



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE ANTIBIÓTICOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA

TESE DE DOUTORADO

Planejamento, Síntese e Análise *In Silico* de Novos *N*-Heterociclos

Sandra Paula Sarinho Botelho

Recife, 2014

Sandra Paula Sarinho Botelho

**Planejamento, Síntese e Análise *In Silico* de
Novos *N*-Heterociclos**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco, como parte dos requisitos necessários ao grau de Doutor em Inovação Terapêutica, na área de concentração: Desenho, Modelagem Molecular e Preparação de Produtos Bioativos.

ORIENTADOR:

Prof. Dr. Ivan da Rocha Pitta

CO-ORIENTADOR:

Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior

Recife, 2014

Catálogo na Fonte:
Bibliotecário Bruno Márcio Gouveia, CRB-4/1788

Botelho, Sandra Paula Sarinho

Planejamento, síntese e análise *in silico* de novos *N*-heterociclos / Sandra Paula Sarinho Botelho. – Recife: O Autor, 2015.

112 f.: il.

Orientador: Ivan da Rocha Pitta, Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior
Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências
Biológicas. Pós-graduação em Inovação Terapêutica, 2015.
Inclui referências

1. Farmacologia 2. Química farmacêutica I. Pitta, Ivan da Rocha (orient.) II. Mendonça Júnior, Francisco Jaime Bezerra (coorient.) II. Título.

615.1

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2015-065

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica

REITOR

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE-REITOR

Prof. Dr. Silvio Romero de Barros Marques

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Francisco de Sousa Ramos

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO
TERAPÊUTICA**

Prof. Dr. César Augusto Souza de Andrade

**VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO
TERAPÊUTICA**

Prof^a. Dr. Luiz Alberto Lira Soares

FOLHA DE APROVAÇÃO

NOME: SARINHO BOTELHO, SANDRA PAULA

Planejamento, Síntese e Análise *In Silico* de Novos *N*-Heterociclos

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos necessários ao grau de Doutor em Inovação Terapêutica, na área de concentração: Desenho, Modelagem Molecular e Preparação de Produtos Bioativos.

Aprovada em: 15 / 12 / 2014

Banca Examinadora

Prof. Dr. Ivan da Rocha Pitta

Universidade Federal da Pernambuco

Assinatura:_____

Prof. Dr. Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior

Universidade Estadual da Paraíba

Assinatura:_____

Prof^a. Dr^a. Janaína de Albuquerque Couto

Universidade Federal Rural de Pernambuco

Assinatura:_____

Dr^a. Marina Galdino da Rocha Pitta

Pós-Doutoranda PNPd/CAPES

Assinatura:_____

Prof^a. Dr^a. Maria do Carmo Alves de Lima

Universidade Federal da Pernambuco

Assinatura:_____

DEDICO ESTE TRABALHO

*À minha mãe Cassandra Pinto Sarinho, pelo
amor, dedicação e paciência.*

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Ivan da Rocha Pitta, por novamente me orientar; pelo privilégio da convivência que me trouxe grande aprendizado; pela credibilidade e oportunidade de evolução profissional e intelectual.

Ao Professor Doutor Francisco Jaime Bezerra Mendonça Júnior, pela co-orientação, pelas correções; por se fazer sempre presente nos momentos necessários e contribuir de modo importante para o sucesso desse trabalho.

A Professora Doutora Maria do Carmo Alves de Lima, pela presença constante e decisiva; por intervir, de modo efetivo, na resolução dos problemas enfrentados durante o desenvolvimento da pesquisa; pelo incentivo e amizade, sem os quais não seria possível a conclusão dessa tese.

A Professora Doutora Luciana Scotti, da Universidade Federal da Paraíba do Centro de Ciências da Saúde-Campus I, e sua equipe, pela realização das análises *in silico*.

A Professora Doutora Suely Lins Galdino (*in memoriam*), por ter sido incansável, na busca do desenvolvimento científico regional, proporcionando-nos o desenvolvimento pessoal e profissional, e pela preocupação em fornecer-nos os meios materiais e intelectuais para tanto.

Aos técnicos da central analítica da UFPE, em especial, a amiga, Abene Ribeiro e a Eliete Barros, pela presteza na realização das análises espectroscópicas.

A todos os Professores do Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica, por nos transmitir seus ensinamentos e experiências de forma inteligente e competente.

Ao Professor Doutor César Augusto Souza de Andrade, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica, por conduzir com competência a administração do Programa de Pós-Graduação do qual faço parte.

Ao Secretario Paulo Germano Brito do Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica, pela disponibilidade, eficiência e presteza nos serviços administrativos, além da simpatia para com todos os alunos do Programa de Pós-Graduação.

A FACEPE pela concessão da bolsa de doutorado.

Aos alunos de doutorado e pós-doutorado, Vinícius Barros, Anekécia Lauro e Tiago Bento, pela grande cooperação nas modificações que se fizeram necessárias ao andamento da tese, além do companheirismo e amizade.

A todos os técnicos, estagiários, alunos do colégio de aplicação e iniciação científica, que fazem parte do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos, pela cooperação no desenvolvimento desse trabalho, além da torcida e amizade.

Aos alunos de mestrado e doutorado do Laboratório de Planejamento e Síntese de Fármacos, por partilharem as ocasiões de estudo, trabalho, descontração e também pelo apoio.

Aos colegas de turma do Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica, por compartilharem os momentos de estudos.

A minha mãe Cassandra, minha avó Antonieta e meus tios maternos que contribuíram para minha educação e me ensinaram a importância dos estudos, apesar das adversidades.

A minha irmã Paula e meus sobrinhos Gabriel e Miguel, por se colocarem à disposição, pela torcida e pelos momentos de alegria.

RESUMO

A síntese de fármacos é uma das áreas da Química Medicinal responsável pelo desenvolvimento de novas moléculas com propriedades bioativas que podem ser utilizadas como medicamentos. Dentre os medicamentos disponíveis na terapêutica dos distúrbios do sistema nervoso central, observa-se que os compostos *N*-heterocíclicos são os que apresentam maior número de representantes. Estes distúrbios têm mecanismos muito complexos entre os circuitos neurais, envolvendo diversos neurotransmissores. Portanto, drogas não-específicas, têm demonstrado ser mais eficazes e com efeitos secundários mais baixos. Nesse contexto, o primeiro capítulo desse trabalho contém um estudo teórico sobre os efeitos, atividades, afinidades e especificidades das benzo- e tienobenzo-diazepínas, comprovando que agentes multi-receptores, tais como as tienobenzodiazepínas, são mais eficazes que as benzodiazepínas, seletiva a um único receptor. Em adição, cinco estruturas, pertencentes a um pequeno conjunto de análogos da olanzapina, e submetidos a Modelos de Floresta Aleatória, foram classificados como agentes multi-receptores, onde o grupo *n*-benzil-tetrahidropiridina presente nos compostos 3 e 6 aumentam o potencial multi-alvo dos análogos da olanzapina com *n*-benzil-tetrahidropiridina ou morfolina. O segundo capítulo discorre sobre a síntese das piridobenzodiazepinas, planejadas de forma a se obter análogos estruturais da olanzapina, onde a piridina substitui o benzeno. O procedimento sintético se mostrou viável nas três primeiras etapas, porém, não foi possível confirmar a estrutura química dos compostos ésteres ácidos de 4-toluenosulfonila-6-(cicloamin-4-il)-3-nitropiridin-2-il (7a-b), o que inviabilizou a continuidade da rota sintética. A síntese dos compostos foi iniciada pela reação de substituição nucleofílica aromática, para obtenção do 2-(*tert*-butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3) com rendimento global de 41,86%. Quatro diferentes estratégias foram empregadas na obtenção dos compostos (2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocícloaminas (5a-b), a que utilizou o ligante fosfina BINAP pela metodologia de Buchwald se mostrou mais efetiva, com rendimento global variando entre 57,5 e 86%. Na etapa seguinte, a catálise ácida gerou o composto 6-(cicloamina)-3-nitro-piridin-2-ol (6a-b) com rendimento global de 100%. Em paralelo, foram sintetizados os 2-amino-cicloalquil[*b*]tiofenos-3-carbonitrila (11a-c) e 2-amino-cicloalquil[*b*]tiofenos-3-etanoato de etila (11d-f), por reação de Gewald com rendimento global variando entre 51 a 68% e 24,8 a 30%, respectivamente.

Palavras-chave: *N*-heterociclos, síntese de fármacos, olanzapina, piridobenzodiazepinas.

ABSTRACT

The synthesis of pharmaceuticals is one of the fields of Medicinal Chemistry responsible for the development of new molecules with bioactive properties that can be used as medicaments. Among the available drugs in the treatment of central nervous system disorders, it is observed that *N*-heterocyclic compounds are those with largest number of representatives. These disorders are very complex mechanisms between the neural circuits involving several neurotransmitters. Therefore, non-specific drugs have been shown to be more effective with lower side effects. In this context, the first chapter of this work contains a theoretical study of the effects, activities, affinities and specificities of benzo- and thienobenzo-diazepines, proving that multi-target agents, such as thienobenzodiazepines, are more effective than benzodiazepines, selective to a single receiver. In addition, five structures belonging to a small set of olanzapine analogues, and undergone Random Forest models were classified as multi-target agents, where the *n*-benzyl-tetrahydropyridine group present in the compounds 3 and 6 increase the potential multi-target of olanzapine analogues with *n*-benzyl-tetrahydropyridine or morpholine. The second section discusses the synthesis of piridobenzodiazepinas, designed in order to obtain structural analogues of olanzapine, in which the pyridine replaces benzene. The synthetic procedure proved feasible in the first three steps, however, it was not possible to confirm the chemical structure of compounds acid esters of 4-toluensulfonil-6-(cycleamin-4-yl)-3-nitropyridin-2-yl (7a-b), which prevented the continuity of the synthetic route. The synthesis of compounds was initiated by the nucleophilic aromatic substitution reaction to obtain 2-(*tert*-butoxy)-6-chloro-3-nitro-pyridine (3) with an overall yield of 41.86%. Four different strategies were used to obtain the compounds (2-*tert*-butoxy-3-nitro-pyridin-6-yl)-heterocycleamines (5a-b), which utilized the phosphine ligand BINAP by Buchwald methodology proved to be more effective, overall yield ranging between 57.5-86%. In the next step, acid catalysis gave the compound 6-(cycleamina)-3-nitro-pyridin-2-ol (6a-b) with an overall yield of 100%. In parallel, been synthesized 2-amin-cycloalkyl[b]thiophene-3-carbonitrile (11a-c) and 2-amin-cycloalkyl[b]thiophene-3-ethyl ethanoate (11d-f), by reacting Gewald overall yield ranging between 51-68% and 24.8-30%, respectively.

Keywords: *N*-heterocycles, synthesis of drugs, olanzapine, piridobenzodiazepines.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Estrutura química da clozapina (a) e da olanzapina (b)	49
Figura 2	Estrutura química da loxapina e amoxapina	49
Figura 3	Estrutura de análogos da olanzapina submetidos à 6 modelos.	50
Figura 4	Espectro de RMN ¹ H da molécula 2-(<i>tert</i> -butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3).	88
Figura 5	Espectro de RMN ¹ H da molécula 1-(6- <i>tert</i> -butóxi-5-nitro-piridin-2-il)-4-metil-piperazina (5a).	89
Figura 6	Espectro de RMN ¹ H da molécula 2-amino-5,6-diidro-4 <i>H</i> -ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila (11a).	89
Figura 7	Espectro de RMN ¹³ C da molécula 2-(<i>tert</i> -butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3).	90
Figura 8	Espectro de RMN ¹³ C da molécula 1-(2- <i>tert</i> -butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a).	91
Figura 9	Espectro de RMN ¹³ C da molécula 2-amino-5,6-diidro-4 <i>H</i> -ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila (11a).	91
Figura 10	Espectro de Infravermelho da molécula 2-(<i>tert</i> -butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3).	92
Figura 11	Espectro de Infravermelho da molécula 1-(2- <i>tert</i> -butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a).	93
Figura 12	Espectro de Infravermelho da molécula 2-amino-5,6-diidro-4 <i>H</i> -ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila (11a).	94

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1	Síntese dos novos heterociclos análogos da olanzapina	70
Esquema 2	Rota sintética	71
Esquema 3	Síntese dos tiofenos substituídos por reação de Gewald	72
Esquema 4	Mecanismo de obtenção da 2-(<i>tert</i> -butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3).	77
Esquema 5	Mecanismo de obtenção dos compostos (2- <i>tert</i> -butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocícloaminas (5a-b) via reação de Buchwald.	79
Esquema 6	Mecanismo de obtenção das moléculas (2- <i>tert</i> -butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocícloaminas (5a-b) por reação de Substituição Nucleofílica Aromática.	81
Esquema 7	Mecanismo de obtenção dos compostos 6-(cicloamina)-3-nitro-piridin-2-ol (6a-b).	82
Esquema 8	Mecanismo de obtenção dos ésteres ácidos de 4-toluenosulfonila-6-(cicloamin-4-il)-3-nitropiridin-2-il (7a-b).	83
Esquema 9	Mecanismo de obtenção dos 2-amino-cicloalquil[b]tiofenos-3-carbonitrila (11a-c) e 2-amino-cicloalquil[b]tiofenos-3-etanoato de etila (11d-f).	84

LISTA DE TABELA

Tabela 1	Alguns benzodiazepínicos e principais utilizações	51
Tabela 2	Resumo do treinamento, testes e respectivos resultados da correspondência usando Modelo de Floresta Aleatória para a dopamina D ₁ , D ₂ , D ₃ , D ₄ , D ₅ e receptores do transportador de dopamina	63
Tabela 3	Atividade prevista para análogos da olanzapina por Modelos de Floresta Aleatória contra receptores de dopamina D ₁ , D ₂ , D ₃ , D ₄ , D ₅ , e transportadores de dopamina. A pontuação representa o número de vezes que um composto é classificado como ativo.	66
Tabela 4	Comparativo das metodologias utilizadas na obtenção dos compostos (2- <i>tert</i> -butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocícloaminas (5a-b) reação de Buchwald.	78
Tabela 5	Comparativo das metodologias utilizadas na obtenção dos compostos (2- <i>tert</i> -butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocícloaminas (5a-b), reação de Substituição Nucleofílica Aromática.	80
Tabela 6	Dados espctroscópicos de RMN ¹ H, RMN ¹³ C e IV da 6-cloro-2-(<i>tert</i> -butóxi)-3-nitro-piridina (3), derivados (2- <i>tert</i> -butóxi-3-nitro-piridin-6-il) heterocicloamina (5a-b).	85
Tabela 7	Dados espctroscópicos de RMN ¹ H, RMN ¹³ C e IV dos derivados 2-amino-cicloalquil[<i>b</i>]tiofenos-3-carbonitrila (11a-c).	86
Tabela 8	Dados espctroscópicos de RMN ¹ H, RMN ¹³ C e IV dos derivados 2-amino-cicloalquil[<i>b</i>]tiofenos-3-etanoato de etila (11d-f).	87
Tabela 9	Características físico-químicas da 2-(<i>tert</i> -butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3).	94
Tabela 10	Características físico-químicas dos compostos (2- <i>tert</i> -butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocícloaminas (5a-b).	95
Tabela 11	Características físico-químicas dos compostos 6-(cicloamina)-3-nitro-piridin-2-ol (6a-b).	95
Tabela 12	Características físico-químicas dos derivados 2-amino-cicloalquil[<i>b</i>]tiofenos-3-carbonitrila (11a-c).	96
Tabela 13	Características físico-químicas dos derivados 2-amino-cicloalquil[<i>b</i>]tiofenos-3-etanoato de etila (11d-f).	97

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

BZ ou BZD – Benzodiazepina

BZ1 – Receptor benzodiazepínico contendo a subunidade α_1 -

BZ2 – Receptor benzodiazepínico contendo a subunidade α_2 -, α_3 -, ou α_5 -

GABA – γ - Ácido aminobutírico

GABA-A – Receptor γ - Ácido aminobutírico A

TBZ – Tienobenzodiazepina

EPS – Sintoma extrapiramidal

FDA – Administração de alimentos e drogas

D₁-D₅ – Subtipos de receptores dopamínicos

M₁-M₅ – Subtipos de receptores muscarínicos

H₁ – Subtipo de receptor histamina

5-HT – Serotonina ou 5-Hidroxitriptamina

DA – Dopamina

5-HT_{1A}, 5-HT_{2a}, 5-HT_{2c}, 5-HT₃, 5-HT₆ and 5-HT₇ – Subtipos de receptores serotoninícos

CNS – Sistema nervoso central

cAMP – Monofosfato de adenosina cíclica

GSK3 – Glicogênio sintase quinase 3

SMILES – Sistema simplificado de linha de entrada molecular

MIF – Campos de interação molecular

N1 – Nitrogênio amida – Sonda doadora de ligação hidrogênio

O – Oxigênio carbonilo – Sonda aceitante de ligação hidrogênio

OH2 – Sonda de água

DRY – Sonda hidrofóbica

RF – Algoritmo de Floresta Aleatória

SUMÁRIO

RESUMO	VII
ABSTRACT	VIII
	IXErro! Indicador não definido.
LISTA DE FIGURAS	
LISTA DE ESQUEMAS	X
LISTA DE TABELAS	XI
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	XII
1. INTRODUÇÃO	16
2. OBJETIVOS	19
2.1. Objetivos gerais	20
2.2. Objetivos específicos	20
CAPÍTULO I	
Benzo e tienobenzo - diazepinas: Drogas multi-alvo para distúrbios do SNC.	21
3. APRESENTAÇÃO DO CAPÍTULO I	22
3.1. Benzodiazepinas	26
3.2. Gaba	27
2.3. BZ ₁ and BZ ₂	27
3.4. Tienobenzodiazepinas	28
3.5. Receptores muscarínicos	29
3.6. Efeitos dos antipsicóticos atípicos nos receptores muscarínicos	30
3.7. Receptores dopamínicos	30
3.8. Efeitos dos antipsicóticos atípicos nos receptores α_2 - e α_1 -adrenoreceptores	31
3.9. Efeitos dos antipsicóticos atípicos nos receptores histamínicos H ₁	32
3.10. Receptores serotoninérgicos	32
3.11. Efeitos dos antipsicóticos atípicos nos receptores serotoninérgicos	33
3.12. Outros alvos para as tienobenzodiazepinas	35
3.13. Predição de atividade antagonista multi-alvo de análogos da olanzapina à receptores dopamínicos D ₁ , D ₂ , D ₃ , D ₄ , D ₅ e transportadores de dopamina.	36
3.14. RESULTADO E DISCUSSÃO	37
3.15. CONCLUSÃO	38

