilpiperazínicos, em especial o LASSBio579, está relacionado ao sistema serotoninérgico, possivelmente por bloqueio de receptores 5HT₂. Este bloqueio pode levar à estimulação da liberação de dopamina no córtex frontal. Além disso, a hipótese de ação agonista destes derivados sobre receptores 5HT_{1A} não pode ser descartada e deverá ser confirmada em experimentos posteriores.

B) Perfil Farmacocinético

1 - Determinação dos parâmetros farmacocinéticos de LASSBio581

As doses utilizadas no estudo farmacocinético com o composto LASSBio581 em ratos Wistar machos (200 a 300 g) foram de 10 mg/kg i.v. bolus (solução, n = 9), 30 mg/kg i.p. e (suspensão, n = 8) 30 mg/kg p.o. (suspensão, n = 9), sendo a administração i.v. feita na veia lateral caudal. As suspensões para administração i.p. e p.o. foram preparadas com 100 µL de tensoativo polissorbato 80 em solução fisiológica 0,9%. Para administração i.v. utilizou-se o cloridrato do composto preparado em solução de glicose a 5%. As amostras de sangue foram coletadas da veia caudal com os animais não anestesiados, em tempos pré-determinados utilizando-se frascos heparinizados. O plasma, separado por centrifugação, foi congelado a -20 °C até posterior análise por HPLC. No momento da análise, as amostras foram submetidas à precipitação de proteínas com metanol e analisadas através de metodologia validada por cromatografia líquida de alta eficiência (TASSO, L. *et al.* Validated HPLC method for determination of LASSBio581, a new heterocyclic N-phenylpiperazine derivative, in rat plasma. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2003 (*aceito para publicação em julho de 2003*). Esta metodologia validada poderá ser aplicada na determinação dos outros componentes da série em amostras biológicas.

Dos perfis de concentração plasmática total por tempo foram determinados os parâmetros farmacocinéticos do composto LASSBio581, utilizando abordagem não-compartimental (GIBALDI, M. e PERRIER, D. *Pharmacokinetics*. 2ª ed. New York: Marcel Dekker, 1982), com auxílio do programa de computador Excel® 2000 (Microsoft).

A Tabela 11 mostra os resultados dos parâmetros farmacocinéticos obtidos para as três doses investigadas. As Figuras 1 e 2 mostram os perfis plasmáticos médios obtidos após a administração da dose de 10 mg/kg i.v. e da dose de 30 mg/kg i.p. e p.o., respectivamente.

Tabela 13. Parâmetros farmacocinéticos obtidos por análise não-compartimental dos perfis de concentração plasmática individuais após a administração do composto LASSBio581 nas doses de 10 mg/kg i.v. (n = 9), 30 mg/kg i.p. (n = 8) e 30 mg/kg p.o. (n = 9) a ratos Wistar machos (média \pm dp)

Parâmetros	10 mg/kg i.v.	30 mg/kg i.p.	30 mg/kg p.o.
k_e (h^{-1})	0,61 \pm 0,19*	0,14 \pm 0,06	0,19 \pm 0,09
$t_{1/2}$ (h)	1,2 \pm 0,4*	5,8 \pm 2,3	4,6 \pm 2,7
$V_{d_{ss}}$ (L/kg)	0,8 \pm 0,4*	4,4 \pm 0,9	3,2 \pm 1,4
CL_{tot} (L/h/kg)	0,6 \pm 0,2	0,7 \pm 0,4	0,6 \pm 0,2
MRT (h)	1,3 \pm 0,5*	7,5 \pm 2,8	5,8 \pm 2,8
ASC $0-\infty$ (μ g/mL/h)	18,0 \pm 9,0*	26,5 \pm 13,2**	13,0 \pm 3,9
Biodisponibilidade (%)	-----	49	24

* diferença significativa em relação às outras doses para $p < 0.05$.

