



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

(21) BR 10 2013 022402-2 A2



(22) Data de Depósito: 02/09/2013

(43) Data da Publicação: 04/08/2015
(RPI 2326)

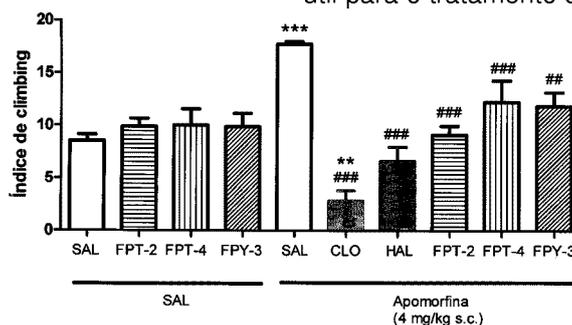
(54) Título: DERIVADOS BENZILIAZOLIDINÔNICOS ÚTEIS NO TRATAMENTO DA ESQUIZOFRENIA

(51) Int.Cl.: C07D417/06; A61K31/427; A61P25/18

(73) Titular(es): UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO, UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

(72) Inventor(es): ANDRESA HEEMANN BETTI, CARLOS ALBERTO MANSSOUR FRAGA, ELIEZER JESUS DE LACERDA BARREIRO, FRANÇOIS GERMAIN NOËL, IVAN DA ROCHA PITTA, MARIA DO CARMO ALVES DE LIMA, STELA MARIS KUZE RATES

(57) Resumo: DERIVADOS BENZILIAZOLIDINÔNICOS ÚTEIS NO TRATAMENTO DA ESQUIZOFRENIA A presente invenção descreve derivados benziltiazolidinônicos e composições farmacêuticas compreendendo os mesmos; estes compostos foram ativos em modelos animais de esquizofrenia, com as vantagens de não acarretarem em efeitos adversos típicos dos antipsicóticos, pois apresentaram menor incidência de catonia e efeito sobre a coordenação motora quando comparados com Outros agentes antipsicóticos. o haloperidol e a clozapina. e não apresentaram efeito depressor do sistema nervoso central as moléculas apresentaram efeito nos modelos de clinzbing induzido por apomorfina, na hiperlocomoção induzida por cetamina e no modelo de inibição do sobressalto por pré-pulso. FPY-3 não apresentou efeito tóxico em 14 dias de tratamento. sendo potencialmente útil para o tratamento da esquizofrenia



DERIVADOS BENZILTIAZOLIDINÔNICOS ÚTEIS NO TRATAMENTO DA ESQUIZOFRENIA

Campo da Invenção

A presente invenção se refere a moléculas ativas sobre o sistema nervoso central. Mais especificamente, as moléculas da presente invenção referem-se a derivados benziltiazolidinônicos úteis no tratamento da esquizofrenia ou de outras manifestações clínicas que requeiram o uso de antipsicóticos.

Antecedentes da Invenção

A esquizofrenia tem sido descrita como “a pior doença que afeta a humanidade”, devido à multiplicidade de sintomas e a permanência dos mesmos ao longo da vida do paciente (TANDON *et al.*, 2008). Ela é um transtorno psiquiátrico crônico e incapacitante, uma doença de natureza complexa, com manifestações múltiplas e quadros variados e a mais importante das psicoses. Cerca de 1% da população desenvolve esta doença ao longo da vida, sendo a incidência semelhante em homens e mulheres. É uma das formas mais importantes de doença psiquiátrica, uma vez que afeta pessoas jovens. Além disso, estudos mostram que pacientes esquizofrênicos apresentam uma taxa de mortalidade duas vezes maior do que a população em geral, pela maior prevalência e gravidade das condições clínicas (CRISMON E DORSON, 1997; GRAEFF *et al.*, 1999; RANG *et al.*, 2004; ELKIS *et al.*, 2008).

Essa doença psiquiátrica com frequência começa na adolescência ou na vida adulta jovem, podendo seguir um curso de recidivas ou tornar-se crônica e progressiva, particularmente nos casos em que o início é tardio. A esquizofrenia crônica é usada para justificar a permanência de muitos pacientes em hospitais psiquiátricos por longo tempo. Nos Estados Unidos, são hospitalizados anualmente 87 mil pacientes para o tratamento de esquizofrenia. Essas hospitalizações incluem um total de aproximadamente 930 dias de hospitalização com um custo total de 806 milhões (RANG *et al.*, 2004; MARCUS E OLFSON, 2008).

Geralmente, o transtorno tem início com um episódio agudo, caracterizado por manifestações psicóticas positivas (sintomas positivos), como delírios, alucinações, fala e comportamento desorganizados e agitação motora (GRAEFF *et al.*, 1999; STAHL, 2000).

Com a progressão da doença tendem a surgir os sintomas negativos (embotamento afetivo, falta de iniciativa, isolamento social, pensamento estereotipado, anedonia, entre outros) e cognitivos (falta de atenção e concentração, problemas de memória e aprendizagem, fluência verbal comprometida). Neste estágio, quando não tratados, os pacientes ficam cada vez mais deteriorados, podendo desenvolver um quadro de demência grave (GRAEFF *et al.*, 1999; TSAI E COYLE, 2002).

Neurobiologia da esquizofrenia

Teorias neuroquímicas

Esquizofrenia e as hipóteses dopaminérgica e glutamatérgica

A teoria dopaminérgica foi proposta por Carlsson, ganhador do Prêmio Nobel em 2000, com base na evidência farmacológica indireta em seres humanos e em animais de experimentação (RANG *et al.*, 2004). A hipótese dopaminérgica clássica da esquizofrenia postula que os sintomas positivos da doença sejam secundários a uma hiperatividade dopaminérgica subcortical ou, mais precisamente, mediados pelos receptores dopaminérgicos do tipo D₂ da via dopaminérgica mesolímbica (LARUELLE *et al.*, 1996; ABI-DARGHAM *et al.*, 1998, 2000; ABI-DARGHAM, 2004; ABI-DARGHAM E LARUELLE, 2005). Esta hipótese é sustentada pelos fatos de agonistas dopaminérgicos do tipo D₂ em uso continuado induzirem sintomas similares aos positivos esquizofrênicos e de que toda medicação efetiva como antipsicótica, necessariamente, bloqueia, em algum grau, esses receptores (ABI-DARGHAM, 2004; ABI-DARGHAM E LARUELLE, 2005). A hipótese dopaminérgica para a esquizofrenia atribui também um prejuízo na atividade da via dopaminérgica mesocortical (KNABLE E WEINBERGER, 1997; DAVIS *et al.*, 1991), havendo, neste caso, uma hipoatividade desta via envolvendo o receptor dopaminérgico do tipo D₁ no córtex pré-frontal (ABI-DARGHAM, 2004). Esta hipofunção dopaminérgica estaria relacionada com os sintomas negativos e cognitivos vistos na doença (KNABLE E WEINBERGER, 1997; DAVIS *et al.*, 1991; GOLDMAN-RAKIC *et al.*, 2004), e tem sido corroborada por estudos em humanos e em animais mostrando que a depleção dopaminérgica no córtex pré-frontal causa sintomas semelhantes, bem como pela

verificação de que os receptores dopaminérgicos D₁ encontram-se aumentados nessa região de pacientes esquizofrênicos (KNABLE E WEINBERGER, 1997; DAVIS *et al.*, 1991; ABI-DARGHAM *et al.*, 2002; GOLDMAN-RAKIC *et al.*, 2004). Assim, acredita-se que um déficit de atividade dopaminérgica cortical e um aumento de
5 atividade dopaminérgica subcortical coexistam na doença (ABI-DARGHAM, 2004; ABI-DARGHAM E LARUELLE, 2005). Esta coexistência é explicada pelo fato das transmissões dopaminérgica dos sistemas mesocortical e mesolímbico serem reguladas por circuitos neuronais complexos que incluem sinapses glutamatérgicas e GABAérgicas, interagindo entre si indiretamente (ABI-DARGHAM, 2004). Tal
10 interação é evidenciada por diversos estudos realizados em animais, mostrando que manipulações que diminuem a atividade dopaminérgica no córtex pré-frontal geram um aumento na atividade das vias dopaminérgicas subcorticais, tanto a espontânea quanto aquela induzida por anfetamina ou apomorfina (PYCOCK *et al.*, 1980; DAVIS *et al.*, 1991). Contudo, diversos trabalhos têm oferecido evidências de que uma disfunção da
15 transmissão glutamatérgica envolvendo os receptores NMDA está associada à esquizofrenia (BRESSAN E PILOWSKY, 2003; GOFF E COYLE, 2001; COYLE *et al.*, 2003; ABI-DARGHAM E LARUELLE, 2005).

De fato, é sabido que antagonistas de receptores NMDA, como a fenciclidina e a cetamina, são capazes de induzir tanto os sintomas positivos como os negativos e
20 cognitivos da doença em sujeitos hígidos, bem como em pacientes esquizofrênicos (KRYSTAL *et al.*, 1994; LAHTI *et al.*, 1995).

Ainda, há evidências sugerindo que a desregulação dopaminérgica encontrada na esquizofrenia pode ser secundária a um déficit na função do receptor glutamatérgico do tipo NMDA (JENTSCH E ROTH 1999).

25 Antagonistas do receptor NMDA, como fenciclidina, produzem sintomas psicóticos (alucinações, distúrbios do pensamento) em seres humanos; foi também relatado haver redução das concentrações de glutamato e do número de receptores glutamatérgicos em cérebros *postmortem* de esquizofrênicos (RANG *et al.*, 2004). Novos antipsicóticos agonistas de receptores metabotrópicos pré-sinápticos de
30 glutamato do tipo R2 e R3 (mGluR2/3) atuam modulando diretamente a liberação de

glutamato. O composto LY2140023, em ensaio clínico de fase II/III, foi comparada com olanzapina (Zyprexa®), demonstrando eficácia um pouco menor para reduzir os sintomas positivos, mas os pacientes não ganharam peso, ao contrário, perderam em média 0,5 kg, indicando que agonistas destes mGluRs podem representar um avanço na
5 pesquisa por antipsicóticos com melhor tolerabilidade. O mecanismo de ação dos agonistas de mGluRs ainda não está completamente elucidado. Por um lado, agonistas mGluR2/3 inibem a liberação de dopamina, demonstrando haver uma interconectividade funcional das vias glutamatérgicas e dopaminérgicas, sendo portanto possível que agonistas mGluR2/3 tenham como alvo final o mecanismo convencional
10 de antagonismo dos receptores dopaminérgicos do tipo D₂. Por outro lado, os receptores mGluR2/3 podem formar um complexo com receptores 5-HT_{2A}, sugerindo que a ativação destes receptores glutamatérgicos poderia regular a sinalização serotoninérgica (SNYDER E MURPHY, 2008).

Uma desregulação dopaminérgica também causa alterações na transmissão glutamatérgica, uma vez que aferências glutamatérgicas corticais e projeções dopaminérgicas convergem em sinapses envolvendo neurônios GABAérgicos no estriado (KOTTER, 1994; CEPEDA E LEVINE, 1998). De uma maneira geral, mostrou-se que os receptores D₁ e D₂ apresentam papéis antagônicos em relação à transmissão glutamatérgica, via receptor NMDA, no estriado (CEPEDA E LEVINE,
15 1998; ABI-DARGHAM E LARUELLE, 2005). A estimulação dos receptores D₂ inibe a transmissão glutamatérgica por receptor NMDA, enquanto que a dos receptores D₁ a favorece (CEPEDA E LEVINE, 1998; ABI-DARGHAM E LARUELLE, 2005). Assim, tanto as interações glutamato/dopamina quanto dopamina/glutamato parecem ser relevantes para a fisiopatologia da doença.