3.16. REFERÊNCIAS	39
CAPÍTULO II	
Síntese de novas piridobenzodiazepinas quimicamente relacionadas à olanzapina	67
4. APRESENTAÇÃO DO CAPÍTULO II	68
4.1. METODOLOGIA	71
4.1.1. Rota sintética utilizada para obtenção das novas piridinas	71
4.1.2. Reagentes e solventes	72
4.1.3. Comprovação das estruturas dos compostos sintetizados	72
4.1.4. Caracterização físico-química	73
4.1.5. Procedimento de síntese	73
4.1.5.1. Procedimento de síntese do 2-(<i>tert</i> -butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3)	73
4.1.5.2. Procedimento geral de síntese dos (2- <i>tert</i> -butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocícloaminas (5a-b)	73
4.1.5.2.1. Síntese da 1-(2- <i>tert</i> -butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a) e 4-(2- <i>tert</i> -butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-morfolina (5b) (Metodologia A)	74
4.1.5.2.2. Síntese da 1-(2- <i>tert</i> -butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a) e 4-(2- <i>tert</i> -butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-morfolina (Metodologia B)	74
4.1.5.2.3. Síntese da 1-(2- <i>tert</i> -butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a) e 4-(2- <i>tert</i> -butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-morfolina (5b) (Metodologia C)	75
4.1.5.2.4. Síntese da 1-(2- <i>tert</i> -butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a) e 4-(2- <i>tert</i> -butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-morfolina (5b) (Metodologia D)	75
4.1.5.3. Procedimento geral de síntese dos 6-(cicloamina)-3-nitro-piridin-2-ol (6a-b)	75
4.1.5.4. Procedimento geral de síntese dos ésteres ácidos de 4-toluenosulfonila-6-(cicloamin-4-il)-3-nitropiridin-2-il (7a-b)	76
4.1.5.5. Procedimento geral de síntese dos 2-amino-cicloalquil[<i>b</i>]tiofenos-3-carbonitrila (11a-c) e 2-amino-cicloalquil[<i>b</i>]tiofenos-3-etanoato de etila (11d-f)	76
4.2. RESULTADO E DISCUSSÃO	76
4.2.1. Mecanismos reacionais	76
4.2.1.1. Reação de Substituição Nucleofílica Aromática - 1ª Etapa	76
4.2.1.2. Reação de Buchwald e Substituição Nucleofílica Aromática - 2ª Etapa	78
4.2.1.3. Catálise ácida - 3ª Etapa	81
4.2.1.4. Ativação - 4ª Etapa	82
4.2.1.5. Reação de Gewald	84

4.2.2. Caracterização estrutural dos compostos sintetizados	85
4.2.2.1. Espectroscopia RMN ¹ H	87
4.2.2.1.1. 2-(<i>tert</i> -Butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3)	87
4.2.2.1.2. 1-(2- <i>tert</i> -Butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a)	88
4.2.2.1.3. 2-Amino-5,6-diidro-4 <i>H</i> -ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila (11a)	89
4.2.2.2. Espectroscopia RMN ¹³ C	
4.2.2.2.1. 2-(<i>tert</i> -Butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3)	89
4.2.2.2.2. 1-(2- <i>tert</i> -Butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a)	90
4.2.2.2.3. 2-Amino-5,6-diidro-4 <i>H</i> -ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila (11a)	91
4.2.2.3. Espectroscopia de Infravermelho	92
4.2.2.3.1. 2-(<i>tert</i> -Butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3)	92
4.2.2.3.2. 1-(2- <i>tert</i> -Butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a)	92
4.2.2.3.3. 2-Amino-5,6-diidro-4 <i>H</i> -ciclopenta[<i>b</i>]tiofeno-3-carbonitrila (11a)	93
4.2.3. Caracterização físico-química	94
4.2.3.1. 2-(<i>tert</i> -Butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3)	94
4.2.3.2. (2- <i>tert</i> -Butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocícloaminas (5a-b)	94
4.2.3.3. 6-(Cicloamina)-3-nitro-piridin-2-ol (6a-b)	95
4.2.3.4. 2-Amino-cicloalquil[<i>b</i>]tiofenos-3-carbonitrila (11a-c)	95
4.2.3.5. 2-Amino-cicloalquil[<i>b</i>]tiofenos-3-etanoato de etila (11d-f)	96
4.3. CONCLUSÃO	98
5. CONCLUSÃO FINAL	100
6. PERSPECTIVAS	102
7. REFERÊNCIAS	104

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

A síntese de fármacos é uma das áreas mais nobres da química, sendo responsável pela construção de novas entidades químicas (moléculas), que podem se tornar os princípios ativos de novos medicamentos (MENEGATTI et al., 2001). Esse desdobramento da química orgânica apresenta características particulares, pois vai além do planejamento de uma sequência de reações químicas, visando à obtenção de uma determinada estrutura química planejada (KOROLKOVAS, 1974; BARREIRO e FRAGA, 2001).

Essa área de estudos envolve etapas complexas e interdisciplinares, que são atualmente agrupadas na Química Medicinal (THOMAS, 2003) que, segundo a IUPAC, “diz respeito à descoberta, desenvolvimento, identificação, e interpretação do modo de ação de compostos biologicamente ativos a nível molecular”. Alfred Burger acrescenta, “Química Medicinal também diz respeito ao isolamento, caracterização e síntese de compostos, que podem ser utilizados na medicina, para prevenção, tratamento e cura de doenças” (LIMA, 2007).

Para identificação de um composto-protótipo candidato a novo fármaco, muitas estratégias podem ser empregadas. O planejamento racional de fármacos auxilia nesse processo, permitindo que as descobertas sejam mais planejadas, racionais e menos dispendiosas (KOROLKOVAS e BURCKHALTER, 1982; AMARAL e MONTANARI, 2002; WELSCH et al., 2010).

Várias estratégias podem ser empregadas, desde *screening* virtual, utilizando banco de moléculas; análise *in silico*, envolvendo técnicas de *docking* em alvos específicos; estudos teóricos de predição de propriedades farmacocinéticas e toxicológicas; até a síntese do composto-protótipo propriamente dito, baseado na estrutura tridimensional do alvo que, depois de sintetizado, precisa ter sua eficácia terapêutica comprovada por provas de conceito *in vitro* e *in vivo* (MONTANARI, 2000; AKAMATSU, 2002; PERKINS, 2003; QUIRINO et al., 2006; McGOVERN, 2009; PAZ, 2012). Uma vez identificado e sintetizado, esse novo composto-protótipo, pode ainda ter sua eficácia intensificada através de modificações moleculares subsequentes na estrutura do farmacóforo, permitindo, assim, gerar compostos ainda mais potentes, ou com propriedades farmacocinéticas mais adequadas (MONTANARI, 1995; WERMUTH, 2003; TAVARES, 2004).

Fazendo uma análise das estruturas químicas dos fármacos comercialmente disponíveis, observa-se que a grande maioria contém pelo menos um composto heterocíclico

(EVANS et al., 1988; DESIMONE et al., 2004; WÓZNIAK e DER PLAS, 2000), dentre esses, os mais recorrentes são os chamados *N*-heterociclos, contendo, no mínimo, um heteroátomo de nitrogênio (SANGI, 2011; CHEN et al., 2011; KO et al., 2001; YANAGISAWA et al., 1973; MOGILIAIAH et al., 2003; GOODMAN e GILMAN, 1996).

Entre os medicamentos disponíveis na terapêutica dos distúrbios do Sistema Nervoso Central (SNC), observa-se que os compostos *N*-heterocíclicos são os que apresentam maior número de representantes. Esses compostos figuram tanto entre os antipsicóticos convencionais, que atuam em um único receptor (BERMEJO e RODOCIO, 2007; SARIN e PORTO, 2009), quanto entre os antipsicóticos atípicos, classificados como agentes multi-receptores (BYMASTER et al., 1996; MEDEIROS et al., 2008; BALDESSARINI et al., 1992; LIMA et al., 1999). Os distúrbios mencionados têm mecanismos muito complexos, entre os circuitos neurais, envolvendo diversos neurotransmissores e, portanto, drogas não-específicas, que têm o potencial de interferir em vários receptores, têm demonstrado ser mais eficaz e com efeitos secundários mais baixos (KANDO et al., 1997).

Diante do esforço para descobrir medicamentos mais eficazes, mais baratos e menos tóxicos, associado ao grande potencial de agentes multi-receptores em inibir sintomas psicóticos, visualizamos a possibilidade de desenvolver novas moléculas sintéticas, terapeuticamente úteis e relacionadas à olanzapina, que possam servir como novos agentes neurolépticos. Nesse contexto, esse trabalho visou um estudo teórico sobre as benzo- e tienobenzodiazepinas e seus alvos terapêuticos, além do desenvolvimento sintético de novas benzodiazepinas, mais especificamente piridobenzodiazepinas, todas pertencentes à classe de compostos *N*-heterocíclicos.

Essa tese está organizada em dois capítulos, onde no primeiro há o relato da importância das benzo- e tienobenzodiazepinas e seus alvos biológicos. Concomitantemente, foram propostas estruturas químicas de novos análogos da olanzapina. Em seguida, seus potenciais sítios de ligação com os receptores dopaminérgicos e o transportador de dopamina foram analisados *in silico*. Esse estudo se encontra no artigo intitulado “Benzo- and thienobenzodiazepines: Multi-target drugs for CNS disorders”, aceito para publicação na revista *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. O segundo capítulo trata da apresentação e discussão dos procedimentos sintéticos utilizados na obtenção de novas piridobenzodiazepinas quimicamente relacionadas à olanzapina, além da descrição das análises físico-químicas e espectroscópicas que auxiliaram na caracterização e comprovação estrutural dos compostos químicos obtidos.

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo Geral

Sintetizar, caracterizar e analisar *in silico* novos compostos *N*-heterocíclicos quimicamente relacionadas à olanzapina.

2.2. Objetivos Específicos

- Promover a síntese química de novos compostos quimicamente relacionados à olanzapina (piridobenzodiazepíνας).
- Verificar as características físico-químicas dos novos compostos sintetizados.
- Caracterizar estruturalmente os novos compostos obtidos através de diferentes técnicas espectroscópicas e espectrométricas.
- Propor estruturas análogas à olanzapina e gerar Modelos de Florestas Aleatórias (Random Forest).
- Classificar as estruturas análogas à olanzapina como antagonista ativa ou inativa em cinco receptores da dopamina (D1, D2, D3, D4, D5 e D6) e no transportador da dopamina.

Artigo aceito para publicação
Mini-Reviews in Medicinal Chemistry

CAPÍTULO I

Benzo e tienobenzo - diazepinas: Drogas multi-alvo para distúrbios do SNC

APRESENTAÇÃO DO CAPÍTULO I

BENZO E TIENOBENZO-DIAZEPINAS: DROGAS MULTI-ALVO PARA DISTÚRBIOS DO SNC

Neste capítulo está descrito a importância dos fármacos benzo e tienobenzo-diazepínicos e seus receptores, no tratamento de doenças do Sistema Nervoso Central-SNC. Os benzodiazepínicos são compostos *N*-heterocíclicos pertencentes a uma classe de drogas psicoativas depressoras do sistema nervoso central, com diversas atividades biológicas e farmacológicas, tais como: anticonvulsivantes, ansiolíticos, sedativos, antidepressivos, hipnóticos e com atividade antiinflamatória, recomendado ainda no tratamento da taquicardia, hipertensão, agitação, convulsões e intoxicações por drogas. Utilizados também no tratamento da catatonia, apesar de alguns estudos questionarem a capacidade terapêutica destes por induzirem à catatonia pela interrupção abrupta do tratamento.

Os mecanismos de ação das benzodiazepinas a nível molecular, envolvem a ligação destas ao sítio de ligação BZD específico que se encontra no receptor ácido gama-butírico A ($GABA_A$), regulador do canal de íons cloro. Por esse motivo, essas drogas levam a efeitos sedativo-hipnóticos, ansiolíticos, relaxantes musculares e anticonvulsivos mais seguros que em outros moduladores positivos $GABA_A$. Os antipsicóticos convencionais, introduzidos na medicina clínica na década de 50, aliviam os sintomas positivos da esquizofrenia, porém, acompanhados de efeitos extrapiramidais. Eles são classificados por sua estrutura química e pela potência com que se ligam a dopamina tipo 2 (D_2). O bloqueio aos receptores D_2 leva à redução dos sintomas positivos da esquizofrenia, tais como alucinações e ilusões (WORREL et al., 2000; SEEMAN et al., 1976; SERRETTI et al., 2004), no entanto, a inibição de receptores D_2 causa distúrbios emocionais e cognitivos. A redução de dopamina pelos antipsicóticos convencionais também está associada com a ocorrência de sintomas extrapiramidais (EPS), incluindo discinesia tardia, acatisia, distonia, e parkinsonismo.

A olanzapina, medicamento de escolha no tratamento da esquizofrenia, eficaz contra os sintomas positivos e negativos da doença, é denominada quimicamente (2-metil-4-(4-metil-1-piperazinil)10H-tieno[2,3-*b*][1,5]benzo-diazepina). Ela faz parte da classe das tienobenzodiazepinas, sendo estruturalmente análoga a clozapina (obtida por bioisosterismo), é eficaz na terapêutica do transtorno bipolar e outras psicoses, além de uma alternativa para o tratamento de pacientes refratários a outros antipsicóticos. A olanzapina atua em múltiplos

receptores, incluindo: os receptores cerebrais dopaminérgicos D₁, D₂, D₃, D₄, serotoninérgicos em 5-HT_{2A}, 5-HT_{2C}, 5-HT₃, 5-HT₆, muscarínicos, colinérgicos, adrenérgicos α_1 e histamínicos H₁. Por possuir cinco vezes mais afinidade aos receptores 5HT₂ que para os D₂, os efeitos colaterais extrapiramidais são reduzidos quando usada no tratamento da esquizofrenia e no delírio. Apesar disso, seus principais efeitos indesejados são: sedação, ganho de peso, alterações lipídicas e diabetes mellitus, em um subgrupo de indivíduos com esquizofrenia.

Foi realizado um estudo teórico de previsão da atividade antagonista da olanzapina a receptores e transportador dopamina. Foram utilizados seis Modelos de Florestas Aleatórias (Random Forest) e doze estruturas análogas da olanzapina, a partir do banco de dados ChEMBL. O Modelo de Floresta Aleatória (Random Forest) é um preditor que apresenta excelentes características de precisão, generalização para outras amostras que não aquelas em que o classificador foi treinado e capacidade de bom desempenho em pequenas amostras. Essas características determinaram a escolha dessa metodologia no estudo em questão.

O desenvolvimento desse estudo teórico e a revisão da literatura sobre a importância dos fármacos benzo- e tienobenzo-diazepínicos, se encontram no artigo intitulado “Benzo- and thienobenzo-diazepines: Multi-target drugs for CNS disorders”, aceito para publicação na revista *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, presente nesse capítulo.

Benzo- and Thienobenzo- Diazepines: Multi-target Drugs for CNS Disorders

Mendonça Júnior, F.J.B.¹; Scotti, L.²; Botelho, S.P.S.³; Da Silva, M.S.²; Scotti, M.T.⁴

1 - State University of Paraíba, Biological Science Department, Laboratory of Synthesis and Drug Delivery, 58070-450, João Pessoa, PB, Brazil

2 - Federal University of Paraíba, Campus I, João Pessoa-PB, Brazil

3 - Federal University of Pernambuco, Antibiotics Department, Recife-PE 50670-910, Brazil

4 - Federal University of Paraíba, Campus IV, 58297-000, Rio Tinto-PB, Brazil

* Corresponding author:

L. Scotti

Health Sciences Center

Federal University of Paraíba, Campus I

58051-970, João Pessoa, PB, Brazil

Fax 55-83-3291-1528

E-mail: luciana.scotti@gmail.com

ABSTRACT

Benzodiazepine (BZ or BZD) is a class of gabaminergic psychoactive chemicals used in hypnotics, sedation, in the treatment of anxiety and others CNS disorders. These drugs include alprazolam (Xanax), diazepam (Valium), clonazepam (Klonopin) and others. There are two distinct types of pharmacological binding sites for benzodiazepines in the brain (BZ1 and BZ2) and these sites are on GABA-A receptors and they are classified as short, intermediate and long-acting. Concerning the thienobenzodiazepine class (TBZ), Olanzapine (2-methyl-4-(4-methyl-1-piperazinyl)-10H-thieno[2,3-b][1,5]benzodiazepine) (Zyprexa) an atypical antipsychotic agent, structurally related to clozapine, extensively used for the treatment of schizophrenia, bipolar disorder-associated mania, and the behavioral symptoms of Alzheimer's disease, was used as an example to demonstrate the antagonism of this class of compounds for multiples receptors including: dopamine D₁–D₅, α -adrenoreceptor, histamine H₁, muscarinic M₁–M₅ and 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}, 5-HT₃ and 5-HT₆ receptors. The functional blockade of these multiple receptors contributes to their wide range of pharmacologic and therapeutic activities, with relatively reduced side effects when compared to other antipsychotics agents, and allow us to characterize them as multi-acting-receptor-targeted-agents. This mini-review discussed about these 2 classes of drugs that act on the central nervous system, the main active compounds used and the various receptors that interact. In addition, we propose 12 olanzapine analogues and generated Random Forest models, from a data set obtained from ChEMBL database, to classify the structures as active or inactive against 5 dopamine receptors (D₁, D₂, D₃, D₄, D₅ and D₆) and dopamine transporter.

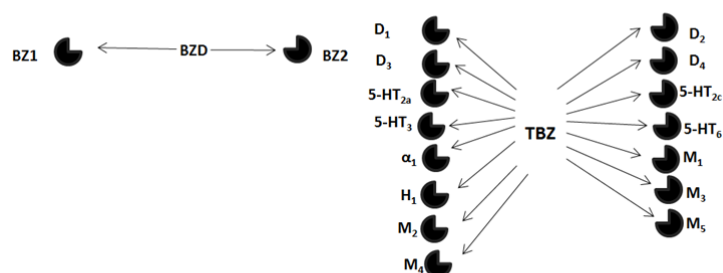
GRAPHICAL ABSTRACT

Benzo- and Thienobenzo-Diazepines: Multitarget Drugs for CNS Disorders

Mendonça Júnior, F.J.B.; Scotti, L.; Botelho, S.P.S.; Da Silva, M.S.; Scotti, M.T.

ABSTRACT: Benzo- and Thienobenzo- Diazepines are psychoactive drugs that act as central nervous system and multi-acting receptor-target antipsychotic, block multiple neurotransmitter receptors: GABA, dopamine, acetylcholine, histamine, catecholamines and serotonin.

KEYWORDS: antipsychotic, benzodiazepine, brain, central nervous system, multi-target, receptor, thienobenzodiazepines.



BENZODIAZEPINES

Benzodiazepines are a class of psychoactive drugs that act as central nervous system depressants. These drugs are an important class of N-heterocyclic compounds exhibiting biological and pharmacological activities, such as anti-inflammatory, anticonvulsant, antianxiety, sedative, antidepressive, hypnotic activities [1] and against some drugs intoxication, recommended for the treatment of tachycardia, hypertension, agitation, and seizures [2].

The first BZD, chlordiazepoxide, was synthesized in 1955 by Leo Sternbach (Hoffmann – La Roche) and it was introduced to the market in 1960 under brand name Librium [3]. Very famous and wide-spread rapidly became a chlordiazepoxide successor diazepam (Valium, Hoffmann – La Roche; released in 1963). In the current pharmacotherapy, there are available many benzodiazepine derivatives and they are very frequently used drugs.

Benzodiazepines are also used in the treatment of catatonia, increasing the number of drug binding sites in the cerebral cortex [4]. Some studies discuss the ability of therapy with benzodiazepines induce catatonia, often caused by abrupt benzodiazepine discontinuation [5,6]. Catatonia is a neuropsychiatric syndrome of altered mental status and characteristic psychomotor findings, which occurs in response to a wide variety of psychiatric, neurological, and medical conditions that occurs in schizophrenia [7], depression, bipolar illness and anxiety caused by basal gangliathalamo-cortical circuit dysregulation with resulting rapid decrease in GABA transmission [8-10].