** diferença significativa em relação à dose de 30 mg/kg p.o. para $p < 0.05$.

Os resultados mostram que não há diferença significativa nos parâmetros farmacocinéticos (volume de distribuição, depuração ou *clearance* e tempo de meia-vida) determinados a partir dos dados de administração oral e intraperitoneal. A administração i.v. resultou em um volume de distribuição significativamente inferior ao observado para as outras vias, levando a significativa redução da meia-vida de eliminação do fármaco. Como os níveis plasmáticos obtidos após a dose i.v. foram muito superiores aos observados após as doses não sistêmicas, pode-se supor que o composto se distribuiu do leito vascular para os espaços intersticiais por transporte ativo, o qual é saturado com concentrações elevadas, fazendo com que uma maior quantidade do composto no sangue, reduzindo o volume aparente de distribuição do mesmo.

Os resultados mostraram que a biodisponibilidade do composto administrado por via oral é 24% e, quando sua administração é feita pela via i.p., a biodisponibilidade relativa é dobrada (49%). Estes resultados indicam possível efeito de primeira passagem (metabolização pré-sistêmica) do composto. Como a biodisponibilidade p.o. é a metade da observada pela via i.p., outros mecanismos de perda da dose administrada devem estar presentes na administração p.o.

2 - Ligação a Proteínas Plasmáticas (WRIGHT, J.D.; BOUDINOT, F.D.; UJHELYI, M.R. Measurement and analysis of unbound drug concentrations. *Clinical Pharmacokinetics*, v. 30, n. 6, p. 445-462, 1996)

A ligação do composto LASSBio581 a proteínas plasmáticas foi determinada por ultrafiltração em ULTRAFREE (Millipore®) para diferentes concentrações na faixa de 5,0 a 40,0 µg/mL. Aliquotas de plasma e ultrafiltrado, depois de processadas, foram analisadas por HPLC. O experimento foi realizado em duplicata.

A fração livre no plasma f_U , foi calculada a partir da seguinte equação:

$$f_U = \frac{C_U}{C_T}$$

onde:

C_U é a concentração não ligada a proteínas; e

C_T é a concentração plasmática total

15

A afinidade do composto LASSBio581 pela membrana de filtração foi investigada utilizando-se a mesma metodologia empregada com as amostras de plasma, contudo utilizando solução aquosa do composto nas concentrações de 20,0 e 40,0 µg/mL.

A fração livre do composto LASSBio581 no plasma de ratos foi de $29 \pm 4\%$, não sendo observada ligação concentração dependente na faixa de concentração investigada.

A ligação do composto LASSBio581 às membranas dos filtros utilizados na ultrafiltração foi de 20%, tanto para concentração de 20,0 µg/mL quanto para a de 40,0 µg/mL. Deste modo, o resultado da fração livre do composto LASSBio-581 em plasma correspondeu à fração livre determinada, acrescida da fração aderida na membrana de filtração.

25

3 - Distribuição Tecidual do LASSBio-581 (NIX, D.E. *et al.* Antibiotic tissue penetration and its relevance: models of tissue penetration and their meaning. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 35, n. 10, p.1947-1952, 1991)

O estudo de distribuição tecidual do composto LASSBio-581 foi realizado com a administração intravenosa *bolus* da dose de 10 mg/kg a um grupo de 15 ratos Wistar machos (225 a 275 g). Três animais foram sacrificados a cada tempo pré-determinado (15, 30, 45, 60, 120 e 240 min) e foram removidos o cérebro, o fígado, o coração, os pulmões, o baço e os rins. Os órgãos excisados foram cuidadosamente secos em papel absorvente, a fim de retirar o excesso de sangue superficial. Em seguida, os mesmos foram colocados em envelopes de papel alumínio e pesados. As amostras foram congeladas em nitrogênio líquido a $-193\text{ }^{\circ}\text{C}$ até análise, que ocorreu em tempo não superior a 7 dias. Para análise, os órgãos foram pesados e homogeneizados em solução salina com auxílio de um homogeneizador de tecidos (PowerGen 125). Após precipitação das proteínas de alíquotas do homogeneizado, procedeu-se à determinação do composto por HPLC utilizando metodologia previamente validada.

Os resultados da avaliação da penetração tecidual do LASSBio581 podem ser visualizados na Tabela 12. Os perfis médios teciduais podem ser observados na Figura 3.

Tabela 14. Parâmetros farmacocinéticos teciduais do composto LASSBio581 após a administração de 10 mg/kg i.v. *bolus* a ratos machos Wistar (n = 15).