25 As primeiras formas de tratamento da esquizofrenia introduzidas na prática médica foram o eletrochoque, a lobotomia e o choque insulínico, mas foram logo desacreditadas (SWAYZE, 1995; TANDON *et al.*, 2010). O tratamento farmacológico deste distúrbio teve início somente na década de 50, com a descoberta acidental dos efeitos da clorpromazina (TANDON *et al.*, 2010). Posteriormente, diversos outros
30 compostos com propriedades farmacológicas semelhantes foram desenvolvidos, dando

origem à classe dos neurolépticos, antipsicóticos típicos ou, ainda, antipsicóticos de primeira geração.

Os antipsicóticos típicos podem ser divididos em três principais classes químicas: os fenotiazínicos (sendo a clorpromazina o principal fármaco), os tioxantênicos (clorprotixeno) e as butirofenonas (haloperidol). Três destes agentes (clorpromazina, flufenazina e haloperidol) ainda constam na lista de medicamentos essenciais da Organização Mundial da Saúde (WHO, 2009).

Os antipsicóticos típicos diferem-se quanto à potência, farmacocinética e perfil de efeitos adversos. Centenas de ensaios clínicos demonstram que os antipsicóticos típicos 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 sintomas positivos da esquizofrenia, são pouco eficazes no alívio dos sintomas negativos e cognitivos, além de um percentual de pacientes (chamados refratários) responderem pouco ou nada a estes medicamentos (GRAEFF *et al.*, 1999; BALDESSARINI E TARAZI, 2001; GARDNER *et al.*, 2005).

Além disso, estes antipsicóticos de primeira geração apresentam uma gama de importantes efeitos adversos. Os chamados efeitos extrapiramidais estão diretamente ligados ao excesso de bloqueio dos receptores dopaminérgicos D₂ na via nigro estriatal. Os pacientes podem apresentar quadros de distonia muscular, acatisia, podendo desenvolver Parkinson farmacológico e, com a extensão do tratamento, discinesia tardia. O aparecimento destes sintomas é a principal causa de abandono do tratamento por parte dos pacientes. O bloqueio de receptores dopaminérgicos na via tuberoinfundibular acarreta num aumento dos níveis séricos de prolactina, com conseqüente aumento do tamanho e sensibilidade das glândulas mamárias, diminuição da libido, amenorréia e galactorréia (CRISMON E DORSON, 1997; GRAEFF *et al.*, 1999; BALDESSARINI E TARAZI, 2001; GARDNER *et al.*, 2005).

A procura de substâncias que superassem as limitações dos fármacos típicos existentes no mercado conduziu ao desenvolvimento da clozapina, em 1971, primeiro

fármaco dos chamados antipsicóticos atípicos ou de segunda geração para os quais não existe uma definição universal. A conceituação mais simples utiliza apenas um critério de inclusão: produzir o efeito antipsicótico na maioria dos pacientes em 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 séricos de prolactina e/ou um mecanismo de ação que envolveria mais de um receptor.

Os principais representantes deste grupo são clozapina, olanzapina, quetiapina, risperidona, ziprasidona e aripiprazol. Todos eles se caracterizam por apresentar uma afinidade para vários receptores (mecanismo de ação multireceptor), envolvendo a ligação tanto a receptores dopaminérgicos (especialmente D₂) quanto serotoninérgicos (5-HT₂ e/ou 5-HT_{1A}) (CRISMON E DORSON, 1997; GRAEFF *et al.*, 1999; BALDESSARINI E TARAZI, 2001; HIROSE *et al.*, 2004; FARAH, 2005; GARDNER *et al.*, 2005; YAGCIOGLU, 2007).

Na realidade, ainda não se sabe exatamente qual o mecanismo de ação responsável pela diferença clínica vista entre antipsicóticos típicos e atípicos. Há na literatura diversas teorias para tentar explicar o mecanismo responsável pela atipicalidade. Muitas destas teorias postulam que o perfil atípico é secundário a interações que estes fármacos exerceriam em outros receptores dopaminérgicos que não o D₂ (isto é, em D₁, D₃, D₄), ou mesmo da relação de potência de bloqueio entre eles (por exemplo, D₄/D₂, D₁/D₂) (SEEMAN *et al.*, 1997; STRANGE, 2001; TAUSCHER *et al.*, 2004). Outras teorias afirmam que o perfil atípico é secundário à ação dos fármacos em receptores não dopaminérgicos, em especial os receptores 5-HT_{2A}, ou mesmo dependeria de uma boa relação de potência para o bloqueio dos receptores 5-HT_{2A}/D₂ (MELTZER *et al.*, 2003). Há também teorias que afirmam que a atipicalidade é secundária a bloqueios dopaminérgicos seletivos no SNC, ou seja, alguns fármacos apresentariam maior propensão a bloquear zonas límbicas do que estriatais (PILOWSKY *et al.*, 1997; STRANGE, 2001; BRESSAN *et al.*, 2003). Outra teoria mantém o receptor D₂ como alvo chave dos antipsicóticos sem precisar invocar atividade em outros receptores, sendo que a diferença entre atípicos e típicos se dá pelo

fato dos primeiros se desligarem rapidamente do receptor (rápida dissociação). Desta forma, os antipsicóticos atípicos seriam facilmente deslocados dos receptores quando a dopamina endógena for liberada o que permitiria uma transmissão neuronal mais normal no cérebro de paciente (KAPUR E SEEMAN, 2001).

5 Os antipsicóticos atípicos são, atualmente, preconizados como tratamento de primeira linha na esquizofrenia. Em função das grandes diferenças observadas no que diz respeito tanto à eficácia quanto aos efeitos adversos (LEUCHT *et al.*, 2009; TANDON *et al.*, 2008), estes fármacos devem ser avaliados individualmente na hora da prescrição e não como uma classe homogênea.

10 A clozapina apresenta melhora tanto de sintomas positivos como negativos e 60% dos pacientes que não respondem ao tratamento com antipsicóticos típicos podem apresentar melhora com o seu uso, razão pela qual é o fármaco de escolha em caso de refratariedade aos tratamentos mais clássicos. Em relação ao seu mecanismo de ação, ainda discutido, a clozapina apresenta maior afinidade para os receptores serotoninérgicos do tipo 5-HT₂ do que para os receptores dopaminérgicos D₂-like, sendo que sua afinidade para o subtipo D₄ é um pouco maior do que para o D₂. 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 (aproximadamente 1%), o uso deste fármaco é restrito na prática clínica a casos refratários aos tratamentos convencionais (CRISMON E DORSON, 1997; GRAEFF *et al.*, 1999; FARAH, 2005; GARDNER *et al.*, 2005; ELKIS E MELTZER, 2007).

25 Os outros antipsicóticos atípicos também apresentam efeitos adversos limitantes de sua utilização terapêutica. A utilização crônica de olanzapina, quetiapina (e risperidona), assim como da clozapina, está associada ao aumento de peso e um aumento da propensão à indução de diabetes tipo II. Essas alterações metabólicas aumentam significativamente o risco de morte por doença cardiovascular, que já é a principal causa de mortalidade dos pacientes com esquizofrenia. Os distúrbios metabólicos associados aos antipsicóticos atípicos são, portanto, um desafio atual para os psiquiatras no dia-a-dia (ELKIS *et al.*, 2008). Já o tratamento com risperidona (+

ziprasidona e olanzapina) pode levar ao desenvolvimento de efeitos extrapiramidais com o aumento da dose (OWENS, 1996; FARAH, 2005).

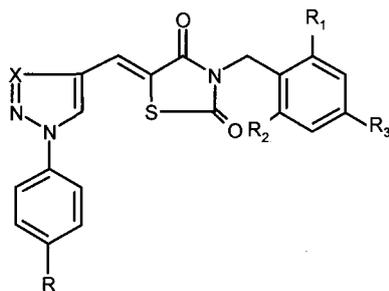
O aripiprazol, às vezes chamado de antipsicótico de terceira geração, possui um perfil de efeitos adversos caracterizado por menor ganho de peso quando comparado aos outros antipsicóticos (junto com a ziprasidona), pouca sedação e ausência de elevação de prolactina. A particularidade do seu mecanismo de ação residiria no fato de atuar como agonista parcial nos receptores D₂ ou de apresentar seletividade funcional neste receptor (MAILMAN e MURTHY, 2010). Além disso, apresenta atividade agonista parcial nos receptores 5HT_{1A} e antagonismo em receptores 5HT_{2A}. Entretanto, seu custo elevado exige apoio governamental para que a população menos favorecida possa utilizá-lo (MAMO *et al.*, 2007).

Uma das alternativas atualmente propostas para o tratamento da esquizofrenia são os agonistas de receptores metabotrópicos de glutamato do tipo R2/R3 (mGluR2/3) que, além de parecerem mais seguros que os antipsicóticos atípicos atuais, poderiam apresentar uma melhora de cognição e uma melhor tolerabilidade.

Dados do estudo Clinical Antipsychotic Trials of Intervention Effectiveness (CATIE) financiado pelo NIH indicam que 74% dos pacientes abandonam o tratamento em 18 meses quer seja em função da baixa tolerabilidade ou da eficácia incompleta (LIEBERMAN *et al.*, 2005), uma das razões pela qual há necessidade de novos fármacos antipsicóticos.

Sumário da Invenção

É um objeto da presente invenção compostos benziltiazolidinônicos de fórmula molecular (I)



(I)

ativos em modelos animais preditivos de atividade antipsicótica: inibição de *climbing* induzido por apomorfina em camundongos e inibição da hiperlocomoção induzida por cetamina. É, portanto, um objeto da presente invenção proporcionar moléculas úteis no tratamento da esquizofrenia ou de outras manifestações clínicas que requeiram o uso de antipsicóticos e composições farmacêuticas contendo as mesmas.

É um objeto da presente invenção, compostos benziltiazolidinônicos de fórmula molecular (I) não induziram catatonia em camundongos e não causarem comprometimento motor quando comparadas aos antipsicóticos típico, haloperidol, e atípico, clozapina. É, portanto, outro objeto da presente invenção proporcionar moléculas e composições farmacêuticas contendo as mesmas que não induzam efeitos extrapiramidais, comuns a outros antipsicóticos, especialmente os típicos.

É um objeto da presente invenção, compostos benziltiazolidinônicos de fórmula molecular (I) que não potenciaram o tempo de sono barbitúrico, em camundongos. É, portanto, outro objeto da presente invenção proporcionar moléculas e composições farmacêuticas contendo as mesmas, que não acarretem nos efeitos sedativos típicos de outros neurolépticos, como o haloperidol, e atípicos, como a clozapina.

