

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

RENATA OLIVEIRA SILVA

SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS ANTAGONISTAS
ALFA-ADRENÉRGICOS

Brasília
2013

RENATA OLIVEIRA SILVA

SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS ANTAGONISTAS ALFA-
ADRENÉRGICOS

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências da Saúde pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêutica da Universidade de Brasília.

Orientador: Dr. Luiz Antonio Soares Romeiro

Brasília
2013

Não autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de ensino, estudo ou pesquisa.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central da Universidade de Brasília. Acervo 1011062.

Silva, Renata Oliveira.
S586s Síntese e avaliação farmacológica de novos antagonistas alfa-adrenérgicos / Renata Oliveira Silva. -- 2013.
147 f. : il. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) - Universidade de Brasília, Faculdade de Ciências da Saúde, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, 2013.

Inclui bibliografia.

Orientação: Luiz Antonio Soares Romeiro.

1. Próstata. 2. Hiperplasia - Tratamento. 3. Química farmacêutica. I. Romeiro, Luiz Antonio Soares. II. Título.

CDU 615.07

RENATA OLIVEIRA SILVA

SÍNTESE E AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA DE NOVOS ANTAGONISTAS ALFA-ADRENÉRGICOS

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do Título de Mestre em Ciências Farmacêuticas pelo Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Brasília.

Aprovada em 15 de Agosto de 2013.

Banca Examinadora

Dr. Luiz Antonio Soares Romeiro

Presidente

Dr. Ângelo Henrique de Lira Machado

Banca

Dra. Andréa Barretto Motoyama

Banca

Brasília
2013

À minha vovozinha Felismina que com grande empenho, sabedoria e amor me ensinou que tudo é possível desde que se creia e lute, obrigada pelo grande exemplo de vida.

AGRADECIMENTOS

A Deus que sempre presente em minha vida, me iluminou nos momentos difíceis e me deu forças para continuar.

Ao professor Dr. Luiz Antonio Soares Romeiro pela orientação, discussões teóricas, dedicação, exemplo, apoio e amizade.

À minha família, minha base e meus principais incentivadores, Marta, Teodomiro, Daniel e minha avó Felismina. Meu eterno agradecimento.

Aos meus tios Walter, Maristela e Marlene, meus primos Mayá, João Paulo e meu afilhado Mateus pelo carinho incondicional e apoio.

Ao Helber Leria pelo carinho, paciência e incentivo.

Aos colegas do LADETER pelo momentos agradáveis vividos, pelas discussões, pelo convívio, pela amizade, em especial, Karolyne Vilela, Andressa Oliveira, Msc Laís Lemes, Andressa Oliveira e Msc Vinícius Paixão por toda ajuda e incentivo.

Aos amigos Calebe Lima e Helen Freitas pelo momentos agradáveis vividos, amizade e pela compreensão sem os quais a realização deste trabalho não seria possível.

As amigas Julyanna Carvalho e Luciana Nascente por toda amizade, carinho e momentos de descontração.

A Central Analítica da Universidade Católica de Brasília, em especial a sua técnica Margareth Amaral por todo apoio, dedicação e amizade.

Ao Centro Nordestino de Aplicação e Uso de Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal do Ceará, a Dr. Edilberto R. Silveira e a Msc. Patrícia Coelho pela concessão de espectros RMN ^1H e RMN ^{13}C .

À Central Analítica do Instituto de Química (IQ) da Universidade de Brasília (UnB), a professora Dra. Inês S. Resk e Dra. Aline Lima de Oliveira, pela concessão de espectros de RMN ^1H e RMN ^{13}C .

Aos professores e alunos do Laboratório de Farmacologia Molecular do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal do Rio de Janeiro, Dra.

Cláudia Lúcia Martins da Silva e Dr. François G. Noel, MSc. Fernanda Chagas e Msc. Jéssica Nascimento pela realização dos ensaios farmacológicos.

E desde já, à banca examinadora por aceitar o convite, pelas críticas e quaisquer contribuições que possam prestar.



Fonte: Site Simples Assim¹.

¹Disponível no site: <http://helanunes.files.wordpress.com/2010/10/snoopy2.jpg> em Jun. de 2013.

RESUMO

SILVA, Renata Oliveira. **Síntese e Avaliação farmacológica de Novos Antagonistas Alfa-Adrenérgicos**. Brasília, 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

No âmbito de uma linha de pesquisa que visa o desenvolvimento de novos antagonistas alfa-adrenérgicos candidatos a agentes terapêuticos para o tratamento da hiperplasia benigna prostática, descrevemos neste trabalho a síntese e a avaliação farmacológica de novos derivados 2-alcóxifenilpiperazínicos visando estudar o efeito das modificações estruturais nas subunidades auxofórica e farmacofórica de LASSBio-772 frente ao perfil farmacológico e seletividade de adrenoceptores α_{1A} , α_{1B} e α_{1D} . Neste contexto, 16 compostos finais foram sintetizados, em rendimentos que variaram de 40% a 93%. Os resultados farmacológicos referentes aos ensaios de competição e funcional para a série de derivados 2-metóxifenilpiperazínicos **31 (b-f)** evidenciaram a capacidade desses ligantes atuarem sobre os receptores em concentração nanomolar, exceto o derivado **31f** frente ao adrenoceptor α_{1D} . Nos ensaios de competição, os derivados apresentaram valores de K_i que variaram de 2,16 nM a 15,70 nM para o adrenoceptor α_{1A} e 12,20 nM a 154,00 nM para o subtipo α_{1B} . No estudo funcional em aorta de rato toda a série, exceto **31f**, mostrou grande afinidade pelos adrenoceptor α_{1D} com valores de K_B que variaram de 0,57 a 3,14 nM. A avaliação das séries **32 (a-f)** e **33 (a-f)**, a otimização de procedimentos e estudos computacionais em modelagem molecular compreendem às perspectivas deste trabalho para validação do planejamento estrutural de compostos desta classe terapêutica.

Palavras-chave: Hiperplasia Benigna Prostática; antagonistas alfa-adrenérgicos; análogos de LASSBio772;

ABSTRAT

SILVA, Renata Oliveira. **Síntese e Avaliação farmacológica de Novos Antagonistas Alfa-Adrenérgicos**. Brasília, 2013. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

In the scope of a research program that aims to development of new alpha-adrenergic antagonists, candidates as therapeutic agents for the treatment of benign prostatic hyperplasia, we describe herein the synthesis and pharmacological evaluation of new 2-alkoxyphenylpiperazine derivatives in order to study the effect of structural changes at the auxophoric and pharmacophoric subunits of LASSBio772 and evaluate the pharmacological and selectivity profile against the adrenoceptor subtypes α 1A, α 1B and α 1D. Thus, 16 final compounds were synthesized by means of convergent method in yields ranging from 40% to 93%. The pharmacological results for the series of 2-methoxyphenylpiperazines **31 (b-f)**, relating to binding and functional assays derivatives, showed the ability of these ligands of acting on receptors in nanomolar concentration, except derivative **31f** against the α 1D adrenoceptor. In binding assays, the derivatives showed K_i values ranging from 2.16 nM to 15.70 nM for the α 1A adrenoceptor and 12.20 nM to 154.00 for the α 1B subtype. In functional studies in rat aorta, all series, except **31f**, showed great affinity for α 1D adrenoceptor with K_B values ranging from 0.57 to 3.14 nM. The evaluation of series **32 (a-f)** and **32 (a-f)**, the optimization of procedures and computational studies on molecular modeling are the perspectives of this work to validate the structural planning of compounds of this therapeutic class.

Keywords: Benign Prostatic Hyperplasia, alpha-adrenergic antagonists; LASSBio772 analogs.

LISTA DE ESQUEMAS

ESQUEMA 1: Planejamento sintético para obtenção dos derivados-alvo.	35
ESQUEMA 2: Síntese dos álcoois pela redução do ácidos carboxílicos	38
ESQUEMA 3: Síntese dos brometos a partir do álcool correspondente	39
ESQUEMA 4: Síntese dos mesilatos a partir do álcool correspondente.	42
ESQUEMA 5: Síntese dos derivados fenilpiperazínicos	45
ESQUEMA 6: Síntese da 2-isopropoxifenilpiperazina	52

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1: Tecido estromal prostático: normal e hiperplásico	20
FIGURA 2: Conversão da testosterona a diidrotestosterona	22
FIGURA 3: Azaesteróide finasterida (Proscar [®])	23
FIGURA 4: Derivados 2,4-diaminoquinazolínicos utilizados no tratamento da HBP	27
FIGURA 5: Estruturas da Silodosina (9) e Tansulosina (10)	28
FIGURA 6: Derivados <i>N</i> -fenilpiperazinas (<i>FPZ</i>)	29
FIGURA 7: Derivados 2-Isopropóxifenilpiperazínicos	30
FIGURA 8: LASSBio 772: Subunidades farmacofórica e auxofórica.	31
FIGURA 9: Planejamento de Novos Derivados 2-Alcóxi- <i>N</i> -fenilpiperazínicos	34
FIGURA 10: Numeração e legendas empregadas no assinalamento de sinais em ¹ H RMN e ¹³ C RMN.	37

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: Subtipos de adrenoceptores no trato urinário inferior	25
TABELA 2: Obtenção dos álcoois 28 (a,b) : Condições reacionais e sinais espectroscópicos característicos de RMN	64
TABELA 3: Obtenção dos bromoderivados 29 (a, c-f) : Condições reacionais e sinais espectroscópicos característicos de RMN	65
TABELA 4: Obtenção dos metanossulfonatos 30 (c-f) : Condições reacionais e sinais espectroscópicos característicos de RMN e no infravermelho	66
TABELA 5: Obtenção dos derivados fenilpiperazínicos 31 (c-f) : Condições reacionais e sinais espectroscópicos característicos de RMN e no infravermelho	67
TABELA 6: RMN ^1H e ^{13}C - Assinalamentos para os compostos 31(c-f)	68
TABELA 7: Obtenção dos Derivados Fenilpiperazínicos 32 (a-f) : Condições reacionais e sinais espectroscópicos característicos de RMN e no infravermelho	69
TABELA 8: RMN ^1H e ^{13}C - Assinalamentos para os compostos 32(a-f)	70
TABELA 9: Obtenção dos Derivados Fenilpiperazínicos 33 (a-f) : Condições reacionais e sinais espectroscópicos característicos de RMN e no infravermelho	71
TABELA 10: RMN ^1H e ^{13}C - Assinalamentos para os compostos 33(a-f)	72
TABELA 11: Ensaios de Competição para 31 (b-f) em Adrenoceptores α_{1A} e α_{1B}	73
TABELA 12: Afinidade dos derivados 31 (b-f) e BMY7378 (11) pelo adrenoceptor α_{1D}	76

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

5 α -R - 5 alfa- Redutase

ALH - Aceptores de Ligação de Hidrogênio

AMB - Associação Médica Brasileira

PSA - Antígeno específico prostático

Ar - Grupo Aril

α_1 -AR - antagonistas de receptores adrenérgicos

*B*_{max} - Densidade máxima dos sítios de ligação

C.C.D.- Cromatografia por camada delgada

CE₅₀ - Concentração que promove 50% do *E*_{max}

DCM – Diclorometano

CI₅₀ - Concentração que inibe em 50% a ligação do radioligante

cm⁻¹ - Centímetro recíproco

CR - Razão de concentração

d - Duplete

dd – Duplo duplete

DHT5 α – diidrotestosterona

DLH - Doadores de Ligação de Hidrogênio

EGTA - Ácido etileno glicol tetracético

*E*_{max} - Efeito máximo

eNOS - Enzima óxido nítrico sintase endotelial

EPM - Erro Padrão da Média

Et - Grupos Etila (CH₂CH₃)

EtOH – Etanol

FD - Fator de Diluição

FE – Fenilefrina

HBP - Hiperplasia Benigna Prostática

hp - hepteto

IV- Infravermelho

IC₅₀ - Concentração do produto que inibe 50% do crescimento celular

IS - Índice de Seletividade

J - Constantes de acoplamento

*K*B - Afinidade aparente
*K*d - Constante de equilíbrio de dissociação do ligante
*K*i - Constante de Afinidade
[L] - Concentração do Radioligante
LAH - Hidreto de Lítio e Alumínio
m - Multiplete
MHz - Mega Hertz
mN - milinewtons
MO - Micro-ondas
NADPH - Fosfato de dinucleótido de nicotina e adenina
NO - Óxido nítrico
OEB - Obstrução do Escoamento da Bexiga
OMs - Mesilato
POPOP - 1,4-bis(5-feniloxazol-2-il) benzeno
ppm - Parte por milhão
PPO - Poli(óxido de fenileno)
RTUP - Ressecção Transuretral da Próstata
*R*f - Fator de Retenção
RMN - Ressonância Magnética Nuclear
RMN ¹³C - Ressonância Magnética de Carbono
RMN ¹H - Ressonância Magnética de Hidrogênio
s - Sinpleto
sl - Sinpleto largo
*S*_N2 - Substituição Nucleofílica Bimolecular
STUI - Sintomas do Trato Urinário Inferior
SUS - Sistema Único de Saúde
t - Tripleto
t.a. - Temperatura Ambiente
TEA - Trietilamina
THF - Tetrahidrofurano
TMS - Tetrametilsilano
Tris - Trisaminometano
UV - Ultravioleta

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1: Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 28a	86
ANEXO 2: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 28a	87
ANEXO 3: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) – 28a	88
ANEXO 4: Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 28c	89
ANEXO 5: Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 29a	90
ANEXO 6: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 29a	91
ANEXO 7: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) – 29a	92
ANEXO 8: Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 29c	93
ANEXO 9: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 29c	94
ANEXO 10: Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 29d	95
ANEXO 11: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 29d	96
ANEXO 12: Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 29e	97
ANEXO 13: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 29e	98
ANEXO 14: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 29f	99
ANEXO 15: Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 30c	100
ANEXO 16: Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 30d	101
ANEXO 17: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) – 30d	102
ANEXO 18: Espectro de RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) – 30d	103
ANEXO 19: Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 30e	104
ANEXO 20: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) – 30e	105
ANEXO 21: Espectro de RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) – 30e	106
ANEXO 22: Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 30f	107
ANEXO 23: Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 31c (LDT 03)	108
ANEXO 24: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 31c (LDT 03)	109
ANEXO 25: Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 31d (LDT 04)	110
ANEXO 26: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 31d (LDT 04)	111
ANEXO 27: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 31e (LDT 05)	112
ANEXO 28: Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) – 31e (LDT 05)	113
ANEXO 29: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 31f (LDT 06)	114
ANEXO 30: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 32a (LDT 08)	115
ANEXO 31: Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 32b (LDT 09)	116

ANEXO 32: Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 32c (LDT 243)	117
ANEXO 33: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) – 32c (LDT 243)	118
ANEXO 34: Espectro de RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) – 32c (LDT 243)	119
ANEXO 35: Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 32d (LDT 244)	120
ANEXO 36: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) – 32d (LDT 244)	121
ANEXO 37: Espectro de RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) – 32d (LDT 244)	122
ANEXO 38: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) – 32e (LDT 245)	123
ANEXO 39: Espectro de RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) – 32e (LDT 245)	124
ANEXO 40: Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 32f (LDT 450)	125
ANEXO 41: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) – 32f (LDT 450)	126
ANEXO 42: Espectro de RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) – 32f (LDT 450)	127
ANEXO 43 Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 33a (LDT 451)	128
ANEXO 44: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) – 33a (LDT 451)	129
ANEXO 45: Espectro de RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) – 33a (LDT 451)	130
ANEXO 46: Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 33b (LDT 452)	131
ANEXO 47: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) – 33b (LDT 452)	132
ANEXO 48: Espectro de RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) – 33b (LDT 452)	133
ANEXO 49: Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 33c (LDT 453)	134
ANEXO 50: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) – 33c (LDT 453)	135
ANEXO 51: Espectro de RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) – 33c (LDT 453)	136
ANEXO 52: Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 33d (LDT 454)	137
ANEXO 53: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) – 33d (LDT 454)	138
ANEXO 54 Espectro de RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) – 33d (LDT 454)	139
ANEXO 55: Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 33e (LDT 455)	140
ANEXO 56: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) – 33e (LDT 455)	141
ANEXO 57: Espectro de RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) – 33e (LDT 455)	142
ANEXO 58 Espectro no Infravermelho (ν cm^{-1} , KBr) – 33f (LDT 456)	143
ANEXO 59: Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) – 33f (LDT 456)	144
ANEXO 60: Espectro de RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) – 33f (LDT 456)	145

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO

1.1. HIPERPLASIA BENIGNA PRÓSTÁTICA (HBP)	19
1.2. HBP: DIAGNÓSTICO, TRATAMENTOS CIRÚRGICO E FARMACOTERAPÊUTICO	21
1.3. HBP - FARMACOTERAPIA: ANTIANDROGÊNICOS	22
1.4. HBP - FARMACOTERAPIA : ANTAGONISTAS DE ADRENOCEPTORES α_1	24
1.5. ALFA-BLOQUEADORES DE SEGUNDA GERAÇÃO – DERIVADOS 2,4-DIAMINOQUINAZOLÍNICOS	26
1.6. ALFA-BLOQUEADORES DE TERCEIRA GERAÇÃO – SILODOSINA E TANSULOSINA.....	27
1.7. DERIVADOS FENILPIPERAZÍNICOS – ESTRUTURAS PRIVILEGIADAS.....	29
1.8. LASSBIO-772	31

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL	33
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33

3. MÉTODOS

3.1. PLANEJAMENTO ESTRUTURAL	34
3.2. PLANEJAMENTO SINTÉTICO.....	34

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1 GENERALIDADES, MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.2 METODOLOGIA SINTÉTICA E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS	38
Obtenção dos Alcoóis	38
Obtenção dos Bromoderivados	39
Obtenção dos Mesilatos	42
Obtenção dos Derivados Fenilpiperazínicos.....	45
4.3 AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA	58

5 RESULTADO E DISCUSSÃO

5.1 METODOLOGIA SINTÉTICA	64
5.2 AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA	73

6 CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS 78 |

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS 80 |

8 ANEXOS 87 |

Introdução

Objetivos

Metodologia

Resultado e Discussão

Parte Experimental

Conclusões e Perspectivas

Referências Bibliográficas

Anexos

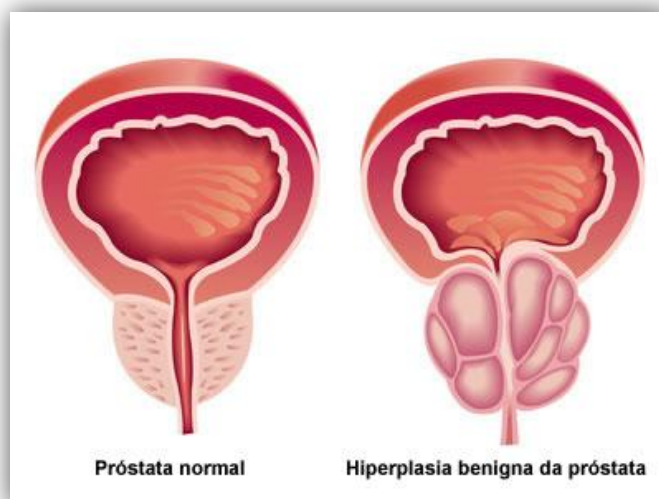
1. INTRODUÇÃO

1.1. HIPERPLASIA BENIGNA PRÓSTÁTICA (HBP)

A hiperplasia benigna prostática, também conhecida como hipertrofia benigna prostática ou HBP, é o termo anatomopatológico para as alterações prostáticas representadas por mudanças clínicas, morfológicas e funcionais no trato urinário inferior (NETTO Jr *et al.* 1999; KUMAR *et al.* 2013). Particularmente consiste no alargamento não-malígnico de ambos tecidos glandular e fibromuscular prostáticos, envolvendo, exclusivamente, as zonas periuretral e de transição, no início do crescimento hiperplásico, sendo o tumor benigno mais comumente encontrado nos homens (STEERS & ZORN, 1995; ROMEIRO, 2002).

Inicialmente, a HBP manifesta-se como nódulos microscópicos, principalmente glandular (zona periuretral) e estromal (zona de transição) com evolução progressiva e proliferação, levando ao quadro sintomático secundário característico de obstrução do escoamento da bexiga (OEB). Histologicamente, a HBP é considerada, frequentemente, uma patologia estromal, pela evidência do aumento da relação entre o estroma e o epitélio no órgão sadio e no quadro patológico, de 2:1 para 5:1, respectivamente (BARTSCH *et al.*, 1979) (Figura 1, adaptada de PETERSON, 1990). Neste sentido, especula-se que a proliferação localizada nas células estromais, na zona de transição, pode representar o evento inicial na patogênese da HBP, em um processo semelhante à desdiferenciação embrionária, podendo estar associado a mediadores de origem estromal, e, subseqüentemente, tendo efeitos sobre o tecido epitelial (KENNY *et al.*, 1997).

Figura 1 – Tecido estromal prostático: normal e hiperplásico



Fonte: Site do criasaude¹.

A prevalência da HBP em homens com idade igual ou superior a 50 anos é de aproximadamente 50%, (KUMAR *et al.* 2013; MORLOCK *et al.* 2013) aumentando com o envelhecimento. Neste sentido, salta para 90% em indivíduos com 80 anos, onde 30% manifestam obstrução ao fluxo urinário criada pelo crescimento prostático (COCKETT *et al.*, 1994; KUMAR *et al.* 2013; UROLOGY CARE, 2013).

De forma geral, a obstrução secundária a HBP ocorre na dependência de dois fatores: um componente estático, representado pelo tecido glandular hiperplásico, relacionado ao alargamento da glândula prostática, o qual pode resultar na compressão da uretra e obstrução do fluxo urinário a partir da bexiga; e um componente dinâmico resultante da contração da musculatura lisa do estroma prostático, o qual é dependente de inervação predominantemente adrenérgica e regulada pelos adrenoreceptores α_1 (KENNY *et al.*, 1997; NETTO Jr *et al.* 1999; MICHELOTTI *et al.*, 2000, NISHIMUNE *et al.*, 2012).

Em pacientes com HBP tem-se evidenciado a redução da pressão intrauretral prostática, em aproximadamente 50%, após completo bloqueio simpático do fluxo no trato urinário inferior. Estas descobertas, junto à observação de que a densidade do

músculo prostático está relacionada ao grau de obstrução em pacientes com HBP, formam a base da intervenção terapêutica, planejada para reduzir o tônus do músculo liso prostático.

1.2. HBP: DIAGNÓSTICO, TRATAMENTOS CIRÚRGICO E FARMACOTERAPÊUTICO

Quanto ao diagnóstico, inúmeros são os estudos a respeito dos sintomas miccionais decorrentes da HBP. Segundo Netto Jr e colaboradores (1999) muitos aspectos são importantes tanto na determinação da real influência da HBP sobre a sintomatologia do paciente, quanto da escolha do método de tratamento adequado, uma vez que os sintomas do trato urinário são inespecíficos. Desta forma, os especialistas entendem que o ponto fundamental no diagnóstico está em relacionar estes sintomas à presença de obstrução infravesical provocada pela HBP, considerando-se que todos os métodos de tratamento, clínicos ou cirúrgicos visam diminuir essa condição.

Tratamento cirúrgico

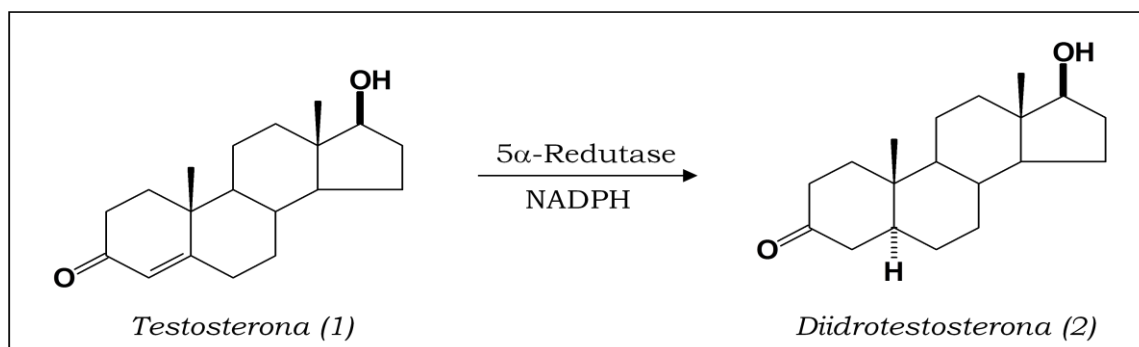
A ressecção transuretral da próstata (RTUP), técnica cirúrgica invasiva mais popular e reconhecida como padrão ouro com cerca de 350 mil procedimentos realizados anualmente nos Estados Unidos da América do Norte (HOLTGREWE *et al.*, 1989, WEIS *et al.*, 1993), tem sido gradativamente substituída por novas modalidades como a ressecção transuretral por vapor (RTUPV) bem como enucleação prostática com laser de Hólmio (HoLEP) (GUPTA & ANAD, 2009). No Brasil, segundo SUAID (2003), no ano de 2002 foram gastos no SUS aproximadamente 350 milhões de dólares em tratamento cirúrgicos para HBP, e segundo a AMB (Associação Médica Brasileira) os gastos chegam a quase 2 bilhões de dólares.

Além dos procedimentos cirúrgicos, alguns tratamentos farmacológicos existentes estão voltados para o componente dinâmico desta fisiopatologia.

1.3. HBP - FARMACOTERAPIA: ANTIANDROGÊNICOS

Em 1944, Moore relatou que a ausência da função testicular, em homens de aproximadamente 40 anos, impedia o desenvolvimento da HBP bem como o câncer de próstata (MOORE, 1994). Estes estudos relacionavam-se à testosterona (**1**), principal hormônio andrógeno testicular, responsável pela regulação do crescimento da glândula prostática, considerado como fator permissivo ou causal no desenvolvimento da HBP e câncer prostático. Na próstata, normalmente ocorre a conversão da testosterona em 5α -diidrotestosterona (**2**, DHT), mediada pela enzima 5α -redutase. **2** corresponde à fração metabolicamente ativa no tecido prostático (MACCONNELL *et al.*, 1992, KUMAR *et al.* 2013., KULIG; MALAWSKA, 2006), apresentando afinidade 4 a 5 vezes maior que **1** pelo receptor androgênico (GELLER, 1989), compreendendo aproximadamente 90% do total de andrógenos (MACCONNELL, 1992) (Figura 2).

Figura 2 - Conversão da testosterona a diidrotestosterona

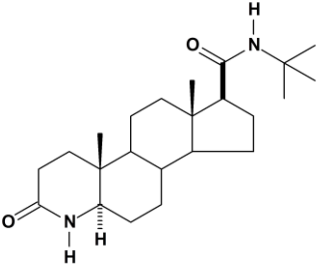


A partir dos trabalhos desenvolvidos por Russel e Wilson (1994), isoformas da enzima 5α -redutase, 5α -R1 e 5α -R2, foram identificadas e clonadas, (RUSSEL & WILSON, 1994), e em 2008, a isoforma 5α -R3 foi caracterizada (KUMAR *et al.* 2013). Estas enzimas apresentam diferentes padrões de distribuição, com a isoforma 5α -R2 sendo encontrada na próstata, tecido genital, epiderme, vesícula seminal e fígado. A enzima 5α -R1 é a forma predominante no tecido não-genital e

está presente também no fígado (RUSSEL & WILSON, 1994), enquanto a isoforma 5α -R3 nas células hormônio refratárias de câncer de próstata (KUMAR *et al.* 2013). Em próstata de ratos, a enzima 5α -R1 está presente em níveis elevados, similares ou maiores que a expressão da isoenzima 5α -R2 (NORMINGTON & RUSSEL, 1992), bem como está localizada nas células epiteliais basais (BERMAN & RUSSEL, 1993).

Os químicos medicinais têm dirigido seus esforços para a identificação de inibidores duais de ambas isoformas, uma vez que a DHT circulante pode contribuir na ação deste andrógeno sobre a próstata e, desta forma, promover a inibição destas enzimas, 5α -R1 e 5α -R2, o que resultaria no aumento da eficácia comparada aos inibidores 5α -R2-seletivos, representados principalmente pelo azaesteróide finasterida (**3**, Proscar[®], Merck) (MACCONNELL, 1995). Este fármaco atua como inibidor competitivo da 5α -R2, com seletividade *ca.* 45 vezes em relação à 5α -R1 (ANDERSSON *et al.*, 1991) (Figura 3).

Figura 3 - Azaesteróide finasterida (Proscar[®])

	5α-Redutase		IC₅₀(nM)
	Rato		Humano
	R	R1	R2
Finasterida (3) Proscar[®]	20,0	410	9,4

Fonte: MACCONNELL (1995)

Estudos duplo-cego placebo controlado com a finasterida demonstraram redução dos níveis de DHT intraprostático e circulante em 80% e que este resultado permaneceu por 12 meses de tratamento. A longo prazo, o grupo tratado com a finasterida demonstrou redução de 57% no desenvolvimento de retenção urinária aguda frente ao grupo placebo (MARKS *et al.*, 2006; AUFFENBERG, *et al.* 2009). Os efeitos adversos de **3** incluem disfunção erétil, diminuição da libido, ginecomastia e impotência em até 5% dos pacientes (STONER, 1994, AUFFENBERG, *et al.* 2009).

Clinicamente, a diminuição do antígeno específico prostático (PSA) no soro de pacientes tratados por 4 a 6 meses com **3** foi de 50%. Com a alteração no nível de PSA em pacientes que fazem uso dos inibidores 5α -redutase faz-se necessário o acompanhamento periódico, e no caso de aumento mínimo do nível de PSA é recomendado que outras avaliações mais específicas sejam realizadas (AUFFENBERG, *et al.* 2009).

Recentemente, Wu e Kapoor (2013) relataram uso da Dutasterida tanto como monoterapia quanto combinada com bloqueadores alfa-adrenérgicos, estabelecida como segura e bem tolerada para o tratamento dos sintomas da HBP com redução do risco de retenção urinária aguda.

1.4. BHP - FARMACOTERAPIA : ANTAGONISTAS DE ADRENOCEPTORES α_1

Outro alvo terapêutico associado ao alívio dos sintomas obstrutivos característicos da HBP tem sido o uso de agentes antagonistas de receptores adrenérgicos (bloqueadores α_1 -AR), que atuam na diminuição do tônus muscular prostático, devido à elevada concentração destes receptores neste tecido (LEPOR *et al.*, 1993). Entretanto, face a presença dos α_1 -AR em ambos tecidos prostático e vascular, o planejamento de novos antagonistas seletivos para o tratamento da HBP que atuem particularmente nos receptores prostáticos, denominados urosselativos, minimizando os efeitos colaterais, constitui um novo desafio para a Química Medicinal.

Nos últimos anos, os esforços para conceber ligantes seletivos para os subtipos de receptores adrenérgicos α_1 , ou seja, α_{1A} , α_{1B} , α_{1D} , continuam a representar uma área de investigação ativa, uma vez que estes receptores estão envolvidos numa série de doenças tais como a hipertensão, a hipertrofia do miocárdio, da hiperplasia benigna prostática (BPH) e os sintomas do trato urinário inferior (STUI) (MICHELOTTI *et al.*, 2000; KUBACKA *et al.*, 2013).

Estudos identificaram que o adrenoceptor α_{1A} está expressado na próstata humana. (PRICE *et al.*, 1994; TSENG-CRANCK *et al.*, 1995; ROEHRBORN, 2011; AUFFENBERG, *et al.* 2009). O subtipo α_{1B} é encontrado principalmente no músculo liso das artérias e veias, fato que tem sido associado à regulação da pressão arterial

(AUFFENBERG, *et al.* 2009; KULIG; MALAWSKA, 2006). Outros estudos mostraram que o receptor α_{1D} está também presente na próstata e na bexiga sendo o adrenoceptor prevalente na bexiga (PRICE *et al.*, 1993; NASU *et al.*, 1996, NISHIMUNE *et al.*, 2012). O uso de antagonistas que atuem sobre os subtipos α_{1A} e α_{1D} é tido como a estratégia mais efetiva para o tratamento da BHP, comparada aos antagonistas α_1 não-seletivos, em face dos efeitos adversos hipotensores causados pelo bloqueio do receptor α_{1B} -adrenérgico (MICHEL, 2010; AUFFENBERG, *et al.* 2009).

Tabela 1 - Subtipos de adrenoceptores no trato urinário inferior.

Tecido	Espécie	mRNA	Binding	Função
Próstata	Camundongo	α_{1a}	α_{1A}	α_{1A}
		$\alpha_{1a}, \alpha_{1b}, \alpha_{1d}$	α_{1A}, α_{1B}	α_{1L}
	Coelho	α_{1a}	α_{1A}, α_{1L}	α_{1A}
				α_{1L}
	Humano	α_{1a}	α_{1A}, α_{1B}	α_{1A}
				α_{1L}
Uretra	Camundongo	$\alpha_{1a} > \alpha_{1b} > \alpha_{1d}$		α_{1L}
	Coelho		α_{1A}	α_{1A}
	Humano	$\alpha_{1a} > \alpha_{1d}$		α_{1L}
Colo da bexiga	Camundongo	$\alpha_{1a} > \alpha_{1b} > \alpha_{1d}$	α_{1A}	α_{1A}
	Coelho			α_{1A}
				α_{1L}
	Humano	$\alpha_{1d} > \alpha_{1a}$	$\alpha_{1D} > \alpha_{1A}$	α_{1A}
α_{1L}				

Fonte: NISHIMUNI (2012)*

As principais classes de antagonistas α_1 -AR descritas na literatura incluem derivados 2,4-aminoquinazolinícos, piperidínicos e arilpiperidínicos (LI *et al.*, 2009, ROMEO *et al.*, 2011), fenoxietilamínicos e arilpiperazínicos (CHIU *et al.*, 2008; FRANCHINI, *et al.*, 2010; SHARMA *et al.*, 2010; SAGRATINI *et al.*, 2010; ZHAO *et al.*, 2010; HANDZLIK *et al.*, 2012) Adicionalmente, derivados piridazinônicos (BARBARO *et al.*, 2001), hexaidrobenzisoindólicos (MEYER *et al.*, 2001; NANDA *et*

*Nota: mRNA: subtipos identificados por estudos de RT-PCR ou ensaios de proteção RNase.
Ligação: subtipos detectados por ensaio de ligação do radioligando com homogenatos de tecidos.
Função: Obtido a partir de dados de bioensaios, onde as respostas contráteis a norepinefrina ou outros agonistas α_1 foram examinados (Nishimuni *et al.* 2000).

al., 2009) e benzodioxânicos (BARBARO *et al.*, 2002; BOLOGNESI *et al.*, 1999; FUMAGALLI, *et al.* 2013;) têm sido descritos.

De maneira geral, em comparação aos inibidores da enzima 5 α -redutase, os agentes bloqueadores α_1 -AR apresentam efeito terapêutico mais rápido, ainda que esta resposta, relativa à melhora dos sintomas obstrutivos e à velocidade do fluxo urinário, seja considerada moderada (OESTERLING, 1995).

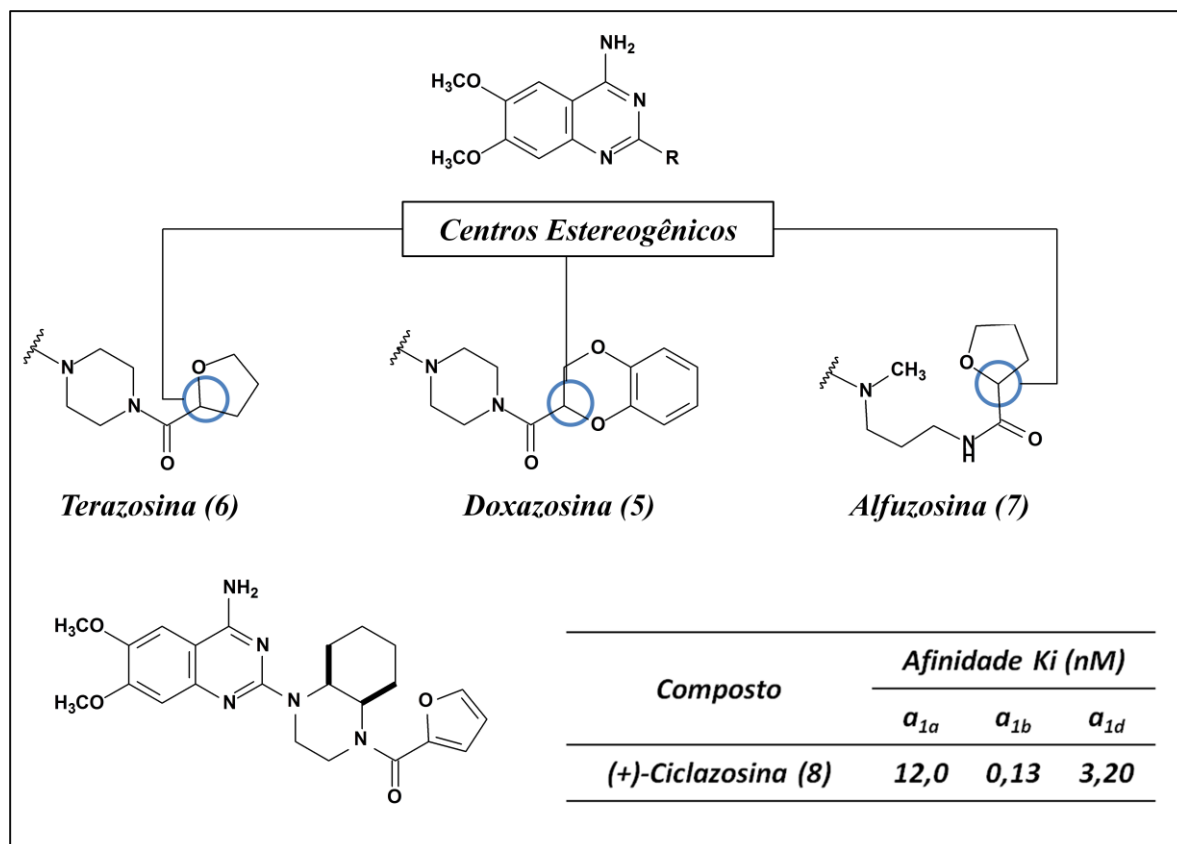
1.5. ALFA-BLOQUEADORES DE SEGUNDA GERAÇÃO - DERIVADOS 2,4-DIAMINOQUINAZOLÍNICOS

Os compostos da classe dos antagonistas quinazolínicos são representados pela prazosina (**4**), doxazosina (**5**), terazosina (**6**) e alfuzosina (**7**) (Figura 4; pág. 27), os quais, anteriormente discutidos como úteis no tratamento da hipertensão, têm sido empregado no alívio dos sintomas obstrutivos da HBP, a despeito dos efeitos adversos ocasionados pelo antagonismo não-seletivo sobre o tecido vascular, em particular do subtipo α_{1B} .

Estes derivados diferem entre si quanto às modificações estruturais na cadeia lateral estabelecida na posição 2 do anel quinazolínico. Embora tais modificações tenham profundos efeitos sobre suas potências e farmacocinética, os antagonistas quinazolínicos apresentam perfis de afinidade semelhantes para os receptores humanos clonados (KENNY *et al.*, 1996; TESTA *et al.*, 1995).

Embora poucos derivados desta classe terapêutica tenham sido recentemente reivindicados para o tratamento da HBP, uma nova série de derivados piperazínicos e piperidínicos, têm sido desenvolvidos, destacando-se a (+)-ciclazosina (**8**), um derivado da prazosina (**4**), em que o anel piperazínico está fundido com o anel cicloexânico, a qual exibe significativa seletividade para o receptor clonado α_{1b} (LEONARDI, 1995) (Figura 4).

Figura 4 - Derivados 2,4-diaminoquinazolinicos utilizados no tratamento da HBP



Fonte: LEONARDI (1995)

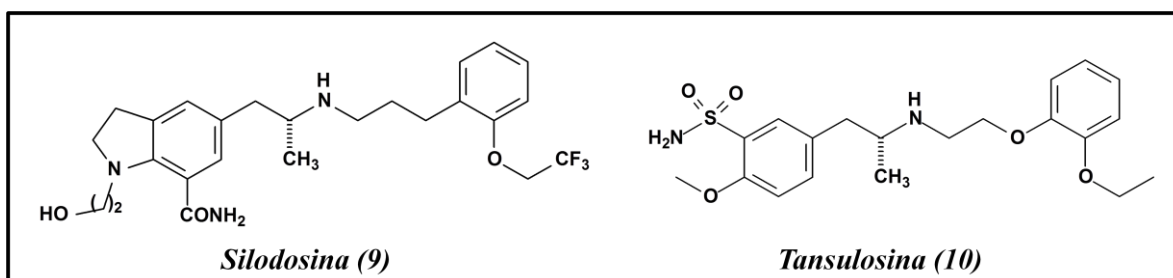
1.6. ALFA-BLOQUEADORES DE TERCEIRA GERAÇÃO - SILODOSINA E TANSULOSINA

Outro derivado representativo desta classe, silodosina (**9**) (Figura 5), apresenta semelhança estrutural à tansulosina (**10**), com a inserção do grupo trifluorometila, presumivelmente para atenuar o processo de O-desalquilação, como efeito do metabolismo de primeira passagem em humanos (MATSUSHIMA *et al.*, 1998). O derivado **9** apresentou o melhor perfil de afinidade dos antagonistas α_{1A} com K_i 0,036 nM, exibindo menor K_i para os subtipos α_{1B} e α_{1D} , 583 e 56 vezes, respectivamente (SHIBATA *et al.*, 1995). Em estudos funcionais com órgãos isolados, **9** inibiu potentemente as contrações em tecidos prostáticos humanos induzidos por norepinefrina (pK_B 9,45), em valores comparativos aos ensaios de “binding” (MORIYAMA *et al.*, 1997). O antagonista **9** mostrou perfil superior a **10** quanto à resposta inibitória aos efeitos da indução do aumento da pressão

intrauretral pelo agonista fenilefrina, utilizando ratos como modelo experimental (AKIYAMA *et al.*, 1999).

Adicionalmente, **9** tem apresentado efeito antagonista preferencial sobre as funções do trato urinário inferior quando comparado ao tecido vascular (AKIYAMA *et al.*, 1997). Sob investigação clínica de fase 3 no Japão, **9** não teve diferenças frente a **10** quanto à pressão sanguínea, ritmo cardíaco e tontura, porém teve maior prevalência de disfunção ejaculatória (23%) que **10** (1,6%) (AUFFENBERG, *et al.* 2009). Segundo Kumar e colaboradores (2013), os efeitos de **9** sobre a ejaculação por atuar na vesícula seminal e canal deferente impedem **9** de ser uma droga promissora (KUMAR *et al.* 2013).

Figura 5 – Estruturas da Silodosina (**9**) e Tansulosina (**10**)



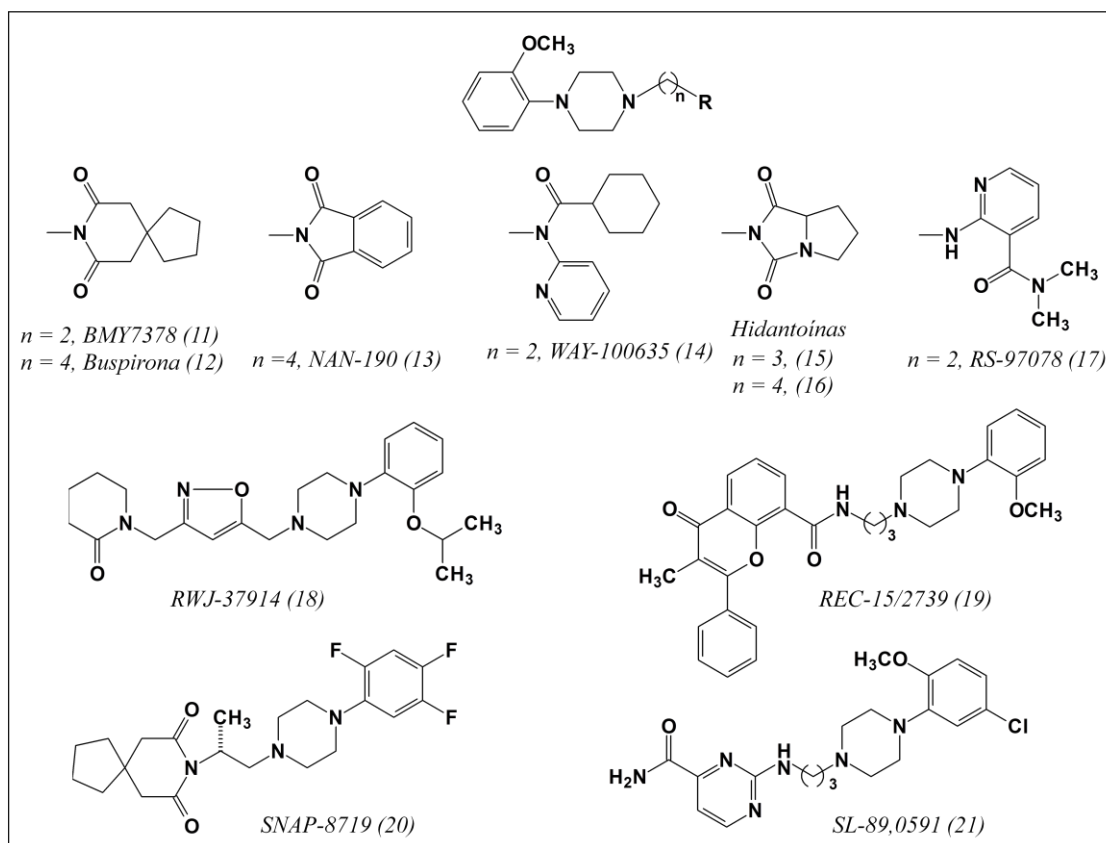
A tansulosina (**10**) (Figura 5) foi o primeiro antagonista aprovado para o tratamento da HBP, exibindo alta afinidade para os subtipos α_{1A} e α_{1D} (K_i , 0,20 nM e 0,15 nM, respectivamente), com seletividade de, no mínimo, 10 vezes frente ao subtipo α_{1B} (KENNY *et al.*, 1996). Apesar dos resultados clínicos inferirem sobre a minimização dos efeitos adversos de **10** (CHAPPLE *et al.*, 1997; MICHEL *et al.*, 1998; AUFFENBERG, *et al.* 2009), contemplados nos agentes quinazolínicos, alguns autores têm contestado sua classificação quanto urosselativo (BLUE *et al.*, 1997), sugerindo que seu perfil terapêutico não estaria relacionado à seletividade farmacológica, mas associado à otimização das propriedades farmacocinéticas empregadas na formulação (BOCK & PATANE, 2000).

1.7. DERIVADOS FENILPIPERAZÍNICOS – ESTRUTURAS PRIVILEGIADAS

Estruturas privilegiadas consistem em arcabouços capazes de interagir de forma potente e seletiva em diferentes alvos moleculares por meio da ancoragem de grupos funcionais em posições definidas que auxiliam no processo de interação intermolecular com resíduos de aminoácido complementares (DUARTE *et al*, 2007).

Inseridas nestes contexto encontram-se as *N*-arilpiperazinas, as quais atuam em diferentes alvos terapêuticos, em especial aqueles pertencentes à classe dos receptores transmembrânicos acoplados à proteína G. Neste sentido, há derivados da 2-metóxilfenilpiperazina (2MFPz) que exercem suas atividades em diferentes receptores *i.e. adrenérgico e.g.* BMY7378 (**11**); *serotoninérgico e.g.* buspirona (**12**), NAN-190 (**13**), WAY-10063 (**14**), hidantóilfenilpiperazinas **15** e **16**; e *dopaminérgicos e.g.* RS-97078 (**17**) (REITZ *et al.* 1994; MENSONIDES-HARSEMA *et al.*, 2000). Entre os ligantes *N*-arilpiperazínicos que atuam nos receptores α 1-AR destacam-se os antagonista *e.g.* BMY7378 (**11**), RWJ37914 (**18**), REC-15/2739 (**19**), SNAP-8719 (**20**) e SL-89,0591 (**21**) (Figura 6).

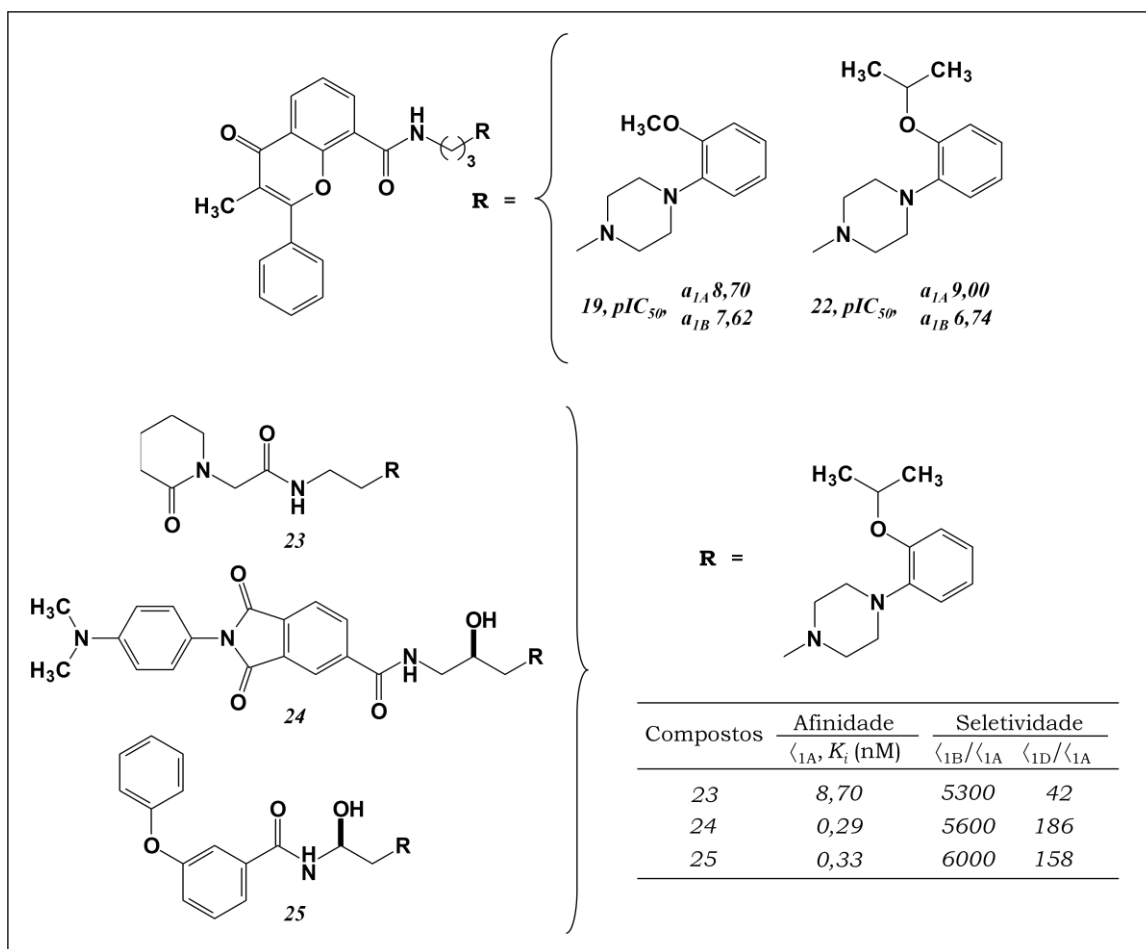
Figura 6 – Derivados *N*-fenilpiperazinas (FPZ)



Fonte: ROMEIRO, BARREIRO, FRAGA (2002)

Ainda que a subunidade 2MFPz seja considerada uma subunidade farmacofórica relevante no planejamento de ligantes α_1 -adrenérgicos, a seletividade frente aos subtipos α_{1A} , α_{1B} e α_{1D} permanece um desafio, especialmente quanto aos efeitos adversos ocasionados pelo antagonismo do subtipo α_{1B} . Neste contexto, o análogo 2-isopropóxifenilpiperazínico (**22**) do derivado REC-15/2739 (**19**) que exibiu melhor perfil de afinidade e índice de seletividade α_{1B}/α_{1A} de 180 vezes (GEORGE, 1994; KENNY *et al.*, 1997) (Figura 7), influenciou os trabalhos de KUO e colaboradores (2000), quanto a relevância da subunidade 2-isopropilóxifenilpiperazina. Desta forma o derivado **24** apresentou K_i 0,29 nM para o subtipo α_{1A} e seletividade de 5600 e 186 vezes relativa aos subtipos α_{1B} e α_{1D} , respectivamente (JOLLIFFE *et al.*, 1998, Li *et al.*, 2000) (Figura 7).

