

José António Maciel Beleza Ferraz

Efeito do substituinte
“-F” na interacção “Fármaco-Receptor” em Benzodiazepinas



Faculdade de Ciências da Saúde

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2010

José António Maciel Beleza Ferraz

**Efeito do substituinte
“-F” na interacção “Fármaco-Receptor” em Benzodiazepinas**



Faculdade de Ciências da Saúde
Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2010

José António Maciel Beleza Ferraz

**Efeito do substituinte
“-F” na interacção “Fármaco-Receptor” em Benzodiazepinas**



Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos
para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas

Porto, 2010

Sumário

Neste trabalho pretendeu-se avaliar o efeito do substituinte “-F” na interacção “Fármaco-Receptor” em Benzodiazepinas (BZD). O flúor é o elemento mais electronegativo da tabela periódica, pelo que, confere à ligação C-F características únicas que influenciam parâmetros físico-químicos como distribuição de cargas, lipofilicidade e estabilidade. Estas, por sua vez, podem ter um papel importante na acção farmacológica da substância, nomeadamente, quanto à sua distribuição e ligação ao receptor proteico. Neste sentido, avaliou-se em termos quantitativos o efeito electrónico da presença de flúor em Benzodiazepinas, recorrendo-se para tal à química computacional. Executaram-se optimizações geométricas das moléculas, cálculos das suas cargas atómicas e cálculos das superfícies isoelectrónicas. Para além do efeito do substituinte fluorado, avaliou-se em simultâneo o efeito electrónico do substituinte $-NO_2$, uma vez que, foi verificada que as BZD comerciais fluoradas também apresentam este substituinte.

Verificou-se que as principais diferenças estruturais entre as Benzodiazepinas estudadas eram devidas à presença de um átomo de flúor ligado em posição C2'. Os estudos demonstraram que a ligação do carbono aromático ao flúor inverte a polaridade do primeiro elemento e que o -F, possuidor de carga $-\delta$, interactuará com mais intensidade com moléculas carregadas positivamente. Estas diferenças condicionam a natureza das ligações intramoleculares e a ligação do ligando-receptor, no caso de formação de uma supra-estrutura do tipo fármaco-receptor.

Abstract

In the study the electronic effect of the substituent "-F" interaction "Drug-Receptor" in Benzodiazepines (BZD) has been evaluated. Fluorine is the most electronegative element in the periodic table, giving to the C-F bond unique characteristics that may influence physicochemical parameters as charge distribution, lipophilicity and stability. These, in turn, may have an important role in the pharmacological action of the substance, particularly in which concerns the distribution of charge within the drug and its subsequently receptor binding. Thus the quantitative evaluation of the electronic effect of the presence of fluoride in Benzodiazepines was performed by computational chemistry. The geometrical optimizations for the molecules, the calculation of their atomic charges and isopotential surfaces were made. Besides the effect of the fluorinated substituent, the effect of electronic substituent -NO₂ was evaluated simultaneously, since it was verified that commercial BZD containing fluorine also have the nitro group.

It was found that the main structural differences between the studied benzodiazepines were due to the presence of a fluorine atom attached in position C2'. The results have shown that the binding of aromatic carbon to fluorine reverses the polarity of the carbon atom and the -F would have and $-\delta$ type dipole allowing for a stronger interaction with residues positively charged. These differences may affect the nature of receptor-ligand binding when a supra-structure of drug-receptor type is formed.

Agradecimentos

À minha Família e Amigos por todo o apoio.

À Senhora Professora Doutora Lúcia Rebelo Gomes pela preocupação, pela oportunidade, pela compreensão, pelos ensinamentos e por toda a ajuda disponibilizada.

Glossário

Siglas

BZ e BDZ - Benzodiazepina

BZR - Receptor das Benzodiazepinas

DFT – Density Funcional Theory

DMCM - Metil-6,7-Dimetoxi-4-Etil-Beta-Carbolina-3-Carboxilato, Fármaco da Família das β -Carbolinas

EEG - Electroencefalograma

ESP – Potencial Electrostático

FDA - Food and Drug Administration

GABA - Ácido Gama-aminobutírico

GAD - Distúrbio da Ansiedade Generalizada, Generalized Anxiety Disorder

HIV- Human Immunodeficiency Virus, Síndrome Da Imunodeficiência Adquirida (SIDA)

OCD - Distúrbio Obsessivo-Compulsivo, Obsessive-Compulsive Disorder

PD - Pânico, Panic Disorder

NPA – Natural Population Analysis

NREM- Non-Rapid Eye Movements

PTSD - Stress Pós-Traumático, Pos-traumatic Stress Disorder

REM - Rapid Eye Movements

SAD- Distúrbio de Ansiedade Social, Social Anxiety Disorder

SCF - Self Consisting Field – Superfície de Densidade Electronica

SP - Fobia Social ou Desordem Ansiosa Social, Social Phobia

SNC - Sistema Nervoso Central

t_{1/2}- Tempo de Semi-vida

Índice

Glossário	iv
Índice	v
Índice de Figuras	vii
Índice de Tabelas	ix
I. Introdução	1
1. Considerações Gerais	3
2. Breve resenha histórica.....	5
II. Características farmacológicas das benzodiazepinas.....	11
1. Acção farmacológica	13
2. Efeitos Secundários	15
3. Farmacocinética: aspectos gerais.....	18
3.1. Absorção.....	19
3.2. Distribuição	20
3.3. Metabolismo	22
3.4. Eliminação.....	25
4. Farmacocinética dos compostos em estudo.....	26
4.1. 7-clorobenzodiazepinas	26
4.2. 7-nitrobenzodiazepinas.....	29
III. Receptores do SNC para as Benzodiazepinas	37
1. Notas introdutórias	39
IV. Objectivos e métodos	47
1. Considerações gerais	49
2. Química Computacional.....	51
V. Resultados e discussão.....	55
1. Optimizações geométricas.....	57
2. Aspectos conformacionais.....	59
3. Polaridades e distribuição de cargas.....	61
4. Superfícies de isopotencial electrónico	67
VI. Considerações finais.....	71
1. Considerações finais.....	73
Bibliografia.....	77
Anexos.....	87

Quadro A- 1 - Características Farmacocinéticas e Farmacodinâmicas das principais Benzodiazepinas	88
Quadro A- 2 - Benzodiazepinas.....	96

Índice de Figuras

Figura 1 – Síntese de bases orgânicas a partir da molécula das benzoheptoxidiazinas	7
Figura 2 – Esquema que ilustra o aparecimento da primeira 1,4-benzodiazepina designada por clordiazepóxido	7
Figura 3 – Diazepam, composto líder das 1,4-benzodiazepinas, sintetizado por Leo H. Sternbach para a firma Roche.	8
Figura 4 – Esquema geral de uma 1,4-dibenzodiazepina com a numeração dos átomos e identificação dos anéis.	9
Figura 5 – Vias metabólicas das BZs ansiolíticas.	22
Figura 6 – Estrutura química do composto “líder” das BZs, o diazepam.	27
Figura 7 – Vias metabólicas do Diazepam	27
Figura 8 – Estrutura química do oxazepam	28
Figura 9 – Estrutura química do flurazepam	29
Figura 10 – Estrutura química do nitrazepam.	30
Figura 11 – Estrutura química do clonazepam.	30
Figura 12 – Estrutura química do flunitrazepam.	32
Figura 13 – Características químicas e vias metabólicas do flunitrazepam	35
Figura 14 – Estrutura esquemática do GABA _A	40
Figura 15 – Estrutura do receptor GABA _A vista em posição transmembranar (em cima) e vista do topo da parte extracelular da membrana celular.	41
Figura 16 – Localizações relativas dos domínios e regiões de um modelo unificado de receptor/farmacóforo.	44
Figura 17 – Geometrias otimizadas para os compostos estudados obtidas por cálculos <i>ab initio</i> no nível de teoria B3LYP/6-311G++(d,p).	57
Figura 18 – Esquema geral representativo da conformação típica das benzodiazepinas.	59
Figura 19 – Geometrias otimizadas para os compostos estudados obtidas por cálculos <i>ab initio</i> no nível de teoria B3LYP/6-311G++(d,p), evidenciando a projecção da conformação em barco do anel diazepínico e o ângulo existente entre o anel aromático da BZ e do substituinte fenílico em C5.	62

Figura 20 – Representação gráfica do valor do momento dipolar obtido para cada substância otimizada.	63
Figura 21 – Representação das distribuições de cargas para os compostos 7-Cl-1-Me-2’H-BZ (1.a) , 7-Cl-2’F-BZ (1.c) e 7-NO ₂ -2’Cl-BZ (2.b)...	66
Figura 22 – Potencial electrostático representado em superfícies de densidade iso-electrónica para duas 7-Cl bdz: a) o diazepam (7-Cl-1-Me-2’H-BZ). b) flurazepam (7-Cl-1-N(Et)3-2’F-BZ).	68
Figura 23 – Potencial electrostático representado em superfícies de densidade iso-electrónica para a) nitrazepam (7-NO ₂ -2’H-BZ) b) o clonazepam (7-NO ₂ -2’Cl-BZ). c) flunitrazepam (7-NO ₂ -1Me-2’F-BZ)..	69
Figura 24 – Representação das locais de ligação do diazepam ao local activo do receptor das benzodiazepinas (subtipo do receptor GABA _A $\alpha_1\beta_2\gamma_2$) no modelo unificado do receptor/farmacóforo proposto por Clayton e colaboradores.	74
Figura 25 – Potencial electrostático representado em superfícies de densidade iso-electrónica para o Diazepam..	75
Figura 26 – Potencial electrostático representado em superfícies de densidade iso-electrónica para o flunitrazepam.	76

Índice de Tabelas

Tabela I – Cronologia de lançamento no mercado de algumas Benzodiazepinas	10
Tabela II – Velocidade de absorção após administração por via oral	19
Tabela III – Tempos de semi-vida biológica ($t_{1/2}$) de algumas BZs e seus metabolitos activos	24
Tabela IV – Acção das BZs no subtipo de receptor GABA _A $\alpha_{1-6}\beta_3\gamma_2$	43
Tabela V – Nome vulgar, nome sistemático e notação adoptada para os compostos derivados do anel benzodiazepínico estudados.	52
Tabela VI – Energias mínimas e momentos dipolares para os compostos 1.a-d e 2.a-f obtidos ao nível de teoria B3LYP/6-311G++(d,p).	58
Tabela VII – Alguns aspectos geométricos relevantes para as benzodiazepinas estudadas: a refere-se ao ângulo entre os átomos C12-C5- N4, b ao existente entre os átomos C5- N4-C3 e T ao ângulo de torção em torno da ligação C5-Ph, obtidos ao nível de teoria B3LYP/6-311G++(d,p).	60
Tabela VIII – Distribuição de cargas (e) para os benzodiazepinas utilizadas, calculadas por NPO no nível de teoria B3LYP/6-311++G(d,p).	64

I. Introdução

1. Considerações Gerais

Designa-se por benzodiazepinas (BZs) um grupo de fármacos amplamente utilizado para o tratamento de distúrbios da ansiedade. O conceito de ansiedade é de difícil definição, sendo entendido por alguns autores como “*o medo sem motivo*” (Osswald e Guimarães, 2001). Pode mesmo dizer-se que a ansiedade é uma emoção normal que todas as pessoas sentem com maior ou menor intensidade no seu dia-a-dia, ao enfrentar problemas mais ou menos complicados de resolver, causadores de situações de *stress*. Estas situações, descritas como sensações extremamente desagradáveis acompanhadas de uma tensão mental excessiva, são encaradas por muitas pessoas como parte integrante da sua vida normal. No entanto, há um número muito significativo de indivíduos que, segundo a U.S.National Comorbidity Survey já excede os 19,3 % da população, vivem estados de ansiedade crónicos. De acordo com os membros da Associação Americana de Psiquiatria (2000), a ansiedade não é uma única desordem psíquica, mas sim um grupo de diversas desordens do foro psíquico, com epidemiologia e sintomas próprios e critérios específicos de diagnóstico. O grupo das doenças de distúrbios de ansiedade, são das mais comuns doenças psiquiátricas, com taxas de incidência da ordem dos 16% a 25% (Abraham, 2003; Kessler e Frank, 1997; Walley *et al.*, 1994). Prevê-se que no futuro, uma em cada cinco pessoas sofrerão de distúrbios da ansiedade.

Os estados ansiosos crónicos podem caracterizar-se como sendo estímulos desajustados que podem traduzir-se em manifestações fisiológicas involuntárias como suores frios, taquicardia, palpitações, tonturas, náuseas, insónias, aumento da micção, dores abdominais, irritabilidade e diminuição da concentração. Nestes casos, a ansiedade não é um fenómeno humano normal, mas sim um fenómeno patológico porque interfere com o bem-estar geral e a actividade do indivíduo. Estes distúrbios da ansiedade no paciente são muito debilitantes porque originam situações de preocupação e apreensão opressivas, acompanhadas de sentimentos de desamparo e incapacidade para competir, podendo resultar no comprometimento da produtividade do indivíduo e das suas funções sociais. De facto, estudos epidemiológicos recentes revelaram que a ansiedade é a segunda causa de depressão que pode originar um grande absentismo ao trabalho e redução da produtividade (Kessler e Frank, 1997).

Existem vários tipos de distúrbios da ansiedade com quadros clínicos bem definidos, tais como o Distúrbio da Ansiedade Generalizada (Generalized Anxiety Disorder- GAD), a Fobia Social ou Desordem Ansiosa Social (Social Phobia, SP ou Social Anxiety Disorder, SAD), Pânico (Panic Disorder, PD), Distúrbio Obsessivo-Compulsivo (Obsessive-Compulsive Disorder, OCD), *Stress* Pós-Traumático (Post-traumatic Stress Disorder, PTSD) e Fobias Específicas. Estas últimas situações são, provavelmente, as mais familiares dos distúrbios da ansiedade. Caracterizam-se por um medo desproporcionado de um objecto ou de um animal (aranha, cobra) ou de uma situação (andar de avião, levar uma injeção). Os distúrbios da ansiedade são doenças crónicas e a terapia farmacológica pode ser aplicada durante meses ou até anos, particularmente para os casos dos distúrbios da ansiedade com menos sucesso de cura, como a OCD e a PTSD (Abraham, 2003). A eficácia dos tratamentos é variável em função do tipo de ansiedade diagnosticada, sendo, por isso, necessário fazer um rigoroso diagnóstico para, posteriormente, proceder à terapia mais adequada. O uso profilático de ansiolíticos para situações previsíveis de *stress* é útil, mas o tratamento prolongado tem menos sucesso que o tratamento comportamental no caso de fobias específicas.

Os distúrbios da ansiedade prejudicam, muitas vezes, a qualidade do sono. Um terço da nossa vida é passada a dormir, tendo o sono uma importância fundamental para uma vida saudável, uma vez que influencia o nosso bem-estar físico, psicológico e social. Sendo assim, o sono é actualmente objecto de um elevado número de investigações clínicas, produzidas por grupos de investigadores de todo o mundo. Este despertar dos profissionais de saúde para a importância do sono e da sua influência na actividade profissional dos indivíduos, consciencializou-os para a necessidade de tratar os distúrbios do sono, ou seja, a insónia. Neste contexto, os resultados das investigações sobre os distúrbios do sono incentivaram a indústria farmacêutica a investir na descoberta de novas soluções, produzindo novos medicamentos, para tentar resolver de forma eficaz os distúrbios do sono.

Para que um medicamento funcione de forma ideal, como hipnótico, deve induzir o sono de forma rápida após a sua administração, manter o sono por um período de tempo adequado, evitando que o indivíduo acorde durante a noite e promova um estado de sono o mais idêntico possível ao sono normal não induzido por fármacos. Ao acordar, o paciente deve sentir-se restabelecido e descansado e na posse de todas as capacidades de

coordenação motora e psicomotora. Não deve causar no paciente dependência nem habituação, nem deve acumular-se no organismo quando usado de forma continuada. No entanto, quando interrompido o tratamento, não deve causar insônia, nem exacerbar a apneia do sono ou outras condições que contribuam para o aparecimento de distúrbios do sono. Este fármaco ideal não provocaria efeitos secundários indesejáveis, assim como, não provocaria indução enzimática nem teria interações com outras substâncias terapêuticas usadas pelo paciente. E, para atingir a perfeição, deveria ser comercializado com um preço muito acessível.

Foi o esforço conjunto de equipas multidisciplinares no âmbito da saúde, que levou à descoberta de fármacos como as BZs, amplamente utilizadas no tratamento da insônia, como sedativos e hipnóticos. De facto, estas representam hoje em dia o mais importante grupo de fármacos envolvidos no tratamento da ansiedade e dos distúrbios do sono (Sternbach, 1994). As substâncias ansiolíticas que estão actualmente no mercado devem a sua génese ao serendipismo aliado a um racional e programado *design* molecular. O *design* molecular é uma ciência em profundo desenvolvimento cujo principal objectivo é a descoberta de novas moléculas das quais já se faz estudo elaborado nas várias vertentes da sua caracterização físico-química, farmacocinética, farmacodinâmica e até estudos de relação estrutura/actividade, mesmo antes da sua síntese em laboratório. Para isso, os investigadores têm, actualmente, inovadoras ferramentas de trabalho na área de programas informáticos e uma consciência da imprescindível colaboração interdisciplinar para que o trabalho científico progrida rapidamente e com sucesso.

2. Breve resenha histórica

Desde sempre o homem recorreu ao uso de diferentes substâncias para aliviar os seus estados de ansiedade. O álcool foi provavelmente, a substância mais antiga utilizada para esse fim, continuando o seu uso como ansiolítico por centenas de anos. Actualmente continua a ser usado, de forma generalizada, para automedicação da ansiedade, por um elevado número de indivíduos. Em 1853 foram introduzidos no tratamento clínico de distúrbios da ansiedade os brometos, primeiro como sedativos e mais tarde como hipnóticos. No início do século passado foram introduzidos alguns medicamentos depressores do Sistema Nervoso Central (SNC) como, por exemplo, o hidrato de cloral, o paraldeído, o uretano e o sulfural, utilizados como sedativos/hipnóticos. Uns anos mais tarde, os barbitúricos e os carbamatos foram

também utilizados, apesar destes compostos estarem associados a efeitos sedativos significativos, assim como a graves efeitos de risco, como a dependência, alta toxicidade na overdose e potencial interacção letal com o álcool (Ferreira, 1992).

Em 1950, cientes dos elevados riscos dos barbitúricos no tratamento da ansiedade, os cientistas canalizaram os seus esforços para a descoberta de novas substâncias tranquilizantes. Contudo, a descoberta dessas novas substâncias parece ter sido obra de um feliz acaso (serendipismo), que merece ser descrito. Aconteceu nos laboratórios químicos Hoffman-La Roche em Nova Jersey, quando o Dr. Leo Sternbach pretendia transformar uma série de compostos, as “benzoheptoxidiazinas” (Bakish *et al.*, 1993), previamente investigados por ele como corantes, na Universidade Jagiellonian em Krakón na Polónia. Decorridos cinco anos, Sternbach abandonou esta ideia, por não ter conhecimento de nenhum receptor específico destas substâncias, embora não tenha posto de lado as suas investigações químicas sobre as mesmas. Dois anos mais tarde, em 1957, Earl Reeder, assistente de Sternbach, enquanto procedia à limpeza do laboratório, encontrou uma pequena quantidade de um composto cristalino resultante da reacção da quinazolina N-óxido com a metilamina que não tinha sido submetido a quaisquer testes biológicos. O composto foi então devidamente submetido a testes biológicos adequados, embora ninguém estivesse conscientemente à espera dos resultados que vieram a confirmar-se, decorridos alguns dias. Sternbach e seus colaboradores ficaram atónitos, quando foram informados do impressionante perfil de actividades biológicas que o composto possuía, incluindo propriedades sedativas, miorelaxantes, ansiolíticas e anticonvulsivantes, propriedades essas que igualavam ou, até mesmo, suplantavam as propriedades dos compostos até então utilizados para as mesmas situações. Foi deste modo que se deu o primeiro passo na revolução do tratamento dos distúrbios da ansiedade. Esta descoberta incrementou o desenvolvimento de outros estudos cujos resultados revelaram uma baixa toxicidade do composto, o que representou um grande avanço relativamente aos compostos até então utilizados.

De acordo com Uhlenhuth *et al.* (1999), é evidente que, à luz de conhecimentos muito precisos na área da química médica, sobre a ligação direccionada e específica entre fármacos e receptores, os investigadores possuem bases seguras para privilegiarem determinados compostos em detrimento de outros, apoiados não só nos conhecimentos actuais da estrutura/actividade, como também nos modelos informáticos para simplificar a

tarefa de prever as substituições mais favoráveis ao efeito farmacológico pretendido. Neste contexto, pode verificar-se que um elevado número de agentes que actuam no SNC são bases orgânicas e que a essência da estratégia de pesquisa é introduzir grupos básicos na molécula das benzoheptoxidiazinas, por reacção do cloro com aminas secundárias, como pode observar-se na figura 1.

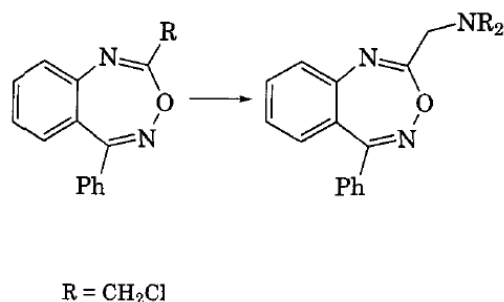


Figura 1 – Síntese de bases orgânicas a partir da molécula das benzoheptoxidiazinas

O processo de síntese representado na figura 1, permitiu obter vários compostos orgânicos, contudo, nenhum deles demonstrou possuir uma actividade biológica relevante. Mais tarde, estudos efectuados sobre a estrutura química da molécula das benzoheptoxidiazinas, revelaram que foi atribuída à molécula destes compostos uma estrutura errada e que as benzoheptoxidiazinas eram, na realidade, quinazolininas N-óxidos (Uhlenhuth *et al.*, 1999). Como se pode observar na figura 2, nas reacções de síntese terá ocorrido uma inesperada expansão do anel B dando origem à primeira 1,4-benzodiazepina, o clordiazepóxido.

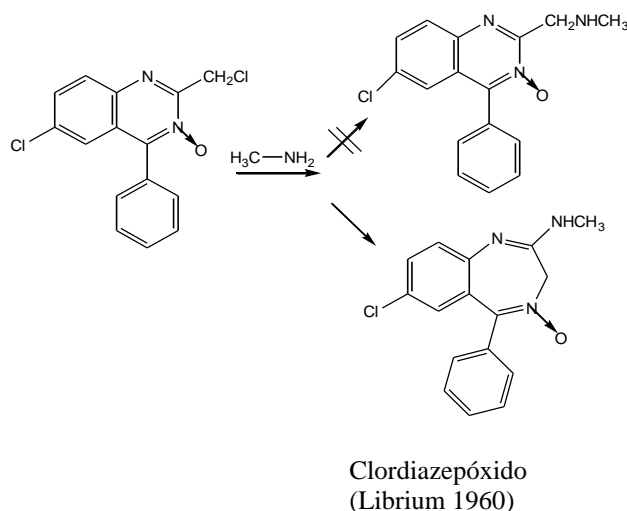


Figura 2 – Esquema que ilustra o aparecimento da primeira 1,4-benzodiazepina designada por clordiazepóxido

Este composto, clordiazepóxido, prosseguiu rapidamente para estudos clínicos nos quais se obtiveram excelentes resultados. Assim, esta BZ foi aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA) e, posteriormente comercializado com a designação de Librium®, em 1960, decorridos dois anos após os estudos farmacológicos. Estudos posteriores melhoraram o perfil farmacológico do clordiazepóxido e, 3 anos mais tarde, em 1963, é lançado no mercado o Valium® (diazepam) que se veio a transformar numa dos mais populares fármacos da história, representado na figura 3.

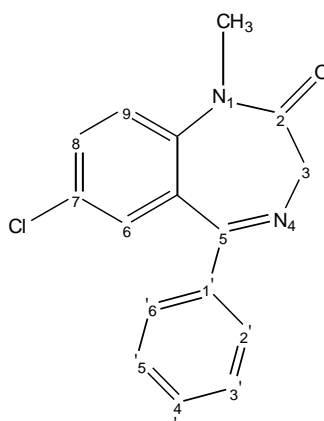


Figura 3 – Diazepam, composto líder das 1,4-benzodiazepinas, sintetizado por Leo H. Sternbach para a firma Roche. Este composto mostrou ser 10 vezes mais potente que o clordiazepóxido.

Este sucesso criou um intenso e generalizado interesse nas benzodiazepinas (BZs), cuja fórmula geral se encontra esquematizada na figura 4 e durante as próximas duas décadas mais de 30 membros desta classe terapêutica chegaram ao mercado como ansiolíticos, sedativos-hipnóticos e anticonvulsivantes. Nos últimos 40 anos, as BZs têm sido os fármacos ansiolíticos mais profusamente prescritos e, apesar da sua dominância estar em vias de substituição por outros medicamentos alternativos, como a buspirona e fármacos que actuam como recaptadores da serotonina, elas continuam a ser muito populares (Woods *et al.*, 1992).