Tecido	$ASC_{0-\infty}$ ($\mu\text{g}\cdot\text{h/g}$)	t_{max} (h)	C_{max} ($\mu\text{g/g}$)	$t_{1/2}^a$ (h)	$MRT_{0-\infty}$ (h)	f tecidual relativa ^b (%)
Cérebro	3,85	0,75	3,01	1,9	2,49	39,2
Coração	1,80 ^c	0,75	4,00	NC	NC	24,8 ^d
Fígado	3,41	0,75	5,49	0,6	0,80	34,7
Rins	2,00 ^c	0,75	4,33	NC	NC	27,7 ^d
Baço	2,01	0,75	3,20	0,6	0,86	20,5
Pulmões	5,00	0,75	8,46	0,6	0,99	51,0

25 NC = não calculado devido à insuficiência de pontos amostrais;

^a calculado a partir da inclinação da fase de eliminação;

^b fração tecidual relativa calculada como $(ASC_{0-\infty} \text{tecidual} / ASC_{0-\infty} \text{plasmática}) \cdot 100$;

^c ASC_{0-t} , onde $t = 1$ h;

^d calculada como $(ASC_{0-t} \text{tecidual} / ASC_{0-t} \text{plasmática}) \cdot 100$;

5

Os resultados mostraram que o composto LASSBio581 apresenta um tempo de meia-vida médio em torno de três vezes superior no cérebro do que nos outros tecidos investigados, com uma penetração tecidual, determinada pela fração tecidual relativa, maior no pulmão (51,0 %), seguido do cérebro (39,2 %) e do fígado (34,7 %).

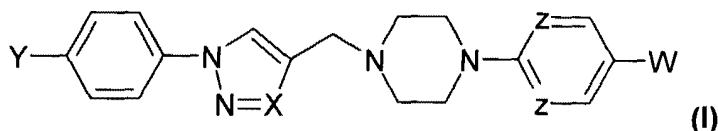
Sabe-se que a presença de sangue nos diferentes órgãos influencia nos resultados de penetração tecidual utilizando homogeneizados de tecido. Foi demonstrado que o maior % de sangue por tecido (p/p) é observado no pulmão, seguido do fígado e do rim. O cérebro, porém, apresenta o menor percentual sangüíneo/grama de tecido, considerando ratos pesando entre 225-275 gramas (TRIPLET, J.W. *et al.* Determination of gallium concentration in blood free tissues using radiolabelled blood marker. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 74, n. 9, p. 107-1009, 1985), mesma faixa de peso utilizado em nossos estudos. Portanto, a quantidade de sangue presente no pulmão e no fígado dos animais envolvidos neste trabalho pode ter contribuído para elevar as concentrações do composto LASSBio581 nestes locais, tendo o cérebro sofrido a menor influência por contaminação sangüínea nas análises realizadas. Considerando o exposto, os resultados mostram que o composto LASSBio-581 tem penetração cerebral importante, permanecendo por mais tempo neste tecido. Estes resultados corroboram os obtidos nos estudos farmacodinâmicos realizados.

Reivindicações

USO DE DERIVADOS N-FENILPIPERAZÍNICOS E COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO OS MESMOS

5

- 1- Derivados N-fenilpiperazínicos, caracterizados por apresentar fórmula geral (I):



10

onde:

X e Z correspondem, independentemente, a N ou CH.

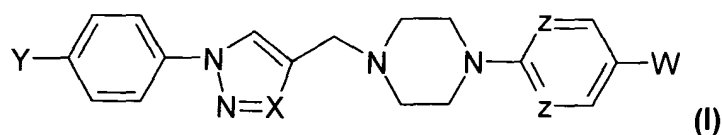
Y e W correspondem, independentemente, a H, F, Cl, Br, I, OH, OMe, OCF₃, NO₂, NH₂, NHAc, N(CH₃)₂, SO₂NH₂, SO₂Me, C₁-C₃ alquila, fenila; ou sais farmacologicamente aceitáveis dos mesmos.