Figura 7 – Derivados 2-Isopropóxifenilpiperazínicos



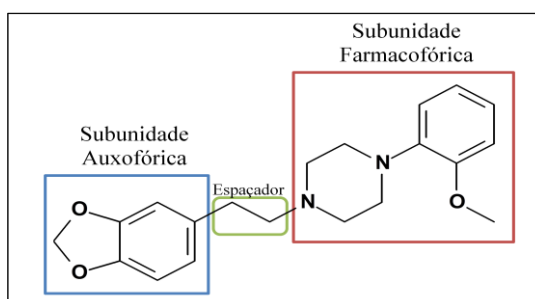
Fonte: Kuo *et al.*2000.

1.8. LASSBIO 772

No trabalho de Romeiro e colaboradores (2011) foram avaliadas dezessete moléculas comparando a influência do tamanho da cadeia do espaçador entre as subunidades auxofórica (SA) e farmacofórica (SF), bem como da presença de aceptores de ligação de hidrogênio (ALH) e anéis aromáticos não substituídos na SA bem como a contribuição estereoelétrica dos substituintes nas posições *orto* e *para* do anel fenilpiperazínico (SF). Os resultados obtidos mostraram que o tamanho do espaçador entre as subunidades SA e SF estaria otimizado em duas unidades metilênicas. Na avaliação da relevância de grupos ALH, os derivados possuidores da subunidade benzometilenodioxola (MD) como subunidade auxofórica apresentaram melhores perfis que os derivados com grupo fenila. Finalmente, na comparação entre as posições dos grupos substituintes ao anel aromático da SF foi observado que substituintes na posição *para* apresentaram diminuição do perfil de afinidade pelo receptor α_1 -adrenérgico, independentemente do grupo ligado a este anel. Esse resultado reforçou a hipótese de restrição estérica no receptor α_1 -adrenérgico que delimita o volume do ligante *para*-substituído.

Diante dos resultados obtidos na inibição da contração da aorta de coelho induzida por fenilefrina, LASSBio 772 (**26**) foi avaliado quanto à seletividade em diferentes tipos de α_1 -adrenérgicos.

Figura 8 – LASSBio 772: Subunidades farmacofórica e auxofórica.



O resultados para LASSBio 772 (**26**) confirmaram que a inserção do grupo *orto*-metoxila na fenilpiperazina induz à otimização do perfil antagonista, o qual promoveu uma drástica redução no efeito vasoconstritor, evidenciado na inibição da vasoconstrição em 89,5%, considerando concentração de fenilefrina a 500 μ M. Esta

significativa diferença de comportamento farmacológico revelou a influência do espaçador na modulação da atividade anti-adrenérgica (ROMEIRO, 2002).

Os ensaios de competição realizados com LASSBio 772 mostraram valores de K_i de 0,14 nM para o subtipo α_{1A} e 5,55 nM para α_{1B} , semelhantes à Tansulosina (**10**) com K_i 0,13 nM para α_{1A} . Em adição, **26** apresentou seletividade α_{1B}/α_{1A} de cerca de 40 vezes, a qual é apenas 15 vezes para **10** (ROMEIRO, 2011). Na avaliação da afinidade para o subtipo α_{1D} foi realizado ensaio funcional em aorta torácica de rato, cujo K_B obtido para o LASSBio 772 foi de 0,0025 nM, equipotente à tansulosina (**10**) (K_B 0,0017nM) e 120 vezes melhor que BMY73778 (**11**) (K_B 3,020 nM).

Segundo Romeiro e colaboradores (2011), ensaios *in vivo* em coelhos, visando avaliar o perfil de **26** na pressão arterial comparado à prazosina (**4**), antagonista α_1 -adrenérgico não-seletivo, mostraram que LASSBio 772 apresentou baixo perfil hipotensivo provavelmente pelo menor antagonismo do receptor α_{1B} -adrenérgico em comparação à prazosina. É relevante destacar a simplicidade estrutural de LASSBio 772, o qual não possui centro assimétrico, e portanto, de menor complexidade sintética e, principalmente, purificação associadas às substâncias quirais como a tansulosina (Flomax®, Boehringer Ingelheim) (Figura **8**).

No âmbito de uma linha de pesquisa que visa à o desenvolvimento de novos antagonistas alfa-adrenérgicos candidatos a agentes terapêuticos para o tratamento da hiperplasia benigna prostática, este trabalho visa a síntese e a avaliação farmacológica de novos derivados 2-alcóxifenilpiperazínicos visando estudar o efeito das modificações estruturais nas subunidades auxofórica e farmacofórica de LASSBio 772 frente ao perfil farmacológico e seletividade de adrenoceptores α_{1A} , α_{1B} e α_{1D} .

2. OBJETIVOS

2.1.OBJETIVO GERAL

Estudar o efeito das modificações estruturais nas subunidades auxofórica e farmacofórica de LASSBio 772 frente ao perfil farmacológico e seletividade de receptores alfa-adrenérgicos por meio da síntese de novos ligantes análogos.

2.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Compreendem os objetivos específicos:

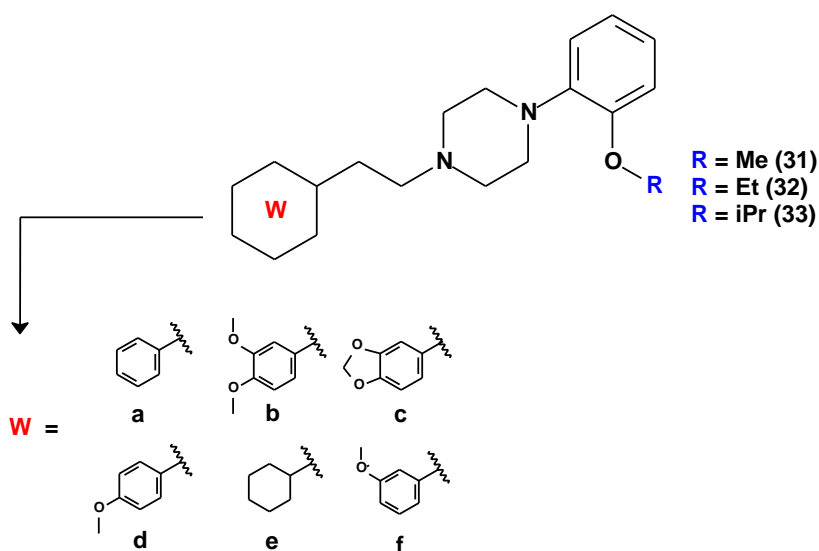
- Sintetizar e caracterizar novos derivados com modificações na subunidade auxofórica;
- Sintetizar e caracterizar novos derivados com modificações na subunidade farmacofórica;
- Avaliar os derivados-alvo frente aos receptores adrenérgicos; e
- Estabelecer relações estrutura-atividade dos novos compostos.

3. MÉTODOS

3.1. PLANEJAMENTO ESTRUTURAL

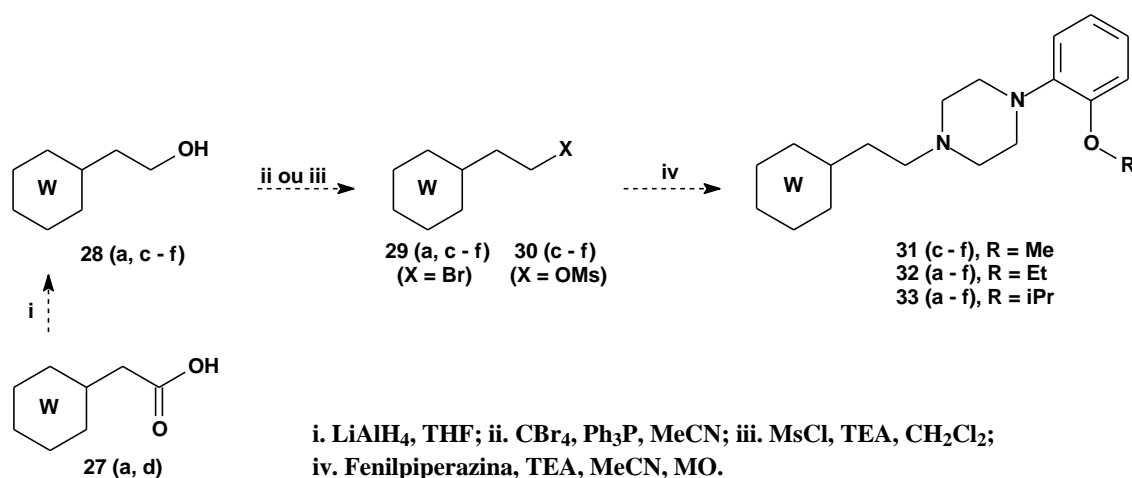
Os derivados foram planejados a partir de LASSBio 772 (**26**), representando novos padrões moleculares, explorando variações na subunidade auxofórica (**W**) e modificações estruturais no grupo alcoila (**R**) (Figura 9).

Figura 9 - Planejamento de Novos Derivados 2-Alcoxi-N-fenilpiperazínicos



3.2. PLANEJAMENTO SINTÉTICO

As metodologias sintéticas planejadas para esta proposta consideram a utilização de reações clássicas em síntese orgânica que compreendem a conversão de grupos funcionais e.g. O-alkilação, redução com hidretos metálicos, interconversão a halogenetos ou metanossulfonatos e substituição nucleofílica bimolecular sob condições experimentais de refluxo e radiação micro-ondas (Esquema 1).

Esquema 1 - Planejamento sintético para obtenção dos derivados-alvo.

A síntese dos derivados-alvo foram iniciada com a obtenção dos alcoóis a partir da redução dos ácidos 3-metóxfenilacético e ácido 3,4-metilenodioxiacético com hidreto de lítio e alumínio. Juntamente com os alcoóis comerciais, estes foram convertidos aos bromoderivados intermediários por meio da reação com tetrabrometo de carbono e trifenilfosfina. Por sua vez, os metanossulfonatos foram obtidos a partir de reação com reação com cloreto de mesila e trietilamina. Por fim, os bromoderivados ou metanossulfonatos foram submetidos à reação de substituição nucleofílica bimolecular com 2-metoxifenilpiperazina, 2-etoxifenilpiperazina e 2-Isopropoxifenilpiperazina em acetonitrila, sob radiação microondas em forno convencional, em metodologia estabelecida no LADTER, levando aos derivados-alvo. Somente as aminas 2-metoxifenilpiperazina e 2-etoxifenilpiperazina foram adquiridas de fontes comerciais. Já 2-isopropoxifenilpiperazina foi sintetizada a partir da 2-hidroxifenilpiperazina. Neste sentido, o grupo amino foi protegido pela reação com diterbutil dicarbonato (BOC), seguido de reação com o brometo de isopropila e, por último, a desproteção do grupo amino gerando a fenilpiperazina correspondente (Esquema 6).

4. PARTE EXPERIMENTAL

4.1. GENERALIDADES, MATERIAIS E MÉTODOS

Os solventes e reagentes utilizados nas reações foram previamente tratados, como descritos a seguir:

Trietilamina (TEA), acetonitrila (MeCN), diclorometano (DCM) foram tratados com hidreto de cálcio, tetraidrofurano tratado com sódio metálico, todos previamente destilados antes do uso.

As reações foram realizadas em microondas doméstico Brastemp® modelo BMK38ABHNA JetDefrost com capacidade de 38 L, potência de 900 W.

A evaporação dos solventes foi realizada à pressão reduzida, em evaporador rotatório Tecnal® TE-211, em sistemas de alto vácuo, com pressão variando entre 10 e 0,1 mmHg.

A determinação dos pontos de fusão foram realizadas em aparelho digital de ponto de fusão MQAPF 302 (Quimis)

Nas cromatografias analíticas de camada delgada (c.c.d.), foram utilizadas cromatofolhas (5,0 x 1,5 cm) de alumínio de sílica gel com espessura 250 µm, indicador fluorescence UV₂₅₄ (Silicycle®). A revelação das substâncias em c.c.d. foi feita por meio de lâmpada de ultravioleta (UV) (254-366 nm).

A purificação dos compostos deu-se por cromatografia em coluna de sílica Gel (70-230 mesh) a vácuo (flash).

A distância percorrida por cada composto em uma amostra, dividida pela frente do solvente é conhecido como o R_f (fator de retenção).

Os espectros na região do infravermelho (IV) foram obtidos por Espectrômetro de Infravermelho com Transformada de Fourier Perkin Elmer - Spectrum BX (Central Analítica – UCB), utilizando pastilhas de brometo de potássio - KBr (1% m/m). Os valores para as absorções são referidos em números de ondas, utilizando como unidade o centímetro recíproco (cm⁻¹).

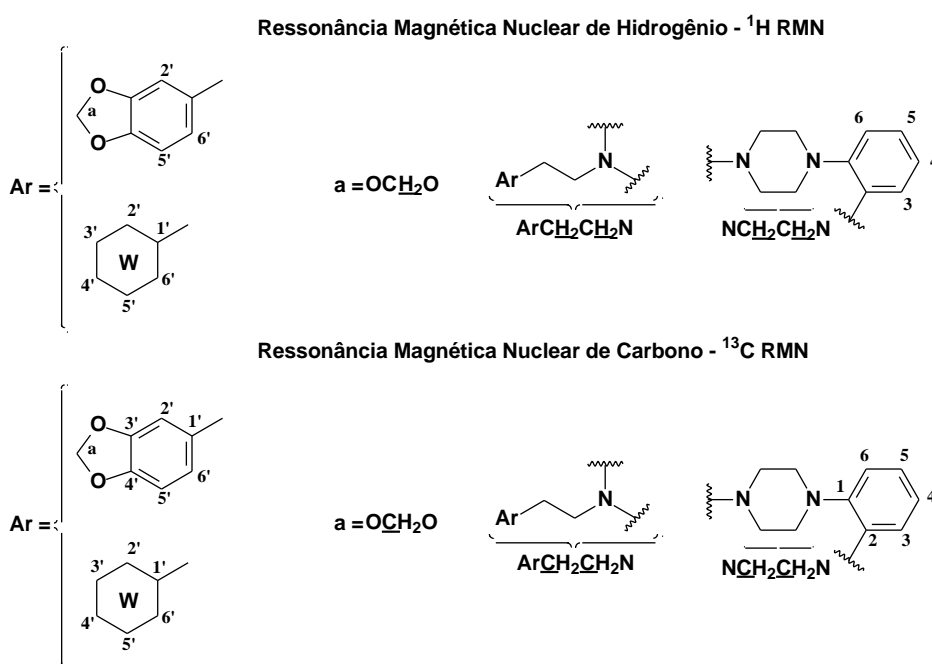
Os espectros de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) e carbono-13 (RMN ¹³C) foram obtidos a 300 MHz e 75 MHz, respectivamente, em aparelhos Varian Mercury Plus spectrometer (7.05 T) da Central Analítica da

Universidade de Brasília e Bruker Avance DRX300 do Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal do Ceará, e a 500 MHz e 125 MHz, respectivamente, em aparelho Bruker Avance DRX500 do Centro Nordestino de Aplicação e Uso da Ressonância Magnética Nuclear da Universidade Federal do Ceará. As amostras foram dissolvidas em CDCl_3 ou CD_2Cl_2 utilizando tetrametilsilano (TMS) como referência interna. Os valores de deslocamento químico (δ) são referidos em parte por milhão (ppm) em relação ao TMS em Hertz (Hz) e as constantes de acoplamento (J) em Hertz (Hz). As áreas dos sinais foram obtidas por integração eletrônica e suas multiplicidades descritas como: sinpleto (s); sinpleto largo (sl); duplete (d); duplo duplete (dd); tripleto (t), hepteto (hp) ou multiplete (m).

Análise dos espectros de RMN

Para facilitar a interpretação dos dados dos espectros de RMN, as estruturas gerais foram padronizadas como mostradas na Figura abaixo.

Figura 10 - Numeração e legendas empregadas no assinalamento de sinais em ^1H RMN e ^{13}C RMN.

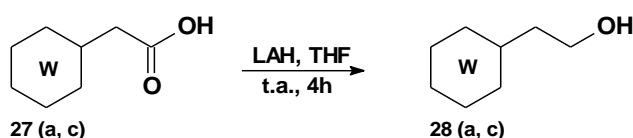


4.2. METODOLOGIA SINTÉTICA E CARACTERIZAÇÃO DOS COMPOSTOS

Obtenção dos alcoóis 28 (a, c) a partir dos ácidos carboxílicos 27 (a, c):

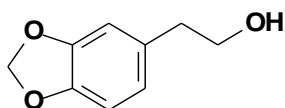
Procedimento geral

Esquema 2 - Síntese dos álcoois 13 (a, c) pela redução do ácidos carboxílicos 12 (a, c).



A um balão de 50 mL, sob banho de gelo, foram adicionados hidreto de lítio e alumínio (LAH) (3,00 eqv) e THF (20,0 mL). A este foi adicionado, gota a gota, o ácido correspondente (3,000 mmol) solubilizado em THF (10,0 mL). A mistura permaneceu sob agitação por 4 horas com evolução da temperatura à ambiente. Ao final deste tempo, o excesso de LAH foi desativado com metanol, sob banho de gelo, seguido da adição de solução de NaOH 10 % (2,0 mL) e posteriormente água destilada (5,0 mL) até formação de hidróxido de alumínio. A mistura foi acidificada com solução de HCl 10% até pH 3 e extraída com acetato de etila (3 x 15,0 mL). As fases orgânicas reunidas foram lavadas com solução saturada de cloreto de sódio (10,0 mL). Após secagem sobre sulfato de sódio anidro e evaporação do solvente à pressão reduzida, o material bruto foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica, eluída com clorofórmio e etanol fornecendo os compostos-alvo.

2-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-il)etanol (**28a**)



Rendimento: 98%

R_f = 0,5 (CHCl₃: EtOH 5%)

Líquido

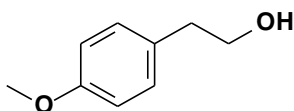
C₉H₁₀O₃

IV (Filme) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 3351 (ν_{OH}); 2883 ($\nu_{\text{as CH}_2}$); 1607, 1503, 1489 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1442 (ν_{CH_2}); 1247 ($\nu_{\text{as C-O-C}}$); 1040 ($\nu_{\text{s C-O-C}}$).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 1,62 (sl, 1H, $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 2,78 (t, 2H, $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 3,80 (t, 2H, $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 5,93 (s, 2H, OCH_2O); 6,62 (d, 1H, 6'); 6,65 (d, 1H, 2'); 6,69 (dd, 1H, 5').

RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3): δ 38,7 ($\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 63,6 ($\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 100,8 (OCH_2O); 108,2 (CH , 2'); 109,2 (CH , 5'); 121,8 (CH , 6'); 132,1 (C , 1'); 146,0 (C , 4'); 147,6 (C , 3').

2-(3-Metóxiifenil)etanol (**28c**)



Rendimento: 81%

Rf = 0,48 (CHCl_3 : EtOH 5%)

Líquido

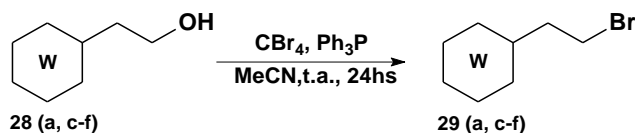
$\text{C}_9\text{H}_{12}\text{O}_2$

IV (Filme) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 3370 (ν_{OH}); 2943 ($\nu_{\text{as CH}_2}$); 2835 ($\nu_{\text{s CH}_2}$); 1584, 1488 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1434 (ν_{CH_2}); 1254 ($\nu_{\text{as C-O-C}}$); 1044 ($\nu_{\text{s C-O-C}}$).

Obtenção dos Bromoderivados **29** (a, c - f)

Procedimento Geral

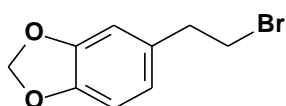
Esquema 3 - Síntese dos bromoderivados a partir do álcool correspondente.



A um balão de 25 mL foram adicionados, individualmente, os álcoois **28** (a, c-f) (1,000 mmol), trifetilfosfina (1,000 mmol) e acetonitrila (2,0 mL). A mistura permaneceu sob agitação até solubilização dos reagentes. Em seguida, a mistura foi resfriada em banho de gelo e, em pequenas porções, tetrabrometo de carbono (1,000 mmol) foi adicionado. Após a completa adição, retirou-se o banho de gelo e

cobriu-se o balão com papel alumínio, para evitar a decomposição do produto pela luz. A reação permaneceu sob agitação por 24 horas e, ao final deste tempo, o solvente foi evaporado à pressão reduzida e o material bruto purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica, eluída com hexano, diclorometano e clorofórmio, fornecendo os bromoderivados **29** (a, c-f).

5-(2-Bromoeti)[d][1,3]-benzodioxola (**29a**)



Rendimento: 76 %

R_f = 0,62 (CHCl₃: EtOH 5%)

Líquido amarelado

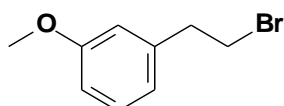
C₉H₉O₂Br

IV (Filme) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2943 ($\nu_{\text{as}} \text{ CH}_2$); 2895 ($\nu_{\text{s}} \text{ CH}_2$); 1500, 1490 ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$); 1444 (ν_{CH_2}) 1245 ($\nu_{\text{as}} \text{ C-O-C}$); 1040 ($\nu_{\text{s}} \text{ C-O-C}$).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 3,07 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, ArCH₂CH₂Br); 3,51 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H, ArCH₂CH₂Br); 5,94 (s, 2H, OCH₂O); 6,67-6,76 (m, 3H, 2', 5' e 6').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 33,3 (ArCH₂CH₂Br); 39,1 (ArCH₂CH₂Br); 101,0 (OCH₂O); 108,4 (CH, 2'); 109,0 (CH, 5'); 121,7 (CH, 6'); 132,7 (C, 1'); 146,4 (C, 4'); 147,7 (C, 3').

2-Bromoetil-3-metóxi-benzeno (**29c**)



Rendimento: 75 %

R_f = 0,68 (CHCl₃: EtOH 5%)

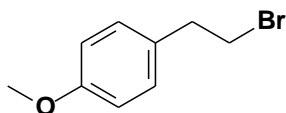
Líquido amarelado

C₉H₁₁OBr

IV (Filme) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2956 ($\nu_{\text{as}} \text{ CH}_2$); 2834 ($\nu_{\text{s}} \text{ CH}_2$); 1610,1512 ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$); 1434 (ν_{CH_2}) 1246 ($\nu_{\text{as}} \text{ C-O-C}$); 1035 ($\nu_{\text{s}} \text{ C-O-C}$).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 3,13 (t, 2H, $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{Br}$); 3,56 (t, $J = 7,2$ Hz, 2H, $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{Br}$); 3,80 (s, 3H, ArOCH_3); 6,75 (d, 1H, 2'); 6,78 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, 4'); 6,81 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, 6'); 7,20-7,30 (m, 1H, 5').

2-Bromoetil-4-metóxi-benzeno (**29d**)



Rendimento: 95 %

Rf = 0,65 (CHCl_3 : EtOH 5%)

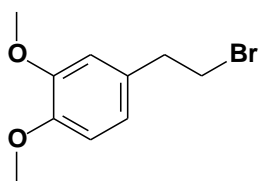
Líquido amarelado

$\text{C}_9\text{H}_{11}\text{OBr}$

IV (Filme) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2957 ($\nu_{\text{as}} \text{CH}_2$); 2834 ($\nu_{\text{s}} \text{CH}_2$); 1601, 1585 ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$); 1455 (ν_{CH_2}) 1267 ($\nu_{\text{as}} \text{C-O-C}$); 1049 ($\nu_{\text{s}} \text{C-O-C}$).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 3,09 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H, $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{Br}$); 3,53 (t, $J = 7,5$ Hz, 2H, $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{Br}$); 3,79 (s, 3H, OCH_3); 6,85 (d, 1H, $J = 6,6$ Hz, 3', 5'); 7,12 (d, 1H, $J = 6,6$ Hz, 2', 6').

2-Bromoetil-3,4-dimetóxi-benzeno (**29e**)



Rendimento: 91 %

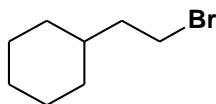
Rf = 0,67 (CHCl_3 : EtOH 5%)

Líquido amarelado

$\text{C}_{10}\text{H}_{13}\text{O}_2\text{Br}$

IV (Filme) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2937 ($\nu_{\text{as}} \text{CH}_2$); 2828 ($\nu_{\text{s}} \text{CH}_2$); 1594, 1515, 1499 ($\nu_{\text{C}=\text{C}}$); 1465 (ν_{CH_2}) 1243 ($\nu_{\text{as}} \text{C-O-C}$); 1025 ($\nu_{\text{s}} \text{C-O-C}$).

RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3): δ 3,10 (t, 2H, $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{Br}$); 3,53 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H, $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{Br}$); 3,86 (s, 3H, OCH_3); 3,88 (s, 3H, OCH_3); 6,73 (d, 1H, $J = 1,8$ Hz, 6'); 6,77-6,82 (m, 2H, 2', 5').

2-Bromoetilciclohexano (**29f**)

Rendimento: 59 %

R_f = 0,60 (CHCl₃: EtOH 5%)

Líquido amarelado

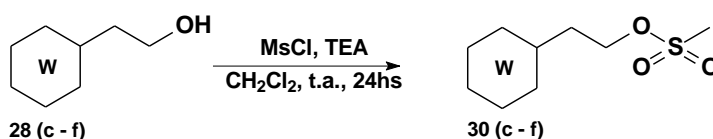
C₈H₁₅Br

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,83-1,49 (m, 11H, CyCH₂-1-6); 1,68-1,79 (m, 2H, ArCH₂CH₂Br); 3,44 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H, CyCH₂CH₂Br).

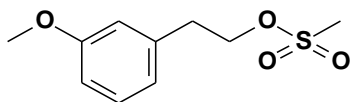
Obtenção dos Mesilatos **30** (c - f)

Procedimento Geral

Esquema 4 - Síntese dos mesilatos a partir do álcool correspondente.



A um balão de 50 mL foram adicionados, individualmente, os álcoois **28** (c-f) (2,000 mmol), trietilamina (2,000 mmol) e diclorometano (2,0 mL). A reação foi resfriada sobre banho de gelo e cloreto de mesila (1,25 eqv.) foi adicionado. A reação permaneceu sob agitação por 24 horas e, ao final deste tempo, a mistura foi extraída com diclorometano (2 x 20,0 mL). As fases orgânicas reunidas foram lavadas com solução de bicarbonato de sódio 5% (2 x 15,0 mL), solução de ácido clorídrico 10% (1 x 10,0 mL) e solução saturada de cloreto de sódio (10,0 mL). Após secagem com sulfato de sódio anidro e evaporação do solvente à pressão reduzida, o material bruto foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica, eluída com hexano e diclorometano fornecendo os compostos alvo.

Metanossulfonato de 2-(3-metóxfenil)etila (**30c**)

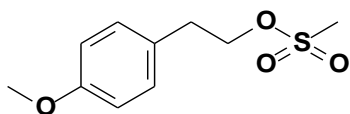
Rendimento: 89 %

Rf = 0,56 (CHCl₃: EtOH 5%)

Líquido

C₉H₁₄SO₃

IV (filme) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 3014 ($\nu_{\text{=CH}}$); 2939 ($\nu_{\text{as CH}_3}$); 2837 ($\nu_{\text{s CH}_3}$); 1602, 1585, 1489 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1353 ($\nu_{\text{as SO}_2}$); 1173 ($\nu_{\text{s SO}_2}$).

Metanossulfonato de 2-(4-metóxfenil)etila (**30d**)

Rendimento: 70 %

Rf = 0,59 (CHCl₃: EtOH 5%)

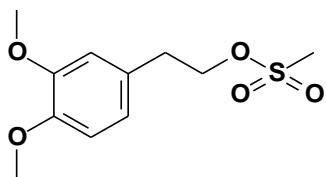
Líquido

C₉H₁₄SO₃

IV (filme) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 3012 ($\nu_{\text{=CH}}$); 2938 ($\nu_{\text{as CH}_3}$); 2837 ($\nu_{\text{s CH}_3}$); 1518, 1992 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1351 ($\nu_{\text{as SO}_2}$); 1173 ($\nu_{\text{s SO}_2}$).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 2,85 (s, 3H, ArCH₂CH₂OSO₂CH₃); 2,99 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H, ArCH₂CH₂OMs); 3,79 (s, 3H, OCH₃); 4,37 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H, ArCH₂CH₂OMs); 6,86 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, 3', 5'); 7,15 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, 2', 6').

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 34,8 (ArCH₂CH₂OMs); 37,4 (ArCH₂CH₂OSO₂CH₃); 55,3 (CH₃OAr); 70,7 (ArCH₂CH₂OMs); 128,4 (C, 4'); 114,2 (2CH, 3' e 5'); 130,1 (2CH, 2' e 6'); 158,5 (C, 1').

Metanossulfonato de 2-(3,4-dimetoxifenil)etila (**30e**)

Rendimento: 99 %

Rf = 0,65 (CHCl₃: EtOH 5%)

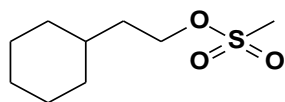
Líquido

C₁₁H₁₆SO₄

IV (filme) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 3100 ($\nu_{\text{=CH}}$); 2938 ($\nu_{\text{as CH}_3}$); 2837 ($\nu_{\text{s CH}_3}$); 1592, 1518 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1351 ($\nu_{\text{as SO}_2}$); 1173 ($\nu_{\text{s SO}_2}$).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 2,86 (s, 3H, ArCH₂CH₂OSO₂CH₃); 2,98 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H, ArCH₂CH₂OMs); 3,84 (s, 3H, OCH₃); 3,86 (s, 3H, OCH₃); 4,38 (t, $J = 6,9$ Hz, 2H, ArCH₂CH₂OMs); 6,73-6,75 (m, 1H, 6'); 6,75- 6,77 (m, 1H, 2'); 6,80-6,81 (m, 1H, 5').

RMN ¹³C (175 MHz, CDCl₃): δ 35,3 (ArCH₂CH₂OMs); 37,4 (ArCH₂CH₂OSO₂CH₃); 70,6 (ArCH₂CH₂OMs); 56,0 (2CH₃, (H₃CO)₂Ar); 111,5 (CH, 2'); 112,1 (CH, 5'); 121,1 (CH, 6'); 128,9 (C, 1'); 148,2 (C, 4'); 149,1 (C, 3').

Metanossulfonato de 2-cicloexiletila (**30f**)

Rendimento: 96 %

Rf = 0,60 (CHCl₃: EtOH 5%)

Líquido

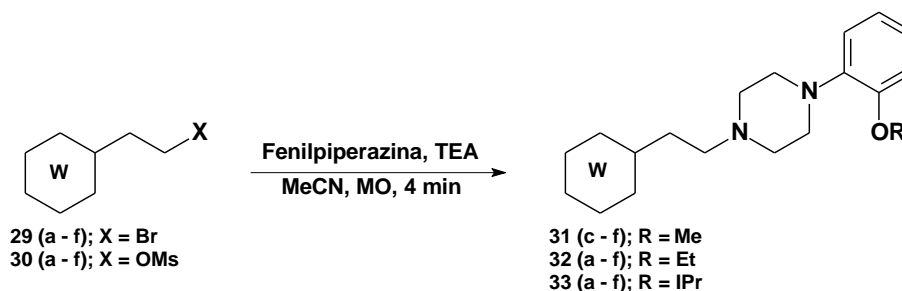
C₉H₁₈SO₂

IV (Filme) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 3026 ($\nu_{\text{=CH}}$); 2924 ($\nu_{\text{as CH}_3}$); 2852 ($\nu_{\text{s CH}_3}$); 1355 ($\nu_{\text{as SO}_2}$); 1174 ($\nu_{\text{s SO}_2}$)

Obtenção dos Derivados Fenilpiperazínicos

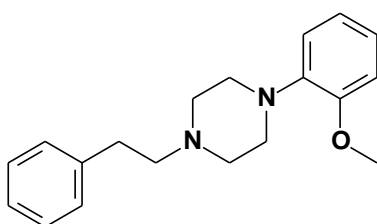
Procedimento Geral

Esquema 5 - Síntese dos derivados fenilpiperazínicos.



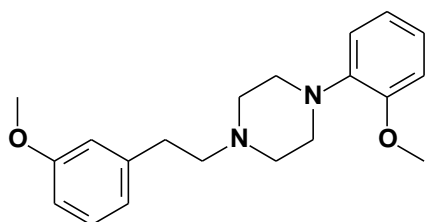
A um tubo reacional com tampa foram adicionadas, individualmente, as fenilpiperazinas correspondentes (1,25 eqv.), trietilamina (1,25 eqv.) e acetonitrila (0,3 mL). Após a solubilização, foram adicionados individualmente os bromoderivados **29** (a-f) ou mesilatos **30** (c-f). O tubo foi travado e exposto à radiação microondas, em forno convencional, durante 4 sessões de 1 minuto, à potência 5 (450 W). Ao final, o material bruto foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica, eluída com diclorometano e clorofórmio fornecendo os derivados 2-alcóxfenilpiperazínicos **31-33** (a-f).

4-fenetil-1-(2-metóxfenil)piperazina (**31b**, LDT2)



Rendimento: 93%
 R_f = 0,38 (CHCl₃: EtOH 5%)
 Líquido
 C₁₉H₂₄N₂O

IV (filme) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 2942 ($\nu_{\text{=CH}}$); 2808 ($\nu_{\text{as CH}_2}$); 1594, 1500 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1309 ($\nu_{\text{N-Ar}}$); 1240 ($\nu_{\text{as C-O-C}}$); 1026 ($\nu_{\text{sC-O-C}}$).

1-(3-Metóxfenetil)-4-(2-metóxfenil)piperazina (**31c**, LDT3)

Rendimento: 83%

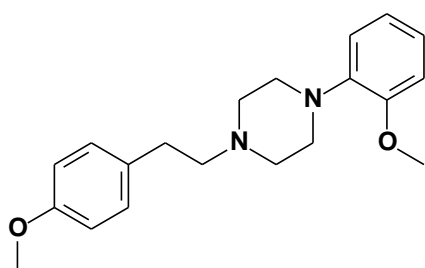
Rf = 0,38 (CHCl₃: EtOH 5%)

p.f.: 77-78°C.

C₂₀H₂₆N₂O₂

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2939 ($\nu_{\text{=CH}}$); 2814 ($\nu_{\text{as CH}_2}$); 1595, 1500 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1241 ($\nu_{\text{as C-O-C}}$); 1028 ($\nu_{\text{s C-O-C}}$).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 2,67-2,72 (m, 2H, ArCH₂CH₂N); 2,76 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 2,84- 2,88 (m, 2H, ArCH₂CH₂N); 3,15 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 3,80 (s, 3H, CH₃OAr); 3,87 (s, 3H, ArOCH₃); 6,75-6,85 (m, 2H, 2', 4'); 6,90-7,01 (m, 3H, 3, 4, 6); 7,20-7,26 (m, 3H, 5, 6', 5').

1-(4-Metóxfenetil)-4-(2-metóxfenil)piperazina (**31d**, LDT4)

Rendimento: 88%

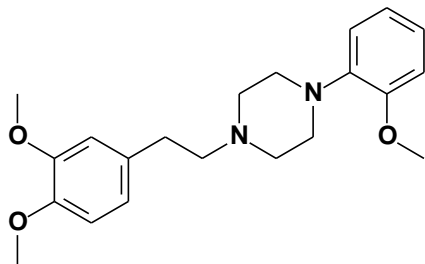
Rf = 0,40 (CHCl₃: EtOH 5%)

Líquido

C₉₀H₂₆N₂O₂

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2927 ($\nu_{\text{=CH}}$); 2827 ($\nu_{\text{as CH}_2}$); 1609, 1582, 1512 ($\nu_{\text{C=C}}$); 1304 ($\nu_{\text{N-Ar}}$); 1241 ($\nu_{\text{as C-O-C}}$); 1028 ($\nu_{\text{s C-O-C}}$).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 2,63-2,68 (m, 2H, ArCH₂CH₂N); 2,76 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 2,77-2,84 (m, 2H, ArCH₂CH₂N); 3,15 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 3,79 (s, 3H, CH₃OAr); 3,87 (s, 3H, ArOCH₃); 6,84 (d, $J = 9,0 \text{ Hz}$, 2H, 3', 5'); 6,90-7,04 (m, 4H, 6); 7,15 (d, $J = 9,0 \text{ Hz}$, 2H, 2', 6').

1-(3,4-Dimetóxiifenil)-4-(2-metóxiifenil)piperazina (**31e**, LDT5)

Rendimento: 85%

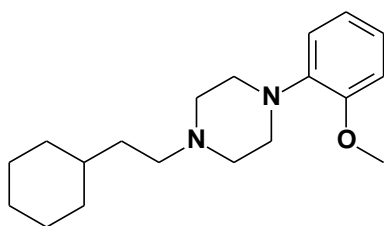
Rf = 0,45 (CHCl₃: EtOH 5%)

Líquido

C₂₁H₂₈N₂O₃

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 2,64-2,69 (m, *J* = 4,5 Hz, 2H, ArCH₂CH₂N); 2,76 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 2,78-2,84 (t, 2H, *J* = 4,2 Hz, ArCH₂CH₂N); 3,14 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 3,85 (s, 6H, CH₃OAr); 3,86 (s, 3H, ArOCH₃); 6,77 (m, 2H, 6); 6,87 (m, 2H, 2'); 6,95 (d, 1H, 3); 6,98 (m, 1H, 4, 6'); 7,00 (m, 1H, 5); 7,03 (m, 1H, 5').

RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃): δ 33,1 (ArCH₂CH₂N); 50,6 (NCH₂CH₂N); 53,4 (NCH₂CH₂N); 55,4 (OCH₃, 2); 55,8 (OCH₃, 4'); 55,9 (OCH₃, 3'); 60,7 (ArCH₂CH₂N); 111,1 (2CH, 3, 2'); 111,9 (CH, 5'); 118,1 (CH, 6); 120,5 (CH, 5); 120,9 (CH, 6'); 123,8 (CH, 4); 132,8 (C, 1'); 141,1 (C, 1); 147,3 (C, 3'); 147,8 (C, 4'); 152,2 (C, 2).

1-(2-Ciclohexiletil)-4-(2-metóxiifenil)piperazina (**31f**, LDT6)

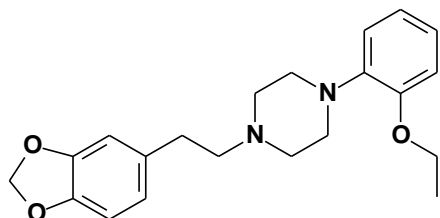
Rendimento: 90%

Rf = 0,50 (CHCl₃: EtOH 5%)

Líquido

C₁₉H₃₀N₂O

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 0,90-1,73 (m, 10H, CyCH₂; m, 1H, Cy-CH e 2H, CyCH₂CH₂N); 2,40-2,45 (m, 2H, CyCH₂CH₂N); 2,66 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 3,11 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 3,85 (s, 3H, OCH₃); 6,88-7,02 (m, 4H, 3, 4, 5, 6).

1-(2-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-il)etil)-4-(2-etóxfenil)piperazina (**32a**, LDT8)

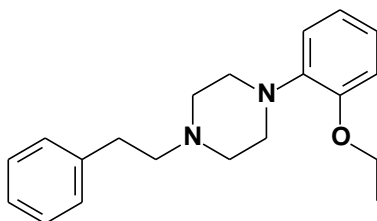
Rendimento: 93%

Rf = 0,40 (CHCl₃: EtOH 5%)

Líquido

C₂₁H₂₆N₂O₃

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1,46 (t, *J* = 6,0 Hz, 3H, ArOCH₂CH₃); 2,61-2,66 (m, 2H, ArCH₂CH₂N); 2,76-2,81 (m, 4H, NCH₂CH₂N e 2H, ArCH₂CH₂N); 3,16 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 4,07 (q, *J* = 6,0 Hz, 2H, ArOCH₂CH₃); 5,92 (s, 2H, OCH₂O); 6,66-6,76 (m, 2H, 6', 2'); 6,78-6,99 (m, 5H, 5', 3, 4, 5, 6).

1-(2-Etóxfenil)-4-fenilpiperazina (**32b**, LDT9)

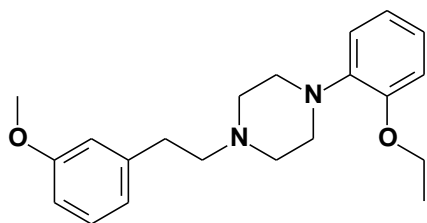
Rendimento: 93 %

Rf = 0,55 (CHCl₃: EtOH 5%)

Líquido

C₂₀H₂₆N₂O

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1,47 (t, *J* = 6,0 Hz, 3H, ArOCH₂CH₃); 2,67-2,73 (m, 2H, ArCH₂CH₂N); 2,77 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 2,86-2,91 (m, 2H, ArCH₂CH₂N); 3,19 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 4,08 (q, *J* = 6,0 Hz, 2H, ArOCH₂CH₃); 6,85-6,90 (m, 2H, 3, 6); 6,95-6,99 (m, 2H, 4, 5); 7,19-7,23 (m, 2H, 2', 6'); 7,30-7,34 (m, 3H, 3', 4', 5').

4-(2-Etóxifenil)-1-(3-metóxifenetil)piperazina (**32c**, LDT243)

Rendimento: 68 %

Rf = 0,40 (CHCl₃: EtOH 5%),

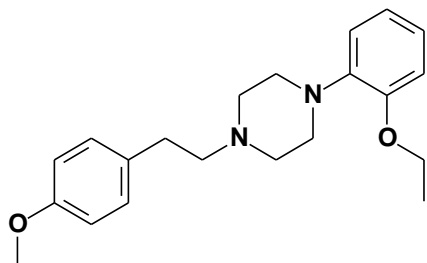
p.f. 58,6° - 59,7°C

C₂₁H₂₈N₂O₂

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2943 ($\nu_{\text{=CH}}$); 2813 ($\nu_{\text{s CH}_2}$); 1592, 1495, 1452 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1310 ($\nu_{\text{Ar-N}}$); 1238 ($\nu_{\text{C-O-C}}$); 1026 ($\nu_{\text{s C-O-C}}$).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 1,47 (t, $J = 6,9$ Hz, 3H, ArOCH₂CH₃); 2,73-2,94 (m, 8H, ArCH₂CH₂N, NCH₂CH₂N, ArCH₂CH₂N); 3,22 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 3,81 (s, 3H, OCH₃); 4,08 (q, $J = 6,9$ Hz, 2H, ArOCH₂CH₃); 6,77 (dd, $J = 8,1$ Hz, $J = 2,4$ Hz, 1H, 4'); 6,81-6,87 (m, 3H, 2', 6', 6); 6,91-6,97 (m, 3H, 3, 4, 5); 7,23 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H, 5').

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 15,1 (ArOCH₂CH₃); 33,3 (ArCH₂CH₂N); 50,3 (NCH₂CH₂N); 53,5 (NCH₂CH₂N); 55,3 (OCH₃, 3'); 60,5 (ArCH₂CH₂N); 63,7 (ArOCH₂CH₃); 111,7 (CH, 4'); 112,7 (CH, 3); 114,7 (CH, 2'); 118,3 (CH, 6); 121,2 (CH, 5); 121,3 (CH, 6'); 123,0 (CH, 4); 129,6 (CH, 5'); 141,2 (C, 1'); 141,5 (C, 1); 151,7 (C, 2), 159,9 (C, 3').

4-(2-Etóxifenil)-1-(4-Metóxifenetil)piperazina (**32d**, LDT244)

Rendimento: 84%

Rf = 0,40 (CHCl₃: EtOH 5%)

p.f. 49,7° - 48,3° C

C₂₁H₂₈N₂O₂

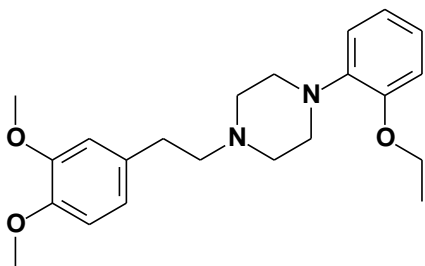
IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2973 ($\nu_{\text{as CH}_2}$); 2947 ($\nu_{\text{=CH}}$); 2814 ($\nu_{\text{s CH}_2}$); 1609, 1589, 1512 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1307 ($\nu_{\text{Ar-N}}$); 1245 ($\nu_{\text{C-O-C}}$); 1044 ($\nu_{\text{s C-O-C}}$).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 1,47 (t, $J = 6,8$ Hz, 3H, ArOCH₂CH₃); 2,67-2,70 (m, 2H, ArCH₂CH₂N); 2,79 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 2,83-2,86 (m, 2H, ArCH₂CH₂N); 3,20 (sl, 4H,

NCH₂CH₂N); 3,80 (s, 3H, OCH₃); 4,08 (q, $J = 6,8$ Hz, 2H, ArOCH₂CH₃); 6,85-6,86 (m, 3H, 3', 5', 6); 6,91-6,99 (m, 3H, 3, 4, 5); 7,16 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H, 2', 6').

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 15,1 (ArOCH₂CH₃); 32,6 (ArCH₂CH₂N); 50,5 (NCH₂CH₂N); 53,5 (NCH₂CH₂N); 55,4 (OCH₃, 4'); 60,9 (ArCH₂CH₂N); 63,7 (ArOCH₂CH₃); 112,6 (CH, 3); 114,0 (2CH, 3', 5'); 118,3 (CH, 6); 121,1 (CH, 5); 122,9 (CH, 4); 129,8 (2CH, 2', 6'); 132,3 (C, 1'); 141,4 (C, 1); 151,7 (C, 2); 158,1 (C, 4').

4-(2-Etóxifenil)-1-(3,4-dimetóxifenetil)piperazina (**32e**, LDT245)



Rendimento: 69%

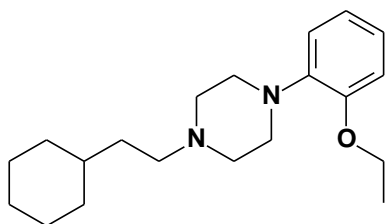
R_f = 0,40 (CHCl₃: EtOH 5%)

Líquido

C₂₂H₃₀N₂O₃

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 1,48 (t, 3H, $J = 6,93$ Hz, ArOCH₂CH₃); 2,68-2,73 (m, 2H, ArCH₂CH₂N); 2,77 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 2,82-2,89 (m, 2H, ArCH₂CH₂N); 3,19 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 3,81 (s, 3H, OCH₃); 3,81 (s, 3H, OCH₃); 4,09 (q, $J = 6,90$ Hz, 2H, ArOCH₂CH₃); 6,75-6,83 (m, 3H, 3', 5', 6); 6,83-6,92 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H, 6'); 6,92-6,99 (m, 3H, 3, 4, 5).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 15,0 (ArOCH₂CH₃); 33,7 (ArCH₂CH₂N); 50,6 (NCH₂CH₂N); 53,6 (NCH₂CH₂N); 55,2 (OCH₃, 3'); 55,2 (OCH₃, 4'); 60,5 (ArCH₂CH₂N); 63,7 (ArOCH₂CH₃); 111,4 (CH, 3); 112,7 (CH, 5'); 114,6 (CH, 2'); 118,3 (CH, 6); 1201,1 (CH, 6'); 121,2 (CH, 5); 122,8 (CH, 4); 129,5 (C, 1); 141,5 (C, 1); 142,0 (C, 4'); 151,7 (C, 3'); 159,8 (C, 2).

1-(2-Ciclohexiletil)-4-(2-etóxfenil)piperazina (**32f**, LDT450)

Rendimento: 88%

Rf = 0,40 (CHCl₃: EtOH 5%)

Líquido incolor

C₂₀H₃₂N₂O

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2975 ($\nu_{\text{=CH}}$); 2922 ($\nu_{\text{as CH}_2}$); 2850 ($\nu_{\text{s CH}_2}$); 1595, 1500 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1303 ($\nu_{\text{N-C}}$); 1239 ($\nu_{\text{C-O-C}}$); 1045 ($\nu_{\text{asC-O-C}}$).

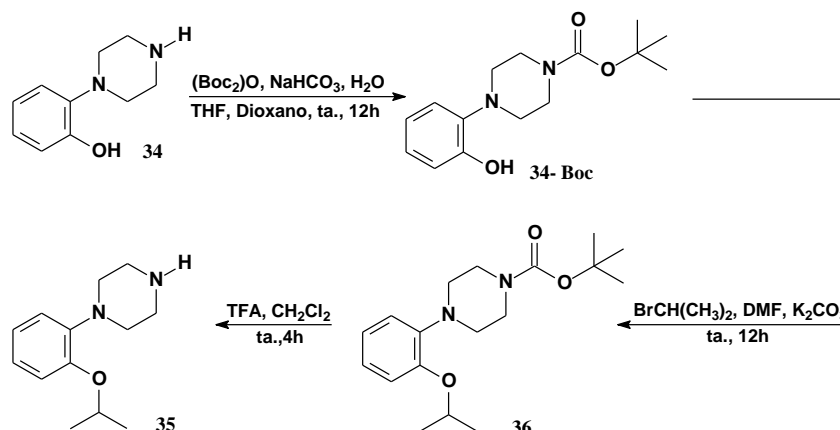
RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 1,14-1,30 (m, 6H, CyCH₂-1-6 e 1H, CyCH₂CH₂N); 1,43-1,63 (m, 3H, ArOCH₂CH₃); 1,66-1,73 (m, 6H, CyCH₂-1-6 e 1H, CyCH₂CH₂N); 2,43-2,46 (m, 2H, ArCH₂CH₂N); 2,66 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 3,15 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 4,06 (q, $J = 6,9$ Hz, 2H, ArOCH₂CH₃); 6,83-6,85 (m, 1H, 6); 6,88-6,97 (m, 3H, 3, 4, 5).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 15,1 (ArOCH₂CH₃); 26,5 (2CH₂, CyCH₂-3 e CH₂-C-5); 26,7 (CH₂, CyCH-4); 33,6 (2CH₂, CyCH₂-2 e CH₂-C-6); 34,5 (ArCH₂CH₂N); 36,5 (CyCH-1); 50,6 (NCH₂CH₂N); 53,7 (NCH₂CH₂N); 56,9 (ArCH₂CH₂N); 63,7 (ArOCH₂CH₃); 112,7 (CH, 3); 118,8 (CH, 6); 121,6 (CH, 5); 122,9 (CH, 4); 141,6 (C, 1); 151,7 (C, 2).

Obtenção do intermediário 2-Isopropoxifenilpiperazínico

Procedimento Geral

Esquema 6 - Síntese da 2-Isopropoxifenilpiperazina.



Síntese do intermediário 34-Boc

A um balão foram adicionadas a 2-hidroxifenilpiperazina (7,880 mmol), diterbutil dicarbonato (1,20 eqv.), bicarbonato de sódio (1,39 eqv.), água (25,0 mL), Tetrahidrofurano (25,0 mL) e dioxano (25,0 mL). A reação permaneceu sob agitação por 12 horas, ao final deste tempo, a mistura foi neutralizada com HCl 10%, extraída com diclorometano (2 x 20,0 mL). As fases orgânicas reunidas foram lavadas com solução saturada de cloreto de sódio (10,0 mL). Após secagem com sulfato de sódio anidro e evaporação do solvente à pressão reduzida, o material bruto foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica, eluída com diclorometano e clorofórmio fornecendo o derivado-alvo.