Actualmente, um grande número de substâncias terapêuticas com vários mecanismos de acção, estão disponíveis para o tratamento farmacológico dos distúrbios de ansiedade (Uhlenhuth *et al.*, 1999). Embora se pense que as BZs disponíveis manifestam qualitativamente efeitos neurofarmacológicos quase idênticos, poder-se-á perguntar se é clinicamente justificável que sejam comercializados tantos compostos similares. A resposta será afirmativa atendendo ao factor individual e ao factor eficácia clínica,

pretendendo-se que se desenvolvam ainda BZs eficazes na redução da ansiedade sem provocarem sonolência, ou seja, diminuir o seu espectro de acção. Para atingir estes objectivos é indispensável desenvolver mais estudos relativos aos sub-tipos de receptores e produção de novos ligandos.

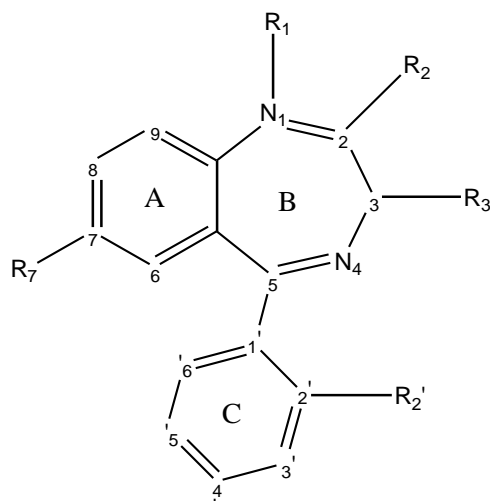


Figura 4 – Esquema geral de uma 1,4-dibenzodiazepina com a numeração dos átomos e identificação dos anéis.

Em Portugal, o consumo de BZs foi considerado como preocupante pelo International Narcotic Boarding, pelo que a tendência de estabilização da utilização destes fármacos, nos últimos anos, parece ser um dado positivo (Furtado e Teixeira, 2005). A Tabela I apresenta a cronologia de lançamento no mercado de algumas Bzs mais comuns.

Efeito do substituinte “-F” na interação “Fármaco-Receptor” em Benzodiazepinas

Tabela I – Cronologia de lançamento no mercado de algumas Benzodiazepinas (Abraham, 2003).

(DCI): DENOMINAÇÃO COMUM INTERNACIONAL	NOME DE MARCA	LABORATÓRIO	CLASSE QUÍMICA (Subgrupo)	LANÇAMENTO	DOSE
CLONAZEPAM	RIVOTRIL®	ROCHE	1,3-DIHDRO -2-CETONA	1963	1,5-4 p.o.
DIAZEPAM	VALIUM®	ROCHE	1, 3- DIHDRO-2-CETONA	1963	5-15 p.o.
NITRAZEPAM	MOGADON®	ROCHE	NITROBENZODIAZEPINA	1965	6-10 p.o.
CLORAZEPATO DE POTÁSSIO	TRANXENE®	SANOFFI/ABBOTT	BENZODIAZEPINA CARBOXILADA	1967	6-20 p.o.
FLURAZEPAM	DALMADORM®	ROCHE	FLUROFENIL- BENZONDIAZEPINONA	1968	10-30 p.o.
TEMAZEPAM	REMESIAN®	WYETH-AYERST	BENZODIAZEPINONA	1969	5-30 p.o.
LORAZEPAM	NORMISON® RESTORIL® ACTIVAN®	NOVARTIS WYETH-AYERST	CLOROFENIL-BENZODIAZEPINA	1971	1-2.5 p.o. 25-60µg/Kg i.v.
BROMAZEPAM	LEXOTAN®	ROCHE	PIRIDINIL-BENZODIAZEPINA	1973	3-6 p.o.
BROTIZOLAM	LENDORMIN®	BOEHRINGER INGELHEIM	TRIAZOLO-DIAZEPINA	1974	0.25-0.50 p.o.
FLUNITRAZEPAM	ROHIPNOL®	ROCHE	NITRO-BENZODIAZEPINONA	1974	1-2 p.o.
NORDAZEPAM/DESMETILDIAZEPAM	MADAR®	RAVIZZA (ITÁLIA) BASF/ABBOTT	BENZODIAZEPINONA	1975	2.5-10 p.o.
ESTAZOLAM	EURODIN® ESTIGAN®	SCHINPARELLI (ITÁLIA)	TRINXOLO-BENZODIAZEPINA	1976	2-4 p.o.
NIMETAZEPAM	ERIMIN®	SUMITOMO (JAPÃO)	NITROBENZODIAZEPINA	1977	3-5 p.o.
TRIAZOLAM	HALCION®	UPJOHN (PHARMA&CIA)	TRIAZOLO-BENZODIAZEPINA	1978	0.125-0.50 p.o.
DELORAZEPAM	EN®	RAVIZZA (ITÁLIA) BASF/ABBOTT	CLORDESMETIL-DIAZEPAM	1980	0.5-2.0p.o.
LORMETAZEPAM	NOCTAMID®	SCHERING AG	CLOROFENIL-BENZODIAZEPINA	1980	0.5-2 p.o.
MIDAZOLAM	LORAMET®	WYETH-AWERST	IMIDAZO-BENZODIAZEPINA	1982	7.5-15 p.o.; 2.5-7.6 i.v.
LOPRAZOLAM	DORMICUM®	ROCHE	PIPERAZINIL-METIL- BENZODIAZEPINA	1983	0.5-2 p.o.
QUAZEPAM	DORMONCT®	AVENTIS	BENZODIAZEPINA		
	QUAZIUM®	SCHERING-PLOUGH (ITÁLIA)	TRIFLUOROETIL- BENZODIAZEPINA	1985	15 p.o.
	DORAL®	WALLACE (US)			
DOXEFAZEPAM	DOXANE®	SEARLE	HIDROXIETIL-BENZODIAZEPINA	1988	6-20 p.o.
CINOLAZEPAM	GERODORM®	GEROT (AUSTRIA)	BENZODIAZEPINA- PROPIONITRILO	1992	6-20 p.o.

II. Características farmacológicas das benzodiazepinas

1. Acção farmacológica

As BZs têm diferentes acções clínicas que se relacionam não só com o efeito ansiolítico, como também numa acção anti-convulsiva, relaxante muscular, sedativa e hipnótica.

As BZs são fármacos depressores selectivos do Sistema Nervoso Central, pelo que os seus efeitos variam desde um efeito ansiolítico até à indução do sono (BZs hipnóticas), sem interferir significativamente nas outras funções cerebrais. Estes fármacos são difíceis de diferenciar quanto às suas propriedades ansiolíticas ou hipnóticas na medida em que todas as BZs são ansiolíticas e que todas podem actuar modificando o sono, desde que se atinjam determinadas doses. A distinção entre BZs ansiolíticas e BZs hipnóticas é feita com base no facto de as BZs hipnóticas serem fármacos potentes que podem, por isso, modificar as condições do sono com a sua administração em doses relativamente baixas, enquanto as BZs consideradas ansiolíticas são fármacos menos potentes, o que permite utilizá-las com fins ansiolíticos, sem que a sua acção tenha repercussão significativa no sono do indivíduo (Guedes, 2008).

As vantagens que as BZs apresentam, relativamente a fármacos com efeitos farmacológicos semelhantes, são inúmeras das quais se podem realçar as seguintes:

- Possuem múltiplos efeitos nas estruturas do SNC, incluindo sedação, hipnose, diminuição da ansiedade, relaxamento muscular e acção anti-convulsiva;
- Não são fármacos depressores neuronais gerais como os barbitúricos;
- As BZs apresentam perfis farmacológicos similares, mas diferem umas das outras na sua selectividade, podendo ser utilizadas para vários objectivos terapêuticos;
- As BZs facilitam e aumentam a transmissão GABAérgica em todas as estruturas do SNC;
- Todos os efeitos das BZs, que são mediadas por receptores, podem ser evitados ou revertidos por fármacos que actuam como antagonistas selectivos das mesmas;
- As BZs demonstram possuir uma menor tendência para criarem dependência e tolerância quando comparadas com outros fármacos utilizados como

ansiolíticos e sedativo-hipnóticos, especialmente quando as comparamos com os barbitúricos.

- As BZs possuem menor potencial para criarem situações de abuso, que possam conduzir a uma overdose, uma vez que são fármacos mais seguros, não estando a dose terapêutica muito próxima da dose tóxica (maior janela terapêutica),
- As interacções das BZs com outros fármacos que também são metabolizados pelo fígado são menores, porque as BZs não induzem as enzimas microssomais hepáticas.

Um ciclo completo de sono consiste numa sequência de sono do tipo não REM (NREM- *non-rapid eye movements*) e sono do tipo REM (*rapid eye movements*), demorando cada ciclo de sono, aproximadamente, 90 a 110 minutos. Durante uma noite de sono, um indivíduo experimenta entre três a cinco períodos de sono REM que ocorrem em períodos de 90 a 110 minutos alternados com os ciclos do tipo não REM (NREM). Estudos de derivação do sono demonstraram que um indivíduo necessita de ambos os ciclos de sono para uma noite saudável e restabeecedora (Abraham, 2003).

As BZs hipnóticas reduzem o tempo de adormecer, aumentam o tempo de sono total e reduzem a frequência do despertar nocturno. O traçado electroencefalográfico e as fases de sono são pouco alterados, embora se observe um encurtamento dos períodos de tempo dos ciclos de sono REM (*rapid eye movements*), embora o seu número aumente. O aumento do tempo total de sono deve-se ao aumento do sono que não é do tipo REM (NREM- *non-rapid eye movements*) (Osswald e Guimarães, 2001).

Esta sobreposição de actividades farmacodinâmicas das BZs dificulta a distinção entre sedativos e verdadeiros ansiolíticos, e a classificação das BZs como agentes ansiolíticos é baseada profundamente em considerações farmacocinéticas, relacionadas com o tempo de semi-vida ($t_{1/2}$) destes fármacos. Alguns autores consideram que as BZs de longo e de curto tempo de semi-vida poderão ser utilizadas, respectivamente, como ansiolíticos e hipnóticos.

Apesar das BZs mostrarem um efeito ansiolítico robusto, muitos dos ensaios clínicos foram conduzidos antes da classificação actual das doenças de desordem de ansiedade

estar disponível. Como resultado, o conhecimento da sua eficácia nas desordens de ansiedade discretas é incompleto.

Na prática clínica, as BZs são largamente usadas na distúrbio de ansiedade generalizada e utilizadas como medicação profilática em situações de ansiedade, com o diazepam a liderar a escolha mais popular (Kessler e Frank., 1997).

Os Quadros A-1 e A-2, em anexo, apresentam algumas das BZs mais utilizadas, com referência às suas principais características farmacocinéticas e farmacodinâmicas. Para além das indicadas, outras BZs, também utilizadas frequentemente, são o clordiazepóxido, clorazepato de dipotássio, lorazepam, alprazolam, oxazepam, bromazepam e clonazepam (Van Ameringen *et al.*, 2000; Walley *et al.*, 1994).

As taxas de resposta dos doentes à terapêutica são altas e o início do efeito terapêutico é imediato. As BZs são também eficazes na fobia social, com o clonazepam a mostrar uma taxa de resposta superior ao alprazolam (Davidson *et al.*, 1993; Gelertner *et al.*, 1991). O alprazolam e o clonazepam são as únicas BZs aprovadas para o tratamento do pânico (PD), apesar de outras BZs de alta potência, como o lorazepam, também mostrarem um efeito similar. As BZs de baixa potência, como o diazepam, requerem doses mais elevadas para tratamento do pânico (*PD-Panic Disorder*) e mesmo o alprazolam tem que ser utilizado em doses mais elevadas do que as utilizadas para o tratamento do distúrbio da ansiedade generalizado (*GAD-Generalized Anxiety Disorder*), o que reflecte a resistência da PD à farmacoterapia. Há pouca evidência da eficácia das BZs na OCD (*Obsessive-Compulsive Disorder*) ou PTSD (*Postrumatic Stress Disorder*), e nenhuma BZ foi aprovada especificamente para estas doenças (Abraham, 2003).

2. Efeitos Secundários

Como classe, as benzodiazepinas demonstraram um notável perfil de segurança e a sua elevada tolerância foi um factor determinante na sua aceitação generalizada e sucesso fenomenal.

As BZs têm o potencial de produzirem efeitos secundários e situações de dependência depois de uma administração prolongada. Como resultado disto, elas são indicadas primeiramente para o alívio a curto prazo da ansiedade e não se recomenda a sua

prescrição para tratamentos crónicos prolongados. De um modo geral, estes efeitos residuais ocorrem mais frequentemente quando o tratamento é efectuado com BZs de longa duração, como o nitrazepam ou flurazepam, do que quando BZ de acção intermédia como o temazepam ou BZs de acção curta como o triazolam são utilizadas (Abraham, 2003).

O efeito secundário mais descrito das benzodiazepinas ansiolíticas é a sedação diurna (“hangover” effect ou ressaca), distúrbios do sono, comprometimento cognitivo, descoordenação motora e ataxia. Os sintomas secundários tardios das BZs ansiolíticas manifestam-se com mais intensidade nas pessoas mais velhas, que constituem uma significativa porção da população que utiliza BZs, em cujos indivíduos leva a um aumento das quedas e fracturas (Ray *et al.*, 1987).

Os maiores problemas com a utilização das BZs são os efeitos de supressão do fármaco, dependência e potencial abuso, e a separação destas situações não é muitas vezes óbvia (Romach *et al.*, 1991). A abrupta descontinuação da terapia com BZs conduz, frequentemente, à síndrome de abstinência (*Withdrawal syndrome*) caracterizado por insónia, ansiedade, fadiga, irritabilidade, delírio, enxaquecas e perturbações gastrointestinais. Estes sintomas devem ser diferenciados dos efeitos sentidos inicialmente pelo doente (distúrbio da ansiedade), que podem também surgir como consequência da interrupção da terapia. É o chamado efeito *rebound* muito descrito neste grupo de substâncias terapêuticas. A insónia que surge após a cessação de um determinado tratamento benzodiazepínico ocorre mais frequentemente com as BZs de acção curta e intermédia, sobretudo nas situações em que as mesmas foram administradas em doses elevadas e nos casos em que o tratamento foi interrompido abruptamente. De modo controverso, as BZs de longa duração como são exemplos o flurazepam e o quazepam demonstram possuir efeitos *rebound* intermédios. Por outro lado, uma dependência a doses elevadas de BZs e o abuso deste tipo de fármacos é caracterizado por comportamentos de procura do fármaco desenfreada e consumo elevado do mesmo, em doses muitas vezes não terapêuticas. O risco de sintomas de abstinência e dependência aumenta com a dose e prolongamento do tratamento, mas a experiência clínica diz que os pacientes ansiosos têm pouca tendência para intensificar a dose das BZs, e este comportamento é tipicamente encontrado em pacientes que têm uma

história de problemas com abuso de álcool e/ou substâncias de abuso (Ciraulo *et al.*, 1988; Bowden e Fisher, 1980).

As BZs de acção curta, como é o caso do lorazepam, tendem a ter sintomas de abstinência mais severos do que as BZs de tempos de semi-vida longos como o diazepam devido às suas mais pronunciadas flutuações nas concentrações sanguíneas. Para tentar minimizar os efeitos de supressão da terapia com BZs, estes fármacos são normalmente descontinuados por um decréscimo gradual da dose.

Em relação às BZs que são utilizadas como sedativo-hipnóticos, devemos estar cientes que o fármaco hipnótico ideal não deve produzir sonolência e cabeça cansada no acordar do dia seguinte. Vários estudos em humanos indicaram que as BZs produzem efeitos na manhã seguinte à toma do fármaco hipnótico, efeitos esses que podem ser visíveis nas gravações dos electroencefalogramas (Blond e Lader, 1972).

Existem opiniões discordantes sobre o facto da administração de BZs produzir uma diminuição do desempenho da função intelectual e motora. Alguns investigadores observaram, nos seus trabalhos, diminuição dessas capacidades nos doentes a tomar BZs enquanto outros não confirmaram estes fenómenos (Blond e Lader, 1972; Walters e Lader, 1971). É, contudo, de aceitação geral que as BZs, assim como acontece com outros fármacos sedativo-hipnóticos, produzem alterações psicomotoras no electroencefalograma em muitos indivíduos na manhã que se segue à administração do fármaco e este facto tem que ser comunicado aos pacientes (Greenblatt e Schader, 1974).

De notar que o abuso deste tipo de substâncias é frequentemente a razão de distúrbios da ansiedade. O aumento da preocupação dos médicos e do público com a dependência e abusos com as BZs reduziram, consideravelmente, o seu uso e muitos países têm agora restrições na sua dispensa aos utentes. Estes procedimentos podem ser encarados por muitos como uma reacção exagerada, o que muitas vezes conduz à substituição das BZs por medicamentos menos eficazes. Recentemente, foi defendido que a relação risco/benefício das BZs necessita de ser reavaliado, assim como, a sua utilidade clínica (Moller, 1999; Williams e McBride, 1998). A crescente preocupação no que diz respeito às reacções negativas às BZs, à dependência a que sujeitam o doente e os abusos na sua disseminada utilização conduziram a uma moderação da sua prescrição por parte dos

clínicos apesar da sua já comprovada eficácia em muitas situações de enfermidade (Abraham, 2003).

3. Farmacocinética: aspectos gerais

As propriedades farmacocinéticas das BZs são importantes quando se pretende seleccionar uma substância terapêutica específica para o tratamento dos distúrbios da ansiedade ou do sono. De facto, os parâmetros farmacocinéticos proporcionam um método racional para seleccionarmos uma BZ específica para actuar como ansiolítico ou hipnótico.

Após a administração de uma determinada dose destes fármacos, uns são eliminados a uma velocidade muito lenta (desmetildiazepam), enquanto outros desaparecem rapidamente do organismo (triazolam). Estas diferenças são muito importantes clinicamente, visto que, os factores farmacocinéticos determinam a duração do efeito do fármaco e, deste modo, constituem a base para a elaboração de um regime racional de dosagem.

Consoante a situação patológica do doente, a necessidade de duração do efeito farmacológico das BZs difere completamente. Nos tratamentos prolongados, onde há administração de BZs como ansiolíticos ou como tratamento complementar anti-convulsivo, estes fármacos devem possuir um comportamento farmacocinético prolongado, sendo aconselhável a prescrição de uma BZ de acção longa, que é eliminada lentamente do organismo. Nestas circunstâncias, depois da administração de uma dose de fármaco, a concentração efectiva do mesmo mantém-se sem que seja necessária uma administração frequente. No caso de se desejar uma acção hipnótica, a acção da BZ só deve abranger a noite para que o doente desperte e não continue a sentir os efeitos do fármaco, que se podiam tornar indesejáveis para o desenvolvimento das suas tarefas. Deste modo, as BZs utilizadas para provocar um efeito sedativo-hipnótico devem ter uma acção curta, originando uma acção farmacológica descontínua. Neste contexto, já foi sugerido que as BZs adequadas para actuarem apenas como hipnóticos devem ser rapidamente metabolizadas e excretadas (Greenblatt e Schader, 1974).

Na farmacocinética das BZs é essencial não se considerar apenas a cinética do fármaco, mas também a dos seus metabolitos activos, que possuem características farmacocinéticas próprias. Assim, o efeito clínico das BZs resulta do somatório das farmacocinéticas do

fármaco e dos seus metabolitos activos. É muito importante fazer esta análise farmacocinética nos tratamentos crónicos, quando algumas vezes os níveis de metabolitos activos são mais elevados do que a BZ inicialmente administrada. Um exemplo desta situação é o que ocorre com o clorazepato dipotássico e o prazepam, BZs que, quando são metabolizadas, originam um composto farmacologicamente activo, com um tempo biológico de semi-vida muito alargado, o desmetildiazepam (Dios-Vieitez e Fos, 1990).

Quando se administra uma benzodiazepina por via não endovenosa e se estuda a concentração plasmática em função do tempo, no gráfico obtido podem distinguir três fases: fase de absorção; fase de distribuição e fase de metabolização e eliminação, (Ferreira, 1992).

3.1. Absorção

A velocidade de absorção de um determinado fármaco e o conseqüente aparecimento de substâncias activas no sangue, são factores determinantes da intensidade da sua acção. Os fármacos deste grupo terapêutico, utilizados essencialmente como ansiolíticos e hipnóticos-sedativos, são administrados na maioria dos casos por via oral, e são geralmente bem absorvidos. Assim sendo, a taxa de absorção no tracto gastrointestinal, após a administração oral, determina a rapidez do início do efeito das BZs. Segundo Katzung (1998), as BZs que apresentam características ligeiramente básicas, são absorvidas mais eficazmente no duodeno, devido ao elevado pH aí encontrado. Apresenta-se na Tabela II um esquema comparativo da velocidade de absorção de algumas BZs administradas por via oral.

Tabela II – Velocidade de absorção após administração por via oral (adaptado de Ferreira, 1992).

BZs administradas por via oral	Velocidade de absorção relativa
Diazepam	
Clordiazepóxido	
Lorazepam	
Flurazepam	
Alprazolam	
Triazolam	
Oxazepam	
Temazepam	
Prazepam	

Verifica-se que o diazepam e o clordiazepóxido são rapidamente absorvidos por via gastro-intestinal, o que se traduz em resultados farmacológicos imediatos (Greenblatt *et al.*, 1983; Shader *et al.*, 1981) o mesmo não acontecendo quando estas substâncias são administradas por via intramuscular pois, por esta via, a absorção do clordiazepóxido e ao diazepam é lenta e irregular, enquanto que a do lorazepam é rápida e completa (Lukey *et al.*, 1991).

Em relação à administração por via rectal, estudos referentes ao diazepam e ao nitrazepam indicam uma absorção rápida e completa. Todavia, no que diz respeito ao oxazepam e ao temazepam a absorção rectal é menor que a verificada na administração oral (Walker *et al.*, 1982; Jochemsen *et al.*, 1982).

Há estudos cujos resultados revelaram que as concentrações plasmáticas do lorazepam obtidas após administração sublingual, não diferem significativamente das encontradas após a administração por via oral e intramuscular (Greenblatt *et al.*, 1982).

Para o flurazepam, midazolam e triazolam, a administração por via intranasal origina uma absorção maior do que a encontrada quando o fármaco é administrado por via oral (Lui *et al.*, 1991).

As BZs são fármacos marcadamente lipossolúveis (coeficientes de partilha O/A elevados para a forma não ionizada) e, por isso, atravessam facilmente, por difusão simples, as barreiras biológicas. No entanto, alguns destes fármacos também possuem hidrossolubilidade considerável, sendo, deste modo, seguros para uma administração intravenosa. Uma vez na corrente sanguínea, as BZs atravessam a barreira cerebral para entrar no SNC. Assim, um factor determinante da entrada das BZs no SNC, onde exercem a sua acção clínica, é o seu carácter lipofílico (Osswald e Guimarães, 2001).

3.2. Distribuição

Como referido anteriormente, as BZs atravessam, geralmente, muito bem a barreira hematoencefálica e exercem um efeito farmacodinâmico que depende dos níveis considerados terapêuticos da sua concentração no plasma. Contudo, a redistribuição das BZs pode ocorrer, devido ao seu armazenamento em determinados locais do organismo, para posterior reentrada no SNC através da barreira hematoencefálica. Este fenómeno pode explicar o facto de encontramos uma duração menor da actividade clínica de uma BZ, quando era expectável que fosse maior avaliando o seu tempo médio de semi-vida

de eliminação. Deste modo, pode concluir-se que, para prever com segurança a duração de acção de uma BZ, é melhor não utilizar apenas o parâmetro de avaliação do seu tempo de semi-vida de eliminação (Greenblatt, 1991). Não obstante, o tempo de eliminação de uma BZ pode ser um passo importante na determinação da sua duração de acção e que, quando a sua absorção e distribuição são fases comparáveis e rápidas, então o tempo médio de semi-vida de eliminação pode ser utilizado para fazer uma estimativa relativa da duração de acção da BZ em estudo.

Na fase de distribuição do fármaco no organismo, o fenómeno de redistribuição pode provocar uma diminuição da concentração da BZ no sangue para valores abaixo dos necessários à sua acção terapêutica. Se não ocorrerem fenómenos de redistribuição do fármaco no organismo a acção terapêutica da BZ vai estar apenas dependente da sua transformação. As BZs com características mais lipófilas transferem-se rapidamente da corrente sanguínea e do cérebro para locais periféricos de armazenamento, como é o caso do tecido adiposo. Assim se compreende, que o efeito terapêutico de uma dose de lorazepam (que tem um tempo de semi-vida biológica médio), administrada por via endovenosa seja maior do que o de uma dose de diazepam, devido essencialmente ao facto de a sua concentração plasmática diminuir lentamente, estando associada com a distribuição nos tecidos (Ferreira, 1992; Greenblatt, 1991).