É um objeto da presente invenção, compostos benziltiazolidinônicos de fórmula molecular (I) capazes de prevenir a hiperlocomoção induzida por cetamina, em doses que *per si* que não afetem a locomoção, e de prevenir prejuízo induzido pelo agonista serotoninérgico (\pm)-DOI na inibição de sobressalto por pré-pulso, em camundongos. É, portanto, outro objeto da presente invenção proporcionar moléculas e composições farmacêuticas contendo as mesmas que apresentem um perfil de antipsicótico atípico.

É um objeto da presente invenção, compostos benziltiazolidinônicos de fórmula molecular (I) não apresentarem toxicidade quando administradas a camundongos por 14 dias nas doses de 15 e 30 mg/kg, v.o.. É, portanto, outro objeto da presente invenção proporcionar moléculas e composições farmacêuticas contendo as mesmas que apresentem baixo potencial tóxico.

Breve Descrição das Figuras

Figura 1 - mostra o efeito de FPT-2, FPT-4 e FPY-3 (30 mg/kg, n=10), no modelo de escalada induzido por apomorfina em camundongos. Tratamentos: HAL (haloperidol 0,5 mg/kg, v.o.); CLO (clozapine 15 mg/kg, v.o.); Veículo (solução salina + 1% polissorbato); Apomorfina (4 mg/kg, s.c.). O parâmetro avaliado foi o índice de climbing. Resultados expressos em média \pm erro padrão. ANOVA *post hoc* Student-Newman-Keuls. Diferença significativa em relação ao grupo Veículo+Veículo **p<0,01 ***p<0,001. Diferença significativa em relação ao grupo Veículo+Apomorfina ##p<0,01; ###p<0,001.

Figura 2 - mostra o efeito de FPY-3 (5, 15 e 30 mg/kg, v.o.) no modelo de escalada induzida por apomorfina em camundongos. O parâmetro observado foi o índice de climbing. Tratamentos v.o.: Veículo (salina + polissorbato 80 1% 1 mL/100g, n=10), HAL (haloperidol 0,5 mg/kg, n=10), CLO (clozapina 15 mg/kg, n=8). Tratamentos s.c.: Veículo (salina + vitamina C 1mg/mL), Apomorfina (apomorfina 4 mg/kg). Resultados expressos em média \pm erro padrão. ANOVA *post hoc* Student Newman Keuls: Diferença significativa em relação ao grupo Veículo+Veículo *p<0,05 ***p<0,05. Diferença significativa em relação ao grupo Veículo+Apomorfina #p<0,05 ###p<0,001.

Figura 3 - mostra o efeito de diferentes doses de FPY-3 (1, 5 e 15 mg/kg, v.o. no teste de hiperlocomoção induzida por cetamina, em camundongos. Tratamentos: HAL (haloperidol 0,01 mg/kg,v.o.), CLO (clozapine (1 mg/kg, v.o.), Cetamina (10 mg/kg, s.c.). Resultados expressos em média \pm erro padrão. ANOVA *post hoc* Student-Newman-Keuls. Diferença significativa em relação ao grupo Veículo+Veículo **p<0,01; ***p<0,001. Diferença significativa em relação ao grupo Veículo+Cetamina #p<0,05 ###p<0,001.

Figura 4 - mostra o efeito de FPY-3 (15 mg/kg, v.o.) no teste de inibição de sobressalto por pré-pulso, em camundongos, onde os agentes inibidores deste processo são a apomorfina, o (\pm)-DOI e a cetamina. Tratamentos: HAL (haloperidol 0,5 mg/kg,v.o.), CLO (clozapine (15 mg/kg, v.o.), apomorfina (3 mg/kg, s.c.), (\pm)-DOI (0,5 mg/kg, s.c.), cetamina (30 mg/kg, s.c.). Resultados expressos em média \pm erro padrão. ANOVA *post hoc* Student-Newman-Keuls. Diferença significativa em relação ao grupo Veículo+Veículo *p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001. Diferença significativa em relação ao

grupo Veículo+Apomorfina ou Veículo+DOI ou Veículo+Cetamina [#]p<0,05 ^{##}p<0,01 ^{###}p<0,001.

Figura 5 - mostra o controle de ganho de massa corporal durante 14 dias dos camundongos tratados agudamente com FPY-3 (2000 mg/kg, v.o.) (n=3).

- 5 **Figura 6** - mostra o controle de ganho de massa corporal durante 14 dias dos camundongos tratados diariamente com FPY-3 (15 e 30 mg/kg, v.o.) ou veículo (n=6). Diferença significativa em relação ao grupo Veículo *p<0,05.

Figura 7 - mostra a estrutura química dos compostos sintetizados: 3-(4-cloro-benzil)-5-[3-(4-cloro-fenil)-3*H*-[1,2,3]triazol-4-ilmetileno]-tiazolidina-2,4-diona FPT-2, 3-(2-cloro-6-fluoro-benzil)-5-[3-(4-cloro-fenil)-3*H*-[1,2,3]triazol-4-ilmetileno]-tiazolidina-2,4-diona FPT-4 e 3-(2-cloro-6-fluoro-benzil)-5-(1-fenil-1*H*-pirazol-4-ilmetileno)-tiazolidina-2,4-diona FPY-3.

10

Esquema 1 - Esquema de doses para avaliação da toxicidade oral aguda, iniciando pela dose de 2000 mg/kg, segundo OECH.

15 **Descrição Detalhada da Invenção**

Os exemplos descritos a seguir não têm a intenção de limitar o escopo da presente invenção, mas apenas de mostrar uma das formas de concretizá-la.

Preparação dos derivados

O processo de obtenção dos derivados benziltiazolidinônicos e as características dos compostos obtidos envolveram o emprego das etapas descritas a seguir:

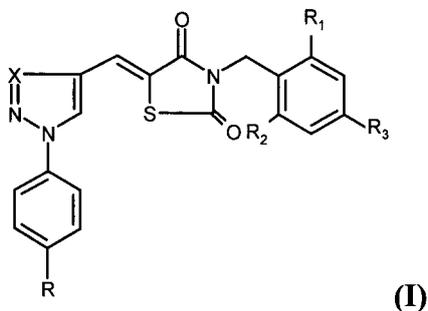
20

3-(4-Cloro-benzil)-5-[3-(4-cloro-fenil)-3*H*-[1,2,3]triazol-4-ilmetileno]-tiazolidina-2,4-diona **FPT-2**

3-(2-Cloro-6-fluoro-benzil)-5-[3-(4-cloro-fenil)-3*H*-[1,2,3]triazol-4-ilmetileno]-tiazolidina-2,4-diona **FPT-4**

25 3-(2-Cloro-6-fluoro-benzil)-5-(1-fenil-1*H*-pirazol-4-ilmetileno)-tiazolidina-2,4-diona **FPY-3**.

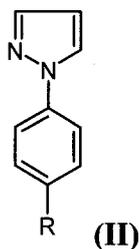
O processo de obtenção dos derivados benziltiazolidinônicos de fórmula (I)



em que: R: Cl, H; R₁: Cl, H; R₂: F, H; R₃: Cl, H; X: N, C; envolve o emprego das seguintes etapas:

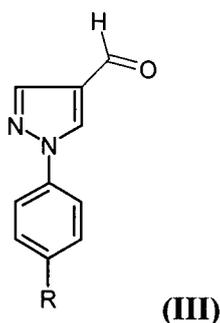
- 5 a) condensação de fenilidrazinas funcionalizadas com 1,3-tetrametoxipropano;
- b) obtenção do 1-fenilpirazol funcionalizado (II) obtido em a);
- c) diazotação e substituição nucleofílica aromática de anilinas funcionalizadas;
- d) cicloadição [2+3] das azidas (IV) com álcool propargílico;
- e) oxidação do álcool 1,2,3-triazólico (V) obtido na etapa d);
- 10 f) condensação tipo Knoevenagel-Cope dos derivados tiazolidinônicos benzilados com os aldeídos correspondentes: 1-fenil-4-formil-pirazólico ou 1,2,3-triazólicos.

A etapa a) ocorre pela reação de condensação de fenilidrazinas *para*-substituídas com tetrametoxipropano em solução contendo um álcool e um ácido prótico, aquecida à
 15 temperatura de refluxo durante um período de 60 minutos (MENEGATTI et al, 2003). Ao término da condensação, o pH do meio reacional é ajustado e após extração com diclorometano e evaporação do solvente, os derivados 1-fenilpirazólicos, de formula geral (II), funcionalizados com diferentes grupamentos R são obtidos:

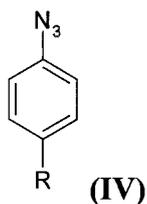


A obtenção do 1-fenilpirazol (II), ocorre na etapa b), pela adição de (II) a uma mistura equimolar de dimetilformamida e oxicloreto de fósforo, a qual é mantida na temperatura de 80-85°C por 12 horas (MENEGATTI et al, 2003).

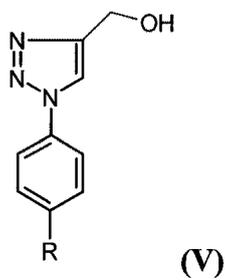
- 5 Ao término da formulação, o pH do meio reacional é ajustado e após extração com diclorometano e evaporação do solvente, os correspondentes derivados 1-fenil-4-formil-pirazólicos, de formula geral (III), funcionalizados com diferentes grupamentos R são obtidos:



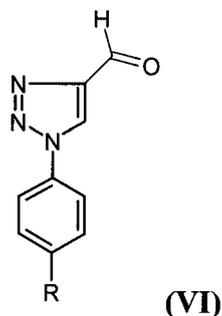
- 10 Na etapa c), anilinas *para*-substituídas são diazotadas após tratamento com uma solução aquosa de nitrito de sódio em meio ácido por 40 minutos a temperatura de 0°C. Em seguida, o correspondente sal de diazônio obtido como intermediário é tratado com uma solução aquosa de azida de sódio em meio básico, a temperatura ambiente por 120 minutos.
- 15 Ao término da substituição nucleofílica aromática, as correspondentes arilazidas, de formula geral (IV), funcionalizados com diferentes grupamentos R são obtidos por filtração:



Na etapa d), as arilazidas funcionalizadas (IV) são tratadas com álcool propargílico em solução de tolueno a temperatura de refluxo durante um período de tempo variando entre 3 a 5 horas (KOLB et al, 2001). Ao término da reação de
5 cicloadição [2+3], os correspondentes alcoóis 1,2,3-triazólicos de formula geral (V), funcionalizados com diferentes grupamentos R são obtidos por filtração:



A reação de oxidação ocorre na etapa e), através do tratamento dos alcoóis 1,2,3-triazólicos funcionalizados (V) com dióxido de manganês em solução contendo solvente
10 clorado, a temperatura ambiente por período de tempo que varia entre 60 a 180 minutos. Ao término da reação de oxidação e após a filtração do meio e evaporação do solvente, os correspondentes aldeídos 1,2,3-triazólicos de formula geral (VI), funcionalizados com diferentes grupamentos R são obtidos:



15 A última etapa da reação, f), corresponde a uma reação de condensação equimolar dos derivados 3-benzil-tiazolidina-2,4-dionas funcionalizados com os aldeídos 1-fenil-4-formil-pirazólico não substituído de fórmula geral (III) e com o derivado 1-(4-cloro-

fenil)-1H-[1,2,3]triazol-4-carbaldeído em presença de benzeno como solvente e piperidina como solvente. A mistura reacional foi aquecida por 48 horas e em seguida, colocada a baixa temperatura. O produto precipitado após filtração foi lavado com uma mistura de etanol/água e acetonitrila. Os derivados benziltiazolidinônicos FPT-2, FPT-4 e FPY-3 obtidos apresentaram um grau de pureza suficiente para as análises. Os derivados codificados FPT 3-(4-cloro-benzil)-5-[3-(4-cloro-fenil)-3H-[1,2,3]triazol-4-ilmetileno]-tiazolidina-2,4-diona FPT-2, $C_{19}H_{12}ClN_4O_2S$, apresentou um rendimento de 54 % e ponto de fusão de 165-166 °C e o 3-(2-cloro-6-fluoro-benzil)-5-[3-(4-cloro-fenil)-3H-[1,2,3]triazol-4-ilmetileno]-tiazolidina-2,4-diona FPT-4, $C_{19}H_{11}Cl_2FN_4O_2S$, apresentou rendimento de 29 % e ponto de fusão 145-146 °C. O composto 3-(2-Cloro-6-fluoro-benzil)-5-(1-fenil-1H-pirazol-4-ilmetileno)-tiazolidina-2,4-diona FPY-3 $C_{20}H_{13}ClFN_3O_2S$ apresentou um rendimento de 53% e ponto de fusão 218-219 °C. A comprovação estrutural dos derivados sintetizados foi realizada pelos espectros no infravermelho registrados em aparelho IFS 66 Bruker, em pastilha de KBr, pelos espectros de ressonância magnética nuclear de prótons efetuados em um aparelho espectrômetro Bruker AC 300 P, utilizando o $DMSO-d_6$ como solvente e pelo espectro de massas, impacto eletrônico a 70eV registrados em um aparelho HP 5987. As características espectroscópicas no infravermelho notadamente as absorções na região da carbonila e da dupla ligação etilênica e no espectro de ressonância magnética nuclear de prótons observando-se o dublete CH_2 benzílico, o singlete do grupamento etilênico além dos prótons aromáticos para os compostos FPT e FPY preparados estão de acordo com a estrutura proposta. Na espectrometria de massa as fragmentações observadas e a intensidade dos picos dos isótopos após impacto eletrônico encontram-se igualmente em acordo com as estruturas propostas.

25 **Estudo Farmacológico**

Ensaio *in vitro*

Preparação do tecido

Ratos foram sacrificados por decapitação. O encéfalo foi imediatamente removido e colocado no gelo para dissecação das estruturas de interesse: estriado,

hipocampo e córtex. Em seguida, foram pesados e estocados em nitrogênio líquido (-70°C). Esse procedimento foi aprovado pelo Comitê de Ética em Cuidados Animais da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ).

O estriado foi homogeneizado em Potter de Teflon a 4°C a 20 volumes por grama de tecido de tampão Tris-HCl 50 mM (pH 7,4) contendo MgCl₂ 8mM e EDTA 5 mM. A suspensão resultante foi ultracentrifugada a 48000 g_{av} a 4°C por 20 minutos. O sedimento foi ressuspensão em 20 volumes de tampão e incubado a 37°C por 10 minutos para remoção de neurotransmissores endógenos. Essa suspensão foi esfriada no gelo e ressuspensão em tampão, rendendo 1,5 mL/g de tecido e, por fim, estocada no nitrogênio líquido até seu uso.

Hipocampo e córtex foram homogeneizados em Potter de Teflon a 4°C a 20 volumes (hipocampo) ou 10 volumes (córtex) de tampão Tris-HCl 50 mM (pH 7,4) por grama de tecido. A suspensão resultante foi centrifugada duas vezes a 900 g_{max} a 4°C por 10 minutos. Os sobrenadantes resultantes foram juntados e ultracentrifugados a 48000 g_{av} por 10 minutos. O sedimento foi ressuspensão em tampão e incubado a 37°C por 10 minutos. Posteriormente, essa suspensão foi esfriada no gelo e ultracentrifugada duas vezes (48 000 g_{av} por 10 minutos a 4°C). O sedimento final foi ressuspensão em tampão na proporção de 1,5 mL/g de tecido e estocado em nitrogênio líquido.

A concentração de proteína foi determinada pelo método de Lowry *et al.* (1951), utilizando-se como padrão albumina de soro bovino.

Ensaio de radioligação a receptores D₂-like (NIZNIK et al., 1985; TERAJ et al., 1989 ; HAMDI et al., 1992 ; ASSIÉ et al., 1993)

Para determinar a ligação dos compostos aos receptores de dopamina do tipo D₂-like, as preparações membranares da estrutura de interesse, corpo estriado, (50 µg proteína) foram incubados na presença do radioligante [³H]-YM-09151-2 (0,1 nM) a 37°C, no escuro, por 60 minutos em uma solução contendo 120 mM NaCl, 5 mM MgCl₂, 1,5 mM CaCl₂, 1 mM EDTA e Tris-HCl 50 mM (pH 7,4) em um volume final de 500 µL. A ligação não específica foi determinada pela incubação na presença de 30 µM de (-)-sulpirida.

Ensaio de radioligação a receptores 5-HT_{1A} (HALL et al., 1985; PEROUTKA, 1986; MONGEAU 1992)

Para determinar a ligação dos compostos aos receptores de serotonina 5-HT_{1A}, as preparações membranares da estrutura de interesse, hipocampo (50 µg de proteína), foram incubadas na presença do radioligante [³H]-8-OH-DPAT (1 nM) a 37°C por 15 minutos em uma solução contendo 1 mM CaCl₂, 1 mM MnCl₂, 10 µM de pargilina e Tris-HCl 50 mM (pH 7,4) em um volume final de 500 µL. A ligação não específica foi determinada pela incubação na presença de 10 µM de serotonina.

Ensaio de radioligação a receptores 5-HT_{2A} (LEYSEN et al., 1982; NELSON et al., 1993)

Para determinar a ligação dos compostos aos receptores de serotonina 5-HT_{2A}, as preparações membranares da estrutura de interesse, córtex total (150 µg proteína), foram incubadas na presença do radioligante [³H]-cetanserina (1 nM) a 37°C por 15 minutos em uma solução contendo 100 nM de prazosina e Tris-HCl 50 mM (pH 7,4) em um volume final de 500 µL. A ligação não específica foi determinada pela incubação na presença de 1 µM de cetanserina.

Após a incubação, as amostras foram rapidamente lavadas em 4 mL de Tris-HCl 5 mM (3X) e imediatamente filtradas sobre filtros de fibra de vidro (GMF 3, Filtrak, Germany) previamente umedecidos em tampão Tris-HCl 5 mM (D₂-like) ou polietilenoimina 0,5% (5-HT_{1A} e 5-HT_{2A}). Os filtros foram, então, secos e colocados em vials individuais contendo líquido de cintilação (POPOP (1,4-bis-[2-(5-feniloxazol)]-benzeno 0,1 g/L e POP (2,5-difeniloxazol) 4,0 g/L em tolueno). A radioatividade retida nos filtros foi contada em cintilômetro (Packard Tri-Carb 1600 TR) (Tabela 1).

Tabela 1. Afinidades de FPT-2, FPT-4 e FPY-3 por receptores do tipo D₂-like, 5-HT_{1A} e 5-HT_{2A}. Clozapina e aripiprazole foram usados como fármacos de referência.

Composto	K _i (µM)		
	D ₂ -like	5-HT _{1A}	5-HT _{2A}

FPT-2	-	-	23,9
FPT-4	-	-	-
FPY-3	-	-	7,3
Clozapine	0,114	0,378	0,014
Aripiprazole	0,001	0,001	0,007

- Os compostos produziram menos de 15% de inibição da ligação do radioligante quando usados na concentração de *screening* (10 μ M), impossibilitando a construção de uma curva de competição e o cálculo do seu K_i .

Testes comportamentais/ Testes *in vivo*

5 *Animais*

Foram utilizados camundongos CF1, machos, adultos (20 - 30 g), provenientes da colônia da Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS-RS). Antes dos experimentos, os animais foram ambientados por um período mínimo de 72 horas no biotério de passagem da Faculdade de Farmácia - UFRGS. Os camundongos foram mantidos em caixas plásticas de 17 x 28 x 13 cm com, no máximo, 8 animais por caixa e os ratos foram mantidos em caixas plásticas de 28 x 42 x 16 cm em grupos de, no máximo, 5 animais por caixa. Os animais foram mantidos sob ciclo claro/escuro de 12 horas, com temperatura constante (23 ± 1 °C), sob sistema de exaustão e umidade monitorada. Os animais tiveram livre acesso à água e alimento (ração certificada Nuvital®). Nos experimentos realizados com administração das substâncias teste por via oral, os animais passaram por um período de 5 horas de jejum antes do teste.

Bloqueio do comportamento de escalada (climbing) induzido por apomorfina (COSTALL et al., 1978)

A apomorfina é um agonista dopaminérgico e o bloqueio de seus efeitos comportamentais é uma resposta observada tanto para antipsicóticos típicos como atípicos.

Camundongos foram tratados com a substância teste, veículo (1mL/100g, v.o.), haloperidol (0,5 mg/kg, v.o.) ou clozapina (15 mg/kg, v.o.). Em seguida, foram colocados individualmente em gaiolas de metal, onde permaneceram durante meia hora para adaptação. Transcorrido este período, os animais receberam uma injeção de apomorfina 4 mg/kg s.c. ou veículo; sendo imediatamente recolocados nas gaiolas, onde permaneceram por trinta minutos. Neste período, os animais foram observados a cada 5 minutos durante 1 minuto, registrando-se o maior número de patas na grade, presença de escalada contínua ou intermitente e presença ou ausência de estereotipia. Todos esses parâmetros contabilizados geram um índice de climbing: 0 ponto para nenhuma pata na grade e ausência de estereotipia, 1 ponto para nenhuma pata na grade mas presença de estereotipia, 2 pontos para uma, duas ou três patas na grade, 3 pontos para escalada intermitente e 4 pontos para escalada contínua. Esse índice é avaliado para fins estatísticos.

Indução de catatonia (CARLINI, 1973)

Este teste é utilizado para detecção do potencial de indução de efeitos extrapiramidais.

Camundongos foram tratados com as substâncias teste FPT-2, FPT-4 e FPY-3 (30 mg/kg, v.o.), veículo (1mL/100g, v.o.), haloperidol (0,5 mg/kg, v.o.) ou clozapina (5 e 15 mg/kg, v.o.). Os animais foram delicadamente posicionados sobre uma barra de madeira elevada 6,5 cm do chão, apoiados apenas pelas patas dianteiras, 30, 60 e 90 minutos após o tratamento. Foi mensurado o tempo de permanência, em segundos, dos animais nesta posição incômoda nos intervalos descritos (Tabela 2).

Tabela 2. Efeito de FPT-2, FPT-4 e FPY-3 (30 mg/kg, v.o.) no teste de indução de catatonia em camundongos. A avaliação foi feita 30 (T30), 60 (T60) e 90 (T90) minutos após o tratamento.