GABA

γ -Aminobutyric acid (GABA) is the major inhibitory neurotransmitter in the mammalian central nervous system [11]. GABAergic neurones localized in various parts of the extrapyramidal system play a complex role in the regulation of motor functions. The GABA receptors are targets of clinically relevant drugs has attracted interest to the regulatory mechanisms that control the activity of these receptors and they are the principal target of benzodiazepine drugs. There are two distinct types of pharmacological binding sites for benzodiazepines in the brain (so-called BZ1 and BZ2), and that the binding sites were on GABA-A receptors, through which benzodiazepines were most likely exerting their effects; suggesting that the binding mechanism for may be fundamentally different from that of the benzodiazepines through the GABA inhibition [12,13]. GABA_A receptor (ligand gated chloride channel) has been, historically, one of the most successful pharmacological targets delivering a large number of clinically differentiated medicines hypnotics and sedatives which predominantly function via increased receptor activation via the benzodiazepine binding site.

A classic example is the benzodiazepine diazepam, (a positive allosteric modulator) of the neurotransmitter receptor through which GABA exerts its effects (the GABA-A receptor), acting through a binding site on the receptor distinct from the GABA binding site [14]. The choice of a particular benzodiazepine for use in the clinic or the laboratory is often based on pharmacokinetic factors, and one such factor that varies markedly among benzodiazepines is duration of action. Benzodiazepine lipophilicity determines the speed of action. If a rapid effect is desired, then regarding oral medication the use of a lipophilic benzodiazepine such as diazepam is a rational choice [15]. The table 1 shows some of the main benzodiazepines used, their half-life and main use. We can note that short and intermediate-acting benzodiazepines are preferred for the treatment of insomnia. Longer-acting benzodiazepines are recommended for the treatment of anxiety.

TABLE 1

BZ1 and BZ2

The mechanisms of benzodiazepine (BZ) action at molecular level involve binding of BZD to specific BZD-binding site at gamma-butyric acid receptor A (GABA_A), which works as ligand-gated channel for Cl⁻ ions. Drugs facilitating GABA_A-mediated chloride flux at benzodiazepine (BZ) receptors elicit sedative-hypnotic, anxiolytic, muscle relaxant and anticonvulsant effects with an improved margin of safety compared with other positive GABA_A modulators. Most BZ receptor ligands have relatively little selectivity for particular

BZ receptor subtypes, making it difficult to differentiate the functional significance of BZ receptor heterogeneity.

Different BZ receptors comprise at least one of six different protein subunits designated 1–6 and are divided into two subtypes: BZ1 receptors containing 1-subunits and BZ2 receptors containing $\alpha 2$ -, $\alpha 3$ -, or $\alpha 5$ -subunits [43,44]. Biochemical changes suggest that occur an initial increase in receptor internalization followed by activation of a signaling cascade that leads to selective changes in both receptors subunit levels. These changes might result in the assembly of receptors with altered subunit compositions that display a lower degree of coupling between GABA and benzodiazepine sites. Uncoupling might represent a homeostatic mechanism that negatively regulates GABAergic transmission [45].

THIENOBENZODIAZEPINES

The conventional antipsychotics were introduced in the clinical medicine in the mid-1950s, and all of them had the property to relieve the positive symptoms of schizophrenia, accompanied by extrapyramidal effects. Typical or conventional antipsychotics are classified by their chemical structure and the potency with which they bind to dopamine type 2 (D_2) receptors [46-49].

The blockade of D_2 receptors leads to the reduction of the positive symptoms of schizophrenia such as hallucinations and delusions [47-49], however, the inhibition of D_2 receptors generally cause emotional and cognitive disorders [50]. The reduction of dopamine by the conventional antipsychotics is also associated with occurrence of the extrapyramidal symptoms (EPS), including tardive dyskinesia, akathisia, dystonia, and Parkinsonism [51].

New antipsychotic agents have shifted from selective dopamine antagonist to compounds that have a broader receptor affinity profile (the so-called atypical antipsychotics). Atypical antipsychotic agents have both serotonin 2A ($5HT_{2A}$) and D_2 receptors antagonist properties while conventional antipsychotics mainly bind to the D_2 receptors [52]. Compared to the conventional antipsychotics, the atypical are able to control the positive symptoms of schizophrenia but they are characterized by improved the therapeutic effects on the negative symptoms and cognitive dysfunction, such as withdrawal, thinking problems, and lack of energy [51-53]. Worrel et al., (2000) [47] and Meltzer (1999) [54] affirm that the higher affinity of the atypical antipsychotics for the $5HT_{2A}$ receptors compared to D_2 receptors makes an increase in their efficiencies, and also contributes to reducing the incidences of extrapyramidal symptoms.

The first atypical antipsychotic drug discovered was Clozapine (in the early 1970s), however it produced potentially lethal agranulocytosis in some patients. More recent, in 1996, the FDA approved the Olanzapine for the treatment of the manifestations of psychotic disorders [55,56], which reportedly has similar clinical outcomes to clozapine, but does not produce agranulocytosis. Olanzapine is the most widely studied of all first-line atypical agents for the treatment of bipolar disorder [57] and in the last two decades, has been the first choice drug in the therapy of schizophrenia [58]. Although many atypical antipsychotic drugs have recently been developed and some of them approved for the treatment of schizophrenia, olanzapine is still invaluable for psychosis, having high clinical efficacy [59-62].

Olanzapine, chemically (2-methyl-4-(4-methyl-1-piperazinyl)-10*H*-thieno-[2,3-*b*][1,5]benzodiazepine) is a thienobenzodiazepine, structurally analogue of clozapine (obtained from the modification of clozapine chemical structure through bioisosterism procedure (change benzene by thiophene) (Figure 1) and has proven efficacy against the positive and negative symptoms of schizophrenia, bipolar disorder and other psychosis [55,63,64] and is an alternative to treat patients with refractory to other antipsychotics [65].

FIGURE 1

Olanzapine is classified as a multi-acting receptor-targeted antipsychotic, blocks multiple neurotransmitter receptors including: dopaminergic at D₁, D₂, D₃, D₄ brain receptors, serotonergic at 5-HT_{2a}, 5-HT_{2c}, 5-HT₃, 5-HT₆ receptors, acetylcholine at muscarinic receptors, catecholamines at alpha1 adrenergic receptors, and histamine at H₁ receptors [66-69].

Olanzapine has five times the affinity for 5HT₂ receptors than for D₂ receptors, resulting in fewer extrapyramidal side effects [70], and is used to treat schizophrenia and delirium [71-73].

The main side effects associated with olanzapine are sedation and weight gain, lipid abnormalities and diabetes mellitus in a subset of schizophrenia subjects [74-78].

MUSCARINIC RECEPTORS

Muscarinic receptors are widely distributed throughout the human body and mediate distinct physiological functions according to location and receptor subtype [79,80].

Muscarinic receptors belong to a superfamily of heptahelical G protein-coupled receptors, and their pharmacology, distribution and physiological functions have been well characterized [81,82]. Five distinct muscarinic receptor subtypes (M₁–M₅) are known to exist [83,84].

The odd-numbered M₁, M₃ and M₅ muscarinic receptors are coupled primarily to phospholipase C_β and stimulation of phosphoinositide hydrolysis through the G protein Gq/11 family (*Pertussis* toxin-insensitive). The M₂ and M₄ muscarinic receptors are coupled to Gi/Go (*Pertussis* toxin-sensitive) family of G proteins and result in inhibition of adenylate cyclase and modulation of calcium and potassium channel function [85].

Muscarinic M₁, M₄ and M₅ receptors are predominately expressed in the central nervous system (CNS) and particularly in frontal and limbic areas of the brain and have extensive interactions with dopaminergic neurons [86,87]. In contrast, M₂ and M₃ muscarinic receptors are more widely expressed in the periphery and CNS. Central muscarinic receptors are involved in higher cognitive processes such as learning and memory, and the M₁ receptors play an important role in these processes [88].

In the body periphery, M₂ and M₃ muscarinic receptors are expressed in the gastrointestinal and genitourinary tracts, in the exocrine glands, such as salivary and sweat glands, and in the eye [89,90]. The muscarinic M₂ receptors are also expressed in cardiac tissue. Muscarinic M₂ and M₄ receptors are inhibitory playing both an autoreceptor and a heteroreceptor function in the CNS.

EFFECTS OF ATYPICAL ANTIPSYCHOTIC IN MUSCARINIC RECEPTORS

Emerging research supports a role of activation of muscarinic receptors in pharmacotherapy of psychoses [91,92]. Atypical antipsychotics, such as olanzapine (a thienobenzodiazepine derivative) have a marked affinity for cholinergic muscarinic receptors (M₁ and M₅), especially for M₁ receptors. Horacet et al., (2006) affirm that the main effect of antimuscarinics is to antagonise antipsychotic-induced extrapyramidal side effects (EPS), and the antimuscarinic activity of olanzapine could be hypothetically responsible for the effect on positive and cognitive symptoms [69].

DOPAMINIC RECEPTORS

Dopamine (DA) is the predominant catecholamine neurotransmitter in the mammalian brain, where it controls a variety of functions including locomotor activity, cognition, emotion, positive reinforcement, food intake and endocrine regulation. This catecholamine also plays multiple roles in the periphery as a modulator of cardiovascular function, catecholamine release, hormone secretion, vascular tone, renal function, and gastrointestinal motility [93].

Dopamine receptor antagonists have been developed to block hallucinations and delusions that occur in schizophrenic patients, whereas DA receptor agonists are effective in

alleviating the hypokinesia of Parkinson's disease. However, blockade of DA receptors can induce EPS similar to those resulting from DA depletion, and high doses of agonists can cause psychoses [93].

Dopamine receptors are members of the seven transmembrane domain G protein-coupled receptor family, having two main subtypes: D₁-like receptor family – G₂ protein is involved and adenylyl cyclase can be activated (increase the cAMP concentration); D₂-like receptor family – receptor combining with the G_i protein and its activations inhibit adenylyl cyclase (reduce the cAMP concentration), and their pharmacology, distribution and physiological functions have been extensively characterized [94-96].

Five types of dopamine receptor subtypes (D₁–D₅) are known to exist, and benzo- and thieno-benzodiazepines, such as other antipsychotic drugs shows potential to blocking all of them.

D₁ receptor is the most widespread DA receptor and is expressed at higher levels than any other DA receptor [97-99]. D₁ receptors were found, mainly, in the striatum, the nucleus accumbens and in the olfactory tubercle, and are also detected in the limbic system, thalamus and hypothalamus.

D₂ receptor has been found mainly in the pituitary, in the striatum, in the olfactory tubercle and in the core of nucleus accumbens [95], where it is expressed by GABAergic neurons coexpressing enkephalins [100].

D₃ receptor has a specific distribution to limbic areas [101] such as the ventromedial shell of the nucleus accumbens where it is expressed by substance P and neurotensin neurons projecting to the ventral pallidum, the olfactory tubercle, and the islands of Calleja [102-104]. D₄ receptor is found in the frontal cortex, amygdala, redundant. hippocampus, hypothalamus, and mesencephalon [105,106].

EFFECTS OF ATYPICAL ANTIPSYCHOTIC IN α_2 - AND α_1 -ADRENORECEPTORS

In atypical antipsychotic function, the role of α_1 -adrenoceptor antagonism is supported by studies which demonstrate that prazosin (α_1 -adrenoceptor antagonist) administered with haloperidol reduces the risk of EPS and leads to higher haloperidol binding to limbic D₂ receptors [107,108]. This phenomenon was explained by the fact that blockade of α_1 -adrenoceptors leads to inhibition of serotonin neurons in the raphe nuclei and thus may induce an effect similar to that of 5-HT₂ receptor blockade by 5-HT₂/D₂ receptor antagonists.

Atypical antipsychotic drugs are potent antagonists of the α_1 or α_2 adrenoceptors, or both. Thus, risperidone, clozapine, olanzapine, quetiapine, are potent α_1 and α_2 antagonists

[109]. Clozapine, for example produces massive increases in plasma norepinephrine, which may indicate that it can cause effective stimulation of α -adrenoceptors receptors in brain [110]. The wake-promoting effects of norepinephrine in the CNS mediated by α_1 receptors was also described by others authors [111,112].

Hilakivi and colleagues reported that sleep-enhancing effects can be associated with antipsychotic drugs that blocks α_1 receptors [113,114].

EFFECTS OF ATYPICAL ANTIPSYCHOTIC IN HISTAMINE H_1 RECEPTORS

Histamine is one of the most important wake-promoting neurotransmitter systems in the brain.

Atypical antipsychotic have the ability to antagonize H_1 receptors. This ability to block H_1 receptors has been repeatedly described as the most likely mechanism for induced the side effect “weight gain” [115-117]. The inhibition of the H_1 receptors is directly involved in the activation of hypothalamic AMPK signaling, which stimulates food intake and positive energy balance and reverses the anorexigenic effect of leptin. A strong link between the H_1 receptor affinity of antipsychotic agents and their weight gain propensity has been well reported [118].

Clozapine and olanzapine which have higher affinity for the H_1 receptors ($K_i = 1.2$ nM and $K_i = 2.0$ nM, respectively) showed a greater propensity to induce weight gain. However, tetracyclic antipsychotic drugs with lower H_1 antagonist affinity, such as loxapine and amoxapine (Figure 2) caused neither weight gain nor weight loss in patients treated with these medications [119].

Another effect associated to the H_1 receptor antagonism by antipsychotic agents is the sleep induction [120,121]. This is due to the fact that agents that increase histamine’s release and binding to H_1 receptors enhance wakefulness [122], and therefore its inhibition causes reverse effect.

FIGURE 2

SEROTONINERGIC RECEPTORS

The neurotransmitter serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) mediates a wide range of physiological functions by interacting with multiple receptors, and these receptors have been implicated as playing important roles in certain pathological and psychopathological conditions. In the intact brain the function of many 5-HT receptors can now be unequivocally associated with specific physiological responses, ranging from modulation of neuronal activity and transmitter release to behavioural change [123,124].

Serotonin receptors belong to another superfamily of heptahelical G protein-coupled metabotropic receptors with one exception, the 5-HT₃ receptor which have four putative transmembrane domains, and is a ligand-gated ion channel [124]. These receptors were high described and their pharmacology, distribution and physiological functions have been well characterized [125,126].

Seven major families of 5-HT receptors are currently recognized (5-HT₁–5-HT₇), and subpopulations have been described for several of these. Between the 14 structurally and pharmacologically distinct mammalian 5-HT receptor subtypes seven, in particular, are targeted by atypical antipsychotics (5-HT_{1A}, 5-HT_{2a}, 5-HT_{2c}, 5-HT₃, 5-HT₆ and 5-HT₇).

The density of 5-HT_{1A} binding sites is high in limbic brain areas, notably hippocampus, lateral septum, cortical areas, and also the mesencephalic raphe nuclei.

5-HT_{2A} binding sites in many forebrain regions, but particularly cortical areas (neocortex, entorhinal and pyriform cortex, claustrum), caudate nucleus, nucleus accumbens, olfactory tubercle and hippocampus [127,128].

The presence of the 5-HT_{2B} receptor in the brain has been controversial. Duxon and colleagues described that it is restricted to a few brain regions, and particularly cerebellum, lateral septum, dorsal hypothalamus and medial amygdala [129].

Very high levels of 5-HT_{2C} receptors are detected in the choroid plexus. 5-HT_{2C} binding sites are widely distributed and present in areas of cortex (olfactory nucleus, pyriform, cingulate and retrosplenial), limbic system (nucleus accumbens, hippocampus, amygdala) and the basal ganglia (caudate nucleus, substantia nigra). The presence of 5-HT_{2C} binding sites in the pyriform cortex and substantia nigra is relevant to findings of 5-HT_{2C} receptor-mediated electrophysiological response in these regions [130].

The 5-HT₃ receptor is a ligand-gated ion channel and is found in smooth muscle including the small intestine and colon in the periphery and brain regions such as the hippocampus, amygdale, striatum, and area postrema [131,132]. High levels of 5-HT₃ receptor binding sites are found on the dorsal vagal complex in the brainstem [133]. This region comprises the nucleus tractus solitarius, area postrema and dorsal motor nucleus of the vagus nerve which are intimately involved in the initiation and coordination of the vomiting reflex.

The 5-HT₆ receptors are found in brain regions including the striatum (caudate nucleus), olfactory tubercles, nucleus accumbens, cortex, and hippocampus [134,135].

EFFECTS OF ATYPICAL ANTIPSYCHOTIC IN SEROTONINERGIC RECEPTORS

Serotonergic receptors are targeted by atypical antipsychotics, such as olanzapine, clozapine, quetiapine and related antipsychotic drugs, and so, have a market affinity for 5-HT receptors, especially: 5-HT_{1a}, 5-HT_{2a}, 5-HT_{2c}, 5-HT₃, 5-HT₆ and 5-HT₇ receptors with different specificities and affinities [136]. Several authors affirm that serotonergic targeting greatly contributes to their therapeutic success [137].

Serotonergic pathway has been implicated in mood related illnesses such as schizophrenia and bipolar affective disorder. The involvement of the serotonergic system has attracted much interest as a potential target for the development of antipsychotic medications for the treatment of psychiatric diseases [138].

5-HT_{2A} receptors have been associated in the genesis of, as well, as the treatment of psychosis, negative symptoms, mood disturbance, and EPSs [139-141]. Hallucinogenic effect has been related to stimulation of 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptors [142]. Because agonism at 5-HT_{2A} receptors induces depolarisation of pyramidal cells, it has been related that 5-HT_{2A} receptor blockade is responsible for normalisation of pyramidal cell activity, which leads to the therapeutic effect of atypical antipsychotics.

An important effect of 5-HT_{2A} (and 5-HT_{2C}) receptors that may be relevant to their contribution to psychosis is their ability to influence dopaminergic activity in the mesolimbic and mesostriatal systems [143,144]. Increased dopaminergic activity in the nucleus accumbens and other mesolimbic and possibly cortical regions contributes to positive symptoms, including formal thought disorder.

Studies started by Altar et al., (1988) [145] and later expanded and confirmed by others authors [146,147] demonstrated that atypical antipsychotic drugs, had higher affinities for 5-HT_{2A} receptors than for D₂-dopamine receptors. This difference in affinities is generally associated for their enhanced efficacy and reduced EPS incidences, seen with many atypical antipsychotic drugs including clozapine, olanzapine, risperidone, sertindole, quetiapine, ziprasidone, and others [136].

Krystal (2010) published a review about the effects of antidepressants and antipsychotic drugs on sleep-wake function in which describes the involvement of 5-HT system and its effects on sleep. There is some evidence in both human and animal studies that suggests, however, that agents that selectively block 5-HT₂ receptors improve the ability to stay asleep [148-150]. The inconsistency of findings in such studies has led to the hypothesis that the sleep-promoting effects of 5-HT₂ antagonism may depend on the ratio of effects on 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C} receptor subtypes as well as other factors. These data, however, along with

the tendency of antipsychotic drugs that have 5-HT₂ antagonist effects to enhance sleep, have led to the general belief that 5-HT₂ antagonism may be associated with sleep enhancement [151].

Navari (2014) [152] demonstrates that the activity of olanzapine in multiple serotonergic receptors, particularly at 5-HT_{2C}, and 5-HT₃ receptors (and also D₂) allows its use in the treatment of nausea and vomiting refractory to standard antiemetics. This statement is reinforced by previous studies showing that olanzapine blocks the serotonin mediated 5-HT_{2C} receptor, a receptor which has been shown to mediate anti-emetic activity in animal models (ferret cisplatin-induced emesis and cisplatin-induced anorexia in the hypothalamus of rats) [153,154].