Estudos realizados com o diazepam e o oxazepam indicam que estes compostos aparecem na circulação fetal em concentrações plasmáticas iguais ou superiores às encontradas no plasma materno, o que prova que as BZs atravessam a placenta (AHFS Drug Information, 1991).

Outro factor muito importante a avaliar na acção terapêutica deste grupo de fármacos é a extensão da sua ligação às proteínas plasmáticas. As BZs ligam-se de modo extensivo às proteínas plasmáticas e, no caso particular da albumina e a sua ligação pode atingir os valores entre 60% até mais de 95% (Ferreira, 1992; Martindale, 1989). Para determinar a dose correcta de BZ a administrar num determinado caso clínico deve analisar-se a ligação dessa BZ às proteínas plasmáticas, uma vez que só a forma livre desta substância terapêutica atinge o SNC. Por outro lado, é também muito importante avaliar se o indivíduo está a tomar outra medicação, cuja substância activa tem afinidade para as proteínas plasmáticas interferindo, assim, no equilíbrio entre a fracção da BZ livre e a BZ ligada às proteínas (Katzung, 1998).

3.3. Metabolismo

O metabolismo das BZs é hepático (Chouinard *et al.*, 1999; Racagni *et al.*, 1997). A maioria das BZs é metabolizada no fígado pelo sistema enzimático citocromo P450, sobretudo pelas isoenzimas CYP3A4 e CYP2C19 com exceção feita para o clorazepato dipotássico (DeLucia *et al.*, 2007). Muitas BZs sofrem oxidação microsossomal (reações de fase I), incluindo a N-desalquilação e a hidroxilação alifática, ou reações de redução. Os metabolitos são depois conjugados (reações de fase II) pelas glucuroniltransferases e/ou acetiladas, originando conjugados glucuronídeos inativos que são, posteriormente, eliminados pela urina, como podemos observar na figura 5.

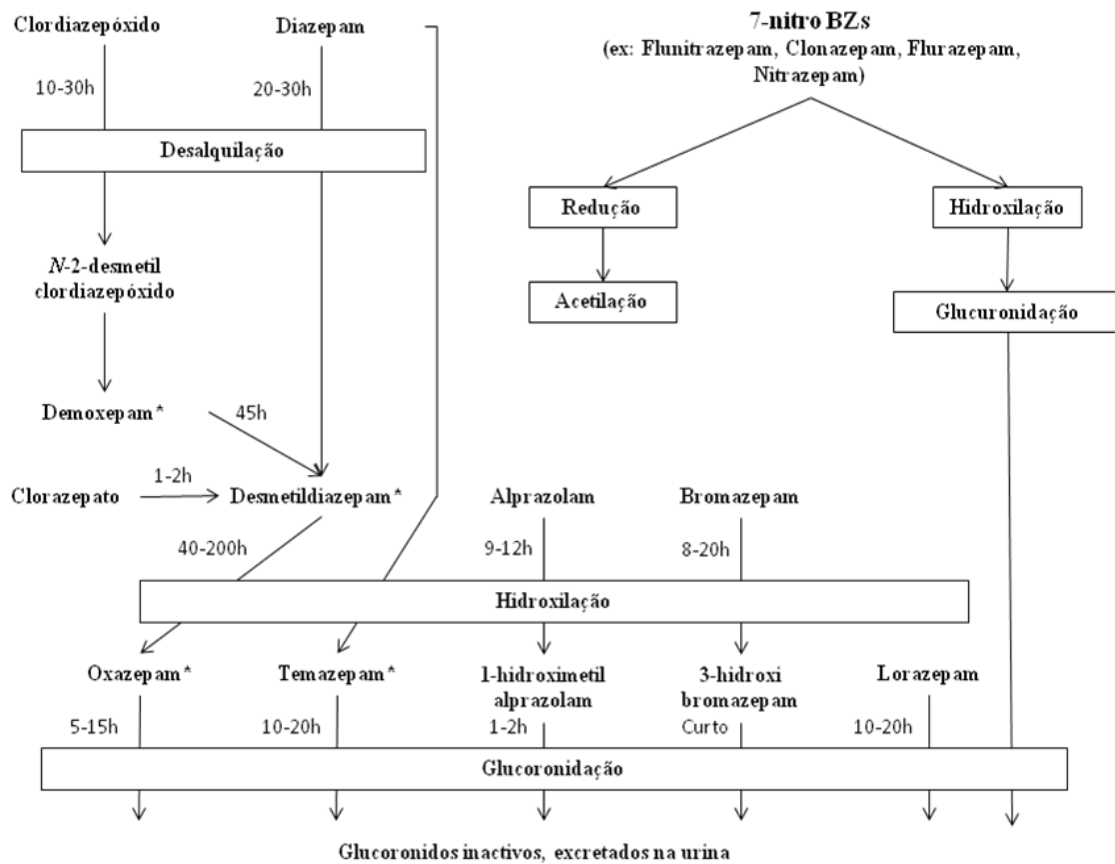


Figura 5 – Vias metabólicas das BZs ansiolíticas. * Metabolitos activos (Abraham, 2003).

Durante o metabolismo, muitas BZs originam metabolitos que frequentemente têm actividade farmacológica comparável ao fármaco-pai mas um tempo de semi-vida mais prolongado que o mesmo. Em geral, as BZs que seguem a via oxidativa têm tempos de semi-vida biológica elevados e metabolitos activos, enquanto aquelas que são

conjugadas apresentam tempos de semi-vida biológica pequenos e metabolitos inactivos. As BZs de acção longa têm como metabolito activo o desmetildiazepam (nordiazepam). O tempo de semi-vida biológica deste metabolito é de 50-100 horas, o que prolonga a actividade farmacológica da BZ que o originou (Ferreira, 1992).

Em geral, o primeiro passo no metabolismo das 1,4-benzodiazepinas é a remoção oxidativa do substituinte N-1 alquilo, se estiver presente. Esta reacção de primeira fase do metabolismo é a mais rápida (Kaplan *et al.*, 1983). As BZs com um grupo metilo no N-1 são as mais estáveis e a taxa de desalquilação aumenta com o tamanho do grupo alquilo substituinte, localizado nesse N-1. Por exemplo, o tempo de semi-vida de desalquilação do diazepam é de 20-30 horas, mas a do prazepam, que transporta um grupo ciclopropilmetilo no carbono N-1, é de 1 hora. Substituintes nos outros lugares da molécula têm pouco impacto na taxa de desalquilação (Kaplan *et al.*, 1983; Breimer e Jochemsen, 1983). Depois da desalquilação, o próximo passo é a hidroxilação na posição 3. O tempo de semi-vida de hidroxilação, que varia entre 40-200 horas para os fármacos que originam desmetildiazepam podendo ser bastante inferior para os que não originam este composto, é maior que os tempos de semi-vida de desalquilação, resultando numa acumulação dos metabolitos N-1 desalquilados farmacologicamente activos, que contribuem, assim, de modo significativo para a actividade biológica total das BZs. As taxas de hidroxilação são relativamente independentes dos substituintes no anel C, com a excepção do bromazepam. Conclui-se pois, que o substituinte nos anéis não-diazepínicos influencia a taxa de hidroxilação.

Os metabolitos 3-hidroxilo sofrem, reacção de glucuronidação, adquirindo a hidrofília suficiente para serem excretados na urina. Os conjugados glucuronídeos são farmacologicamente inactivos e este facto foi explorado em fármacos como o oxazepam, lorazepam e temazepam (BZs de acção média ou curta). A taxa de glucuronidação parece ter menos impacto do que a taxa de desalquilação ou hidroxilação pelo envelhecimento do indivíduo ou por doenças do foro hepático, fazendo destes fármacos mais convenientes para prescrever a doentes idosos ou naqueles indivíduos que possuem doenças hepáticas (Kaplan *et al.*, 1983; Kraus *et al.*, 1978).

A estrutural limitação da diversidade das BZs significa que os mesmos metabolitos activos podem ser gerados de diferentes fármacos deste grupo. Por exemplo, o

oxazepam, que tem uma acção marcadamente ansiolítica, pode ser originado *in vivo* pelo diazepam, clorazepato, prazepam e clordiazepóxido (Rang e Dale’s, 2007).

O declínio das concentrações plasmáticas das BZs é determinado pela redistribuição do fármaco em locais de armazenamento onde a substância não tem efeito, eliminação e metabolismo.

As BZs podem ser divididas em três classes com base nas suas características farmacocinéticas como mostra a tabela III: BZs de acção ultra-curta, com tempos de semi-vida biológica inferiores a 6 horas, BZs de acção terapêutica média, com tempos de semi-vida biológica que se situam entre as 6 e as 12 horas e, por último, BZs com longa duração de acção (tempos de semi-vida biológica superiores a 12 horas) (AHFS, 1991; Martindale, 1989; Straw, 1983).

Tabela III – Tempos de semi-vida biológica ($t_{1/2}$) de algumas BZs e seus metabolitos activos (adaptado de Ferreira, 1992). A negrito os compostos utilizados neste estudo.

Benzodiazepina	$t_{1/2}$	Metabolitos activos
<u>Acção Curta</u>		
Oxazepam	5-10	
<u>Acção Média</u>		
Alprazolam	12-15	α -hidroxialprazolam
Flunitrazepam	15-35	Desmetilflunitrazepam
Lorazepam	10-15	
Nitrazepam	20-40	
Temazepam	9,5-12,5	Oxazepam
<u>Acção Longa</u>		
Clonazepam	18-39	7-amino e 7-acetaminoclonazepam
Clordiazepóxido	5-30*	Desmetilclordiazepóxido, Demoxepam
Desmetildiazepam	50- 100	Oxazepam
Diazepam	20-70	Desmetildiazepam ; Oxazepam Temazepam
Flurazepam	2,3*	Hidroxietilflurazepam Hidroxietil e Desalquilflurazepam ;

*Incluídos no grupo de acção longa devido aos tempos de semi-vida biológica dos metabolitos.

O lorazepam, o oxazepam e o temazepam têm tempos de semi-vida biológica de 10-15, de 5-10 e de 9,5-12,5 horas, respectivamente. Estes compostos são conjugados pelo ácido glucurónico formando metabolitos inactivos. Uma fracção pequena (1%) de temazepam sofre desmetilação originando o oxazepam. O oxazepam é metabolito

activo de várias BZs, resultando em regra da hidroxilação do desmetildiazepam (Ferreira, 1992). O alprazolam também é uma BZ de acção média, pois apresenta um tempo de semi-vida biológica de 12-15 horas. O seu principal metabolito activo, 1-hidroximetilalprazolam, tem um tempo de semi-vida biológica de 1-2 horas. A principal via de metabolização do alprazolam envolve uma oxidação (hidroxilação) e uma conjugação (glucuronização). Dos vários metabolitos, o α -hidroxialprazolam (1-hidroximetilalprazolam) é o principal, pois é o único que possui actividade terapêutica significativa.

3.4. Eliminação

Os compostos benzodiazepínicos e os seus metabolitos hidrossolúveis são excretados principalmente na urina sob a forma de glucuronídeos. Contudo, podem ser também eliminados através de outros materiais biológicos humanos como o suor, saliva e leite materno, pelo que a sua prescrição não é aconselhada em mulheres a amamentar (Katzung, 1998).

Se um indivíduo tomar uma dose de diazepam de 10 mg, cerca de 70% do fármaco é excretado na urina e 10% do mesmo nas fezes. A urina contém cerca de 3% da dose na forma de oxazepam conjugado com o ácido glucurónico, 10% na forma de composto N-desmetilado, 10% do composto 3-hidroxilado na forma conjugada e 1% a 2% na forma inalterada. O principal metabolito presente na bÍlis é o N-desmetildiazepam (nordiazepam). A circulação entero-hepática do diazepam e dos seus metabolitos é responsável por prolongar o efeito destes compostos terapêuticos (Larini, 2008).

O tempo de semi-vida médio de eliminação indica a taxa de desaparecimento do fármaco do plasma e do cérebro depois de se atingir o equilíbrio de distribuição e depois da curva de eliminação do fármaco entrar na sua fase terminal. A *clearance* é a taxa que melhor descreve o processo de eliminação de um fármaco e consiste na quantidade de fármaco que é completamente retirada de determinado volume plasmático por unidade de tempo. Contudo, é mais difícil medir a *clearance* que o tempo de semi-vida e, por isso, é mais utilizado este último. Além disso, o tempo de semi-vida médio é um parâmetro muito útil porque através dele obtemos muitas informações sobre um fármaco: a acumulação do fármaco (quanto maior o tempo de semi-vida maior é a taxa de acumulação do composto), podemos determinar o tempo que o fármaco demora para atingir o seu estado estacionário (fármacos com tempos de semi-vida longos acumulam-

se lentamente mas extensivamente, enquanto fármacos com tempos de semi-vida curtos atingem o *steady state* rapidamente mas acumulam-se em menor quantidade). O tempo de semi-vida também permite avaliar quanto tempo é previsível que um fármaco desapareça do organismo depois do tratamento ser interrompido após uma administração crónica do mesmo. As BZs com tempos de semi-vida longos são eliminadas do organismo lentamente após a administração da última dose, enquanto as BZs de tempo de semi-vida curto este fenómeno ocorre muito rapidamente.

4. Farmacocinética dos compostos em estudo

4.1. 7-clorobenzodiazepinas

Diazepam. O diazepam, figura 6, tem um tempo de semi-vida biológica de 20-70 horas. O seu principal metabolito é o desmetildiazepam (nordiazepam), cujo tempo de semi-vida biológica é de 50-100 horas. Outros metabolitos activos do diazepam são o oxazepam e o temazepam. Durante a administração crónica de diazepam, a actividade clínica e os efeitos secundários são explicados pela acumulação do desmetildiazepam (Ferreira, 1992). O diazepam é completamente e rapidamente absorvido depois da sua administração oral, atingindo níveis máximos de concentração plasmática depois de 30 a 90 minutos. Como resultado do seu carácter lipofílico este fármaco liga-se extensamente às proteínas plasmáticas (98-99%) e é profusamente distribuído no organismo humano. Assim, rapidamente atravessa a barreira hematoencefálica e a placenta também passando para o leite materno. O seu principal metabolito, o desmetildiazepam também se liga numa percentagem elevada às proteínas plasmáticas, embora a fracção livre do desmetildiazepam (de cerca de 2 a 4%) seja superior à do diazepam (aproximadamente de 1 a 2%), o que vem reforçar a forte potência que este metabolito activo tem nas suas acções no SNC. A absorção do diazepam após administração intramuscular é lenta e irregular, uma vez que este composto é pouco solúvel em água no pH fisiológico. Sendo assim, este fármaco é preferencialmente administrado por via oral ou por via endovenosa (INFOMED, 2009; Guedes, 2008).

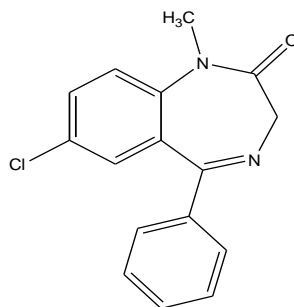


Figura 6 – Estrutura química do composto “líder” das BZs, o diazepam (Abraham, 2003).

O metabolismo do diazepam é lento, com uma semi-vida de 20 a 40 horas, na maioria dos indivíduos e origina três metabolitos (figura 7). Uma N-1 desmetilação produz o desmetildiazepam (nordiazepam), que possui um tempo de semi-vida elevado quando comparado com o tempo de semi-vida do diazepam, 40-200 horas para o desmetildiazepam e 20-30 horas para o diazepam (Kaplan *et al.*, 1983). Quando são administradas múltiplas doses do diazepam, os níveis plasmáticos de desmetildiazepam (nordiazepam) excedem os níveis de diazepam. Ocorre, deste modo, uma acumulação de diazepam e desmetildiazepam no sangue. As concentrações no estado de equilíbrio são, de um modo geral, atingidas após 5 a 10 dias de tratamento (INFOMED, 2009). A hidroxilação do desmetildiazepam produz, então, o oxazepam que é conjugado e eliminado como um conjugado glucurônico na urina, representando o maior metabolito do diazepam.

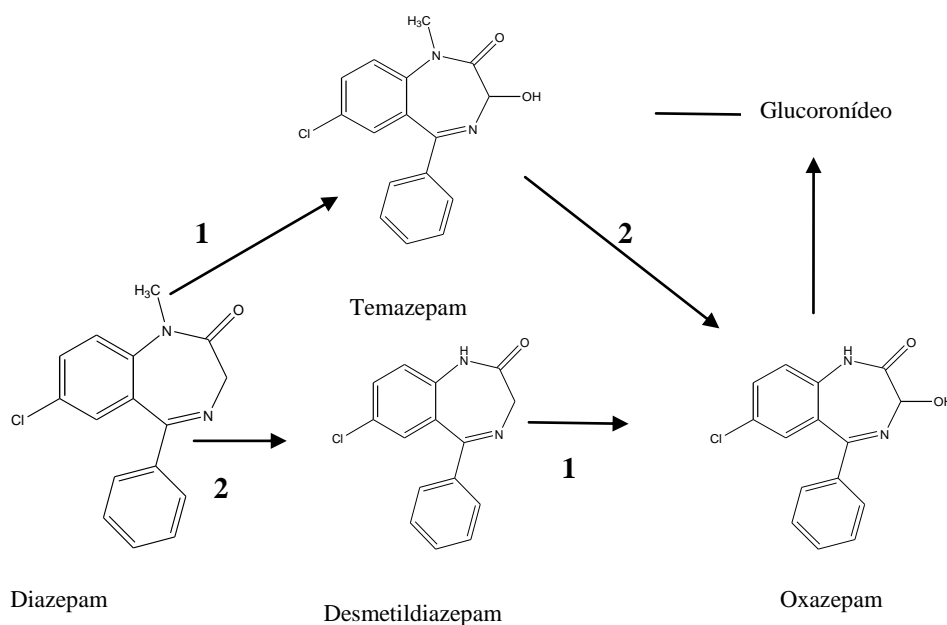


Figura 7 – Vias metabólicas do Diazepam 1- Hidroxilação; 2- Desmetilação (Abraham, 2003)

A hidroxilação directa na posição 3 do diazepam origina o temazepam, representado na figura 8, que é também directamente conjugado e excretado.

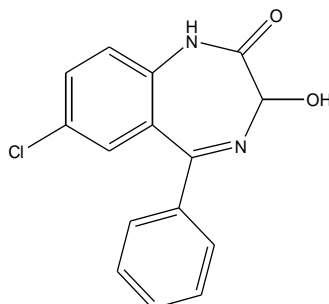


Figura 8 – Estrutura química do oxazepam (Abraham, 2003)

Flurazepam. O flurazepam é uma BZ derivada comercializada para ser usada como agente hipnótico, figura 9. Em estudos por tempo prolongado, chegou-se à conclusão que a eficácia deste fármaco persiste enquanto outros hipnóticos deixam de ter efeito. O flurazepam parece ter menos efeitos secundários indesejáveis quando comparado com outros fármacos utilizados para o tratamento de distúrbios do sono e menores situações de dependência e, assim, quando um tratamento hipnótico é aconselhável, o flurazepam parece revelar-se uma escolha acertada (Greenblatt *et al.*, 1975).

O flurazepam é a única BZ que se considera um agonista parcial do receptor das BZs, enquanto as outras BZs são agonistas totais. Esta BZ é utilizada, principalmente, como agente hipnótico.

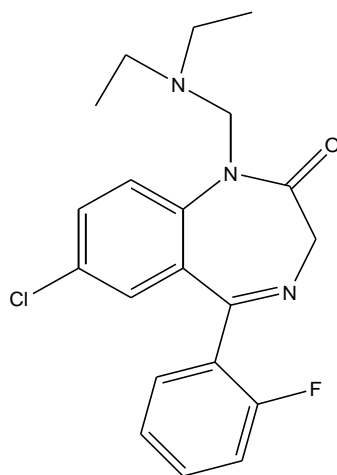


Figura 9 – Estrutura química do flurazepam

O flurazepam tem um tempo de semi-vida biológica pequeno, de 2 a 3 horas, sendo um fármaco inactivo até ser metabolizado no fígado envolvendo reacções de oxidação e originando três metabolitos activos. A longa acção é atribuída a um dos seus metabolitos activos, o desalquilflurazepam, cujo tempo de semi-vida biológica é de 47-100 horas. Este facto pode conduzir a uma depressão indesejada do SNC, que se pode reflectir numa sedação diurna (Larini, 2008). O hidroxietilflurazepam é um metabolito de acção curta, tendo um tempo de semi-vida biológica de apenas 2 a 4 horas (Ferreira, 1992).

4.2. 7-nitrobenzodiazepinas

Nitrazepam. O nitrazepam, cuja estrutura química está apresentada na figura 10, é uma benzodiazepina que foi aprovada para o uso como anticonvulsivante. É considerado um fármaco relativamente seguro, uma vez que as *overdoses*, se tomada isoladamente, raramente resultam em morte dos indivíduos e o seu efeito inibitório no SNC pode ser aumentado pela ingestão concomitante de álcool. O nitrazepam é facilmente absorvido por via oral e pode atingir-se um pico de concentração sanguínea ao fim de 1 a 2 horas após a sua administração. O fármaco é principalmente convertido nos seus metabolitos (7-aminonitrazepam, 7-ANZP), por enzimas no fígado, e o metabolito 7-ANZP existe na forma de glucuronido na urina humana (Kuang *et al.*, 2009).

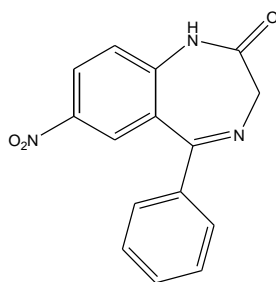


Figura 10 – Estrutura química do nitrazepam.

Clonazepam. O clonazepam é um benzodiazepínico derivado do nitrazepam. Através do processo de halogenação é possível obter-se além do próprio clonazepam, o flunitrazepam. O clonazepam é considerado um "benzodiazepínico clássico", pois além de ser um dos que possuem estrutura molecular mais simples, também foi um dos primeiros a ser sintetizados em laboratório, juntamente com o diazepam, lorazepam, oxazepam, nitrazepam, flurazepam, bromazepam e clorazepato.

O clonazepam é um fármaco anti-epiléptico utilizado para o tratamento de alguns tipos de convulsões. É uma benzodiazepina estruturalmente relacionada com o hidrocloreto de clordiazepóxido, diazepam e nitrazepam, cuja estrutura química está representada na figura 11.

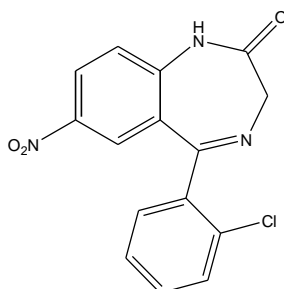


Figura 11 – Estrutura química do clonazepam.

Outras aplicações clínicas onde o clonazepam foi utilizado com sucesso são o tratamento de uma variedade de desordens psiquiátricas, no controlo da agitação maníaca em combinação com o haloperidol, na supressão de sintomas psicóticos e psicose atípica e esquizofrenia. Há muitos investigadores que relataram que o clonazepam pode ter um efeito antidepressivo, mas o seu uso neste campo de acção ainda não está claramente determinado. Há relatos que indicam que a administração de clonazepam e fluoxetina diminui não só a ansiedade e a insónia mas também os

sintomas relacionados com o cerne da depressão (disposição e humor depressivos, sentimentos de culpa, ideias de suicídio e perda de interesse). Esta descoberta sugere que o clonazepam tem um efeito directo e de sinergismo de antidepressivo (Morishita, 2009).

O mecanismo de acção do clonazepam ainda não foi bem estabelecido, mas já foram sugeridas várias possibilidades interessantes. Se o clonazepam for administrado conjuntamente com um antidepressivo, como a fluoxetina ou a sertralina, que inibem o citocromo P450 3A3/4, o maior interveniente no metabolismo das BZs, verificar-se-á um decréscimo do metabolismo do clonazepam. Deste modo, é possível que os efeitos antidepressivos de clonazepam tenham lugar uma vez que aumenta a sua concentração plasmática quando este fármaco é administrado como fármaco complementar de um antidepressivo (Morishita, 2009).

Outra hipótese para explicar o mecanismo de acção do clonazepam foi descrita por Feiner em 1997. Todos os antidepressivos actualmente disponíveis são, em algum grau, pró-convulsivos. Os pacientes com depressões que mostram ser resistentes à terapia exibem epileptogenicidade quando são tratados por longo tempo com antidepressivos. Assim se pode entender o sucesso da combinação dos antidepressivos com o clonazepam no tratamento destes pacientes. O clonazepam vai bloquear a potencial epileptogenicidade que o antidepressivo usado cronicamente pode trazer para o indivíduo (Morishita, 2009).