Síntese do intermediário 35

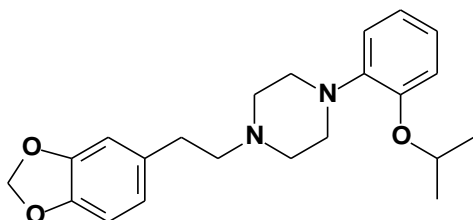
O produto foi adicionado a um balão de 100 mL e reagido brometo de isopropila (1,20 eqv.), carbonato de potássio (2,400 mmol) e N,N-dimetilformamida (15,0 mL), em refluxo sob banho de óleo a 60°C por 24h. Ao final deste tempo, a mistura depois de fria foi extraída com acetato de sódio (2 x 20,0 mL), água (2x20,0 mL), solução de bicarbonato de sódio 5%. As fases orgânicas reunidas foram lavadas com solução saturada de cloreto de sódio (10,0 mL). Após secagem com sulfato de sódio anidro e evaporação do solvente à pressão reduzida, o material bruto foi purificado por

cromatografia em coluna de gel de sílica, eluída com diclorometano e clorofórmio fornecendo os compostos alvo.

Síntese do intermediário 36

A desproteção do grupo amino do anel piperazínico ocorreu reagindo o produto da reação anterior com ácido trifluoro acético (17,50 eqv.) em diclorometano (8,0 mL) em agitação a temperatura ambiente por 4 horas. Ao final deste tempo, a reação foi basificada a pH 14 com bicarbonato de sódio e extraída com diclorometano (2 x 20,0 mL) e lavada com solução saturada de cloreto de sódio (10,0 mL). Após secagem com sulfato de sódio anidro e evaporação do solvente à pressão reduzida, o material bruto foi purificado por cromatografia em coluna de gel de sílica, eluída com diclorometano e clorofórmio fornecendo os compostos alvo.

1-(2-(Benzo[d][1,3]dioxol-5-il)etil)-4-(2-isopropóxifenil)piperazina (**33a**, LDT451)



Rendimento: 80%

R_f = 0,43 (CHCl₃: EtOH 5%),

p.f. 59,4° - 60,8° C

C₂₂H₂₈N₂

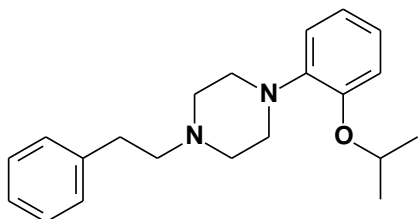
IV (KBr) $\nu_{\text{máx}}$ cm⁻¹: 2941 ($\nu_{\text{=CH}}$); 2974 ($\nu_{\text{as CH}_2}$); 2816 ($\nu_{\text{s CH}_2}$); 1595, 1492, 1438 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1382, 1371 ($\nu_{\text{(CH}_3)_2\text{CH}}$); 1311 ($\nu_{\text{N-C}}$); 1238 ($\nu_{\text{C-O-C}}$); 1122 ($\nu_{\text{ArN-C}}$); 1008 ($\nu_{\text{sC-O-C}}$).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 1,37 (d, $J = 6,0$ Hz, 6H, ArOCH(CH₃)₂); 2,62-2,68 (m, 2H, ArCH₂CH₂N, 4H, NCH₂CH₂N e 2H, ArCH₂CH₂N); 3,17 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 4,61 (hp, $J = 6,0$ Hz, 1H, ArOCH(CH₃)₂); 5,92 (s, 2H, OCH₂O); 6,67-6,70 (m, 1H, 6'); 6,67-6,77 (m, 2H, 2', 5'); 6,84-6,91 (m, 1H, 6); 6,92-6,98 (m, 3H, 3, 4, 5).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 22,5 (ArOCH(CH₃)₂); 33,4 (ArCH₂CH₂N); 50,5 (NCH₂CH₂N); 53,7 (NCH₂CH₂N); 60,9 (ArCH₂CH₂N); 70,4 (ArOCH(CH₃)₂); 100,9 (OCH₂O); 108,2 (CH, 2'); 109,3 (CH, 5'); 116,4 (CH, 3); 118,7 (CH, 6); 121,6 (2CH, 5,

6'); 122,6 (CH, 4); 134,0 (C, 1'); 142,9 (C, 1); 145,9 (C, 4'); 147,7 (C, 3'); 150,6 (C, 2).

4-Fenetil-1-(2-isopropóxifenil)-piperazina (**33b**, LDT452)



Rendimento: 82%

Rf = 0,38 (CHCl₃: EtOH 5%)

p.f.: 67,2° - 68,3° C

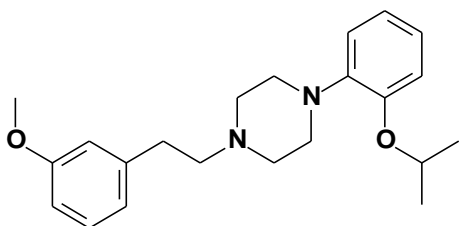
C₂₁H₂₈N₂O

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2943 ($\nu_{\text{=CH}}$); 2975 ($\nu_{\text{as CH}_2}$); 2811 ($\nu_{\text{s CH}_2}$); 1592, 1495, 1452 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1382, 1371 ($\nu_{\text{(CH}_3)_2\text{CH}}$); 1311 ($\nu_{\text{N-C}}$); 1237 ($\nu_{\text{C-O-C}}$); 1128 ($\nu_{\text{ArN-C}}$); 1040 ($\nu_{\text{sC-O-C}}$)

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 1,38 (d, $J = 10,0$ Hz, 6H, ArOCH(CH₃)₂); 2,68-2,75 (m, 2H, ArCH₂CH₂N e 4H, NCH₂CH₂N); 2,85-2,98 (m, 2H, ArCH₂CH₂N); 3,19 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 4,62 (hp, $J = 10,0$ Hz, 1H, ArOCH(CH₃)₂); 6,88-6,90 (m, 1H, 6); 6,89-6,98 (m, 3H, 3, 4, 5); 7,20-7,34 (m, 5H, 2', 3', 4', 5', 6').

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 22,4 (ArOCH(CH₃)₂); 33,7 (ArCH₂CH₂N); 50,5 (NCH₂CH₂NAr); 53,7 (NCH₂CH₂NAr); 60,7 (ArCH₂CH₂N); 70,4 (ArOCH(CH₃)₂); 116,3 (CH, 3); 118,6 (CH, 6); 121,6 (CH, 5); 122,7 (CH, 4); 126,2 (C, 4'); 128,6 (2CH, 3', 5'); 128,9 (2CH, 2', 6'); 140,0 (C, 1'); 142,3 (C, 1); 150,5 (C, 2).

4-(2-Isopropóxifenil)-1-(3-metóxi-fenetil)piperazina (**33c**, LDT453)



Rendimento: 40%

Rf = 0,42 (CHCl₃: EtOH 5%)

p.f.: 57,4° - 57,7° C

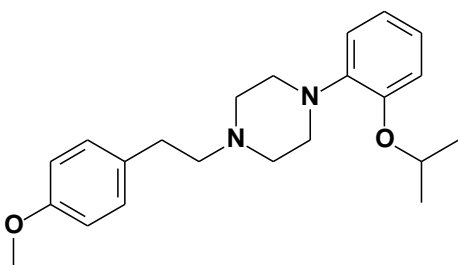
C₂₂H₃₀N₂O₂

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2944 ($\nu_{\text{=CH}}$); 2809 ($\nu_{\text{s CH}_2}$); 1583, 1492, 1444 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1370 ($\nu_{\text{(CH}_3)_2\text{CH}}$); 1311 ($\nu_{\text{N-C}}$); 1236 ($\nu_{\text{C-O-C}}$); 1125 ($\nu_{\text{ArN-C}}$); 1054 ($\nu_{\text{sC-O-C}}$).

RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 1,37 (d, $J = 6,0$ Hz, 6H, $\text{ArOCH}(\text{CH}_3)_2$); 2,71-2,75 (m, 2H, $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 2,78 (sl, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 2,87-2,91 (m, 2H, $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 3,20 (sl, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 3,81 (s, 3H, OCH_3); 4,61 (hp, $J = 6,0$ Hz, 1H, $\text{ArOCH}(\text{CH}_3)_2$); 6,77 (dd, $J = 8,1$ Hz, $J = 2,0$ Hz, 1H, 4'); 6,81 (sl, 1H, 2'); 6,84 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H, 6'); 6,88 (d, $J = 7,2$ Hz, 1H, 6); 6,91-6,97 (m, 3H, 3, 4, 5); 7,23 (t, $J = 7,8$ Hz, 1H, 5').

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 22,5 ($\text{ArOCH}(\text{CH}_3)_2$); 33,5 ($\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 50,3 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 53,6 ($\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 55,3 (OCH_3 , 3'); 60,5 ($\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 70,4 ($\text{ArOCH}(\text{CH}_3)_2$); 111,6 (CH , 4'); 114,7 (CH , 2'); 116,1 (CH , 3); 118,7 (CH , 6); 121,3 (CH , 5); 121,6 (CH , 6'); 122,7 (CH , 4); 129,6 (CH , 5'); 142,0 (C , 1'); 143,0 (C , 1); 150,5 (C , 2), 159,9 (C , 3').

4-(2-isopropóxiifenil)-1-(4-Metóxiifenetil)piperazina (**33d**, LDT454)



Rendimento: 52%

Rf = 0,42 (CHCl_3 : EtOH 5%)

Líquido amarelo

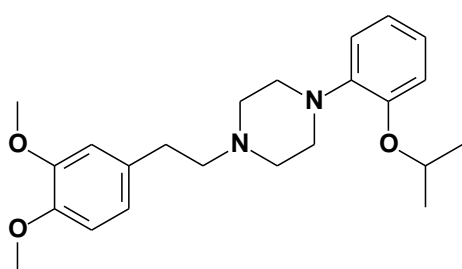
$\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_2$

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2936 ($\nu_{\text{=CH}}$); 2973 ($\nu_{\text{as CH}_2}$); 2812 ($\nu_{\text{s CH}_2}$); 1610, 1595, 1512, 1496 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1372 ($\nu_{\text{(CH}_3)_2\text{CH}}$); 1300 ($\nu_{\text{N-C}}$); 1239 ($\nu_{\text{C-O-C}}$); 1134 ($\nu_{\text{ArN-C}}$); 1039 ($\nu_{\text{sC-O-C}}$).

RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 1,37 (d, $J = 6,0$ Hz, 6H, $\text{ArOCH}(\text{CH}_3)_2$); 2,66-2,69 (m, 2H, $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 2,76 (sl, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 2,82-2,86 (m, 2H, $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 3,19 (sl, 4H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{N}$); 3,80 (s, 3H, OCH_3); 4,62 (hp, $J = 6,0$ Hz, 1H, $\text{ArOCH}(\text{CH}_3)_2$); 6,85-6,89 (m, 3H, $J = 8,4$ Hz, 3', 5', 6); 6,94-6,95 (m, 3H, 3, 4, 5); 7,16 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H, 2', 6').

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 22,5 ($\text{ArOCH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$); 33,7 ($\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{N}$); 50,5 ($\text{N}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{N}$); 53,7 ($\text{NCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{N}$); 55,4 ($\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$, 4'); 60,9 ($\text{ArCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{N}$); 70,5 ($\text{ArO}\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2$); 114,1 ($2\underline{\text{C}}\text{H}$, 3', 5'); 116,4 ($\underline{\text{C}}\text{H}$, 3); 118,7 ($\underline{\text{C}}\text{H}$, 6); 121,7 ($\underline{\text{C}}\text{H}$, 5); 122,7 ($\underline{\text{C}}\text{H}$, 4); 129,8 ($2\underline{\text{C}}\text{H}$, 2', 6'); 132,4 ($\underline{\text{C}}$, 1'); 142,9 ($\underline{\text{C}}$, 1); 150,6 ($\underline{\text{C}}$, 2), 158,2 ($\underline{\text{C}}$, 4').

4-(2-Isopropóxifenil)-1-(3,4-dimetóxifenetil)piperazina (**33e**, LDT455)



Rendimento: 55%

Rf = 0,45 (CHCl_3 : EtOH 5%)

Líquido

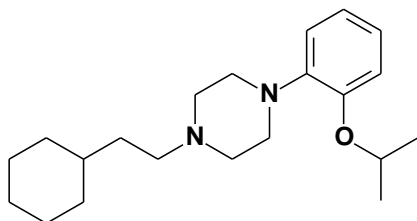
$\text{C}_{23}\text{H}_{32}\text{N}_2\text{O}_3$

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2936 ($\nu_{\text{=CH}}$); 2972 ($\nu_{\text{as CH}_2}$); 2812 ($\nu_{\text{s CH}_2}$); 1592, 1516, 1497 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1354, 1372 ($\nu_{(\text{CH}_3)_2\text{CH}}$); 1237 ($\nu_{\text{C-O-C}}$); 1141 ($\nu_{\text{ArN-C}}$); 1030 ($\nu_{\text{SC-O-C}}$).

RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3): δ 1,36 (d, $J = 6,0$ Hz, 6H, $\text{ArOCH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$); 2,68-2,71 (m, 2H, $\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{N}$); 2,76 (sl, 4H, $\text{NCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{N}$); 2,82-2,87 (m, 2H, $\text{ArCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{N}$); 3,19 (sl, 4H, $\text{NCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{N}$); 3,86 (s, 3H, $\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 3,88 (s, 3H, $\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$); 4,60 (hp, $J = 6,0$ Hz, 1H, $\text{ArO}\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2$); 6,77-6,82 (m, 3H, 2', 5', 6); 6,86-6,88 (m, 1H, 6'); 6,93-6,95 (m, 3H, 3, 4, 5).

RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3): δ 22,5 ($\text{ArOCH}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_2$); 33,2 ($\text{Ar}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{N}$); 50,4 ($\text{N}\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{CH}_2\text{N}$); 53,7 ($\text{NCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{N}$); 56,0 ($\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$, 4'); 56,1 ($\text{O}\underline{\text{C}}\text{H}_3$, 3'); 60,9 ($\text{ArCH}_2\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{N}$); 70,5 ($\text{ArO}\underline{\text{C}}\text{H}(\text{CH}_3)_2$); 111,6 ($\underline{\text{C}}\text{H}$, 5'); 112,4 ($\underline{\text{C}}\text{H}$, 2'); 116,4 ($\underline{\text{C}}\text{H}$, 3); 118,7 ($\underline{\text{C}}\text{H}$, 6); 120,7 ($\underline{\text{C}}\text{H}$, 6'); 121,7 ($\underline{\text{C}}\text{H}$, 5); 122,7 ($\underline{\text{C}}\text{H}$, 4); 132,9 ($\underline{\text{C}}$, 1'); 142,9 ($\underline{\text{C}}$, 1); 147,5 ($\underline{\text{C}}$, 4'); 149,0 ($\underline{\text{C}}$, 3); 151,7 ($\underline{\text{C}}$, 2).

1-(2-Ciclohexiletil)-4-(2-isopropóxifenil)piperazina (**33f**, LDT456)



Rendimento: 50%

Rf = 0,40 (CHCl₃: EtOH 5%)

Líquido incolor

C₂₁H₃₄N₂

IV (KBr) $\nu_{\text{máx}} \text{ cm}^{-1}$: 2973 ($\nu_{\text{=CH}}$); 2922 ($\nu_{\text{as CH}_2}$); 2850 ($\nu_{\text{s CH}_2}$); 1595, 1496, 1448 ($\nu_{\text{C=C}}$), 1381 ($\nu_{\text{(CH}_3)_2\text{CH}}$); 1303 ($\nu_{\text{N-C}}$); 1237 ($\nu_{\text{C-O-C}}$); 1128 ($\nu_{\text{ArN-C}}$); 1055 ($\nu_{\text{sC-O-C}}$).

RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃): δ 0,91-1,31 (m, 6H, CyCH₂-1-6 e 1H, CyCH₂CH₂N); 1,35 (d, $J = 6,0$ Hz, 6H, ArOCH(CH₃)₂); 1,50-1,73 (m, 6H, CyCH₂-1-6 e 1H, CyCH₂CH₂N); 2,57-2,60 (m, 2H, ArCH₂CH₂N); 2,80 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 3,22 (sl, 4H, NCH₂CH₂N); 4,59 (hp, $J = 6,0$ Hz, 1H, ArOCH(CH₃)₂); 6,85-6,87 (m, 1H, 6); 6,90-6,92 (m, 2H, 3, 5); 6,93-6,96 (m, 1H, 4).

RMN ¹³C (125 MHz, CDCl₃): δ 22,5 (ArOCH(CH₃)₂); 26,4 (CyCH₂-3 e CH₂-C-5, 2CH₂); 26,7 (CyCH-4, CH₂); 33,5 (ArCH₂CH₂N); 33,6 (CyCH₂-2 e CH₂-C-6, 2CH₂); 36,4 (CyCH-1); 49,8 (NCH₂CH₂N); 53,1 (NCH₂CH₂N); 56,7 (ArCH₂CH₂N); 70,5 (ArOCH(CH₃)₂); 115,9 (CH, 3); 118,8 (CH, 6); 121,6 (CH, 5); 122,9 (CH, 4); 141,0 (C, 1); 150,5 (C, 2).

4.3. AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA

Os ensaios de competição (*binding*) e funcionais foram realizados no Laboratório de Farmacologia Bioquímica e Molecular do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal do Rio de Janeiro (NASCIMENTO, 2011)

Obtenção dos órgãos

Todos os protocolos foram previamente aprovados pelo comitê de ética da UFRJ (CEUA; protocolo: DFBCICB011).

Ratos Wistar machos de 2,5 – 3 meses foram eutanasiados por decapitação após serem anestesiados em câmara saturada com éter. Coelhos albinos machos (2,5 – 3 kg) foram eutanasiados por exsanguinação após serem anestesiados com pentobarbital intravenoso (40 mg/kg).

Radioligantes e fármacos utilizados

O radioligante [³H]-prazosina (atividade específica 85 Ci/mmol) foi adquiridos da PerkinElmer, EUA. O cloridrato de prazosina, bitartarato de adrenalina, cloridrato de (*R*)-(-)-fenilefrina cloridrato e dicloridrato de BMY7378 (**11**) foram adquiridos da SIGMA, EUA.

Preparação membranar

Seguindo o protocolo previamente descrito na literatura foram obtidas preparações membranares de homogeneizado de fígado de coelho. Tais preparações membranares são enriquecidas no subtipo α_{1A} de adrenoceptores. O tecido obtido como descrito anteriormente (\approx 30 g) foi descongelado naturalmente, imerso em solução de descongelamento (sacarose 0,25 M, EGTA 1 mM e Tris 5 mM (pH 7,4)) gelada. Em seguida, o tecido foi transferido para uma placa de petri sobre gelo, contendo solução para homogeneização de fígado (EDTA 2 mM, NaCl 100 mM e Tris 50 mM (pH 7,4)) gelada. O fígado foi então cuidadosamente picotado desprezando-se a parte mais fibrosa.

O tecido foi homogeneizado, com auxílio de Ultra-Turrax (velocidade 24000 RPM), em solução tampão em proporção 6:1, por três vezes durante 20 segundos com intervalo de repouso por 1 minuto em gelo. Posteriormente o homogeneizado foi submetido à centrifugação de 10000 x g, por 10 minutos à 4°C, gerando sobrenadante que foi submetido à ultracentrifugação de 80000 x g, por 40 minutos à 4°C, obtendo-se um *pellet*. Este *pellet* foi ressuspensão em solução tampão isenta de NaCl (EDTA 1 mM e Tris 50 mM (pH 7,4)) e submetido a nova ultracentrifugação nas mesmas condições anteriores. O *pellet* obtido nesta etapa foi ressuspensão em solução de armazenamento (sacarose 0,25 M, EGTA 1 mM e Tris 5 mM (pH 7,4)) com o auxílio de homogeneizador manual do tipo Dounce e estocado em alíquotas de 300 µL em nitrogênio líquido. Em todos os protocolos de preparações membranares a dosagem de proteína foi realizada de acordo com o método de LOWRY e cols. (1951).

Ensaio de Binding da [³H]-prazosina aos adrenoceptores α_{1A}

Nos ensaios de saturação foi medida a ligação da [³H]-prazosina aos adrenoceptores-α_{1A} nativos na ausência e presença de diferentes concentrações de prazosina não radioativa (10⁻¹⁰ - 10⁻⁷ M). Para ensaios de competição, tubos de ensaio contendo 350 µL de solução intermediária ([³H]-prazosina 0,16 nM, EDTA 1,6 mM, Tris 50 mM (pH 7,4 a 25°C), são adicionados 50 µL de diferentes concentrações dos derivados **31 (b-f)** (concentração final 10⁻⁹ - 10⁻⁴ M), ou 50 µL de água (veículo para a diluição dos derivados **31 (b-f)**), para a determinação da ligação total, ou 50 µL de prazosina não radioativa a 10 µM (final 1 µM) para a determinação da ligação não-específica, além de 200 µg das preparações membranares de fígado de coelho (α_{1A}), contidos em 50 µL de suspensão completando volume final de 500 µL. Os ensaios foram realizados em triplicata.

Em ambos os ensaios as preparações membranares foram incubadas a 30°C por 45 minutos. Após o período de incubação, a reação foi parada pela adição de 4 mL de solução de lavagem gelada (Tris-HCl 50 mM, pH 7,4), seguida por filtração rápida à vácuo em filtros de fibra de vidro (GMF 3, Filtrak®). Os filtros foram lavados quatro vezes com 4 mL da mesma solução sob vácuo para remover todo radioligante livre. Em seguida os filtros foram secos e acondicionados em *vials* contendo 5 mL de líquido de cintilação (PPO 4%, POPOP 0,1% p/V em tolueno). A

radioatividade retida nos filtros foi então determinada em contador de cintilação líquida (Packard Tri-Carb 1600 TR).

A ligação específica da [³H]-prazosina aos adrenoceptores- α_{1A} foi definida como a diferença entre a ligação total e a ligação não-específica. Os dados obtidos pelo ensaio de saturação nos permitiram obter os parâmetros K_d (constante de dissociação), a qual representa a concentração de radioligante necessária para ocupar 50% dos sítios receptores, e B_{max} , densidade máxima dos sítios de ligação, os quais foram calculados por regressão não-linear. Os valores crescentes de *bound* foram calculados indiretamente através do valor de *bound* obtido na concentração do radioligante (fmol/mg proteína) o qual foi multiplicado por um fator de diluição (FD) do radioligante (ex: [³H]-prazosina) decorrente da adição do ligante não radioativo (ex: prazosina), em processo conhecido como diluição isotópica. Este procedimento visa obter uma curva de saturação com menor gasto de substância radioativa e de material biológico. Já ensaios de competição nos permitem construir curvas de inibição da ligação específica do radioligante. Quanto maior a concentração do agente competidor empregada, neste caso os derivados **31 (b-f)** em estudo, maior a competição pelos receptores específicos, diminuindo a formação do complexo receptor-radioligante. Isto pode ser observado pela progressiva redução da radioatividade retida nos filtros e detectada pelo contador de cintilação líquida.

A partir destas curvas de inibição foi possível calcular os valores da concentração dos derivados **31 (b-f)** que inibe em 50% a ligação do radioligante (CI_{50}). Tais valores foram convertidos a valores de K_i (constante de dissociação do competidor no equilíbrio ou constante de inibição) através da equação de Cheng-Prusoff (Eq. 1).

$$K_i = \frac{CI_{50}}{1 + ([L] / K_D)} \quad (\text{Equação 1})$$

Onde K_i = constante de inibição; CI_{50} = concentração que inibe em 50% a ligação do radioligante; $[L]$ = concentração do radioligante; K_d = constante de equilíbrio de dissociação do ligante (medido em ensaio de saturação).

Adrenoceptores α_{1B}

Preparação membranar

As preparações membranares de homogeneizado de fígado de rato são enriquecidas no subtipo α_{1B} de adrenoceptores. Os tecidos obtidos como descrito anteriormente (4 fígados de rato o que corresponde a ≈ 30 g) foram descongelados, picotados e homogeneizados da mesma forma realizada para fígado de coelho. O homogeneizado obtido foi filtrado em quatro camadas de gaze e então submetido à centrifugação $5000 \times g$, por 20 minutos a 4°C , gerando sobrenadante que posteriormente foi ultracentrifugado a $100000 \times g$, por 60 minutos a 4°C , obtendo-se um *pellet*. Este *pellet* foi ressuspensão em solução tampão isenta de NaCl e submetido a nova ultracentrifugação nas mesmas condições. O *pellet* obtido nesta etapa foi ressuspensão em solução de armazenamento (sacarose 0,25 M, EGTA 1 mM e Tris 5 mM (pH 7,4)) com o auxílio de um homogeneizador manual do tipo Dounce e estocado em alíquotas de 300 μL em nitrogênio líquido.

Ensaio de Binding da [^3H]-prazosina aos adrenoceptores α_{1B}

Ensaios de ligação para adrenoceptores α_{1B} foram padronizados da mesma forma que ensaios de ligação para adrenoceptores α_{1A} , de acordo com a literatura, *i.e.*, foram realizados ensaios de saturação e competição em preparações membranares de fígado de rato, neste caso utilizando 150 μg proteína por tubo, contidos em 50 μL de suspensão, além das diferentes concentrações dos derivados **31 (b-f)** (10^{-9} - 10^{-6} M).

Ensaios funcionais

Realizou-se ensaios de contração isométrica utilizando ratos Wistar machos, com idade de 2,5 – 3 meses eutanasiados como descrito anteriormente. A aorta torácica (tecido enriquecido em receptores α_{1D} -adrenérgicos funcionais) foi removida, livre dos tecidos conectivo e adiposo adjacentes, e cortada em segmentos de 3 mm. Em seguida, cada anel foi fixado a um transdutor de tensão (GRASS FT-03), e mergulhado em cubas contendo 9 mL de solução fisiológica (NaCl 122 mM, KCl 5 mM, CaCl_2 1,25 mM, MgCl_2 1,25 mM, KH_2PO_4 1,25 mM, NaHCO_3 15 mM, Glicose 11,5 mM), mantidos a 37°C sob constante aeração com mistura carbogênica

(95% de O₂ e 5% de CO₂). Os segmentos da aorta foram então submetidos a uma pré-carga de 20 mN por 60 minutos. Após a recuperação dos tecidos, mantidos por 1 hora em repouso, foi realizada uma contração induzida por fenilefrina (FE) 1 µM (agonista seletivo dos receptores α₁-adrenérgicos). No plateau desta contração, visando promover relaxamento endotélio-dependente decorrente da ativação da enzima óxido nítrico sintase endotelial (eNOS) e conseqüente liberação de óxido nítrico (NO), adicionou-se acetilcolina 1 µM. Os anéis que relaxaram pelo menos 80% foram considerados com endotélio intacto, sendo utilizados.

Em seguida a preparação foi lavada e mantida em repouso por 1 hora, visando a recuperação do tecido. Foram então realizadas curvas cumulativas à fenilefrina (10⁻⁹ – 10⁻⁵ M) na presença de propranolol 1 µM (bloqueador de receptores β-adrenérgicos) antes e após a incubação por 1 hora dos derivados **31 (b-f)** a 10 ou 50 nM. Paralelamente, um controle temporal foi realizado para descartar a existência de algum artefato sobre a contração medida, onde adicionou-se apenas o veículo (água ultrapura Milli Q®) no lugar da substância a ser testada. Seguindo rigorosamente o mesmo protocolo que as demais cubas que tiveram adicionadas os derivados **31 (b-f)**.

Os dados foram digitalizados no sistema MacLab 8S conectado ao transdutor de tensão isométrico Grass FT-03, que registrou a variação de tensão em milinewtons (mN) gerada ao longo da análise. Os dados digitalizados foram então analisados através do programa Chart 3.4/s *software* (MacLab, Inc., USA). No processo de *screening* farmacológico, a concentração inicial utilizada dos derivados **31 (b-f)** foi de 50 nM, considerada como concentração de corte, ou seja, as substâncias que não tiveram efeito nesta concentração não seriam mais investigadas neste ensaio. Em contrapartida, as substâncias que tiveram efeito, foram depois testadas em concentração menor (10 ou 2 nM) (Tabela 10). Desta forma, através da construção de curvas concentração-resposta ao agonista FE na ausência e presença do antagonista pode-se determinar os parâmetros de efeito máximo (*E*_{max}) e concentração que promove 50% do *E*_{max} (CE₅₀). A razão entre o valor de CE₅₀ nestas duas condições (com e sem derivado-alvo) corresponde a um terceiro parâmetro, denominado “razão da concentração” (ou CR). Uma vez determinados estes parâmetros, foi possível calcular a afinidade aparente dos

antagonistas competitivos (K_B) *in vitro* usando-se a equação de Schild (Eq. 2) (KENAKIN, 1993).

$$\log (CR-1) = \log [B] - \log K_B \quad (\text{Equação 2})$$

Onde, CR=razão da concentração (CE'_{50}/CE_{50}); [B]=concentração do antagonista 'B'; K_B = constante de equilíbrio de dissociação do antagonista 'B'.

Análise dos dados e tratamento estatístico

Os dados de tensão obtidos foram analisados por regressão não-linear para se calcular os parâmetros efeito máximo (E_{max}) e concentração que promove 50% do E_{max} (CE_{50}), utilizando o *software* GraphPad Prism, versão 4 (EUA). Para verificar se houve diferença significativa entre as medidas efetuadas antes e depois do tratamento com derivados **31 (b-f)** foi realizado teste ANOVA fator único seguido por teste de Newman-Keuls, considerando um risco alfa de 5% (diferenças consideradas significativas se $P < 0,05$).

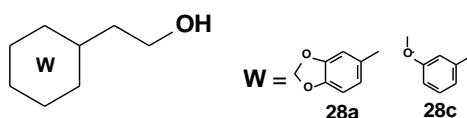
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. METODOLOGIA SINTÉTICA

As reduções dos ácidos 3,4-metilenodioxiacético (**27a**) e 3-metóxfenilacético (**27c**) foram realizadas com hidreto de lítio e alumínio, em tetrahydrofurano (THF) à temperatura ambiente, fornecendo os alcoóis **28a** e **28c**, em rendimentos de 93 % e 90%, respectivamente.

O composto **28a** foi caracterizado pela presença de dois tripletos em 2,78 ppm e em 3,80 ppm em RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3), referentes aos hidrogênios metilênicos ligados ao anel 3,4-benzometilenodioxola e à hidroxila, respectivamente, confirmados pelos assinalamentos em 38,7 ppm e em 63,67 ppm em RMN de carbono-13 (75MHz, CDCl_3). A presença de singlete em 5,93 ppm (RMN ^1H) e sinal em 100,8 ppm (RMN ^{13}C) indicaram a manutenção do grupo metilenodioxola. Por sua vez, os derivados **28a** e **28c** foram caracterizados pela presença de banda larga característica em 3351 e 3370 cm^{-1} em seu espectro no IV, referente a deformação axial de OH e pela ausência de banda em 1700 cm^{-1} característico de deformação da carbonila fornecido pelo fabricante (Tabela 2).

Tabela 2 – Obtenção dos alcoóis **28 (a,b)**: Condições reacionais e sinais espectroscópicos característicos de RMN e IV



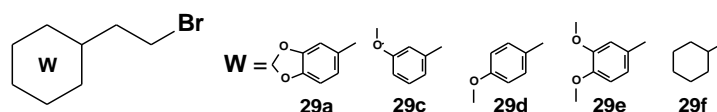
Composto	Tempo (h)	Rend (%)	RMN ^1H (δ ppm) (300 MHz; CDCl_3) ArCH $_2$ CH $_2$ OH	RMN ^{13}C (δ ppm) (75 MHz; CDCl_3) ArCH $_2$ CH $_2$ OH	IV (cm^{-1}) ν_{OH}
28a	4	98	3,80	63,6	3351
28c	4	81	---	---	3370

Com exceção do composto **29b**, obtido comercialmente, os bromoderivados foram sintetizados por meio da reação entre o álcool correspondente com tetrabrometo de carbono e trifetilfosfina em acetonitrila anidra fornecendo os

intermediários bromados em rendimentos que variaram de 70% a 96%. A formação dos bromoderivados foi acompanhado por CCD, onde a observação de composto com Rf entre 0,55 e 0,65 (CHCl₃: EtOH 5%), maiores que o do álcool (0,48), indicaram a formação dos halogenetos.

Os bromoderivados foram caracterizados em seus espectros de RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) pelos sinais referentes ao grupo metileno ligado ao átomo de bromo que variaram de 3,44 ppm a 3,56 ppm. Para o composto **29a**, além da alteração do deslocamento químico, no espectro de hidrogênio, do sinal referente ao grupo metileno ligado à hidroxila, de 3,80 ppm para 3,51 ppm, este também foi caracterizado pelo sinal em 37,2 ppm em seu espectro de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃), confirmando a conversão do álcool ao halogeneto (Tabela 3).

Tabela 3 – Obtenção dos bromoderivados **29** (a, c-f): Condições reacionais e sinais espectroscópicos característicos de RMN



Composto	Tempo (h)	Rend (%)	RMN ¹ H (δppm) (300 MHz; CDCl ₃) ArCH ₂ CH ₂ Br	RMN ¹³ C (δppm) (75 MHz; CDCl ₃) ArCH ₂ CH ₂ Br
29a	24	76	3,51	39,1
29c	24	75	3,56	---
29d	24	95	3,53	---
29e	24	91	3,53	---
29f	24	59	3,44	---

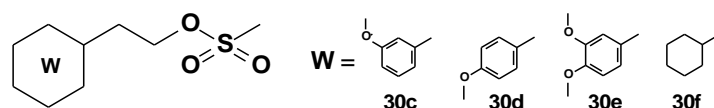
Dispondo dos alcoóis **28** (a-f), estes também foram transformados em seus metanossulfonatos correspondente através da reação com cloreto de mesila, na presença de trietilamina, tendo diclorometano seco como solvente. A reação procedeu sob agitação por 24 horas em temperatura ambiente, fornecendo os compostos-alvo **30** (a-f) em rendimentos que variaram de 72% a 99% (Tabela 4). A formação destes compostos foram evidenciados por CCD, onde foi possível verificar, durante a reação, a conversão do álcool de Rf 0,48 aos compostos-alvo com Rfs

que variaram de 0,56 a 0,65 (CHCl₃:EtOH 5%) sugerindo a presença dos compostos sulfonatos.

Os derivados foram caracterizados pela presença de absorções características em seu espectro no IV que compreendem às deformações axiais de SO₂ assimétricas em aproximadamente 1354 cm⁻¹ e simétricas em 1173 cm⁻¹.

Estes ainda foram caracterizados por RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃), que revelou a presença de um sinpleto entre 2,82 ppm a 2,89 ppm, referente à metila do grupo metanossulfonila, o qual também foi confirmado pela presença de sinail em 37,0 a 37,4 ppm em seus espectros de RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) (Tabela 4).

Tabela 4 – Obtenção dos metanossulfonatos **30 (c-f)**: Condições reacionais e sinais espectroscópicos característicos de RMN e no infravermelho



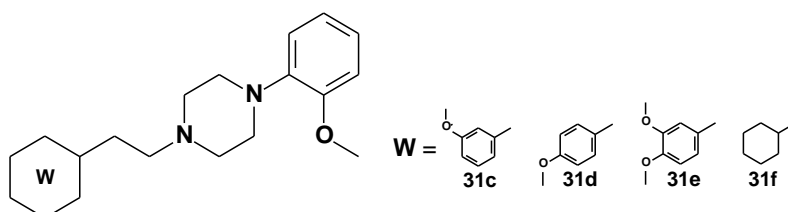
Composto	Tempo (h)	Rend (%)	¹ H RMN (δppm) (300 MHz; CDCl ₃) ArCH ₂ CH ₂ SO ₂ CH ₃	¹³ C RMN(δppm) (75 MHz; CDCl ₃) ArCH ₂ CH ₂ SO ₂ CH ₃	IV (cm ⁻¹) ν _{SO2}
30c	24	89	---	---	1173
30d	24	70	2,85	37,4	1173
30e	24	99	2,86	37,4	1173
30f	24	96	---	---	1174

Dando continuidade ao planejamento sintético, a última etapa consistiu na transformação dos bromoderivados **29 (a-f)** ou dos mesilatos **30 (c-f)** às correspondentes amins por meio de substituição nucleofílica bimolecular (S_N2), assistidos por radiação micro-ondas em forno convencional. Neste contexto, os derivados foram submetidos à reação em reator com as respectivas 2-alcóxifenilpiperazinas na presença de trietilamina em acetonitrila. A conversão dos sulfonatos e brometos aos compostos-alvo foi evidenciada em CCD (CHCl₃:EtOH 5%) onde foi possível verificar a redução nos R_fs dos sulfonatos e brometos (entre 0,56 e 0,68) aos composto-alvo R_f que variaram de 0,38 a 0,55 (CHCl₃:EtOH 5%) indicando a formação das 2-alcóxifenilpiperazinas .

Derivados 1-(2-Metóxfenil)piperazínicos **31 (c-f)**

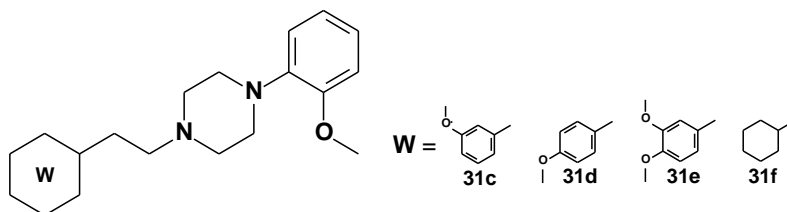
As reações com 1-(2-metóxfenil)piperazina levaram aos compostos **31 (c-f)** em rendimentos que variaram de 83% a 93%. Os derivados foram caracterizados por absorções em espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) entre 2,40 ppm e 2,88 ppm, evidenciados como a ligação do grupo metileno ao átomo de nitrogênio. Apenas para o derivado **31e** foi obtido o espectro de RMN ^{13}C (125 MHz, CDCl_3), no qual o sinal em 60,7 ppm corrobora a formação da ligação $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{N}$. Os derivados com a subunidade 2-metóxfenilpiperazina **31c** e **31d** foram caracterizados pela presença de absorções em 1241 cm^{-1} em seus espectros no IV referente à ligação N-Ar. (Tabela 5).

Tabela 5 – Obtenção dos derivados fenilpiperazínicos **31 (c-f)**: Condições reacionais e sinais espectroscópicos característicos de RMN e no infravermelho



Composto	Tempo (min)	Rend (%)	^1H RMN(δ ppm) (300 MHz; CDCl_3) $\text{ArCH}_2\text{CH}_2\text{N}$
31c	4	83	2,84-2,88
31d	4	88	2,63-2,68
31e	4	85	2,78-2,84
31f	4	90	2,40-2,45

Os derivados **31 (c-f)** foram caracterizados por RMN de hidrogênio e carbono-13 cujos assinalamentos estão apresentados na Tabela 6.

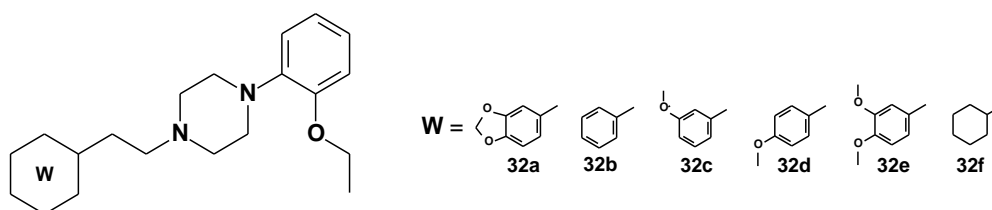
Tabela 6 - RMN ^1H e ^{13}C - Assinalamentos para os compostos **31** (c-f)

RMN ^1H / ^{13}C CDCl_3				
	31c LDT3	31d LDT4	31e LDT5	31f LDT6
(<u>OCH</u> ₃ , 4')	----	3,79 / ----	3,85 / 55,9	----
(<u>OCH</u> ₃ , 3')	3,80 / ----	----	3,87 / 55,8	----
Ar <u>CH</u> ₂ <u>CH</u> ₂ N	2,84-2,88/ ----	2,63-2,68/ ----	2,78-2,84/ 60,7	2,40-2,45/ ----
Ar <u>CH</u> ₂ CH ₂ N	2,67 – 2,72 / ----	2,63 – 2,68/ ----	2,64 – 2,69 / 33,1	---
N <u>CH</u> ₂ CH ₂ NAr	2,76 / ----	2,76/ ----	2,76 / 53,4	2,66/ ----
NCH ₂ <u>CH</u> ₂ NAr	3,15 / ----	3,15 / ----	3,14 / 50,6	3,11 / ----
(<u>OCH</u> ₃ , 2)	3,87 / ----	3,87 / ----	3,88 / 55,4	3,85 / ----
Cy	----	----	----	0,90 – 1,73/ ----
<u>C</u> , 1'	----	----	---- / 132,8	----
<u>CH</u> , 2	6,75 / ----	7,17 / ----	6,87 / 111,1	----
<u>CH</u> , 3'	----	6,83 / ----	---- / 147,3	----
<u>CH</u> , 4'	6,85 / ----	----	---- / 147,8	----
<u>CH</u> , 5'	7,25 / ----	6,83 / ----	7,03 / 111,9	----
<u>CH</u> , 6'	7,22 / ----	7,17 / ----	6,98 / 120,9	----
<u>C</u> , 1	----	----	---- / 141,1	----
<u>CH</u> , 2	----	----	---- / 152,2	----
<u>CH</u> , 3	7,00 / ----	6,86/ ----	6,95 / 111,1	6,88-7,02/----
<u>CH</u> , 4	7,00 / ----	7,04 / ----	6,98 / 123,8	6,88-7,02/----
<u>CH</u> , 5	7,20 / ----	7,14 / ----	7,00 / 120,5	6,88-7,02/----
<u>CH</u> , 6	7,00 / ----	6,97 / ----	6,77 / 118,1	6,88-7,02/----

Derivados 1-(2-Etóxifenil)piperazínicos **32 (a-f)**

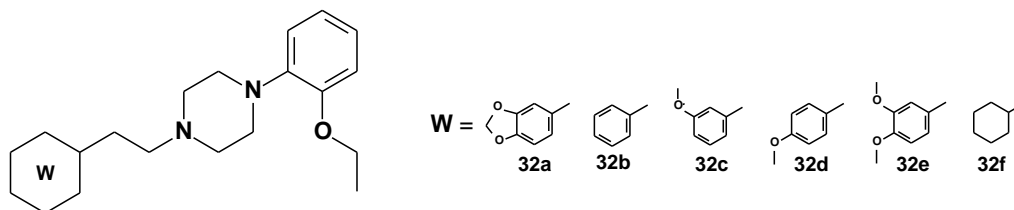
Os derivados da 1-(2-etóxifenil)piperazina **32 (a-f)** foram obtidos em rendimentos de 68% a 93%. Os derivados contendo a subunidade 2-etóxifenilpiperazina **32c**, **32d** e **32f** foram caracterizados pela presença de sinais característicos no espectro hidrogênio (500 MHz, CDCl₃) referentes ao grupo metileno ligado ao átomo de nitrogênio da fenilpiperazina (ArCH₂CH₂N) 2,43 ppm e 2,91 ppm, os quais foram corroborados pelos sinais entre 50,2 ppm e 56,9 ppm no RMN de carbono-13. As absorções no IV em 1238 cm⁻¹, 1245 cm⁻¹ e 1239 cm⁻¹, referentes à ligação N-C, reforçam a obtenção dos compostos (Tabela 7).

Tabela 7 – Obtenção dos derivados fenilpiperazínicos **32 (a-f)**: Condições reacionais e sinais espectroscópicos característicos de RMN e no infravermelho



Composto	Tempo (min)	Rend (%)	¹ H RMN(δppm) (500 MHz; CDCl ₃) ArCH ₂ CH ₂ N	¹³ C RMN(δppm) (125 MHz; CDCl ₃) ArCH ₂ CH ₂ N ₂	IV (cm ⁻¹) V _{N-Ar}
32a	4	93	2,76-2,81	---	---
32b	4	93	2,86-2,91	---	---
32c	4	68	2,73-2,94	60,5	1310
32d	4	84	2,83-2,86	60,9	1307
32e	4	69	2,82-2,89	60,5	---
32f	4	88	2,43-2,46	56,9	1303

Os derivados **32 (a-f)** foram caracterizados por RMN de hidrogênio e carbono-13 cujos assinalamentos estão apresentados na Tabela 8.

Tabela 8 - RMN ¹H e ¹³C – Assinalamentos para os compostos 32 (a-f)

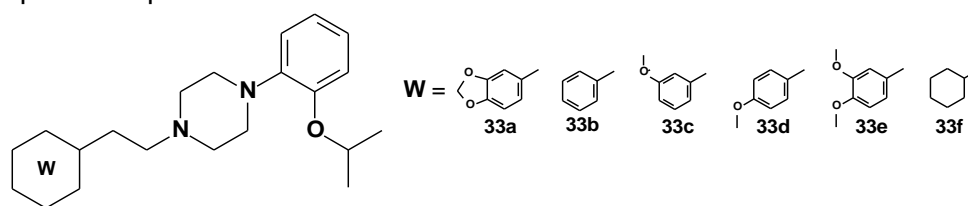
RMN ¹ H / ¹³ C CDCl ₃						
	32a LDT8	32b LDT9	32c LDT243	32d LDT244	32e LDT245	32f LDT450
(OCH ₃ , 4')	----	----	----	3,80 / 55,4	3,81 / 55,2	----
(OCH ₃ , 3')	----	----	3,81 / 55,3	----	3,81 / 55,2	----
(OCH ₂ O)	5,92	----	----	----	----	----
ArCH ₂ CH ₂ N	2,76-2,81 / -- -	2,86 – 2,91/ -- --	2,73-2,94 / 60,5	2,83 / 60,9	2,82-2,89/ 60,5	2,43-2,46/ 56,9
ArCH ₂ CH ₂ N	2,61-2,66 / -- --	2,67-2,73/ ----	2,73-2,94 / 33,3	2,67 / 32,6	2,68–2,73 / 33,7	1,14-1,73/ 34,4
NCH ₂ CH ₂ NAr	2,76-2,81 / -- --	2,77 / ----	2,73-2,94 / 50,3	2,79 / 50,2	2,77 / 50,6	2,66/ 50,6
NCH ₂ CH ₂ NAr	3,16 / ----	3,19 / ----	3,22 / 53,5	3,20 / 53,5	3,20 / 53,6	3,11 / 53,7
Ar-OCH ₂ CH ₃	4,61 / ----	4,08 / ----	4,08 / 63,7	4,08 / 63,7	4,05-4,12/ 63,7	4,06 / 63,7
Ar-OCH ₂ CH ₃	1,46 / ----	1,47 / ----	1,47 / 15,1	1,47 / 15,1	1,48 / 15,0	1,45 / 15,1
Cy	----	----	----	----	----	1,14-1,73/25,6 – 33,6
C, 1'	----	----	----	---- / 132,3	---- / 129,5	----
CH, 2'	6,66-6,76 / -- -	7,19-7,23/ ----	6,81 – 6,87 /114,7	7,16 / 129,8	6,75-6,83 / 114,6	----
CH, 3'	----	7,30-7,34/ ----	---- /159,9	6,85 – 6,86 / 114,0	---- / 151,7	----
CH, 4'	----	7,30-7,34/ ----	6,77 / 111,7	----/ 158,1	---- / 142,0	----
CH, 5'	6,78-6,89 / -- -	7,30-7,34/ ----	7,23 / 129,6	6,85 – 6,86/ 114,0	6,75-6,83 / 112,2	----
CH, 6'	6,66-6,76 / -- -	7,19-7,23/ ----	6,81-6,87 / 121,3	7,16 / 129,7	6,83-6,92 / 120,1	----
C, 1	----	----	---- / 141,5	---- / 141,4	---- / 141,5	---- / 141,6
CH, 2	----	----	---- / 151,7	---- / 151,6	---- / 159,8	---- / 151,7
CH, 3	6,78-6,89 / -- --	6,85 – 6,90 / ----	6,91-6,97 /112,7	6,91 – 6,99/ 112,6	6,92-6,99 / 111,4	6,88-6,97 / 112,7
CH, 4	6,78-6,89 / -- --	6,95 – 6,99 / - --	6,91-6,97 / 123,0	6,91 – 6,99/ 122,9	6,92-6,99 / 122,8	6,88-6,97 / 122,9
CH, 5	6,78-6,89 / -- -	6,95 – 6,99 / - --	6,91-6,97 / 121,2	6,91 – 6,99/ 121,1	6,92-6,99 / 121,2	6,88-6,97 / 121,6
CH, 6	6,78-6,89 / -- -	6,85 – 6,90 / - --	6,81-6,87/ 118,3	6,85 – 6,86/ 118,3	6,75-6,83 / 118,3	6,83-6,85/ 118,8

Derivados 1-(2-Isopróxifenil)piperazínicos **33 (a-f)**

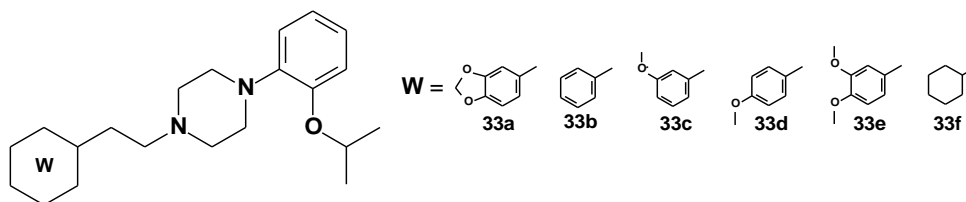
Em face da não disponibilidade comercial da 2-isopropóxifenilpiperazina, esta foi sintetizada em três etapas a partir da 2-hidróxifenilpiperazina (**34**). A primeira etapa consistiu na proteção do nitrogênio de **34**, a partir da reação com anidrido-BOC levando ao derivado **34-Boc** em rendimento de 100%. Em seguida, **34-Boc** foi submetida a reação de O-alkilação com brometo de isopropila em acetona sob refluxo, levando ao derivado 1-(2-isopropóxifenil)-*boc*-piperazina **35** em rendimento de 98%. A última etapa consistiu na desproteção do grupo amina por meio da reação com ácido trifluoroacético em diclorometano por 2 horas à temperatura ambiente. O derivado 2-isopropóxifenilpiperazina (**36**) foi obtido em rendimento de 50%. Os derivados **33 (a-f)**, os quais têm a subunidade 1-(2-isopropoxifenil)piperazina, estes foram obtidos em rendimentos que variaram de 40% a 80%.

Os derivados foram caracterizados por absorções entre 2,57 e 2,90 ppm evidenciando a ligação CH_2N em espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) e pelos sinais entre 56,7 e 60,9 ppm evidenciando a ligação CH_2N no espectro de ^{13}C (125 MHz, CDCl_3). As amins ainda foram caracterizadas pela presença das absorções entre 1236 e 1239 cm^{-1} em seus espectros no IV, característicos da ligação N-Ar, e o grupo isopropila pelas absorções em 1371 e 1382 cm^{-1} (Tabelas **9 e 10**).