Olanzapine was a potent antagonist at 5-HT₆ receptors and had marked antagonism at 5-HT₃ receptors [155]. Antagonists of 5-HT₃ receptors may also have a potential role in treatment of cognitive disorders and anxiety symptoms characterized by reduced release of central nervous system acetylcholine. Antagonism of the 5-HT₆ receptor has been suggested to produce antipsychotic, anxiolytic, and anticonvulsant properties, and particularly enhancement of cognitive performance improved visual–spatial performance and enhanced consolidation of new learning in animal models [156].

OTHERS TARGETS FOR THIENOBENZODIAZEPINES

Among the atypical antipsychotics, olanzapine induces the most significant weight gain. This weight gain in patients was attributed to the increase in body fat [157] or increase caloric intake. Moreover; olanzapine has been associated with disturbances in glucose metabolism [158]. Olanzapine, but not clozapine, reduced basal plasma glucose and leptin concentrations in rodents, when lower doses of the drugs were used. Numerous reports have associated the exacerbation of diabetes with development of hyperglycemic crisis, with the use of various atypical antipsychotics including olanzapine [159-161].

Mohammad et al. (2008) [162], based on the work of Li et al (2007) [163], which conducted a study that revealed that olanzapine can inhibit the activity of glycogen synthase kinase-3 (GSK3) in mice via increasing the level of brain phospho-Ser9-GSK3 in the brain, decided to investigate the direct effect of olanzapine on GSK-3, and its effects on glucose and glycogen levels.

The GSK-3 is a multifunctional serine/threonine kinase found in eukaryotes. It was discovered over 50 years ago as one of several protein kinases that phosphorylated and inactivated glycogen synthase, the final enzyme in glycogen biosynthesis [164].

Mohammad et al. (2008) [162] after conducting *in vivo* studies, and docking in the binding site of GSK-3 β (PDB code: 1Q5K, resolution=1.94 Å) concluded that olanzapine is a potent GSK-3 β inhibitor due to its capacity in significant decrease the blood glucose level, which could be attributed to enhanced liver glycogen synthesis and storage in the liver. Thus, GSK-3 may play a role as a therapeutic target of atypical antipsychotics, as has been observed with olanzapine.

PREDICTION OF MULTI-TARGET ACTIVITY OF OLANZAPINE ANALOGUES AGAINST DOPAMINES RECEPTORS D₁, D₂, D₃, D₄, D₅ AND DOPAMINE TRANSPORTERS

Since olanzapine is an active blocker of dopamine receptors D₁, D₂ and D₄, we propose 12 analogues and generated Random Forest models, from a data set obtained from ChEMBL database, to classify the structures as active or inactive against 5 dopamine receptors (D₁, D₂, D₃, D₄, D₅ and D₆) and dopamine transporters [66-69].

Data Set

We selected from the ChEMBL database a dataset with structures that shows *K_i* (inhibitory constant) values against human Dopamine receptors D₁, D₂, D₃, D₄, D₅ and dopamine transporter enzymes (<https://www.ebi.ac.uk/chembl/>), respective target ChEMBL ids: ChEMBL2056, ChEMBL217, ChEMBL234, ChEMBL219, ChEMBL1850, ChEMBL238.. The compounds were classified using values of *p_{ki}* = -log₁₀*k_i* (mol/L), actives (≥ 6.6), and inactives (≤ 6) for each target.

A small set of olanzapine analogues (fig 3) was proposed and submitted to all 6 Random Forest models in order to analyze the potential multi-target of these compounds.

For all structures, SMILES were downloaded or generated using Marvin 6.2.0, 2014, ChemAxon (<http://www.chemaxon.com>). The software Standardizer, JChem 6.2.0, 2014, ChemAxon (<http://www.chemaxon.com>) was used to canonize structures, add hydrogens, convert to aromatic form and, clean the molecular graph in two dimensions.

FIGUURE 3

Volsurf Descriptors

The three dimensional structures (3D) were used as input data in the Volsurf+ program v. 1.0.7 and subjected to the molecular interaction fields [E38] to generate descriptors using the following probes N1 (amide nitrogen – hydrogen bond donor probe), O (carbonyl oxygen – hydrogen bond acceptor probe), OH2 (water probe), and DRY (hydrophobic probe), others non-MIF derived descriptors were generated totalizing 128 descriptors [165].

Models

Knime 2.10.0 software (KNIME 2.10.0 the Konstanz Information Miner Copyright, 2003-2013, www.knime.org) [166] was used to perform all the analyses described hereafter. The descriptors and class variables were imported from Volsurf+ program v. 1.0.7, and the data were divided, using the “Partitioning” node with the option “stratified sample”, in the train representing between 80% to 85% of data set, and test set between 20% and 15% of all compounds, respectively, which were selected randomly, but preserving the same proportion of active and inactive samples in both sets. For internal validation we used cross-validation, using 10 stratified groups randomly selected, but the distribution is retained according to activity class variable in all validations groups and training set. The descriptors were selected using the training set and the metanode “Feature Elimination” that applies the backward feature elimination method associated with Random Forest algorithm [167], using the WEKA nodes [168]. The parameters selected for RF were: number of trees to build = 500; seed for random number generator = 2.

The internal and external performances of the selected models were analyzed using sensitivity (true positive rate, i.e. active rate), specificity (true negative, i.e. inactive rate), and accuracy (overall predictability).

RESULTS AND DISCUSSION

The Volsurf v 1.0.7 generated 128 descriptors that together with the dependent variable (binary classification), that describes if the compound is active (A) or inactive (I), were used as input data for the Knime software v. 2.10.0. It is important to highlight that the generation of the Volsurf+ descriptors is relatively fast (between 1 and 2 seconds for each compound) using a computer with an i7 processor, running at 3.4GHz, and equipped with 12 GB of RAM memory.

The table 2 summarizes the statistical indices of the RF model for the training, cross-validation and test set for all 6 targets. For the training set the machine learning gave similar rates for the inactive and active compounds, but for cross-validation and test set, RF models for D1-D4 show significant better performance to predict the active compounds, therefore the sensitivity (true positive rate) is higher than specificity (true negative rate). In other words, several compounds that are inactive were classified as actives (false positives), therefore for these models if a compound is classified as inactive is more reliable than active. RF model for D5 shows a better prediction regarding the inactive compounds, but the specificity is higher in this model and the false negative rate is higher than the false positive rate, thus compound

selected by the model as active is more reliable than the selected as inactive one. The RF model generated for the dopamine transporter, the values of sensitivity and specificity are near than the previous models aforementioned.

TABLE 2

Table 3 shows the prediction for all RF models to the olanzapine analogues and a simple score that counts the number of times that a compound as classified as active. We used as criterion those structures with a score higher than 3 are an interesting starting point to be classified as a potential multi-target compound. In view of this, we selected compounds **2**, **3** and **4** (score 4) and, mainly **5** and **6** (score 5) as multi-target compounds. Olanzapine analogues with methyl-piperazine group (compounds 1-5 and 12) seems to have higher potential to be actives against more than one receptor, since compounds **2-5** were selected, than the compounds with the morpholine group. However compound **6** (with morpholine group) and compound **5** are classified as actives against 5 enzymes. Regarding the compounds, one can deduce that group *n*-benzyl-tetrahydropyridine present in compounds **3** and **6** increase the potential multi-target of olanzapine analogues with *n*-benzyl-tetrahydropyridine or morpholine. Additionally other structural features can be highlighted: ethyl groups at position 5 and 6, or tetrahydrobenzothiophene or cyclooctathiophene associated with *n*-benzyl-tetrahydropyridine, respectively compounds **2**, **4** and **5**.

TABLE 3

CONCLUSION

This review succinctly presented the effects, role, affinities and specificities of atypical antipsychotics of the benzodiazepine and thienobenzodiazepine class (with main focus in olanzapine) in multiple-receptor-targets.

The BZs act on receptors BZ1 and BZ2, causing greater inhibiting GABAergic and influencing the concentration of chloride ions. New researches are directed to the identification of ligands displaying varying degrees of affinity- and efficacy-selectivity for the different GABA_A/BzR-subtypes [169].

The interactions of TBZs include various receptors: muscarinic M1–M5, dopaminergic D₁–D₄, receptors, adrenergic α 1 and α 2, histamine H1 and serotonergic 5-HT_{2A}, 5-HT_{2B}, 5-HT_{2C}, 5-HT₃ and 5-HT₆ receptors. It was again demonstrated the high affinity of olanzapine for serotonin 5-HT_{2A} and 5-HT_{2C}, dopamine D₁–D₄, adrenergic alpha-1, and histamine H₁ receptors, and its moderate affinity for muscarinic M1–M5 receptors.

It can be concluded that multi-receptor agents, as the thienobenzodiazepines are more promising antipsychotic agents than the “conventional antipsychotic” because the CNS disorders have very complex mechanisms, between neural circuits, involving several neurotransmitters, and therefore, nonspecific drugs which have the potential to interfere with multiple receptors have been shown to be more effective and with lower side effects [56].

We propose 12 olanzapine analogues and using RF models for 6 different enzymes (dopamine D₁, D₂, D₃, D₄, D₅ receptors and dopamine transporter) we selected 5 compounds and consequently verified the potential structural features which can be responsible for the activity against different enzymes.

CONFLICT OF INTEREST

There isn't.

ACKNOWLEDGEMENTS

We would like to thank the CNPq and Capes for financial support.

REFERENCES

- [1] Cristophe, C.; Langlois, B.R.; Billard, T. Synthesis of trifluoromethylated 1,5-benzoheteroazepines. *J. Fluorine Chem.*, **2013**, 155, 118-123.
- [2] Heard, K.; Cleveland, N.R.; Krier, S. Benzodiazepines and antipsychotic medications for treatment of acute cocaine toxicity in animal models – A systematic review and meta-analysis. *Hum. Exp. Toxicol.*, **2011**, 30(11), 1849-1854.
- [3] Sternbach, L.H., The benzodiazepine story. *J. Med. Chem.*, **1979**, 22(1), 1–7.
- [4] Petrides, G.; Divadeenam, K.M.; Bush, G.; Francis, A. Synergism of Lorazepam and Electroconvulsive Therapy in the Treatment of Catatonia. *Biol. Psychiatry.*, **1997**, 42(5), 375-381.
- [5] Parameswaran, R.; Moore, K., Hannan, T.; Austin, M. Catatonia associated with temazepam withdrawal. *Aust. New Zealand J. Psychiatry.*, **2011**, 45(11), 1006-1007.
- [6] Brown, M.; Freeman, S. Clonazepam Withdrawal-Induced Catatonia. *Psychosomatics*, **2009**, 50(3), 289–292.
- [7] Taylor, S.F.; Deemeter, E.; Phan, K.L.; Tso, I.F.; Welsh, R.C. Abnormal GABAergic Function and Negative Affect in Schizophrenia. *Neuropsychopharmacol.*, **2014**, 39(4), p1000-1008.
- [8] Praharaj, S.K.; Sarkhel, S.; Prasad, S.; Sinha, V.K.; Can Electroconvulsive Therapy Induce Catatonia? *J. Neuropsychiatry Clin. Neurosci.*, **2013**, 25(1), E8-E9.
- [9] Saddawi-Konefka, D.; Berg, S.M.; Nejad, S.H.; Bittner, E.A. Catatonia in the ICU: An Important and Underdiagnosed Cause of Altered Mental Status. A Case Series and Review of the Literature. Online Case Report, *Crit. Care Med.*, **2014**, 42(3), e234-e241.
- [10] Mierzejewski, P.; Kolaczowski, M.; Nowak, N.; Korkosz, A.; Scinska, A.; Sienkiewicz-Jarosz H.; Samochowiec, J.; Kostowski, W.; Bienkowski, P. Pharmacological characteristics of zolpidem-induced catalepsy in the rat. *Neurosci. Lett.*, **2013**, 556, 99-103.

- [11] Graaf, R.A.; Patel, A.B.; Rothman, D.L.; Behar, K.L. Acute regulation of steady-state GABA levels following GABA-transaminase inhibition in rat cerebral cortex. *Neurochem. Int.*, **2006**, 48(6-7), 508–514.
- [12] Achermann, G.; Ballard, T.M.; Blasco, F.; Broutin, P.-E.; Büttelmann, B.; Fischer, H.; Graf, M.; Hernandez, M.-C.; Hilty, P.; Knoflach, F.; Koblet, A.; Knust, H.; Martin, J.R.; Masciadri, R.; Porter, R.H.P.; Stadler, H.; Thomas, A.W.; Trube, G.; Wichmann, J. Discovery of the imidazo[1,5-a][1,2,4]-triazolo[1,5-d][1,4]benzodiazepine scaffold as a novel, potent and selective GABA_A inverse agonist series. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2009**, 19(19), 5746–5752.
- [13] Martin, I.L.; Brown, C.L.; Doble, A. multiple benzodiazepine receptors: structures in the brain or structures in the mind? A critical review. *Life Sci.*, **1983**, 32(17), 1925-1933.
- [14] Whiting, P.J.; GABA-A receptor subtypes in the brain: a paradigm for CNS drug discovery? *Drug Discov. Today*, **2003**, 8(10), 445-450.
- [15] Vinkers, C.H.; Tjink, J.K.; Vis, R. Choosing the correct benzodiazepine: mechanism of action and pharmacokinetics. *Ned. Tijdschr. Geneesk.*, **2012**, 155(35), A4900.
- [16] Darke, S.; Torok, M.; Duflou, J. Circumstances and toxicology of sudden or unnatural deaths involving alprazolam. *Drug Alcohol Depend.*, **2014**, 138, 61–66.
- [17] Wang, J.-S.; DeVane, L. Pharmacokinetics and Drug Interactions of the Sedative Hypnotics. *Psychopharmacol. Bull.*, **2003**, 37(1), 10–29.
- [18] Almeida, C.A.A.; Brenner, C.G.B.; Minetto, L.; Mallmann, C.A. Determination of anti-anxiety and anti-epileptic drugs in hospital effluent and a preliminary risk assessment. *Chemosphere*, **2013**, 93(10), 2349–2355.
- [19] LaRoche Pharmaceuticals. "NAME OF THE MEDICINE LEXOTAN". Reference: Available from: www.roche-australia.com; access in 7/30/2014.
- [20] Bertilsson, L. Clinical pharmacokinetics of carbamazepine. *Clin. Pharmacokinet.*, **1978**, 3(2), 128-43.
- [21] Saruwatari, J.; Ogusu, N.; Shimomasuda, M.; Nakashima, H.; Seo, T.; Tanikawa, K.; Tsuda, Y.; Nishimura, M.; Nagata, R.; Yasui-Furukori, N.; Kaneko, S.; Ishitsu, T.; Nakagawa, K. Effects of CYP2C19 and P450 Oxidoreductase Polymorphisms on the Population Pharmacokinetics of Clobazam and N-Desmethyloclobazam in Japanese Patients With Epilepsy. *Ther. Drug Monit.*, **2014**, 36(3), 302-309.
- [22] Benzodiazepine Equivalency Table. Reference: Available from: <http://www.bcnc.org.uk/equivalence.html>. Access in 7/30/2014.
- [23] Dhir, K.; Kaur, H.; Puri, J.K.; Mittu, B. Synthesis, characterization and biological activity of diorgano and triorganotin (IV) complexes of Chlordiazepoxide, Choline theophyllinate and Phenobarbitone sodium. *J. Organomet. Chem.*, **2014**, 755, 101-109.
- [24] The Committee on the Review of Medicines (CRM). "Systematic review of the benzodiazepines. Guidelines for data sheets on diazepam, chlordiazepoxide, medazepam, clorazepate, lorazepam, oxazepam, temazepam, triazolam, nitrazepam, and flurazepam. Committee on the Review of Medicines". *Br. Med. J.*, **1980**, 280(6218), 910–912.
- [25] Tek, C.; Palmese, L.B.; Krystal, A.D.; DeGeorge, P.C.; Reutenauer, E.L.; Guloksuz, S. The Impact of Eszopiclone Insomnia Treatment on Cognition in Schizophrenia: A Double-blind, Randomized, Placebo-controlled Trial. *Biol. Psychiatry*, **2014**, 75(9), 341S-342S.
- [26] Lee, H.H.; Lee, J.F.; Lin, Y.Y.; Wu, C.F. Simultaneous quantification of urine flunitrazepam, nimetazepam and nitrazepam by using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Clin. Chim. Acta*, **2013**, 420, 134-139.

- [27] Zapardiel, A.; Bermejo, E.; Lopez, J.A.P.; Hernandez, L.; Gil, E. Electroanalytical Determinations of Halazepam: Study of Interaction with Human Serum Albumin. *Microchem. J.*, **1995**, 52(1), 41-52.
- [28] Pedreira, V.; Blanco, J.; Rodriguez, M.V.; Herro, J.F.; De Juana, I.O.; Gallego, M.J.A.; Parada, S.; De La Villa, J.M.G.; Otero, F.J.; Armenteros, S.; Garrido, J.; Velasco, J. A comparison of bentazepam versus ketazolam in anxiety disorder diagnosed according to DSM-III-R. *Curr. Ther. Res.*, **1994**, 55(3), 348-355.
- [29] Grobler, L.A.; Schweltnus, M.P.; Trichard, C.; Calder, S.; Noakes, T.D.; Derman, W.E. Comparative effects of zopiclone and loprazolam on psychomotor and physical performance in active individuals. *Clin. J. Sport Med.*, **2000**, 10(2), 123-128.
- [30] Gidai, J.; Ács, N.; Bánhidý, F.; Czeizel, A.E. A study of the effects of large doses of medazepam used for self-poisoning in 10 pregnant women on fetal development. *Toxicol. Ind. Health*, **2008**, 24, 61–68.
- [31] Dundee, J.W.; Collier, P.S.; Carlisle, R.J.T.; Harper, K.W. Prolonged midazolam elimination half-life. *J. Clin. Pharmacol.*, **1986**, 21(4), 425-429.
- [32] Ghorbani, N.; Hosseinzadeh, S.; Pashaei, S.; Hosseinzadeh, A.; Hamidi, H.A. The Effect of Produce Conditions for Preparation of Potentiometric Carbon Paste Sensor for Determination of Midazolam in Pharmaceutical. *Int. J. Electrochem. Sci.*, **2014**, 9, 3772-3783.
- [33] Freire, E.F.; Miranda, J.L.; Maia, P.P.; Vieira, E.P.; Borges, K.B.; Siqueira, M.E.P.B. Diazepam and Nordiazepam In Plasma: Liquid-Liquid And Solid Phase Extraction In Sample Pre-Treatment For High Performance Liquid Chromatography Analysis. *Quim. Nova*, **2005**, 28(5), 773-776.
- [34] NHTSA. Reference: Available from: <http://www.nhtsa.gov/people/injury/research/job185drugs/diazepam.htm>, access in 7/31/2014.
- [35] Ganji, M.D.; Nashtahosseini, M.; Yeganegi, S.; Rezvani, M. First-principles vdW-DF investigation on the interaction between the oxazepam molecule and C₆₀ fullerene. *J. Mol. Model.*, **2013**, 19(4), 1929–1936.
- [36] Mohamed, A.E.M.I. Acid – base equilibria of diazepam and prazepam in montmorillonite suspensions. *Talanta*, **1998**, 46(5), 951-959.
- [37] Ankier, S.I.; Goa, K.L. Quazepam. *Drugs*, **1988**, 35(1), 42-62.
- [38] Kansagra, S.; Walter, R.; Vaughn, B. Nocturnal temazepam in the treatment of Narcolepsy. *J. Clin. Sleep Med.*, **2013**, 9, 501-502.
- [39] Kinoshita, H.; Tanaka, N.; Kuse, A.; Ohtsuki, A.; Nagasaki, Y.; Ueno, Y.; Jamal, M.; Tsutsui, K.; Kumihashi, M.; Ameno, K. An autopsy case of triazolam overdose. *Rom. J. Leg. Med.*, **2012**, 20, 297-298.
- [40] Tanque C.; Sugihara, K.; Uramaru, N.; Watanabe, Y.; Tayama, Y.; Ohta, S.; Kitamura, S. Strain Difference of Oxidative Metabolism of the Sedative-hypnotic Zaleplon by Aldehyde Oxidase and Cytochrome P450 In Vivo and In Vitro in Rats. *Drug Metab. Pharmacokinet.* **2013**, 28(3), 269–273.
- [41] Fitzgerald, A.C.; Wright, B.T.; Heldt, S.A. The behavioral pharmacology of zolpidem: evidence for the functional significance of $\alpha 1$ -containing GABA_A receptors. *Psychopharmacology*, **2014**, 231(9), 1865–1896.
- [42] Allain, H.; Bentué-Ferrer, D.; Polard, E.; Akwa, Y.; Patat, A. Postural Instability and Consequent Falls and Hip Fractures Associated with Use of Hypnotics in the Elderly. *Drugs Aging*, **2005**, 22(9), 749-765.
- [43] Vrzal, R.; Kubsova, K.; Pavek, P.; Dvorak, Z. Benzodiazepines medazepam and midazolam are activators of pregnane X receptor and weak inducers of CYP3A4:

Investigation in primary cultures of human hepatocytes and hepatocarcinoma cell lines. *Toxicol. Lett.*, **2010**, 193(2), 183–188.