Já foi estabelecido que o clonazepam aumenta a produção ao nível do SNC de serotonina (5-hidroxiptalamina, 5-HT), dopamina e noradrenalina. O aumento da síntese de serotonina, dopamina e noradrenalina e o favorecimento da função da serotonina e monoamina, mediada pela via do sistema GABA, está relacionado com os efeitos antidepressivos do clonazepam. Contudo, apesar do clonazepam aumentar a síntese de serotonina, também já foi descrito que este fármaco reduz a retirada de ácido 5-hidroxiindolacético do cérebro sem afectar, no entanto, a síntese de serotonina. Isto sugere a possibilidade do clonazepam exibir efeitos psicotrópicos não por aumentar mas por reduzir a utilização de serotonina. Os fármacos antidepressivos são idealizados para exibir os seus efeitos bloqueando os receptores serotoninérgicos pós-sinápticos. A partir destas descobertas, foi sugerido que a diminuição da utilização da serotonina ou a diminuição da sensibilidade do receptor da serotonina resulta num efeito antidepressivo

por parte do clonazepam (Morishita, 2009). Todas estas possibilidades da acção do clonazepam como antidepressivo são só hipóteses e mais estudos têm de ser desenhados para elucidar esta questão.

O clonazepam é quase completamente absorvido depois da administração de uma dose oral com um tempo médio de concentração máxima plasmática de 2 a 4 horas (Boxenbaum *et al.*, 1978).

Como outras 7-nitrobenzodiazepinas, a maior via metabólica do clonazepam é a redução do grupo nitro, a acetilação da amina resultante e a eliminação da acetamida. A hidroxilação do clonazepam ou do 7-amino clonazepam para originar os derivados 3-hidroxi representa a via metabólica menos importante. O tempo de semi-vida de eliminação do clonazepam é de 20-30 horas e não são produzidos metabolitos activos (Berlin e Dahlstrom, 1975).

Flunitrazepam. O flunitrazepam, representado na figura 12, é uma BZ derivada, da classe das 7-nitrobenzodiazepinas, cujo efeito hipnótico predomina em relação ao efeito sedativo, ansiolítico, relaxante muscular e anticonvulsivante característico das BZs. Assim, este fármaco é utilizado como hipnótico para facilitar o descanso do indivíduo durante a noite de sono e como anestésico. Como possui um efeito hipnótico pronunciado, este fármaco não é adequado para ser utilizado como sedativo diurno. Como hipnótico para problemas de insónia o seu efeito é usualmente caracterizado por um início de acção rápido, proporciona um sono calmo e sem interrupções (Mattila *et al.*, 1980).

O flunitrazepam é conhecido na gíria como “roofies”. Não é comercializado nos Estados Unidos mas está disponível na Europa e no México (Hackett *et al.*, 2006).

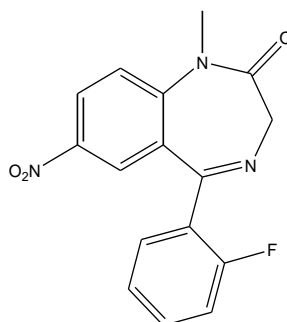


Figura 12 – Estrutura química do flunitrazepam.

Em adição ao grupo nitro na posição 7, o flunitrazepam também possui um grupo flúor na posição 2' do anel fenólico. Estas características químicas resultam num aumento da potência farmacológica deste fármaco, particularmente das suas propriedades hipnóticas (LeBeau e Mozayani, 2001).

A absorção é principalmente condicionada pelo coeficiente de solubilidade lípidos/água desta 7-nitrobenzodiazepina, considerando que a sua solubilidade lipídica é requisito fundamental para o flunitrazepam abandonar a circulação sanguínea e atravessar a barreira hematoencefálica. A sua solubilidade em água é necessária para o eficiente transporte das moléculas deste fármaco através dos vários compartimentos do corpo humano, salientando que os extremos em termo de solubilidade não são bons para a absorção desta benzodiazepina e a sua entrada no sistema nervoso central. Deste modo, o flunitrazepam possui a necessária solubilidade intermédia para que possua uma rápida absorção após administração oral: o pico de concentração plasmática ocorre em 30 minutos, e o tempo de semi-vida de absorção (tempo requerido para que 50% do fármaco atinja a circulação sistémica) é classicamente entre 10 a 30 minutos. É absorvido, principalmente, ao nível do intestino delgado. A ingestão de outros fármacos associados ao flunitrazepam aumenta drasticamente ou atrasa o processo de absorção desta BZ. O álcool aumenta a absorção do flunitrazepam, enquanto que um opiáceo irá atrasar a absorção do flunitrazepam. (LeBeau e Mozayani, 2001).

O flunitrazepam é administrado por via oral e por injeção intravenosa ou intramuscular em doses que rondam os 0.5 a 2 mg. O tempo que demora a ser detectado no sangue é de 4 horas para o flunitrazepam e 12 horas para o 7-amino-flunitrazepam. A concentração plasmática terapêutica do flunitrazepam é de 0,005 a 0.015 mg/L e a concentração sérica terapêutica máxima é de 0,020 mg/L para o flunitrazepam e para o 7-amino-flunitrazepam. Estes níveis podem ser, eventualmente, ultrapassados durante um tratamento crónico com este fármaco, nos idosos, sobretudo nos indivíduos que apresentam comprometimento da função hepática e/ou renal, ou nos pacientes nos quais ocorre um aumento da dose prescrita devido ao desenvolvimento de tolerância. Ocorrem situações de toxicidade para doses de flunitrazepam da ordem dos 0,050 mg/L e de doses de 0,200 mg/L para o 7-amino-flunitrazepam (Logan, 2001).

O flunitrazepam possui um tempo de semi-vida de eliminação de 20 a 35 horas e o seu metabolito activo, N-desmetil-flunitrazepam possui um tempo de semi-vida de eliminação maior, de 23 a 33 horas, enquanto que os metabolitos 7-amino inactivos são eliminados de forma rápida, apresentando um tempo de semi-vida de eliminação de 10 a 16 horas. A *clearance* plasmática do flunitrazepam num indivíduo normal, saudável do género masculino é de 1,7 a 2,4 mL/min/Kg (LeBeau e Mozayani, 2001).

O metabolismo das designadas 7-nitrobenzodiazepinas, como são exemplos o nitrazepam e clonazepam, pode ser ilustrado pelo metabolismo do flunitrazepam (figura 13).

No homem o flunitrazepam é extensivamente metabolizado através de uma variedade de reacções metabólicas. Estas reacções, como podemos observar na Figura 13, consistem em N(1)-desmetilação, C(3)-hidroxilação, seguidas de glucuronidação e a redução do grupo nitro com subsequente acetilação. Experiências *in vitro* demonstraram que os passos reaccionais da desmetilação e hidroxilação são mediados pelo citocromo P450, mais especificamente pelas isoenzimas CYP2C19, CYP3A4 e CYP1A2. Também já se chegou à evidência de que são possíveis várias combinações de reacções de biotransformação, e de que mais de doze metabolitos estão presentes na urina. Os metabolitos encontrados em maior quantidade incluem o 7-amino-flunitrazepam (10% da dose oral administrada ao indivíduo), o 3-hidroxi-flunitrazepam (3,5%), 7-acetamido-*nor*-flunitrazepam (2,6%) e o 3-hidroxi-7-acetamido-flunitrazepam (2%). Menos de 0,2% do fármaco inicialmente administrado é excretado sem ser metabolizado. Vários metabolitos têm actividade farmacológica, especialmente o N-desmetil-flunitrazepam, o 7-acetamido-N-desmetil-flunitrazepam e especialmente o 7-amino-flunitrazepam, que possui actividade anestésica em animais. De modo característico uma média de 84% da dose administrada é eliminada na urina (Logan, 2001).

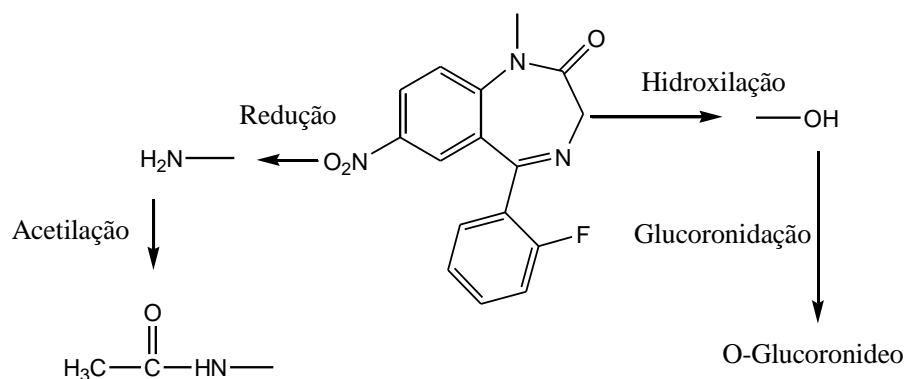


Figura 13 – Características químicas e vias metabólicas do flunitrazepam

O metabolismo do flunitrazepam origina um metabolito activo que se designa por N-desmetilflunitrazepam. Do metabolismo do flunitrazepam também resultam vários metabolitos inactivos de que são exemplos o 7-amino-flunitrazepam e o 3-hidroxi-flunitrazepam. O metabolito 7-amino pode ser, posteriormente, acetilado a 7-acetamido ou hidroxilado a 3-hidroxi-7-aminoflunitrazepam. Adicionalmente, o metabolito 7-acetamido pode, também ser hidroxilado na posição 3. Estes metabolitos hidroxilados podem ser posteriormente conjugados por glucuronidação antes da sua excreção renal ou nas fezes por excreção biliar (LeBeau e Mozayani, 2001).

III. Receptores do SNC para as Benzodiazepinas

1. Notas introdutórias

Nos anos 70 e 80 do século passado, realizaram-se estudos, em que participaram Squires, Braestrup, Möhler e Okada, com a utilização de BZs radioactivas (clordiazepóxido e diazepam), que demonstraram que as BZs se ligam, com alta afinidade, a um receptor específico existente no SNC (Muller, 1998; Korolkovas *et al.*, 1988; Iversen, 1985), um subtipo do receptor para o ácido gama amino butírico: GABA (acrónimo de Gama Amino Butiric Acid). Estes receptores estão descritos como sendo agregados macromoleculares inseridos na membrana citoplasmática das células e desempenham funções importantes como mediadores inibitórios (Ribeiro, 1983; Tallman, 1980). O GABA é considerado um neurotransmissor bastante abundante do SNC e distribui-se de modo pouco uniforme neste sistema, em vesículas próprias, e as suas concentrações mais elevadas ocorrem nas áreas extrapiramidais e hipotálamo, estando na concentração mais baixa na medula espinal. O GABA produz uma diminuição da excitabilidade das estruturas pós-sinápticas e este efeito inibidor deve-se à sua actuação nos receptores gabaérgicos, da qual resulta um aumento da permeabilidade das membranas neuronais ao ião cloro, o que permite a sua passagem, por difusão passiva, do exterior para o interior da célula. Deste modo, acentua-se o potencial eléctrico intracelular, o que corresponde a um fenómeno de hiperpolarização e a um conseqüente aumento do limiar de excitabilidade neuronal (Whiting, 2006).

Para além do ácido gama amino butírico, o receptor GABA parece ser local de acção de uma variedade de substâncias terapêuticas muito importantes do ponto de vista farmacológico e clínico, tais como as BZs, barbitúricos, esteróides neuroactivos, anestésicos e substâncias anticonvulsivas. Actualmente, é perfeitamente compreendido que estes receptores regulam a excitabilidade do cérebro, ansiedade, tónus muscular, ritmo circadiano, sono, vigilância, memória e aprendizagem. Há várias doenças associadas ao mau funcionamento deste receptor, tais como distúrbios de ansiedade, epilepsia, insónia, depressão e desordem bipolar, esquizofrenia, assim como problemas de aprendizagem e doença de Alzheimer (Clayton *et al.*, 2007)

Actualmente encontram-se caracterizados três tipos distintos de receptores gabaérgicos, o tipo A, B e C sendo o GABA_A aquele onde se crê que as BZs actuem.

Os receptores GABA_A são membros da superfamília *Cys-loop* e já foram identificadas do SNC dezasseis subunidades homólogas do receptor GABA_A, designadas α_{1-6} , β_{1-3} , γ_{1-3} , δ , ϵ , π e θ , que podem ser divididas em classes baseadas no seu grau de identidade sequencial. Destas dezasseis subunidades do receptor GABA_A, quinze foram encontradas no SNC de mamíferos. Estes polipeptídeos formam uma massa molecular de, aproximadamente, 50 kD (quilodalton) e estão estruturalmente relacionados (Clayton *et al.*, 2007; Whiting, 2006; Hevers *et al.*, 1998). Cada subunidade do receptor GABA_A consiste numa região extracelular, que contém vários locais com possibilidade de serem glicosilados e uma característica *cys-loop* formada por uma ligação covalente entre duas cisteínas. Esta região extracelular é também importante no caso do efeito dos agonistas do receptor GABA e na modulação dos locais de ligação das BZs. Este receptor GABA é uma estrutura proteica que atravessa a bicamada lipídica quatro vezes e tem um grande *loop* intracelular localizado entre a região transmembranar 3 e 4 (M₃ e M₄). Esta região intracelular contém locais possíveis de fosforilação que são necessários para a regulação do receptor (Clayton *et al.*, 2007) tal como apresentado na figura 14.

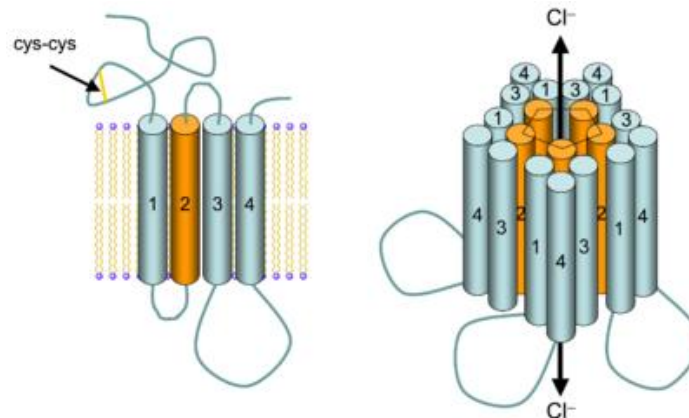


Figura 14 – Estrutura esquemática do GABA_A.

Na esquerda: subunidade monomérica transmembranar com um Cys looping na região extracelular. As quatro hélices da subunidade alfa encontram-se esquematizadas em forma de cilindro. Na direita: cinco subunidades dispostas simetricamente formando um canal para o íon cloro. http://en.wikipedia.org/wiki/GABAA_receptor

Estudos de microscopia electrónica dos receptores nativos GABA_A mostraram que estes são compostos por cinco subunidades dispostas de modo pseudosimétrico à volta do canal de cloro, que está inserido na membrana das células, e o receptor parece uma “rosquinha de massa frita”, com um diâmetro de 8 nanómetros quando é observado do

exterior da célula como pode ser observado na figura 15. A forma mais comum do receptor $GABA_A$ contém as duas subunidade α , duas subunidades β e uma subunidade γ . O local de ligação das BZs, também chamado receptor das BZs, ocorre na interface das subunidades α e γ .

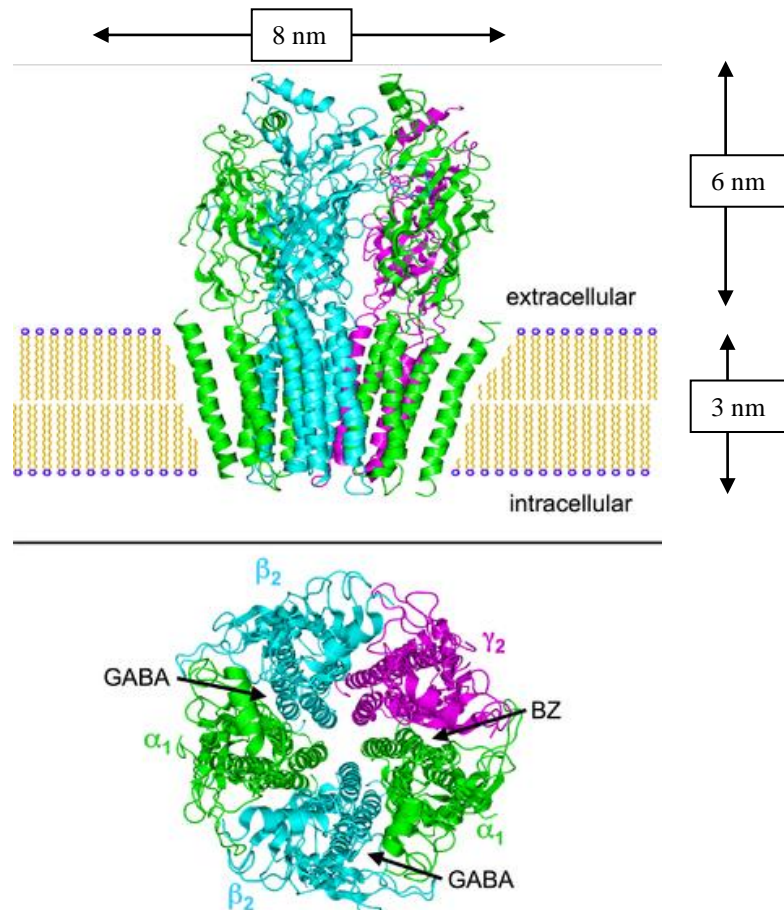


Figura 15 – Estrutura do receptor $GABA_A$ vista em posição transmembranar (em cima) e vista do topo da parte extracelular da membrana celular. Encontram-se representadas duas subunidades de tipo α 1, duas subunidades do tipo α 2 e uma subunidade γ 2. O receptor BZ localiza-se entre as subunidades β 2 e β 1. (Unwin, N., 2005)

A fixação do GABA ou da BZ provoca um aumento da permeabilidade do canal do cloreto, o que permite a este anião atravessar passivamente a membrana celular, seguindo um gradiente de concentração. Geralmente, a concentração de iões cloreto no espaço extracelular é superior à que existe no meio intracelular. De acordo com esta diferença, entre concentrações do cloreto fora e dentro das células neuronais, verifica-se um acréscimo de cargas negativas na face interna da membrana celular, que se traduz

num aumento de potencial transmembranar. A membrana hiperpolarizada possui um limiar de excitabilidade aumentado e verifica-se uma desaceleração da actividade neuronal, o que justifica a designação deste tipo de receptores como receptores inibitórios. Através de mecanismo ainda não esclarecido, a activação dos receptores das BZs pelos seus agonistas aumenta a afinidade do GABA para o receptor GABA_A (Hanson e Czajkowski., 2008; Clayton *et al.*, 2007; Whiting, 2006). Assim sendo, verifica-se que os agonistas dos receptores das BZs têm uma acção dependente da quantidade de GABA endógeno e este facto explica a escassa toxicidade aguda destes fármacos que, mesmo que administrados em doses múltiplas das terapêuticas, são desprovidos de efeitos depressores do SNC fatais, ao contrário dos barbitúricos que actuam directamente sobre o canal dos cloretos e provocam depressão respiratória completa em concentrações pouco superiores às concentrações mínimas eficazes.

As benzodiazepinas como diazepam e flunitrazepam possuem afinidade para os receptores compostos pelas subunidades $\alpha_1, \beta, \gamma_2 / \alpha_2, \beta, \gamma_2 / \alpha_3, \beta, \gamma_2$, e $\alpha_5, \beta, \gamma_2$. Estudos desenvolvidos por Rudolph e colaboradores (1999), evidenciaram que as acções sedativas e anticonvulsivantes são mediadas através dos receptores GABA_A que contêm a subunidade α_1 , enquanto que os receptores que contêm a subunidade α_2 parecem estar envolvidos na actividade ansiolítica, uma vez que estão distribuídos preferencialmente no cérebro em circuitos que medeiam o comportamento emocional. Os receptores que têm na sua composição as subunidades α_2, α_3 e/ou α_5 podem mediar o efeito relaxante muscular e, embora ainda não esteja bem estabelecido, os receptores que contêm a subunidade α_5 estão associados com as capacidades cognitivas e memória, enquanto que o papel dos receptores que contêm a subunidade α_3 ainda permanece por clarificar, embora parece estar relacionado, pelo menos parcialmente, com um efeito mediador da ansiedade (Da Settimo *et al.*, 2007; Whiting, 2003; Collins *et al.*, 2002; Mölher *et al.*, 2001; Rudolph *et al.*, 1999). A Tabela IV resume a acção das BZs de acordo com o subtipo de receptor GABA_A. Relativamente à subunidade γ estudos mostram que o receptor que é quantitativamente mais prevalente dentro dos diferentes subtipos é a subunidade γ_2 , que pode constituir mais de 80% de todos os receptores GABA_A (Whiting, 2006).

A compreensão da diversidade da família dos receptores GABA_A é um passo determinante no sentido de desenvolver novos fármacos benzodiazepínicos mais

eficazes e com menos efeitos adversos. A descoberta de moléculas que se ligam preferencial e especificamente às diferentes subunidades α pode ajudar no tratamento específico da ansiedade, desordens do sono, estados de convulsão e problemas associados à memória com menos efeitos secundários. Esta selectividade pode ser conseguida com duas estratégias: com a obtenção de moléculas farmacologicamente activas com afinidade selectiva ou com eficácia de ligação selectiva. A afinidade selectiva consegue-se com uma molécula terapêutica que se ligue com elevada afinidade a um subtipo do receptor, em comparação com uma outra molécula, enquanto que a eficácia de selectividade para um subtipo de receptor requer um composto que se ligue a todos os subtipos de receptores, mas com eficácia de ligação variável (eficácia de selectividade relativa) ou um composto que possui eficácia de ligação para alguns subtipos de receptores, mas nenhuma para outros (eficácia de selectividade absoluta) (Da Settimo *et al.*, 2007; Atack, 2005).

Tabela IV – Acção das BZs no subtipo de receptor GABA_A $\alpha_{1-6}\beta_3\gamma_2$ (Clayton *et al.*, 2007).

Subtipo	Efeito associado
α_1	Sedação, Amnésia anterógrada, alguma acção anti-convulsiva, ataxia.
α_2	Ansiolítico, Hipnótico (EEG), algum relaxamento muscular.
α_3	Alguma acção ansiolítica, anti-convulsiva e relaxamento muscular
α_4	Não sensível
α_5	Cognição, memória temporal e espacial.
α_6	Não sensível

Parecem existir dois subtipos farmacológicos de receptores de BZs, o BZR₁ (Ómega 1) e BZR₂ (Ómega 2). Alguns autores chegam a admitir a existência de um terceiro subtipo de receptor benzodiazepínico, BZR₃ ou Ómega 3, que hipoteticamente se localiza na membrana externa das mitocôndrias de tecidos periféricos, como é o tecido hepático, e nas células da glia (DeLucia *et al.*, 2007; López-Romero *et al.*, 1998; Sanger *et al.*, 1994). Cada subtipo apresenta, assim, uma distribuição distinta no SNC.

Clayton (2007) propôs um modelo unificado de base da ligação receptor/farmacóforo ao do subtipo do receptor GABA_A $\alpha_1\beta_2\gamma_2$, com base no conhecimento farmacológico de mais de 150 substâncias agonistas, antagonistas e agonistas inversas dos receptores BZ

aliado à utilização de técnicas de síntese química, técnicas de ligação marcadas com radioisótopos e técnicas de mapeamento do receptor. Nele encontram-se definidas as tendências no que diz respeito à orientação das regiões do receptor proteico e na determinação do papel de certos resíduos de aminoácidos na ligação às BZs. O modelo proposto encontra-se esquematizado na figura 16. Consiste em dois domínios aceitadores de electrões (H_1 e H_2), um domínio dador electrónico (A_2) e um domínio lipofílico (L_1). Além destas, existem regiões lipofílicas de interacção (L_2 , L_3 e L_{DI}), assim como regiões de repulsão estérica negativa (S_1 , S_2 e S_3). Enquanto que a ocupação da região L_2 e/ou L_3 assim como as interacções em H_1 , H_2 e L_1 são importantes para a modulação alostérica positiva, os agonistas inversos só requerem as interacções com os domínios H_1 , L_1 e A_2 do modelo receptor/farmacóforo para possuírem actividade potente *in vivo*. O domínio L_{DI} é uma região de interacção lipofílica para a qual a diferença entre modelos de sub-farmacóforos que são semelhantes ao diazepam (*diazepam sensitive*) ou não semelhantes ao mesmo fármaco (*diazepam insensitive*) é mais pronunciada (Clayton *et al.*, 2007).

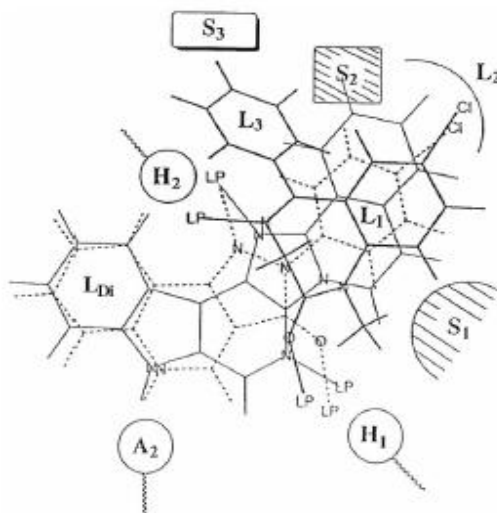


Figura 16 – Localizações relativas dos domínios e regiões de um modelo unificado de receptor/farmacóforo. A linha pontilhada representa o pyrazolo[3,4-c]quinolin-3-ona CGS-9896, a linha fina o diazadiindole e o diazepam está representado pela linha grossa (Clayton *et al.*, 2007).