Tabela 9 – Obtenção dos Derivados Fenilpiperazínicos **33 (a-f)**: Condições reacionais e sinais espectroscópicos característicos de RMN e no infravermelho



Composto	Tempo (min)	Rend (%)	^1H RMN(δ ppm) (500 MHz; CDCl_3) ArCH ₂ CH ₂ N	^{13}C RMN(δ ppm) (125 MHz; CDCl_3) ArCH ₂ CH ₂ N	IV (cm^{-1}) VN-Ar
33a	4	80	2,62-2,68	60,9	1311
33b	4	82	2,85-2,98	60,7	1311
33c	4	40	2,87-2,91	60,5	1311
33d	4	52	2,82-2,86	60,9	1300
33e	4	55	2,82-2,87	60,9	--
33f	4	50	2,57-2,60	56,7	1303

Tabela 10 - RMN ¹H e ¹³C - Assinalamentos para os compostos 33 (a-f)

RMN ¹ H / ¹³ C CDCl ₃						
	33a LDT451	33b LDT452	33c LDT453	33d LDT454	33e LDT455	33f LDT456
(OCH ₃ , 4')	----	----	----	3,80 / 55,4	3,88 / 56,1	----
(OCH ₃ , 3')	----	----	3,81 / 55,3	----	3,86 / 56,0	----
(OCH ₂ O)	5,92	----	----	----	----	----
ArCH ₂ CH ₂ N	2,62-2,81 / 60,9	2,87-2,90 / 60,7	2,87-2,91 / 60,5	2,83 / 60,9	2,82-2,87/ 60,9	2,57-2,60/ 56,7
ArCH ₂ CH ₂ N	2,62-2,81 / 33,4	2,67-2,75 / 33,7	2,71-2,75 / 33,5	2,66-2,69 / 33,7	2,68-2,71 / 33,2	1,50-1,73/ 33,5
NCH ₂ CH ₂ NAr	2,62-2,81 / 50,5	2,67-2,75 / 50,5	2,78 / 50,3	2,79/ 50,5	2,76 / 50,4	2,80 / 49,8
NCH ₂ CH ₂ NAr	3,17 / 53,7	3,19 / 53,7	3,20 / 53,6	3,20 / 53,7	3,19 / 53,7	3,22 / 53,1
Ar-OCH(CH ₃) ₂	4,61 / 70,4	4,62 / 70,4	4,61 / 70,4	4,62 / 70,5	4,60/ 70,5	4,59 / 70,5
Ar-OCH(CH ₃) ₂	1,37 / 22,5	1,38 / 22,4	1,36 / 22,5	1,37 / 22,5	1,36 / 22,5	1,35 / 22,5
Cy	----	----	----	----	----	0,911,73/22,5- 36,4
C, 1'	---- / 134,0	---- / 140,0	--- / 142,0	---- / 132,4	---- / 132,9	----
CH, 2	6,67-6,77 / 108,2	7,20-7,34/ 128,9	6,81 / 114,7	7,16 / 129,8	6,77-6,82 / 112,4	----
CH, 3'	---- / 147,7	7,20-7,34/ 128,6	---- / 159,9	6,85 / 114,1	---- / 151,7	----
CH, 4'	---- / 145,9	7,20-7,34/ 126,2	6,77 / 111,6	----/ 158,2	---- / 142,0	----
CH, 5'	6,78-6,89 / 109,3	7,20-7,34/ 128,6	7,23 / 129,6	6,85 / 114,1	6,77-6,82 / 112,2	----
CH, 6'	6,66-6,76 / 121,6	7,20-7,34/ 128,9	6,83 / 121,6	7,16 / 129,8	6,77-6,82 / 120,1	----
C, 1	---- / 142,9	---- / 142,3	---- / 143	---- / 142,9	---- / 141,5	---- / 141,6
CH, 2	---- / 150,6	---- / 150,5	---- / 150,5	---- / 150,6	---- / 159,8	---- / 150,5
CH, 3	6,78-6,89 / 116,4	6,85-6,90/ 116,3	6,91-6,97 / 116,1	6,94 - 6,95/ 116,4	6,93-6,95 / 111,4	6,88-6,97 / 115,9
CH, 4	6,78-6,89 / 122,6	6,95-6,99 / 122,7	6,91-6,97 / 122,7	6,94 - 6,95/ 122,7	6,93-6,95 / 122,8	6,88-6,97 / 122,9
CH, 5	6,78-6,89 / 121,6	6,95-6,99 / 121,6	6,91-6,97 / 121,3	6,94 - 6,95/ 121,7	6,93-6,95 / 121,2	6,88-6,97 / 121,6
CH, 6	6,78-6,89 / 118,7	6,85 - 6,9 / 118,6	6,88 / 118,7	6,89/ 118,7	6,93-6,95 / 118,3	6,83-6,85/ 118,8

5.2. AVALIAÇÃO FARMACOLÓGICA

Uma vez sintetizados e espectroscopicamente caracterizados, os novos padrões estruturais planejados foram transformados quantitativamente em seus respectivos cloridratos, a fim de aumentar sua solubilidade em água e facilitar a execução dos protocolos farmacológicos.

Desta forma os derivados **31 (c-f)** juntamente com o derivado **31b**, foram submetidos a ensaios de competição, para a determinação do perfil adrenérgico de afinidade (α_{1A} e α_{1B}) bem como em órgão isolado, visando a vasoconstrição da aorta de rato (α_{1D}) induzida por fenilefrina (agonista α_1 -seletivo). Os derivados das séries **32 (a-f)** e **33 (a-f)** serão avaliados em colaboração com empresa farmacêutica italiana a partir de setembro de 2013.

Neste sentido, os derivados **31 (b-f)** foram avaliados quanto à afinidade em estudos de competição, por meio de ensaio em fígado de coelho e fígado de rato, utilizando [³H]prazosina 0,1 nM como ligante para os subtipos α_{1A} (K_d 0,46 nM) e α_{1B} (K_d 0,34 nM). Todos os derivados **31 (b-f)** foram capazes de inibir a ligação específica da [³H]prazosina nos ensaios de competição, com valores de K_i na faixa nanomolar (Tabela 11).

Tabela 11: Ensaios de Competição para **31 (b-f)** em Adrenoceptores α_{1A} e α_{1B}

Composto	α_{1A}			α_{1B}		
		$\log CI_{50} \pm EPM (M)^a$	$K_i (nM)^b$		$\log CI_{50} \pm EPM (M)^a$	$K_i (nM)^b$
	<i>N</i>			<i>n</i>		
31b	4	-7,72 ± 0,26	15,70	4	-7,20 ± 0,49	48,70
31c	4	-8,25 ± 0,67	4,63	4	-7,02 ± 0,31	73,70
31d	3	-7,97 ± 0,79	8,81	4	-7,52 ± 0,32	23,30
31e	3	-8,35 ± 0,20	3,67	5	-7,80 ± 0,37	12,20
31f	3	-8,58 ± 0,34	2,16	3	-6,70 ± 0,19	154,00

^aValores de CI_{50} foram calculados por regressão não-linear, utilizando o *software* GraphPad Prism (USA) e expressos como média ± EPM; ^bValores de K_i foram calculados através da equação de Cheng-Prusoff; $P < 0,05$ comparado à PZS (ANOVA fator único seguido por Newman-Keuls).

Relação estrutura-atividade

De maneira geral os resultados obtidos confirmaram a afinidade de todos os compostos da série pelo subtipo α_{1A} , com valores de K_i que variaram de 2,16 nM a 15,70 nM. Estes resultados revelam que as modificações realizadas na subunidade auxofórica não resultaram na melhora do perfil de afinidade dos novos compostos quando comparados ao protótipo LASSBio 772 (**26**), que apresentou K_i 0,14 nM para o subtipo α_{1A} . Desta forma, os resultados indicam que a restrição conformacional da subunidade metilenodioxola (MD), a qual restringe a rotação dos grupos aceptores de ligação de hidrogênio (ALH), permite melhor interação com resíduos complementares de aminoácidos doadores de ligação de hidrogênio (DLH).

Vale destacar que o derivado **31f**, que contém a subunidade cicloexila, apresentou melhor perfil entre os derivados avaliados, o que sugere que interações hidrofóbicas de grupos saturados são relevantes para o reconhecimento molecular pelo subtipo α_{1A} . Quando comparado ao derivado **31b**, que possui o grupo fenila, observa-se perfil de afinidade 7,2 vezes maior para **31f**, sugerindo a existência de região hidrofóbica em que grupos não planares apresentam maior interação que grupos planares aromáticos.

O perfil de afinidade ainda pode ser modulado pela presença dos grupos ALH, onde se observou que a presença do grupo metoxila na posição 3 (**31c**) melhora a afinidade em 3,4 vezes com relação a **31b**, e 1,8 vezes considerando o mesmo grupo na posição 4 (**31d**). A presença de dois grupos metoxila nas posições 3 e 4 em **31e** confere o segundo melhor perfil entre os compostos avaliados com K_i 3,67 nM. Este resultado permite inferir a importância de grupos ALH na subunidade auxofórica aromática, modulando positivamente o perfil de afinidade. Em adição, os dados apontam para a existência de um modo de interação otimizado destes grupos, quando conformacionalmente restritos em LASSBio 772 em comparação à liberdade dos grupos metoxila no derivado **31e**, ou mesmo a influência estérica destes grupos por meio do efeito *orto*.

Considerando os valores de K_i dos os derivados **31 (b-f)** para subtipo α_{1B} , estes variaram de 12,20 nM a 154,00 nM, demonstrando menor perfil de afinidade quando confrontados ao subtipo α_{1A} . Esta característica é positiva, uma vez que o antagonismo do subtipo α_{1B} está relacionado aos efeitos pressóricos observados nos

derivados quinazolínicos, onde quanto maior a seletividade frente a este subtipo de adrenoceptor menores serão os efeitos adversos. Exceto o derivado **31f** (K_i 154 nM) que apresentou índice de seletividade ($IS_{\alpha_{1B}/\alpha_{1A}}$) de 71,2, todos os outros derivados mostraram IS menores que LASSBio 772 (K_i 5,5 nM; $IS_{\alpha_{1B}/\alpha_{1A}}$ 39,2).

Contrariamente às características estruturais observadas para o subtipo α_{1A} , os dados sugerem maior relevância da subunidade aromática em relação à subunidade cicloexila, uma vez que **31f** apresentou K_i 3,1 vezes menor que **31b**. Este dado parece ainda sugerir uma menor região hidrofóbica ou restrição de acesso a grupos não planares.

Considerando os grupos ALH, os resultados indicam que a presença do grupo metoxila na posição 4 (**31d**) é mais relevante que na posição 3 (**31c**), onde a presença das metoxilas nas posições 3 e 4 (**31e**) permitiram o melhor reconhecimento na série. Quando comparado com LASSBio 772, **31e** apresenta perfil de afinidade 2,2 vezes menor, reforçando a importância da orientação dos grupos ALH conformacionalmente restritos.

Estudo Funcional

Os estudos funcionais em aorta de rato foram realizados com BMY7378 (**11**, 50 nM), antagonista de adrenoceptores α_{1D} usado como controle positivo, para o qual foi obtido KB 2,95 nM, compatível com a literatura (CARROLL *et al.* 2001). Dentro da série **31 (b-f)**, todas as substâncias, exceto o **31f**, reduziram a contração induzida pela fenilefrina (FE), além de induzirem deslocamento das curvas concentração-resposta à FE para direita, quantificado pela razão de CE_{50} (CR). Assim, os dados sugerem efeito antagonista α_{1D} adrenérgico para todos os derivados estudados, exceto **31f**. Posteriormente foi calculada a afinidade aparente dos antagonistas (Tabela **12**). Para esta avaliação, uma segunda condição experimental com concentração de 10 nM foi realizada apenas para **31e** visando determinar a afinidade (KB) calculada através da equação de Schild. Toda a série, exceto **31f**, mostrou grande afinidade pelo adrenoceptor α_{1D} com KBs que variaram de 0,57 a 3,14 nM. Quando comparados ao antagonista BMY7378 ($KB = 2,95$ nM), os derivados **31c** e **31e** apresentaram maior afinidade por este subtipo de receptor ($*P < 0.05$).

Tabela 12 - Afinidade dos derivados **16 (b-f)** e BMY7378 pelo adrenoceptor α_{1D}

LDT	Log CE50 \pm EPM (M)		CR \pm EPM	log KB \pm EPM (M)	KB (nM)	N
	Controle	Compostos				
31b^a	-7,00 \pm 0,19	- 5,65 \pm 0,19	24,3 \pm 8,7	-8,51 \pm 0,37	2,15	5
31c^a	-6,87 \pm 0,25	- 5,40 \pm 0,25	29,1 \pm 1,8	-8,75 \pm 0,03	1,78	5
31d^a	-6,99 \pm 0,19	- 5,79 \pm 0,32	16,9 \pm 5,5	-8,47 \pm 0,16	3,14	5
31e^b	-7,12 \pm 0,22	- 5,85 \pm 0,15	18,5 \pm 2,5	-9,23 \pm 0,06 *	0,57	6
31f^a	ND	ND	ND	ND	ND	7
BMY7378^b	-6,99 \pm 0,15	-6,36 \pm 0,09	4,4 \pm 0,8	-8,53 \pm 0,11	2,95	6

Valores de KB calculados individualmente e obtidos a partir dos experimentos funcionais na presença de LDT, ou BMY7378, ^a50 nM ou ^b10 nM; A CR (razão entre as CE50 na presença e ausência LDTs) é a média das CRs calculadas a partir CE50 obtidas na análise por regressão não linear.* $P < 0,05$ comparado ao BMY7378 (ANOVA fator único seguido por teste de Newman-Keuls).

Os resultados obtidos neste estudo funcional revelam que grupos aromáticos são necessários ao reconhecimento pelo receptor α_{1D} . Vale destacar a ausência de perfil do derivado **31f**, o qual contém o grupo cicloexila, que quando comparado ao antagonista BMY7378 difere na extensão da cadeia hidrofóbica bem como na presença de ALH na subunidade azaspiro[4.5]decan-7,9-diona. Neste contexto, a maior hidrofobicidade sugere a existência de bolsão que possa acomodar o maior volume do BMY7378, enquanto os ALHs possibilitariam melhor ancoramento da subunidade por meio de ligações de hidrogênio ou interações íon-dipolo.

Os dados ainda revelam o mesmo perfil entre o derivado **31b** e BMY7378, indicando a relevância das interações aromáticas mesmo com ausência de ALH. Quando consideramos a inclusão de ALH, mais uma vez a posição 3 (**31c**, KB 1,78 nM) aparece ligeiramente mais favorável que a posição 4 (**31d**, KB 3,14 nM), onde a presença de ALHs em ambas aparece como a mais significativa (**31e**, KB 0,57 nM).

Considerando os aspectos conformacionais entre as subunidades 3,4-metilenodioxola de LASSBio772 (KB 0,025 nM) e 3,4-dimetóxfenila de **31e** (KB 0,57 nM), tem-se que a restrição conformacional permite melhor reconhecimento pelo receptor α_{1D} com incremento do perfil antagonista em cerca de 23 vezes.

6. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

O planejamento de novas entidades químicas, a partir do conhecimento da estrutura tridimensional dos alvos moleculares bem como de ligantes endógenos e exógenos que atuem sobre a modulação desses alvos biológicos, constitui um dos atributos da Química Medicinal.

Neste contexto, foram sintetizados 28 compostos, entre intermediários e produtos finais em rendimentos que variaram de 40-99%. A metodologia sintética empregada na obtenção dos derivados mostrou-se convergente, utilizando reações clássicas: O-alquilação, redução com hidretos metálicos, halogenação, sulfonoesterificação e substituição nucleofílica bimolecular por meio de aquecimento convencional ou radiação micro-ondas, evidenciando a utilização de métodos simples, como convém à Química Medicinal, na busca de substâncias de baixa complexidade estrutural e capazes de atuar sobre alvos biológicos. A caracterização estrutural dos intermediários e derivados-alvo por meio de métodos espectroscópicos de análise IV, RMN ^1H e RMN ^{13}C permitiram ratificar a obtenção dos compostos planejados neste trabalho.

Os resultados da série de derivados 2-metóxfenilpiperazínicos frente aos subtipos de adrenoceptores α_{1A} , α_{1B} e α_{1D} permitiram identificar relevantes características estruturais e sugerir interações com os respectivos alvos. Destaca-se que nenhum dos novos derivados apresentaram melhor perfil que LASSBio772, cuja presença da subunidade benzometilenodioxola confere características farmacológicas relevantes para o relaxamento de tecidos do trato urinário inferior em mamíferos. Neste sentido, LASSBio772, que possui a subunidade farmacofórica 2-metóxfenilpiperazina, apresenta elevados perfis de afinidade e potência para o subtipos α_{1D} e α_{1A} , com moderada seletividade frente ao subtipo α_{1B} , o qual é o principal subtipo AR envolvido na regulação pressórica em humanos.

Os derivados das séries **32 (a-f)** e **33 (a-f)**, ainda não farmacologicamente avaliados, visam estudar as variações no grupo alcóxila da subunidade farmacofórica, uma vez que trabalhos da literatura relatam o aumento da seletividade frente ao subtipo α_{1B} com o aumento do volume do grupo alcóxila, ao

mesmo tempo que considera a manutenção das características farmacológicas frente aos subtipos α_{1A} e α_{1D} , como principais alvos na busca de agentes urosseletivos úteis ao tratamento da HBP.

Neste sentido, a avaliação e o estabelecimento de relações estrutura-atividade para derivados das séries **32 (a-f)** e **33 (a-f)**, a otimização procedimentos que apresentaram baixos rendimentos bem como estudos de modelagem molecular visando racionalizar as interações com os alvos avaliados constituem perspectivas do trabalho na validação do planejamento estrutural de compostos desta classe terapêutica.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AKIYAMA, K. et al. KMD-3213: A uroselective and long-acting alpha 1a-adrenoceptor antagonist, tested in a novel rat mode. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**. v. 29, p.81-9, 1999.

AKIYAMA, K. et al. Abstracts from the 27th Annual Meeting of the International Continence Society. **Neurology and Urodynamics**, n.16, p. 492-498, 1997.

ANDERSSON, S. et al. Deletion of steroid 5 α -reductase 2 gene in male pseudohermaphroditism. **Nature**, n.354, p.159-161, 1991.

AUFFENBERG, Gregory B.; HELFAND, Brian T.; MCVARY, Kevin T., Established medical therapy for benign prostatic hyperplasia. **Urological Clinics Of North America**, North Carolina, v. 36, p.443-459, 2009.

BARBARO, R. et al. Synthesis, biological evaluation, and pharmacophore generation of new pyridazinone derivatives with affinity toward α_1 - and α_2 -adrenoceptors. **Journal of Medicinal Chemistry**, n.44, p. 2118-2132, 2001.

BARBARO, R. et al. Synthesis and biological activity of new 1,4-benzodioxan-arylpiperazine derivatives. Further validation of a pharmacophore model for α_1 -adrenoceptor. **Bioorg. Journal of Medicinal Chemistry**, n. 10, p. 361-369, 2002.

BARTSCH, G. et al. Light microscopic stereological analysis of the normal human prostate and of benign prostatic hyperplasia. **Journal of Urology**, n.122, p. 487-491, 1979.

BERMAN, D. M.; RUSSEL, D. W. Cell-type-specific expression of rat steroid 5 α -reductase isoenzymes. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, n.90, p. 9359-9363, 1993.

BLUE, D. R. et al. The conscious "reflex-compromised" rat: A model for evaluating the hypotensive potencies of the alpha(1)-adrenoceptor antagonists prazosin, tamsulosin and Ro 70-0004. **British Journal of Pharmacology**, n.120, p.107, 1997.

BOCK, M. G., PATANE, M. A. Toward the development of α_{1a} adrenergic receptor antagonists. **Annual Reports in Medicinal Chemistry**, n.35, p.221-230, 2000.

BOLOGNESI, M. L. et al. Two novel and potent 3-[o-methoxyphenyl]piperazinylethyl]-5-phenylthieno[2,3-d]pyrimidine-2,4-diones selective for the α_{1D} receptor. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**. n. 11, p.1119-1121, 2001.

DUARTE, C. M., BARREITO, E. J., FRAGA, C. A. M., Privileged Structures: A Useful Concept for the Rational Design of New Lead Drug Candidates. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**. n. 7, p. 1108-1119, 2007.

MELCHIORRE, C. WB4101-Related compounds. 2. Role of the ethyl chain separating amine and phenoxy units on the affinity for α_1 -adrenoceptor subtypes and 5-HT_{1A} receptors. **Journal Of Medicinal Chemistry**. n.42, p.4214-4224, 1999.

BONIFAZI, Alessandro et al. Structure–Activity Relationships in 1,4-Benzodioxan-Related Compounds. 11.1 Reversed Enantioselectivity of 1,4-Dioxane Derivatives in α_1 -Adrenergic and 5-HT_{1A} Receptor Binding Sites Recognition. **Journal Of Medicinal Chemistry**, Camerino, Italy, v. 56, n. , p.584-588, 2013.

CHAPPLE, C. R. et al. Tamsulosin 0.4 mg once daily: tolerability in older and younger patients with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic obstruction (symptomatic BPH). The European Tamsulosin Study Group. **European Urology**, v.32, p.462-470, 1997.

CHIU, George et al. (Phenylpiperazinyl)cyclohexylureas: Discovery of α_1 /1d-selective adrenergic receptor antagonists for the treatment of benign prostatic hyperplasia/lower urinary tract symptoms (BPH/LUTS). **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, Estados Unidos, v. 18, n. , p.640-644, 2008.

COCKETT, A. T. et al. The Second International Consultation on Benign Prostatic Hyperplasia. Channel Island, **Scientific Communication International Ltd**, n.131, p.278, p.281, p.284, p.554-559, 1994.

CRUZ, Francisco; DESGRANDCHAMPS, François. New Concepts and Pathophysiology of Lower Urinary Tract Symptoms in Men. **European Urology Supplements**, Portugal, v. 9, p.472-476, 2010.

EL-KERDAWY, Mohamed M. et al. Synthesis and pharmacological evaluation of novel fused thiophene derivatives as 5-HT_{2A} receptor antagonists: Molecular modeling study. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, Mansoura, Egypt, v. 45, p.1805-1820, 2010.

FRANCHINI, Silvia et al. 1,3-Dioxolane-based ligands incorporating a lactam or imide moiety: Structure-activity relationship at α_1 -adrenoceptor subtypes and at 5-HT_{1A} receptors. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, Italy, v. 45, p.3740-3751, 2010.

FULLHASE, Claudius et al. Systematic Review of Combination Drug Therapy for Non-neurogenic Male Lower Urinary Tract Symptoms. **European Association Of Urology**, Munich, Germany, v. 186, p.228-243, 2011.

FUMAGALLI, Laura et al. Affinity and activity profiling of unichiral 8-substituted 1,4-benzodioxane analogues of WB4101 reveals a potent and selective α_1B -adrenoceptor antagonist. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, Italia, v. 58, p.184-191, 2012.

GELLER, J. Overview of benign prostatic hyperplasia. **Urology (Suppl.)**, n.34, p.57-63, 1989.

GOTOH, Momokazu. The Mechanisms Underlying. **The Journal Of Urology**, Nagoya, Japan, v. 186, p.2154-2155, 2011.

GUPTA, N. P., ANAND, A., Comparison of TURP, TUVRP, and HoLEP. **Current Urology Reports.**, n. 10, p.276-278, 2009.

HANDZLIK, Jadwiga et al. Synthesis and SAR-study for novel arylpiperazine derivatives of 5-arylidenehydantoin with α_1 -adrenoceptor antagonistic properties. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Kraków, Poland, v. 20, p.4245-4257, 2012.

HIEBLE, J. P. et al. Effects of α_1 -adrenoceptor antagonists on agonist and tilt-induced changes in blood pressure: relationships to uroselectivity. **European Journal of Pharmacology**, n.373, p.51-62, 1999.

HOLTGREWE, L.; MEBUST, W.; DOWD, J. Transurethral prostatectomy: Practice aspects of the dominant operation in American urology. **Journal of Urology.**, n.141, p.248-252, 1989.

KENAKIN, T. Competitive antagonism, **Pharmacologic Analysis of Drug-Receptor Interaction.** p.278–322, Raven Press, New York, 1993.

KENNY, B. A. et al. Evaluation of the pharmacological selectivity profile of α_1 adrenoceptor antagonists at prostatic α_1 adrenoceptors: binding, functional and in vivo studies. **British Journal of Farmacology**, n.118, p.871-878, 1996.

KENNY, B. et al. Pharmacological options n the treatment of benign prostatic hyperplasia. **Journal Of Medicinal Chemistry**, n.40, p.1293-1315, 1997.

KONKEL, Michael J. et al. Synthesis and Structure-Activity Relationship of Fluoro Analogues of 8-{2-[4-(4-Methoxyphenyl)piperazin-1yl]ethyl}-8-azaspiro[4.5]decane-7,9-dione as Selective r1d-Adrenergic Receptor Antagonists. **Journal Of Medicinal Chemistry**, New Jersey, Usa, v. 48, n. 8, p.3076-3079, 2005.

KUBACKA, Monika et al. The hypotensive activity and alpha 1-adrenoceptor antagonistic properties af some aroxyalkyl derivatives of 2-methoxyphenylpiperazine. **European Journal Of Farmacology**, Poland, v. 698, n. , p.335-344, 2012.

KULIG, Katarzyna; MALAWSKA, Barbara. Trends in the development of new drugs for treatment of benign prostatic hyperplasia. **Current Medicinal Chemistry**, Poland, n. 13, p.3395-3416, 2006.

KUMAR, Rajnish; MALLA, Priyanka; KUMAR, Manoj. Advances in the design and discovery of drugs for the treatment of prostatic hyperplasia. **Informa Healthcare: Expert Opinion**, Reino Unido, p.1-15, 10 maio 2013. Disponível em: <<http://informahealthcare.com/doi/abs/10.1517/17460441.2013.797960>>. Acesso em: 10 jun. 2013.

KUO, Gee-hong et al. Design, Synthesis, and Structure-Activity Relationships of Phthalimide-Phenylpiperazines: A Novel Series of Potent and Selective α_1 -Adrenergic Receptor Antagonists. **European Urology Supplements**, New Jersey, Usa, v. 43, p.2183-2195, 2000.

10TH CAMERINO-NOORDWIJKERHOUT SYMPOSIUM ON PERSPECTIVES IN RECEPTOR RESEARCH. LEONARDI, A. α_1 -Adrenoceptor: subtype- and organ-selectivity of different agents. p.10-14, Sept. 1995.

LEPOR, H. et al. Binding and functional properties of α_1 adrenoceptors in different regions of the human prostate. **Journal of Urology**, v.150, p.252-256, 1993.

LI, Shengjian et al. Synthesis, In Vitro Activities of (2-Cyclopropoxyphenyl)piperidine Derivatives for α_{1a} and α_{1d} Adrenergic Receptor Inhibitors. **Medicinal Chemistry**, Estados Unidos, v. 5, p.15-22, 2009.

LOWRY et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. **Journal of Biological Chemistry**. n. 193,p.265-275, 1951.

MACCARI, Laura et al. A Genetic-Function-Approximation-Based QSAR Model for the Affinity of Arylpiperazines toward α_1 Adrenoceptors. **Journal Of Chemical Information And Modeling**, Italy, v. 46, n. , p.1466-1478, 2006.

MARKS, Leonard S.; ROEHRBORN, Claus G.; ANDRIOLE, Gerald L.. Prevention of Benign Prostatic Hyperplasia Disease. **The Journal Os Urology**, Estados Unidos, v. 176, p.1299-1306, 2006.

MARLOCK, Robert *et al.* Clinical Progression, Acute Urinary Retention, Prostate-Related Surgeries, and Costs in Patients with Benign Prostatic Hyperplasia Taking Early Versus Delayed Combination 5 α -Reductase Inhibitor Therapy and b-Blocker Therapy: A Retrospective Analysis. **Clinical Therapeutics**, North Carolina, v. 35, n. 5, p.624-633, 2012.

MATSUSHIMA, H. et al. Pharmacokinetics and plasma protein binding of tamsulosin hydrochloride in rats, dogs, and humans. **Drug Metabolism and Disposition**, n.26, p.240-245, 1998.

McCONNEL, J. D. Prostatic growth: new insight into hormonal regulation. **British Journal of Urology**, (Suppl.), n.1, p.5-10, 1995.

McCONNEL, J. D. et al. Finasteride, an inhibitor of 5 α -reductase, suppresses prostatic dihydrotestosterone in men with benign prostatic hyperplasia, **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v.74, p.505-508, 1992.

MEYER, M. D. et al. Structure-activity studies for a novel series of bicyclic substituted hexahydrobenz[e]isoindole α_{1A} adrenoceptor antagonists as potential agents for the symptomatic treatment of benign prostatic hyperplasia. **Journal of Medicinal Cemistry**, n.44, p.1971-1985, 2001.

MICHEL, M. C. et al. Tamsulosin: Real life clinical experience in 19,365 patients. **European Urology**, n.34, (suppl. 2), p.37-45, 1998.

MICHELOTTI, G. A., PRICE, D. T. & SCHWINN, D. A. α_1 -Adrenergic receptor regulation: basic science and clinical implications. **Pharmacology & Therapeutics**, n.88, p.281-309, 2000.

MOORE, R. A. Benign hypertrophy and carcinoma of the prostate. Occurrence and experimental production in animals, **Surgery**, n.16, p.152-167, 1944.

MORIYAMA, N. et al. KMD-3213: a novel α_{1A} -adrenoceptor antagonist, potently inhibits the functional α_1 -adrenoceptor in human prostate. **European Journal of Pharmacology**, n.331, p.39-42, 1944.

NANDA, Kamna et al. RBx 6198: A novel α_1 -adrenoceptor antagonist for the treatment of benign prostatic hyperplasia. **European Journal Of Pharmacology**, India, v. 607, n. , p.213-219, 2009.

NASCIMENTO, J. B., **Avaliação farmacológica de novos antagonistas duais de adrenoceptores- α_1 e receptores 5-HT_{1A}: características estruturais de derivados *N-fenilpiperazínicos* que influenciam o parâmetro afinidade**. 2011. 150 f. Dissertação (Mestrado) – Departamento de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ, Rio de Janeiro, 2011.

NETTO, N. R. Jr. et al. Evaluation of patients with bladder obstruction and mild international prostate symptom score followed up by watchful waiting. **Urology**. n. 53, p. 314-316, 1999.

NISHIMUNE, A. et al. Phenotype pharmacology of lower urinary tract α_1 -adrenoceptors. **British Journal of Pharmacology**, Japão, v. 165, p.1226-1234, 2012.

NASU K. et al. Quantification and distribution of alpha1-adrenoceptor subtype mRNAs in human prostate: comparison of benign hypertrophied tissue and non-hypertrophied tissue. **British Journal of Farmacology**, n.119, p.797–803, 1944.

NORMINGTON, K.; RUSSEL, D. W. Tissue distribution and kinetic characteristic of rat steroid 5α -reductase isozymes. **Journal of Biological Chemistry**, n.267, p.19548-19554, 1992.

OESTERLING, J. E. Benign prostatic hyperplasia. Medical and minimally invasive treatment options. **New England Journal of Medicine**, n.332, p.99-109, 1995.

PETERSEN, R. O. Trato Urinário e Sistema Reprodutor Masculino. In: RUBIN, E.; FABER, J. L., **Patologia**, 1 ed., Rio de Janeiro: Interlivros, 1990, p. 822.

PRICE, D. et al. Identification, quantification, and localization of mRNA for three distinct α_1 -adrenergic receptor subtypes in human prostate. **Journal of Urology**, n.150, p.546-551, 1993.

PRICE, D. T. et al. Expression of alpha 1-adrenergic receptor subtype mRNA in rat tissue and human SK-N-MC Neuronal Cells: implications for alpha 1-adrenergic receptor subtype classification. **Molecular Pharmacology**, n.46, p.221-226, 1994.

ROEHRBORN, Claus G.. Male Lower Urinary Tract Symptoms (LUTS) and Benign Prostatic Hyperplasia. **Medical Clinics Of North America**, Estados Unidos, v. 95, p.87-100, 2011.

ROMEIRO, Luiz Antonio Soares. **Planejamento, Síntese e Avaliação Farmacológica de Novos Antagonistas α -Adrenérgicos, Derivados do Safrol**. 2002. 236 f. Tese (Doutorado) - Instituto de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro- UFRJ, Rio de Janeiro, 2002.

ROMEIRO, Luiz Antonio Soares; BARREIRO, Eliezer J.; FRAGA, Carlos Alberto Manssour. Novas estratégias terapêuticas para o tratamento da depressão: uma visão da química medicinal. **Química Nova**, São Paulo, v. 23, n. 6, p.347-358, 2002.

ROMEIRO, Luiz Antonio Soares, *et al.* Discovery of LASSBio-772, a 1,3-benzodioxole N-phenylpiperazine derivative with potent alpha 1A/D-Adrenergic receptor blocking properties. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, Brasil, v. 46, p.3000-3012, 2011.

ROSINI, Michela et al. Recent Advances in α 1-Adrenoreceptor Antagonists as Pharmacological Tools and Therapeutic Agents. **Current Topics In Medicinal Chemistry**, Italia, v. 7, p.147-162, 2007.

RUDNER, X. L. et al. Subtype specific regulation of human vascular α ₁-adrenergic receptors by vessel bed and age, **Circulation**, n.100, p.2336-2343, 1999.

RUSSEL, D. W.; WILSON, J. D. Steroid 5 α -reductase: two genes/ two enzymes. **Annual Review of Biochemistry**, n.63, p.25-61, 1994.

SAGRATINI, Gianni et al. Synthesis and α 1-adrenoceptor antagonist activity of tamsulosin analogues. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, Camerino, Italy, n. , p.1-8, 2010.

SCHMIDTA, Lucy J.; TINDALL, Donald J.. Steroid 5 alpha-reductase inhibitors targeting BPH and prostate cancer. **Journal Of Steroid Biochemistry & Molecular Biology**, United States, v. 125, p.32-38, 2011.

SHARMA, Brij Kishore; SARBHAI, Kirti; SINGH, Prithvi. A rationale for the activity profile of arylpiperazinylthioalkyls as 5-HT_{1A}-serotonin and α 1-adrenergic receptor ligands. **European Journal Of Medicinal Chemistry**, India, v. 45, n. , p.1927-1934, 2010.

SHIBATA, K. et al. KMD-3213, a novel, potent, α _{1a}-adrenoceptor-selective antagonist: characterization using recombinant human α ₁-adrenoceptors and native tissues. **Molecular Pharmacology**, n.48, p.250-258, 1995.

STONER, E. The Finasteride Study Group: Maintenance of clinical efficacy with finasteride therapy for 24 months in patients with benign prostatic hyperplasia. **Archives of Internal Medicine**, n.154, p. 83-87, 1994.

SUAID, Haylton J. et al. Estimated costs of treatment of benign prostate hyperplasia in Brazil. **International Brazilian journal of urology**, Rio de Janeiro, v. 29, n. 3, p.234-237, 2003.

TESTA, R. et al. The α_{1d} -adrenoceptor subtype is involved in the noradrenaline-induced contractions of rat aorta. **Life Sciences**, n.57, p.159-163, 1995.

TSENG-CRANK, J. et al. The α_{1C} -adrenoceptor in human prostate: Cloning, functional expression, and localization to specific prostatic cell types. **British Journal of Pharmacology**, n.115, p.1475–1485, 1995.

UROLOGY CARE. **BPH: MEDICAL MANAGEMENT (BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA /ENLARGED PROSTATE)**. Disponível em: <<http://www.urologyhealth.org/urology/index.cfm?article=1>>. Acesso em: 30 abr. 2013.

WEIS, K. A. et al. The costs of prostatectomy for benign prostatic hyperplasia. **Prostate**, n.22, p.325-334, 1993.

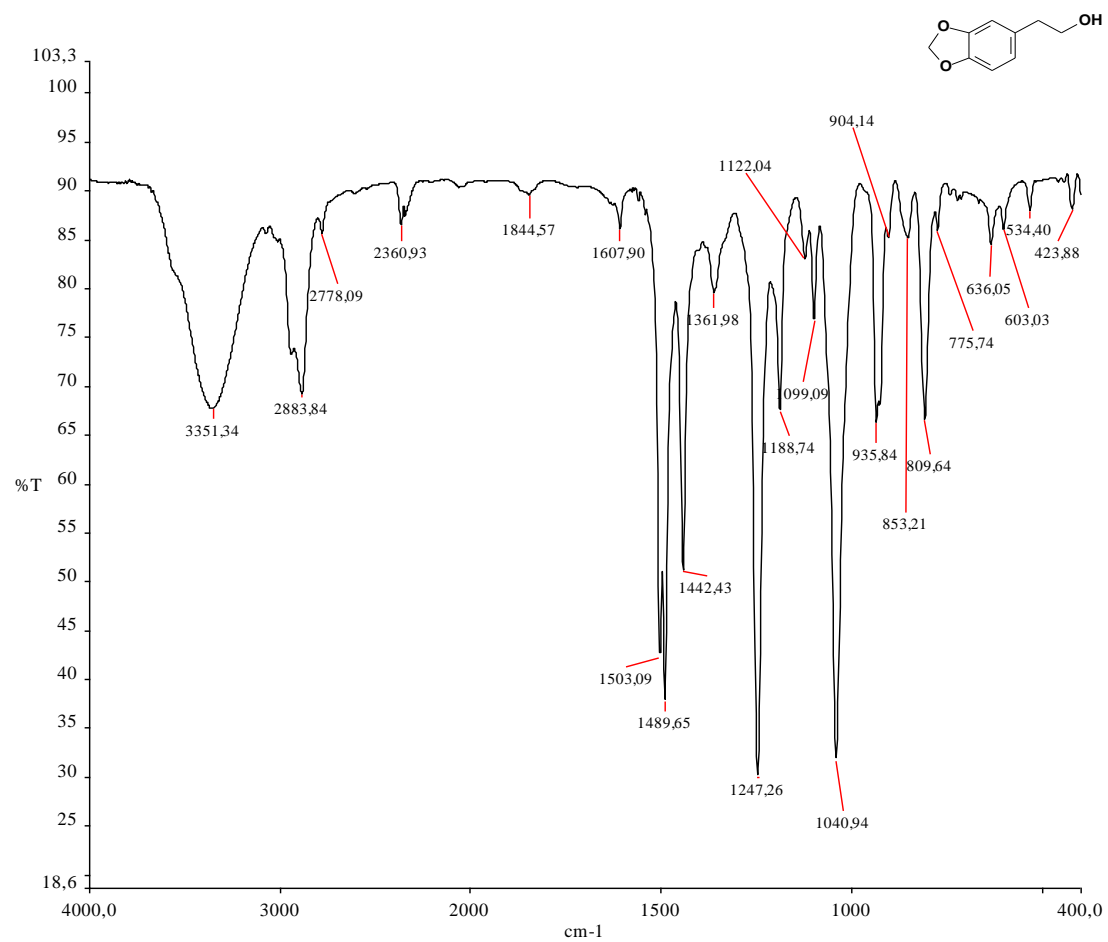
WU, C., KAPOOR, A., Dutasteride for the treatment of benign prostatic hyperplasia. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, n. 14, p. 1399-1408, 2013.

XIN, Zhixiang et al. Addition of Antimuscarinics to Alpha-blockers for Treatment of Lower Urinary Tract Symptoms in Men: A Meta-analysis. **Urology**, China, v. 82, n. , p.270-277, 2013.

YAMAGISHI, R. et al. Effect of KMD-3213, na α_{1a} -adrenoceptor-selective antagonist, on the contraction of rabbit protate and rabbit and rat aorta. **European Journal of Pharmacology**, n.315, p.73-79, 1996.

ZHAO, Xin et al. Ligand-based pharmacophore model of N-Aryl and N-Heteroaryl piperazine. **Journal Of Molecular Graphics And Modelling**, China, p.1-11, 2010.

ANEXO 1

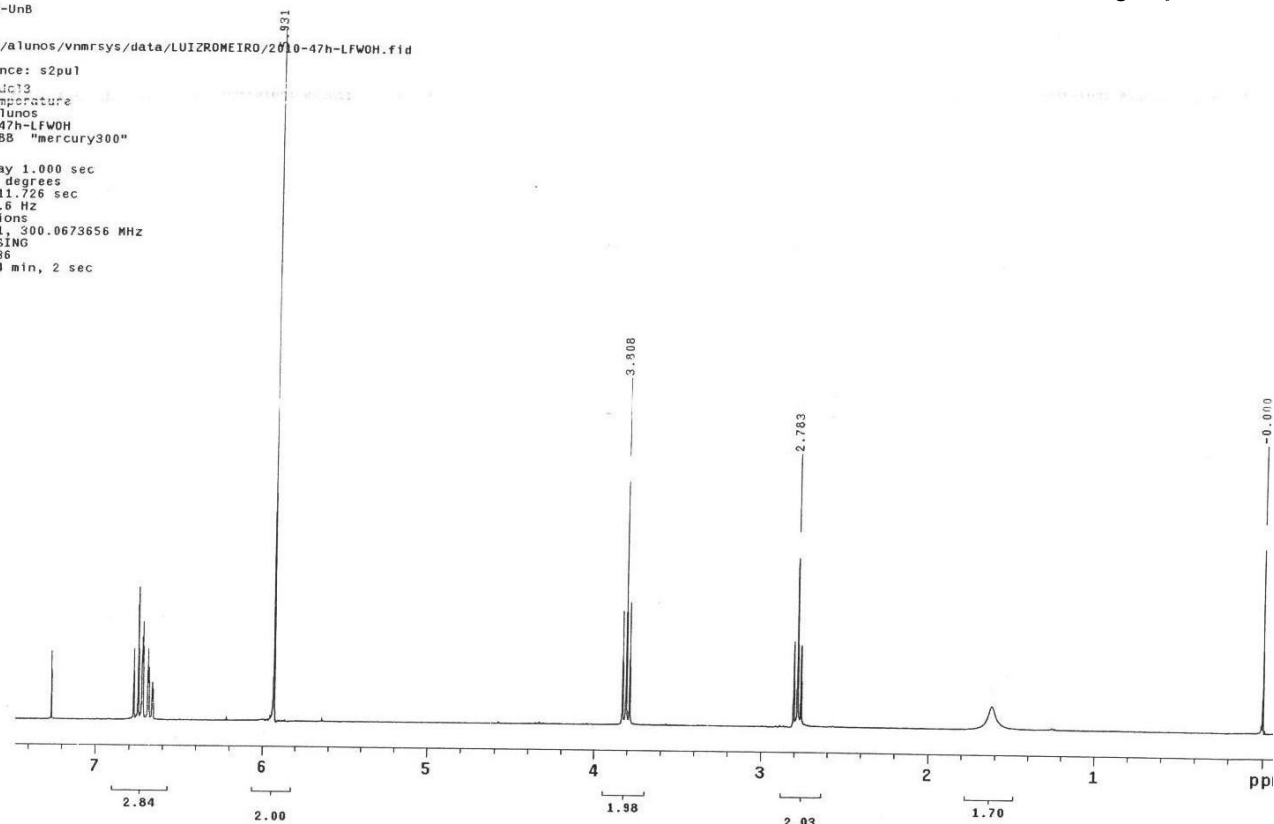


Espectro no Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – 28a

ANEXO 2

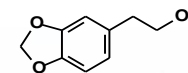
2010-47h-LFHOH
Luiz
Farmacia-FS-UnB
60 mg
File: /home/alunos/vnmr/sys/data/LUIZROMEIRO/2010-47h-LFHOH.fid
Pulse Sequence: s2pu1
Solvent: CDCl3
Ambient temperature
Operator: alunos
File: 2010-47h-LFHOH
Mercury-300BB "mercury300"

Relax. delay 1.000 sec
Pulse 45.0 degrees
Acq. time 11.726 sec
Width 2771.6 Hz
16 repetitions
OBSERVE H1, 300.0673656 MHz
DATA PROCESSING
FT size 65536
Total time 4 min, 2 sec



Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 28a

ANEXO 3



2010-47Apt-LFH0H
Luiz
Farmacia-FS-UnB
60 mg

File: /home/alunos/vnmrsys/data/LUIZROMEIRO/2010-47Apt-LFW0H.fid

Pulse Sequence: APT

Solvent: d2o

Ambient temperature

Operator: alunos

File: 2010-47Apt-LFW0H

Mercury-300BB "mercury300"

Relax. delay 1.000 sec

1st pulse 90.0 degrees

2nd pulse 135.0 degrees

Acq. time 1.794 sec

Width 18115.9 Hz

5988 repetitions

OBSERVE C13, 75.4520040 MHz

DECOUPLE H1, 300.0696288 MHz

Low power 10 dB atten.

ON during acquisition

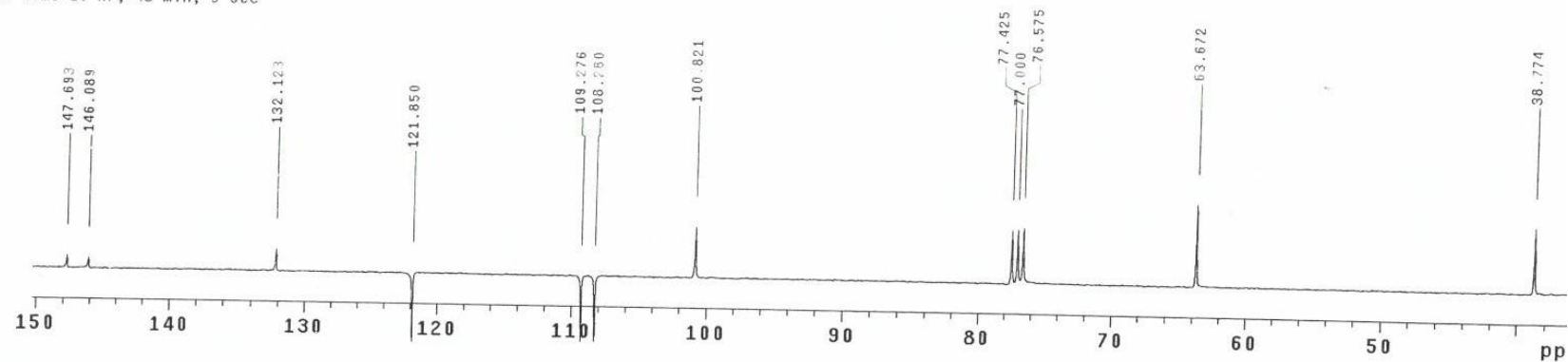
WALTZ-16 modulated

DATA PROCESSING

Line broadening 3.0 Hz

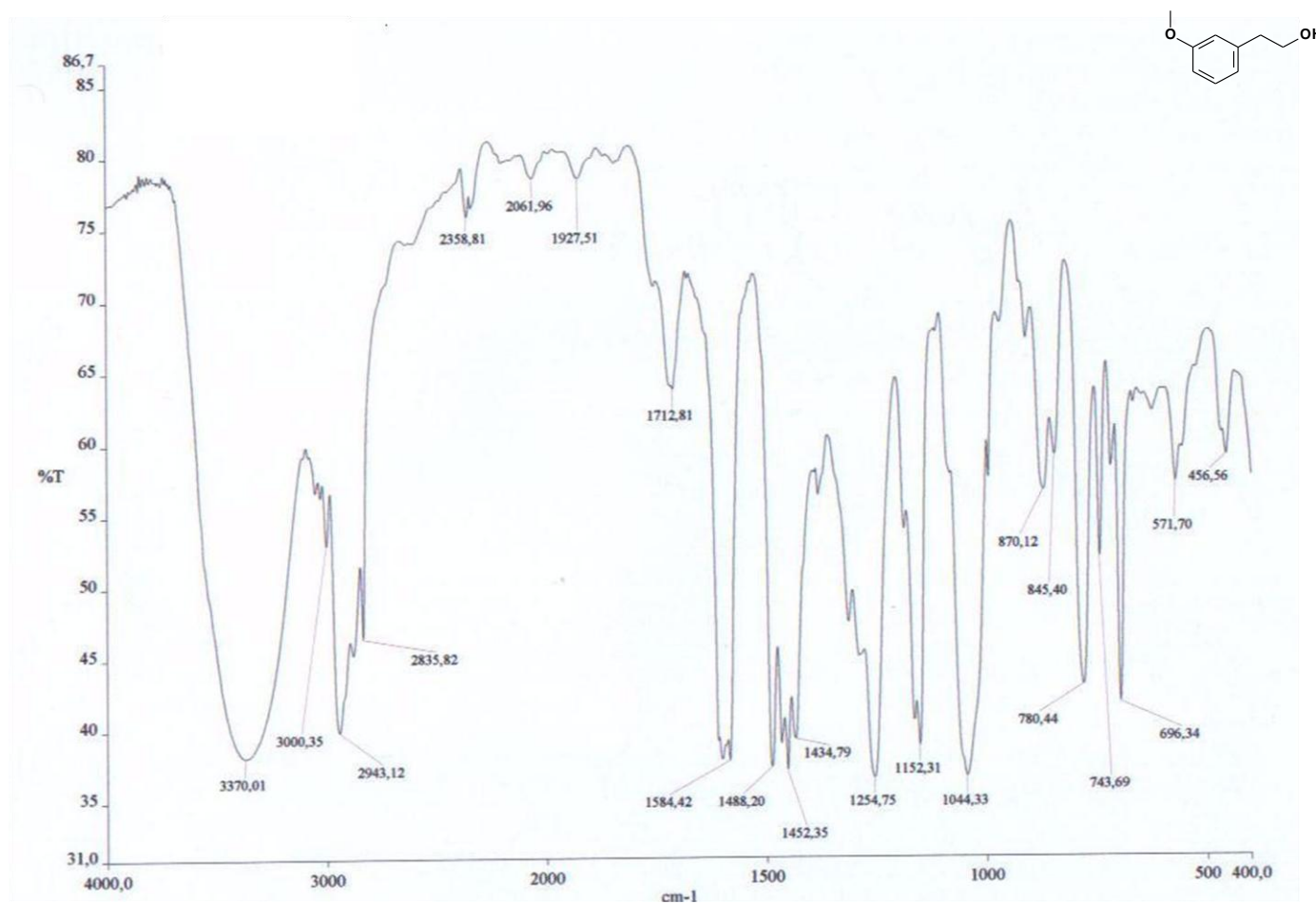
FT size 65536

Total time 10 hr, 43 min, 5 sec



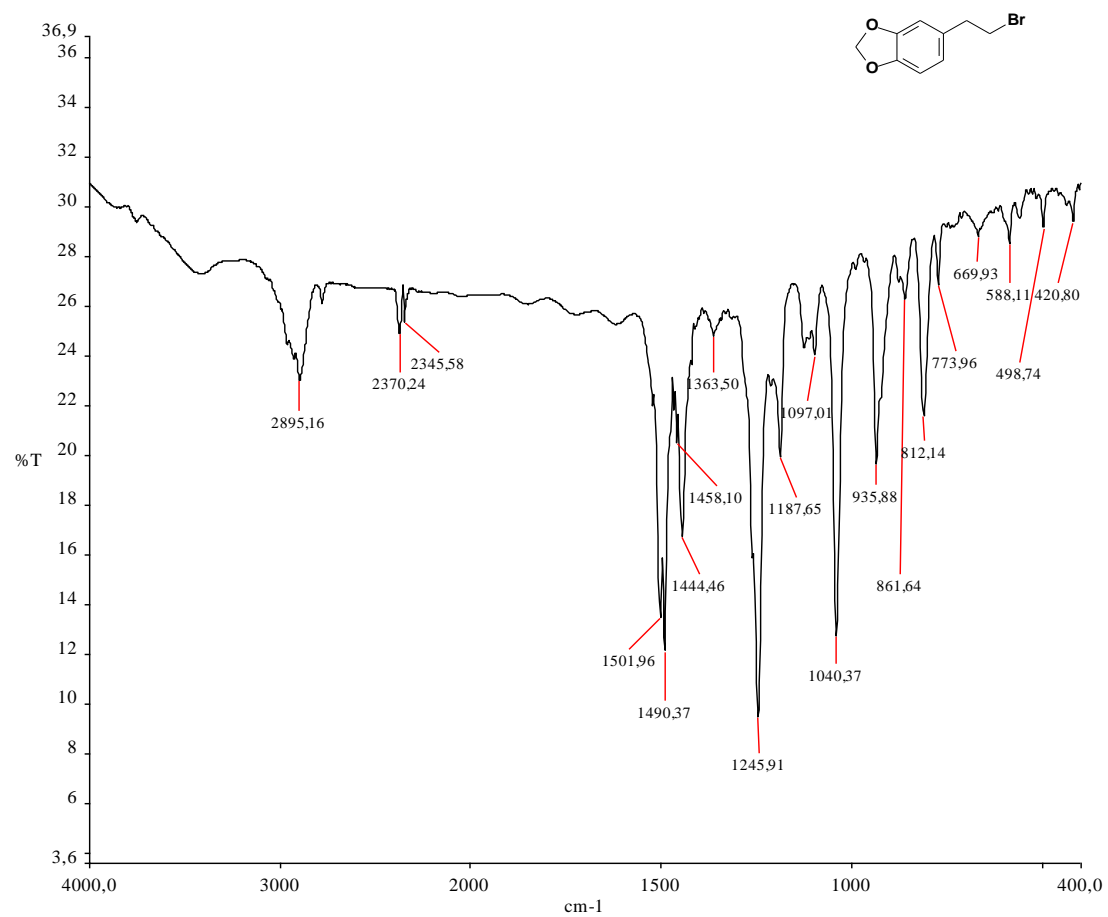
Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) – 28a