[44] McHatton, L.R.; Gerak, L.R.; Carter, L.; Ma, C.; Cook, J.M.; France, C.P. Discriminative Stimulus Effects of Benzodiazepine (BZ)₁ Receptor-Selective Ligands in Rhesus Monkeys. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **2002**, 300(2), 505–512.

[45] Gutiérrez, M.L.; Ferreri, M.C., Gravielle, M.C. GABA-induced uncoupling of gaba/benzodiazepine site interactions is mediated by increased GABA_A receptor internalization and associated with a change in subunit composition. *Neurosci.* **2014**, 257, 119–129.

[46] Richelson, E.; Souder, T. Binding of antipsychotic drugs to human brain receptors focus on newer generation compounds. *Life Sci.*, **2000**, 68(1), 29–39.

[47] Worrel, J.A.; Marken, P.A.; Beckman, S.E.; Ruehter, V.L. Atypical antipsychotic agents: a critical review. *Am. J. Health Syst. Pharm.*, **2000**, 57(3), 238–255.

[48] Seeman, P.; Lee, T.; Chau-Wong, M.; Wong, K. Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors. *Nature*, **1976**, 261, 717–719.

[49] Serretti, A.; Ronchi, D.D.; Lorenzi, C.; Berardi, D. New antipsychotics and schizophrenia: a review on efficacy and side effects. *Curr. Med. Chem.*, **2004**, 11(3), 343–358.

[50] Conley, R.R.; Kelly, D.L. Second generation antipsychotics for schizophrenia: a review of clinical pharmacology and medication-associated side effects. *J. Psychiatry Relat. Sci.*, **2005**, 42(1); 51–60.

[51] Oakley, N.R.; Hayes, A.G.; Sheehan, M.J. Effect of typical and atypical neuroleptics on the behavioural consequences of activation by muscimol of mesolimbic and nigro-striatal dopaminergic pathways in the rat. *Psychopharmacol.*, **1991**, 105(2), 204–208.

[52] Tehan, B.G.; Lioyd, E.J.; Wong, M.G. Molecular field analysis of clozapine analogs in the development of a pharmacophore model of antipsychotic drug action. *J. Mol. Graph. Model.*, **2001**, 19, 418–426.

[53] Kerwin, R.W.; Osborne, S. Antipsychotic drugs. *Medicine*, **2000**, 28(1), 23–25.

[54] Meltzer, H.Y. The role of serotonin in antipsychotic drug action. *Neuropsychopharmacol.*, **1999**, 21(suppl 2), s106–s115.

[55] Fulton, B.; Goa, K.L. Olanzapine: a review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in the management of schizophrenia and related psychosis. *Drugs*, **1997**, 53(2), 281–298.

[56] Kando, J.C.; Shepski, J.C.; Satterlee, W.; [Patel, J.K.](#); [Reams, S.G.](#); [Green, A.I.](#) Olanzapine: a new antipsychotic agent with efficacy in the management of schizophrenia. *Ann. Pharmacother.*, **1997**, 31(11), 1325–1334.

[57] Vieta, E.; Goikolea, J.M. Atypical antipsychotics: newer options for mania and maintenance therapy. *Bipolar Disord.*, **2005**, 7(Suppl 4), 21–33.

[58] Allison, D.B.; Mentore, J.L.; Heo, M.; Chandler, L.P.; Cappelleri, J.C.; Infante, M.C.; Weiden, P.J. Antipsychotic-induced weight gain: a comprehensive research synthesis. *Am. J. Psychiatry*, **1999**, 156(11), 1686–1696.

[59] Campiani, G.; Butini, S.; Fattorusso, C.; Catalanotti, B.; Gemma, S.; Nacci, V.; Morelli, E.; Cagnotto, A.; Mereghetti, I.; Mennini, T.; Carli, M.; Minetti, P.; Di Cesare, M.A.; Mastroianni, D.; Scafetta, N.; Galletti, B.; Stasi, M.A.; Castorina, M.; Pacifici, L.; Vertechy, M.; Di Serio, S.; Ghirardi, O.; Tinti, O.; Carminati, P. Pyrrolo [1,3]benzothiazepine-based serotonin and dopamine receptor antagonists. Molecular modeling, further structure–activity relationship studies, and identification of novel atypical antipsychotic agents. *J. Med. Chem.*, **2004**, 47(1), 143–157.

- [60] Campiani, G.; Butini, S.; Trotta, F.; Gemma, S.; Nacci, V.; Fiorini, I.; Fattorusso, C.; Catalanotti, B.; Cagnotto, A.; Mereghetti, I.; Mennini, T.; Minetti, P.; Di Cesare, M.A.; Stasi, M.A.; Di Serio, S.; Ghirardi, O.; Tinti, O.; Carminati, P. Novel atypical antipsychotic agents: rational design, an efficient palladium-catalyzed route, and pharmacological studies. *J. Med. Chem.*, **2005**, 48(6), 1705–1708.
- [61] Kelleher, J.P.; Centorrino, F.; Albert, M.J.; Baldessarini, R.J. Advances in atypical antipsychotics for the treatment of schizophrenia: new formulations and new agents. *CNS Drugs*, **2002**, 16(4), 249–261.
- [62] [Ayala, A.P.](#); [Siesler, H.W.](#); [Boese, R.](#); [Hoffmann, G.G.](#); [Polla, G.I.](#); [Vega, D.R.](#) Solid state characterization of olanzapine polymorphs using vibrational spectroscopy. *Int. J. Pharm.*, **2006**, 326(1-2), 69–79.
- [63] Bhana, N.; Foster, R.H.; Olney, R.; Plosker, G.L. Olanzapine—an updated review of its use in the management of schizophrenia. *Drugs*, **2001**, 61(1), 111–161.
- [64] Bhana, N.; Perry, C.M. Olanzapine—a review of its use in the treatment of bipolar I disorder. *CNS Drugs*, **2001**, 15(11), 871–904.
- [65] Rajendraprasad, N.; Basavaiah, K. Determination of olanzapine by spectrophotometry using permanganate. *Braz. J. Pharm. Sci.*, **2009**, 45(3), 539–550.
- [66] Seeman, P.; Van Tol, H. Dopamine receptor pharmacology. *Curr. Opin. Neurol. Neurosurg.*, **1993**, 6(4), 602–660.
- [67] Bymaster, F.P.; Calligaro, D.O.; Falcone, J.F.; Marsh, R.D.; Moore, N.A.; Tye, N.C.; Seeman, P.; Wong, D.T. Radioreceptor binding profile of the atypical antipsychotic olanzapine. *Neuropsychopharmacol.*, **1996**, 14(2), 87–96.
- [68] Ishigooka, J. The characteristics and application of new antipsychotic drugs. *JMAJ.*, **2004**, 47(6), 270–275.
- [69] Horacek, J.; Bubenikova-Valesova, V.; Kopecek, M.; Palenicek, T.; Dockery, C.; Mohr, P.; [Höschl, C.](#) Mechanism of action of atypical antipsychotic drugs and the neurobiology of schizophrenia. *CNS Drugs*, **2006**, 20(5), 389–409.
- [70] Stephenson, C.M.E.; Pilowsky, L.S. Psychopharmacology of olanzapine: a review. *Brit. J. Psychiatry*, **1999**, 174(38S), 52–58.
- [71] Kim, K.S.; Pae, C.U.; Chae, J.H.; [Bahk, W.M.](#); [Jun, T.](#) An open pilot trial of olanzapine for delirium in the Korean population. *Psychiatry Clin. Neurosci.*, **2001**, 55(5), 515–519.
- [72] Tune L. The role of antipsychotics in treating delirium. *Curr. Psych. Rep.*, **2002**, 4(3), 209–212.
- [73] Breitbart, W.; Tremblay, A.; Gibson, C. An open trial of olanzapine for the treatment of delirium in hospitalized cancer patients. *Psychosomatics*, **2002**, 43(3), 175–182.
- [74] Allison, D.B.; Casey, D.E. Antipsychotic-associated weight gain: a review of the literature. *J. Clin. Psychiatry*, **2001**, 62 (Suppl 7), 22–31.
- [75] Hale, A.S. Olanzapine. *Br. J. Hosp. Med.*, **1997**, 58(6), 443–445.
- [76] Goldstein, L.E.; Sporn, J.; Brown, S.; Kim, H.; Finkelstein, J.; Gaffey, G.K.; Sachs, G.; Stern, T.A. New-onset diabetes mellitus and diabetic keto acidosis associated with olanzapine treatment. *Psychosomatics*, **1999**, 40(5), 438–443.
- [77] Osser, D.N.; Najarian, D.M.; Dufresne, R.L. Olanzapine increases weight and serum triglyceride levels. *J. Clin. Psychiatry*, **1999**, 60, 767–770.
- [78] Koro, C.; Fedder, D.; Italien, G.; Weiss, S.; Madger, L.; Kreyenbuhl, J. Assessment of independent effect of olanzapine and risperidone on risk of diabetes among patients with

schizophrenia: population based nested case-control study. *Br. Med. J.*, **2002**, 325(7358), 243–245.

[79] Caulfield, M.P. Muscarinic receptors – characterization, coupling and function. *Pharmacol. Ther.*, **1993**, 58(3), 319–379.

[80] Caulfield, M.P.; Birdsall, N.J.M. International union of pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors. *Pharmacol. Rev.*, **1998**, 50(2), 279–290.

[81] Felder, C.C.; Bymaster, F.P.; Ward, J.; DeLapp, N. Therapeutic opportunities for muscarinic receptors in the central nervous system. *J. Med. Chem.*, **2000**, 43(23), 4333–4353.

[82] Gomeza, J.; Zhang, L.; Kostenis, E.; Felder, C.; Bymaster, F.; Brodtkin, J.; Shannon, H.; Xia, B.; Deng, C.-X.; Wess, J. Enhancement of D1 dopamine receptor-mediated locomotor stimulation in M4 muscarinic acetylcholine receptor mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1999**, 96(18), 10483–10488.

[83] Hulme, E.C.; Birdsall, N.J.; Buckley, N.J. Muscarinic receptor subtypes. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **1990**, 30, 633–673

[84] Caulfield, M.P.; Birdsall, N.J. International Union of Pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholinereceptors. *Pharmacol. Rev.*, **1998**, 50(2), 279–290

[85] Brown, D.A. Muscarinic Acetylcholine Receptors (mAChRs) in the Nervous System: Some Functions and Mechanisms. *J. Mol. Neurosci.*, **2010**, 41, 340–346

[86] Bernard, V.; Normand, E.; Bloch, B. Phenotypical characterization of the rat striatal neurons expressing muscarinic receptor genes. *J. Neurosci.*, **1992**, 12(9), 3591–3600.

[87] Levey, A.I. Immunological localization of M1–M5 muscarinic acetylcholine receptors in peripheral tissues and brain. *Life Sci.*, **1993**, 52(5-6), 441–448.

[88] Abrams, P.; Andersson, K.-E.; Buccafusco, J.J.; Chapple, C.; de Groat, W.C.; Fryer, A.D.; Kay, G.; Laties, A.; Nathanson, N.M.; Pasricha, P.J.; Wein, A.J. Muscarinic receptors: their distribution and function in body systems, and the implications for treating overactive bladder. *Br. J. Pharmacol.*, **2006**, 148(5), 565–578.

[89] Stengel, P.W.; Yamada, M.; Wess, J.; Cohen, M.L. M(3)-receptor knockout mice: muscarinic receptor function in atria, stomach fundus, urinary bladder, and trachea. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **2002**, 282(5), R1443–R1449.

[90] Matsui, M.; Motomura, D.; Karasawa, H.; Fujikawa, T.; Jiang, J.; Komiya, Y.; Takahashi, S.-I.; Taketo, M.M.; Multiple functional defects in peripheral autonomic organs in mice lacking muscarinic acetylcholine receptor gene for the M3 subtype. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2000**, 97(17), 9579–9584.

[91] Bymaster, F.P.; Shannon, H.E.; Rasmussen, K.; DeLapp, N.W.; Ward, J.S.; Calligaro, D.O.; Mitch, C.H.; Whitesitt, C.; Ludvigsen, T.S.; Sheardown, M.; Swedberg, M.; Rasmussen, T.; Olesen, P.H.; Jeppesen, L.; Sauerberg, P.; Fink-Jensen, A. Potential role of muscarinic receptors in schizophrenia. *Life Sci.*, **1999**, 64(6-7), 527–534.

[92] Bymaster, F.P.; Felder, C.; Ahmed, S.; McKinzie, D. Muscarinic receptors as a target for drugs treating schizophrenia. *Curr. Drug Targets CNS Neurol. Disord.*, **2002**, 1(1), 163–181.

[93] Missale, C.S.; Nash, R.; Robinson, S.W.; Jaber, M.; Caron, M.G. Dopamine Receptors: From Structure to Function. *Physiol. Rev.*, **1998**, 78(1), 189–225.

[94] Daly, S.A.; Waddington, J.L. New classes of selective D1 dopamine receptor antagonist provide further evidence for two directions of D1:D2 interaction. *Neurochem. Int.*, **1992**, 20(Suppl), 135S–139S.

[95] Jackson, D.M.; Westlind-Danielsson, A. Dopamine receptors: molecular biology, biochemistry and behavioral aspects. *Pharmacol. Ther.*, **1994**, 64(2), 291–369.

- [96] Wise, R. A.; Rompre, P.P. Brain dopamine and reward. *Annu. Rev. Psychol.*, **1989**, *40*, 191–225.
- [97] [Dearry, A.](#); [Gingrich, J.A.](#); [Falardeau, P.](#); [Freneau, R.T.Jr.](#); [Bates, M.D.](#); [Caron, M.G.](#) Molecular cloning and expression of the gene for a human D1 dopamine receptor. *Nature*, **1990**, *347*, 72–76.
- [98] [Freneau, R.T.Jr.](#); [Duncan, G.E.](#); [Fornaretto, M.G.](#); [Dearry, A.](#); [Gingrich, J.A.](#); [Breese, G.R.](#); [Caron, M.G.](#) Localization of D1 dopamine receptor mRNA in brain supports a role in cognitive, affective and neuroendocrine aspects of dopaminergic neurotransmission. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1991**, *91*(26), 12564–12568.
- [99] Weiner, D.M.; Levey, A.I.; Sunahara, R.K.; Niznik, H.H.; O'Dowd, B.F.; Brann, M.R. Dopamine D1 and D2 receptor mRNA expression in rat brain. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1991**, *88*(5), 1859–1863.
- [100] Le Moine, C.; Bloch, B. D1 and D2 dopamine receptor gene expression in the rat striatum: sensitive cRNA probes demonstrate prominent segregation of D1 and D2 mRNAs in distinct neuronal populations of the dorsal and ventral striatum. *J. Comp. Neurol.*, **1995**, *355*(3), 418–426.
- [101] Landwehrmeyer, B.; Menngod, G.; Palacios, J.M. Dopamine D3 receptor mRNA and binding sites in human brain. *Mol. Brain Res.*, **1993**, *18*(1-2), 187–192.
- [102] [Bouthenet, M.L.](#); [Souil, E.](#); [Martres, M.P.](#); [Sokoloff, P.](#); [Giros, B.](#); [Schwartz, J.C.](#) Localization of dopamine D3 receptor- mRNA in the rat brain using in situ hybridization histochemistry: comparison with dopamine D2 receptor mRNA. *Brain Res.*, **1991**, *564*(2), 203–219.
- [103] [Lévesque, D.](#); [Diaz, J.](#); [Pilon, C.](#); [Martres, M.P.](#); [Giros, B.](#); [Souil, E.](#); [Schott, D.](#); [Morgat, J.L.](#); [Schwartz, J.C.](#); [Sokoloff, P.](#) Identification, characterization, and localization of the dopamine D3 receptor in rat brain using 7-[3H]hydroxy-*N,N*-di-*n*- propyl-2-aminotetralin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **1992**, *89*(17), 8155–8159.
- [104] [Diaz, J.](#); [Lévesque, D.](#); [Lammers, C.H.](#); [Griffon, N.](#); [Martres, M.P.](#); [Schwartz, J.C.](#); [Sokoloff, P.](#) Phenotypical characterization of neurons expressing the dopamine D3 receptor in therat brain. *Neuroscience.*, **1995**, *65*(3), 731–745.
- [105] [Van Tol, H.H.](#); [Bunzow, J.R.](#); [Guan, H.C.](#); [Sunahara, R.K.](#); [Seeman, P.](#); [Niznik, H.B.](#); [Civelli, O.](#) Cloning of the gene for a human dopamine D4 receptor with high affinity for the antipsychotic clozapine. *Nature*, **1991**, *350*, 610–614.
- [106] O'Maley, K.L.; Harmon, S.; Tang, L.; Todd, R.D. The rat dopamine D4 receptor: sequence, gene structure, and demonstration of expression in the cardiovascular system. *New Biologist.*, **1992**, *4*(2), 137–146.
- [107] Chiodo, L.A.; Bunney, B.S. Possible mechanisms by which repeated clozapine administration differentially affects the activity of two subpopulations of midbrain dopamine neurons. *J. Neurosci.*, **1985**, *5*(9), 2539–2544.
- [108] Lane, R.F.; Blaha, C.D.; Rivet, J.M. Selective inhibition of drugs on mesolimbic dopamine release following chronic administration of clozapine: involvement of alpha 1-noradrenergic receptors demonstrated by in vivo voltammetry. *Brain Res.*, **1988**, *460*(2), 398–401.
- [109] Schotte, A.; Janssen, P.F.; Gommeren, W.; Luyten, W.H.; Van Gompel, P.; Lesage, A.S.; De Loore, K.; Leysen, J.E. Risperidone compared with new and reference antipsychotic drugs: in vitro and in vivo receptor binding. *Psychopharmacol.*, **1996**, *124*(1-2), 57–73.
- [110] Davidson, M.; Kahn, R.S.; Stern, R.G.; [Hirschowitz, J.](#); [Apter, S.](#); [Knott, P.](#); [Davis, K.L.](#) Treatment with clozapine and its effect on plasma homovanillic acid and norepinephrine concentrations in schizophrenia. *Psychiatry Res.*, **1993**, *46*(2), 151–163.