15

- 2- Derivados N-fenilpiperazínicos, de acordo com a reivindicação 1, caracterizados por ser 1-[1-(4-clorofenil)-1H-pirazol-4-ilmetil]-4-fenilpiperazina ou sais farmacologicamente aceitáveis do mesmo.
- 3- Derivados N-fenilpiperazínicos, de acordo com a reivindicação 1, caracterizados por ser 1-[1-(4-clorofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-ilmetil]-4-fenilpiperazina ou sais farmacologicamente aceitáveis do mesmo.
- 4- Derivados N-fenilpiperazínicos, de acordo com as reivindicações 1 a 3, Derivados derivados N-fenilpiperazínicos, de acordo com a reivindicações 2 a 4, caracterizados por serem antagonistas dos receptores D₂.
- 5- Derivados N-fenilpiperazínicos, de acordo com as reivindicações 1 a 3, caracterizados por serem antagonistas de receptores serotoninérgicos.
- 6- Derivados N-fenilpiperazínicos, de acordo com a reivindicação 6, caracterizados por serem antagonistas dos receptores 5-HT₂.
- 7- Composição farmacêutica para o tratamento de doenças associadas a disfunções do sistema dopaminérgico e/ou serotoninérgico caracterizada

30

por compreender um veículo farmacologicamente aceitável e pelo menos um derivados N-fenilpiperazínico de fórmula geral (I):



5

onde:

X e Z correspondem, independentemente, a N ou CH.

Y e W correspondem, independentemente, a H, F, Cl, Br, I, OH, OMe, OCF₃, NO₂, NH₂, NHAc, N(CH₃)₂, SO₂NH₂, SO₂Me, C₁-C₃ alquila, fenila; ou sais farmacologicamente aceitáveis dos mesmos

10

8- Composição, de acordo com a reivindicação 7, caracterizada pelo fato de os referidos derivados n-fenilpiperazínicos serem antagonistas de receptores dopaminérgicos.

15

9- Composição, de acordo com a reivindicação 7 e 8, caracterizada pelo fato de os referidos derivados n-fenilpiperazínicos serem antagonistas dos receptores D₂.

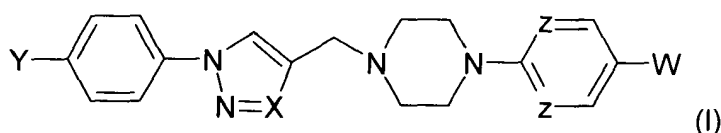
10-Composição, de acordo com a reivindicação 7, caracterizada pelo fato de os referidos derivados n-fenilpiperazínicos serem antagonistas de receptores serotoninérgicos.

20

11-Composição, de acordo com a reivindicação 7 e 10, caracterizada pelo fato de os referidos derivados n-fenilpiperazínicos serem antagonistas dos receptores 5-HT₂.

25

12- Uso na preparação de um medicamento destinado ao tratamento de doenças associadas a disfunções do sistema dopaminérgico e/ou serotoninérgico de uma substância caracterizada por possuir estrutura de acordo com a fórmula geral (I):



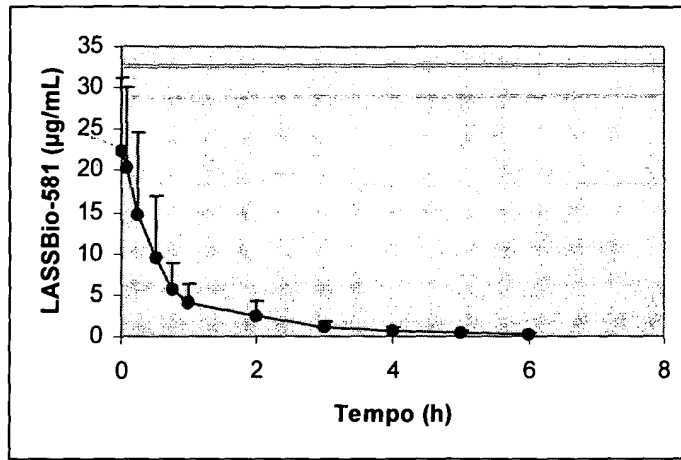
onde:

X e Z correspondem, independentemente, a N ou CH.