Por último falta referir que nem todas as teorias indicam para que as BDZ actuem como agonistas totais ou parciais para os receptores $GABA_A$. Na tentativa de explicação da acção antidepressiva do clonazepam, em associação com outros fármacos, foi sugerido

que a depressão está associada com uma disfunção da transmissão GABAérgica, pois a concentração plasmática do GABA em pacientes com sintomas de depressão é cerca de 10-15%, mais baixa do que em indivíduos normais. Já foi também descrito que os precursores do GABA e os compostos que se ligam ao receptor GABA exercem efeitos antidepressivos fortes. Morishita (2009) refere que foi descrito por Slattery *et al.* (2005), que os antagonistas do receptor GABA_B exibem efeitos antidepressivos. A activação do receptor GABA_B inibe a libertação de serotonina, assim, foi sugerido que a transmissão serotoninérgica desempenha um papel na mediação dos efeitos antidepressivos dos antagonistas do receptor GABA_B. Huguenard e Prince (1994), reportaram que o clonazepam reduz o componente GABA_B dos potenciais inibitórios pós-sinápticos (Morishita, 2009).

IV. Objectivos e métodos

1. Considerações gerais

A motivação para a persecução do trabalho apresentado relaciona-se com o interesse que a substituição de um átomo de hidrogénio por um átomo de flúor tem suscitado nos últimos anos a nível da química farmacêutica.

O flúor é o elemento mais electronegativo da tabela periódica e possui um número de propriedades físicas que são incomparáveis com os outros substituintes encontrados nas moléculas orgânicas de interesse médico (O'Hagan, 2008; Razgulin e Mecozzi, 2006). É cada vez mais evidente que os compostos fluorados desempenham um papel muito importante na química médica. O exemplo do primeiro fármaco organofluorado a ser sintetizado foi o 5-fluoruracilo, em 1957, que é utilizado como agente anti-neoplásico. Desde que se sintetizou o 5-fluoruracilo, a substituição de átomos de uma molécula por átomos de flúor começou a ser um procedimento habitual da química médica contemporânea com o objectivo de aumentar a estabilidade metabólica, biodisponibilidade e ligação dos compostos com as proteínas. Outros exemplos mais recentes da enorme vantagem que se obtém com a introdução de grupos com átomos de flúor nas moléculas de fármacos são a Fluoxetina (aprovada pela FDA em 1987), que é utilizada como antidepressivo, o Fluritromicina, que é um análogo fluorado da eritromicina para tratamentos das infecções provocadas pela bactéria *Helicobacter pylori*, fármaco lançado no mercado em 1997. Outro exemplo é encontrado na família de antibióticos como as fluorquinolonas. Se se retirar o átomo de flúor da molécula de antibiótico é reduzida a actividade do fármaco e o seu espectro bactericida (Chu, 1993). O Efavirenz é outro dos fármacos, com um grupo trifluormetilo ligado à molécula, utilizado no tratamento de doentes com HIV. Estudos de relação estrutura-actividade mostraram que a presença deste grupo trifluormetilo na molécula do Efavirenz aumenta a sua potência terapêutica por baixar o pKa do carbamato cíclico, o que permite uma ligação-chave de hidrogénio com a proteína (enzima transcriptase inversa) que é essencial para a sua actividade anti-vírica. Outro parâmetro que pode ser alterado com a introdução de átomos de flúor numa molécula é a sua lipofilia, definida pelo coeficiente de partição de uma substância entre a fase aquosa e fase orgânica. No entanto, tem que existir um compromisso entre a lipofilia e a solubilidade do fármaco na água para que a substância terapêutica possa ser absorvida se administrada oralmente. Existe uma ideia errada de que a fluorinação aumenta sempre a lipofilia das moléculas. Em relação à fluorinação de moléculas aromáticas, a lipofilia dos compostos é aumentada devido à

sobreposição entre as orbitais 2s ou 2p do flúor com as correspondentes orbitais do carbono, fazendo a ligação C-F altamente polarizável.

Assim, o objectivo principal é avaliar em termos quantitativos o efeito electrónico da presença de flúor nas benzodiazepinas. Não obstante, também os efeitos electrónicos e estruturais de outros substituintes podem ser discutidos uma vez que se utilizaram neste estudo também benzodiazepinas não fluoradas como compostos de referência. Assim sendo, o estudo permite também avaliar os efeitos electrónicos e estruturais dos substituintes $-\text{NO}_2$ e $-\text{Cl}$ na posição 7 e dos substituintes $-\text{H}$, $-\text{Cl}$ e $-\text{F}$ na posição 2' na actividade das respectivas benzodiazepinas.

Para o efeito fizeram-se:

- i) Optimizações geométricas (em estado gasoso) utilizando o programa Gaussian 03 que executa a optimização da geometria da molécula por métodos da teoria DFT (Density Functional Theory). A geometria optimizada tem como critério a minimização da energia da molécula, calculada por métodos *ab-initio*. A optimização geométrica permite inferir sobre aspectos estruturais, nomeadamente os conformacionais.
- ii) Cálculos das cargas atómicas das moléculas optimizadas por análise NPA (Natural Population Analysis). A análise das variações das cargas atómicas permite discutir a polaridade relativa dos locais identificados como os responsáveis pelas relações estrutura-actividade.
- iii) Cálculos das superfícies de potencial isoelectrónicas que permitem estabelecer quais as diferenças de polaridade na superfície das moléculas, para o mesmo afastamento do núcleo atómico. Assim se pode avaliar, para a mesma distância dos núcleos atómicos (mesmo volume), as diferenças entre as polaridades.

Por uma questão de sistematização optou-se por agrupar os compostos estudados em dois conjuntos, i) num deles utilizou-se o Diazepam como composto referência para os compostos com substituição $\text{C}_7\text{-Cl}$ e; ii) nos outros, o Nitrazepam como referência para os compostos com substituição $\text{C}_7\text{-NO}_2$. Assim, no primeiro encontram-se o Diazepam, o Flurazepam, o Desalquilflurazepam e o Hidroxietilflurazepam, sendo os dois últimos os metabolitos activos do Flurazepam. No segundo grupo, encontram-se estudados o

Nitrazepam, o Clonazepam, o Flunitrazepam e o seu metabolito activo o Desmetilflunitrazepam e ainda dois compostos que denominaremos por Nitroflurazepam e Desalquilnitroflurazepam, que não se encontram dentro das benzodiazepinas comerciais. Uma vez que a partir da denominação vulgar destas benzodiazepinas não se consegue inferir de forma simples e rápida sobre as substituições nos anéis que elas comportam, utilizaremos na discussão e avaliação dos resultados uma notação identificativa mais próxima do seu nome sistemático e que se encontra exposta na Tabela V.

Relativamente às acções farmacológicas primordiais verifica-se, como já foi referido no capítulo anterior, que o diazepam possui uma acção marcadamente ansiolítica, sendo um agonista total dos receptores das BDZ enquanto o flurazepam é considerado um agonista parcial dos referidos receptores e possui uma acção marcadamente hipnótica também. No grupo das 7-nitro-benzodiazepinas efeitos farmacológicos predominantes são mais dispersos, o nitrazepam actua como anti-convulsivante, o clonazepam como antiepilético, é utilizado no tratamento de desordens psiquiátricas e como adjuvante no tratamento de quadros depressivos. Esta BZ além de actuar como agonista do GABA_A pode também actuar como agonista do receptor GABA_B, induzindo indirectamente a libertação de serotonina. O flunitrazepam é uma droga com acção marcadamente hipnótica e rápida.

2. Química Computacional

Na teoria de Hartree-Fock a energia, E_{HF} , é calculada pela seguinte expressão:

$$E_{HF} = V + \langle h\mathbf{P} \rangle + 1/2\langle \mathbf{P}\mathbf{J}(\mathbf{P}) \rangle - 1/2\langle \mathbf{P}\mathbf{K}(\mathbf{P}) \rangle \quad (\text{eq. 1})$$

Onde V se refere à energia de repulsão nuclear, \mathbf{P} à matriz de densidade, $\langle h\mathbf{P} \rangle$ à energia de repulsão uni-electrónica que engloba a componente cinética e a potencial, $1/2\langle \mathbf{P}\mathbf{J}(\mathbf{P}) \rangle$ à energia de repulsão de Coulomb clássica entre electrões e o termo $-1/2\langle \mathbf{P}\mathbf{K}(\mathbf{P}) \rangle$ refere-se à energia de permuta resultante da natureza quântica dos electrões.

Efeito do substituinte “-F” na interação “Fármaco-Receptor” em Benzodiazepinas

Tabela V – Nome vulgar, nome sistemático e notação adoptada para os compostos derivados do anel benzodiazepínico estudados.

	Nome vulgar	Nome sistemático (internacional)	Notação adoptada
Grupo 1	Diazepam	(<i>RS</i>)-7-chloro-1,3-dihydro-1-methyl-5-phenyl-1,4-benzodiazepin-2(<i>2H</i>)-one.	7-Cl-1-Me-2'H-BZ
	Flurazepam	(<i>RS</i>)-7-chloro-1-[2-(diethylamino)ethyl]-5-(2-fluorophenyl)-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	7-Cl-1-N(Et) ₃ -2'F-BZ
	Desalquilflurazepam	(<i>RS</i>)-7-chloro-5-(2-fluorophenyl)-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	7-Cl-2'F-BZ
	Hidroxietilflurazepam	(<i>RS</i>)-7-chloro-1-[2-(hydroxy)ethyl]-5-(2-fluorophenyl)-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	7-Cl-1-OH-2'F-BZ
Grupo 2	Nitrazepam	(<i>RS</i>)-9-nitro-6-phenyl-2,5-diazabicyclo [5.4.0] undeca-5,8,10,12-tetraen-3-one	7-NO ₂ -2'H-BZ
	Clonazepam	(<i>RS</i>)-5-(2-chlorophenyl)-7-nitro-2,3-dihydro-1,4-benzodiazepin-2(<i>2H</i>)-one	7-NO ₂ -2'Cl-BZ
	Flunitrazepam	6-(2-fluorophenyl)-2-methyl-9-nitro-2,5-diazabicyclo [5.4.0] undeca-5,8,10,12-tetraen-3-one	7-NO ₂ -1Me-2'F-BZ
	Desmetilflunitrazepam	6-(2-fluorophenyl)-9-nitro-2,5-diazabicyclo [5.4.0] undeca-5,8,10,12-tetraen-3-one	7-NO ₂ -2'F-BZ
	Nitroflurazepam	(<i>RS</i>)-7-nitro-1-[2-(diethylamino)ethyl]-5-(2-fluorophenyl)-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	7-NO ₂ -1-N(Et) ₃ -2'F-BZ
	Desalquilnitraflurazepam	(<i>RS</i>)-7-nitro-1-[2-ethyl]-5-(2-fluorophenyl)-1,3-dihydro-3-hydroxy-2H-1,4-benzodiazepin-2-one	7-NO ₂ -1-Et-3OH-2'F-BZ

Na teoria de densidade funcional o determinante da permuta energética $-1/2\langle\mathbf{PK}(\mathbf{P})\rangle$, é substituído por uma funcional de permuta correlacional que inclui os termos para a energia de permuta $E_X[\mathbf{P}]$ (funcional de permuta) e para a correlação electrónica $E_C[\mathbf{P}]$ (funcional de correlação electrónica) originando E_{KS} ,

$$E_{KS} = V + \langle\mathbf{hP}\rangle + 1/2\langle\mathbf{PJ}(\mathbf{P})\rangle + E_X[\mathbf{P}] + E_C[\mathbf{P}] \quad (\text{eq. 2})$$

As funcionais utilizadas na teoria DFT são integrais de funções de densidade ou de gradientes de densidade:

$$E_X[\mathbf{P}] = \int f(\rho_\alpha(r), \rho_\beta(r), \alpha\rho_\alpha(r), \alpha\rho_\beta(r)).dr \quad (\text{eq. 3})$$

Os cálculos *ab initio* foram executados com o programa Gaussian 03 (2007) utilizando o nível de teoria B3LYP/6-311G++(d,p). B3LYP refere-se à combinação das funcionais híbridas de permuta de Becke (Becke, 1997) com as funcionais de correlação de gradiente de Lee & Yang (1998), 6-311G++(d,p) refere-se a um conjunto de bases de cisão de valência polarizadas.

Foram também calculadas as orbitais moleculares, assim como, as cargas atribuídas a cada átomo por uma análise de NPA (Natural Population Analysis Phase) das NBO (Natural Bond Orbital Analysis) de acordo com Carpenter & Weinhold (1998). Para o mesmo nível de teoria foram feitos os cálculos das frequências de vibração dos compostos de modo a se poder verificar que a estrutura convergiu para um mínimo pelo critério de obtenção de zero frequências imaginárias.

O programa GaussView 3.0, (2007), foi utilizado para a visualização gráfica dos resultados e para executar as imagens apresentadas para a optimização geométrica, as superfícies de potencial e a distribuição de cargas.

V. Resultados e discussão

1. Optimizações geométricas

Para todos os compostos foram executadas optimizações geométricas e cálculo de frequências de vibração para assegurar que a geometria obtida correspondia a um mínimo de energia pelo critério da não obtenção de frequências imaginárias (negativas).

Na figura 17 encontram-se as estruturas optimizadas para as benzodiazepinas pertencentes aos dois grupos. As geometrias não diferem significativamente excepto quanto à posição do anel aromático em C₅.

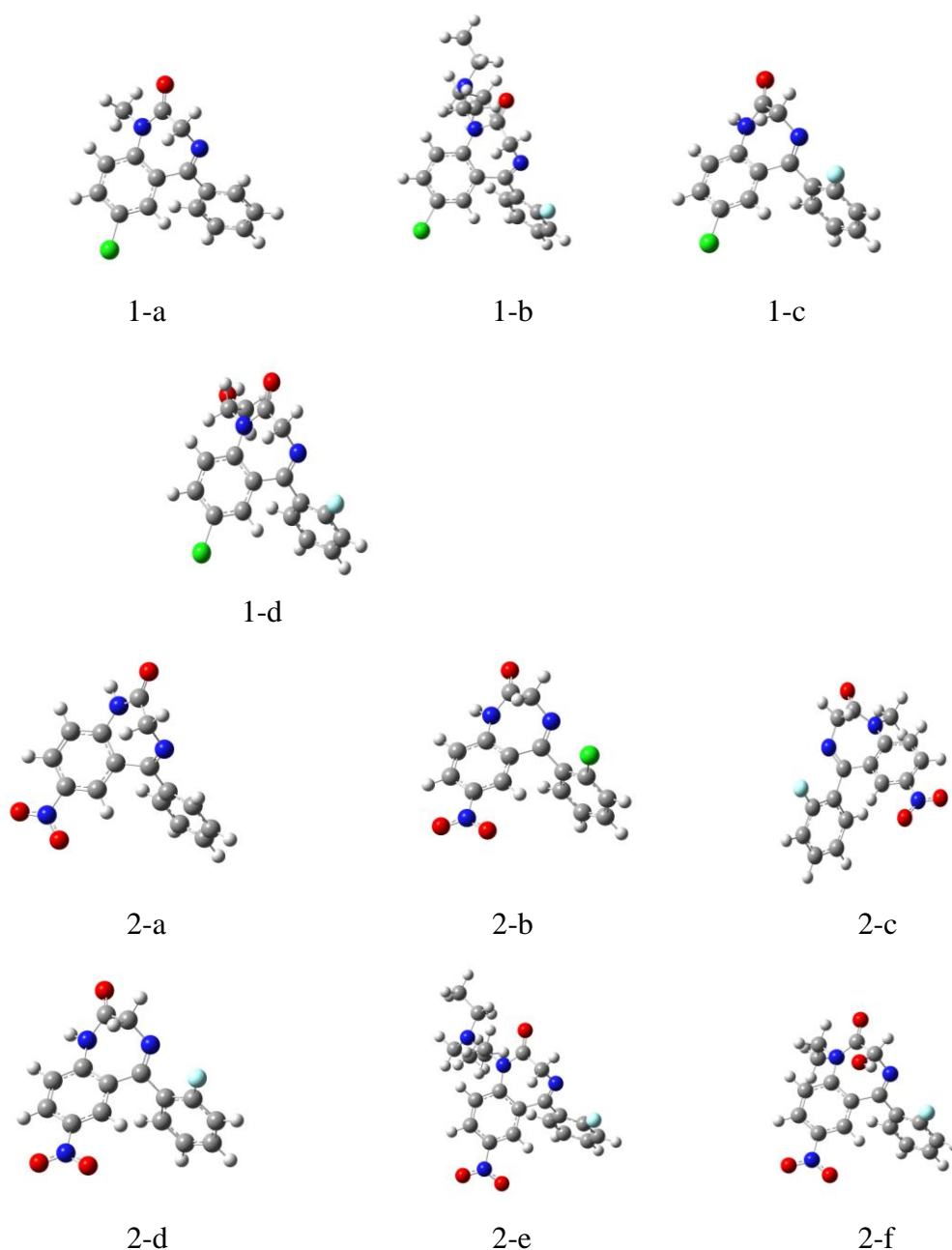


Figura 17 – Geometrias optimizadas para os compostos estudados obtidas por cálculos ab initio no nível de teoria B3LYP/6-311G++(d,p).

Tabela VI – Energias mínimas e momentos dipolares para os compostos 1.a-d e 2.a-f obtidos ao nível de teoria B3LYP/6-311G++(d,p).

Composto		E (Hartres) ¹	Momento dipolar (D)	
G1	1.a	7-Cl-1-Me-2' H -BZ	-1262.5065146	2.2977
	1.b	7-Cl-1-N(Et) ₃ -2' F -BZ	-1613.6615966	4.1439
	1.c	7-Cl-2' F -BZ	-1322.4332481	4.2123
	1.d	7-Cl-1-OH-2' F -BZ	-1476.273605	3.7358
G2	2.a	7-NO ₂ -2' H -BZ	-968.1136872	1.3461
	2.b	7-NO ₂ -2' Cl -BZ	-1427.7000926	2.4702
	2.c	7-NO ₂ -1Me-2' F -BZ	-1106.6560011	3.1988
	2.d	7-NO ₂ -2' F -BZ	-1067.3483743	2.3511
	2.e	7-NO ₂ -1-N(Et) ₃ -2' F -BZ	-1358.576417	3.9513
	2.f	7-NO ₂ -1-Et-3OH-2' F -BZ	-1221.1916525	2.7440

¹(RB+HF+LYP)

Os aspectos conformacionais serão discutidos na próxima secção. Os valores obtidos para as energias electrónicas totais encontram-se apresentados na Tabela VI e foram utilizados como critério de convergência. Estes valores relacionam-se com a estabilidade das moléculas mas não podem ser analisados comparativamente uma vez que as benzodiazepinas possuem composições atómicas diferentes. Os valores dos comprimentos de ligação das ligações da mesma natureza não diferem de forma significativa para as estruturas estudadas. No anel aromático da benzodiazepina os comprimentos de ligação C_{ar}-C_{ar} são típicos dos apresentados em anéis aromáticos. No anel diazepínico as distâncias de ligação imina e amida secundária também se situam dentro dos valores normais. Na falta de valores de referência para ângulos e comprimentos de ligação em estado gasoso, é prática corrente comparar estes valores com os apresentados pelas estruturas cristalinas. Foram encontradas na literatura algumas estruturas moleculares e cristalinas dos compostos semelhantes aos estudados (Hempel, *et al.*, 1987) nomeadamente do oxazepam (Gilli, *et al.*, 1988), do medazepam (Chananont *et al.*, 1980) e também do flunitrazepam (Butcher *et al.*, 1983).

Análise dos valores dos comprimentos de ligação e dos ângulos de ligação das substâncias cristalinas mostram que estes não diferem significativamente de estrutura para estrutura. Estes valores são também comparáveis aos obtidos para as otimizações geométricas obtidas para as benzodiazepinas por métodos de DFT, embora haja sistematicamente um ligeiro aumento nos valores de todas as distâncias de ligação que pode ser atribuído ao facto dos compostos terem sido geometricamente otimizados no estado gasoso não havendo pois o efeito das interações intramoleculares próprias do empacotamento cristalino.

2. Aspectos conformacionais.

O conhecimento da conformação destes fármacos é importante pois estudos apontam para o facto de serem as benzodiazepinas a induzirem mudanças na conformação dos seus receptores o GABA_A, subunidade $\alpha 1$ (Williams *et al.*, 2000). As benzodiazepinas apresentam uma conformação típica para o anel benzodiazepínico que não varia significativamente com o tipo de substituintes. O anel diazepínico adopta uma conformação de barco com um pseudo plano de reflexão que corta medialmente as ligações C7-C8 e C11-C12 da benzodiazepina e passa pelo átomo C3 que possui hibridação sp_3 (figura 18).

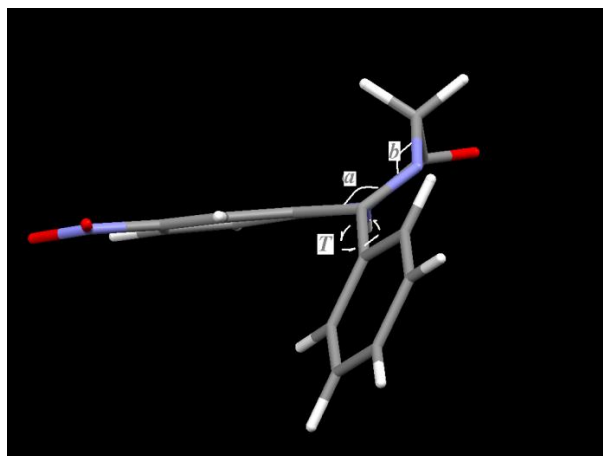


Figura 18 – Esquema geral representativo da conformação típica das benzodiazepinas.

Os parâmetros adoptados para a análise conformacional são:

a – ângulo entre os átomos C12-C5- N4.

b – ângulo entre os átomos C5- N4-C3.

T – ângulo de torção em torno da ligação C5-Ph

Os ângulos de valência que envolvem o átomo N4 são próximos de 120°, a geometria global da sua vizinhança é plana e o comprimento de ligação é típico de uma dupla C=N. Do lado oposto encontra-se o átomo de carbono carbonílico que confere de mesmo modo, ao conjunto N1-(C=O) uma geometria triangular plana.

Esta conformação pode ser caracterizada por dois valores angulares, o ângulo **a** formado entre os átomos C12-C5- N4 e o ângulo **b** o ângulo entre os átomos C5- N4-C3. A conformação geral adoptada encontra-se representada na figura 18 onde a 7-NO₂-2’H-BZ foi escolhida como exemplo.

Na Tabela VII encontram-se sumarizados os valores obtidos para os parâmetros geométricos **a**, **b** e **T** para cada um dos compostos. Os valores apresentados para o ângulo **a** não variam significativamente entre eles dentro do critério 3δ, com excepção para o desalquilflurazepam que apresenta um valor de 136,6(8)° que é mais elevado que os restantes.

Tabela VII – Alguns aspectos geométricos relevantes para as benzodiazepinas estudadas: **a** refere-se ao ângulo entre os átomos C12-C5- N4, **b** ao existente entre os átomos C5- N4-C3 e **T** ao ângulo de torção em torno da ligação C5-Ph, obtidos ao nível de teoria B3LYP/6-311G++(d,p).

Composto		a (°)	b (°)	T (°)	
G1	Diazepam	7-Cl-1-Me-2’H-BZ	123.4(7)	118.7(7)	31(1)
	Flurazepam	7-Cl-1-N(Et)3-2’F-BZ	124.3(7)	118.5(7)	49(1)
	Desalquilflurazepam	7-Cl-2’F-BZ	136.8(7)	119.6(7)	50(1)
	Hidroxietilflurazepam	7-Cl-1-OH-2’F-BZ	124.1(7)	118.5(7)	46(1)
G2	Nitrazepam	7-NO ₂ -2’H-BZ	124.5(7)	119.7(7)	33(1)
	Clonazepam	7-NO ₂ -2’Cl-BZ	126.1(7)	119.7(7)	62(1)
	Flunitrazepam	7-NO ₂ -1Me-2’F-BZ	124.4(7)	118.5(7)	48(1)
	Desmetilflunitrazepam	7-NO ₂ -2’F-BZ	126.7(7)	119.6(7)	50(1)
	Nitroflurazepam	7-NO ₂ -1-N(Et) ₃ -2’F-BZ	124.2(7)	118.2(7)	47(1)
	Desalquilnitraflurazepam	7-NO ₂ -1-Et-3OH-2’F-BZ	125.7(7)	119.5(7)	50(1)

¹(RB+HF+LYP)

O plano do anel fenilo ligado a C5 apresenta posições angulares diferentes em relação ao plano do resíduo aromático do anel benzodiazepínico. Esta variação pode ser quantificada pelo ângulo de torção T, que existe em torno da ligação C5-Ph (figura 18).