Tratamento	Dose	30 minutos (T30)	60 minutos (T60)	90 minutos (T90)
SAL	1 mL/100g	1,2 ± 0,6	1,4 ± 0,9	1,7 ± 0,9
Haloperidol	0,5 mg/kg	11,5 ± 11,5*	19,2 ± 13,9***	24,5 ± 9,9***
Clozapina	15 mg/kg	13,3 ± 12, 3**	11,9 ± 8,1**	3,5 ± 3,7
Clozapina	5 mg/kg	3,1 ± 3,9	1,5 ± 0,9	1,6 ± 1,5
FPT-2	30 mg/kg	2,3 ± 2,4	7,4 ± 11,0	7,5 ± 6,2
FPT-4	30 mg/kg	2,5 ± 2,2	3,7 ± 5,2	5,9 ± 8,3
FPY-3	30 mg/kg	1,6 ± 1,4	1,5 ± 0,8	4,5 ± 4,7

Resultados expressos em média ± desvio padrão. ANOVA de duas vias com medidas repetidas *post hoc* Student Newman Keuls. Diferença significativa em relação ao grupo SAL *p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001.

Avaliação do efeito sobre a coordenação motora em aparelho de rota-rod (LÓPEZ-RUBALCAVA et al., 2000)

Camundongos foram habituados ao rota-rod 24 horas antes do teste (Dia 1). O experimento consistiu de duas exposições ao aparelho (5 rpm), denominadas seleção e sessão teste (Dia 2). Na seleção, apenas os animais que apresentaram tempo de permanência de no mínimo 90 segundos foram considerados aptos a continuar no teste. Imediatamente após esta sessão, os animais selecionados receberam o tratamento com as substâncias teste FPT-2, FPT-4 e FPY-3 (30 mg/kg, v.o.), veículo (1mL/100g, v.o.), haloperidol (0,5 mg/kg, v.o.) ou clozapina (5 e 15 mg/kg, v.o.) e 60 minutos após foram novamente colocados no aparelho (sessão teste). Os parâmetros avaliados foram maior tempo de permanência, em segundos, e número de quedas (Tabela 3).

Tabela 3. Efeito de FPT-2, FPT-4 e FPY-3 (30 mg/kg, v.o.) no teste de avaliação da coordenação motora em aparelho de rota-rod, em camundongos. Parâmetros avaliados: maior tempo de permanência e número de quedas.

Tratamento	Dose	Permanência		Quedas	
		T0	T60	T0	T60
SAL	1 mL/100g	224,2 ± 59,7	224,6 ± 64,6	1,4 ± 1,6	1,1 ± 1,5
Haloperidol	0.5 mg/kg	238,9 ± 70,1	84,6 ± 62,8**	1,2 ± 1,6	15,2 ± 8,9***
Clozapine	15 mg/kg	238,3 ± 74,5	86,9 ± 89,8**	1,3 ± 1,4	21,3 ± 17,5***
Clozapine	5 mg/kg	249,6 ± 65,5	216,2 ± 74,5	0,9 ± 1,1	1,0 ± 0,9
FPT-2	30 mg/kg	245,6 ± 92,3	250,0 ± 69,0	1,6 ± 2,7	4,5 ± 10,4
FPT-4	30 mg/kg	234,3 ± 68,1	198,9 ± 82,4	1,8 ± 1,6	3,5 ± 4,9
FPY-3	30 mg/kg	228,4 ± 88,6	212,7 ± 94,4	1,4 ± 2,3	1,7 ± 2,3

Resultados expressos em média ± desvio padrão. ANOVA de duas vias com medidas repetidas *post hoc* Student Newman Keuls. Diferença significativa em relação ao grupo SAL em T60 **p<0,01 ***p<0,001.

Avaliação da Atividade Locomotora Espontânea – Teste de Exposição ao Campo Aberto (Open Field) (WILLIANSON et al., 1996)

Parâmetros de locomoção são comumente avaliados em roedores nas etapas iniciais da investigação de um provável efeito central de compostos, principalmente devido à sua simplicidade. A avaliação da atividade locomotora é capaz de demonstrar tanto efeitos depressores quanto estimulantes do sistema nervoso central, caracterizados por uma diminuição ou aumento da locomoção espontânea, respectivamente, o que pode ser visualizado neste teste.

Camundongos foram tratados com o composto teste FPY-3 (30 mg/kg, v.o.), haloperidol (0,5 e 4 mg/kg, v.o.), clozapina (5 e 15 mg/kg, v.o.) ou veículo (1 mL/100g, v.o.) e, após 60 minutos, os animais foram colocados em uma caixa de acrílico

transparente (45 x 30 x 30 cm), com o fundo preto dividido em 24 quadrantes iguais. Os animais foram ambientados por 5 minutos e, posteriormente, observados por 15 minutos, registrando-se manualmente o número de cruzamentos entre os quadrantes (*crossings*), o número de episódios em que os animais levantaram o corpo apoiados apenas pelas patas traseiras (*rearings*) e o número de comportamentos de auto-limpeza (*groomings*). Todo procedimento foi realizado em ambiente de penumbra (Tabela 4).

Tabela 4. Efeito de FPY-3 (30 mg/kg, v.o.) no teste de exposição ao campo aberto, em camundongos, em um período de observação de 15 minutos. Parâmetros avaliados: número de *crossings*, *rearings* e *groomings*.

Tratamento	Dose	<i>Crossings</i>	<i>Rearings</i>	<i>Groomings</i>
SAL	1 mL/100g	306,5 ± 179,1	98,7 ± 42,7	20,3 ± 7,8
Haloperidol	4 mg/kg	71,0 ± 110,7**	6,8 ± 13,9***	1,4 ± 2,6***
Haloperidol	0,5 mg/kg	151,1 ± 117,9	32,9 ± 30,4**	6,5 ± 2,8***
Clozapina	15 mg/kg	145,0 ± 71,5	25,6 ± 29,3**	2,8 ± 2,4***
Clozapina	5 mg/kg	183,4 ± 44,9	87,6 ± 24,2	11,7 ± 3,7**
FPY-3	30 mg/kg	315,4 ± 154,5	112,1 ± 56,6	18,1 ± 6,1

Resultados expressos em média ± desvio padrão. ANOVA *post hoc* Student Newman Keuls. Diferença significativa em relação ao grupo SAL **p<0,01 ***p<0,001.

Teste de Potenciação do Sono Barbitúrico (WILLIANSO et al., 1996)

Este teste avalia uma atividade geral sobre o Sistema Nervoso Central. Camundongos foram tratados com o composto teste FPY-3 (30 mg/kg, v.o.), veículo (1mL/100g, v.o.), haloperidol (0,5 e 4 mg/kg, v.o.) ou clozapina (5 e 15 mg/kg, v.o.). Decorridos 60 minutos, uma solução de pentobarbital sódico (Cristália®, 40 mg/kg, i.p.) foi administrada a todos os grupos. Determinou-se, então, o tempo para indução (latência) e a duração do sono barbitúrico, em minutos, determinados pela perda e retomada do reflexo postural. Estabeleceu-se 240 minutos como valor máximo de duração do sono (Tabela 5).

Tabela 5. Efeito de FPY-3 (30 mg/kg, v.o.) no teste de potenciação do sono barbitúrico, em camundongos. Parâmetros avaliados: latência para indução do sono e duração do sono.

Tratamento	Dose	Latência (min)	Duração do sono (min)
SAL	1 mL/100g	4,4 ± 0,7	34,2 ± 14,3
Haloperidol	4 mg/kg	3,5 ± 1,0	86,2 ± 48,0***
Haloperidol	0,5 mg/kg	5,0 ± 2,8	29,5 ± 11,3
Clozapina	15 mg/kg	3,5 ± 1,3	71,8 ± 23,7**
Clozapina	5 mg/kg	4,7 ± 2,9	45,6 ± 29,5
FPY-3	30 mg/kg	5,4 ± 3,9	29,4 ± 18,5

Resultados expressos em média ± desvio padrão. ANOVA *post hoc* Student-Newman-Keuls. Diferença significativa em relação ao grupo SAL *p<0,05 **p<0,01 ***p<0,001.

Hiperlocomoção induzida por antagonistas NMDA

A administração aguda de antagonistas de receptores NMDA (fenciclidina, cetamina e MK-801) é capaz de produzir uma síndrome comportamental em roedores caracterizada pelo aumento da atividade locomotora. Este efeito tem sido amplamente utilizado como um modelo animal de esquizofrenia relacionado aos efeitos psicóticos induzidos pela administração destes compostos em seres humanos. Ao contrário do efeito induzido por agentes dopaminérgicos, a hiperlocomoção induzida por fenciclidina e análogos é bloqueada apenas por fármacos antipsicóticos atípicos, especialmente aqueles com grande afinidade por receptores 5-HT₂ (JENTSCH E ROTH, 1999; GEYER E ELLENBROEK, 2003).

Para verificar o perfil de atipicalidade das substâncias previamente selecionadas, foi realizado o teste de hiperlocomoção induzida por cetamina (10 mg/kg, s.c.) segundo Moreira e Guimarães (2005) e Satow e colaboradores (2009). Os animais foram tratados por via oral com o composto-teste e colocados na caixa de locomoção para ambientar por 30 min. Imediatamente após esse período, os animais receberam cetamina ou veículo por via s.c. e foram observados por 20 min em relação ao número de *crossings*.

Modelo de inibição de sobressalto por pré-pulso

Este modelo está baseado no fato de que pacientes esquizofrênicos possuem uma disfunção na inibição de pré-pulso, caracterizada pela manutenção da resposta motora ao pulso, ao contrário dos indivíduos normais, os quais não respondem mais a um estímulo relevante (pulso) quando, precedente a este, é fornecido um estímulo de menor intensidade (pré-pulso).

Animais de laboratório podem ser condicionados a não mais responderem ao pulso frente à exposição a um pré-pulso. Este comportamento pode ser corrompido pela administração de diversos agentes farmacológicos, cujo mecanismo de ação leva à alteração de algum sistema neurotransmissor envolvido nas bases neuroquímicas da esquizofrenia (GEYER E ELLENBROEK, 2003; VAN DEN BUUSE *et al.*, 2005).

Os primeiros agentes utilizados foram os dopaminérgicos, como a apomorfina. O efeito dessa substância neste modelo é revertido por praticamente todos os antipsicóticos, não sendo uma ferramenta útil na diferenciação entre moléculas com perfil típico e atípico (GEYER E ELLENBROEK, 2003). Um segundo grupo de drogas utilizadas caracteriza-se pela estimulação da neurotransmissão serotoninérgica. Para tanto, são utilizados agonistas de receptores 5-HT_{2A} ((±)-DOI) e indutores da liberação de serotonina (MDMA) (GEYER E ELLENBROEK, 2003; VAN DEN BUUSE *et al.*, 2005). A administração de antagonistas NMDA (fenciclidina, cetamina e MK-801) induz um robusto déficit na inibição de pré-pulso em ratos e camundongos. Estes dados caracterizam a inibição de pré-pulso como uma ferramenta capaz de identificar potenciais novos antipsicóticos com perfil multireceptor (JENTSCH E ROTH, 1999; GEYER E ELLENBROEK, 2003).

Através desse modelo foi feita uma investigação do envolvimento dos sistemas dopaminérgico, serotoninérgico e glutamatérgico para as substâncias previamente selecionadas, utilizando apomorfina (3 mg/kg s.c.), (±)-DOI (0,5 mg/kg s.c.) e cetamina (30 mg/kg s.c.), respectivamente.