Y e W correspondem, independentemente, a H, F, Cl, Br, I, OH, OMe, OCF₃, NO₂, NH₂, NHAc, N(CH₃)₂, SO₂NH₂, SO₂Me, C₁-C₃ alquila, fenila; ou seus sais, derivados e/ou solvatos farmacologicamente aceitáveis.

- 5 13- Uso, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pela disfunção do sistema dopaminérgico compreender a disfunção erétil.
- 14- Uso, de acordo com a reivindicação 12, caracterizado pela disfunção do sistema serotoninérgico compreender esquizofrenia e/ou distúrbios afetivos.



5

Figura 1

10

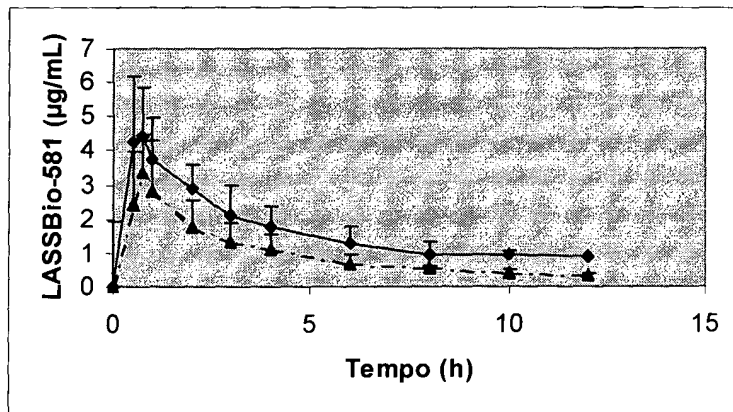
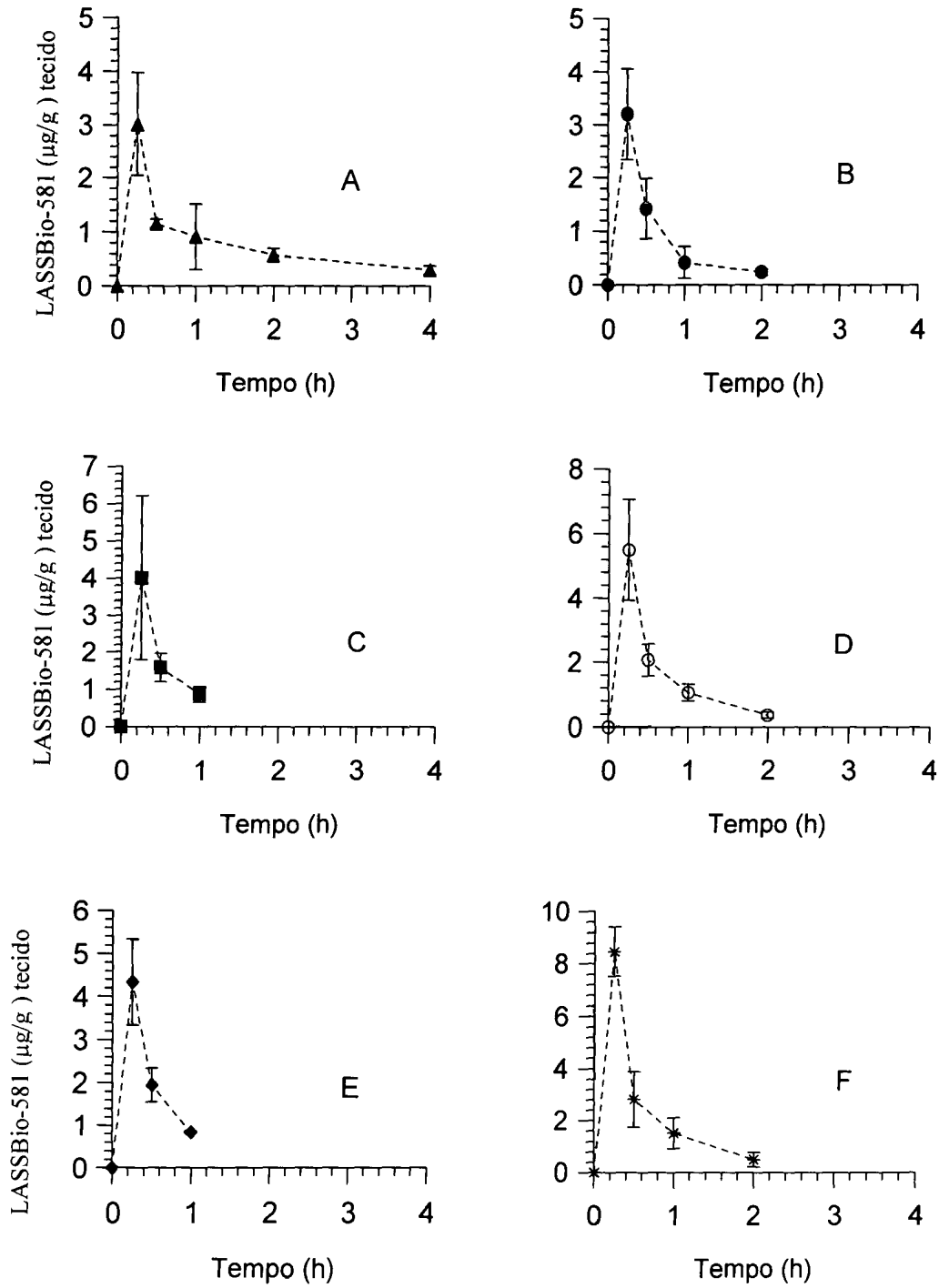