ANEXO 4



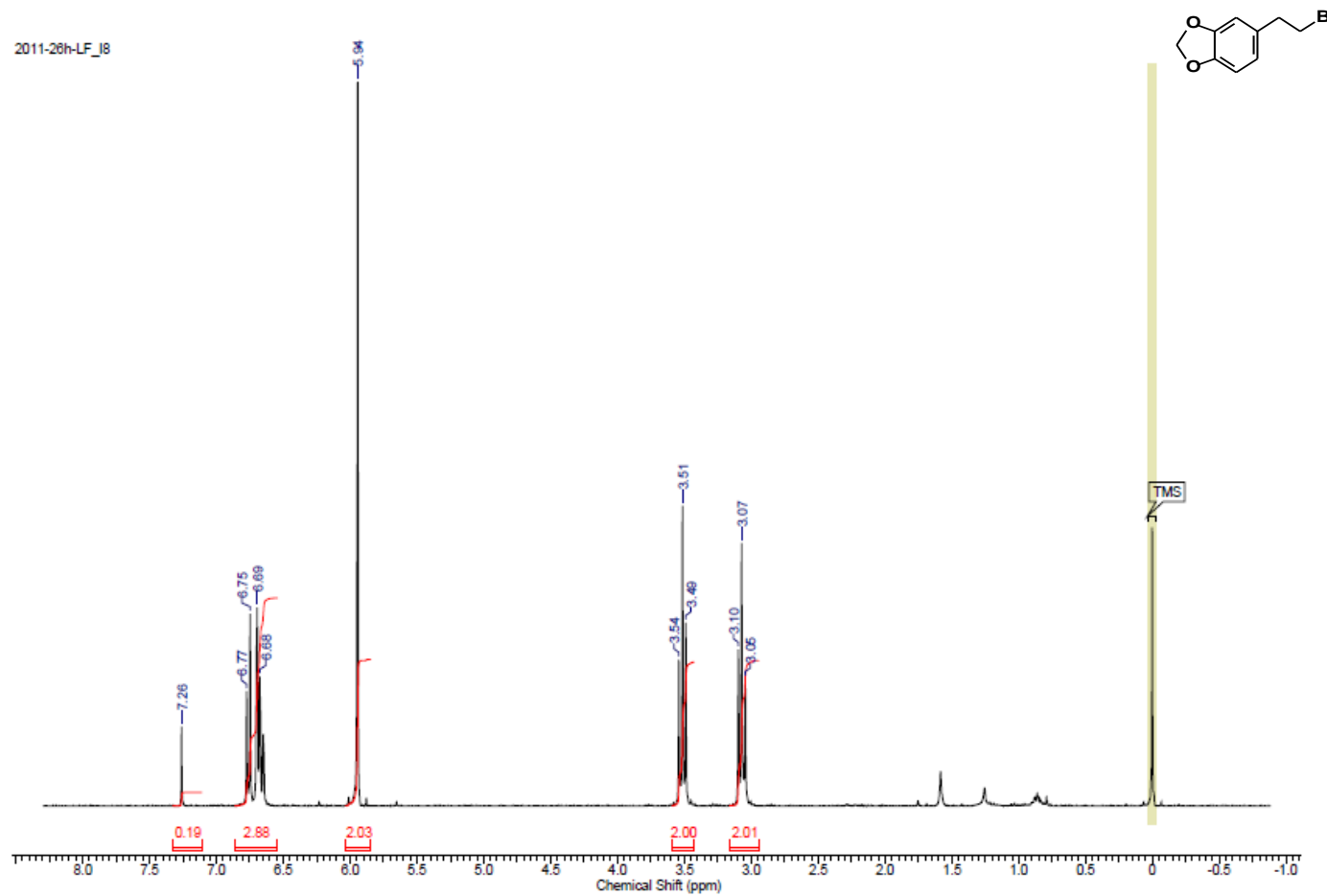
Espectro no Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – 28c

ANEXO 5

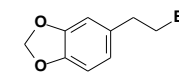


Espectro no Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – 29a

ANEXO 6

Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 29a

ANEXO 7



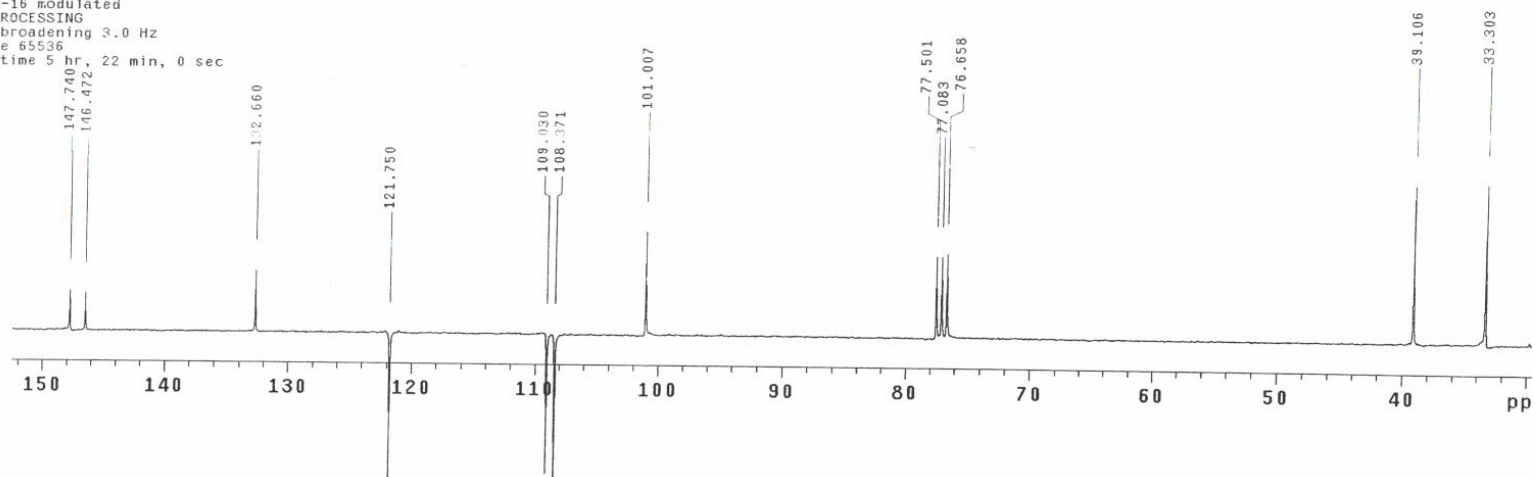
2010-46Apt-LFHBr
Luiz
Farmacia-FS-UnB
60 mg

File: /home/alunos/vnmrsys/data/LUIZROMEIRO/2010-46Apt-LFHBr.fid

Pulse Sequence: APT

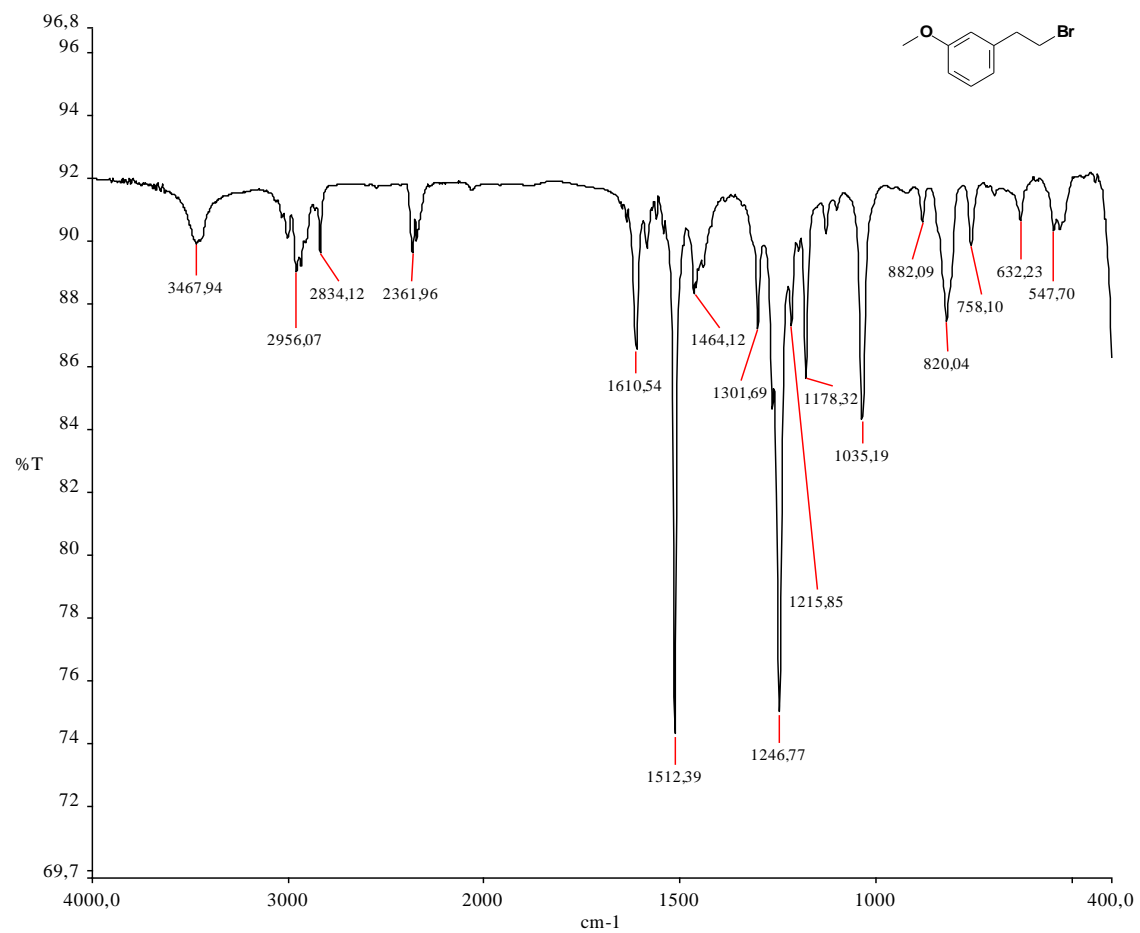
Solvent: cdcl3
Ambient temperature:
Operator: alunos
File: 2010-46Apt-LFHBr
Mercury-300BB "mercury300"

Relax. delay 1.000 sec
1st pulse 90.0 degrees
2nd pulse 135.0 degrees
Acq. time 1.794 sec
Width 18115.9 Hz
5000 repetitions
OBSERVE C13, 75.4519995 MHz
DECOUPLE H1, 300.0688576 MHz
Low power 10 dB atten.
on during acquisition
WALTZ-16 modulated
DATA PROCESSING
Line broadening 3.0 Hz
FT size 65536
Total time 5 hr, 22 min, 0 sec



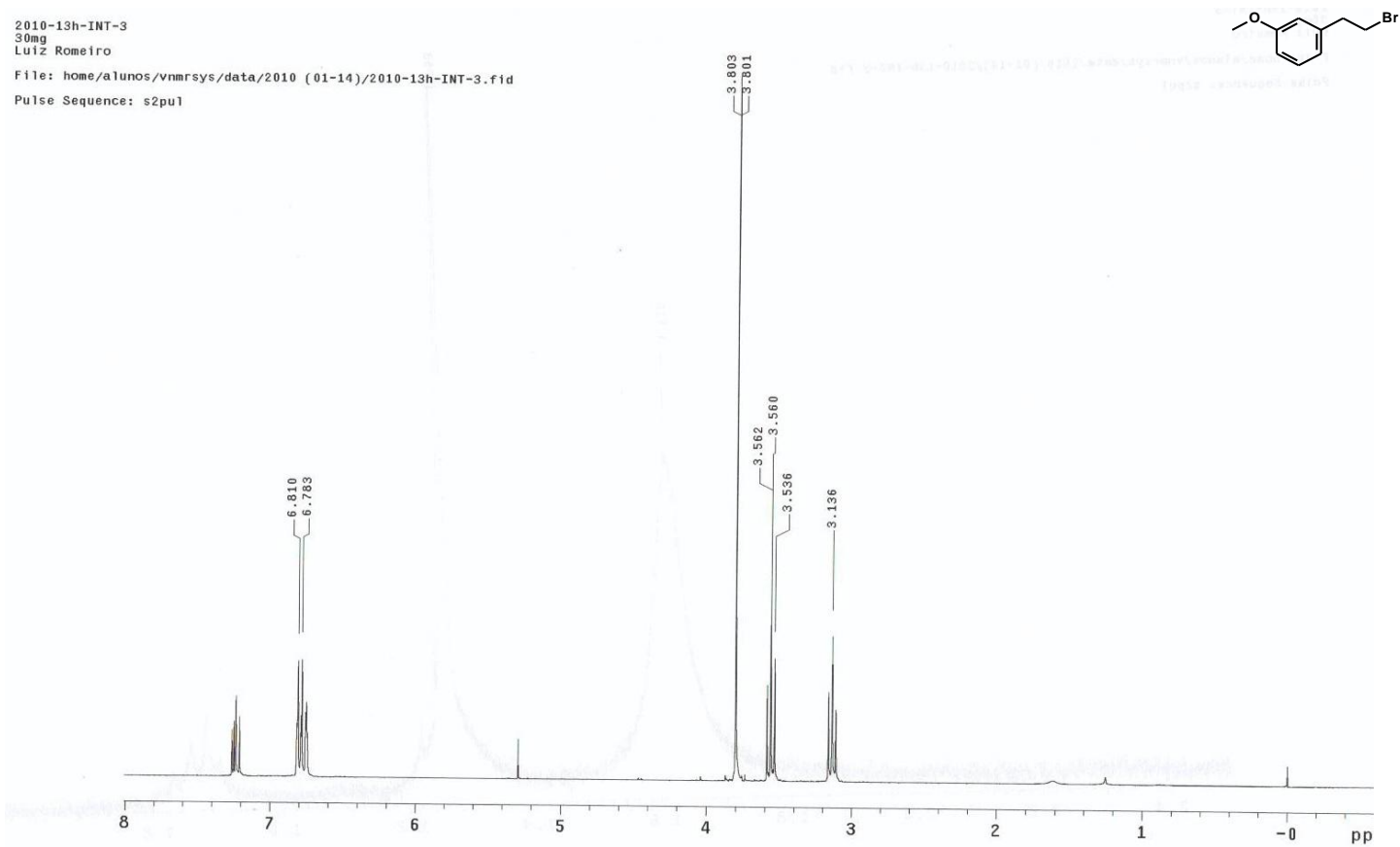
Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) – 29a

ANEXO 8

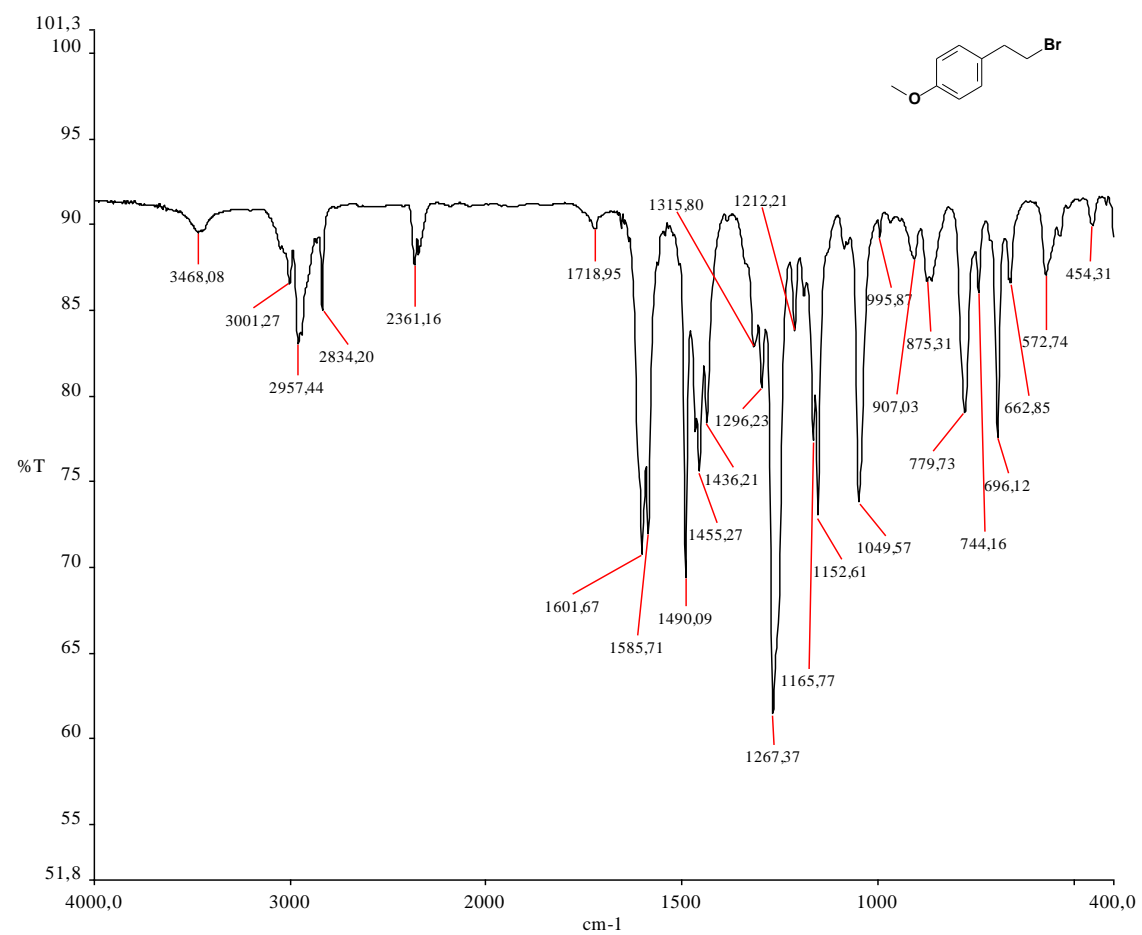


Espectro no Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – 29c

ANEXO 9

Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 29c

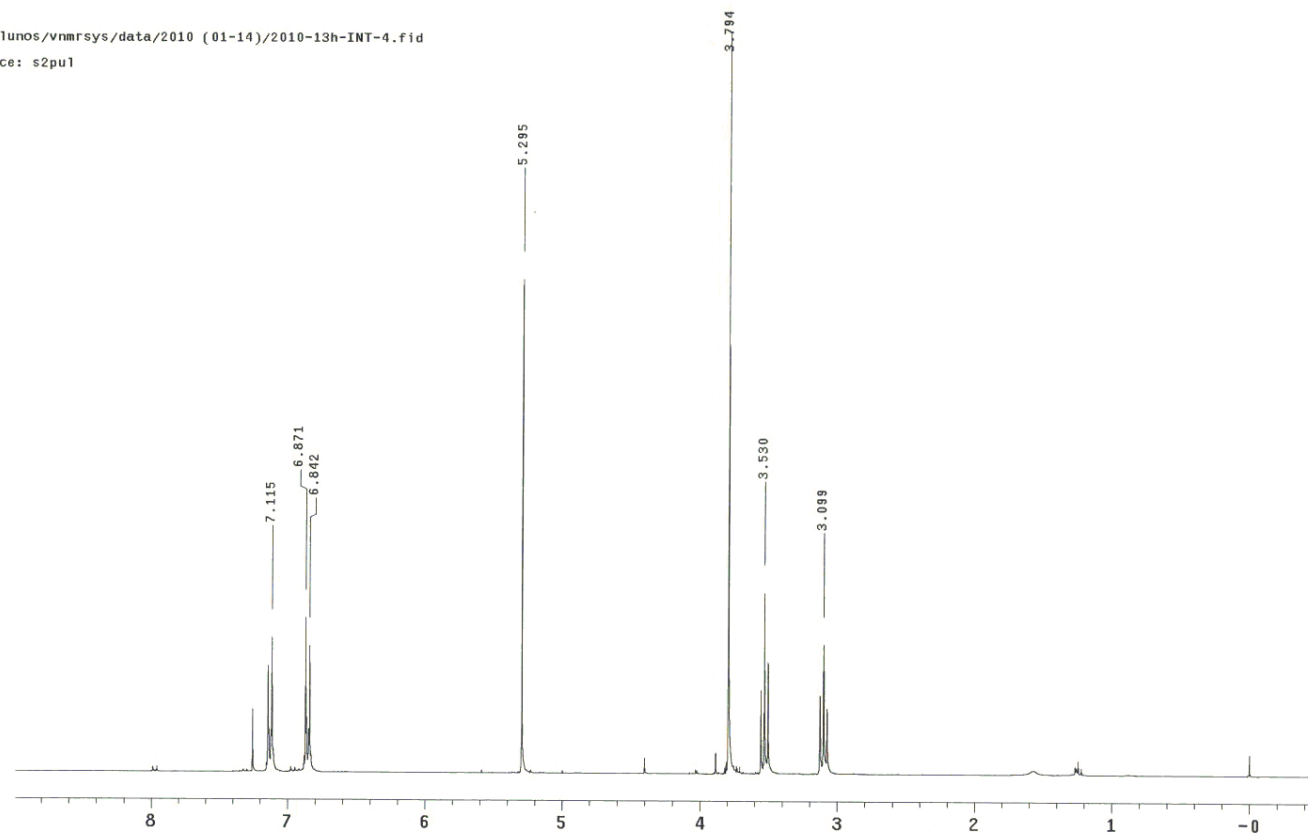
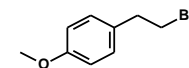
ANEXO 10



Espectro no Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – 29d

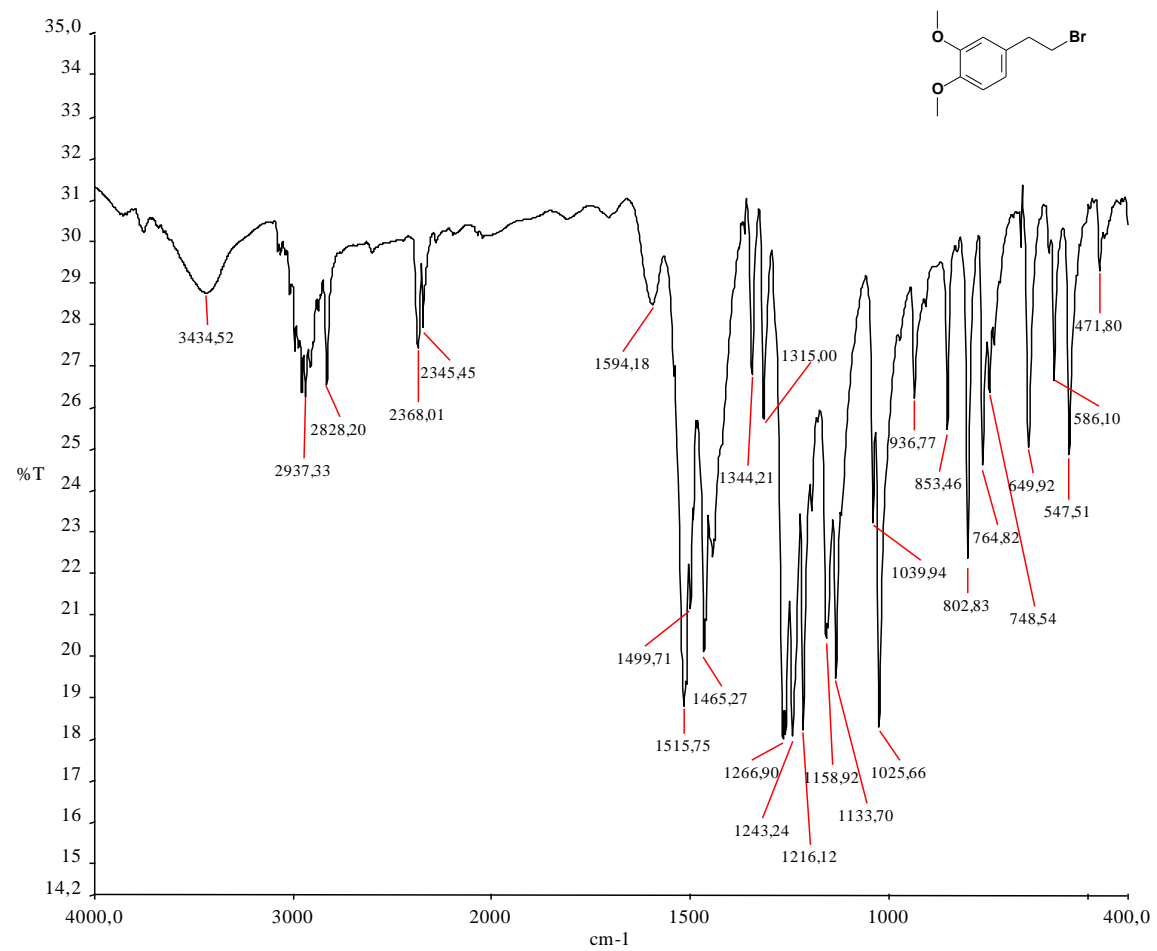
ANEXO 11

2010-13h-INT-4
30mg
Luiz Romeiro
File: home/alunos/vnmrsys/data/2010 (01-14)/2010-13h-INT-4.fid
Pulse Sequence: s2pu1



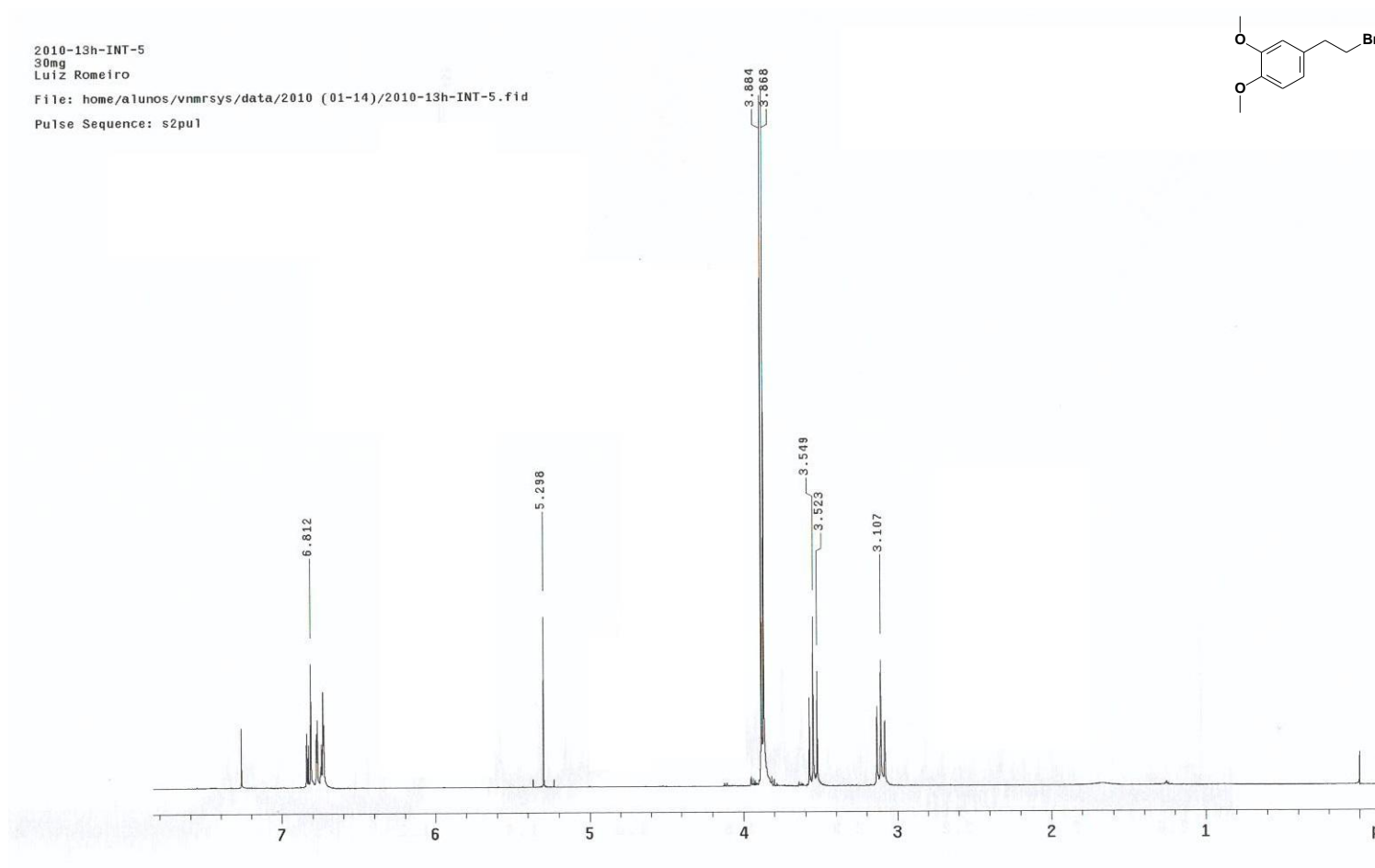
Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 29d

ANEXO 12

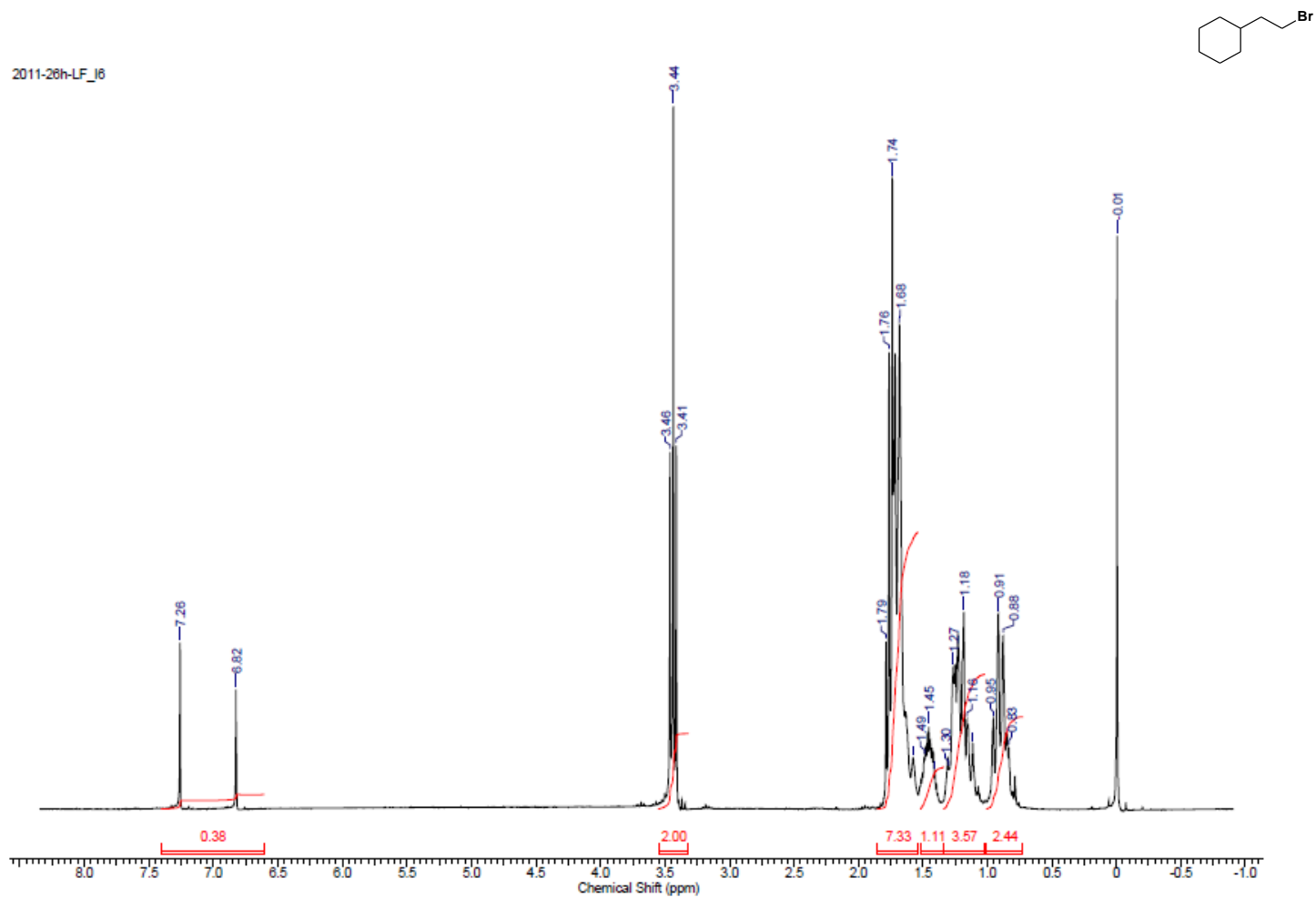


Espectro no Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – 29e

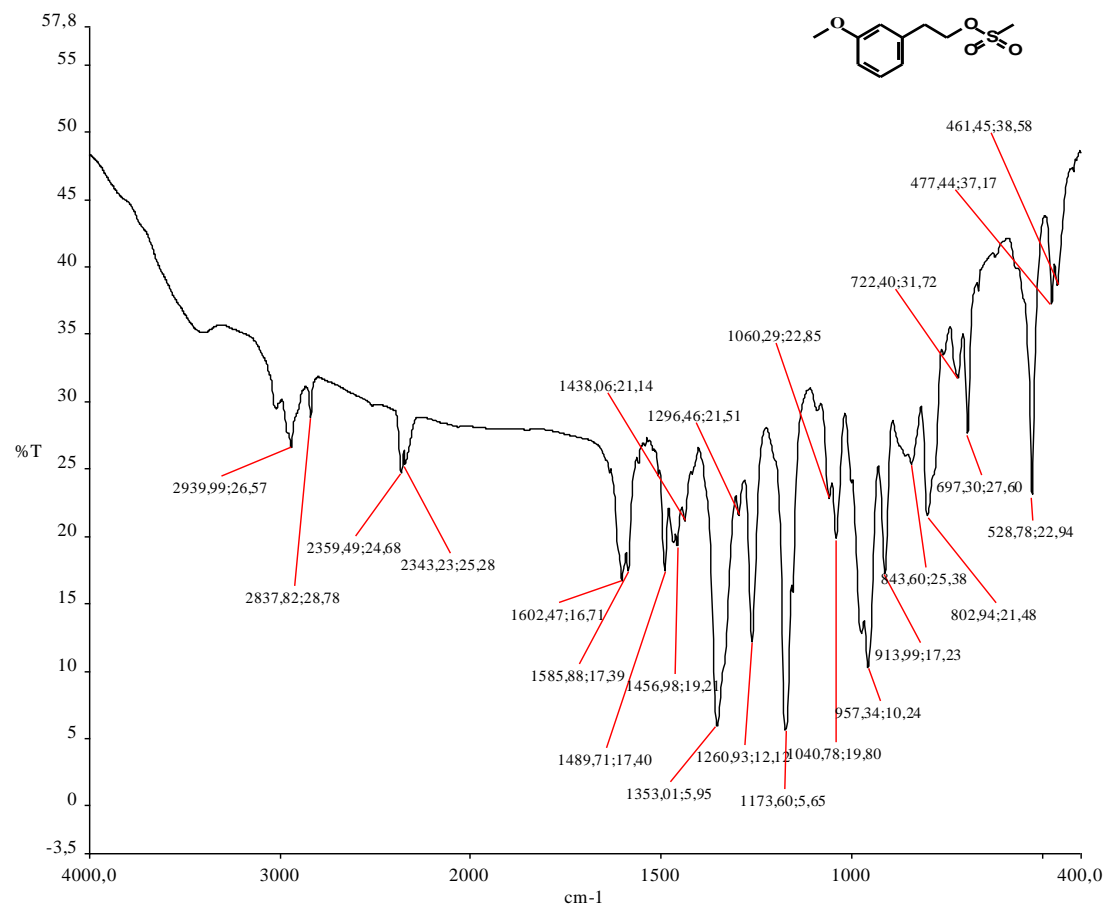
ANEXO13

Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 29e

ANEXO 14

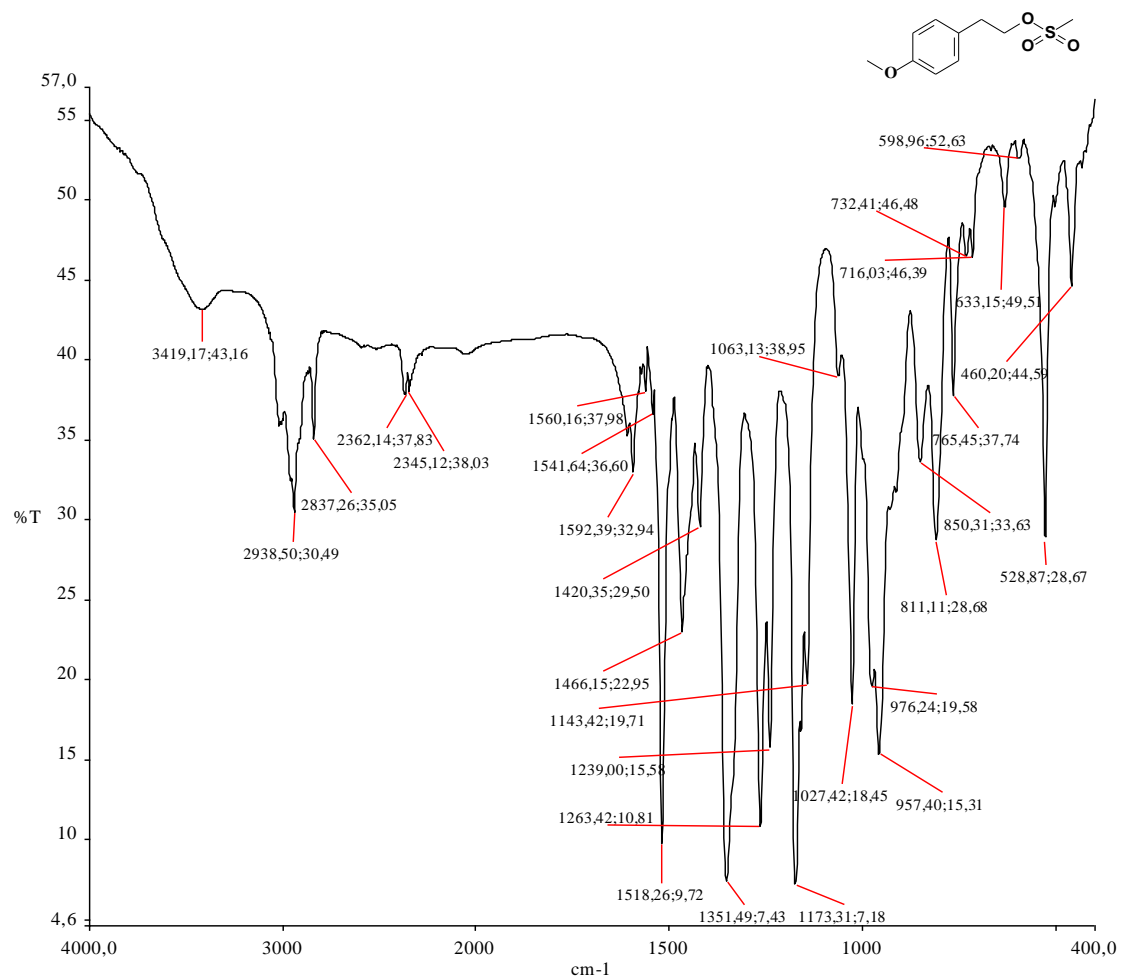
Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 29f

ANEXO 15



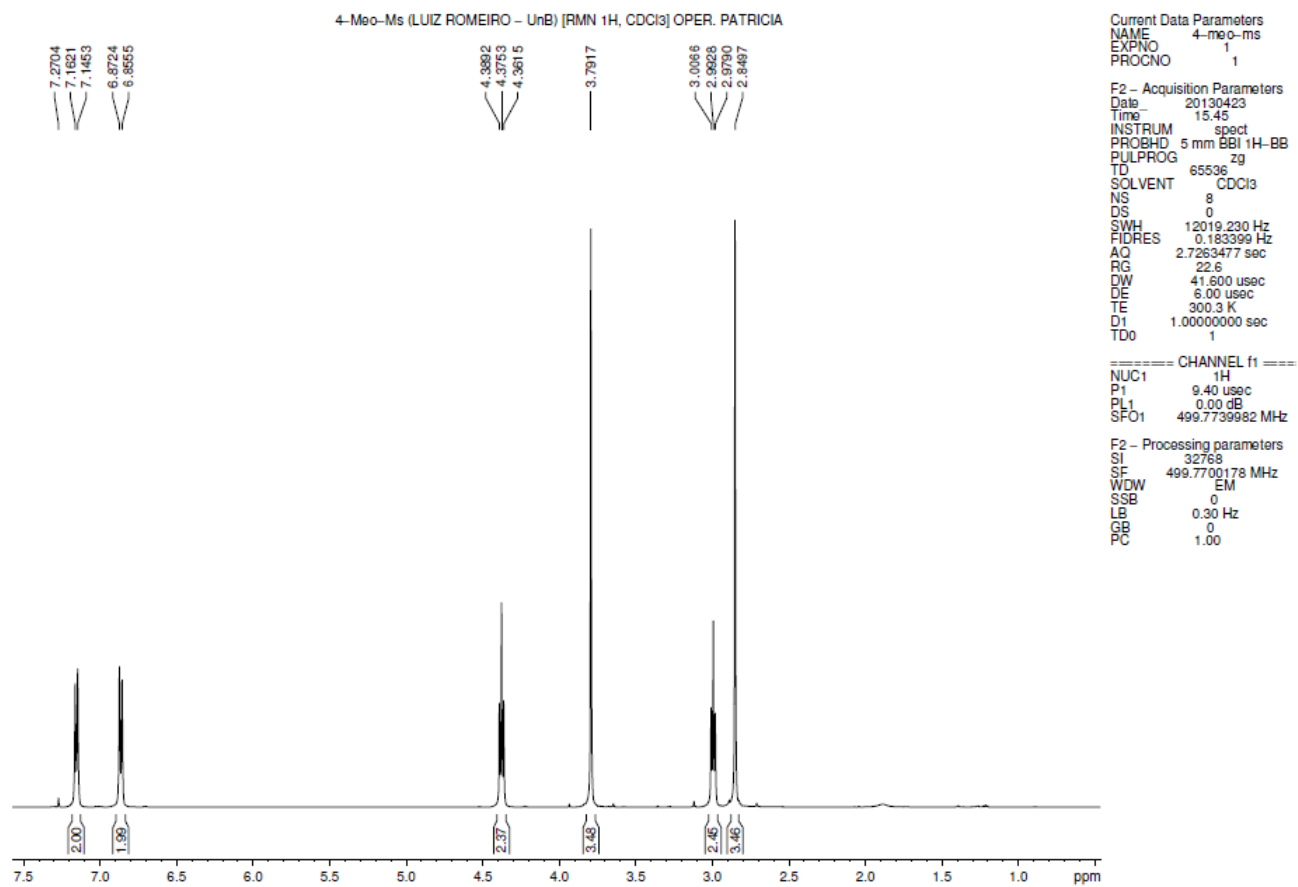
Espectro no Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – 30c

ANEXO 16

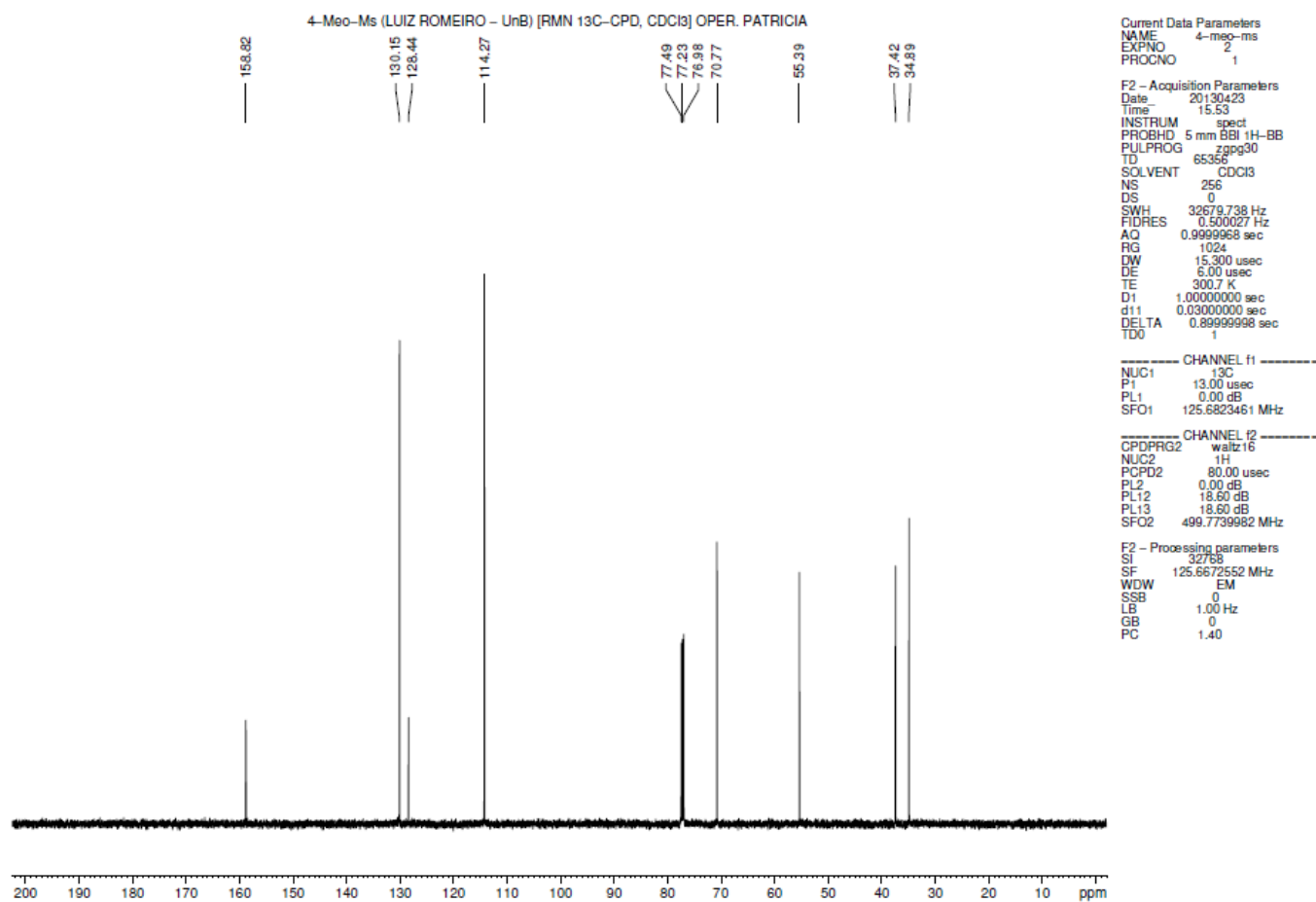
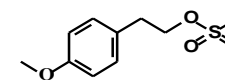


Espectro no Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – 30d

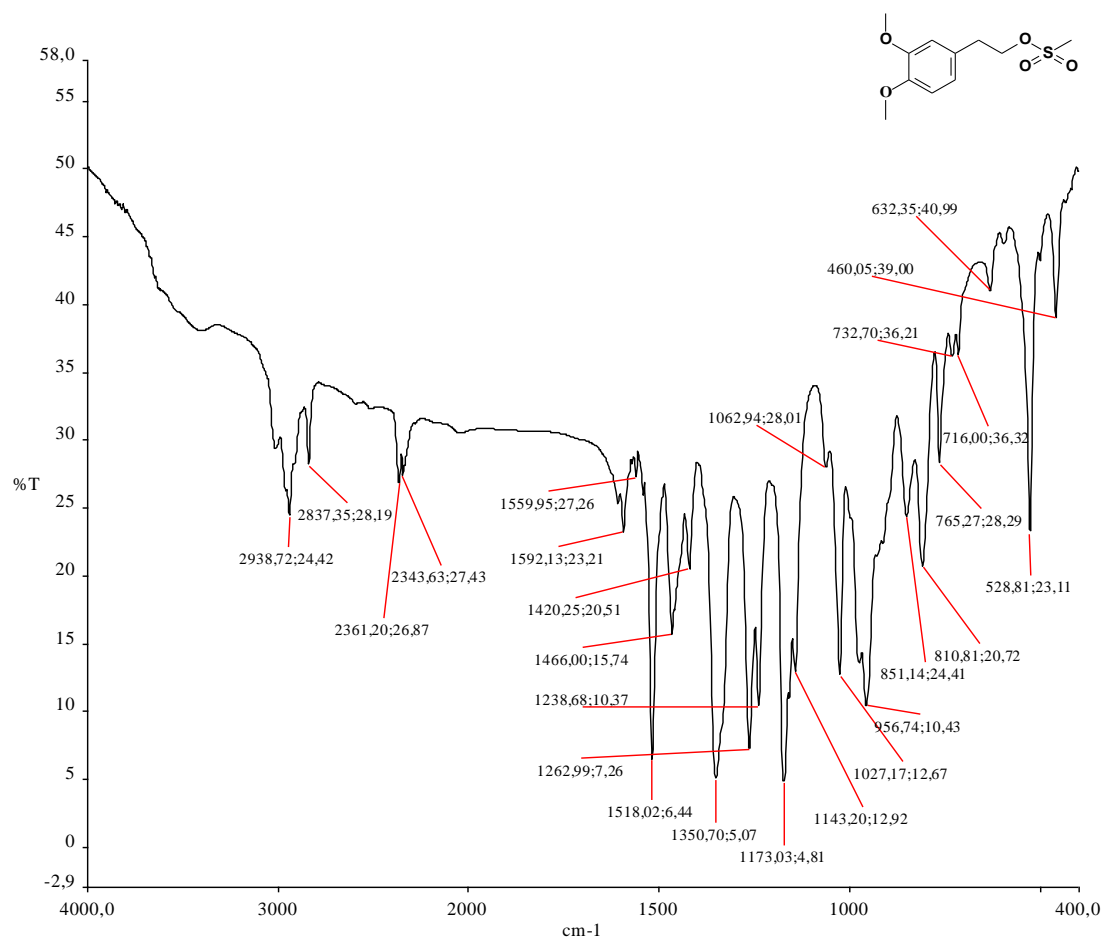
ANEXO 17

Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) - 30d

ANEXO 18

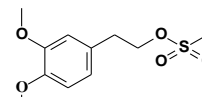
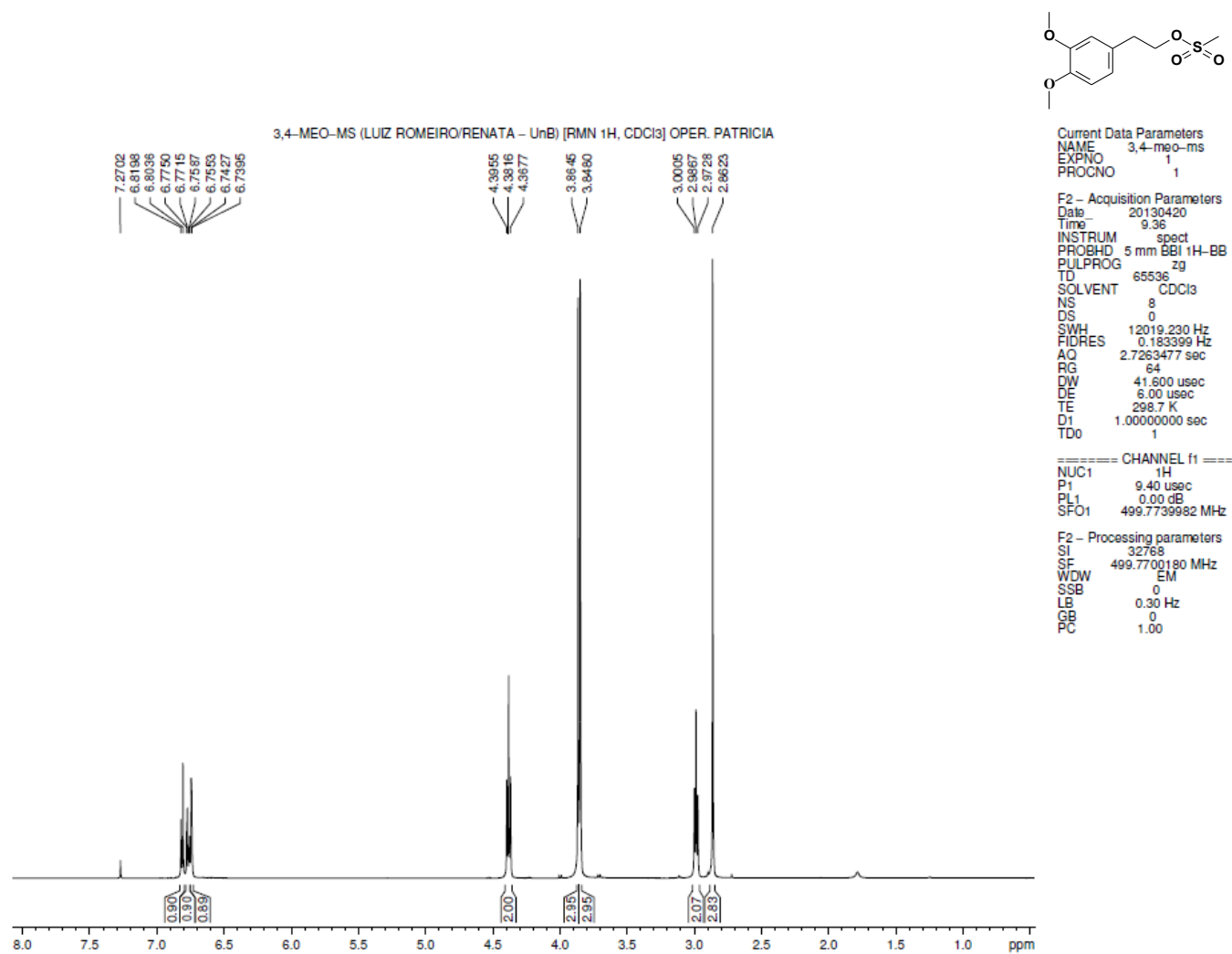
Espectro de RMN ¹³C (175 MHz, CDCl₃) - 30d