- [111] Berridge, C.W. Neural substrates of psychostimulant induced arousal. *Neuropsychopharmacol.*, **2006**, 31(11), 2332-2340.
- [112] Saper, C.B.; Scammell, T.E.; Lu, J. Hypothalamic regulation of sleep and circadian rhythms. *Nature*, **2005**, 437, 1257-1263.
- [113] Hilakivi, I.; Leppavuori, A. Effects of methoxamine, and alpha-1 adrenoceptor agonist, and prazosin, an alpha-1 antagonist, on the stages of the sleep-waking cycle in the cat. *Acta Physiol. Scand.*, **1984**, 120(3), 363-372.
- [114] Hilakivi, I.; Leppavuori, A.; Putkonen, P.T. Prazosin increases paradoxical sleep. *Eur. J. Pharmacol.*, **1980**, 65(4), 417-420.
- [115] Kim, S.F.; Huang, A.S.; Snowman, A.M.; Teuscher, C.; Snyder, S.H. Antipsychotic drug-induced weight gain mediated by histamine H1 receptor-linked activation of hypothalamic AMP-kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, **2007**, 104(9), 3456-3459.
- [116] Masaki, T.; Chiba, S.; Yasuda, T.; Noguchi, H.; Kakuma, T.; Watanabe, T.; Sakata, T.; Yoshimatsu, H. Involvement of hypothalamic histamine H1 receptor in the regulation of feeding rhythm and obesity. *Diabetes*, **2004**, 53(9), 2250-2260.
- [117] Masaki, T.; Yoshimatsu, H. The hypothalamic H1 receptor: a novel therapeutic target for disrupting diurnal feeding rhythm and obesity. *Trends Pharmacol. Sci.*, **2006**, 27(5), 279-284.
- [118] Kroeze, W.K.; Hufeisen, S.J.; Popadak, B.A.; Renock, S.M.; Steinberg, S.; Ernsberger, P.; Jayathilake, K.; Meltzer, H.Y.; Bryan, L.; Roth, B.L. H1-histamine receptor affinity predicts short-term weight gain for typical and atypical antipsychotic drugs. *Neuropsychopharmacol.*, **2003**, 28(3), 519-526.
- [119] Jafari, S. Fernandez-Enright F, Huang X-F: Structural contributions of antipsychotic drugs to their therapeutic profiles and metabolic side effects. *J. Neurochem.*, **2012**, 120(3), 371-384.
- [120] Richelson, E.; Nelson, A. Antagonism by antidepressants of neurotransmitter receptors of normal human brain in vitro. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **1984**, 230(1), 94-102.
- [121] Krystal, A.D.; Goforth, H.; Roth, T. Effects of antipsychotic medications on sleep in schizophrenia. *Int. Clin. Psychopharmacol.*, **2008**, 23(1), 50-60.
- [122] Lin, J.S.; Dauvilliers, Y.; Arnulf, I.; [Bastuji, H.](#); [Anaclet, C.](#); [Parmentier, R.](#); [Kocher, L.](#); [Yanagisawa, M.](#); [Lehert, P.](#); [Ligneau, X.](#); [Perrin, D.](#); [Robert, P.](#); [Roux, M.](#); [Lecomte, J.M.](#); [Schwartz, J.C.](#) An inverse agonist of the histamine H(3) receptor improves wakefulness in narcolepsy: studies in orexin-/-mice and patients. *Neurobiol. Dis.*, **2008**, 30(1), 74-83.
- [123] Kroeze, W.K.; Roth, B.L. The Molecular Biology of Serotonin Receptors: Therapeutic Implications for the Interface of Mood and Psychosis. *Biol. Psychiatry*, **1998**, 44(11), 1128-1142.
- [124] Barnes, N.M; Sharp, T. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacol.*, **1999**, 38(8), 1083-1152.
- [125] Saxena, P.R. Serotonin receptors: Subtypes, functional responses and therapeutic relevance. *Pharmac. Ther.*, **1995**, 66(3), 339-368.
- [126] Hoyer, D.; Clarke, D.E.; Fozard, J.R.; [Hartig, P.R.](#); [Martin, G.R.](#); [Mylecharane, E.J.](#); [Saxena, P.R.](#); [Humphrey, P.P.](#) International union of pharmacological classification of receptors for 5-hydroxytryptamine (serotonin). *Pharmacol. Rev.*, **1994**, 46(2), 157-193.
- [127] López-Giménez, J.F.; Mengod, G.; Palacios, J.M.; Vilaró, M.T. Selective visualisation of rat brain 5-HT_{2A} receptors by autoradiography with [³H]MDL 100,907. *Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **1997**, 356, 446-454.

- [128] Pazos, A.; Probst, A.; Palacios, J.M. Serotonin receptors in the human brain-IV. Autoradiographic mapping of serotonin-2 receptors. *Neuroscience*, **1987**, 21(1), 123–139.
- [129] Duxon, M.S.; Flanigan, T.P.; Reavley, A.C.; Baxter, G.S.; Blackburn, T.P.; Fone, K.C.F. Evidence for the expression of the 5-hydroxytryptamine-2B receptor protein in the rat central nervous system. *Neuroscience*, **1997**, 76(2), 323–329.
- [130] Rick, C.E.; Stanford, I.M.; Lacey, M.G. Excitation of rat substantia nigra pars reticulata neurons by 5-hydroxytryptamine in vitro: evidence for a direct action mediated by 5-hydroxytryptamine_{2C} receptors. *Neuroscience*, **1995**, 69(3), 903–913.
- [131] Morales, M.; Battenberg, E.; Bloom, F.E. Distribution of neurons expressing immunoreactivity for the 5-HT₃ receptor subtype in the rat brain and spinal cord. *J. Comp. Neurol.*, **1998**, 402(3), 385–401.
- [132] Miyake, A.; Mochizuki, S.; Takemoto, Y.; Akuzawa, S. Molecular cloning of human 5-hydroxytryptamine₃ receptor: heterogeneity in distribution and function among species. *Mol. Pharmacol.*, **1995**, 48(3), 407–416.
- [133] Pratt, G.D.; Bowery, N.G.; Kilpatrick, G.J.; [Leslie, R.A.](#); [Barnes, N.M.](#); [Naylor, R.J.](#); [Jones, B.J.](#); [Nelson, D.R.](#); [Palacids, J.M.](#); [Slater, P.](#) Consensus meeting agrees distribution of 5-HT₃ receptors in mammalian hindbrain. *Trends Pharmacol. Sci.*, **1990**, 11(4), 135–137.
- [134] Monsma, F.J.Jr.; Shen, Y.; Ward, R.P.; Hamblin, M.W.; Sibley, D.R. Cloning and expression of a novel serotonin receptor with high affinity for tricyclic psychotropic drugs. *Mol. Pharmacol.*, **1993**, 43, 320–327.
- [135] Kohen, R.; Metcalf, M.A.; Khan, N.; Druck, T.; Huebner, K.; Lachowicz, J.E.; Meltzer, H.Y.; Sibley, D.R.; Roth, B.L.; Hamblin, M.W. Cloning, characterization and chromosomal localization of a human 5-HT₆ serotonin receptor. *J. Neurochem.*, **1996**, 66(1), 47–56.
- [136] Roth, B.L.; Hyde, E.G. Pharmacology of 5-HT₂ receptors. In: *Serotonergic Neurons and 5-HT Receptors in the CNS* (Handbook of Experimental Pharmacology vol. 129); Baumgarten, H.G.; Gothert, M. editors. Ed. Springer-Verlag: Berlin, **1997**, pp 367–394.
- [137] Meltzer, H.Y. The role of serotonin in antipsychotic drug action. *Neuropsychopharmacol.*, **1999**, 21(Suppl 2), s106–s115.
- [138] Sodhi, M.; Murray, R.M. Central and peripheral nervous systems: Future therapies for schizophrenia. *Expert Opin. Ther. Pat.*, **1997**, 7(2), 151–165.
- [139] Meltzer, H.Y.; Fatemi, S. The role of serotonin in schizophrenia and the mechanism of action of anti-psychotic drugs. In: *Serotonergic mechanisms in antipsychotic treatment*. Kane, J.M.; Moller, H.-J.; Awouters, F., Eds. Marcel Dekker: New York, **1996**, pp. 77–107.
- [140] Schmidt, C.J.; Sorensen, S.M.; Kehne, J.H.; [Carr, A.A.](#); [Palfreyman, M.G.](#) The role of 5-HT_{2A} receptors in antipsychotic activity. *Life Sci.*, **1995**, 56(25), 2209–2222.
- [141] Meltzer, H.Y. Mechanism of action of atypical antipsychotic. In: *Neuropsychopharmacology: The Fifth Generation of Progress*; Kenneth L. Davis, Dennis Charney, Joseph T. Coyle, and Charles Nemeroff. Ed. American College of Neuropsychopharmacology: USA, **2002**. Chapter 58, pp. 819–831.
- [142] Fiorella, D.; Helsley, S.; Rabin, R.A.; Winter, J.C. The interactions of typical and atypical antipsychotics with the (-)-2,5-dimethoxy-4- methamphetamine (DOM) discriminative stimulus. *Neuropharmacol.*, **1995**, 34(10), 1297–1303.
- [143] Marcus, M.M.; Nomikos, G.G.; Svensson, T.H. Differential actions of typical and atypical antipsychotic drugs on dopamine release in the core and shell of the nucleus accumbens. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, **1996**, 6(1), 29–38.

- [144] De Deurwaerdere, P.; Spampinato, U. Role of serotonin(2A) and serotonin (2B/2C) receptor subtypes in the control of accumbal and striatal dopamine release elicited in vivo by dorsal raphe nucleus electrical stimulation. *J. Neurochem.*, **1999**, 73(3), 1033–1042.
- [145] Altar, C.A.; Boyer, W.C.; Wasley, A.; Liebman, J.M.; Wood, P.L.; Gerhardt, S.G. Dopamine neurochemical profile of atypical antipsychotics resemble that of D-1 antagonists. *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.*, **1988**, 338(2), 162–168.
- [146] Meltzer, H.Y.; Matsubara, S.; Lee, J.-C. Classification of typical and atypical antipsychotic drugs on the basis of dopamine D-1, D-2 and serotonin₂ pK_i values. *J Pharmacol. Exp. Ther.*, **1989**, 251(1), 238–246.
- [147] [Jafari, S.](#); [Bouillon, M.E.](#); [Huang, X.F.](#); [Pyne, S.G.](#); [Fernandez-Enright, F.](#) Novel olanzapine analogues presenting a reduced H₁ receptor affinity and retained 5HT_{2A}/D₂ binding affinity ratio. *BMC Pharmacol.*, **2012**, 12(8), 1-8.
- [148] Landolt, H.P.; Meier, V.; Burgess, H.J.; [Finelli, L.A.](#); [Cattelin, F.](#); [Achermann, P.](#); [Borbély, A.A.](#) Serotonin-2 receptors and human sleep: effect of a selective antagonist on EEG power spectra. *Neuropsychopharmacol.*, **1999**, 21(3), 455-66.
- [149] Morairty, S.R.; Hedley, L.; Flores, J.; [Martin, R.](#); [Kilduff, T.S.](#) Selective 5HT_{2A} and 5HT₆ receptor antagonists promote sleep in rats. *Sleep*, **2008**, 31(1), 34-44.
- [150] Rosenberg, R.; Seiden, D.J.; Hull, S.G.; [Erman, M.](#); [Schwartz, H.](#); [Anderson, C.](#); [Prosser, W.](#); [Shanahan W.](#); [Sanchez, M.](#); [Chuang, E.](#); [Roth, T.](#) APD125, a selective serotonin 5-HT_{2A} receptor inverse agonist, significantly improves sleep maintenance in primary insomnia. *Sleep*, **2008**, 31(12), 1663-71.
- [151] Krystal, A. D. Antidepressant and Antipsychotic Drugs. *Sleep Med. Clin.*, **2010**, 5(4), 571–589.
- [152] Navari, R.M. Olanzapine for the prevention and treatment of chronic nausea and chemotherapy-induced nausea and vomiting. *Eur. J. Pharmacol.*, **2014**, 722(1), 180–186.
- [153] Rudd, J.A.; Ngan, M.P.; Wai, M.K.; King, A.G.; Witherington, J.; Andrews, P.L.; Sanger, G.J. Anti-emetic activity of ghrelin in ferrets exposed to the cytotoxic anti-cancer agent cisplatin. *Neurosci. Lett.*, **2006**, 392(1-2), 79–83.
- [154] Yakabi, K.; Sadakane, C.; Noguchi, M.; Ohno, S.; Shoki, R.; Chinen, K.; Aoyama, T.; Sakurada, T.; Takabayashi, H.; Hattori, T. Reduced ghrelin secretion in the hypothalamus of rats due to cisplatin-induced anorexia. *Endocrinol.*, **2010**, 151(8), 3773–3782.
- [155] Bymaster, F.P.; Falcone, J.F.; Bauzon, D.; Kennedy, J.S.; Schenck, K.; DeLapp, N.W.; Cohen, M.L. Potent antagonism of 5-HT₃ and 5-HT₆ receptors by olanzapine. *Eur. J. Pharmacol.*, **2001**, 430(2-3), 341–349.
- [156] Bourson, A.; Boess, F.G.; Bos, M.; Sleight, A.J. Involvement of 5-HT₆ receptors in nigro-striatal function in rodents. *Br. J. Pharmacol.*, **1998**, 125(8), 1562–1566.
- [157] Eder, U.; Mangweth, B.; Ebenbichler, C.; Weiss, E.; Hofer, A.; Hummer, M.; Kemmler, G.; Lechleitner, M.; Fleischhacker, W. Association of olanzapine-induced weight gain with an increase in body fat. *Am. J. Psychiatr.*, **2001**, 158(10), 1719–1722.
- [158] Tulipano, G.; Spano, P.F.; Cocchi, D. Effects of olanzapine on glucose transport, proliferation and survival in C2C12 myoblasts. *Mol. Cell. Endocrinol.*, **2008**, 292(1-2), 42–49.
- [159] Mir, S.; Taylor, D. Atypical antipsychotics and hyperglycaemia. *Int. Clin. Psychopharmacol.*, **2001**, 16(2), 63–73.
- [160] Liebzeit, K.A.; Markowitz, J.S.; Caley, C.F. New onset diabetes and atypical antipsychotics. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, **2001**, 11(1), 25–32.

- [161] Newcomer, J.W.; Haupt, D.W.; Fucetola, R.; Melson, A.K.; Schweiger, J.A.; Cooper, B.P.; Selke, G. Abnormalities in glucose regulation during antipsychotic treatment of schizophrenia. *Arch. Gen. Psychiatry.*, **2002**, 59(4), 337–345.
- [162] Mohammad, M.K.; Al-Masri, I.M.; Taha, M.O.; Al-Ghusein, M.A.S.; Al-Khatib, H.S.; Najjar, S.; Bustanji, Y. Olanzapine inhibits glycogen synthase kinase-3 β : An investigation by docking simulation and experimental validation. *Eur. J. Pharmacol.*, **2008**, 584(2-3), 185–191.
- [163] Li, X.; Rosborough, K.M.; Friedman, A.B.; Zhu, W.; Roth, K. Regulation of mouse brain glycogen synthase kinase-3 by atypical antipsychotics. *Int. J. Neuropsychopharmacol.*, **2007**, 10(1), 7–19.
- [164] Embi, N.; Rylatt, D.B.; Cohen, P. Glycogen synthase kinase-3 from rabbit skeletal muscle. Separation from cyclic-AMP-dependent protein kinase and phosphorylase kinase. *Eur. J. Biochem.*, **1980**, 107(2), 519–527.
- [165] Cruciani, G.; Crivori, P.; Carrupt P.-A.; Testa, B. Molecular fields in quantitative structure-permeation relationships: the VolSurf approach. *J. Mol. Struct.-Theochem.* **2000**, 503(1), 17-30.
- [166] Berthold, M.R.; Cebon, N.; Dill, F.; Gabriel, T.R.; Kötter, T.; Meinl, T.; Ohl, P.; Sieb, C.; Thiel, K.; Wiswedel, B. In: *KNIME: The Konstanz Information Miner. Data Analysis, Machine Learning and Applications*. Preisach C, Burkhardt H, Schmidt-Thieme L, Decker R, Eds. Springer: Berlin **2007**, pp. 319-26.
- [167] Breiman, L. Random forests. *Mach Learn*, **2001**, 45(1), 5-32.
- [168] Hall, M.; Frank, E.; Holmes, G.; Pfahringer, B.; Reutemann, P.; Witten, I.H. (2009); *The WEKA Data Mining Software: An Update*; SIGKDD Explorations, Volume 11, Issue 1.
- [169] Salerno, S.; Settimo, F.; Taliani, S.; Motta, C.; Fornaciari, G.; Marini, A.M. Medicinal Chemistry of Indolylglyoxylamide GABA_A /BzR High Affinity Ligands: Identification of Novel Anxiolytic/Non Sedative Agents. *Curr. Top. Med. Chem.* **2012**, 12(4), 286-311.