Figura 2

15



5

Figura 3

5

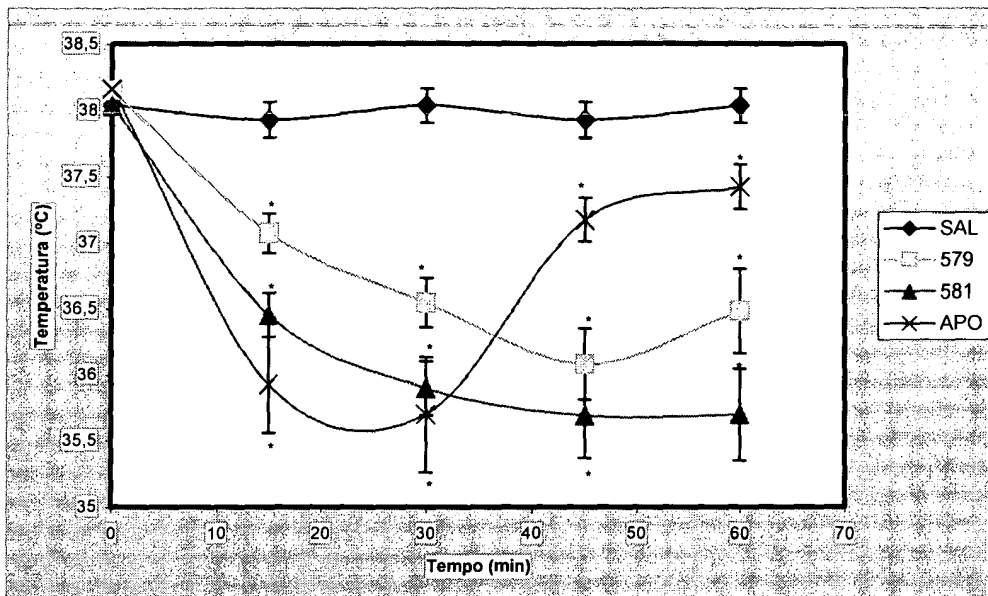


Figura 4

Resumo**// USO DE DERIVADOS N-FENILPIPERAZÍNICOS E
COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS CONTENDO OS MESMOS //**

5

A presente invenção proporciona novos derivados N-fenilpiperazínicos e composições farmacêuticas compreendendo os mesmos, sendo estes novos derivados estruturais da clozapina capazes de atuar em vias dopaminérgicas e/ou serotoninérgicas de ação central; estes compostos demonstraram-se úteis no tratamento de disfunção erétil e também úteis como antipsicóticos, com as vantagens de não acarretarem os efeitos colaterais típicos da clozapina; proporcionarem menor incidência de catatonia quando comparados com outro agente antipsicótico, o haloperidol, e não apresentarem efeito depressor do sistema nervoso central; as moléculas também apresentam efeito hipotérmico, que pode ser útil no tratamento de quadros que apresentem hipertermia.

10
15