ANEXO 19



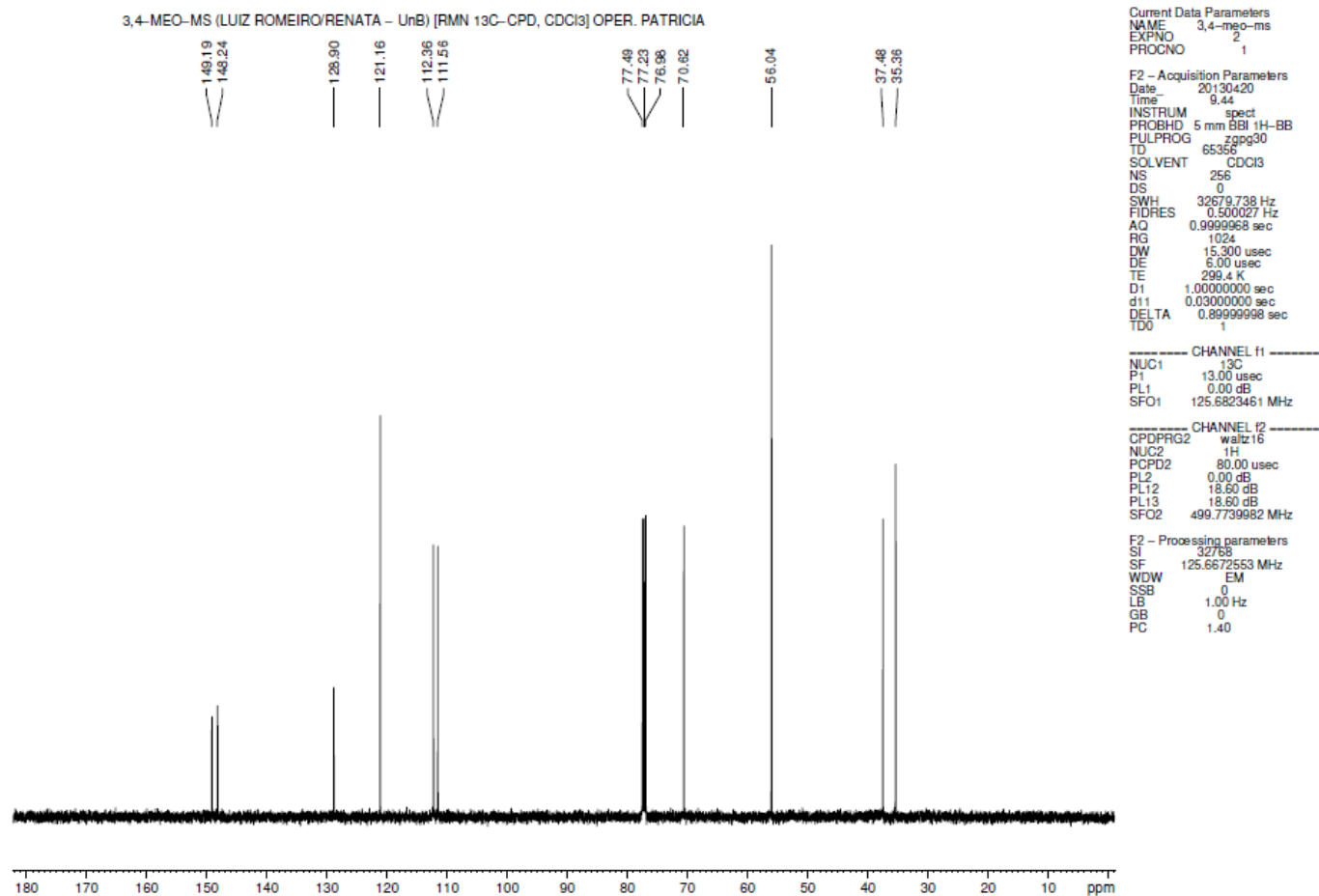
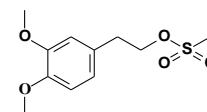
Espectro no Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – 30e

ANEXO 20

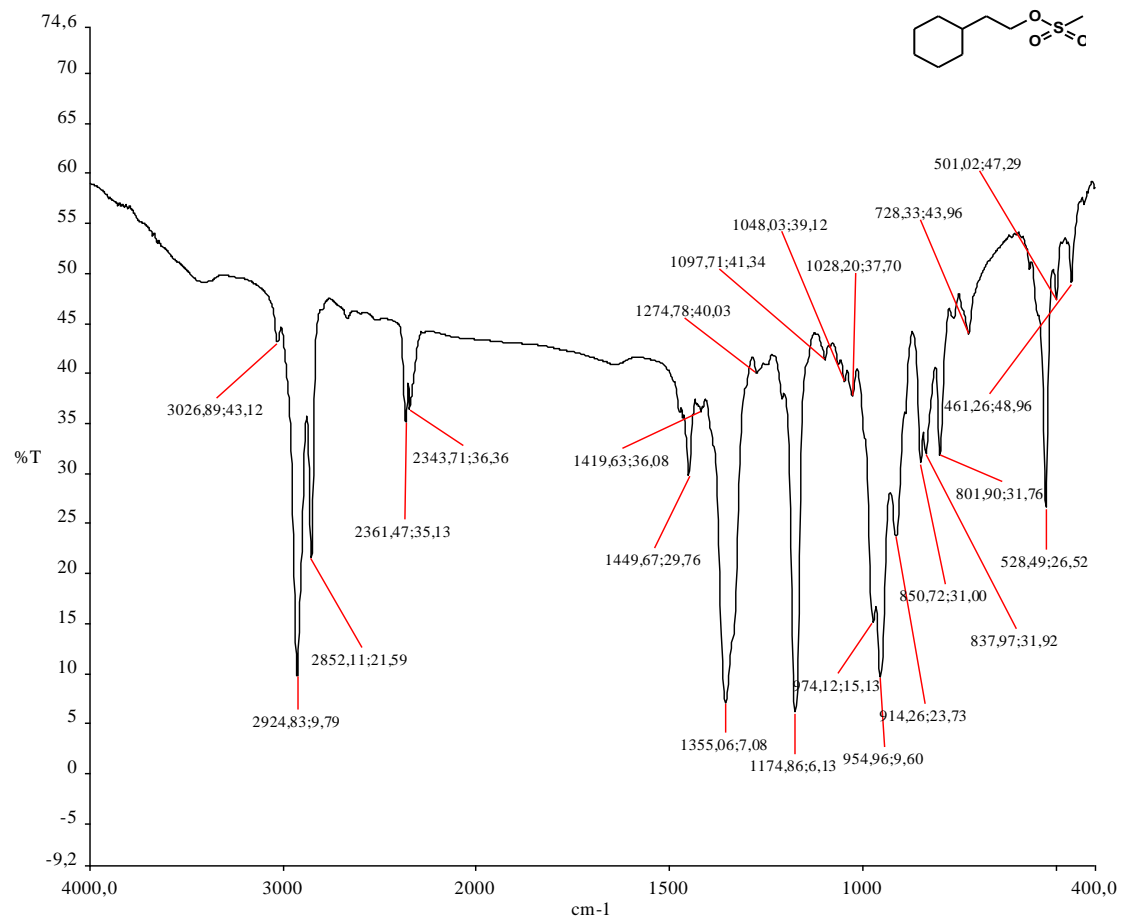


Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) – 30e

ANEXO 21

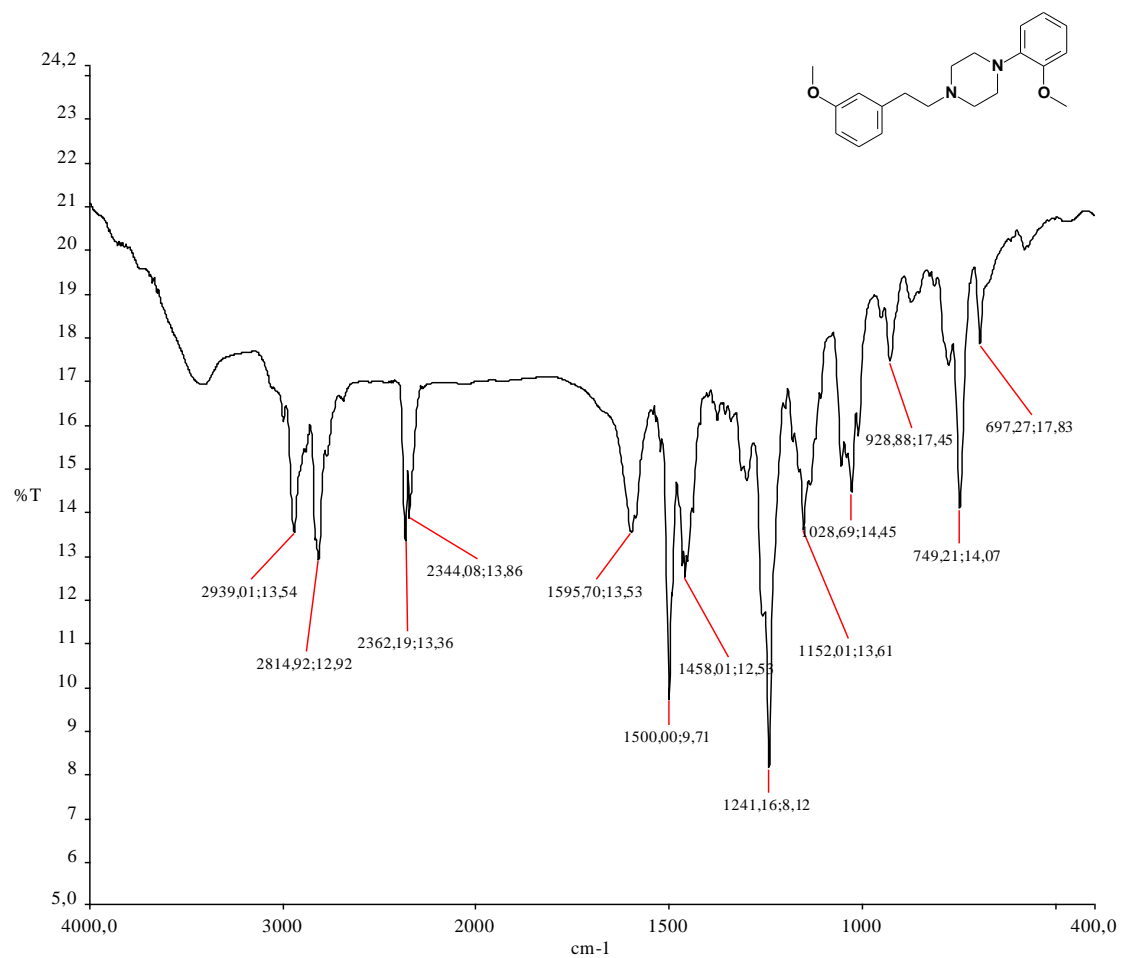
Espectro de RMN ¹³C (175 MHz, CDCl₃) – 30e

ANEXO 22



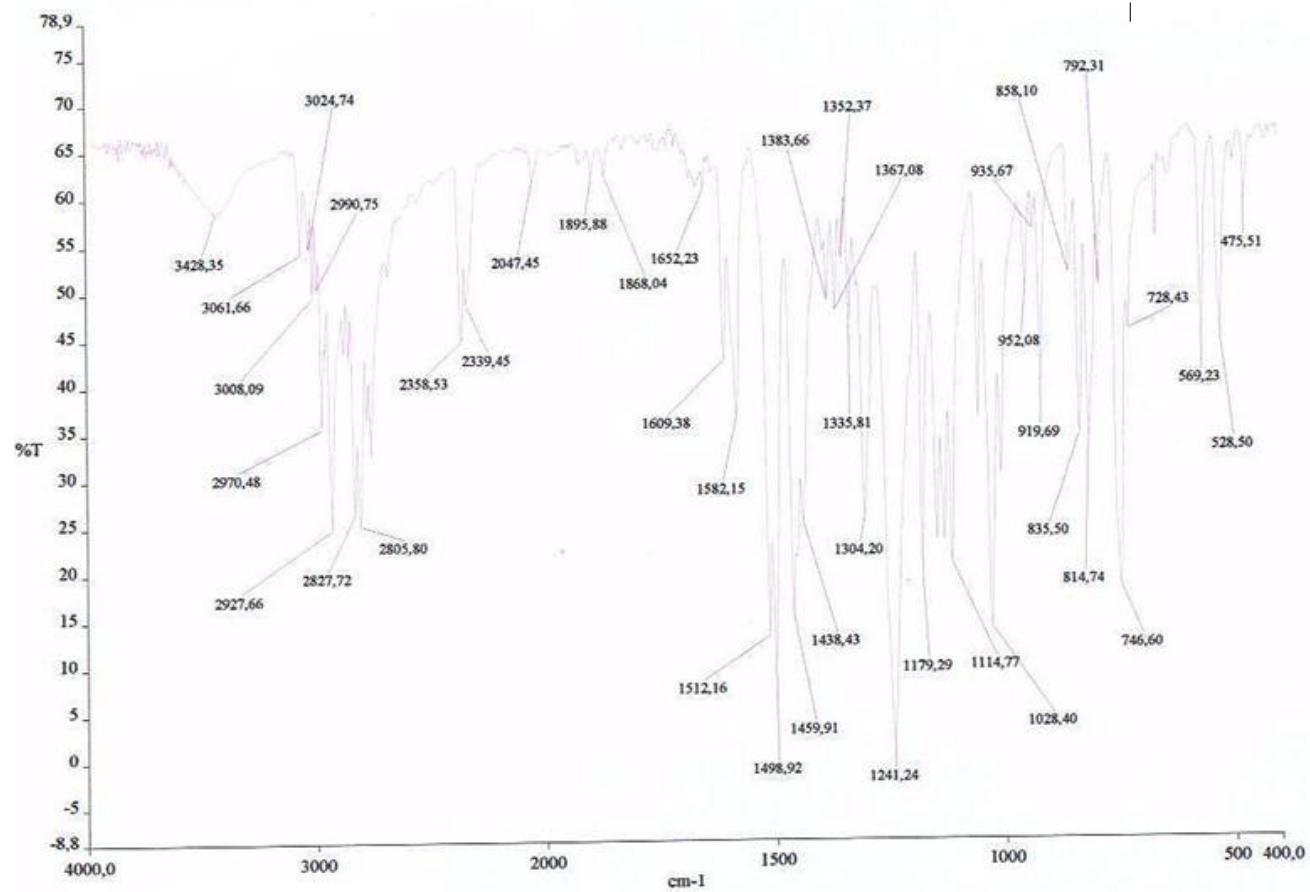
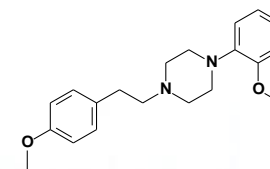
Espectro no Infravermelho ($\nu \text{ cm}^{-1}$, KBr) – 30f

ANEXO 23



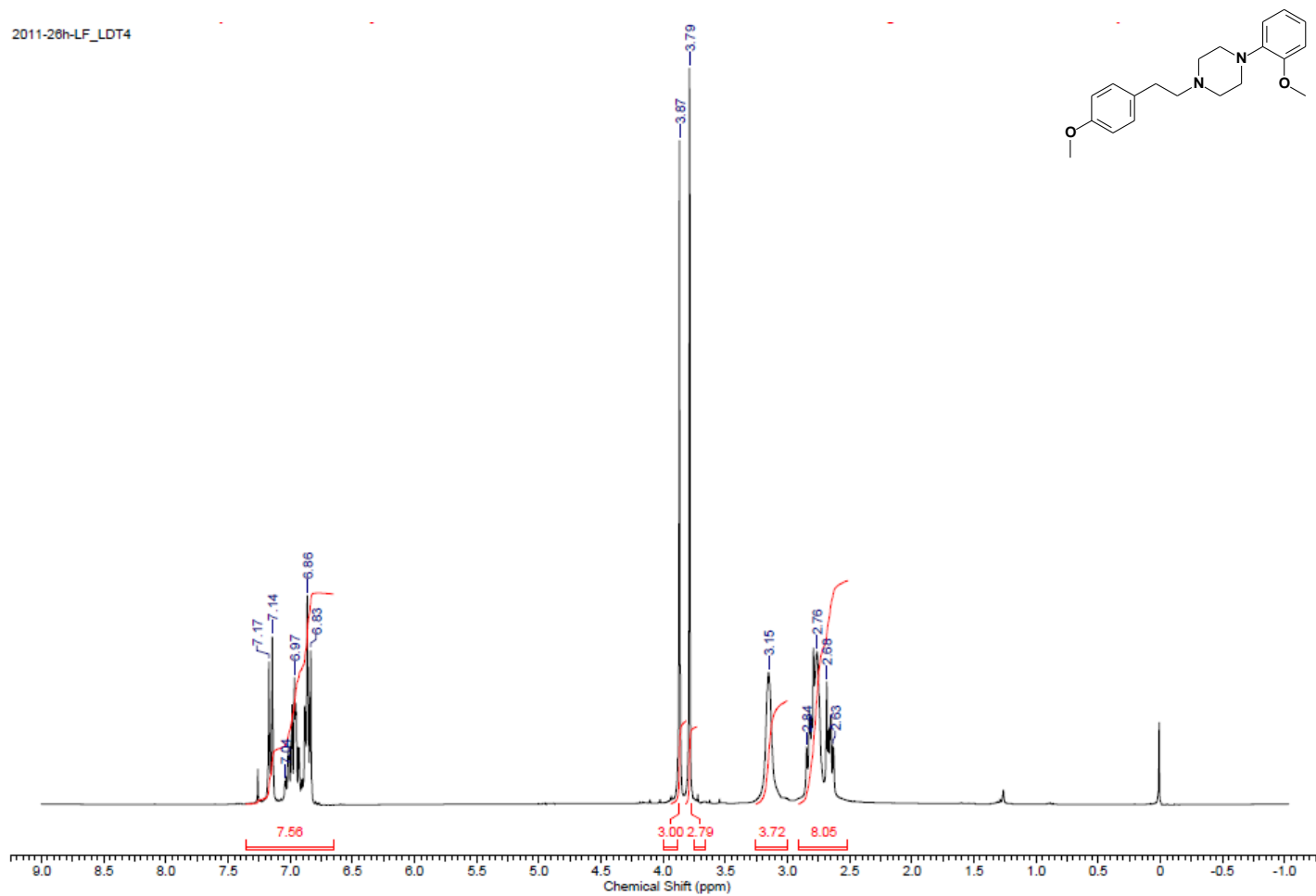
Espectro no Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – 31c (LDT 03)

ANEXO 25



Espectro no Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – 31d (LDT 04)

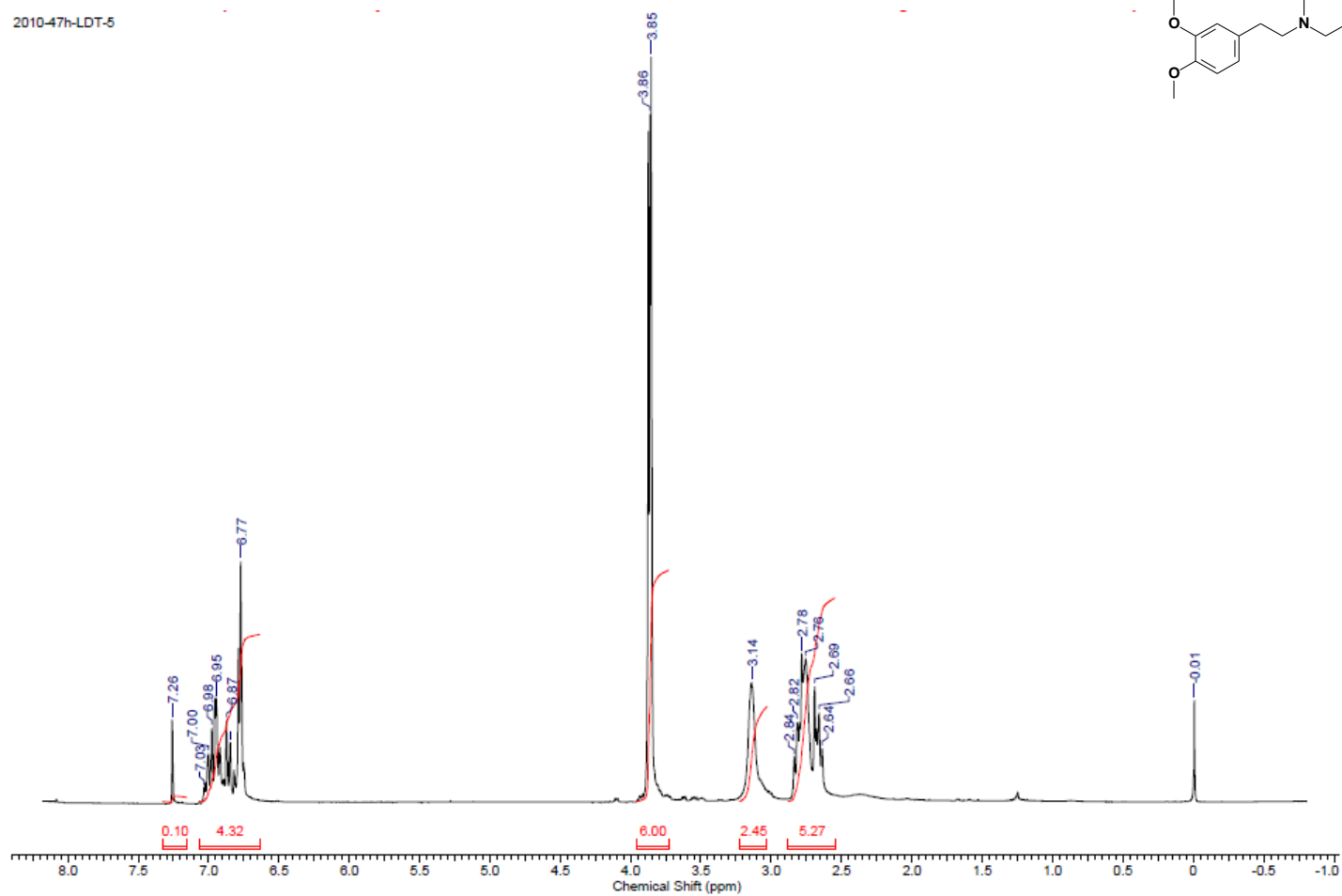
ANEXO 26



Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 31d (LDT 04)

ANEXO 27

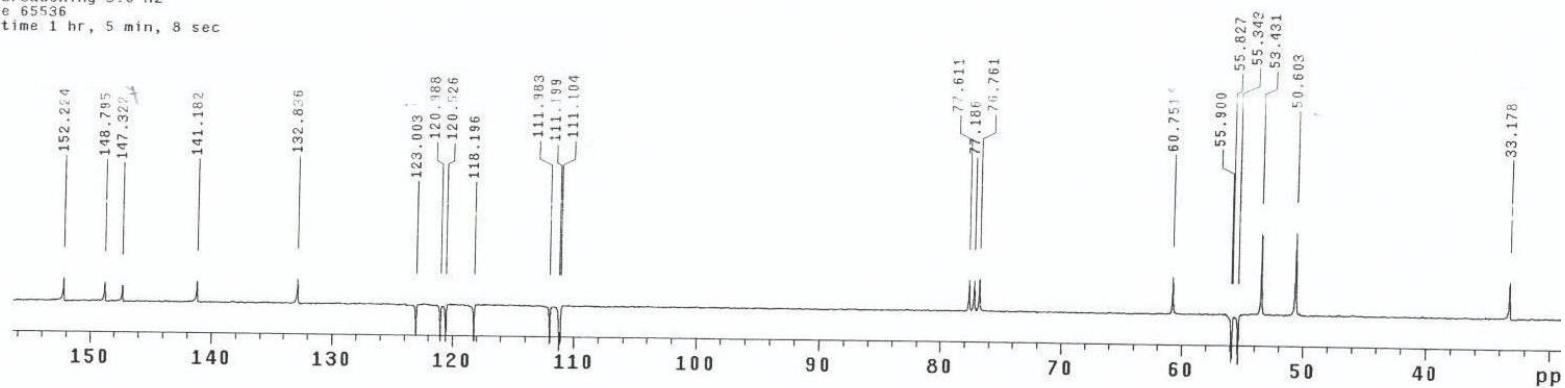
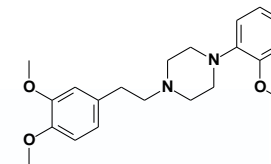
2010-47h-LDT-5

Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 31e (LDT 05)

ANEXO 28

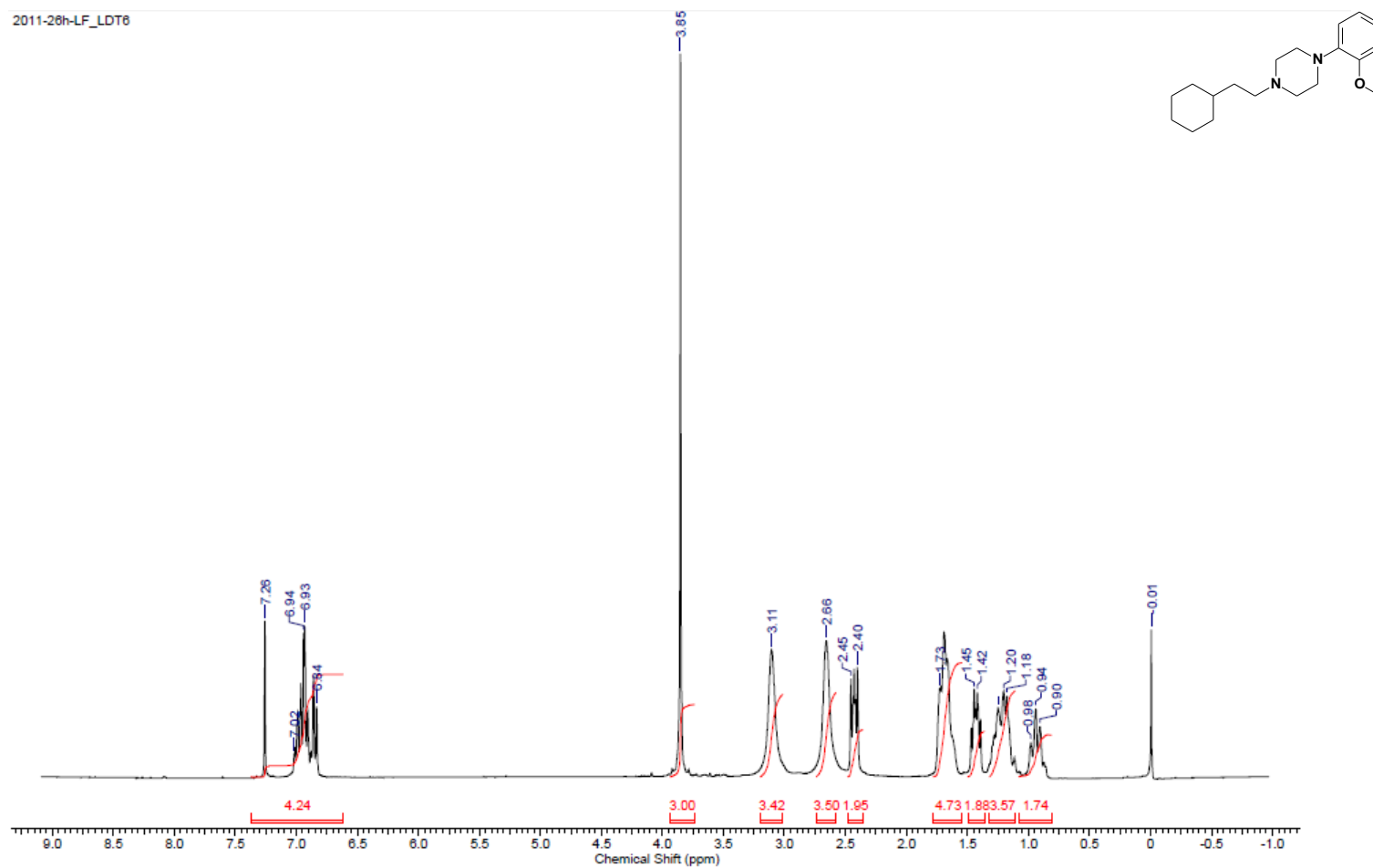
2010-46Apt-LDT-5
 Luiz
 Farmacia-FS-UnB
 60 mg
 File: /home/alunos/vnmrsys/data/LUIZROMEIRO/2010-46Apt-LDT-5.fid
 Pulse Sequence: APT
 Solvent: cdcl3
 Ambient temperature:
 Operator: alunos
 File: 2010-46Apt-LDT-5
 Mercury-300BB "mercury300"

Relax. delay 1.000 sec
 1st pulse 90.0 degrees
 2nd pulse 135.0 degrees
 Acq. time 1.794 sec
 Width 18115.9 Hz
 844 repetitions
 OBSERVE C13, 75.4519995 MHz
 DECOUPLE H1, 300.0688576 MHz
 Low power 10 dB atten.
 On during acquisition
 WALTZ-16 modulated
 DATA PROCESSING
 Line broadening 3.0 Hz
 FT size 65536
 Total time 1 hr, 5 min, 8 sec



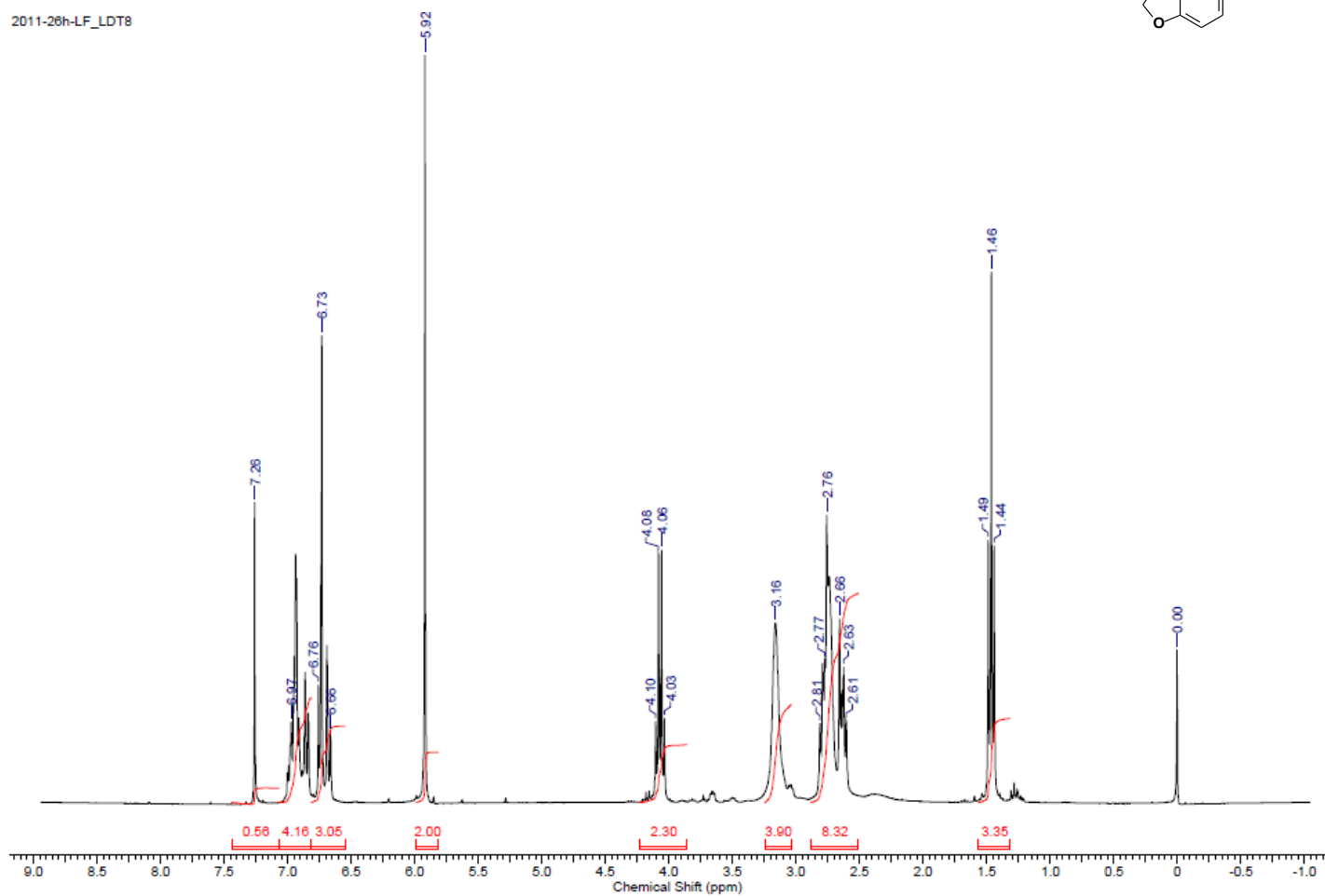
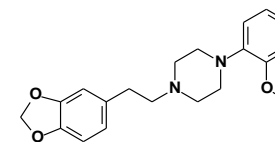
Espectro de RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) – 31e (LDT 05)

ANEXO 29

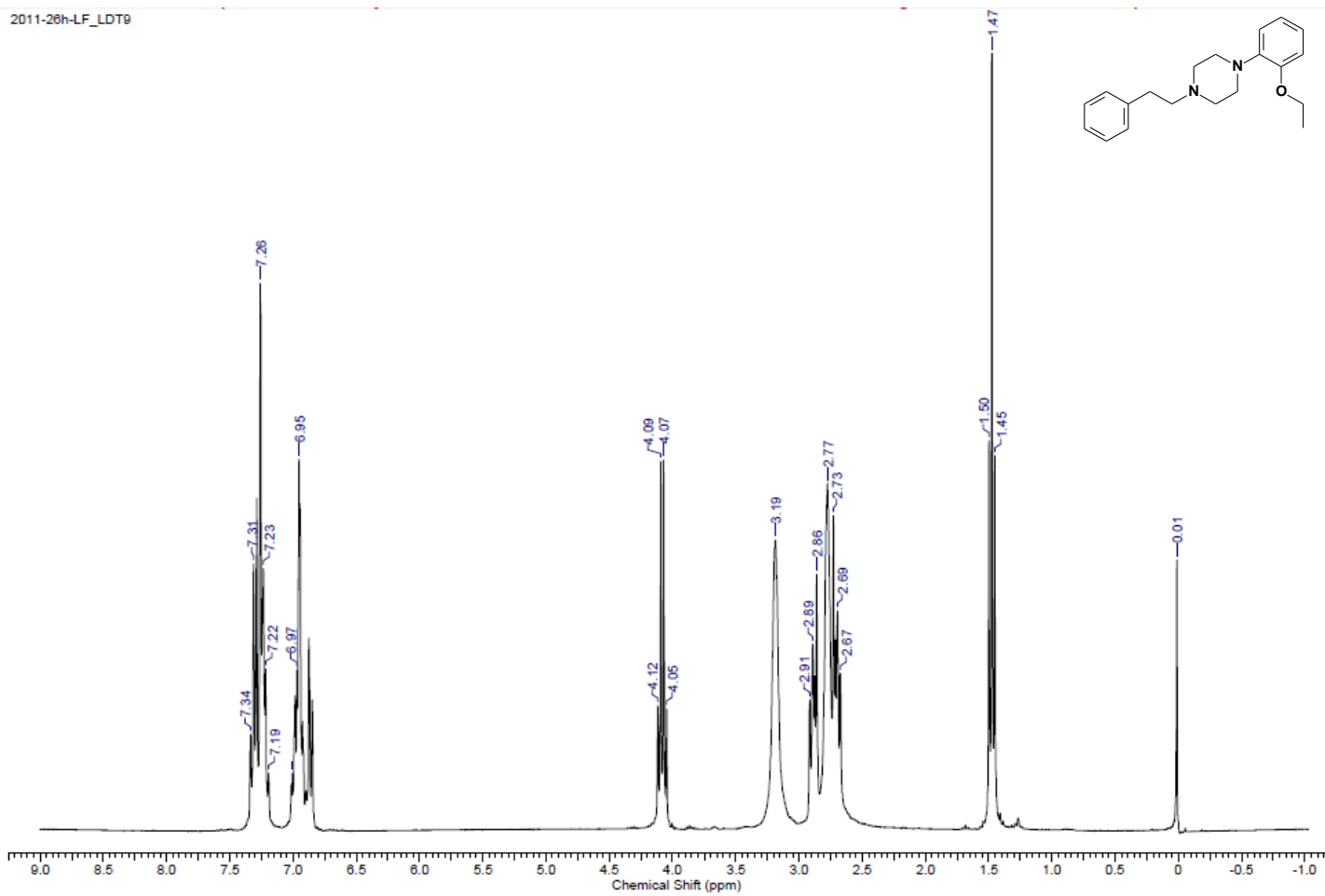
Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 31f (LDT 06)

ANEXO 30

2011-26h-LF_LDT8

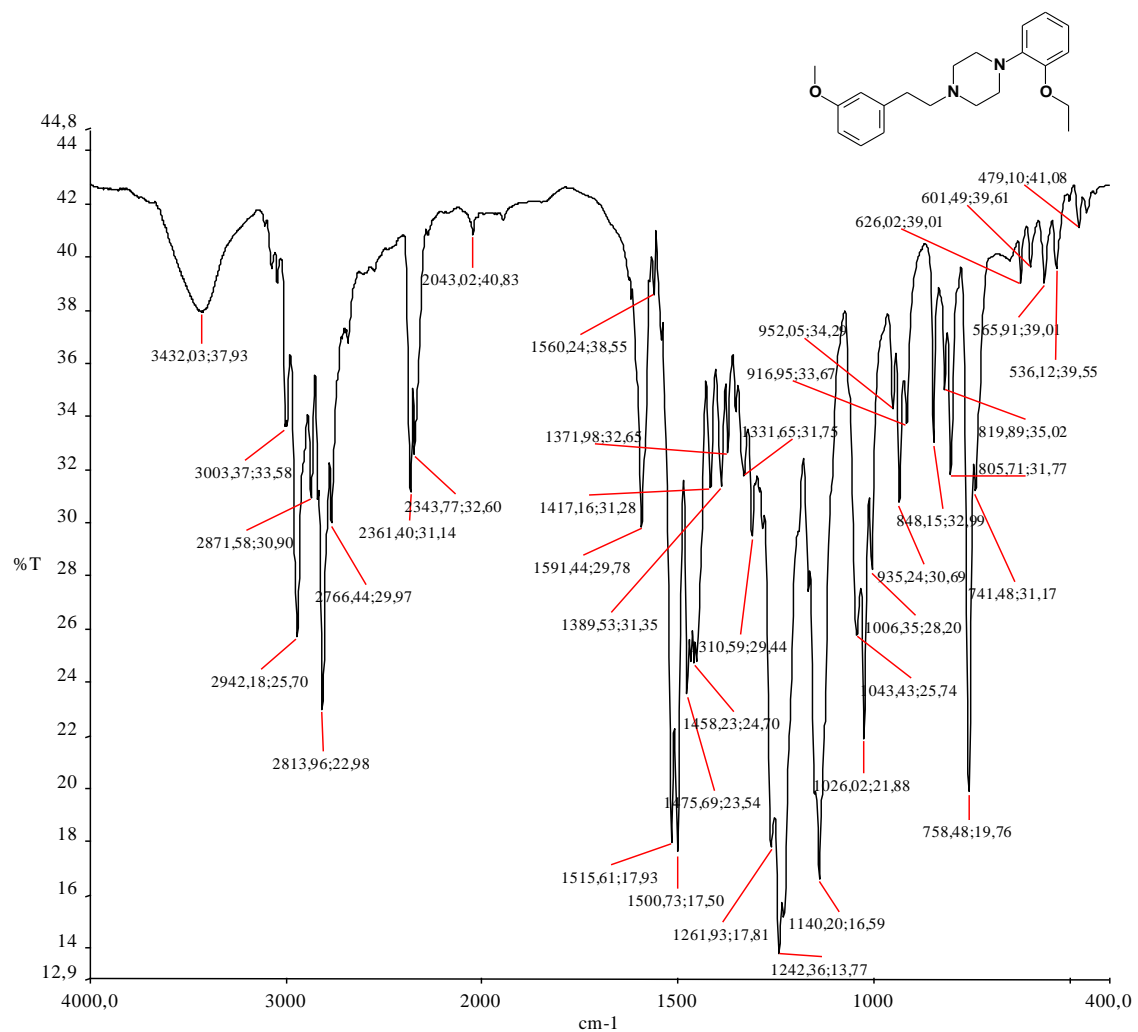
Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 32a (LDT 08)

ANEXO 31



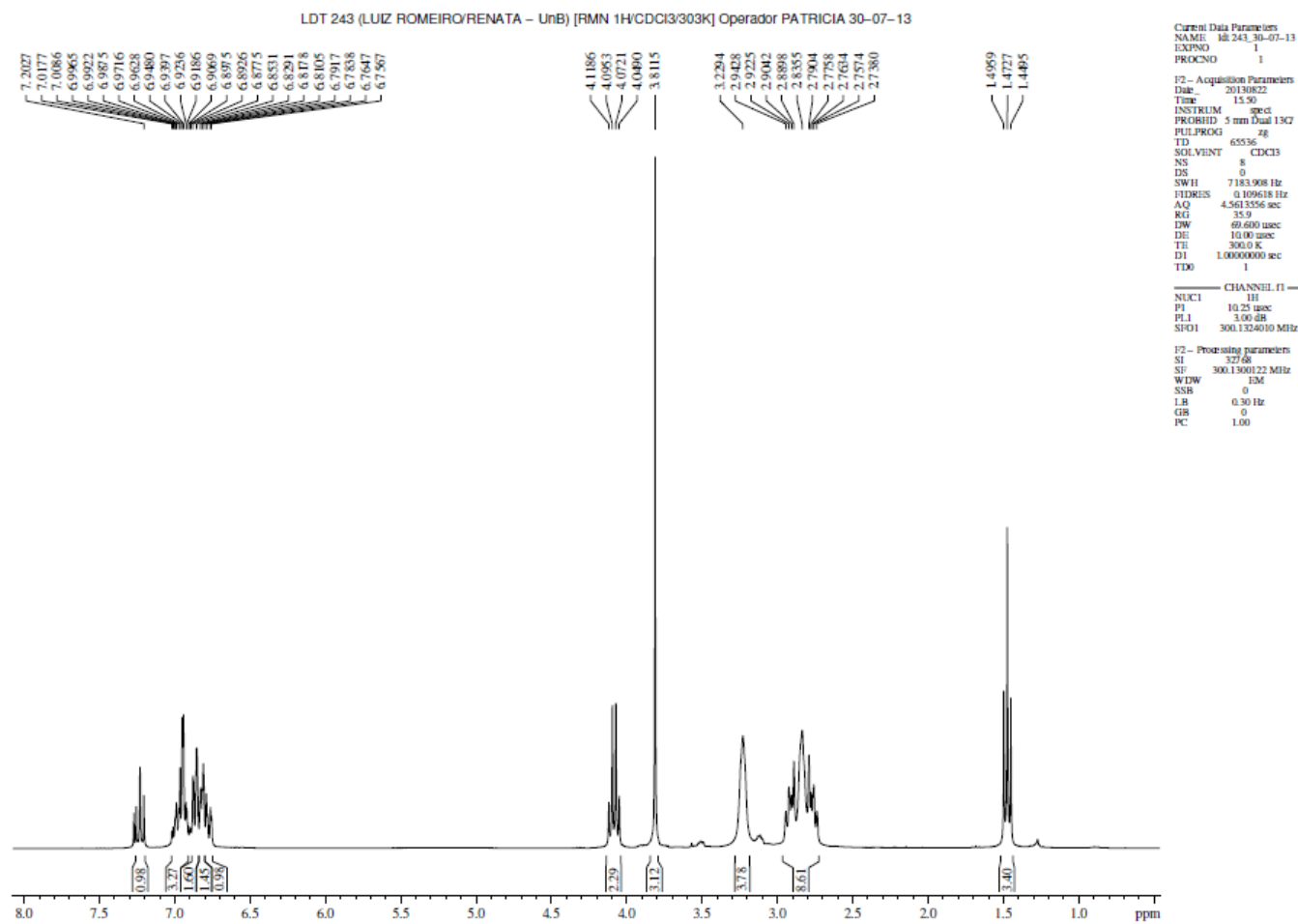
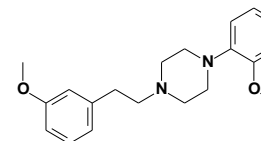
Espectro de RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) – 32b (LDT 09)

ANEXO 32

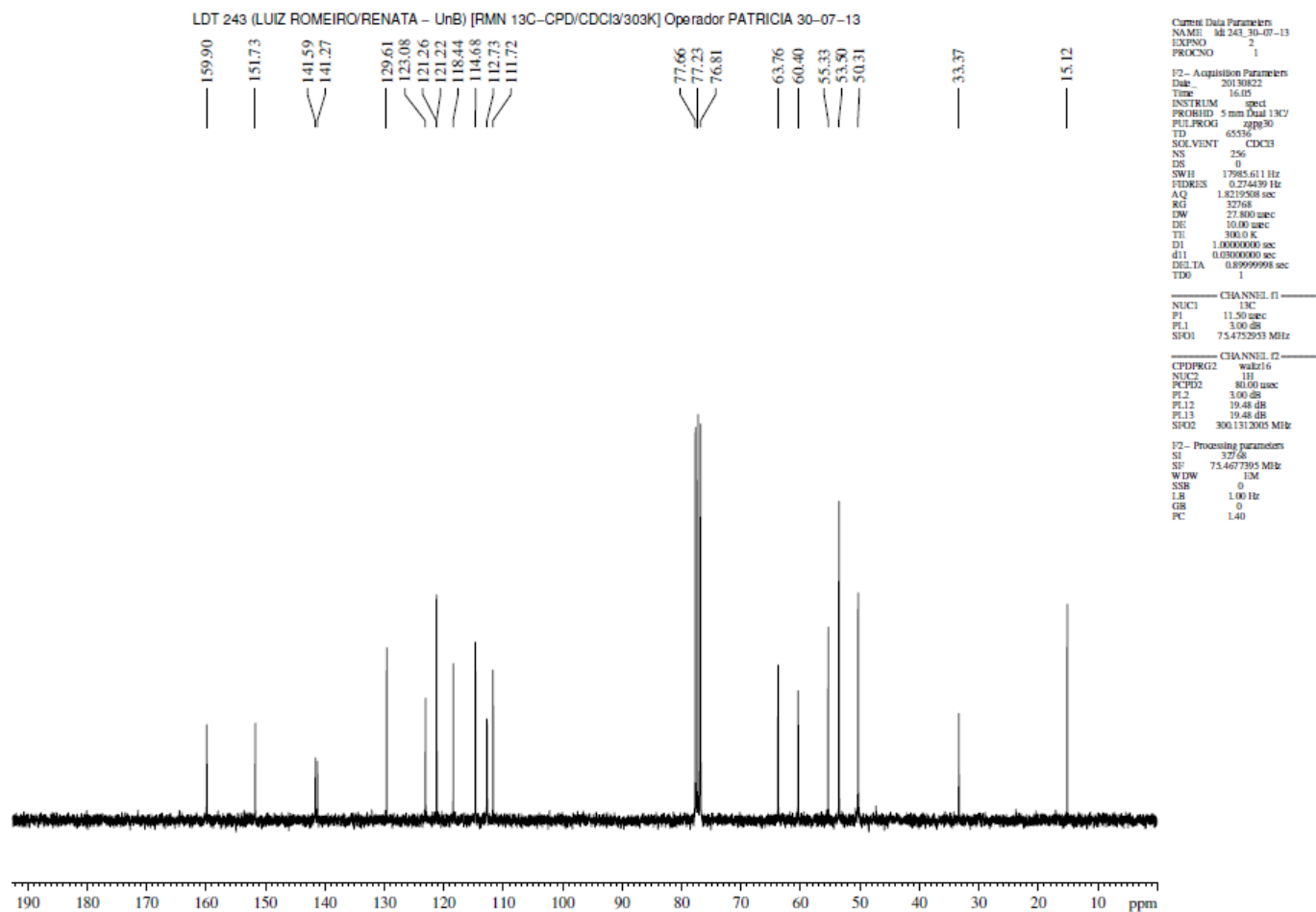
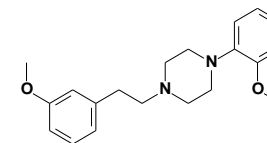


Espectro no Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – 32c (LDT 243)