O ângulo **b** não apresenta variações significativas com o tipo de composto situando-se na ordem dos 119, 1(7)°. Variações mais significativas podem ser encontradas nos valores dos ângulos de torção **T**. Verifica-se uma dependência destes valores com o tipo de substituinte presente na posição C2' do anel fenílico. Quando o substituinte é um átomo de hidrogénio, como é o caso do Diazepam e Nitrazepam o ângulo apresenta valores de cerca de 30°, quando o substituinte é o átomo de flúor, o referido ângulo aumenta para valores compreendidos entre o intervalo [46-50°]. O clonazepam possui o valor de torção em torno da ligação C5-Ph mais elevado, cerca de 60°. Estas variações reflectem possivelmente as repulsões electrostáticas que existem entre as nuvens electrónicas dos halogénios com as das orbitais desocupadas do átomo de azoto imínico. Modificam também a conformação da molécula podendo pois, afectar a extensão da sua ligação ao local farmacologicamente activo.

Também na figura 19 encontram-se representadas as moléculas estudadas onde se evidencia a projecção da conformação em barco do anel diazepínico.

3. Polaridades e distribuição de cargas

Na figura 20 encontram-se apresentados os valores para os momentos dipolares de diversas substâncias em conjunto com a sua representação gráfica que permite visualizar de forma mais clara a sua variação com o tipo de composto. O momento dipolar surge como consequência da distribuição não uniforme das cargas em torno molecular pelo que é uma medida quantitativa da polaridade da molécula. Verifica-se que os compostos contendo um átomo de cloro na posição C7 apresentam um momento dipolar mais elevado do que os que possuem um grupo nitro na mesma posição. Também a existência de um átomo de flúor na posição C2' aumenta a polaridade da molécula. Assim, verifica-se que dentro dos compostos estudados o 7-NO₂-2'H-BZ (2.a -nitrazepam) é aquele que possui menor polaridade, seguido do 7-Cl-1-Me-2'H-BZ (1.a - Diazepam) que apresenta uma polaridade semelhante ao 7-NO₂-2'Cl-BZ (2.b-

clonazepam). A existência conjunta de um substituinte C7-Cl e C2'-F contribui para um aumento significativo da polaridade da molécula como se pode verificar pelos valores apresentados por 7-Cl-2'F-BZ (2.c). Também a introdução de um substituinte polar no átomo de azoto N1 aumenta a polaridade da benzodiazepina.

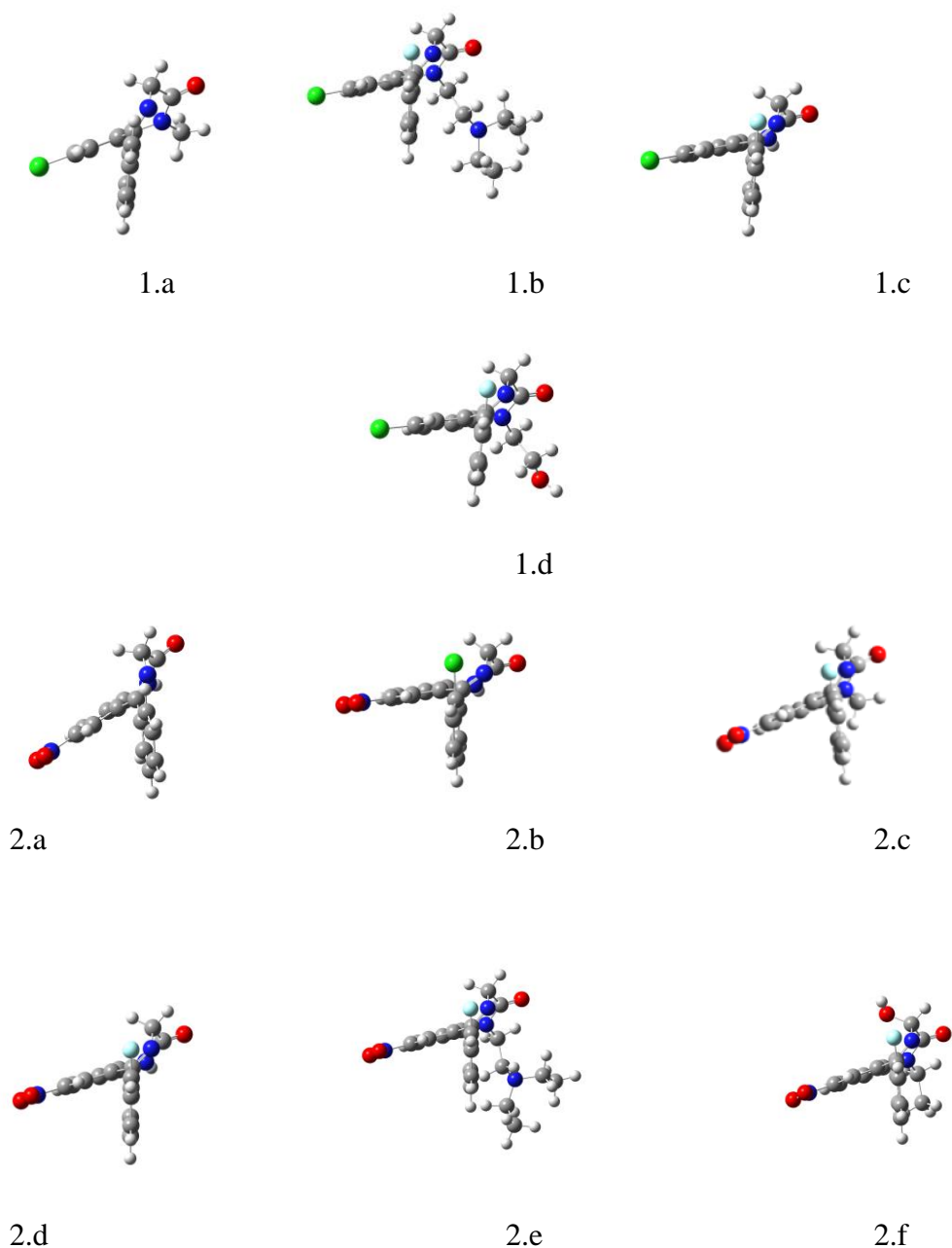


Figura 19 – Geometrias otimizadas para os compostos estudados obtidas por cálculos *ab initio* no nível de teoria B3LYP/6-311G++(d,p), evidenciando a projecção da conformação em barco do anel diazepínico e o ângulo existente entre o anel aromático da BZ e do substituinte fenílico em C5.

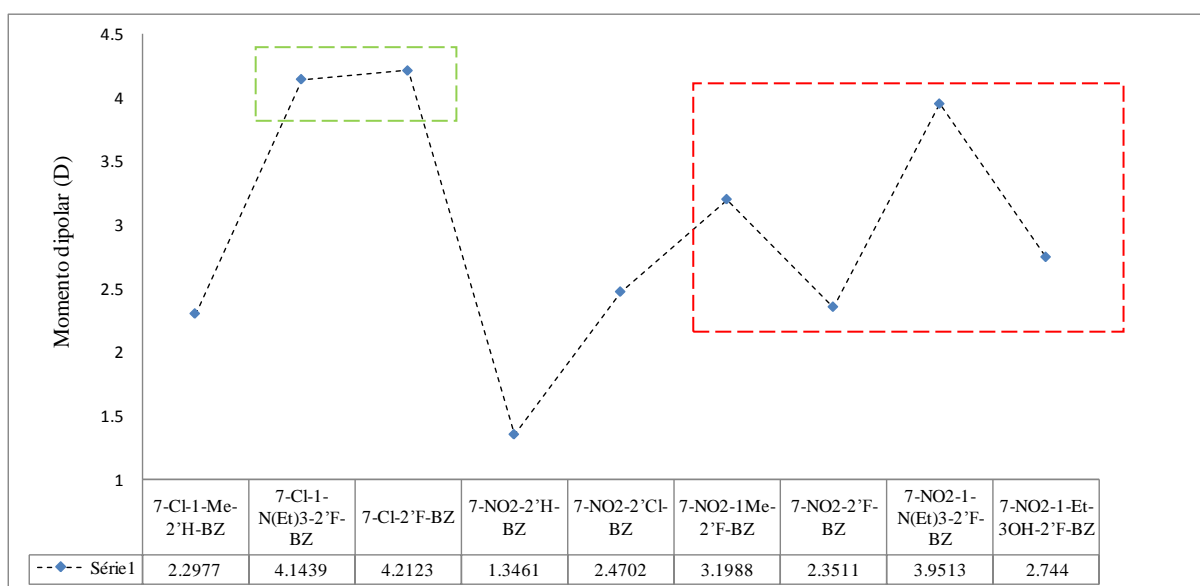


Figura 20 – Representação gráfica do valor do momento dipolar obtido para cada substância otimizada.

Os primeiros três pontos pertencem aos compostos do grupo 1 e são os que possuem um átomo de cloro substituído na posição 7. Os restantes pertencem a compostos de grupo 2 e possuem um substituinte nitro na referida posição.

Para além do momento dipolar, também interessa analisar a distribuição relativa das cargas pelos átomos que constituem a molécula pois desta forma se poderão apontar locais de ligação preferencial a regiões hidrófilas ou lipófilas do receptor ou verificar quais os locais que poderão mais facilmente induzir polaridade nessas regiões receptoras. As cargas atômicas de átomos seleccionados, calculadas por NPA para o mesmo nível de teoria das optimizações geométricas, para os compostos 1.a-e e 2.a-f encontram-se apresentadas na Tabela VIII. Uma vez que tais distribuições de cargas foram calculadas para as geometrias optimizadas num modelo teórico de distribuição, em estado gasoso, há que ter em conta esta circunstância na análise dos seus valores absolutos. Contudo as simplificações que eventualmente o modelo possa introduzir não obsta a validade da discussão feita com base em comparações relativas pois os erros que possam ser introduzidos pelo cálculo teórico são geralmente sistemáticos, tal como acontece para o referido na análise dos comprimentos de ligação.

As diferenças significativas evidenciadas pelos valores apresentados na Tabela VIII são as seguintes:

a) *Distribuição de carga a nível de C7*

As cargas atómicas mais negativas tornam o local mais susceptível à coordenação em locais de natureza acídica. Estas cargas negativas ou a sua variação são muitas vezes resultantes de efeitos indutivos dos substituintes como cadeias alquílicas ou grupos dadores de densidade electrónica sigma. Este é o caso do átomo de azoto N1 do anel diazepínico onde se verifica que a presença de um substituinte alquílico altera significativamente a distribuição de carga nesse átomo, diminuindo sua polaridade tornando assim a molécula com menor capacidade dadora nessa região. Pelo contrário a capacidade dadora electrónica do átomo N3 não parece ser afectada de forma significativa com as substituições apresentadas. Tal facto seria expectável uma vez que este átomo se localiza na região não aromática da molécula dificultando pois as transferências de carga e a influência indutiva de regiões mais afastadas.

Tabela VIII – Distribuição de cargas (e) para as benzodiazepinas utilizadas, calculadas por NPO no nível de teoria B3LYP/6-311++G(d,p).

Composto	C7	C11	N1	(C)=O	N4	C5	C2'	
G1	7-Cl-1-Me-2'H-BZ	-0.066	0.179	-0.491	-0.601	-0.428	+0.269	-0.195
	7-Cl-1-N(Et) ₃ -2'F-BZ	-0.063	0.180	-0.495	-0.607	-0.398	+0.262	+0.464
	7-Cl-2'F-BZ	-0.069	0.168	-0.654	-0.590	-0.405	+0.266	+0.444
	7-Cl-1-OH-2'F-BZ	-0.062	0.178	-0.496	-0.604	-0.399	+0.263	+0.446
G2	7-NO ₂ -2'H-BZ	+0.045	0.199	-0.650	-0.578	-0.430	+0.272	-0.194
	7-NO ₂ -2'Cl-BZ	+0.046	0.201	-0.649	-0.577	-0.402	+0.275	-0.026
	7-NO ₂ -1Me-2'F-BZ	+0.048	0.212	-0.486	0.586	-0.398	+0.266	+0.447
	7-NO ₂ -2'F-BZ	+0.045	0.200	-0.649	0.576	-0.403	+0.268	+0.446
	7-NO ₂ -1-N(Et) ₃ -2'F-BZ	+0.044	0.213	-0.491	-0.590	-0.396	+0.264	+0.448
	7-NO ₂ -1-Et-3OH-2'F-BZ	+0.043	0.234	0.481	-0.589	-0.444	+0.292	+0.446

A análise da variação das cargas do átomo de carbono C7 permite verificar que, o efeito retirador de densidade electrónica do grupo nitro é superior ao do cloro. Assim os compostos pertencentes ao G1 exibem cargas ligeiramente negativas ou muito próximas da neutralidade em C7 enquanto nos compostos do grupo G2 esse átomo é ligeiramente electropositivo devido ao efeito indutivo negativo do grupo nitro pois a hibridação sp_2 deste grupo permite a fluxo da nuvem electrónica para os átomos de oxigénio que o constituem.

b) Distribuição de carga a nível de N1

A presença de grupos alquilo ou hidroxilo ligados ao átomo N1 do anel diazepínico retira densidade de carga electrónica a esse azoto tornando a ligação menos polar

c) Distribuição de carga a nível de C2’

O efeito de variação das cargas mais pronunciado verifica-se quando um átomo de flúor substitui um átomo de hidrogénio ou um outro halogénio na posição C2’. De facto comparando as cargas atómicas a nível do átomo de carbono C2’ na presença e na ausência do átomo de flúor verifica-se que a ligação C-F inverte a polaridade do átomo de carbono C2’, tornando-o bastante electropositivo. De salientar que esta variação é bem mais pronunciada que a existente quando um grupo nitro, de características mais ácidas, é introduzido no anel aromático. A substituição de um átomo de hidrogénio de um hidrocarboneto por um átomo de flúor influencia significativamente as propriedades físico-químicas desse composto. O átomo de flúor é mais electronegativo do que o átomo de hidrogénio e o seu volume atómico é também bastante mais elevado: o raio de *Van der Waals* para o átomo de hidrogénio é de 1,20 Å, enquanto que para o flúor é de 1,47 Å. Estas diferenças permitem que a ligação covalente C-F tenha propriedades diferentes quanto, por exemplo, ao grau de polarização da ligação e à intensidade da mesma e, conseqüentemente, diferenças em relação à sua energia. A elevada electronegatividade do átomo de flúor e a semelhança das suas orbitais em termos de tamanho e energia com as do átomo de carbono permite estabelecer uma ligação muito forte. Assim, a ligação carbono-flúor representa a ligação de maior energia em que um átomo de carbono pode participar [$E_{\text{diss}}=112,9$ (CH₃-F), $E_{\text{diss}}=125,4$ (C₆H₅-F)] (Razgulin *et al.*, 2006; O’Hagan, 2008). Uma vez que a ligação química é de natureza electrónica a substituição de uma ligação C-H por uma ligação C-F num composto aromático terá o

efeito de retirar densidade electrónica do átomo de carbono e dispersá-la em direcção ao átomo de flúor. Como consequência, a carga total dos átomos de carbono nos compostos aromáticos será afectada e afectará, consequentemente, a natureza da aromaticidade do composto. Importa também referir que, devido à sua elevada electronegatividade, o átomo de flúor reduz a polarizabilidade da ligação C-F relativamente à ligação C-H pelo que esta ligação é menos susceptível às interacções de *Van der Waals /London* que se baseiam na existência de dipolos permanentes.

A diferença da electronegatividade entre o átomo de carbono e flúor gera um momento dipolar elevado que, se combinado com a distribuição electrostática de uma molécula específica, pode contribuir na capacidade da molécula interagir e participar em interacções intermoleculares. Este facto é particularmente verdade nos sistemas aromáticos, de que são exemplo as BZs, onde a introdução de um átomo de flúor modifica a distribuição electrostática da superfície da molécula e pode, também, induzir novos potenciais locais de ligação na molécula em causa localizados na proximidade dos átomos de flúor, como se pode visualizar nas estruturas seleccionadas da figura 21.

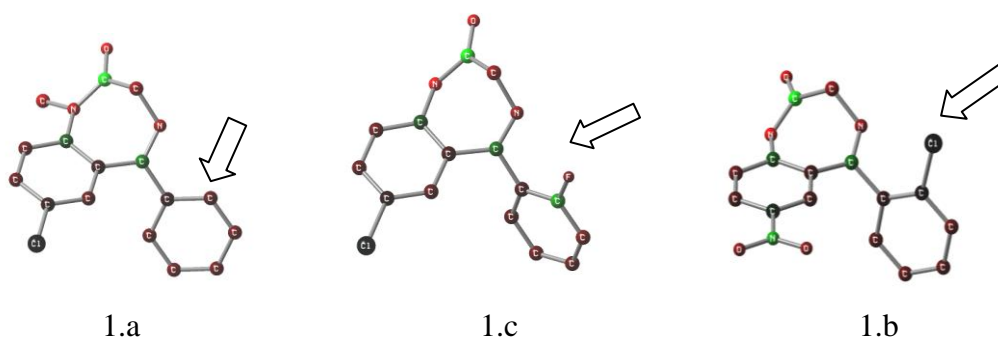


Figura 21 – Representação das distribuições de cargas para os compostos 7-Cl-1-Me-2'H-BZ (1.a) , 7-Cl-2'F-BZ (1.c) e 7-NO₂-2'Cl-BZ (2.b) evidenciando os dipolos positivos (a verde escura para verde claro) e os dipolos negativos (de vermelho para vermelho claro). Os átomos a vermelho mais escuro são os que possuem cargas mais próximas da neutralidade. Nestes compostos verifica-se que existem duas zonas predominantemente lipófilas, as correspondentes aos centros de gravidade dos anéis aromáticos. Contudo a substituição -F no anel fenílico inverte a polaridade de átomo de carbono tornando o anel com uma distribuição assimétrica de cargas (assinalado pelas setas).

4. Superfícies de isotencial electrónico

No respeitante à ligação ligando-receptor (fármaco-receptor) não só a polaridade da molécula ou a carga dos seus átomos interessa analisar. A aproximação do ligando ao receptor é feita de por processos que envolverão possivelmente uma cavitação do local activo (afastamento das moléculas que rodeiam esses local para criar um espaço que permite o ligando se aproximar), o estabelecimento de ligações intramoleculares de natureza electrostática ou hidrofóbicas / hidrofílicas e, eventual, rearranjo desse local devido a interacções supracitadas. Uma vez que se trata de um processo dinâmico a distribuição de carga à superfície da molécula que constitui o fármaco tem um papel preponderante no estabelecimento da interacção fármaco receptor: a aproximação da molécula implica a interacção das diferentes distribuições de carga electrónica molecular, para a mesma distância radial aos núcleos dos átomos. Assim, um grupo que seja “muito atractor de densidade electrónica” pode densificar a carga negativa para uma distância mais próxima do núcleo do que um outro menos atractor dessa densidade. Por consequência o efeito do grupo menos atractor de densidade electrónica, na aproximação ao receptor, pode prevalecer sobre o anterior. Neste sentido, deve-se também analisar a distribuição de carga superficial da molécula para a mesma distância radial dos átomos que a constituem, ou seja, o seu potencial electrostático (ESP) sobre a sua superfície de densidade electrónica (SCF).

As superfícies mapeadas são as superfícies onde uma propriedade é mapeada para uma superfície criada por outra propriedade. Neste exemplo é mapeada o potencial electrostático (ESP) sobre uma superfície de densidade electrónica dada pela cálculo de SCF (Self Consisting Field). Numa superfície de densidade ESP-mapeada, a superfície de densidade electrónica dá a forma da superfície, enquanto o valor do potencial electrostático nesse ponto superficial (ESP) é dado por cores.

O potencial electrostático (ESP) corresponde à energia potencial teoricamente “sentida” por uma “carga teste positiva” num determinado ponto no espaço. Se o ESP é negativo então a região é estável ou favorável à aproximação de uma carga teste positiva. Inversamente, se o ESP é positivo em determinada região é porque existe relativa instabilidade da região ao teste “positivo”. Assim, uma superfície de densidade mapeada por ESP pode ser usada para mostrar as regiões de uma molécula que podem ser mais favoráveis ao ataque nucleofílico ou eletrofílico, fazendo com tais superfícies sejam

úteis para interpretações qualitativas da ligação fármaco-receptor. Outra maneira de interpretar as superfícies de densidade ESP mapeadas é inferir que elas mostram, “onde” é que a densidade electrónica para a “molécula fronteira” (construída pelo valor de distância radial aos seus núcleos) é maior (ou menor) em relação ao núcleo.

A superfície de densidade ESP-mapeada para algumas das benzodiazepinas em estudo encontra-se nas figuras 22 e 23. As cores correspondem a valor da ESP nos pontos sobre a superfície de densidade electrónica: as vermelhas (e gradiente amarelado) correspondem às regiões negativas ou seja de interação favorável perante a aproximação de dipolos positivos, enquanto as azuis (e gradiente esverdeado) indicam o contrário. A grande região vermelha em torno do final de oxigénio da molécula é indicativa da existência de maior potencial eletrostático negativo onde uma “carga positiva de teste” teria uma energia de interação favorável. As zonas da molécula onde se encontram os átomos de hidrogénio, com a cor azul, mostram as regiões de energia relativamente desfavorável para o ESP. É de salientar também que devido às diferenças na electronegatividade entre o carbono e o átomo de flúor, os átomos de carbono em C2’ assumem uma carga parcial positiva que contrasta com a distribuição de carga pelos compostos que não possuem substituição fluorada nesse local.

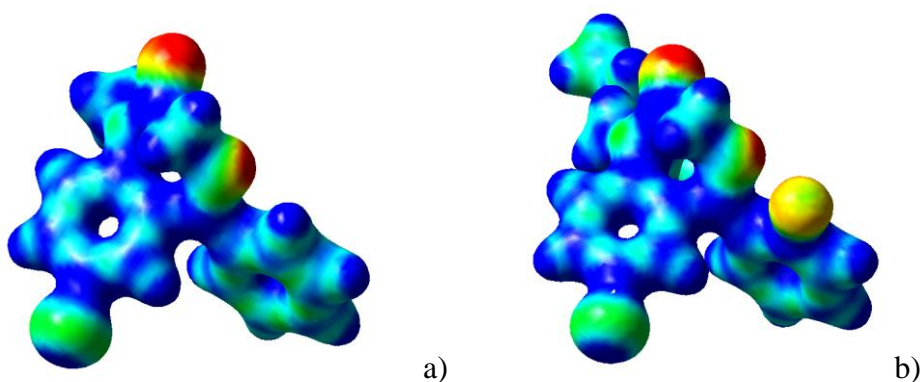


Figura 22 – Potencial electrostático representado em superfícies de densidade iso-electrónica para duas 7-Cl bdz: a) o diazepam (7-Cl-1-Me-2'H-BZ). b) flurazepam (7-Cl-1-N(Et)3-2'F-BZ). As regiões carregadas positivamente encontram-se a azul e a verde enquanto que as regiões com maior densidade electrónica encontram-se mapeadas a vermelho e amarelo. As superfícies foram todas mapeadas com ESP e a densidade electrónica tirada da densidade SCF, como isovalor de 0.04.

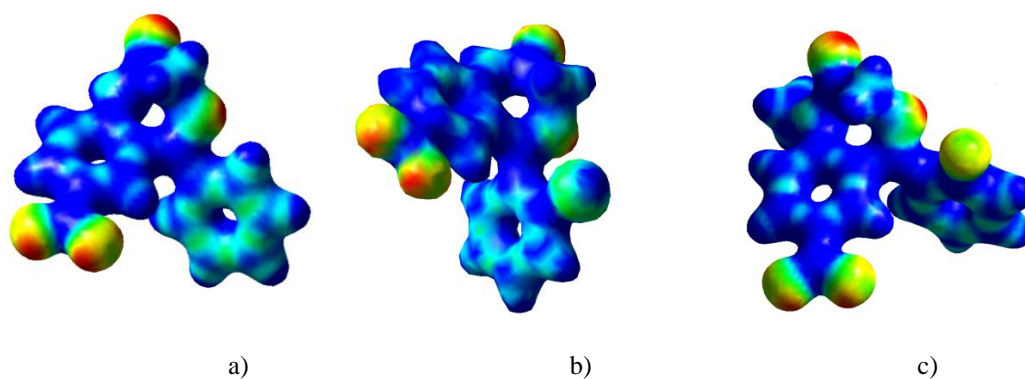


Figura 23 – Potencial electrostático representado em superfícies de densidade iso-electrónica para a) nitrazepam (7-NO₂-2'H-BZ) b) o clonazepam (7-NO₂-2'Cl-BZ). c) flunitrazepam (7-NO₂-1Me-2'F-BZ). As regiões carregadas positivamente encontram-se a azul e a verde enquanto que as regiões com maior densidade electrónica encontram-se mapeadas a vermelho e amarelo. As superfícies foram todas mapeadas com ESP e a densidade electrónica tirada da densidade SCF, como isovalor de 0.04.