FIGURES

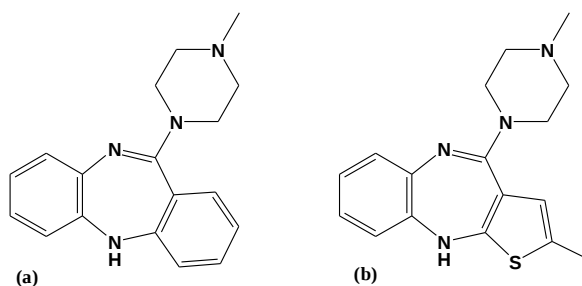


Figure 1. Chemical structures of Clozapine (a) and Olanzapine (b)

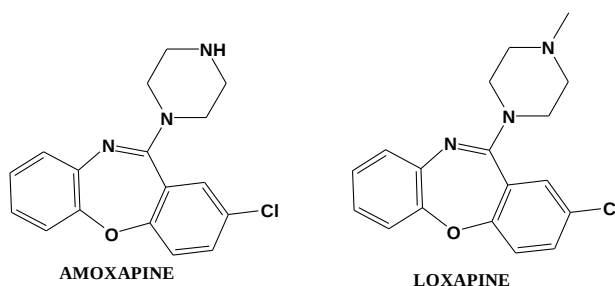


Figure 2. Chemical structures of loxapine and amoxapine

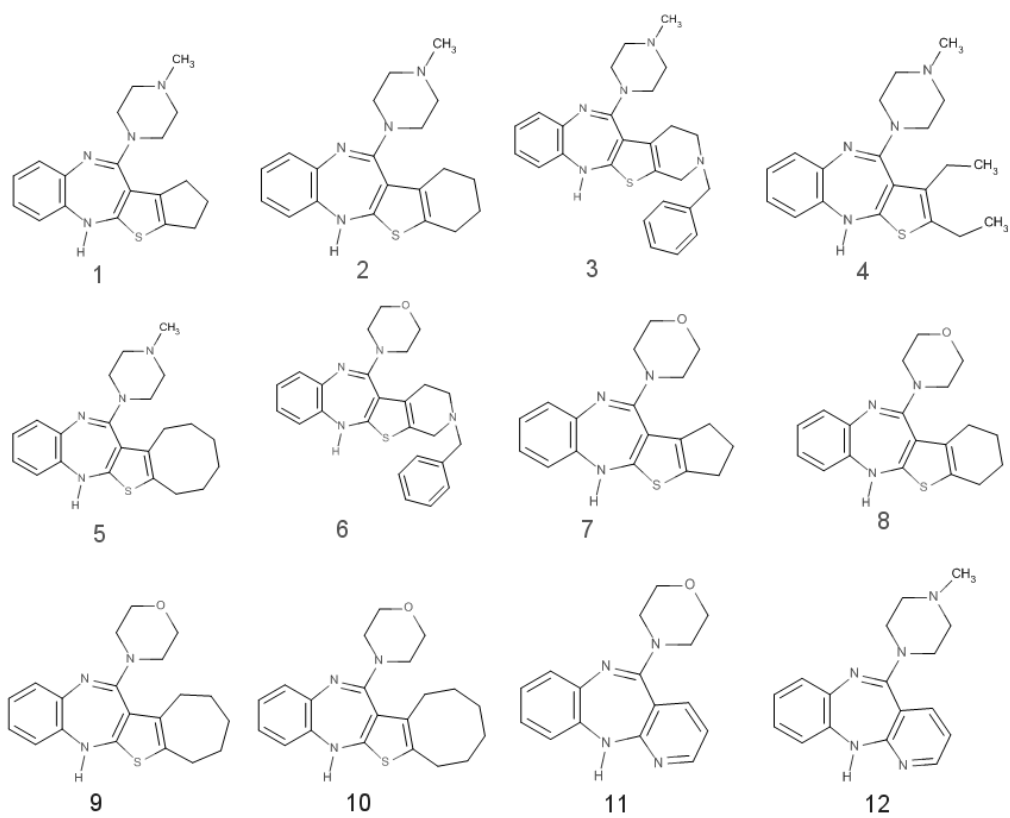
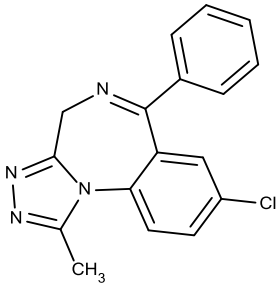
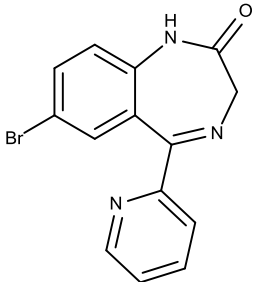
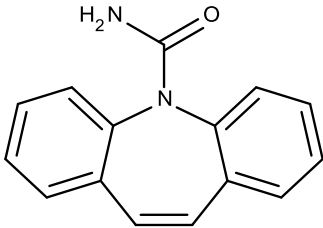
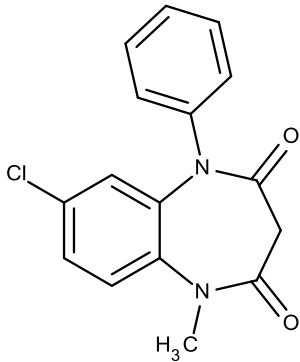
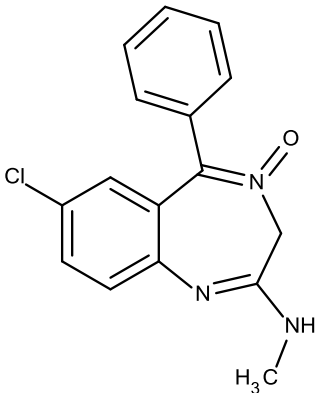


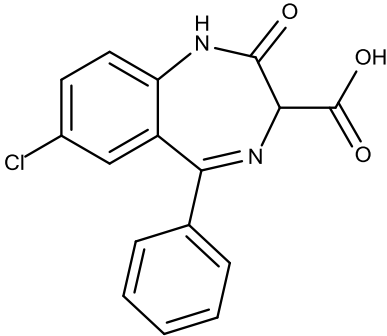
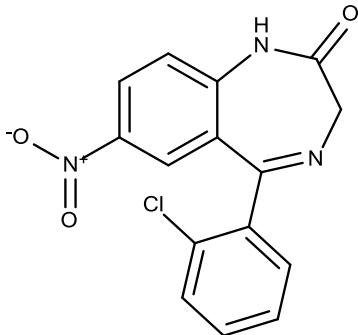
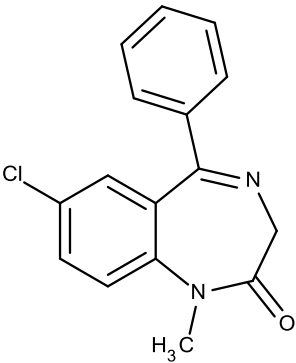
Figure 3 - Structures of olanzapine analogues submitted to the 6 models.

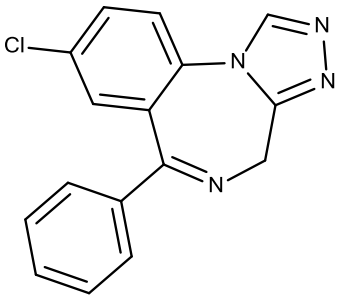
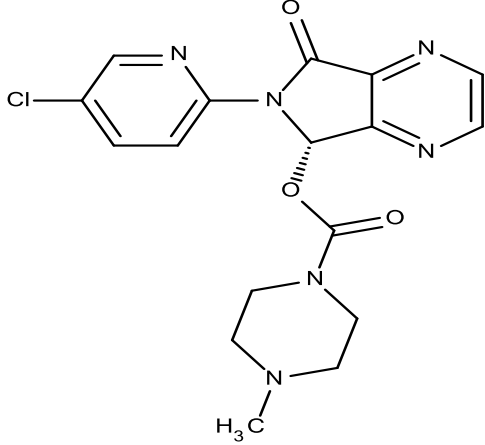
TABLES

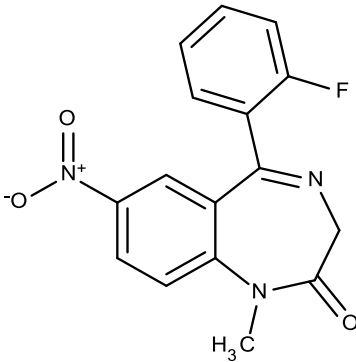
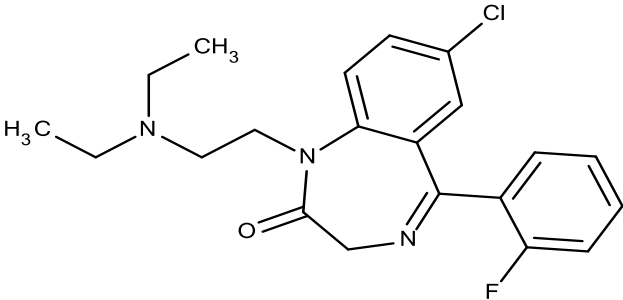
Table 1 – Some benzodiazepines and main use.

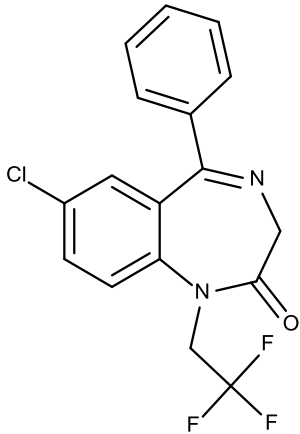
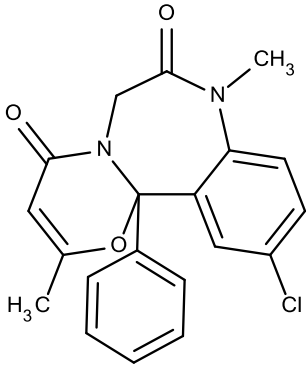
Name	Structure ^a	Half-life	Main use	Reference
Alprazolam		11.2h	Anti-anxiety, panic disorders	[16,17]
Bromazepam		17h	Anti-anxiety, anti-epileptic	[18,19]
Carbamazepine		35h	Anti-anxiety and anti-epileptic	[18,20]

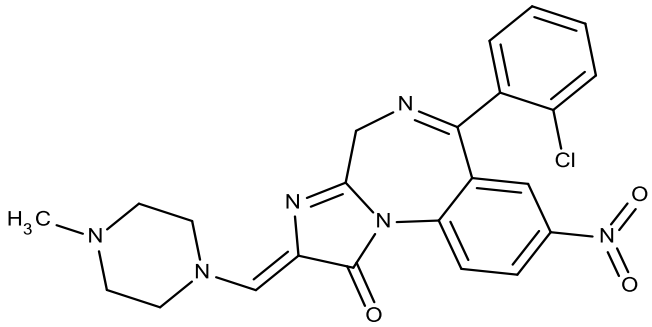
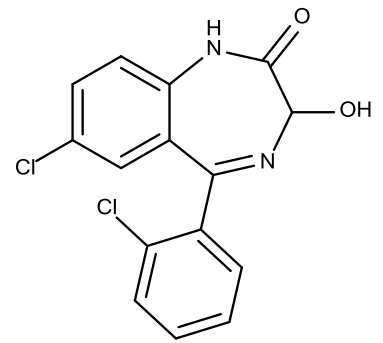
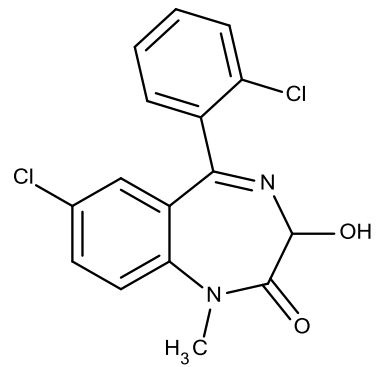
Clobazam		12-60h	Anti-epileptic	[21,22]
Chlordiazepoxide		5-30h	Amnestic, anticonvulsant, anxiolytic, hypnotic and skeletal muscle relaxant properties	[22,23]

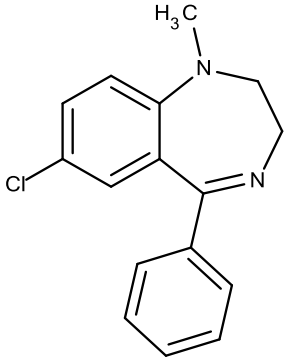
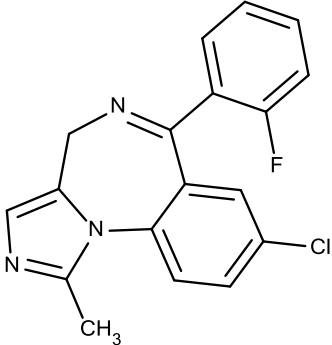
Clorazepate		36-200-- active metabolite	Anti-anxiety and anticonvulsant	[22,24]
Clonazepam		18-50	Anti-anxiety and anti-epileptic	[18,22]
Diazepam		20-100 36-200-- active metabolite	Anti-anxiety and anti-epileptic	[18,22]

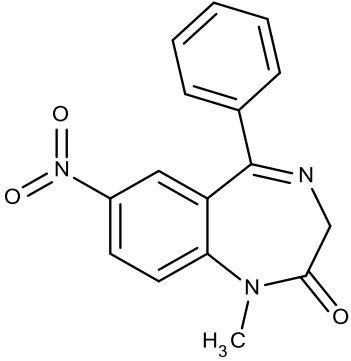
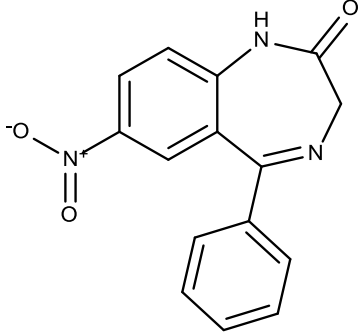
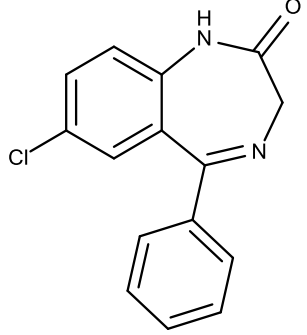
Estazolam		10-24h	Hypnotic	[22]
Eszopiclone		6-9h	Schizophrenia, hypnotic	[22,25]

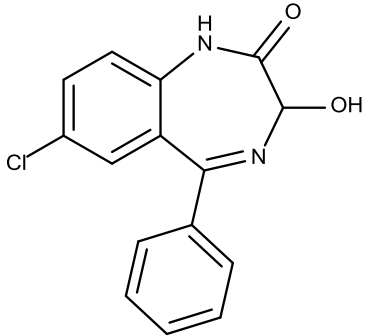
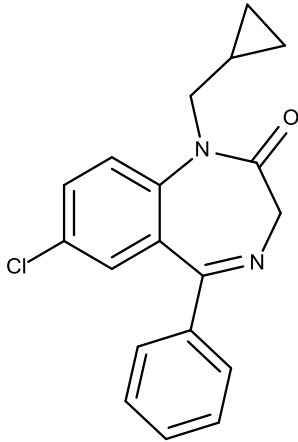
Flunitrazepam		18-26 36-200-- active metabolite	Induce anterograde amnesia	[22,26]
Flurazepam		40-250-- active metabolite	Hypnotic	[22,24]

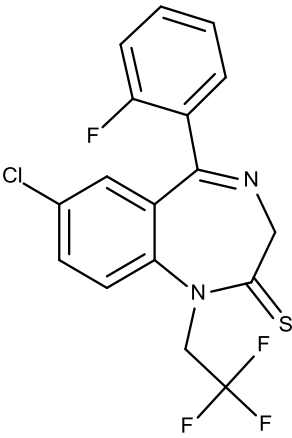
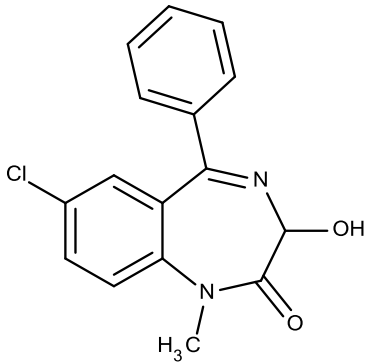
Halazepam		30-100-- active metabolite	Anti-anxiety, emotional disorders	[22,27]
Ketazolam		30-100h 36-200h-- active metabolite	Anti-anxiety	[22,28]

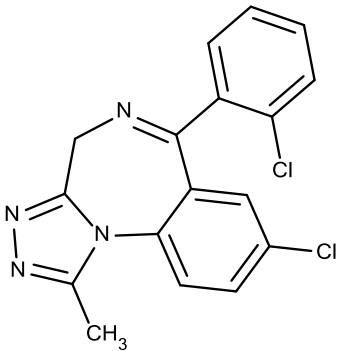
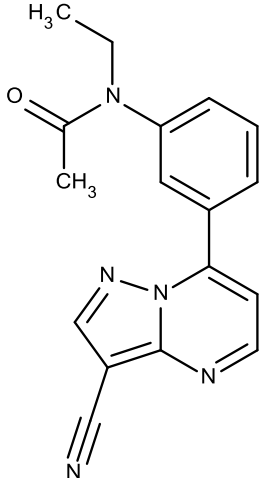
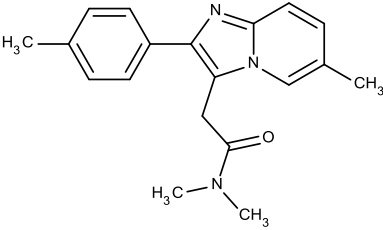
Loprazolam		6-12h	Anti-anxiety, hypnotic	[22,29]
Lorazepam		10-20h	Anti-anxiety, anti-epileptic	[18,22]
Lormetazepam		10-12h	Anti-anxiety, hypnotic	[22,29]

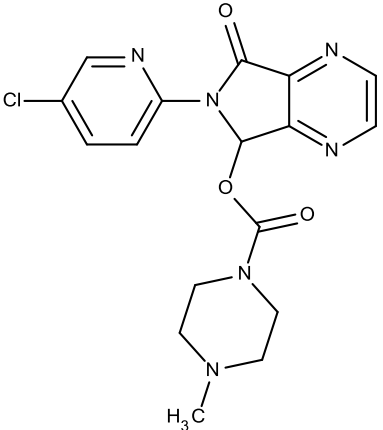
Medazepam		36-200	Anti-anxiety, depressive, and psychosomatic disorders	[22,30]
Midazolam		2-5h	Anesthesia induction, sedation and hypnotic	[31,32]

Nimetazepam	 <chem>CN1C(=O)N=C(c2ccccc2)c3cc([N+](=O)[O-])ccc31</chem>	15-38h	Hypnotic	[22,26]
Nitrazepam	 <chem>O=C1N=C(c2ccccc2)c3cc([N+](=O)[O-])ccc3N1</chem>	15-38h	Hypnotic	[22,26]
Nordiazepam^b	 <chem>O=C1N=C(c2ccccc2)c3cc(Cl)ccc3N1</chem>	40-99h	Hypnotic, antidepressant	[33,34]

Oxazepam^b		4-15h	Anti-anxiety and insomnia	[22,35]
Prazepam		36-200h-- active metabolite	Anti-anxiety and anticonvulsant	[22,36]

Quazepam		41h	Hypnotic	[37]
Temazepam^b		8-22h	Hypnotic, treatment of Narcolepsy	[22,38]

Triazolam		1.8-3.9h	Hypnotic, treatment of insomnia	[39]
Zaleplon		2h	Hypnotic, sedative, treatment of insomnia	[22,40]
Zolpidem		2	Hypnotic, treatment of insomnia	[22,41]

Zopiclone		5-6	Hypnotic, sedative	[22,42]
------------------	--	-----	--------------------	---------

a-Structures generated by SMILES using the MarvinSketch software.

b-Active metabolites of diazepam after the action of enzymes CYP2C and CYP3A of the P450 cytochrome [33].

Table 2 - Summary of training, test and respective match results using Random Forest for dopamine D₁, D₂, D₃, D₄, D₅ receptors and dopamine transporter.

Dopamine Receptor D ₁							
Train			Validation		Test		
Samples	Match	%Match	Match	%Match	Samples	Match	%Match

Active	182	182	100	164	90.1	46	44	95.7
Inactive	143	142	99.3	120	83.9	36	29	80.6
Overall	325	324	99.7	184	87.4	82	73	89.0
Dopamine Receptor D₂								
Active	1086	1086	100	976	91.5	208	185	88.9
Inactive	615	615	100	342	61.8	117	69	59.0
Overall	1701	1701	100	1318	81.4	325	254	78.2
Dopamine Receptor D₃								
Active	921	921	100	869	94.4	163	163	92.6
Inactive	327	324	100	193	59.0	37	58	63.8
Overall	1248	1248	100	1062	85.1	188	221	85.1
Dopamine Receptor D₄								
Active	454	448	98.7	432	95.2	114	106	93.0
Inactive	160	158	98.8	99	61.9	40	32	80.0
Overall	614	606	98.7	531	86.5	154	138	89.6
Dopamine Receptor D₅								
Active	72	71	98.6	58	80.6	19	17	89.5
Inactive	88	88	100	79	89.8	22	22	100
Overall	160	159	99.4	137	85.6	41	39	95.1

Dopamine Transporter								
Active	82	82	100	72	87.8	15	14	93.3
Inactive	134	134	100	129	96.3	24	19	79.2
Overall	216	216	100	201	93.1	39	33	84.6

Table 3 – Predicted activity for olanzapine analogues by the RF models against dopamine receptors D₁, D₂, D₃, D₄, D₅, and dopamine transporter. The score accounts the number of times that a compound is classified as active.