ANEXO 33

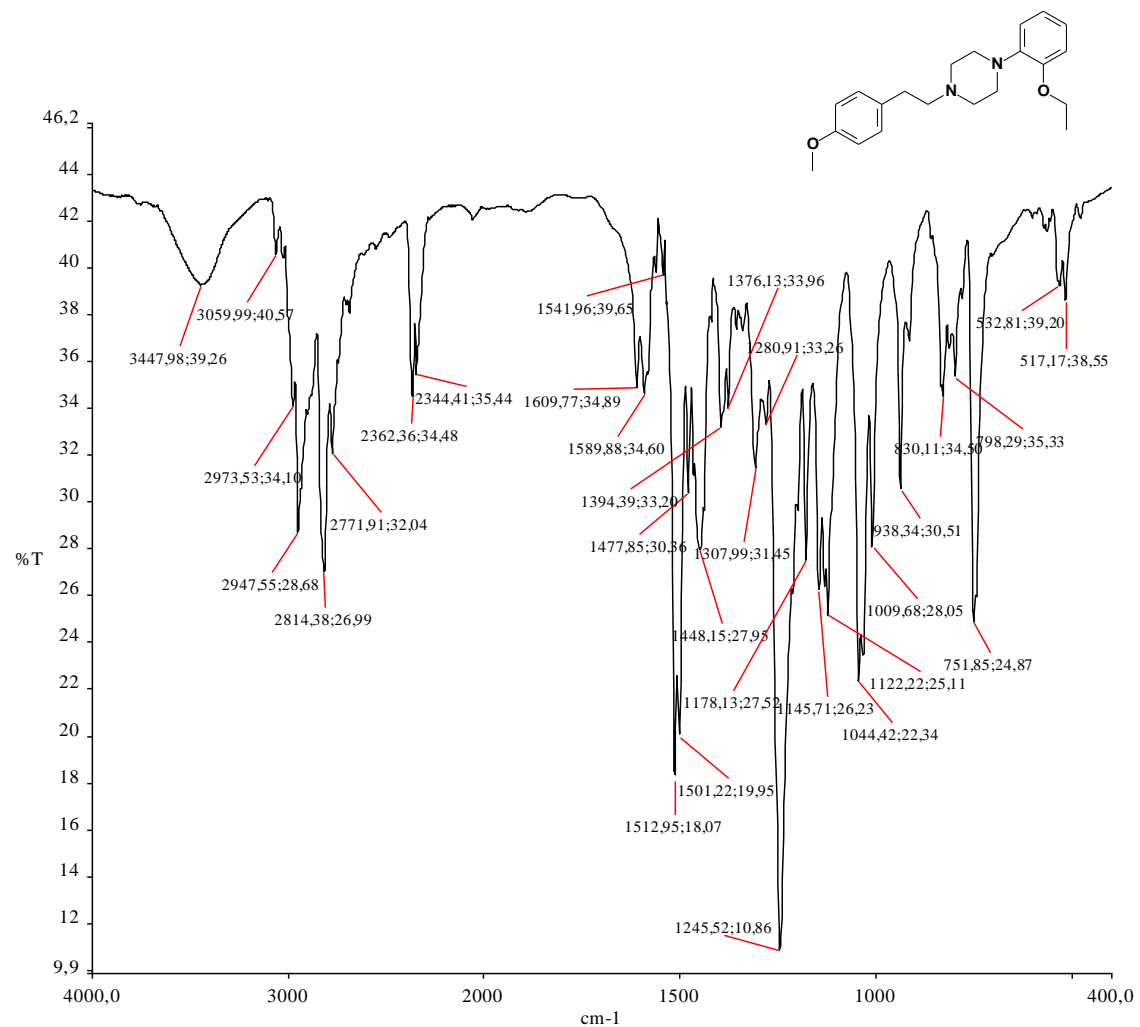
Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) – 32c (LDT 243)

ANEXO 34



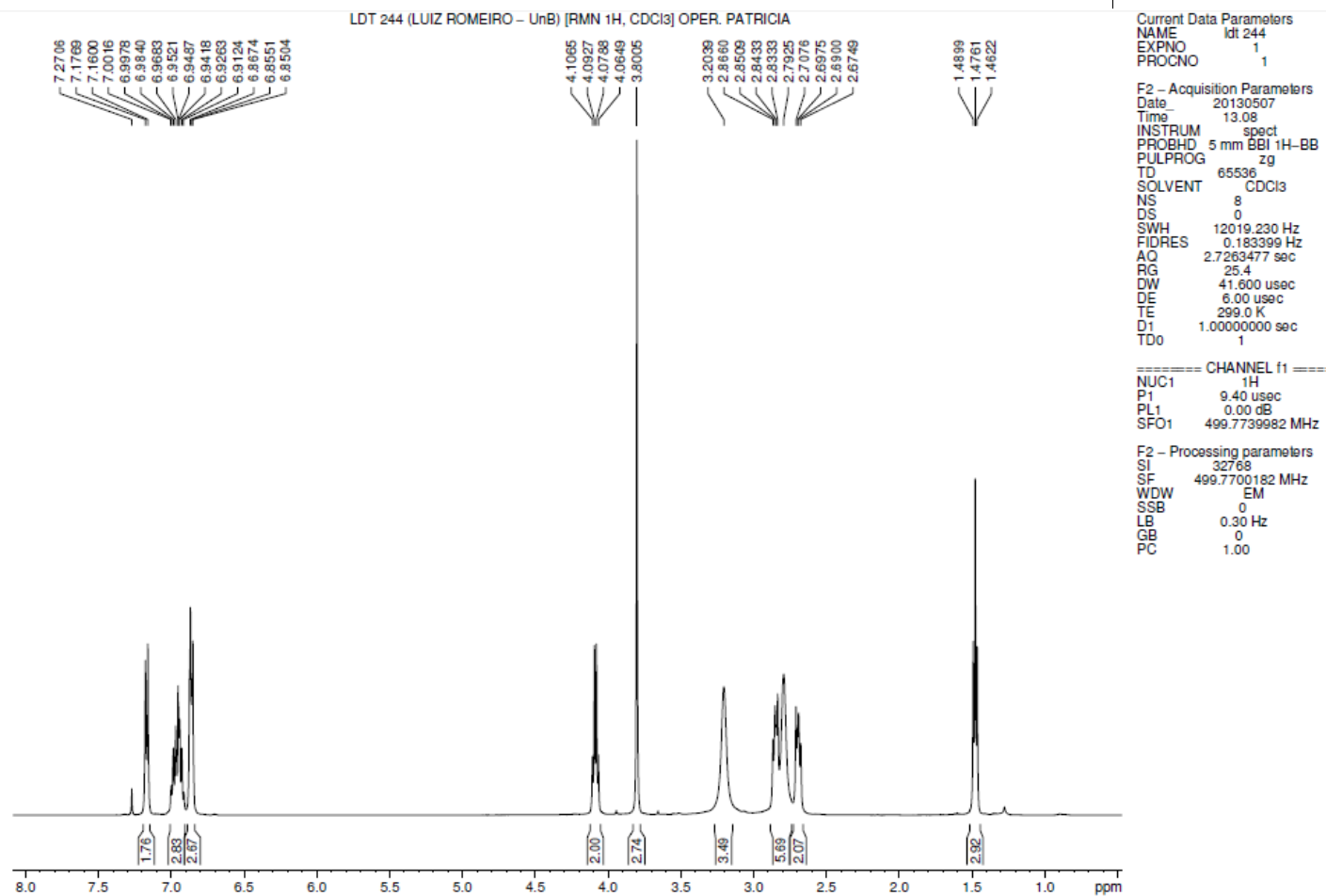
Espectro de RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) - 32c (LDT 243)

ANEXO 35

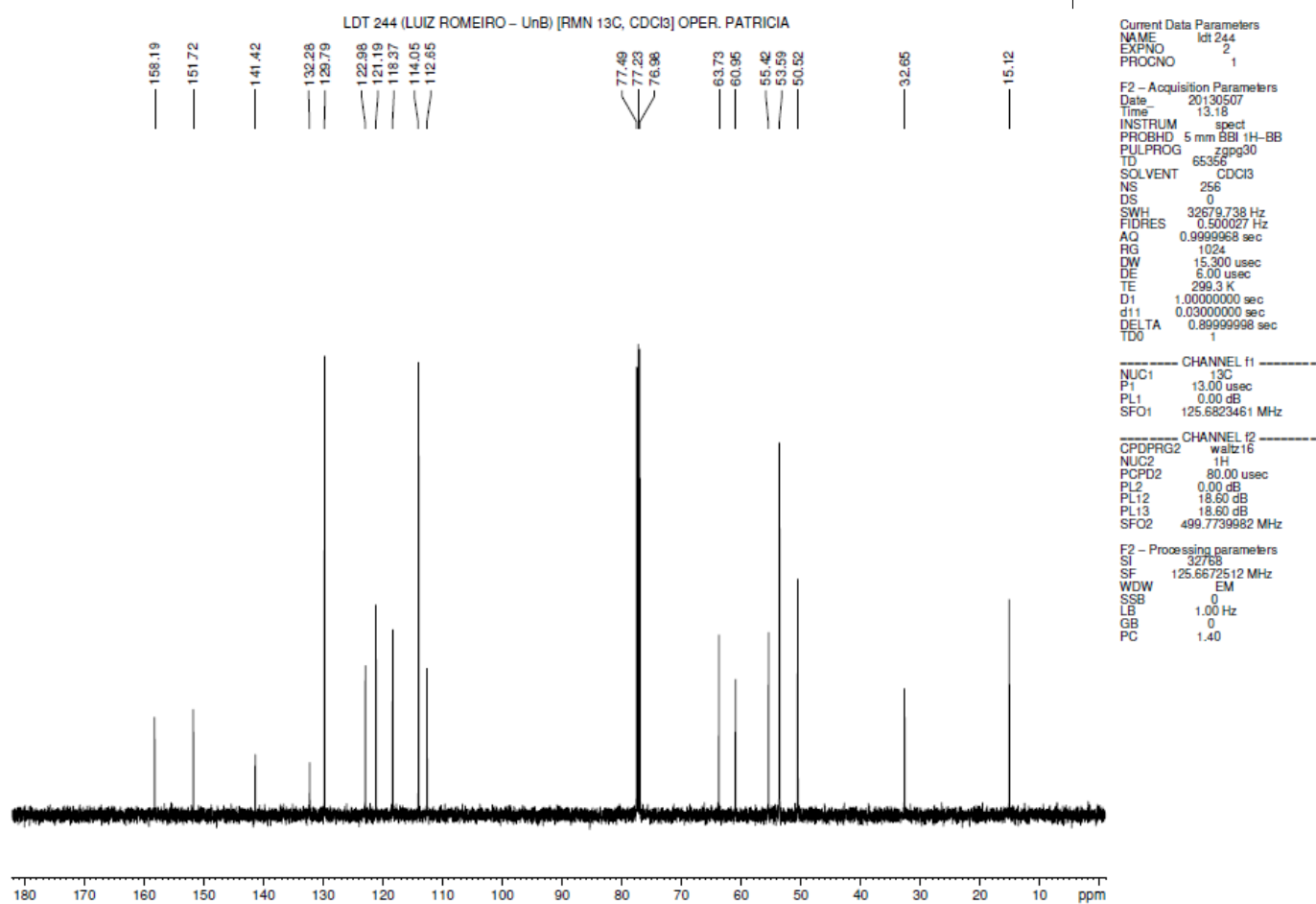


Espectro no Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – 32d (LDT 244)

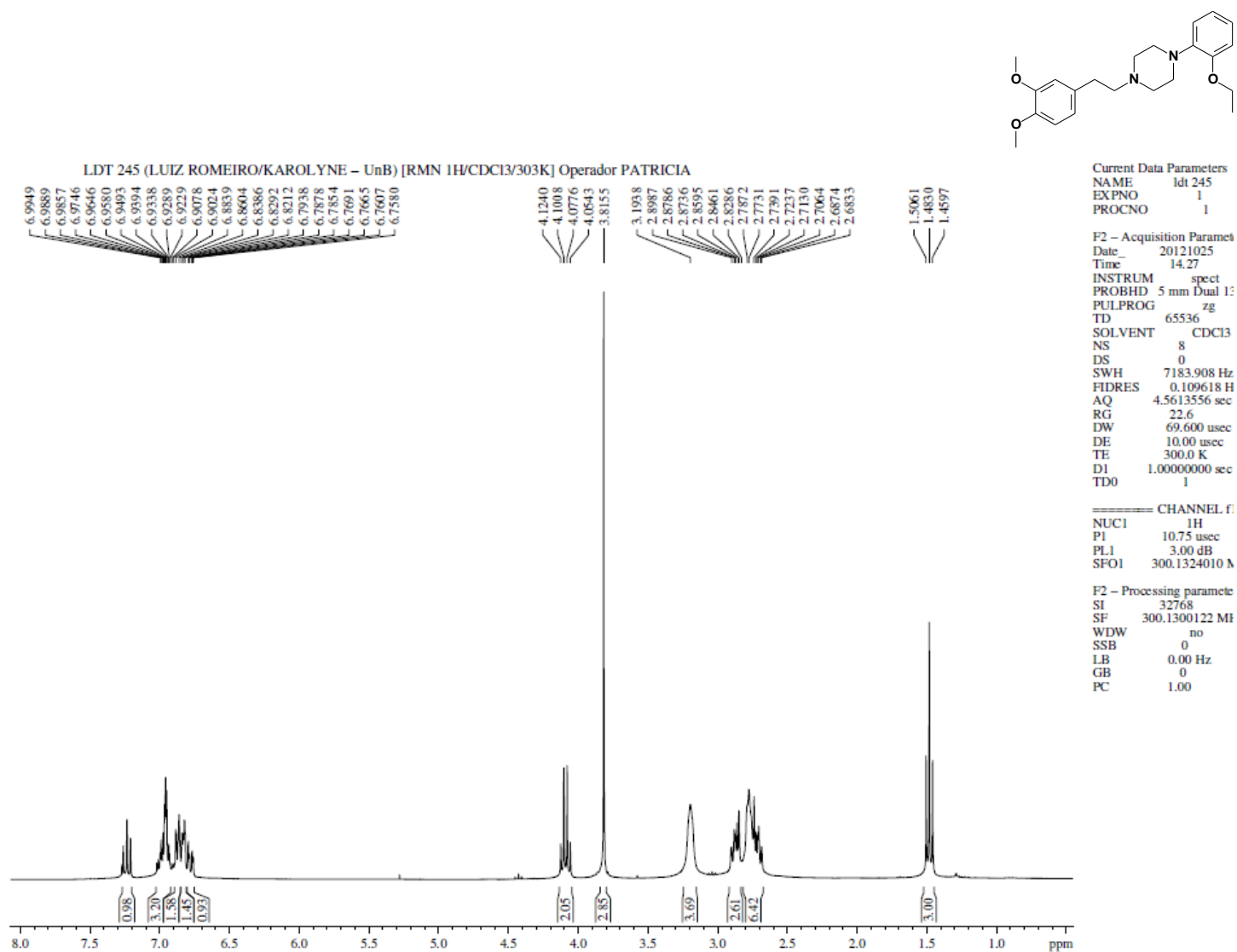
ANEXO 36

Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) - 32d (LDT 244)

ANEXO 37

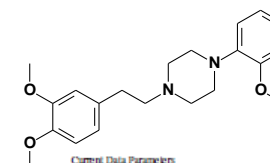
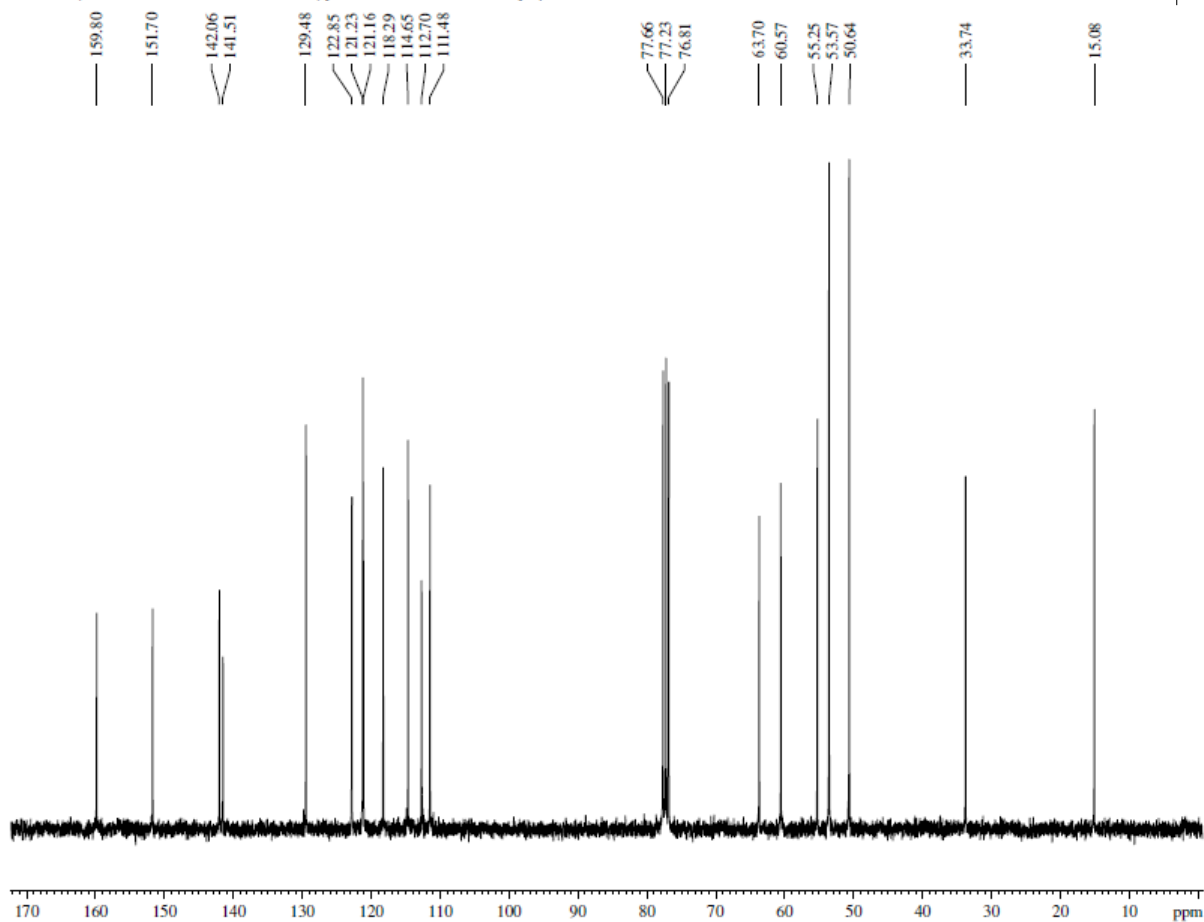
Espectro de RMN ¹³C (175 MHz, CDCI₃) – 32d (LDT 244)

ANEXO 38

Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) – 32e (LDT 245)

ANEXO 39

LDT 245 (LUIZ ROMEIRO/KAROLYNE - UnB) [RMN 13C-CPD/CDCI3/303K] Operador PATRICIA



Current Data Parameters
 NAME: M1245
 EXPNO: 2
 PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_: 20121025
 Time: 14.41
 INSTRUM: spect
 PROBHID: 5 mm Dual 13C/
 PULPROG: zgpg30
 TD: 65536
 SOLVENT: CDCl3
 NS: 256
 DS: 0
 SWH: 17985.611 Hz
 FIDRES: 0.274439 Hz
 AQ: 1.8219268 sec
 RG: 32768
 DW: 27.800 usec
 DE: 10.00 usec
 TE: 300.0 K
 D1: 1.0000000 sec
 d11: 0.0300000 sec
 DELTA: 0.8999998 sec
 TDO: 1

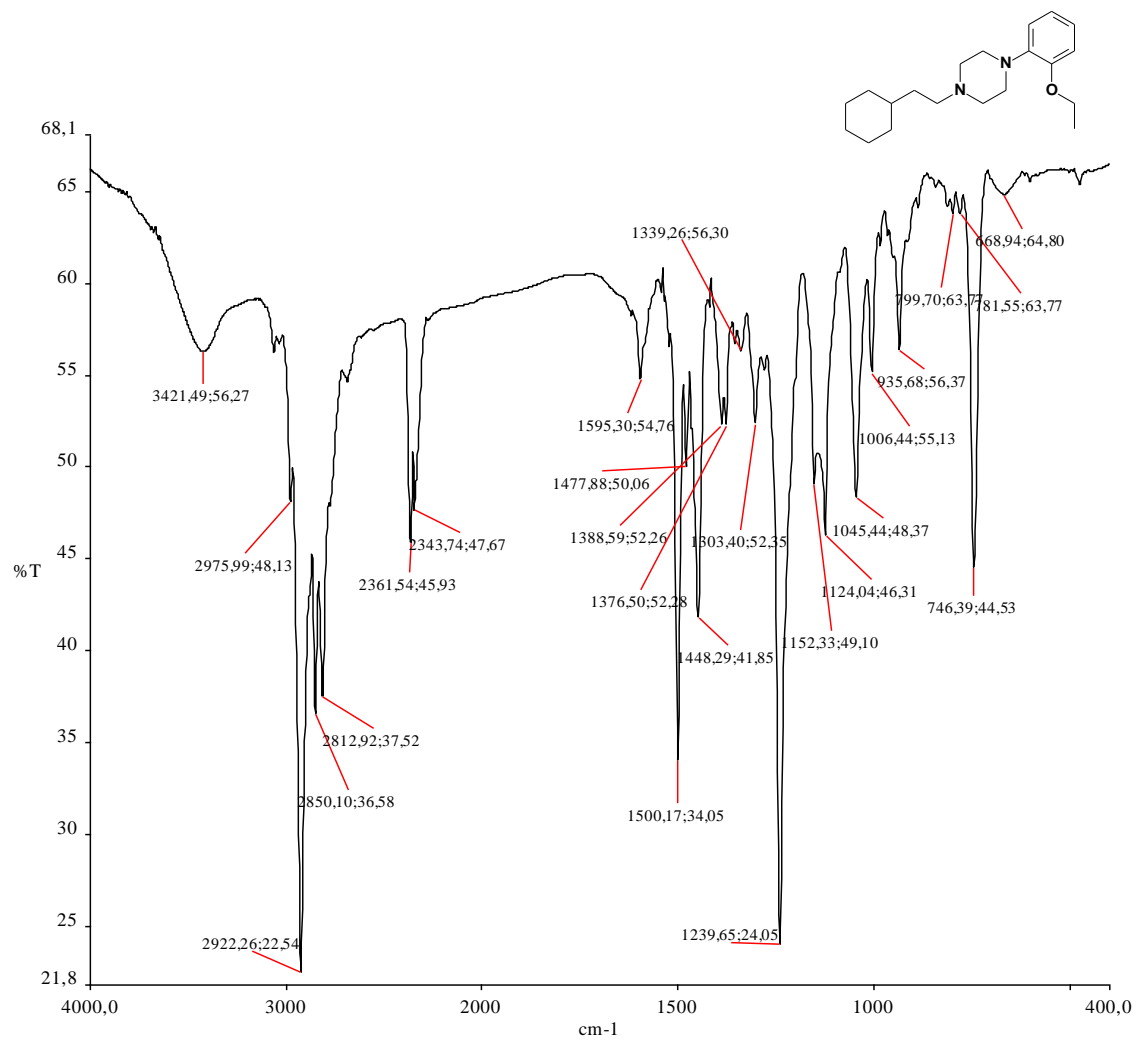
CHANNEL f1
 NUC1: 13C
 P1: 10.00 usec
 PL1: 3.50 dB
 SFO1: 75.4752933 MHz

CHANNEL f2
 CPDPRG2: waltz16
 NUC2: 1H
 PCPD2: 90.00 usec
 PL2: 3.00 dB
 PL12: 21.50 dB
 PL13: 21.50 dB
 SFO2: 300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
 SI: 32768
 SF: 75.4677466 MHz
 WDW: EM
 SSB: 0
 LB: 1.00 Hz
 GB: 0
 PC: 1.40

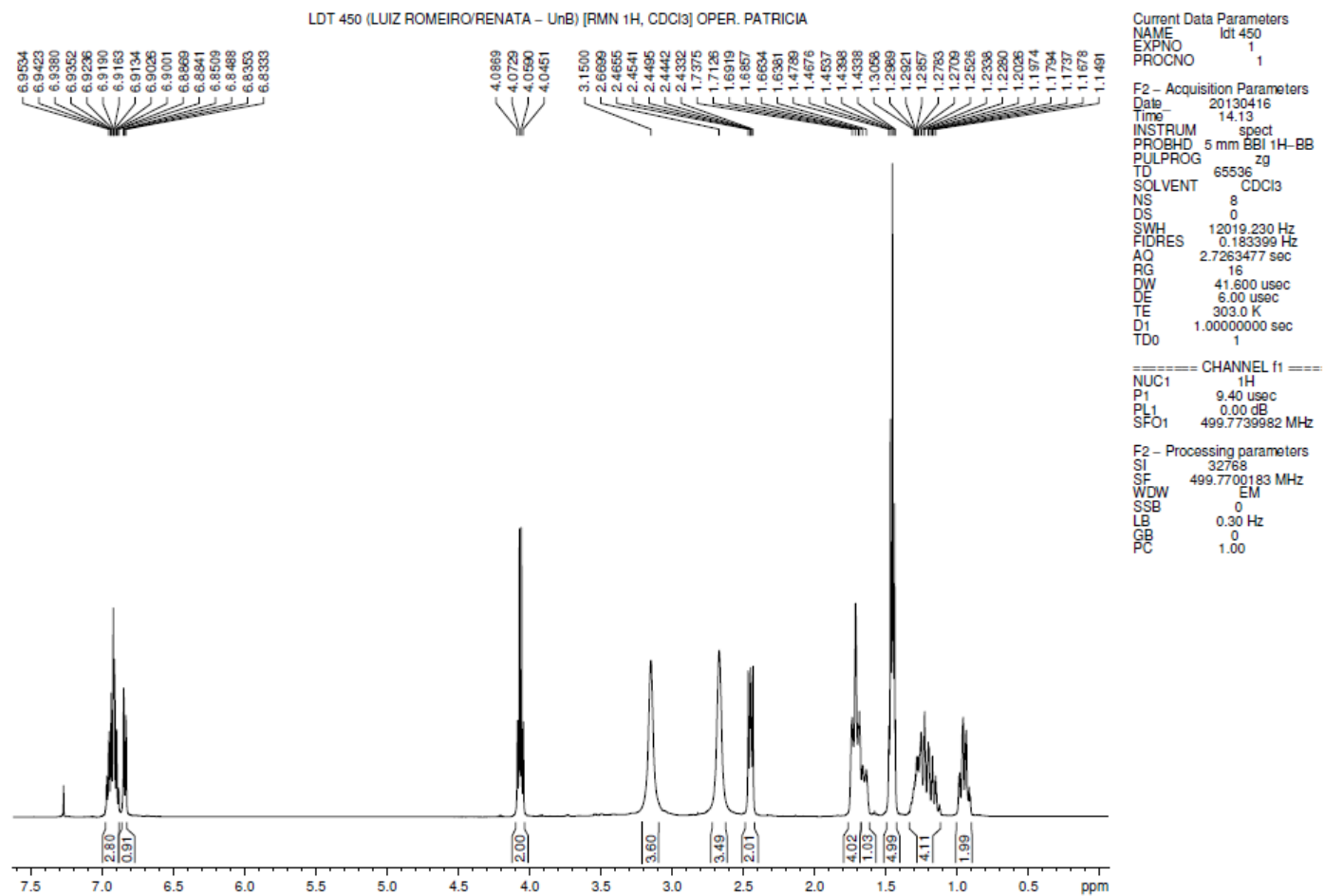
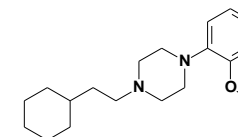
Espectro de RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) - 32e (LDT 245)

ANEXO 40

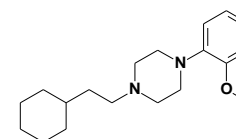


Espectro no Infravermelho ($\nu \text{ cm}^{-1}$, KBr) – 32f (LDT 450)

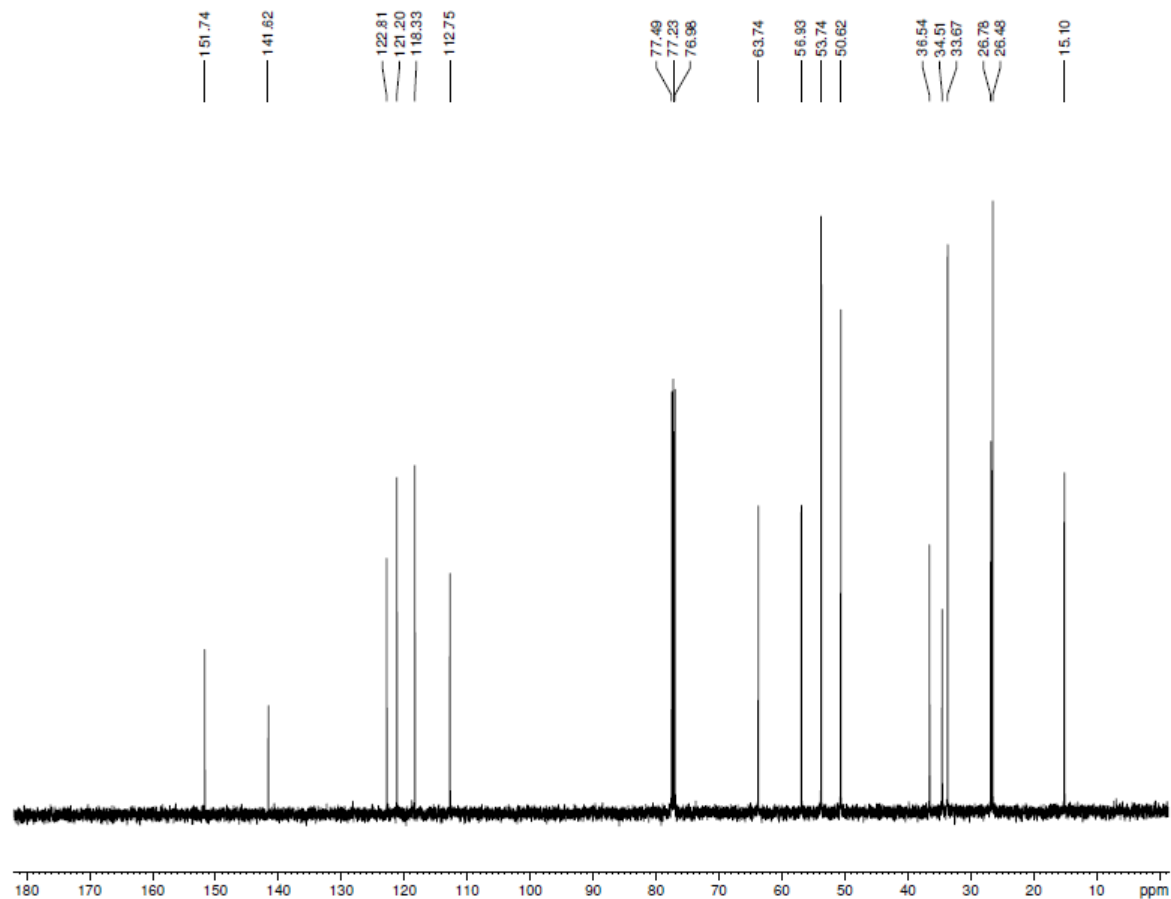
ANEXO 41

Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) – 32f (LDT 450)

ANEXO 42



LDT 450 (LUIZ ROMEIRO/RENATA - UnB) [RMN 13C, CDCl3] OPER. PATRICIA



Current Data Parameters
NAME ldt 450
EXPNO 2
PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
Date_ 20130416
Time_ 14.24
INSTRUM spect
PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
PULPROG zgpg30
TD 65356
SOLVENT CDCl3
NS 256
DS 0
SWH 32679.738 Hz
FIDRES 0.500027 Hz
AQ 0.999958 sec
RG 1024
DW 15.300 usec
DE 6.00 usec
TE 303.0 K
D1 1.0000000 sec
d11 0.0300000 sec
DELTA 0.8999998 sec
TD0 1

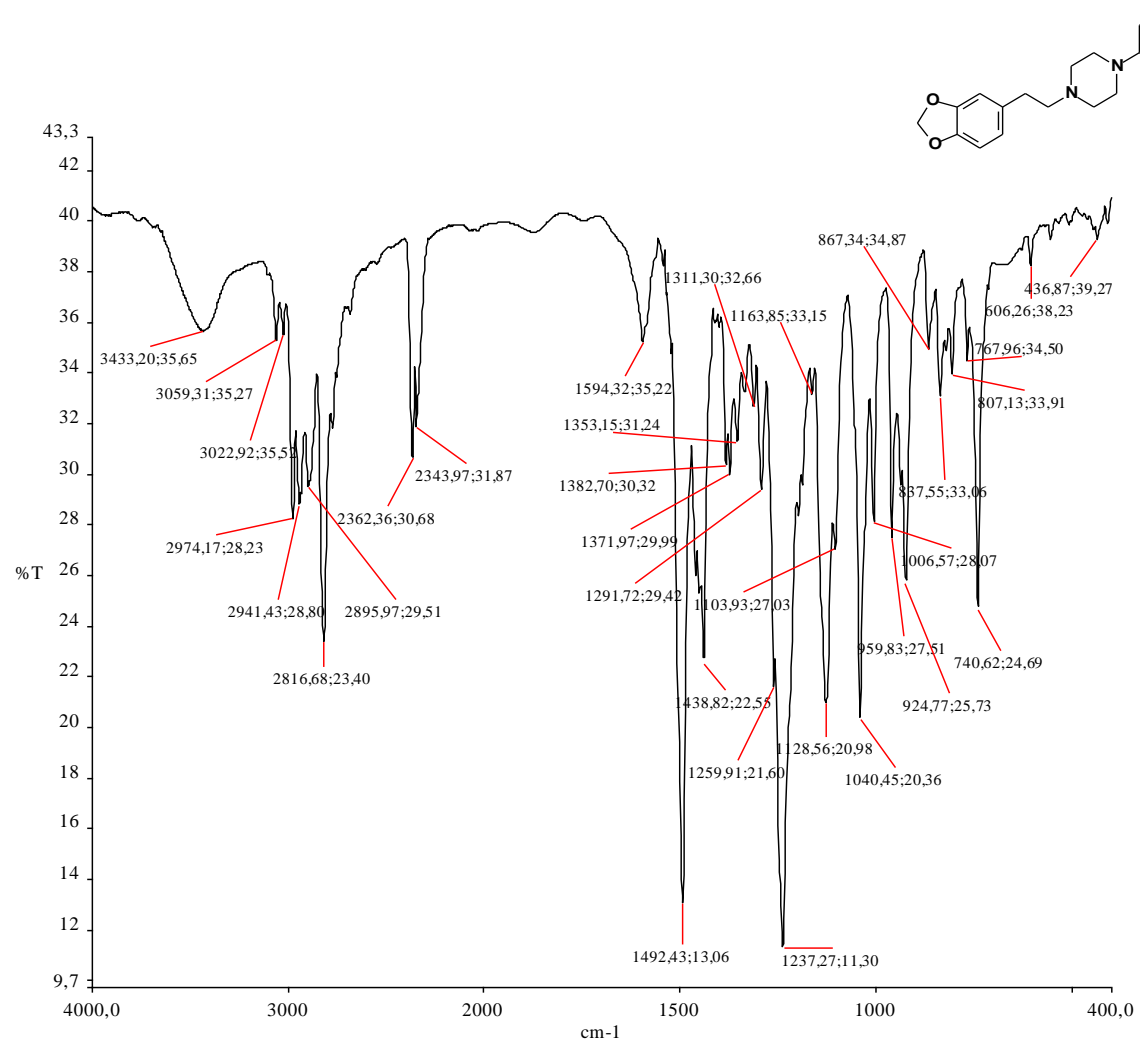
----- CHANNEL f1 -----
NUC1 13C
P1 13.00 usec
PL1 0.00 dB
SFO1 125.6823461 MHz

----- CHANNEL f2 -----
CPDPRG2 waltz16
NUC2 1H
PCPD2 80.00 usec
PL2 0.00 dB
PL12 18.60 dB
PL13 18.60 dB
SFO2 499.7739982 MHz

F2 - Processing parameters
SI 32768
SF 125.6672499 MHz
WDW EM
SSB 0
LB 1.00 Hz
GB 0
PC 1.40

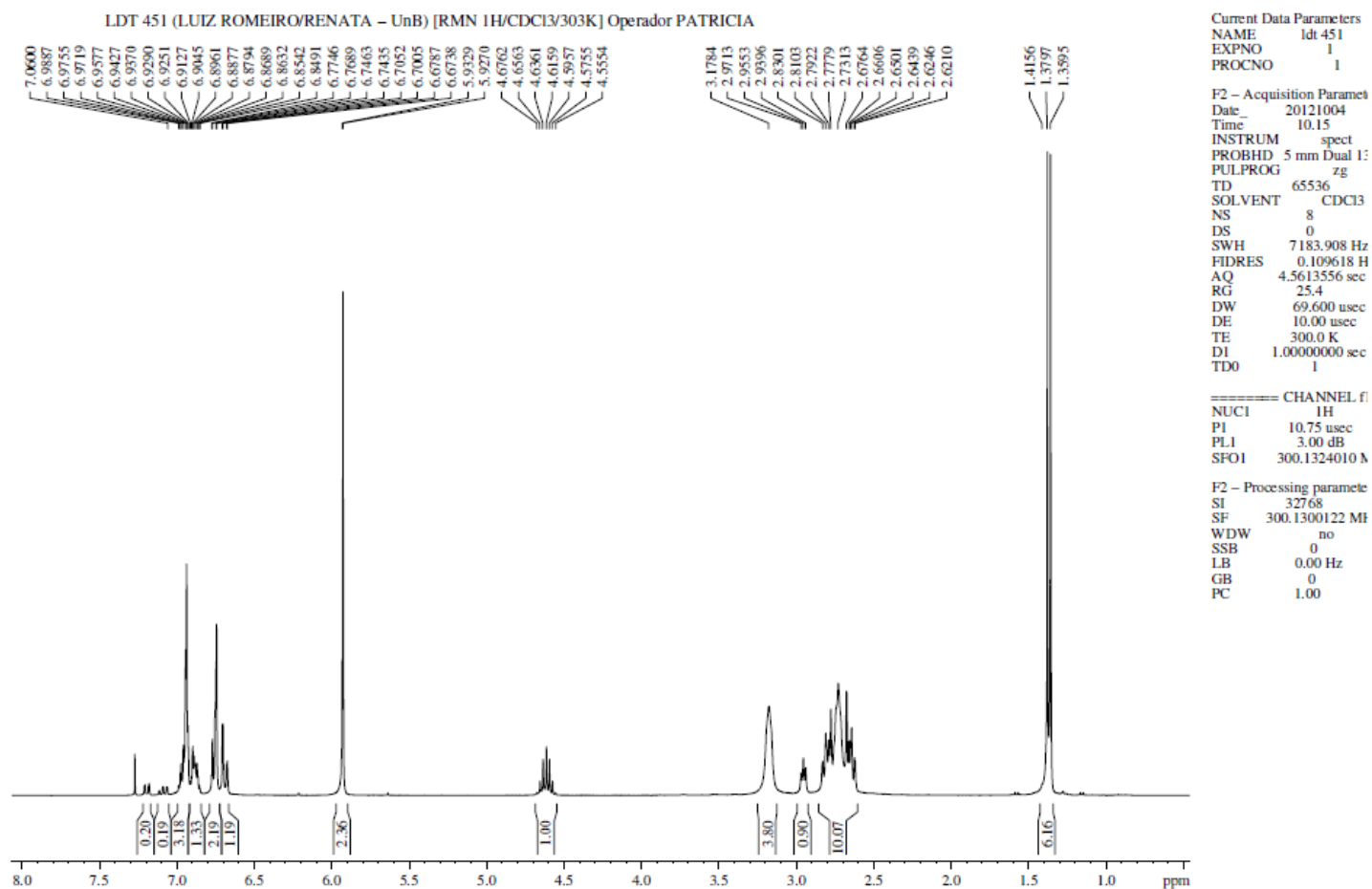
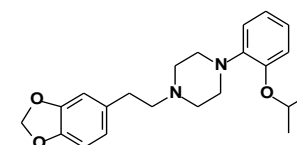
Espectro de RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) - 32f (LDT 450)

ANEXO 43

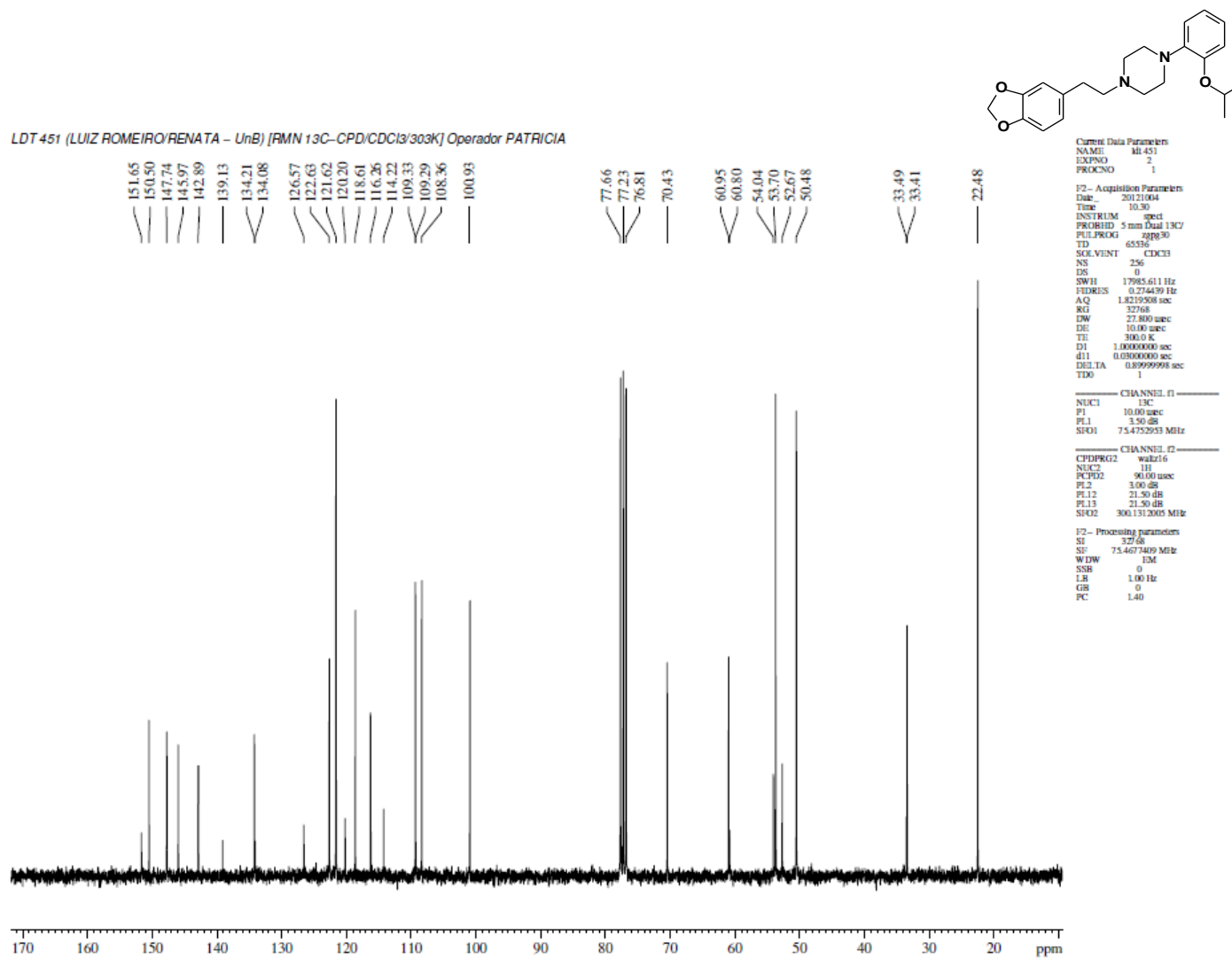


Espectro no Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – 33a (LDT 451)

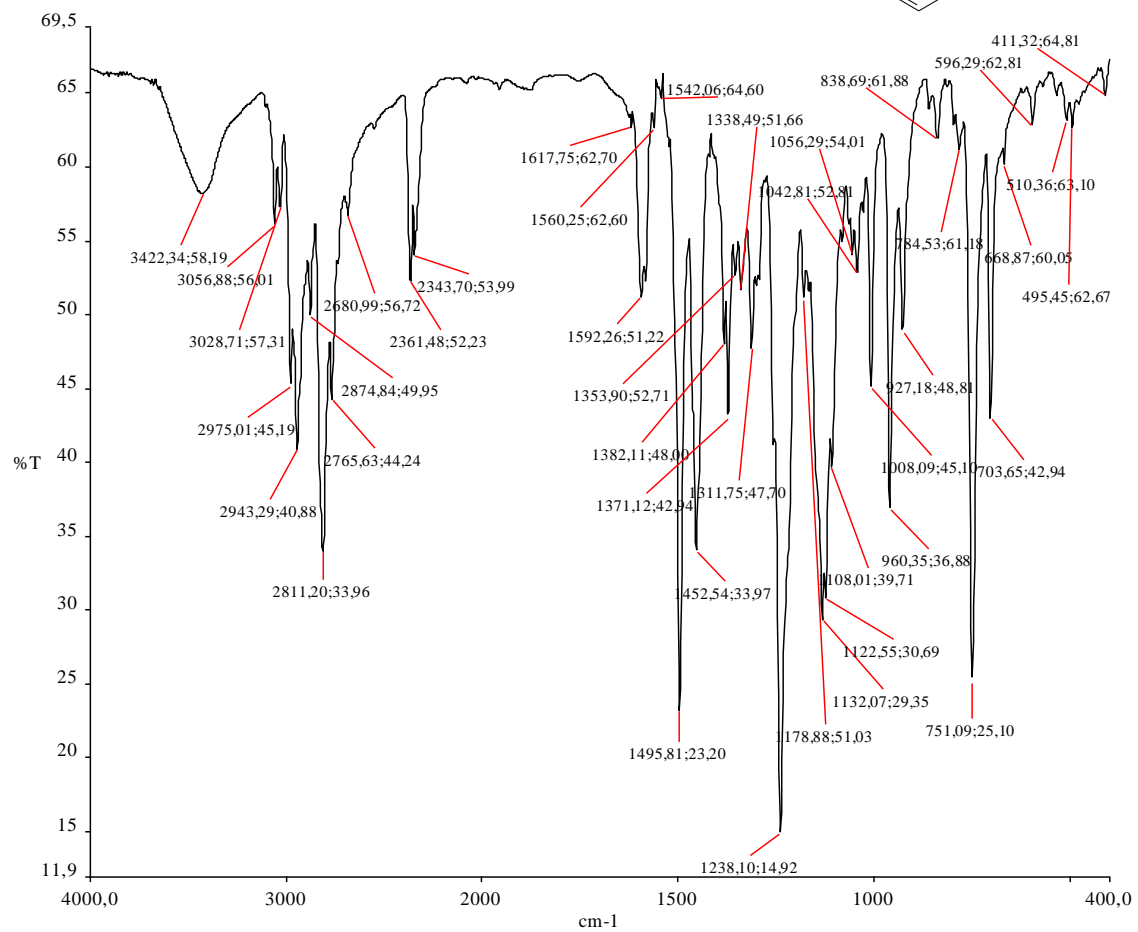
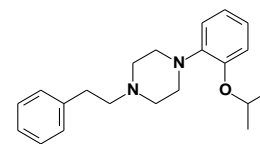
ANEXO 44

Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) – 33a (LDT 451)

ANEXO 45

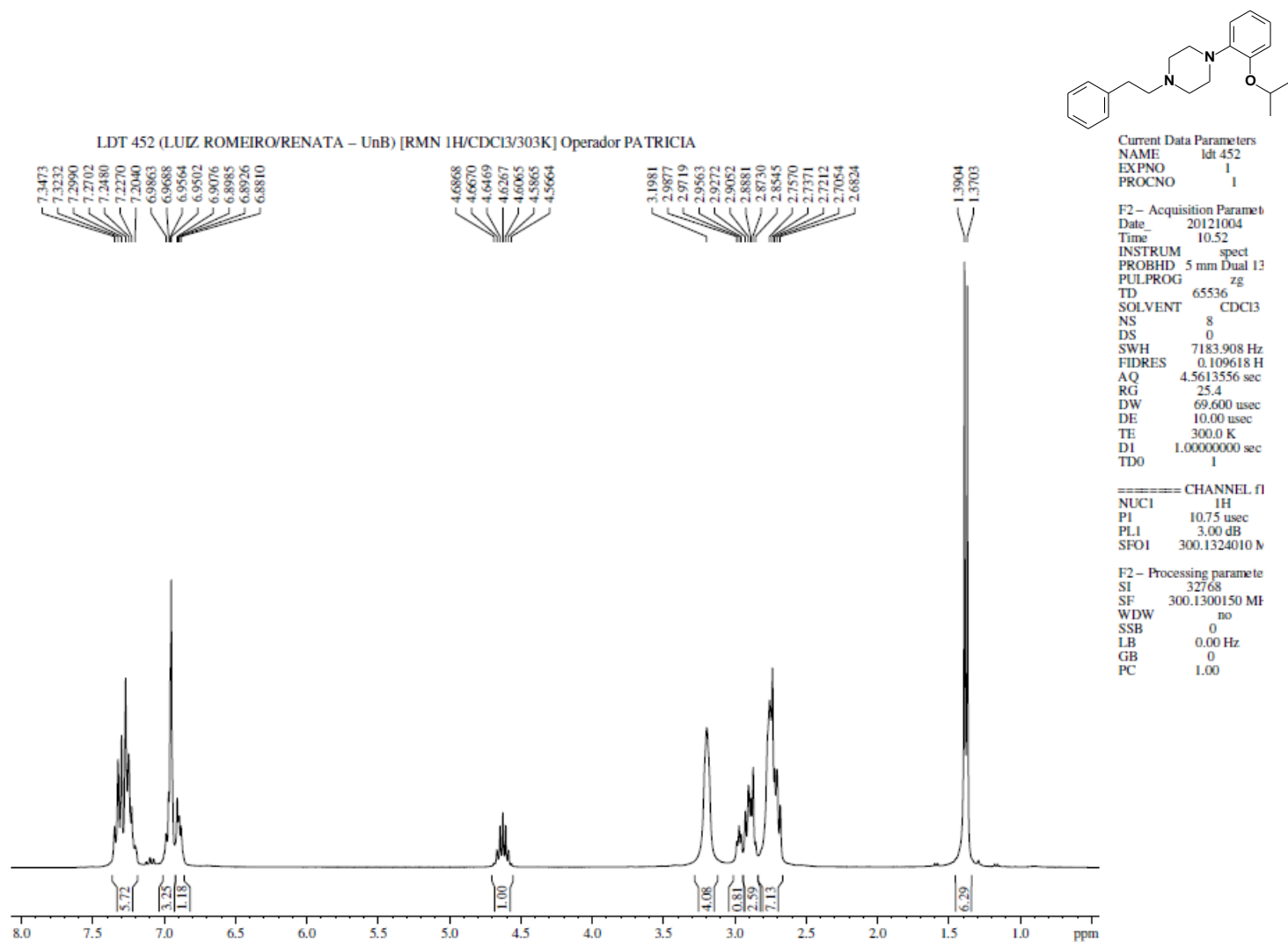
Espectro de RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) - 33a (LDT 451)