VI. Considerações finais

1. Considerações finais

Nos últimos anos, foi sendo desenvolvido um modelo unificado do receptor/farmacóforo para os agonistas, antagonistas e agonistas inversos das BZs, utilizando técnicas de síntese química, técnicas de ligação marcadas com radioisótopos e técnicas de mapeamento do receptor. Utilizando o modelo de base da ligação receptor/farmacóforo e os modelos do subtipo do receptor GABA_A $\alpha_1\beta_2\gamma_2$, foram definidas tendências no que diz respeito à orientação das regiões do receptor proteico e na determinação do papel de certos resíduos de aminoácidos na ligação às BZs. O modelo que vai ser utilizado para avaliação dos parâmetros electrónicos obtidos neste trabalho é o realizado por Clayton *et al.*, 1997. Este consiste em dois domínios com duas ligações de hidrogénio aceitadoras electrónicas (H₁ e H₂) e um domínio A₂ dador. Acrescem a estas zonas de ligação, regiões lipofílicas de interacção (L₂, L₃), assim como regiões de repulsão estérica negativa (S₁, S₂ e S₃). Na figura 24 estão retratados os diferentes domínios de ligação referentes ao modelo receptor/farmacóforo resultante dos estudos dos investigadores Clayton e colaboradores, enquanto que na figura que se lhe segue encontram-se, em vez de esquema químico geral das benzodiazepinas, a sobreposição das estruturas mapeadas com superfícies de isopotencial com os locais activos do receptor das BZ no GABA_A.

Neste estudo as principais diferenças estruturais entre as BDZ encontram-se nos substituintes em C7 que podem ser -NO₂ ou -Cl e nos substituintes em C2' que podem ser -H, -Cl, ou -F. Como se poderá verificar no modelo apresentado nas figuras 25 e 26 o substituinte em posição C7 interage com uma região lipofílica do receptor por proximidade de resíduos de valina e glicina. O substituinte -Cl é razoavelmente lipofílico, a avaliar pelo descriptor hidrofóbico π (aromático)¹, que para o -Cl que é de 0,71e para o substituinte -NO₂ é -0,28, sendo este último mais hidrófilico (Meréndez, 2001). Assim, é de prever que as benzodiazepinas do G1 tenham maior interacção neste local. Uma vez que o modelo apresentado é referente ao sub-tipo $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ e que as acções mais marcadas deste subtipo são as acções de sedação e amnésia anterógrada, e só

¹ O descriptor π é um descriptor hidrofóbico baseado nos coeficientes de partição da molécula em octanol/água da forma neutra da molécula substituída com o átomo em estudo ou substituída pelo átomo de -H. Mais concretamente $\pi_x = \log P_{RX} - \log P_{RH}$ sendo P_{RX} o coeficiente de partição octanol /água para a molécula. Quanto mais elevado e positivo for estes descriptor maior a lipofilia.

alguma acção anti-convulsiva e ataxia, prevê-se que estas apresentem fundamentalmente acções hipnótico-sedativas. Os compostos com grupos $-\text{NO}_2$ não são tão afins para este local, de acordo com o modelo pelo que apresentarão acções anti-convulsivas ou ansiolíticas, podendo, por hipótese terem mais afinidade para outro subtipo de receptores como $\alpha_3\beta_2\gamma_2$.

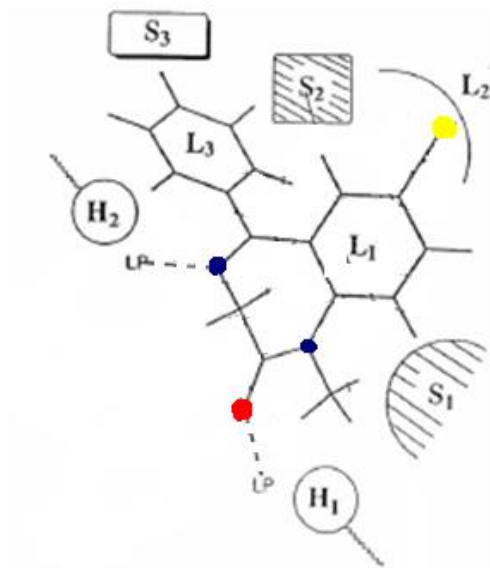


Figura 24 – Representação das locais de ligação do diazepam ao local activo do receptor das benzodiazepinas (subtipo do receptor $\text{GABA}_A \alpha_1\beta_2\gamma_2$) no modelo unificado do receptor/farmacóforo proposto por Clayton e colaboradores. Nele estão apresentados dois domínios com duas ligações aceitadoras electrónicas (H1 e H2) regiões lipofílicas de interacção (L1, L2, L3), assim como regiões de repulsão estérica negativa (S1, S2 e S3).

Já a interacção na região aceitadora electrónica H_2 se encontra bem ilustrada pelo estudo quantitativo que aqui foi feito relativo às propriedades electrónicas e moleculares dos ligandos contendo os átomos de $-\text{F}$, $-\text{Cl}$ e $-\text{H}$ em posição $\text{C}2'$. De facto, como mostram as figuras 25 e 26, o local a ligação da BDZ fluorada ao local H_2 prevê-se mais intensa pois esta poderá ser efectuada também pela interacção dadora de densidade electrónica dos electrões desemparelhados do grupo $=\text{O}$ do anel diazepínico como pela inteacção dadora do átomo de fluor na posição $\text{C}2'$. De facto, a monosubstituição ou disubstituição de flúor em grupos aromáticos de fármacos pode conduzir ao aumento da ligação às proteínas. Um estudo desenvolvido por Razgulin e Mecozzi, publicado em 2006, teve como objectivo, através de cálculos de química quantitativa computacional, avaliar a participação da ligação do carbono aromático ao substituinte flúor e a sua

influência nas interações intermoleculares. Foram utilizadas séries de mono a trifluorbenzenos como compostos representativos dos compostos fluoraromáticos que mais frequentemente se usam com interesse médico. Os resultados destes estudos demonstraram que a ligação do carbono aromático ao flúor pode participar na formação de ligações de hidrogénio e podem, também, interactuar fortemente com moléculas carregadas positivamente (Razgulin e Mecozzi, 2006). Estas diferenças condicionam a natureza das ligações intramoleculares e, como podemos deduzir, a ligação do ligando-receptor no caso de formação de uma supra-estrutura do tipo fármaco-receptor.

Estes estudos contribuem com dados relevantes para a sistematização quantitativa das relações tridimensionais entre propriedades moleculares e a actividade biológicas que estas apresentam (relações 3D-QSAR).

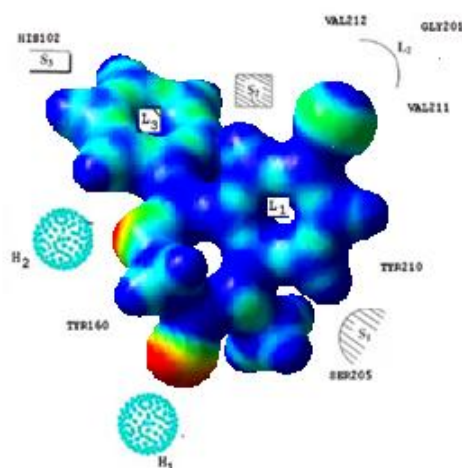


Figura 25 – Potencial electrostático representado em superfícies de densidade iso-electrónica para o Diazepam. As regiões carregadas positivamente encontram-se a azul e a verde enquanto que as regiões com maior densidade electrónica encontram-se mapeadas a vermelho e amarelo.

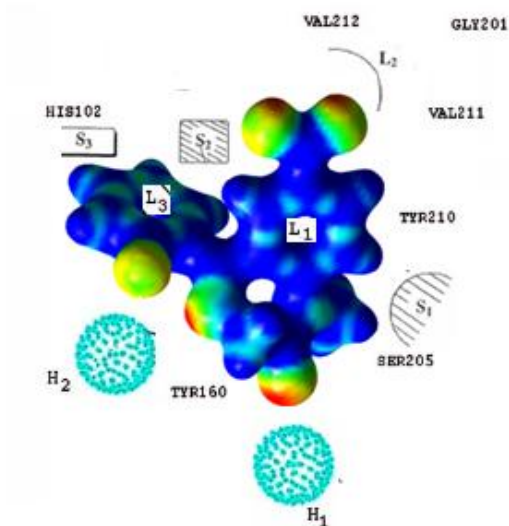


Figura 26 – Potencial electrostático representado em superfícies de densidade iso-electrónica para o flunitrazepam. As regiões carregadas positivamente encontram-se a azul e a verde enquanto que as regiões com maior densidade electrónica encontram-se mapeadas a vermelho e amarelo.

Bibliografia

Abraham, D. J. (2003). *Nervous System Agents - Burger's Medicinal Chemistry & Drug Discovery – sixth edition*, Wiley-Interscience - John Wiley and Sons, Department of Medicinal Chemistry School of Pharmacy Virginia Commonwealth, Vol. 6.

AHFS Drug Information. (1991). American Hospital Formulary Service. *American Society of Hospital Pharmacists*. pp. 1333-1357.

American Psychiatric Association. (2000). *Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders*. 4th Edition. Test Revision. American Psychiatric Association.

Atack, JR. (2005). *The benzodiazepine binding site of GABA(A) receptors as a target for the development of novel anxiolytics*. *Expert Opin Investig Drugs*, 14(5), pp. 601-18.

Bakish, D.; Lapierre, Y. D.; Weinstein, R.; Klein, J.; Wiens, A.; Jones, B.; Horn, E.; Browne, M.; Bourget, D.; Blanchard, A.; Thibaudeau, C.; Waddell, C.; Raine, D. (1993). Ritanserin, imipramine, and placebo in the treatment of dysthymic disorder. *Journal of Clinical Psychopharmacology* 13, pp. 409–414.

Becke A.D. (1997). Density-functional thermochemistry. V. Systematic optimization of exchange-correlation functional. *The Journal of Chemical Physics*, Vol. 107, pp. 8554–8560.

Berlin A, Dahlstrom H., (1975), Pharmacokinetics of the anticonvulsant drug clonazepam evaluated from single oral and intravenous doses and by repeated oral administration. *European Journal of Clinical Pharmacology*; Vol. 9(2-3), pp. 155-159.

Blond, A.J. and Lader, M.H.(1972). Residual effects of hypnotics. *Psychopharmacology*. 25, pp. 117-132

Bowden, C.L.; Fisher, J.G. (1980). *Southern Medical Journal*. 73, pp. 1581-1584.

Boxenbaum, H.G.; Posmanter, H. N., Macasieb, T., Geitner, K. A.; Weinfeld, R. E.; Moore, J. D.; Darragh, A.; O'Kelly, D. A., Weissmann, L.; Kaplan, S. A. (1978). Pharmacokinetics of flunitrazepam following single and multiple-dose oral administration in healthy human subjects. *Journal of Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*, Vol. 6, pp. 283-293.

Breimer, D.D.; Jochemsen, R. (1983). Clinical pharmacology of hypnotic benzodiazepines: a summary. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 16, pp. 277S-278S.

Butcher, H.; Hamor, T.; Martin, I. L. (1983) Structures of Bromazepam and Flunitrazepam. *Acta Crystallographica*, C39, pp. 1469-1472.

Carpenter, J. E.; F. Weinhold, (1998), Analysis of the geometry of the hydroxymethyl radical by the “different hybrids for different spins” natural bond orbital procedure, *Journal of Molecular Structure: THEOCHEM*, 169, pp. 41.

Chananont, P.; Hamor, T.A.; Martin, I.L., (1980) Structure of Medazepam Hydrochloride, *Acta Crystallographica*, B36, pp. 898-902.

Chouinard, G.; Lefko-Singh, K.; Teboul E. (1999). Metabolism of anxiolytics and hypnotics: benzodiazepines, buspirone, zolpicon and zolpidem, *Cellular and Molecular Neurobiology*, Vol. 19 (4), pp. 533-552.

Chu, D. (1993). I.C. PROLOG II: A language for implementing multi-agent systems. In Deen, S. M., editor, *Proceedings of the 1992 Workshop on Cooperating Knowledge Based Systems (CKBS-92)*, pages 61-74. DAKE Centre, University of Keele, UK.

Ciraulo, D. A.; Barnhill, J. G.; Greenblatt, D. J.; Shader, R. I.; Ciraulo, A. M.; Tarmey, M. F.; Molloy, M.A.; Foti, M. E. (1988). Abuse liability and clinical pharmacokinetics of alprazolam in alcoholic men, *The Journal of Clinical Psychiatry*, 49, pp. 333-337.

Clayton, T.; Chen, J.L.; Ernst, M.; Richter, L.; Cromer, B.A.; Morton, C.J.; Ng, H. ; Kaczorowski, C.C.; Helmstetter, F.J.; Furtmüller, R.; Ecker, G.; Parker, M.W.; Sieghart, W.; e Cook, J.M. (2007). An Updated Unified Pharmacophore Model of the Benzodiazepine Binding Site on γ -Aminobutyric Acids Receptors: Correlation with Comparative Models. *Current Medicinal Chemistry*. Vol. 14, No. 26, pp. 2755-2775

Collins, I.; Moyes, C.; Davey, W. B.; Rowley, M.; Bromidge, F. A.; Quirk, K.; Atack, J. R.; McKernan, R. M.; Thompson, S. A.; Wafford, K.; Dawson, G. R.; Pike, A.; Sohal, B.; Tsou, N. N.; Ball, R. G.; Castro, J. (2002). L,3-Heteroaryl-2-pyridones: Benzodiazepine Site Ligands with Functional Selectivity for R2/R3-Subtypes of Human GABAA Receptor-Ion Channels, *Journal of Medicinal Chemistry*, 45, pp. 1887-1900.

Da Settimo, F.; Taliani, S.; Trincavelli, M. L.; Montali, M.; Martini, C. (2007). GABA A/Bz receptor subtypes as targets for selective drugs. *Current Medicinal Chemistry*. 14(25), pp. 2680-701.

Davidson, J. R., Potts, N. L. S., Richichi, E. A. (1993). Treatment of social phobia with clonazepam and placebo. *Journal of Clinical Psychopharmacology*, 13, 423-428

DeLucia, R. e Oliveira-Filho, R.M., Planeta, C.S., Gallacci, M., Avellar, M. C. W., (2007). *Farmacologia integrada*. 3ª edição, Rio de Janeiro, Revinter, pp. 212-217.

Dios-Vieitez, M.C.; Fos, D. (1990). *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*. 56, pp. 163-170.

Ferreira, D. de C. (1992). *Benzodiazepinas – contribuição para o estudo de preparações farmacêuticas*, Dissertação de candidatura ao grau de Doutor apresentada à Faculdade de Farmácia da Universidade do Porto.

Furtado, C.; Teixeira, I. (2005) *Evolução da Utilização das Benzodiazepinas em Portugal Continental entre 1999 e 2003*. [Em linha], Disponível em http://www.infarmed.pt/portal/page/portal/INFARMED/MONITORIZACAO_DO_MERCADO/OBSERVATORIO/INTRODUCAO_DE_FICHEIROS/Estudo-BZD.pdf, [consultado em Fevereiro de 2010].

Gelernter, C. S.; Uhde, T. W.; Cimboric, Peter; Arnkoff, D. B.; Vittone, Bernard J.; Tancer, M. E.; Bartko, J. J. (1991). *Cognitive behavioral and pharmacological treatments of social phobia*. *Archives of General Psychiatry*. 48, pp. 938-945

Gilli, G., Bertolasi, V., Sacadoti, M., Borea, P.A. (1988). The crystal structure of Oxazepam. *Acta Crystallographica*, B34, pp. 2826-2829.

GaussView 3.0, 2007, R. Dennington II, T. Keith, J. Millam, GaussView, Version 4.1.2, Semichem, Inc., Shawnee Mission, KS, 2007. Available from: <<http://www.gaussian.com>>.

G03. M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. A. Montgomery, Jr., T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M.

Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, and J. A. Pople, Gaussian, Inc., Pittsburgh PA, 2003.

Greenblatt, D. J. and Shader, R.L. (1974). *Benzodiazepines in Clinical Practice*. Raven Press, New York, pp. 183-196.

Greenblatt, D. J.; Shader, R. I.; Koch-Weser, J.; (1975), Flurazepam hydrochloride, a benzodiazepine hypnotic, *Annals of Internal Medicine*, Vol. 83(2), pp. 237-41.

Greenblatt, D. J.; Divoll, M.; Harmatz, J.S.; Shader, R.I.(1982) *Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol. 71, pp. 248-252.

Greenblatt, D. J., Shader, R.I., Abernethy, D.R., Ochs, H.R., Divoll, M., Sellers, E.M. (1983). *Benzodiazepines and the Challenge of Pharmacokinetic Taxonomy in Pharmacology of Benzodiazepines*. Ed. Usdin, E., Skolnick, P., Tallman Jr, J.F., Greenblatt, D.J. e Paul, S.M., Verlag Chemie, Weinheim, Deerfield Beach, Florida, Basel, pp. 257- 269.

Greenblatt, D.J. (1991). *Journal of Clinical Psychiatry*. 52, pp. 4-10.

Guedes, J. (2008). *Consumo de Benzodiazepinas em Portugal*. Monografia apresentada para obtenção grau de licenciatura em Ciências Farmacêuticas, UFP, Porto

Hackett, Jeffery, Elian, Albert A.(2006). Extraction and analysis of flunitrazepam/7-aminoflunitrazepam in blood and urine by LC–PDA and GC–MS using butyl SPE columns, *Forensic Science International*, Vol. 157, pp. 156–162

Hanson, S.M. e Czajkowski, C., (2008), Structural mechanisms underlying benzodiazepine modulation of the GABA(A) receptor. In *The journal of Neuroscience*, 28, pp. 3490-3499.

Hempel, A.; Amerman, N., Camerman, A. (1987). Benzodiazepine stereochemistry: crystal structures of the diazepam antagonist Ro 15-1788 and the anomalous benzodiazepine Ro 5-4864. *Canadian Journal of Chemistry* . 65, pp. 1608-1612.

Hevers, W.; Lueddens, H. (1998). The diversity of GABAA receptors-pharmacological and electrophysiological properties of GABAA channel subtypes, *Molecular Neurobiology*, 18, pp. 35-86.

Informação sobre Medicamentos-INFOMED. [em linha]. Disponível em <http://www.infarmed.pt/infomed/pesquisa.php> [consultado em Novembro de 2009].

Iversen, L.L. (1985). Benzodiazepines Divided, Ed. M. R. Trimble, John Wiley & Sons Ltd., pp. 79-85.

Jochemsen, R.; Hogendoorn, J. J. H.; Dingemans, J.; Hermans, J.; Boeijinga, J.K.; Breimer, D. D. (1982) Pharmacokinetics and bioavailability of intravenous, oral, and rectal nitrazepam in humans. *Journal of Pharmacokinetics and Biopharmaceutics*. 10, pp. 231-245.

Kaplan, S.A.; Jack, M.L. in E. Costa, Ed. (1983). The Benzodiazepines-From Molecular Biology -to Clinical Practice. *Raven*, New York, pp. 173-199.

Katzung, B.G. (1998). *Farmacologia básica e clínica*. 6ª Edição. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, pp. 255-267.

Kessler, R.C.; Frank, R.G.(1997). The impact of psychiatric disorders on work loss days. *Psychological Medicine*. 27, pp.861-873.

Korolkovas, A. E Burckhalter, J.H. (1988). *Química Farmacêutica*. Brasil. Guanabara Koogan. pp. 234-239.

Kraus, J.W.; Desmond, P.V.; Marshal, J. P.; Johnson, R.F.; Schenker, S.; Wilkinson, G.R. (1978). Effects of aging and liver disease on disposition of lorazepam. *Clinical Pharmacology*. Vol. 24, pp. 411-419.

Kuang, H.; Li, Q., Shen, C.; Xu, J.; Yuan, Y.; Xu, C.; Wang, W. (2009). A highly sensitive method for the determination of 7-aminonitrazepam, a metabolite of nitrazepam, in human urine using high-performance electrospray liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Biomedical Chromatography*. Vol. 23 (7), pp. 740-744.

Larini, L. (2008). *Fármacos e medicamentos*. Brasil, Artmed, pp. 337-345.

LeBeau, M. A. e Mozayani, A. (2001). *Drug-Facilitated Sexual Assault - A Forensic Handbook*. Academic Press. California. USA.

Lee, C.; Yang, W.; Parr, G. R., (1998), Development of the Colle-Salvetti correlation-energy formula into a functional of the electron density, *Physical Review B*, 37(2), pp. 785–789.

Logan, B. K. (2001). *Detection and Pharmacology*. Benzodiazepines and GHB cap. 1

López-Romero, B.; Evrard, G., Durant, F.; Sevrin, M., e George, P.(1998). Molecular Structure and Stereoelectronic Properties of Sarmazenil - a Weak Inverse Agonist t the Omega Modulatory Sites(Benzodiazepine Receptors): Comparison with Bretazenil and Flumazenil. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*. 6, pp. 1745-1757.

Lui, C.Y., Amidon, G.L. e Goldberg, A.. (1991). *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 80, pp. 1125-1129.

Lukey, B.J., Corcoran, K.D. e Solana, R.P.. (1991). *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 80, pp. 918-921.

Martindale. (1989). *The Extra Pharmacopoeia*. 29th Ed. London. The Pharmaceutical Press, pp. 706-776.

Mattila, MA e Larni, HM. (1980). Flunitrazepam: a review of its pharmacological properties and therapeutic use *Drugs*. 20(5), pp. 353-74.

Meréndez, J.C.; Avendaño C. (2001). Optimizacion de un protótipo. Correlaciones cualitativas estrutura química – actividad biológica, in: *Introducion a la química Farmaceutica*, Avendaño C., 2ed. Mc GrewHill, Madrid, pp. 87-88

Moller, H.J.(1999). *Journal of Clinical Psychopharmacology*.19 (Suppl. 2). pp. 2S-11S.

- Mölher, H., Crestani, F., Rudolph, U. (2001). GABA_A-Receptor Subtypes: A New Pharmacology. *Current Opinion in Pharmacology*. Vol. 1, pp. 22-25.
- Morishita, S. (2009). Clonazepam as a therapeutic adjunct to improve the management of depression: a brief review. *Human Psychopharmacology Clinical and Experimental*. 24, pp. 191-198.
- Muller, W.E. (1998). *Drugs of Today*. 24, pp. 649-663.
- O'Hagan, D. (2008). Understanding organofluorine chemistry. An introduction to the C-F bond, *The Royal Society of Chemistry*, 37, pp. 308-319.
- Osswald, W., Guimarães, S. (2001). *Terapêutica medicamentosa e suas bases farmacológicas*. 4ª edição, Porto Editora, pp. 90-107.
- Racagni, G., Masotto, C., Steardo, L. (1997). Pharmacology of Anxiolytic Drugs (WHO Expert Series on Neuroscience). Vol. 3, Hogrefe & Huber Publishers. Seattle U.S.A.
- Rang & Dale's. (2007) *Pharmacology*. 6th Edition
- Ray, W.A., Griffin, M.R., Schaffner, W., Baugh, D.K., Melton, L.J. (1987). Psychotropic drug use and the risk of hip fracture. *New England Journal of Medicine*, Vol. 316, pp. 363-369.
- Razgulin, A.V., Mecozzi, S. (2006). Binding Properties of Aromatic Carbon-Bound Fluorine. *Journal of Medicinal Chemistry*. Vol. 49, pp. 7902-7906.
- Ribeiro, C. A. F., (1983). Arquivo do Instituto de Farmacologia e Terapêutica Experimental. Coimbra, 21, pp. 5-15.
- Romach, M.K., Busto, U.E., Sobell, L.C., Sobel, M.B., Somer, G.R., Sellers, E.M., (1991) Long-term alprazolam use: Abuse, dependence or treatment?. *Psychopharmacol Bull*. Vol. 27, pp. 391–395
- Rudolph, U., Crestani, F., Möhler, H. (1999). GABA_A Receptor Subtypes: dissecting their pharmacological functions. *Trends Pharmacological Sciences*. Vol. 22 (4), pp. 188-194.

Sanger, D. J., Benavides, J., Perrault, G., Morel, E., Cohen, C., Joly, D., Zivkovic, B. (1994). Recent developments in the behavioral pharmacology of benzodiazepine (ω) receptors: Evidence for the functional significance of receptor subtypes. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 18, pp. 355-372.

Shader, R.I.; Greenblatt, D.J.(1981). The use of Benzodiazepines in Clinical Practice. *British Journal Clinical Pharmacology*. Vol. 11, pp.5S-9S.

Sternbach, L.H. (1981). *Actualites de Chimie Therapeutique*. 8, pp. 29-56.