Após a administração das substâncias, os camundongos foram colocados no equipamento de medida de resposta de sobressalto (Insight®) para ambientação com um

ruído de fundo (65dB) por 5 minutos, o qual permaneceu durante todo o experimento. O ensaio consistiu de 55 sessões, divididas em pulso único (115 dB) e um pulso precedido de um pré-pulso de 80, 85 ou 90 dB.

Toxicidade Oral Aguda - Determinação da faixa de Dose Letal Mediana (DL₅₀)

5 Este teste avalia a toxicidade após exposição a uma dose única ou dose fracionada administrada no período de 24 horas e foi realizado segundo a instrução normativa 423 da OECD para avaliação da toxicidade oral aguda de agentes químicos, adaptadas às condições da Faculdade de Farmácia da UFRGS.

10 Inicialmente, FPY-3 foi administrado na dose de 2000 mg/kg, v.o., a 3 camundongos machos. Os animais foram observados diariamente por 14 dias, e foi computada a frequência de mortes e sinais de toxicidade com ênfase nos intervalos de 1, 2, 6 e 24 horas após o tratamento. Os sinais de toxicidade avaliados foram piloereção, ptose palpebral, contorções abdominais, locomoção, hipotermia (animais juntos no canto da caixa), tônus muscular, tremores, paralisia dos membros posteriores, salivação,
15 secreção brônquica, convulsões. Foi realizado um controle de ganho de massa corporal.

No caso de ocorrência de morte de 2 ou 3 camundongos, a dose seria diminuída, segundo uma sequencia decrescente de doses: 300, 50 e 5 mg/kg, conforme preconizado pela OECD (2001). Seria determinada, então, a faixa de DL₅₀ das substâncias testadas segundo o Anexo 2 da OECD: “test guideline 423”. A sequencia de execução desse
20 experimento pode ser acompanhada no esquema 1.

Toxicidade doses repetidas

Este teste avalia a toxicidade após a exposição a doses repetidas e foi realizado segundo a instrução normativa 407 da OECD (1995) para avaliação da toxicidade oral em doses repetidas de agentes químicos, adaptado às condições da Faculdade de
25 Farmácia da UFRGS.

Camundongos machos (n=10/grupo) foram tratados diariamente por 14 dias com solução salina (1 mL/100 g) e 2 diferentes doses de FPY-3: dose mínima efetiva no teste

de atividade do tipo antipsicótica (15 mg/kg, v.o.) e uma dose duas vezes maior (30 mg/kg, v.o.).

Durante todo o tratamento, os animais permaneceram no biotério da Faculdade de Farmácia. Foi feito também um controle de ganho de massa corporal durante os 14 dias de tratamento. No 15º dia, os animais foram eutanasiados com tiopental e tiveram sangue e órgãos retirados (Tabela 6).

Tabela 6. A massa relativa corporal dos órgãos rins, adrenais, baço, fígado, coração, pulmão e cérebro dos camundongos tratados por 14 dias com veículo ou FPY-3 (15 e 30 mg/kg, v.o.).

Órgão	Veículo	FPY-3	FPY-3
	(n=6)	15 mg/kg (n=6)	30 mg/kg (n=6)
Rins	1,8 ± 0,1	1,8 ± 0,3	1,8 ± 0,1
Adrenais	0,018 ± 0,001	0,019 ± 0,004	0,018 ± 0,004
Baço	0,5 ± 0,2	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,2
Fígado	7,2 ± 0,4	7,0 ± 0,4	7,3 ± 0,9
Coração	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1
Pulmão	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1
Cérebro	1,3 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,2 ± 0,1

10 Resultados expressos em média ± desvio padrão. ANOVA.

As análises bioquímicas e hematológicas foram realizadas. As análises bioquímicas foram realizadas no equipamento LABMAX, (kits Labtest) (tabela 7). As análises hematológicas foram feitas no ABXMICROS60 (kits Sullab) (Tabela 8).

15 **Tabela 7.** Análises Bioquímicas após 14 dias de tratamento. AST (aspartato aminotransferase), ALT (alanina aminotransferase), CK (creatina fosfoquinase).

	FPY-3	FPY-3
	Veículo (n=6)	15 mg/kg (n=6)

AST (U/L)	77,7 ± 7,6	61,8 ± 5,9*	71,3 ± 14,5
ALT (U/L)	71,8 ± 26,9	85,2 ± 22,8	68,2 ± 18,6
Fosfatase alcalina (U/L)	2,2 ± 2,6	5,2 ± 3,2	2,3 ± 3,8
Uréia (mg/dL)	69,5 ± 5,7	65,8 ± 6,1	58,5 ± 8,7*
Glicose (mg/dL)	183,2 ± 25,5	273,0 ± 113,4	263,5 ± 47,9
Creatinina (mg/dL)	0,08 ± 0,07	0,13 ± 0,05	0,05 ± 0,04
CK (U/L)	148,8 ± 37,2	143,5 ± 25,6	113,0 ± 32,0
Proteínas totais (mg/dL)	5,0 ± 0,4	4,7 ± 0,2	4,7 ± 0,5
Colesterol (mg/dL)	126,2 ± 13,5	124,7 ± 19,8	133,5 ± 17,6
Triglicerídeos (mg/dL)	128,0 ± 50,8	153,8 ± 55,5	92,3 ± 24,9
Ácido úrico (mg/dL)	4,1 ± 3,8	4,2 ± 3,1	3,0 ± 2,3
HDL (mg/dL)	52,0 ± 8,0	53,2 ± 6,2	56,0 ± 4,8

Resultados expressos em média ± desvio padrão. ANOVA *post hoc* Dunnet. Diferença em relação ao grupo veiculo. * $p < 0,05$.

Tabela 8. Análises Hematológicas após 14 dias de tratamento. VCM (volume corpuscular médio), HCM (hemoglobina corpuscular média), CHCM (concentração de hemoglobina corpuscular média), RDW (red cell distribution width).

	FPY-3		FPY-3
	Veículo (n=6)	15 mg/kg (n=6)	30 mg/kg (n=6)
Leucócitos ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	3,7 ± 1,1	3,7 ± 0,9	5,0 ± 0,8*
Eritrócitos ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	6,6 ± 0,5	7,2 ± 0,4	6,8 ± 0,7
Hemoglobina (g/dL)	12,1 ± 0,8	13,4 ± 0,4**	12,0 ± 0,6
Hematócrito (%)	34,7 ± 2,4	38,2 ± 2,4	36,4 ± 3,0
Plaquetas ($\times 10^6/\text{mm}^3$)	1,0 ± 0,5	1,0 ± 0,2	1,0 ± 0,4
VCM (μm^3)	52,7 ± 1,4	52,8 ± 1,5	53,2 ± 1,5

HCM (pg)	18,4 ± 0,6	18,6 ± 0,8	17,7 ± 1,1
CHCM (g/dL)	35,0 ± 1,5	35,2 ± 2,3	33,2 ± 1,3
RDW (%)	14,1 ± 1,0	13,7 ± 0,2	14,0 ± 0,5
<i>Diferencial</i>			
Eosinófilos	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
Neutrófilos	36,0 ± 3,7	28,8 ± 4,1	30,5 ± 8,1
Basófilos	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Monócitos	1 ± 0	1 ± 0	1 ± 0
Linfócitos	61,7 ± 4,9	70,7 ± 4,3	67,7 ± 8,1

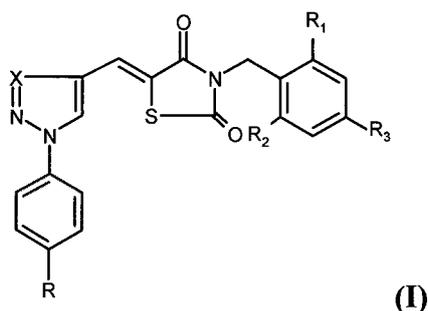
Resultados expressos em média ± desvio padrão. ANOVA *post hoc* Dunnet. Diferença em relação ao grupo veiculo. *p<0,05.

Vantagens da presente invenção

Os resultados apresentados demonstram que os derivados benziltiazolidinônicos são ativos nos modelos animais de sintomas positivos e cognitivos da esquizofrenia em doses que não apresentam uma tendência para causar catatonia, comprometimento motor ou sedação. Dessa forma, essas substâncias mostraram-se promissoras para o desenvolvimento de fármacos efetivos no tratamento da esquizofrenia. Além disso, podem ser uma perspectiva de fármacos antipsicóticos com alvo biológico distinto do sistema monoaminérgico, uma vez que não apresentaram uma alta afinidade pelos receptores *D₂-like*, 5-HT_{1A} e 5-HT_{2A}.

Reivindicações

- 1) DERIVADOS BENZILTIAZOLIDINÔNICOS ÚTEIS NO TRATAMENTO DA ESQUIZOFRENIA, **caracterizado por** compostos benziltiazolidinônicos de fórmula molecular (I)



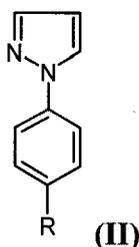
Sendo R: Cl, H; R₁: Cl, H; R₂: F, H; R₃: Cl, H; X: N, C.

- 2) DERIVADOS BENZILTIAZOLIDINÔNICOS ÚTEIS NO TRATAMENTO DA ESQUIZOFRENIA de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** emprego das seguintes etapas na obtenção de compostos de fórmula molecular (I):

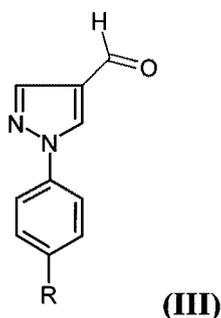
- a) condensação de fenilidrazinas funcionalizadas com 1,3-tetrametoxipropano;
- b) obtenção do 1-fenilpirazol funcionalizado (II) obtido em a);
- c) diazotação e substituição nucleofílica aromática de anilinas funcionalizadas;
- d) cicloadição [2+3] das azidas (IV) com álcool propargílico;
- e) oxidação do álcool 1,2,3-triazólico (V) obtido na etapa d);

- f) condensação tipo Knoevenagel-Cope dos derivados tiazolidinônicos benzilados com os aldeídos correspondentes: 1-fenil-4-formil-pirazólico ou 1,2,3-triazólicos.

- 3) DERIVADOS BENZILTIAZOLIDINÔNICOS ÚTEIS NO TRATAMENTO DA ESQUIZOFRENIA de acordo com as reivindicações 2, **caracterizado pela** etapa a) consistir numa reação de condensação de fenilidrazinas *para*-substituídas com tetrametoxipropano em solução, contendo um álcool e um ácido prótico, aquecida à temperatura de refluxo durante um período de tempo adequado, com posterior ajuste do pH do meio reacional, e, em seguida, extração com diclorometano e evaporação do solvente, para a obtenção dos compostos de fórmula (II).

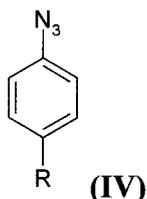


- 4) DERIVADOS BENZILTIAZOLIDINÔNICOS ÚTEIS NO TRATAMENTO DA ESQUIZOFRENIA de acordo com as reivindicações 1-3, **caracterizado pela** etapa b) consistir da adição de (II) a uma mistura equimolar de dimetilformamida e oxiclreto de fósforo, a qual é mantida na temperatura de 80-85°C por 12 horas, sendo ao término da reação, o pH do meio reacional é ajustado e, em seguida, extração com diclorometano e evaporação do solvente, para a obtenção dos compostos de formula geral (III).