ANEXO 46



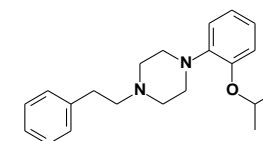
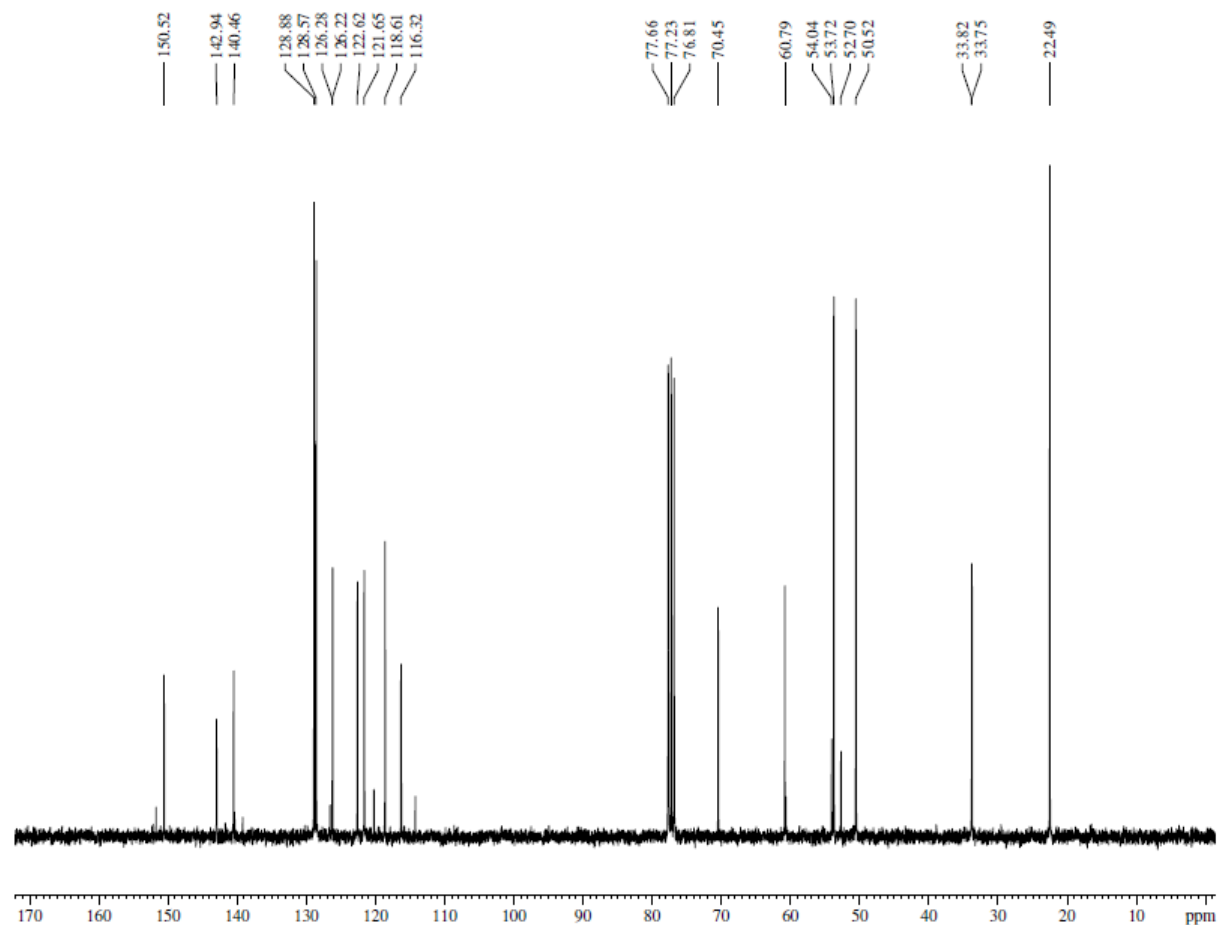
Espectro no Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – 33b (LDT 452)

ANEXO 47

Espectro de RMN ^1H (500 MHz, CDCl_3) – 33b (LDT 452)

ANEXO 48

LDT 452 (LUIZ ROMEIRO/RENATA - UnB) [RMN 13C-CPD/CDCI3/303K] Operador PATRICIA



Current Data Parameters
 NAME: ldt 452
 EXPNO: 2
 PROCNO: 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_: 20121004
 Time: 11.07
 INSTRUM: spect
 PROBHD: 5 mm Dual 13C
 PULPROG: zgpg30
 TD: 65536
 SOLVENT: CDCl3
 NS: 256
 DS: 0
 SWH: 17955.611 Hz
 FIDRES: 0.274439 Hz
 AQ: 1.8219508 sec
 RG: 32768
 DW: 27.800 usec
 DE: 10.00 usec
 TE: 300.0 K
 D1: 1.00000000 sec
 d11: 0.03000000 sec
 DELTA: 0.89999998 sec
 TDO: 1

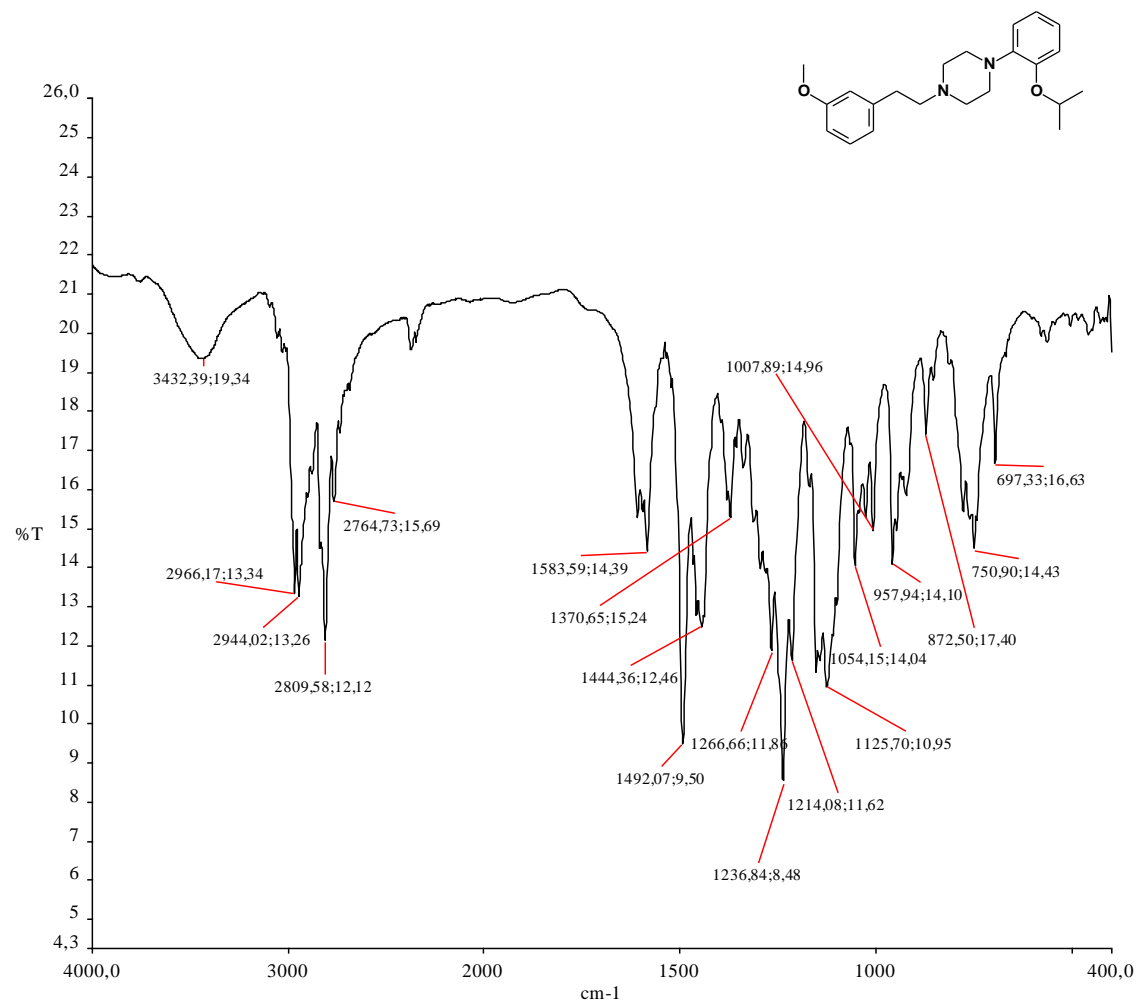
CHANNEL F1
 NUC1: 13C
 P1: 10.00 usec
 PL1: 3.50 dB
 SFO1: 75.4752953 MHz

CHANNEL F2
 CHDPRG2: waltz16
 NUC2: 1H
 PCPD2: 90.00 usec
 PL2: 3.00 dB
 PL12: 21.50 dB
 PL13: 21.50 dB
 SFO2: 300.1312005 MHz

F2 - Processing parameters
 SI: 32768
 SF: 75.4677419 MHz
 WDW: EM
 SSB: 0
 LB: 1.00 Hz
 GB: 0
 PC: 1.40

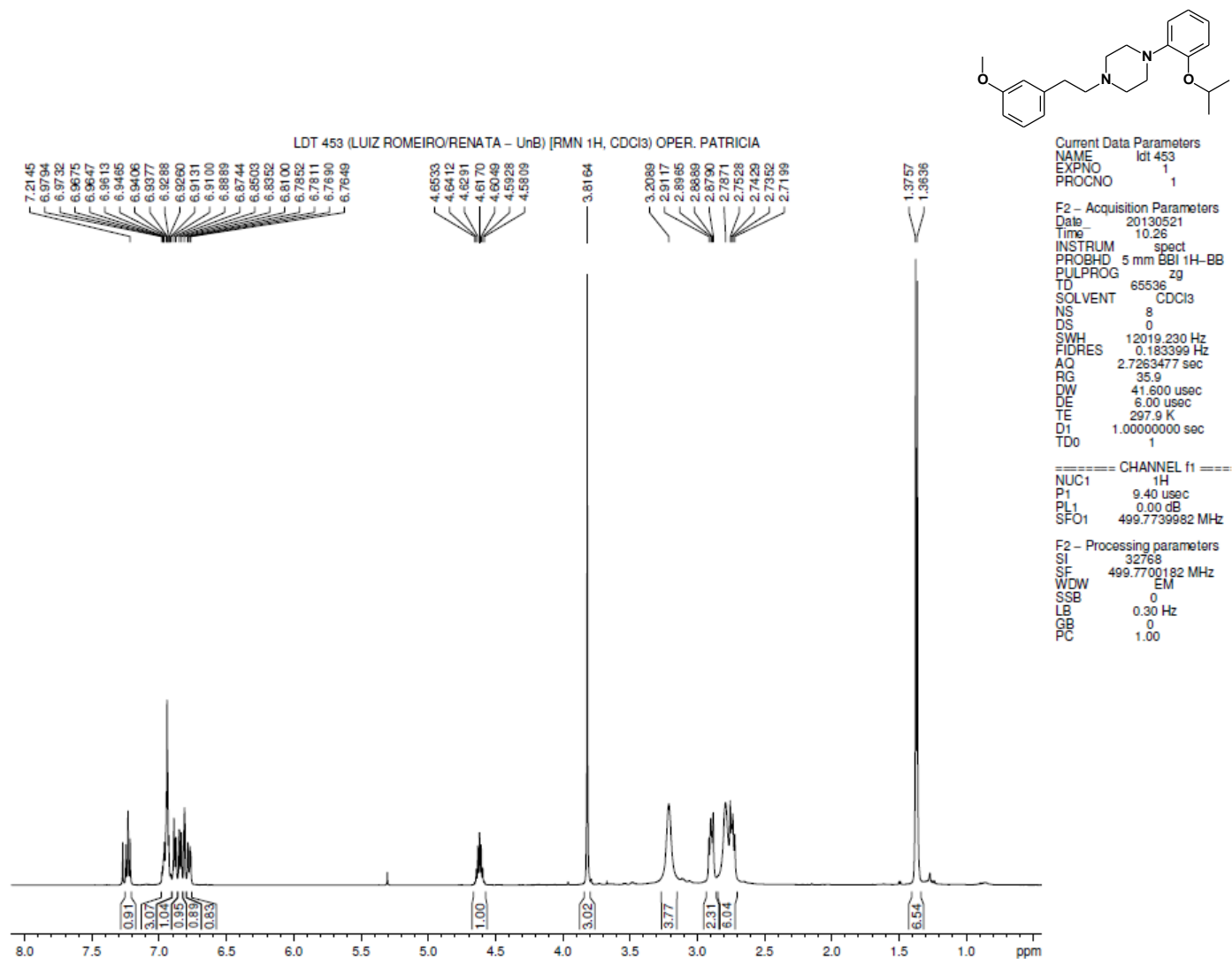
Espectro de RMN ¹³C (175 MHz, CDCl₃) - 33b (LDT 452)

ANEXO 49

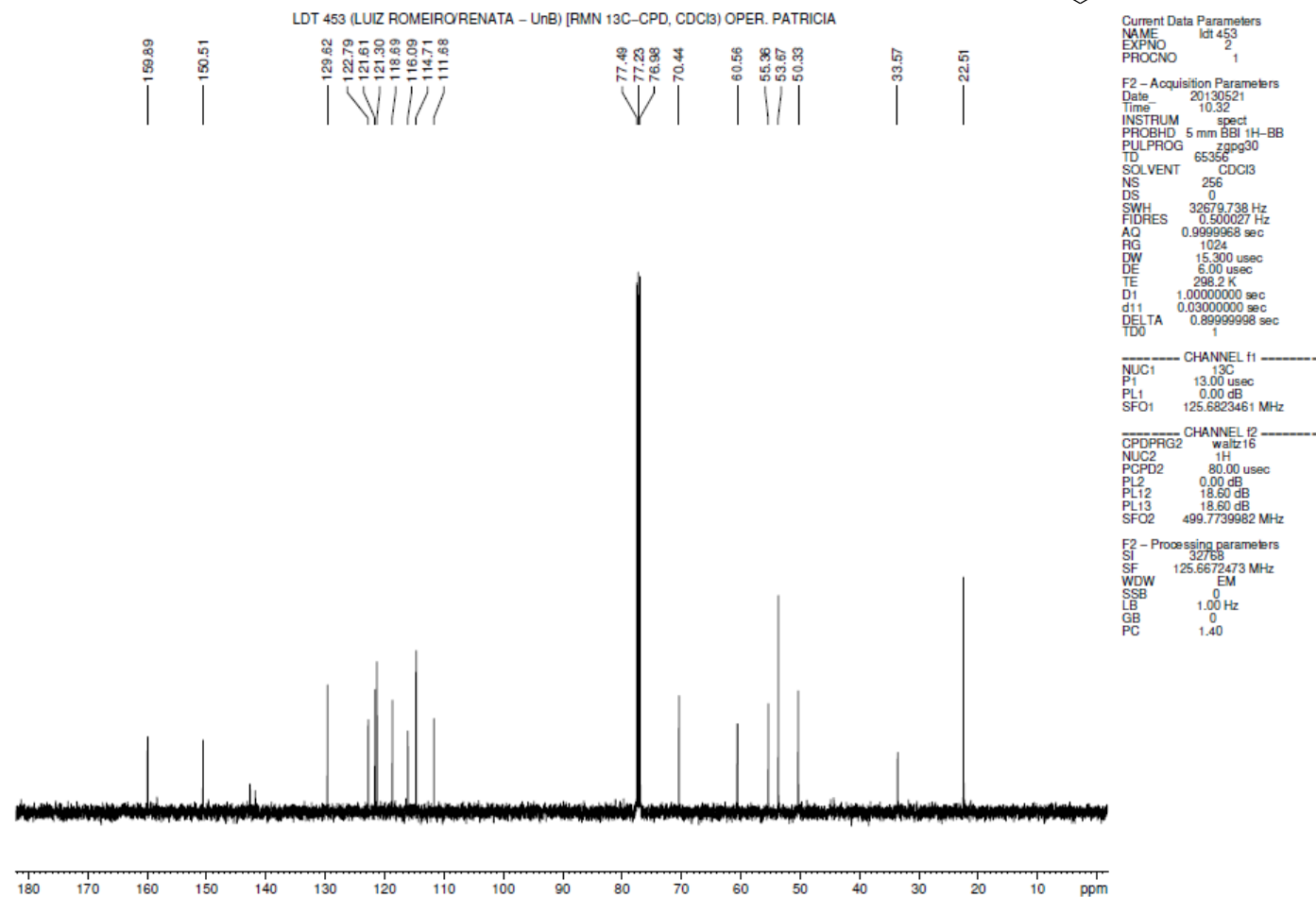
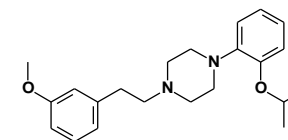


Espectro no Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – 33c (LDT 453)

ANEXO 50

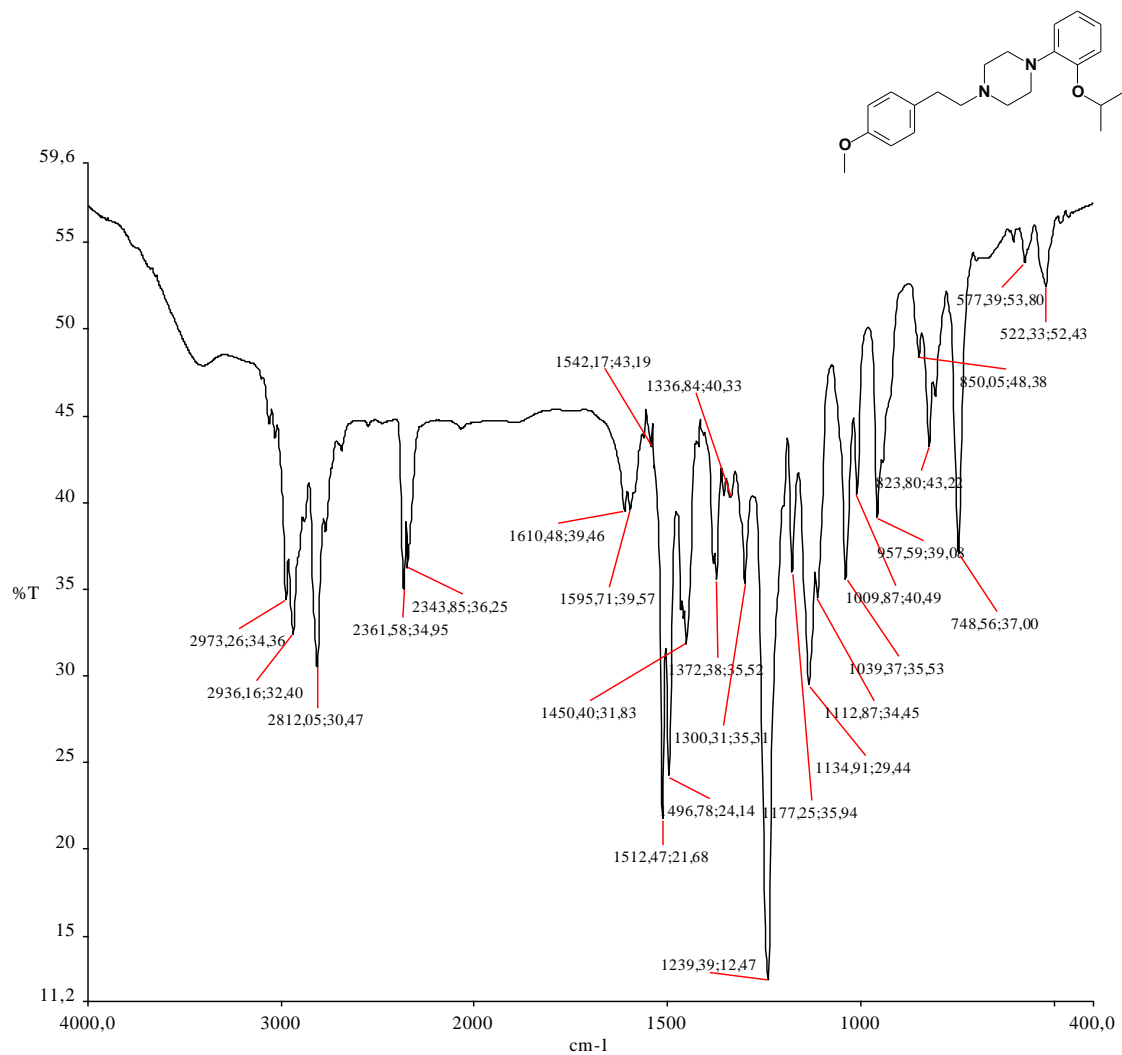
Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) – 33c (LDT 453)

ANEXO 51



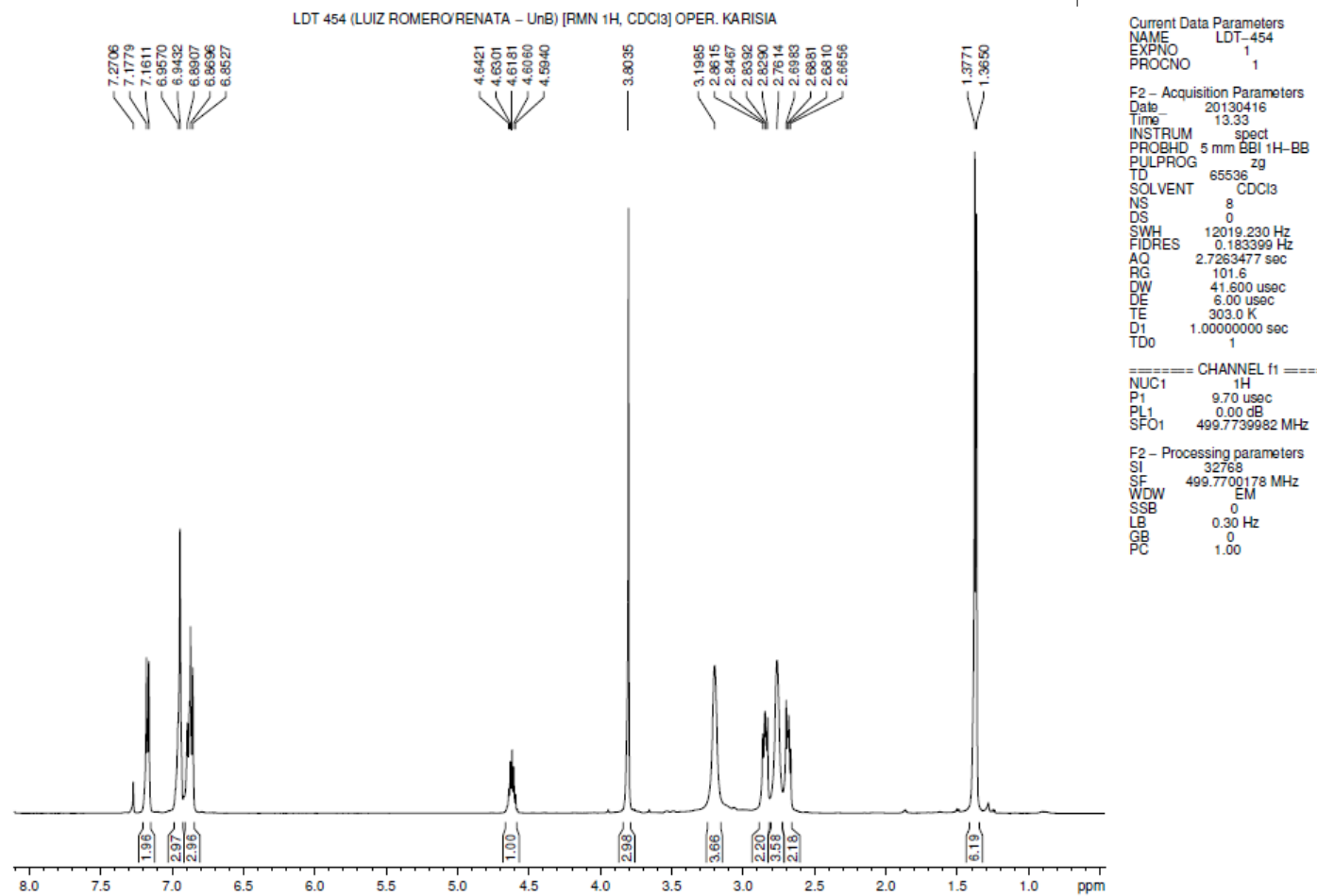
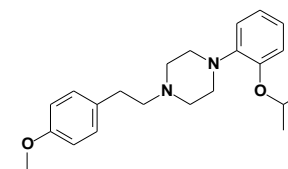
Espectro de RMN ¹³C (175 MHz, CDCl₃) - 33c (LDT 453)

ANEXO 52

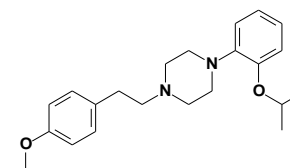
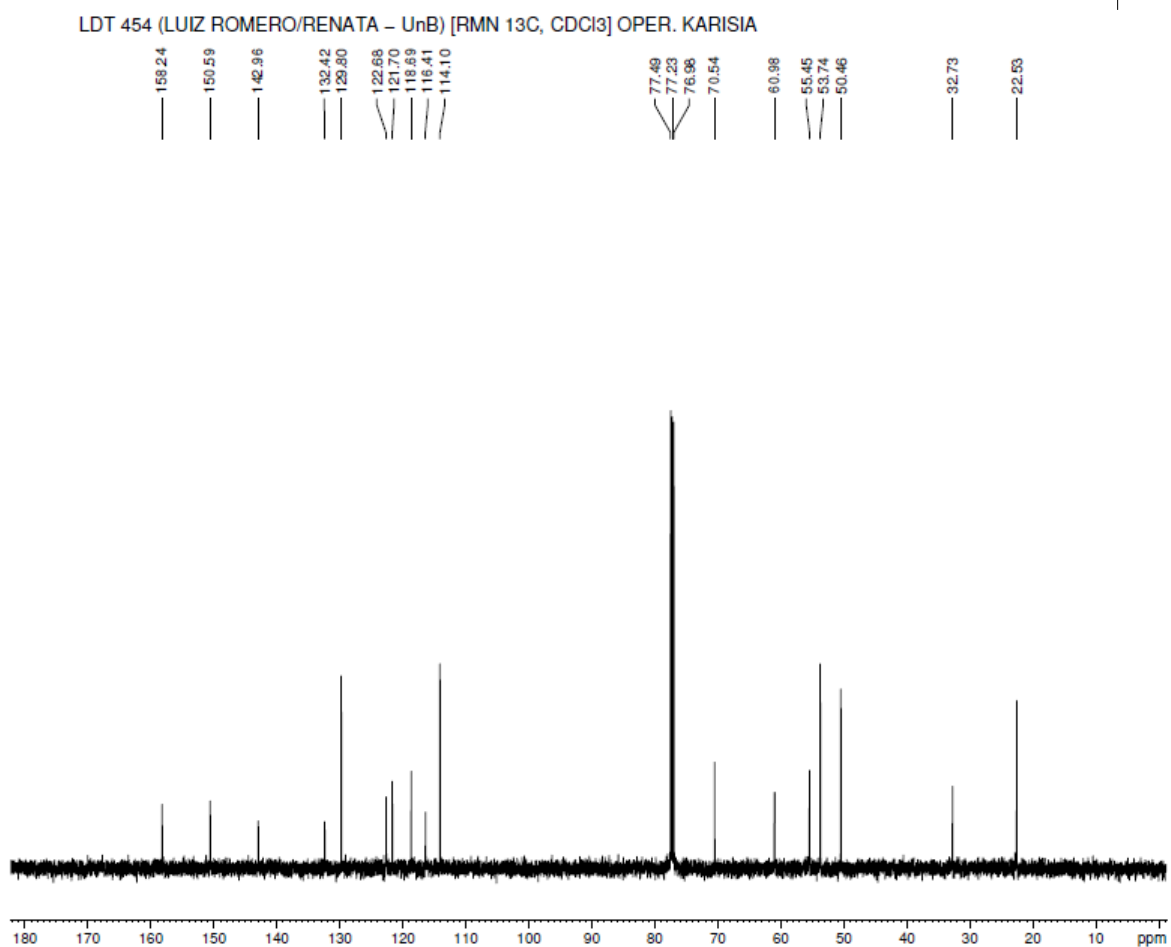


Espectro no Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – 33d (LDT 454)

ANEXO 53

Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) - 33d (LDT 454)

ANEXO 54



Current Data Parameters
 NAME LDT-454
 EXPNO 2
 PROCNO 1

F2 - Acquisition Parameters
 Date_ 20130416
 Time 13.44
 INSTRUM spect
 PROBHD 5 mm BBI 1H-BB
 PULPROG zgpg30
 ID 65356
 SOLVENT CDCl3
 NS 256
 DS 0
 SWH 32679.738 Hz
 FIDRES 0.500027 Hz
 AQ 0.9999968 sec
 RG 1024
 DW 15.300 usec
 DE 6.00 usec
 TE 302.7 K
 D1 1.0000000 sec
 d11 0.0300000 sec
 DELTA 0.89999998 sec
 TD0 1

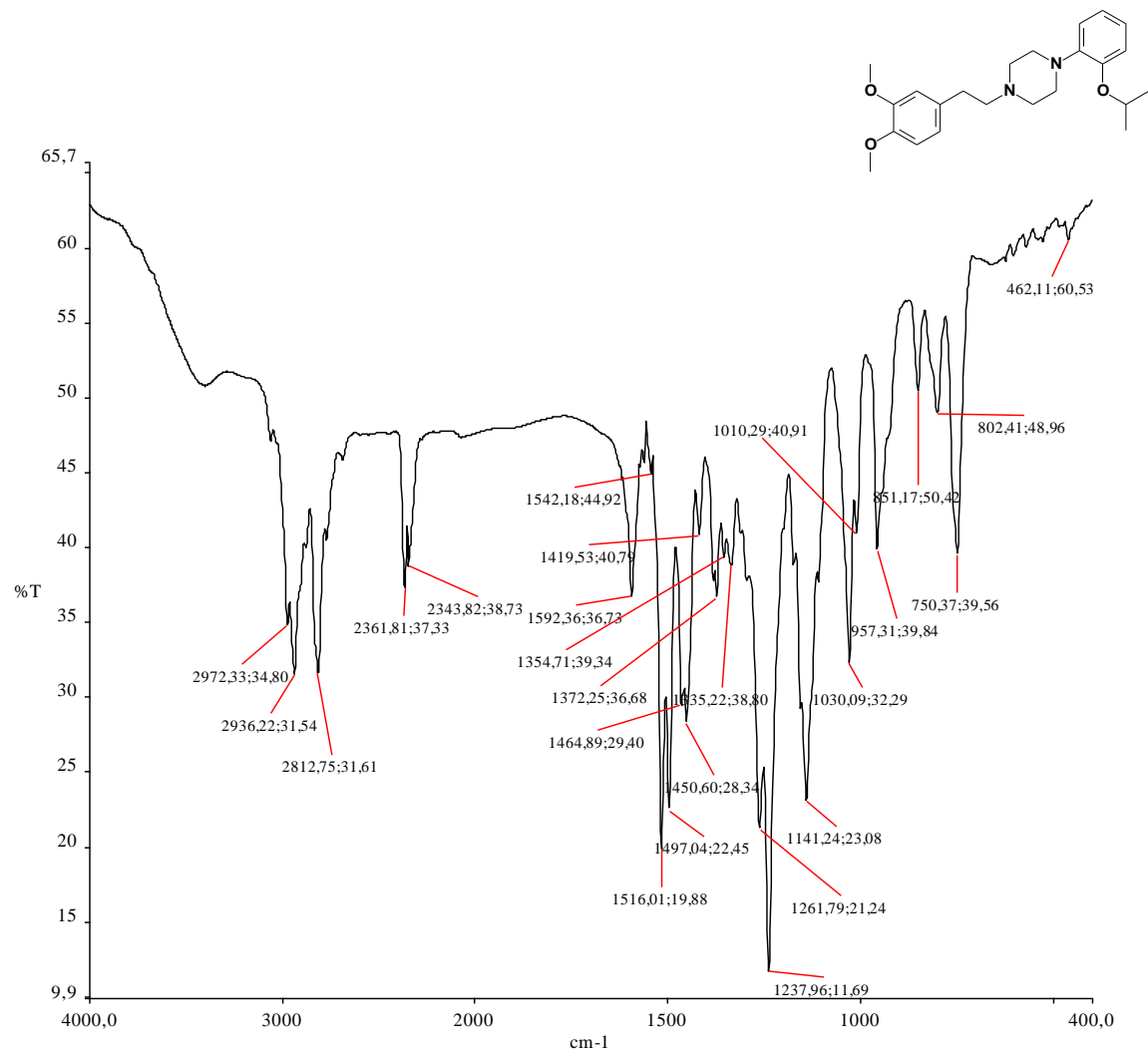
----- CHANNEL f1 -----
 NUC1 13C
 P1 6.05 usec
 PL1 0.00 dB
 SFO1 125.6823461 MHz

----- CHANNEL f2 -----
 CPDPRG2 waltz16
 NUC2 1H
 PCPD2 70.00 usec
 PL2 0.00 dB
 PL12 13.67 dB
 PL13 13.67 dB
 SFO2 499.7739982 MHz

F2 - Processing parameters
 SI 32768
 SF 125.6672474 MHz
 WDW EM
 SSB 0
 LB 1.00 Hz
 GB 0
 PC 1.40

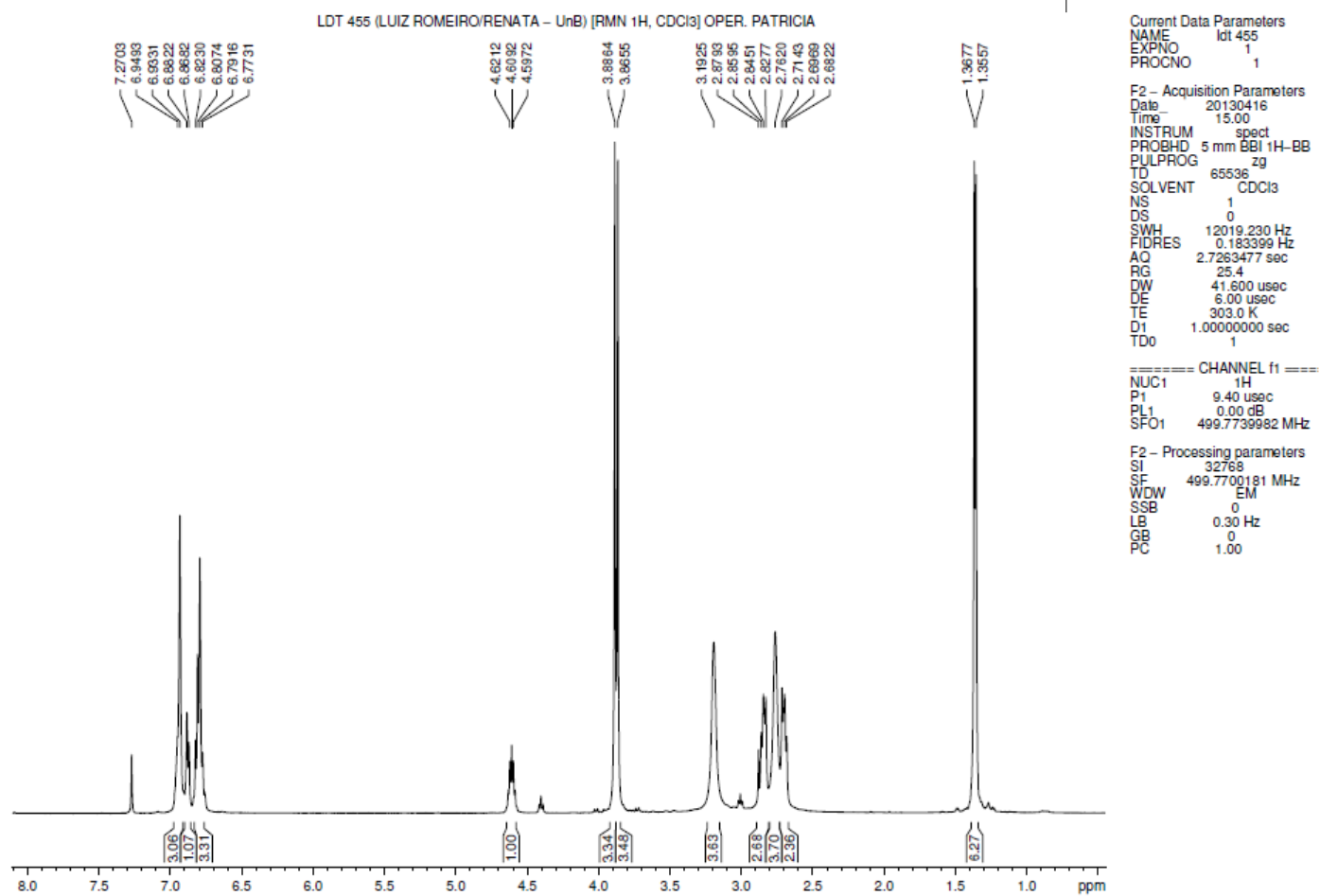
Espectro de RMN ¹³C (175 MHz, CDCl₃) - 33d (LDT 454)

ANEXO 55

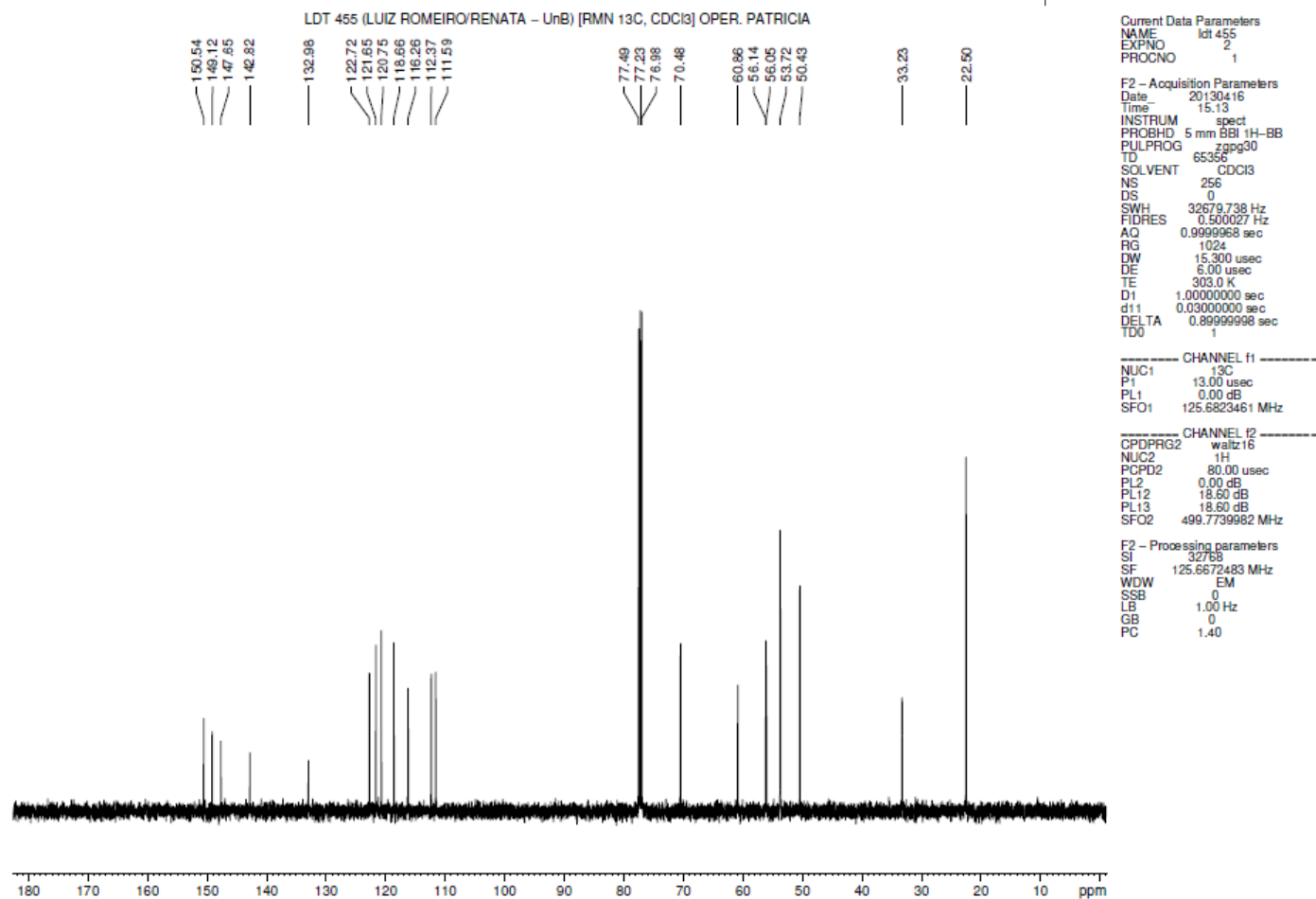
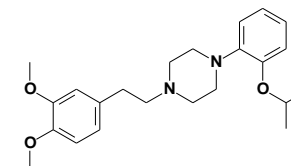


Espectro no Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – 33e (LDT 455)

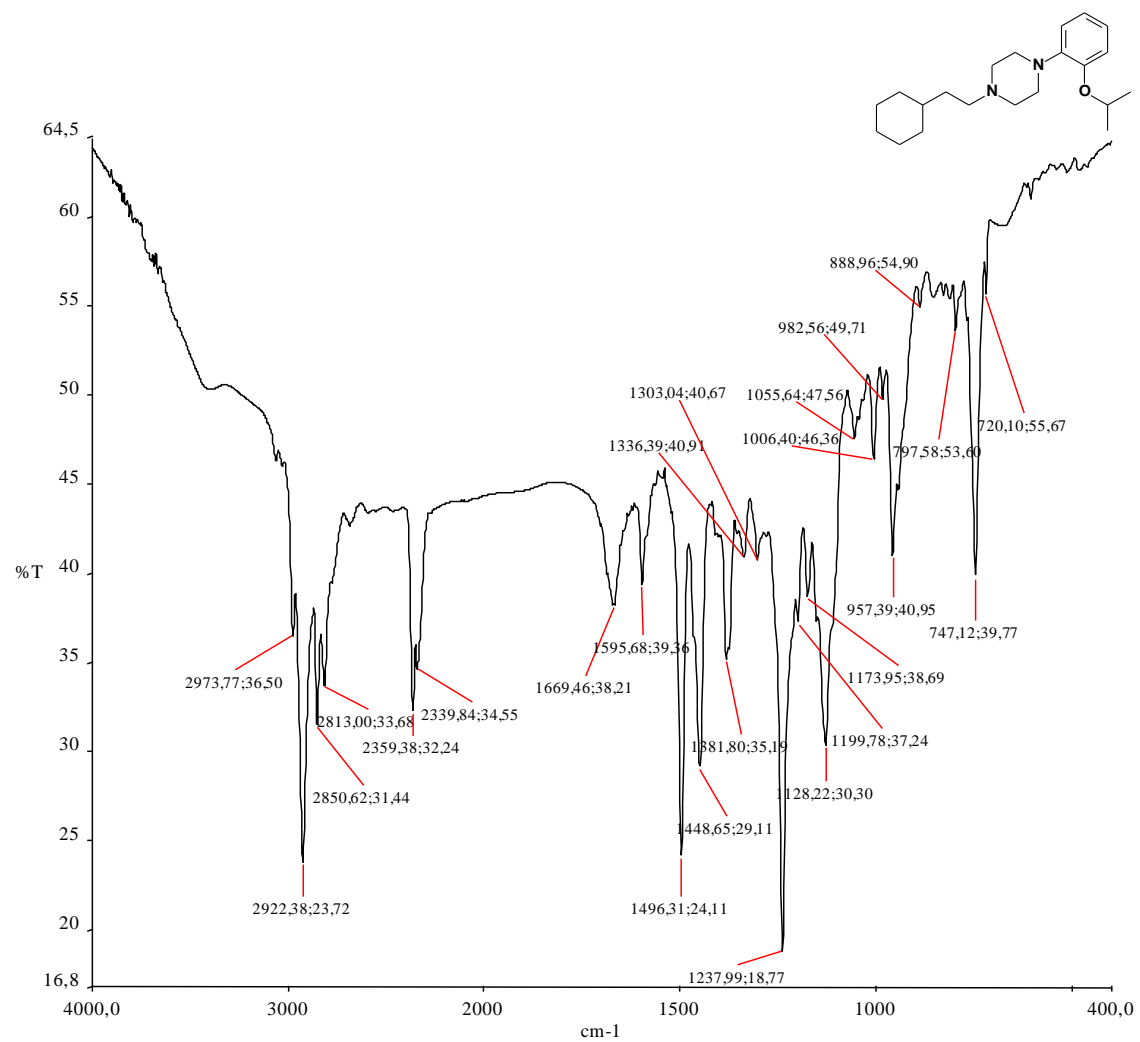
ANEXO 56

Espectro de RMN ¹H (500 MHz, CDCl₃) - 33e (LDT 455)

ANEXO 57

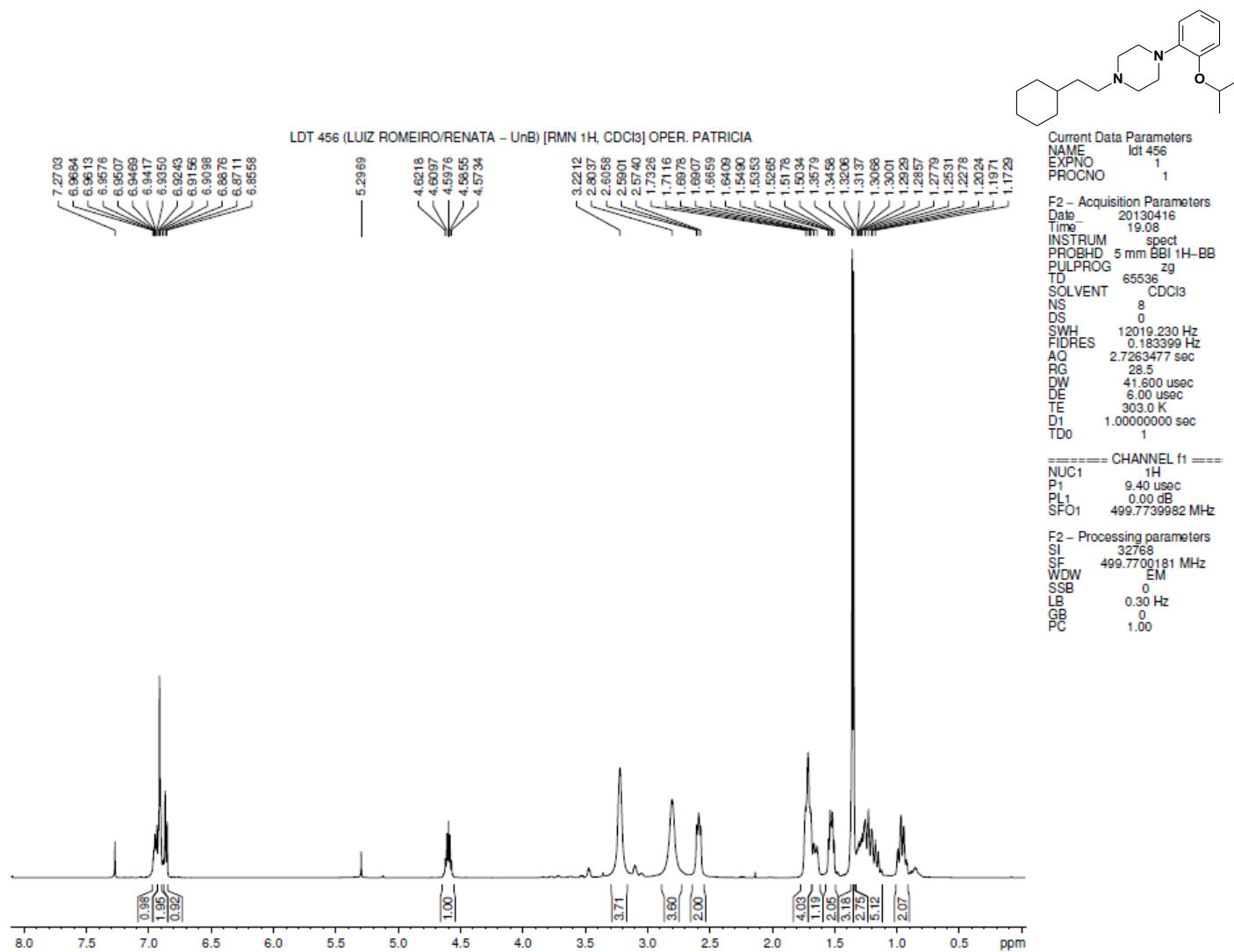
Espectro de RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) - 33e (LDT 455)

ANEXO 58

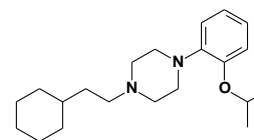
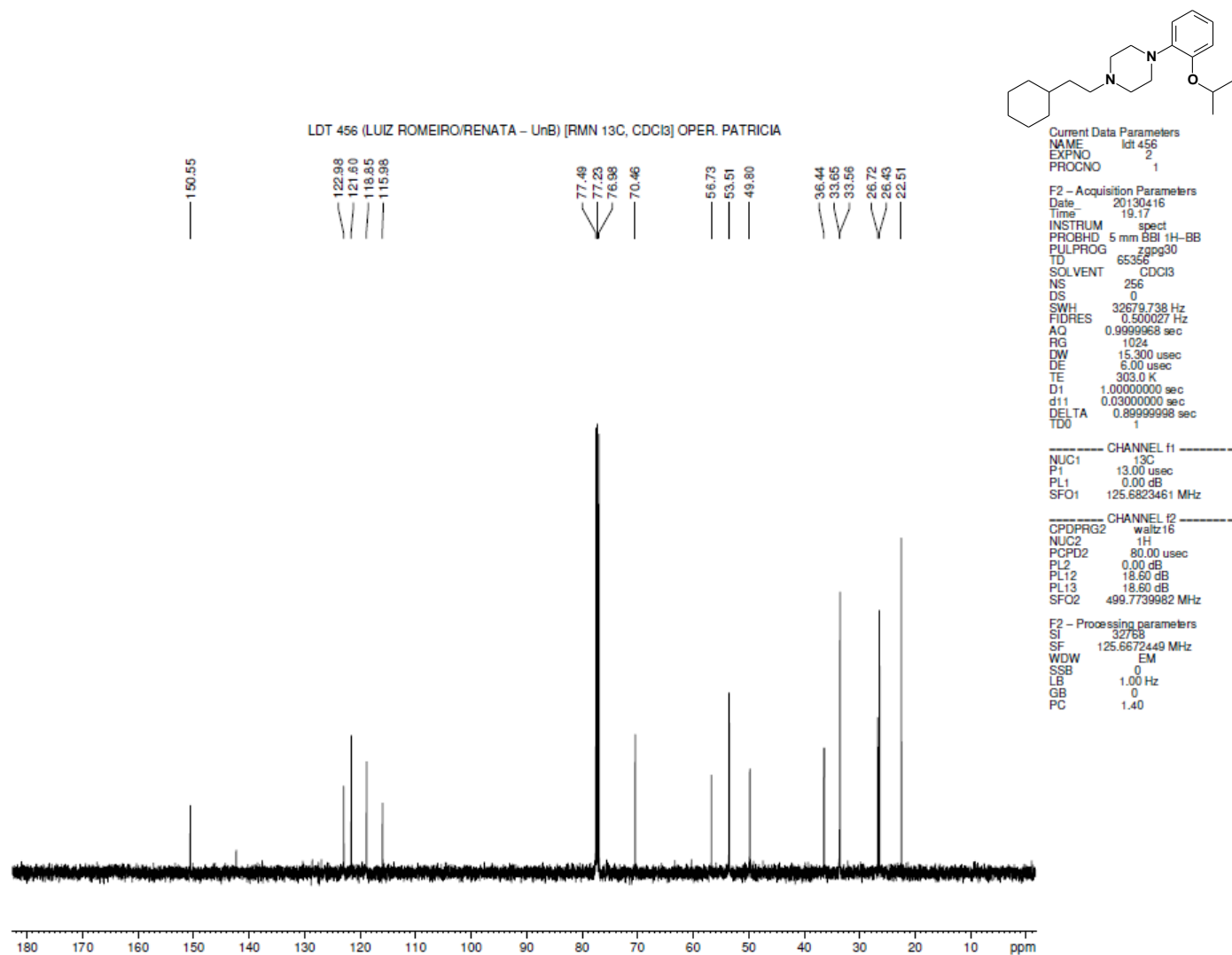


Espectro no Infravermelho (ν cm⁻¹, KBr) – 33f (LDT 456)

ANEXO 59



ANEXO 60



Espectro de RMN ^{13}C (175 MHz, CDCl_3) - 33f (LDT 456)