Sternbach, L.H. (1994). The serotonin syndrome. *Journal of Clinical Psychopharmacology*. 14: 170-179

Straw, R.N. (1983). *Implications of Benzodiazepine Prescribing em Benzodiazepines Divided*. Ed. Trimble, M.R., John Wiley & Sons Ltd., pp. 67-77

Tallman, J.F., Paul, S. M.; Skolnick P. e Gallager D. W. (1980). Receptors for the age of anxiety: pharmacology of the benzodiazepines. *American Association for the Advancement of Science*. Vol. 207, N° 4428, pp. 274-281.

Uhlenhuth, E. H., M. B. Balter, T. A. Ban e K. Yang. (1999). International study of expert judgment on therapeutic use of benzodiazepines and other psychotherapeutic medications: VI Trends in recommendations for the pharmacotherapy of anxiety disorders, 1992-1997. *European Neuropsychopharmacology*. Vol. 9, N° 6, pp. 393-398.

Unwin. N. (2005). *Refined Structure of the Nicotinic Acetylcholine Receptor at 4A Resolution*. J. Mol. Biol. RCSB PDB Database • PDB ID: 2BG9, pp. 346-967.

Van Ameringen, M., Mancini C., Farvolden P., Oakman J. (2000). *The Neurobiology of Social Phobia: From Pharmacotherapy to Brain Imaging*. *Curr Psychiatry Rep* 2: 358-366.

Walker, R., Newman, P., Candlish, P., Hiller, C. e Seviour, J. (1982). *Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 34, pp. 33P.

Walters, A.J. and Lader, M.H. (1971). Hangover effects of hypnotics in man. *Nature*. 229, pp. 637.

Walley, E.J., Beebe, D. K., Clark, J. L. (1994). Management of common anxiety disorders. *American Family Physician*. 50, pp. 1745-1753.

Williams, D.D. e McBride, A. (1998). *Br. J. Psychiatry*. 173, pp. 361-362

Williams D.B.; Myles H. Akabas, (2000), Benzodiazepines Induce a Conformational Change in the Region of the γ -Aminobutyric Acid Type A Receptor α 1-Subunit M3 Membrane-Spanning Segment. *Molecular Pharmacology*. November 1, Vol. 58 No. 5, pp 1129-1136.

Whiting, P.J. (2003). *Receptor Subtypes in the Brain: a Paradigm for CNS Drug Discovery Today*, 8, pp. 445-450.

Whiting, Paul J. (2006). GABA-A receptors: a viable target for novel **anxiolytics?**. *Current Opinion in Pharmacology*, 6, pp. 24-29.

Woods, J. H., Katz J. L. e Winger, G. (1992). Benzodiazepines: use, abuse and consequences. *Pharmacology Reviews*, Vol. 44, pp. 151-347.

Anexos

Quadro A- 1 - Características Farmacocinéticas e Farmacodinâmicas das principais Benzodiazepinas.

Benzodiazepina (DCI)	Via de administração	Uso terapêutico (Farmacodinâmica)	T1/2 (horas)	Dose diária usual (mg)	Farmacocinética		
					Absorção	Metabolização	Eliminação
Lorazepam (Activan®, Lorenin®) Muito lipossolúvel	<ul style="list-style-type: none"> • Oral • i.m. • i.v. • Sub lingual 	<ul style="list-style-type: none"> • Inibição leve do SNC • Relaxamento muscular • Sedação e efeito tranquilizante (cirurgias) • Antiemético como coadjuvante em tratamentos quimioterápicos • Tratamento da ansiedade e insónia 	10-20 (acção média)	2-10	97% de biodisponibilidade oral Absorção rápida e completa por via i.m. ou i.v. em 10 minutos Taxa de ligação às proteínas plasmáticas de 92% na concentração de 160ng/ml	Hepática CYP3A4	Renal
Bromazepam (Bromalex® e Lexotan®)	<ul style="list-style-type: none"> • <u>Oral</u> • <u>i.m.</u> • <u>i.v.</u> 	<ul style="list-style-type: none"> • Ansiolítico (tratamentos curtos) • Hipnótico • Relaxante • Sedativo • Pré-medicação cirúrgica • Tratamentos de pânico 	12-20	3-18 divididas por várias administrações diárias	Bem absorvido por via oral	Hepática por via oxidativa CYP3A4 Metabolito activo: <ul style="list-style-type: none"> • Hidroxibromazepam (tempo de semi-vida próxima do bromazepam) 	Excreção urinária
Nitrazepam (nitrobenzodiazepina) (Mogadon®) Muito lipossolúvel	<ul style="list-style-type: none"> • Oral • Rectal 	<ul style="list-style-type: none"> • Insónia (tratamento curto da insónia temporária) • Propriedades anti-convulsivas 	20-40 (acção média)	5-10 ao deitar	Absorção rectal rápida e completa	Hepática	Excreção urinária

Efeito do substituinte “-F” na interação “Fármaco-Receptor” em Benzodiazepinas

Quadro A- 1 (cont.) - Características Farmacocinéticas e Farmacodinâmicas das principais Benzodiazepinas.

Benzodiazepina (DCI)	Via de administração	Uso terapêutico (Farmacodinâmica)	T1/2 (horas)	Dose diária usual (mg)	Farmacocinética		
					Absorção	Metabolização	Eliminação
<p>Clonazepam (nitrobenzodiazepina) (Rivotril®)</p> <p>Derivado do nitrazepam 2mg de clonazepam equivalem aproximadamente a 10 mg de diazepam</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Oral • i.m. • i.v. 	<ul style="list-style-type: none"> • Inibição leve das funções do SNC • Ação anticonvulsivante (coadjuvante) • Algum efeito de sedação • Relaxamento muscular • Efeito tranquilizante • Síndrome do Pânico • Distúrbio bipolar • Agorafobia • Depressão (como coadjuvante de antidepressivos que podem causar insónia) 	33-40 (acção longa)		<p>90% biodisponibilidade</p> <p>Quase completamente absorvido após administração oral ou i.v.</p> <p>Absorção i.m. mais lenta</p> <p>Taxa de ligação às proteínas plasmáticas de 82-88%</p>	<p>Hepática CYP3A4</p> <p>Redução do grupo 7-nitro para derivado 4-amino. O clonazepam e o 7-aminoclonazepam são oxidados e conjugados</p> <p>Metabolitos activos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 7-aminoclonazepam • 7-acetaminoclonazepam 	Renal e na bñlis dos seus metabolitos e do clonazepam inalterado (menos de 2% na urina e menos de 0,5% nas fezes)
<p>Flurazepam (Morfex®)</p> <p>Muito lipossolúvel</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Oral 	<ul style="list-style-type: none"> • Insónia (hipnótico); aumenta o tempo total de sono e diminui o tempo de latência do sono e o número de vezes que o paciente acorda 	2-3 (acção longa devido ao tempo de semi-vida dos metabolitos)	15-30	<p>Absorção rápida por via oral</p> <p>Absorção intranasal melhor que a oral</p>	<p>Hepática de modo rápido</p> <p>N-desalquilação</p> <p>Metabolitos activos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • hidroxietilflurazepam metabolito principal • desalquilflurazepam (tempo de semi-vida de 47-100 horas) 	O N-desalquilflurazepam é lentamente excretado lentamente na urina na forma conjugada

Efeito do substituinte “-F” na interação “Fármaco-Receptor” em Benzodiazepinas

Quadro A- 1 (cont.) - Características Farmacocinéticas e Farmacodinâmicas das principais Benzodiazepinas.

Benzodiazepina (DCI)	Via de administração	Uso terapêutico (Farmacodinâmica)	T1/2 (horas)	Dose diária usual (mg)	Farmacocinética		
					Absorção	Metabolização	Eliminação
Diazepam (Valium®) Muito lipossolúvel	<ul style="list-style-type: none"> • Oral • i.m. • i.v. 	<ul style="list-style-type: none"> • Ansiolítico • Anticonvulsivante • Sedativo • Relaxante muscular • Redução da ansiedade antes dos procedimentos cirúrgicos(amnésia anterógrada) • Epilepsia (i.v.)- em sobredosagens de antidepressivos tricíclicos ou fenotiazidas • Envenenamentos com estricnina • Esquizofrenia 	20-70 (acção longa)	5-15	Absorção rápida no tracto gastro-intestinal (acção rápida) Absorção i.m. lenta e irregular Taxa de ligação às proteínas plasmáticas de 92-97%	Hepática N-desalquilação oxidativa Metabolitos activos: <ul style="list-style-type: none"> • Desmetildiazepam • Oxazepam • Temazepam 	Excreção urinária
Clordiazepóxido (Librium®)	<ul style="list-style-type: none"> • Oral • i.m. 	<ul style="list-style-type: none"> • Distúrbios de ansiedade • Tratamento de abstinência alcoólica • Pré-medicação anestésica 	5-30 (acção longa devido aos tempos de semi-vida dos metabolitos)	20-100	Absorção gastro-intestinal rápida Absorção i.m. lenta e irregular Liga-se extensamente às proteínas plasmáticas (98-99%)	Hepática Metabolitos activos: <ul style="list-style-type: none"> • desmetilclordiazepóxido • demoxepam 	Excreção urinária

Efeito do substituinte “-F” na interação “Fármaco-Receptor” em Benzodiazepinas

Quadro A- 1 (cont.) - Características Farmacocinéticas e Farmacodinâmicas das principais Benzodiazepinas.

Benzodiazepina (DCI)	Via de administração	Uso terapêutico (Farmacodinâmica)	T1/2 (horas)	Dose diária usual (mg)	Farmacocinética		
					Absorção	Metabolização	Eliminação
<p>Midazolam (Dormicum®)</p> <p>Pouco lipossolúvel</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Oral • i.m. • i.v. • parenteral 	<ul style="list-style-type: none"> • Medicação pré-anestésica e cirúrgica (extração dentária) • Sedativo em cirurgias extensivas • Ansiolítico • Relaxamento muscular • Tratamento da insónia severa ou moderada por curto tempo em doentes que reagem mal aos outros tratamentos 	1,8-6,4 (acção ultra-curta)	7,5-15	<p>Administração intra-nasal é melhor que a oral</p> <p>Biodisponibilidade oral de 36%</p> <p>Biodisponibilidade i.m. de mais de 90%</p> <p>Ligação às proteínas plasmáticas na extensão de 95-98%</p>	<p>Hepática CYP3A4</p> <p>Metabolito activo:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 1-hidroximetilmidazolam 	Excreção urinária
<p>Lormetazepam (Noctamid®)</p> <p>Pó cristalino branco</p> <p>Insolúvel em água e solúvel no álcool e álcool metílico</p> <p>Deve ser guardado ao abrigo da luz</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Oral 	<ul style="list-style-type: none"> • Insónia (tratamento a curto-prazo) → Benzodiazepina hipnótica • Pré-anestesia • Ansiolítico • Propriedades anti-convulsivas e relaxantes musculares 	11	1-2 ao deitar	<p>Absorvido no tracto gastro-intestinal</p> <p>Biodisponibilidade de 80%</p>	<p>Hepática</p> <p>O metabolito não tem actividade farmacológica</p>	Excreção urinária do Lormetazepam e seus metabolitos

Efeito do substituinte “-F” na interação “Fármaco-Receptor” em Benzodiazepinas

Quadro A- 1 (cont.) - Características Farmacocinéticas e Farmacodinâmicas das principais Benzodiazepinas.

Benzodiazepina (DCI)	Via de administração	Uso terapêutico (Farmacodinâmica)	T1/2 (horas)	Dose diária usual (mg)	Farmacocinética		
					Absorção	Metabolização	Eliminação
<p>Flunitrazepam (nitrobenzodiazepina) (Rohipnol®)</p> <p>Muito lipossolúvel</p> <p>Efeitos 7-10 vezes mais potentes que o diazepam numa base terapêutica de comparação de doses</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Oral 	<ul style="list-style-type: none"> • Insónia severa e crónica (hipnótico) • Sedativo profundo • Anticonvulsivo • Propriedades relaxantes musculares • Usado em alguns procedimentos cirúrgicos como sedativo e pré-anestésico (colonoscopias) 	<p>18-26 (acção média)</p> <p>Efeito 15-20 minutos após administração e dura 4-6 horas</p> <p>Efeitos residuais podem persistir mais de 12 horas ou mais após administração</p>	0,5-2		<p>Hepática por vias oxidativas CYP3A4 é a enzima metabólica principal no metabolismo de fase I</p> <p>Metabolito activo:</p> <ul style="list-style-type: none"> • desmetilflunitrazepam (tempo de semi-vida de 36-200 horas) 	
<p>Clorazepato de Potássio (Tranxene®)</p> <p>Muito lipossolúvel</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Oral 	<ul style="list-style-type: none"> • Perturbações da ansiedade e sintomas ansiosos • Coadjuvante de medicamentos antiepilépticos 	<p>2+/-1 (acção ultra-curta)</p>	<p>15 em 3 doses diárias ou numa administração o única ao deitar</p> <p>Dose máxima diária: 80</p>	<p>Rapidamente absorvido; efeitos farmacológicos rápidos</p>	<p>Descarboxilação em desmetildiazepam no estômago, devido ao seu pH ácido, que é absorvido rapidamente</p>	<p>Excreção urinária</p>

Efeito do substituinte “-F” na interacção “Fármaco-Receptor” em Benzodiazepinas

Quadro A- 1 (cont.) - Características Farmacocinéticas e Farmacodinâmicas das principais Benzodiazepinas.

Benzodiazepina (DCI)	Via de administração	Uso terapêutico (Farmacodinâmica)	T1/2 (horas)	Dose diária usual (mg)	Farmacocinética		
					Absorção	Metabolização	Eliminação
Alprazolam (Unilan®) Muito lipossolúvel	<ul style="list-style-type: none"> • Oral 	<ul style="list-style-type: none"> • Distúrbios de ansiedade • Agarofobia • Ataques de pânico 	12-16 (acção média)	0.25-0,50	Absorção de velocidade média Concentração máxima plasmática atingida depois de 1-2 horas após a administração Ligação às proteínas plasmáticas na extensão de 67-72%	Hepática Metabolito activo: <ul style="list-style-type: none"> • 2-hidroxiaprazolam (cerca de metade da acção do Alprazolam) 	Excreção urinária do Alprazolam e seus metabolitos
Temazepam (Normison®, Restoril®, Remesian®) Muito lipossolúvel Pó cristalino branco Quase insolúvel em água Deve proteger-se da luz	<ul style="list-style-type: none"> • Oral • Rectal 	<ul style="list-style-type: none"> • Insónia (só para tratamento a curto-prazo) → benzodiazepina hipnótica 	8-15 (acção média)	10-20 ao deitar; idosos 10	Absorção lenta por via oral Absorção rectal mais lenta que a oral Ligação às proteínas plasmáticas na taxa de 96% Concentração plasmática máxima atinge-se 30 minutos após a administração	Hepática Conjugação a compostos inactivos de forma directa Metabolito activo: <ul style="list-style-type: none"> • oxazepam 	Excreção urinária (fármaco e seus metabolitos)

Efeito do substituinte “-F” na interação “Fármaco-Receptor” em Benzodiazepinas

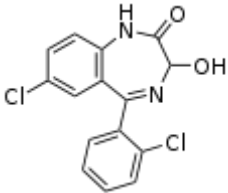
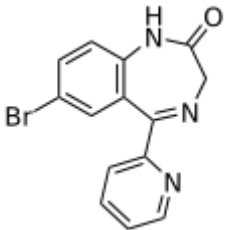
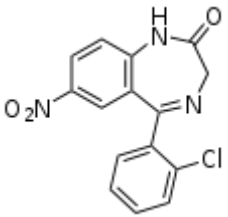
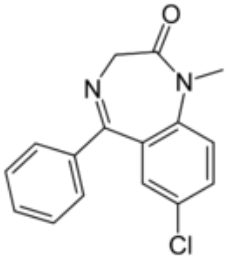
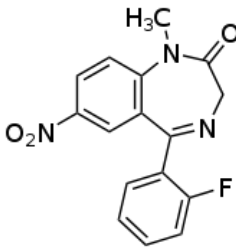
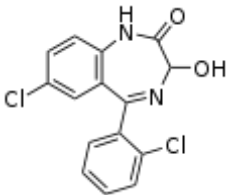
Quadro A -1 (cont.) - Características Farmacocinéticas e Farmacodinâmicas das principais Benzodiazepinas.

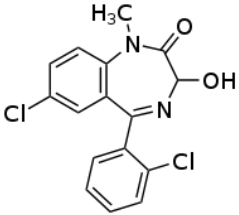
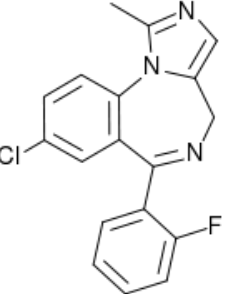
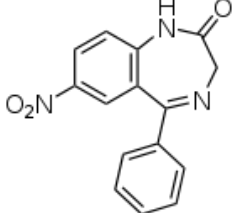
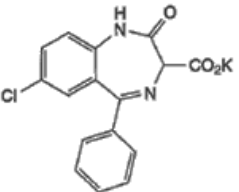
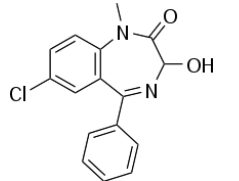
Benzodiazepina (DCI)	Via de administração	Uso terapêutico (Farmacodinâmica)	T1/2 (horas)	Dose diária usual (mg)	Farmacocinética		
					Absorção	Metabolização	Eliminação
Triazolam (Halcion®) Muito lipossolúvel	<ul style="list-style-type: none"> Oral 	<ul style="list-style-type: none"> Insónia (tratamento a curto prazo) e pessoas com alteração do ciclo circadiano que viajam muito Anti-convulsivo 	1,5-5,5 (acção ultra-curta)	0,125-0,25	Absorção de velocidade média por via oral Absorção intranasal melhor que a oral Concentração plasmática máxima atingida 2 horas após administração	Hepática por via oxidativa Não se produzem metabolitos farmacologicamente activos	Excreção urinária do Triazolam e seus metabolitos
Prazepam (Demetrin®)→pró-fármaco do Desmetildiazepam ou Nordazepam Muito lipossolúvel	<ul style="list-style-type: none"> Oral 	<ul style="list-style-type: none"> Distúrbios da ansiedade (tratamentos curtos) 		10-40 em 2 administrações diárias ou dose única ao deitar	Absorção lenta por via oral	Hepática Metabolização lenta e efeitos farmacológicos tardios Metabolitos activos: <ul style="list-style-type: none"> Oxazepam Nordazepam ou Desmetildiazepam (principal responsável pela acção farmacológica do Prazepam, com tempo de semi-vida de 29-224 horas) 	Excreção urinária do Prazepam e seus metabolitos

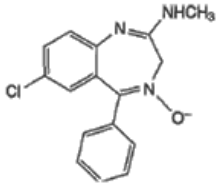
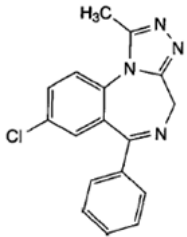
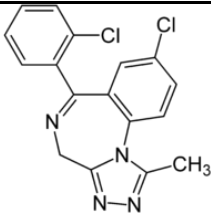
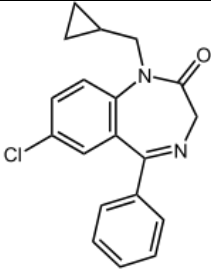
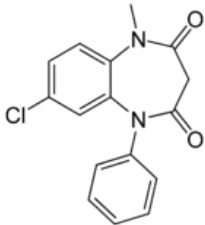
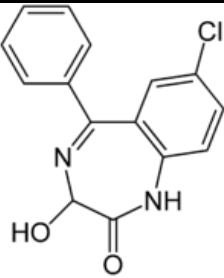
Efeito do substituinte “-F” na interação “Fármaco-Receptor” em Benzodiazepinas

Quadro A – 1 (cont.) - Características Farmacocinéticas e Farmacodinâmicas das principais Benzodiazepinas.

Benzodiazepina (DCI)	Via de administração	Uso terapêutico (Farmacodinâmica)	T1/2 (horas)	Dose diária usual (mg)	Farmacocinética		
					Absorção	Metabolização	Eliminação
<p>Clobazam (Castilium®)</p> <p>Insolúvel em água</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Oral 	<ul style="list-style-type: none"> • Distúrbios de ansiedade • Tratamento complementar do tratamento anti-epiléptico 	18	20 em duas doses diárias mas podemos atingir os 80 mg diários	<p>Absorvido no tracto gastro-intestinal</p> <p>O álcool estimula a biodisponibilidade em 50%</p> <p>Ligação às proteínas plasmáticas na extensão de 88-93%</p> <p>Atinge-se a concentração plasmática máxima 1-4 horas depois da administração</p>	<p>Hepática</p> <p>CYP2C19,CYP3A4,CYP2B6,CYP2C18</p> <p>Metabolitos activos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 4-hidroxiclobazam • N-dimetilclobazam (tempo de semi-vida de 42 horas) 	Excreção urinária do Clobazam e seus metabolitos
<p>Oxazepam (Serenal®)</p> <p>Muitas vezes é o metabolito activo de outros fármacos como o Diazepam e Desmetildiazepam</p> <p>Muito lipossolúvel</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Oral • Rectal 	<ul style="list-style-type: none"> • Distúrbios da ansiedade • Ansiedade associada a depressão • Tratamentos de alcoolismo 	4-15 (acção curta)	15-30 em 3 administrações diárias ou numa única dose ao deitar até 50 mg)	<p>Absorção lenta por via oral e por via rectal</p> <p>Taxa de ligação às proteínas plasmáticas de 85-97%</p> <p>Concentração plasmática máxima ao fim de 2 horas após a administração</p>	<p>Hepática</p> <p>Conjugação a compostos inactivos de forma directa no grupo hidroxilo→efeitos farmacológicos dependentes do metabolismo</p>	O seu metabolito é excretado na urina

Quadro A- 2 - Benzodiazepinas						
Benzodiazepina (DCI)	Grupo	Subgrupo	Estrutura química	Fórmula molecular	Nome de marca	Laboratório
Lorazepam	1,4-benzodiazepinas	1,3-dihidro-2-cetona		$C_{15}H_{10}N_2Cl_2O_2$	ACTIVAN®	WYETH-AYERST
Bromazepam	piridinil-benzodiazepina			$C_{14}H_{10}N_3BrO$	BROMALEX® LEXOTAN®	ROCHE
Clonazepam	1,4-benzodiazepinas	1,3-dihidro-2-cetona		$C_{15}H_{10}N_3ClO_3$	RIVOTRIL®	ROCHE
Diazepam	1,4-benzodiazepinas	1,3-dihidro-2-cetona		$C_{16}H_{13}N_2ClO$	VALIUM®	ROCHE
Flunitrazepam	1,4-benzodiazepinas	1,3-dihidro-2-cetona		$C_{16}H_{12}FN_3O_3$	ROHIPNOL® SEDEX®	ROCHE
Flurazepam	1,4-benzodiazepinas	1,3-dihidro-2-cetona		$C_{21}H_{23}ClFN_3O$	MORFEX®	ROCHE

Benzodiazepina (DCI)	Grupo	Subgrupo	Estrutura química	Fórmula molecular	Nome de marca	Laboratório
Lormetazepam	1,4-benzodiazepinas	1,3-dihidro-2-cetona		$C_{16}H_{12}Cl_2N_2O_2$	NOCTAMID®	WYETH
Midazolam	1,2-heterociclo-1,4-benzodiazepinas	imidazolo		$C_{18}H_{13}ClFN_3$	DORMICUM® ZOLAMID®	ROCHE
Nitrazepam	1,4-benzodiazepinas	1,3-dihidro-2-cetona		$C_{15}H_{11}N_3O_3$	MOGADON®	ROCHE
Clorazepato de Potássio	Benzodiazepina carboxilada				TRANXENE®	SANOFFI/ ABBOTT
Temazepam	1,4-benzodiazepinas	1,3-dihidro-2-cetona		$C_{16}H_{13}ClN_2O_2$	REMESIAN® NORMISON® RESTORIL®	WYETH- AYERST NOVARTIS

Benzodiazepina (DCI)	Grupo	Subgrupo	Estrutura química	Fórmula molecular	Nome de marca	Laboratório
Clordiazepóxido	1,4-benzodiazepinas	2-amino-4-óxido		$C_{16}H_{14}ClN_3O$	LIBRIUM®	ROCHE
Alprazolam	1,2-heterociclo-1,4-benzodiazepinas	triazolo		$C_{17}H_{13}ClN_4$	XANAX®	PHARMACIA
Triazolam	1,2-heterociclo-1,4-benzodiazepinas	triazolo		$C_{17}H_{12}Cl_2N_4$	HALCION®	PFIZER
Prazepam	1,4-benzodiazepinas	1,3-dihidro-2-cetona		$C_{19}H_{17}ClN_2O$	DEMETRIN®	PFIZER
Clobazam	1,5-benzodiazepinas			$C_{16}H_{13}ClN_2O_2$	CASTILUM®	SANOFI-AVENTIS
Oxazepam	1,4-benzodiazepinas	1,3-dihidro-2-cetona		$C_{15}H_{11}ClN_2O_2$	SERENAL®	WYETH