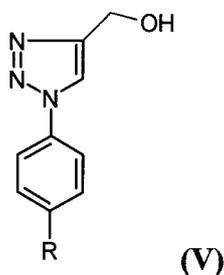


- 5) DERIVADOS BENZILTIAZOLIDINÔNICOS ÚTEIS NO TRATAMENTO DA ESQUIZOFRENIA de acordo com as reivindicações 1-4, **caracterizado pela** etapa c) consistir numa diazotação de (II) seguida de um tratamento com

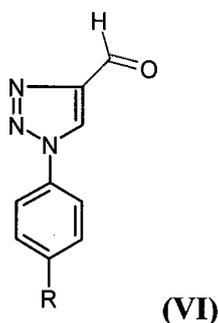
uma solução aquosa de nitrito de sódio em meio ácido por 40 minutos a temperatura de 0°C com o conseqüente tratamento do sal de diazônio obtido com uma solução aquosa de azida de sódio em meio básico, a temperatura ambiente por 120 minutos para obtenção dos compostos de fórmula molecular (IV)



6) DERIVADOS BENZILTIAZOLIDINÔNICOS ÚTEIS NO TRATAMENTO DA ESQUIZOFRENIA de acordo com as reivindicações 1-5, **caracterizado pela** etapa d), consistir no tratamento das arilazidas funcionalizadas (IV) com álcool propargílico em solução de tolueno a temperatura de refluxo durante um período de tempo variando entre 3 a 5 horas, seguido de cicloadição [2+3], para a obtenção dos produtos de fórmula molecular (V).



7) DERIVADOS BENZILTIAZOLIDINÔNICOS ÚTEIS NO TRATAMENTO DA ESQUIZOFRENIA de acordo com as reivindicações 1-6, **caracterizado pela** etapa e) consistir numa oxidação através do tratamento dos álcoois 1,2,3-triazólicos funcionalizados (V) com dióxido de manganês em solução contendo solvente clorado, a temperatura ambiente por período de tempo que varia entre 60 a 180 minutos seguida de filtração do meio e evaporação do solvente, para obtenção dos compostos de fórmula geral (VI).



- 8) DERIVADOS BENZILTIAZOLIDINÔNICOS ÚTEIS NO TRATAMENTO DA ESQUIZOFRENIA de acordo com as reivindicações 1-7, **caracterizado pela** última etapa da reação f) corresponder a uma condensação equimolar dos derivados 3-benzil-tiazolidina-2,4-dionas funcionalizados com os aldeídos 1-fenil-4-formil-pirazólico não substituídos de fórmula geral (III) e com o derivado 1-(4-cloro-fenil)-1H-[1,2,3]triazol-4-carbaldeído em presença de benzeno e piperidina, como solvente, sendo que a mistura reacional é aquecida por 48 horas e em seguida, colocada a baixa temperatura seguida de filtração e lavagem com uma mistura de etanol/água e acetonitrila.
- 9) DERIVADOS BENZILTIAZOLIDINÔNICOS ÚTEIS NO TRATAMENTO DA ESQUIZOFRENIA de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** composições farmacêuticas compreendendo compostos de fórmula molecular (I) ou sais farmacêuticamente aceitáveis.
- 10) DERIVADOS BENZILTIAZOLIDINÔNICOS ÚTEIS NO TRATAMENTO DA ESQUIZOFRENIA de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado por** compreender compostos de fórmula (I) ou sais farmacêuticamente aceitáveis por ser no uso em medicina, particularmente, contra esquizofrenia ou outras manifestações clínicas que requeiram o uso de antipsicóticos e composições farmacêuticas contendo as mesmas.
- 11) DERIVADOS BENZILTIAZOLIDINÔNICOS ÚTEIS NO TRATAMENTO DA ESQUIZOFRENIA de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado pelo** uso de compostos de fórmula molecular (I) ser para manufatura de

medicamentos, particularmente no tratamento da esquizofrenia ou outras manifestações clínicas que requeiram o uso de antipsicóticos.

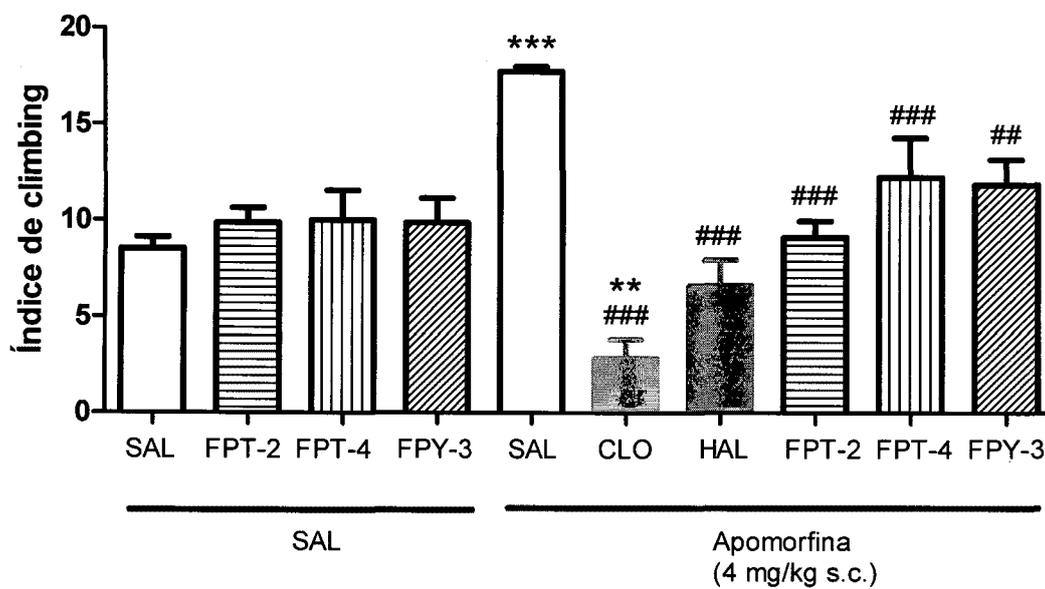
FIGURAS

Figura 1

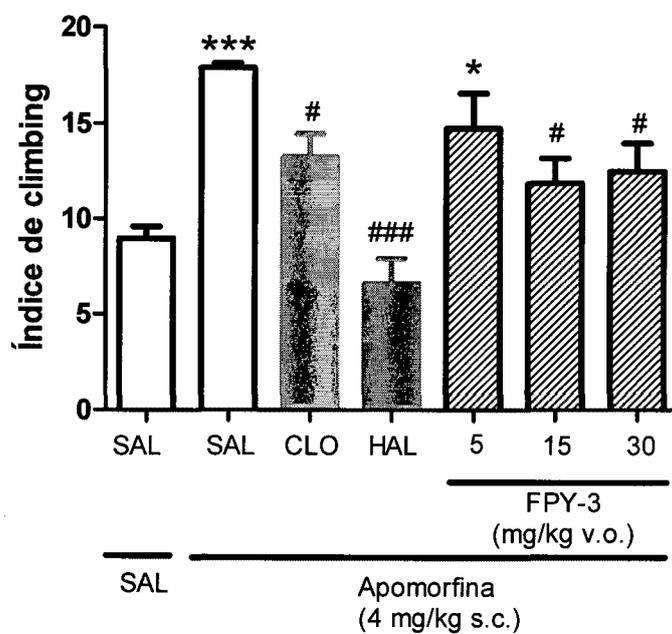


Figura 2

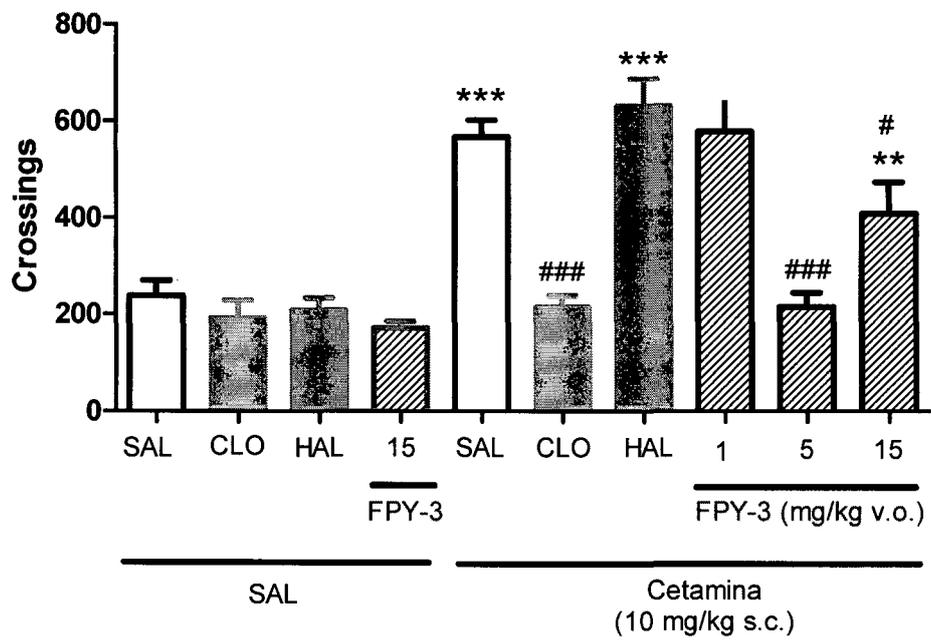


Figura 3

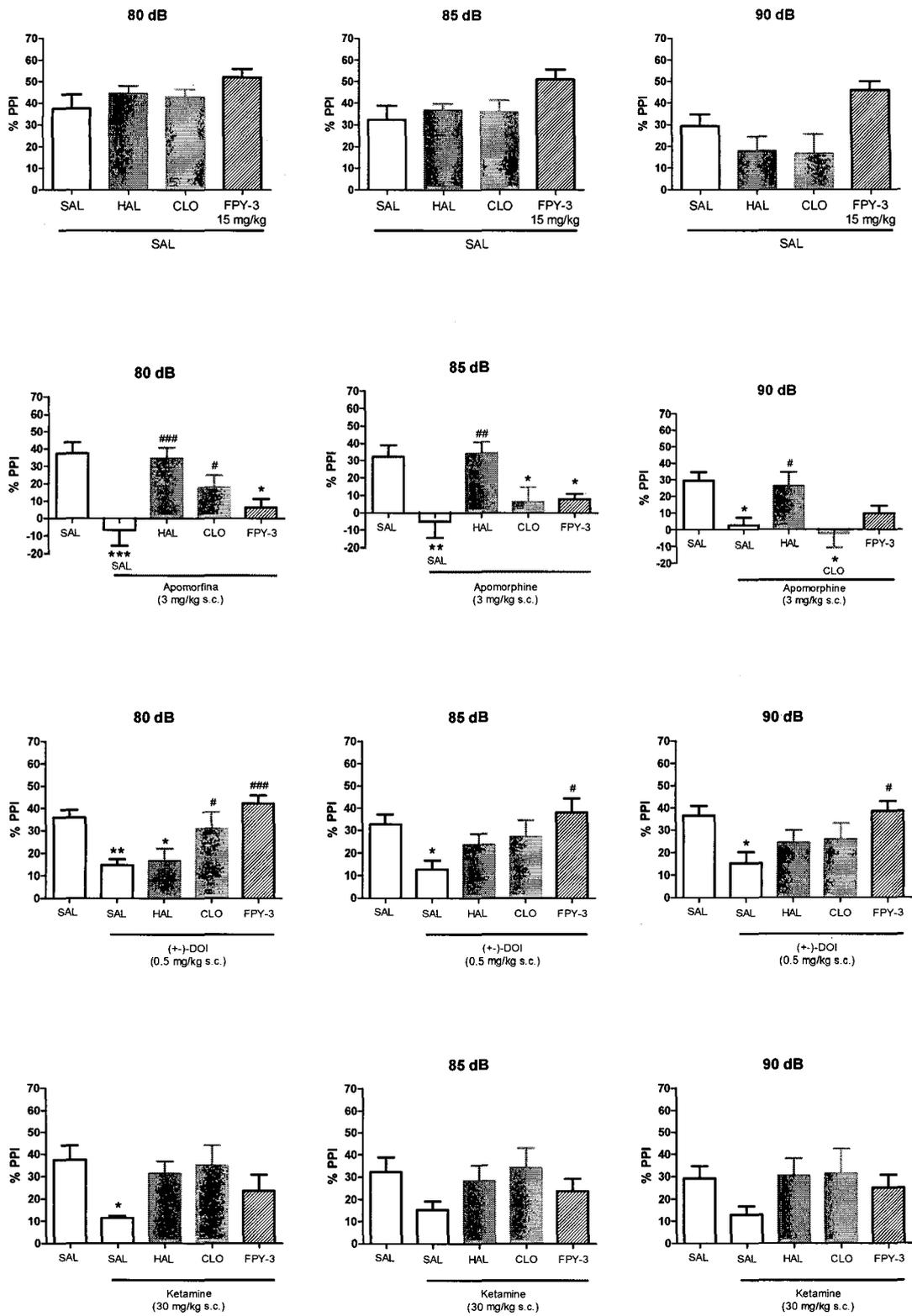


Figura 4

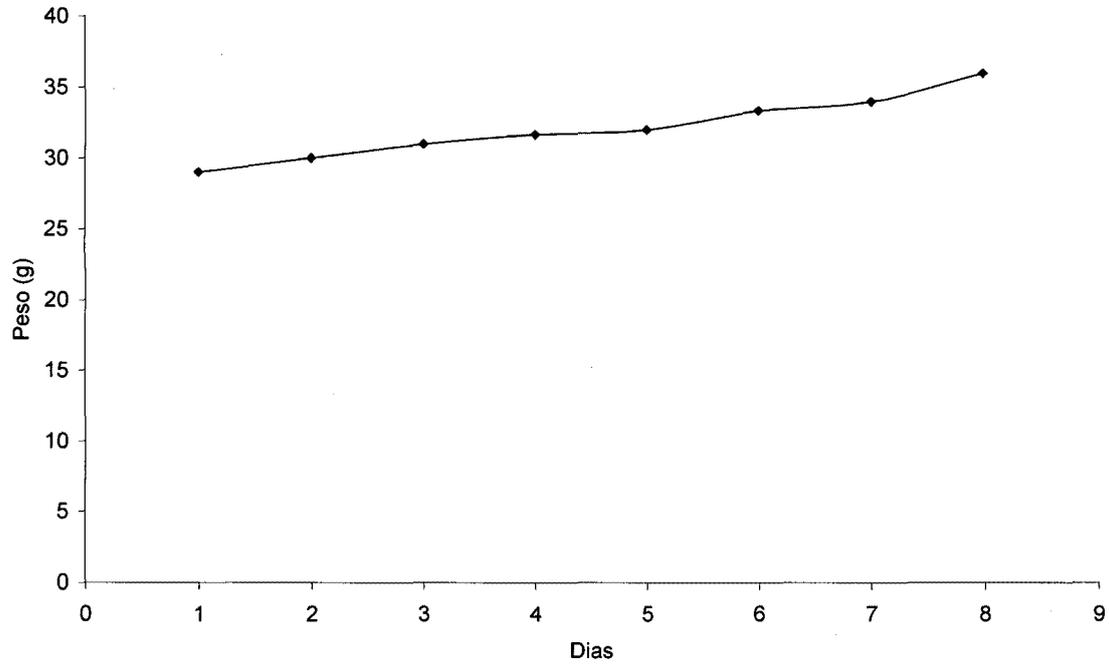


Figura 5

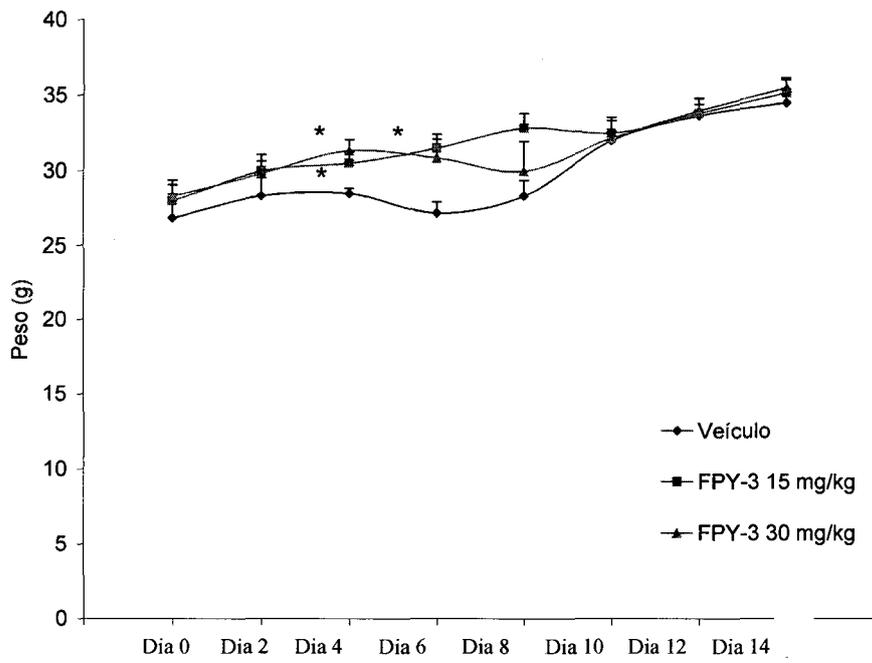
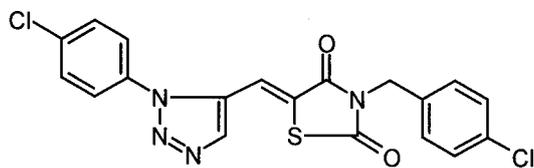
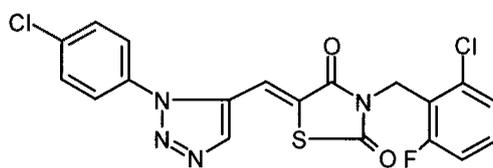


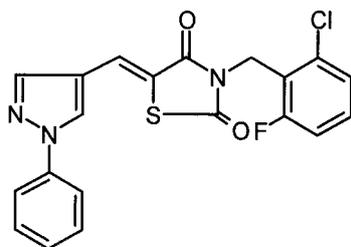
Figura 6



FPT-2

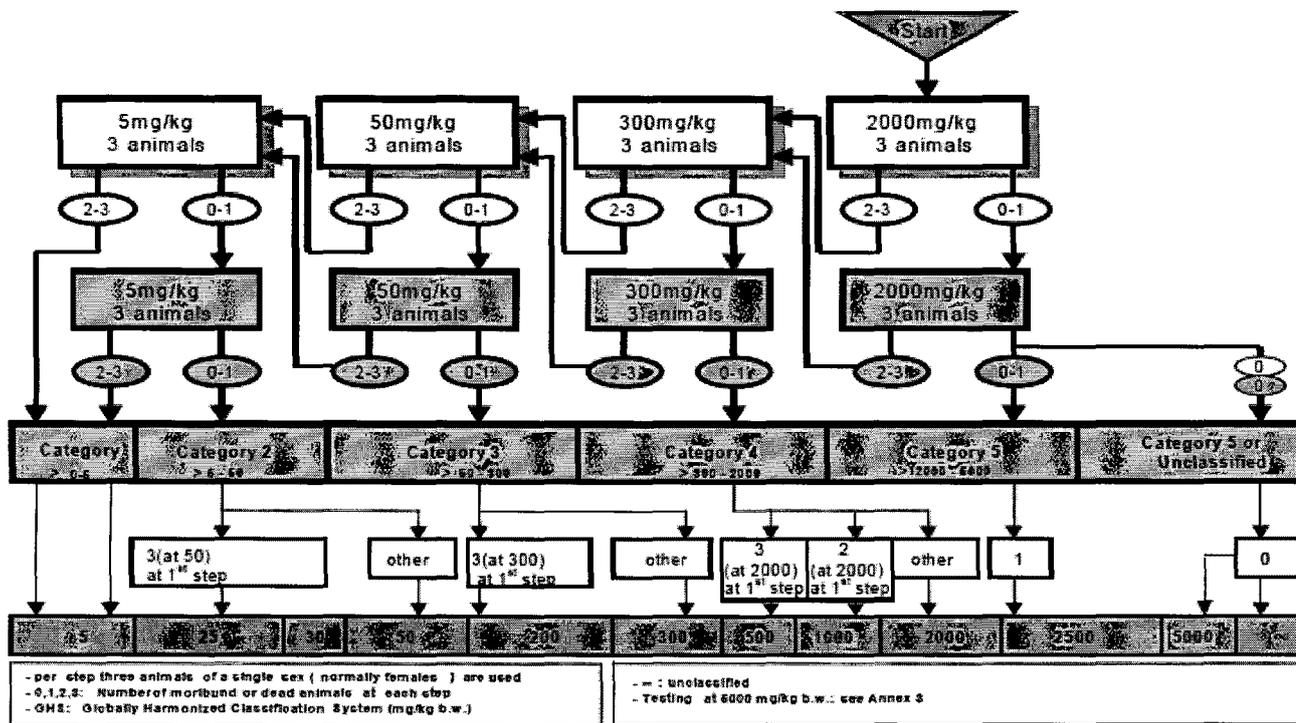


FPT-4



FPY-3

Figura 7



Esquema 1.

Resumo

DERIVADOS BENZILTIAZOLIDINÔNICOS ÚTEIS NO TRATAMENTO DA ESQUIZOFRENIA

A presente invenção descreve derivados benziltiazolidinônicos e composições farmacêuticas compreendendo os mesmos; estes compostos foram ativos em modelos animais de esquizofrenia, com as vantagens de não acarretarem em efeitos adversos típicos dos antipsicóticos, pois apresentaram menor incidência de catatonia e efeito sobre a coordenação motora quando comparados com outros agentes antipsicóticos, o haloperidol e a clozapina, e não apresentaram efeito depressor do sistema nervoso central; as moléculas apresentaram efeito nos modelos de *climbing* induzido por apomorfina, na hiperlocomoção induzida por cetamina e no modelo de inibição do sobressalto por pré-pulso. FPY-3 não apresentou efeito tóxico em 14 dias de tratamento, sendo potencialmente útil para o tratamento da esquizofrenia.