Compound ID	Receptor D1	Receptor D2	Receptor D3	Receptor D4	Receptor D5	Transporter	Score
1	A	A	I	A	I	I	3
2	A	A	A	A	I	I	4
3	I	A	A	A	I	A	4
4	A	A	A	A	I	I	4
5	A	A	A	A	I	A	5
6	A	A	A	A	I	A	5
7	I	I	I	A	I	I	1
8	A	I	I	A	I	I	2
9	I	I	I	A	I	I	1
10	A	I	I	A	I	I	2
11	I	I	I	A	I	I	1
12	I	I	I	A	I	I	1

CAPÍTULO II
Síntese de novas piridobenzodiazepinas quimicamente relacionadas à
olanzapina

APRESENTAÇÃO DO CAPÍTULO II

SÍNTESE DE NOVAS PIRIDOBENZODIAZEPINAS QUIMICAMENTE RELACIONADAS À OLANZAPINA

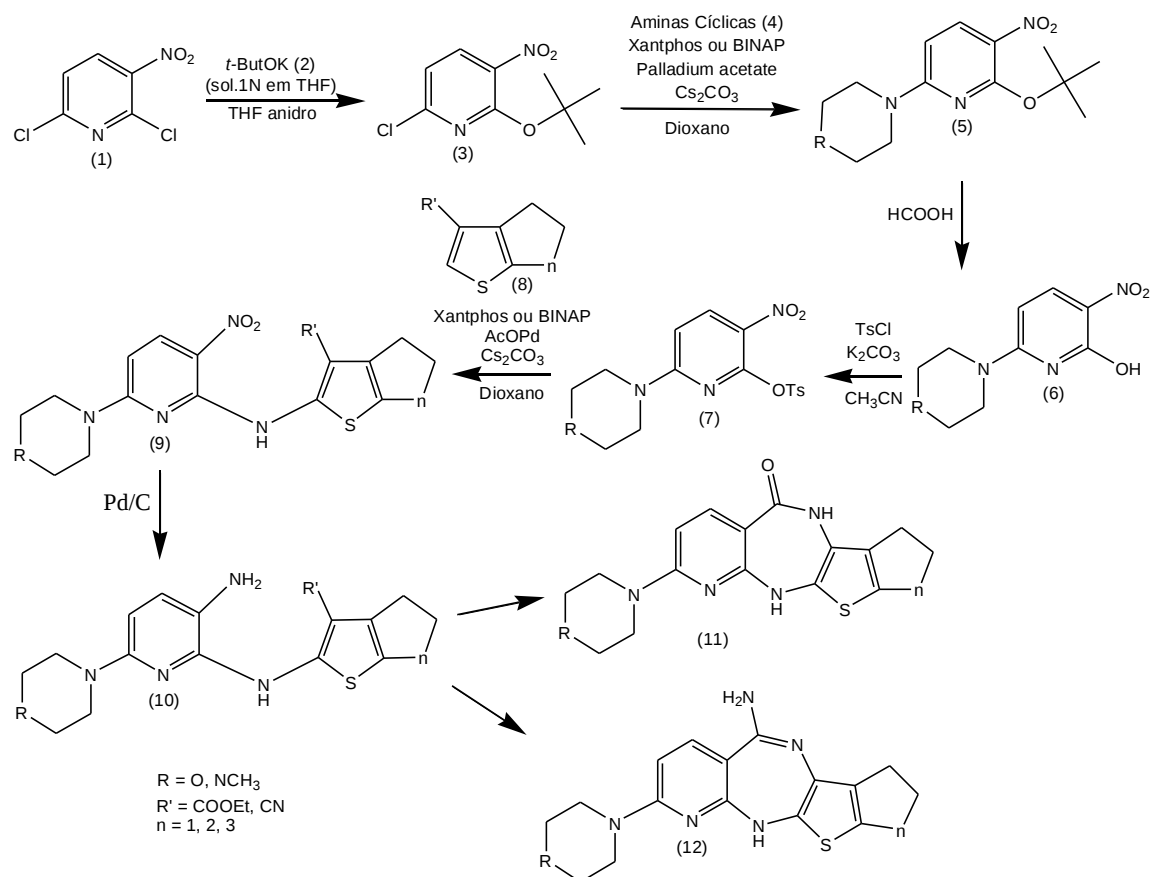
A segunda parte deste trabalho propõe o planejamento e a síntese de novas piridobenzodiazepinas quimicamente relacionadas à olanzapina, com nome químico (2-metil-4-(4-metil-1-piperazinil)10H-tieno[2,3-b][1,5]benzodiazepina), a olanzapina é uma tienobenzodiazepina, estruturalmente análoga a clozapina, que demonstra eficácia contra os sintomas positivos e negativos da esquizofrenia, transtorno bipolar e outras psicoses (FULTON e GOA, 1997; BHANA et al., 2001; BHANA e PERRY, 2001), constituindo uma alternativa para o tratamento de pacientes refratários a outros antipsicóticos (RAJENDRAPRASAD e BASAVAIAH, 2009). Diversos artigos e patentes evidenciam o grande potencial terapêutico relacionado à atividade neuroléptica, que moléculas análogas e derivadas de tienobenzodiazepinas apresentam. Yelle, 2000 e Stawinski; Rechnio e Majka, 2006, obtiveram alguns metabólitos ativos da olanzapina, os quais apresentaram efeitos pouco inferiores à droga de origem (olanzapina), mais com significativa inibição de sintomas psicóticos. Press et al., 1979, Press et al., 1981, além de Wright, Jr. et al., 1980, também sintetizaram compostos quimicamente relacionados com a olanzapina que demonstram bom potencial para serem utilizados como agentes neurolépticos em modelos animais.

Os derivados piridobenzodiazepínicos são reportados em muitos artigos e patentes como neurolépticos que atuam em múltiplos receptores. No final da década de 90, a Therabel Research SA, com base em Bruxelas na Bélgica, desenvolveu a 8-cloro-5(4-metilpiperazin-1-il)-pirido[2,3-b][1,5]benzoxazepina, como um potencial antipsicótico atípico, com padrão muito semelhante ao da clozapina nos testes animais, mas apresentando razões de bloqueio *5Ht2A/D2* e *D4/D2* superiores a ela, além de possuir propriedades ansiolíticas e antidepressivas (FROTA, 2003). Num modelo comportamental desenvolvido em cães e utilizado para diferenciar neurolépticos típicos e atípicos, Liegeois et al., 1993, testaram os derivados 8-cloro-6-(4-metil-1-piperazinil)-11H-pirido[2,3b][1,4]benzodiazepina, o 1,8-metil-6-(4-metil-1-piperazinil)-11H-pirido[2,3b][1,4]benzodiazepina e o 5-(metil-1-piperazinil)-11H-pirido[2,3-b][1,5]benzodiazepina, onde demonstraram características comportamentais dos neurolépticos e perfis neuroquímicos compatíveis com um efeito antipsicótico atípico. Derivados metílicos piperazinoazepinas, sintetizados por Liegeois e Delarge, 1995,

apresentaram atividade como antidepressivo, antipsicótico, ansiolítico, neuroléptico e sedativo, causando muito pouca ou nenhuma catalepsia. Uma série de análogos piridobenzodiazepínicos obtidos e testados por Liegeois et al., 1999, também mostraram potenciais atípicos.

Várias estratégias para obtenção de derivados piridobenzodiazepínicos se encontram descritas na literatura, como por exemplo, a invenção de Gerszberg, 1981, que relata o processo de preparação de derivados do 5,11-diidro-6H-pirido[2,3-b][1,4]-benzodiazepin-6-ona. Outras patentes mostram os diversos métodos empregados na obtenção desses compostos, tais como os descritos por Schmidt, 1968; Schmidt et al., 1972; Engel et al., 1989; Liegeois e Delarge, 1995; Riss et al., 2009; Shen et al., 2012, entre outras.

As novas piridobenzodiazepinas, propostas nesse trabalho, foram planejadas por bioisosterismo, onde o anel piridínico substitui o anel benzeno, gerando assim novas moléculas quimicamente relacionadas à olanzapina. O esquema 1 ilustra as etapas sugeridas para a síntese desses novos compostos.



Esquema 1. Síntese dos novos heterociclos análogos da olanzapina.

Na primeira etapa da rota sintética, a reação da 2,6-dicloro-3-nitropiridina (1) com *tert*-butanolato de potássio (2) conduziu ao derivado piridínico (3). Na segunda etapa, o derivado piridínico (3) permitiu a obtenção dos intermediários *N*-substituídos (5a-b); os quais, após a etapa de catálise ácida, formaram os compostos piridínicos hidrolizados (6a-b); em seguida, esses compostos foram ativados com cloreto de toсила para gerar os ésteres ácidos (7a-b). As etapas finais são acoplamento via reação de Buchwald para obter os compostos (9a-b); reação de hidrogenação do grupo nitro a amina, para produzir o composto (10) e reação de ciclização para síntese dos produtos finais (11) e (12).

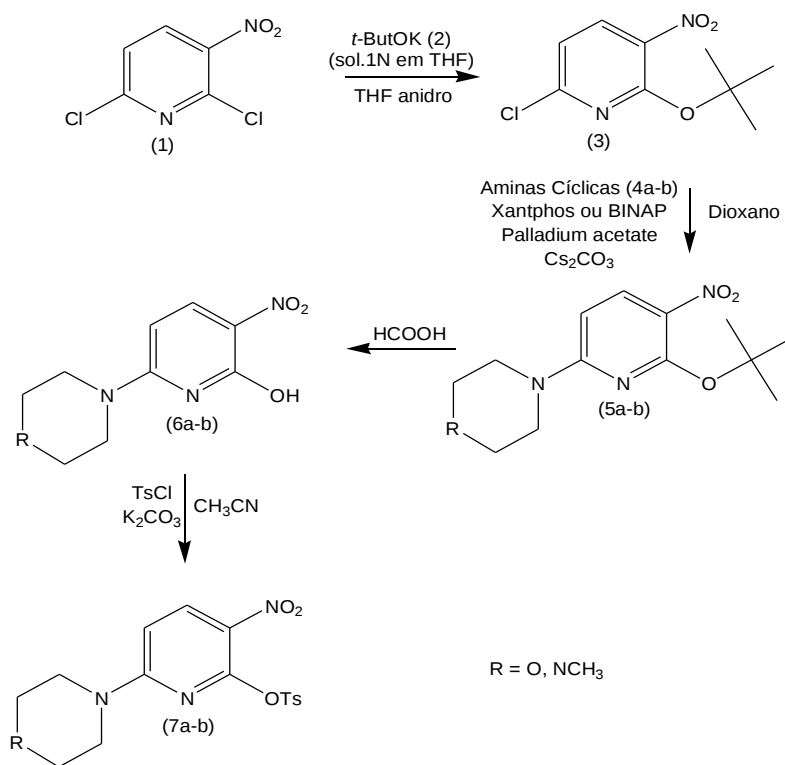
No entanto, a rota sintética inicialmente proposta só foi executada até a quarta etapa reacional. A reação para obtenção dos ésteres ácidos não foi bem sucedida, uma vez que não conduziu às estruturas moleculares planejadas, fato esse comprovado pelos dados produzidos nas análises espectroscópicas e espectrométricas realizadas em cada etapa da rota sintética proposta. Algumas modificações metodológicas foram feitas, porém todas sem êxito. O aperfeiçoamento dessa etapa da síntese é alvo de nossas perspectivas futuras.

4.1. METODOLOGIA

As seções a seguir descrevem a metodologia utilizada para obtenção dos novos análogos da olanzapina.

4.1.1. Rota sintética utilizada para obtenção das novas piridinas

As novas piridinas propostas nesse trabalho foram obtidas através da rota sintética ilustrada no esquema 2.



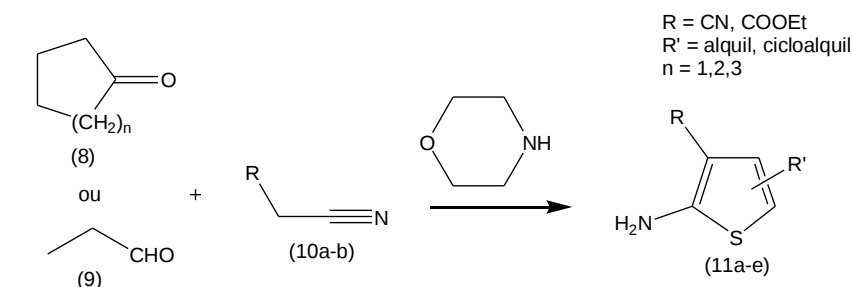
O intermediário piridínico dessimetrizado (3), foi obtido pela reação de substituição nucleofílica aromática da halopiridina (1) com composto alcóxido (2), utilizando solvente polar aprótico.

A piridina dessimetrizada (3) foi condensada às diversas aminas heterocíclicas (4a-b), através de substituição nucleofílica aromática, utilizando bases fortes e solvente polar aprótico. A piridina (3) também pôde ser acoplada às ditas aminas (4a-b) por reação de Buchwald (YANG e BUCHWALD, 1999; MARTINELLI et al., 2008; QUEIROZ et al., 2007) utilizando, para tanto, diferentes ligantes fosfina, precursor catalítico e base. O emprego

de diferentes estratégias metodológicas possibilitou breve estudo sobre a melhor forma de obtenção dos derivados *N*-substituídos (5a-b).

Submetidos à reação de hidrólise com ácido orgânico, os derivados *N*-substituídos (5a-b) geraram os compostos piridínicos hidrolisados (6a-b), estes foram ativados com cloreto de toсила para obtenção dos ésteres ácidos (7a-b).

Em paralelo, foram sintetizados os 2-amino-cicloalquil[*b*]tiofenos-3-carbonitrila (11a-c) e 2-amino-cicloalquil[*b*]tiofenos-3-etanoato de etila (11d-f) via reação de Gewald (GEWALD, 1965; GEWALD et al., 1966), que consiste na condensação multicomponente de uma cetona (8) ou aldeído acíclico (9), com compostos metilenos ativos (10a-b) e enxofre elementar em meio alcalino (Esquema 3).



Esquema 3: Síntese dos tiofenos substituídos por reação de Gewald.

4.1.2. Reagentes e solventes

Os reagentes e solventes utilizados na síntese dos compostos e para suas análises, pertencem às marcas Sigma/Aldrich, Acros, Merck, Vetec ou Quimis. São eles: cloreto de cálcio; diclorometano; clorofórmio; dimetilsulfóxido; etanol; *n*-hexano; 2,6-dicloro-3-nitropiridina; solução de *tert*-butóxido de potássio 1,0 M em tetrahydrofurano anidro; metanol; tolueno; enxofre elementar; hidreto de sódio; morfolina; *N*-metil-piperazina; metóxido de sódio; acetato de paládio II, 4,5-*bis*-(difenilfosfino)-9,9-dimetila (xantphos); carbonato de cézio; 2,2'-*bis*-(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo (BINAP); dioxano anidro; trietilamina; ácido clorídrico; ciclopentanona; ciclohexanona; cicloheptanona; malononitrila.

4.1.3. Comprovação das estruturas dos compostos sintetizados

Todos os novos compostos tiveram suas estruturas comprovadas através de diversos métodos físico-químicos, incluindo espectrometria de Infravermelho (IV), que foi realizada em aparelho FTIR Bruker IFS66, em pastilha de KBr; espectrofotometria de Ressonância

Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e de Carbono (RMN ^{13}C), utilizando espectrofotômetro Varian Modelo: Plus 200 MHz, e Plus 300/MHz, utilizou-se os solventes CDCl_3 e DMSO-D_6 . Os deslocamentos químicos (δ) foram reportados em ppm, utilizando tetrametilsilano (TMS) como referência interna. As constantes de acoplamento foram indicadas em Hz, e as multiplicidades dos sinais foram designadas como: simpleto (s); simpleto largo (sl); duplete (d); duplo duplete (dd); tripleto (t); duplo tripleto (dt); multiplete (m).

4.1.4. Caracterização físico-química

Todos os compostos tiveram suas características físico-químicas determinadas, que se fazem saber: cálculo do fator de retenção (R_f) por cromatografia em camada delgada; utilizando placas de sílica gel 60 Merck F254, de 0,25 mm de espessura revelada em luz ultravioleta (UV) no comprimento de onda (λ) de 366 e 254 nm ou através de vapores de iodo; determinação dos pontos de fusão utilizando aparelho Quimis, modelo 340.27; solubilidade; aparência dos cristais e rendimentos reacionais.

4.1.5. Procedimento de síntese

4.1.5.1. Procedimento de síntese do 2-(*tert*-butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3)

Em um balão de duas bocas, adicionou-se 1 mol do composto 2,6-dicloro-3-nitropiridina e 50 mL de tetrahydrofurano anidro. A reação foi mantida sob agitação e refluxo de 66° C. Após estabilização da temperatura adicionou-se gota a gota com seringa 1 mol da solução de *tert*-butóxido de potássio 1,0 M em tetrahydrofurano anidro. A partir dessa adição deixou-se reagir por 3 horas. Constatado término de reação por cromatografia em camada delgada, a solução foi extraída três vezes com acetato de etila. A fase orgânica foi lavada duas vezes com água destilada, seca sob CaCl_2 e concentrada em evaporador rotativo. O resíduo sólido obtido foi purificado por coluna cromatográfica.

4.1.5.2. Procedimento geral de síntese dos (2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocícloaminas (5a-b)

O derivados *N*-substituídos (2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocícloaminas (5a-b) foram obtidos através de quatro metodologias distintas.

4.1.5.2.1. Síntese da 1-(2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a) e 4-(2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-morfolina (5b) (Metodologia A)

Colocou-se em um balão de fundo redondo previamente seco e sob atmosfera inerte (argônio), uma suspensão de 2,5 mol de hidreto de sódio em 5 mL de tetrahydrofurano anidro. Em outro balão também previamente seco e sob atmosfera inerte (argônio), foram dissolvidos 1 mol do composto 2-(*tert*-butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3), e 1 mol de 1-metilpiperazina ou morfolina anidra em 5 mL de tetrahydrofurano anidro. Adicionou-se, muito lentamente, sob banho de gelo, com auxílio de uma seringa, o conteúdo do segundo balão sob o primeiro. Após o término da adição, o sistema reacional foi mantido a temperatura ambiente de 4 a 8 horas. Constatado término de reação por cromatografia em camada delgada, a reação foi neutralizada com solução de HCl 6 M até atingir pH 5-6. A solução foi extraída três vezes com diclorometano. A fase orgânica foi lavada duas vezes com água destilada, seca sob CaCl₂ e concentrada em evaporador rotativo. O resíduo obtido foi purificado por coluna cromatográfica.

4.1.5.2.2. Síntese da 1-(2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a) e 4-(2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-morfolina (5b) (Metodologia B)

Colocou-se em um balão de fundo redondo, previamente seco e sob atmosfera inerte (argônio), 1 mol da solução de metóxido de sódio 1,0 M em metanol e 1 mol de 1-metilpiperazina ou morfolina anidra em 2 mL de tetrahydrofurano anidro. Em outro balão também previamente seco e sob atmosfera inerte (argônio), foram dissolvidos 1 mol do composto 2-(*tert*-butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3) em 3 mL de tetrahydrofurano anidro. Adicionou-se, muito lentamente, sob banho de gelo, com auxílio de uma seringa, o conteúdo do segundo balão sob o primeiro. Após o término da adição, o sistema reacional foi mantido a temperatura ambiente de 4 a 8 horas. Constatado término de reação por cromatografia em camada delgada, a solução foi extraída três vezes com diclorometano. A fase orgânica foi lavada duas vezes com água destilada, seca sob CaCl₂ e concentrada em evaporador rotativo. O resíduo obtido foi purificado por coluna cromatográfica.

4.1.5.2.3. Síntese da 1-(2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a) e 4-(2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-morfolina (5b) (Metodologia C)

Em um balão de 50 mL previamente seco e sob atmosfera inerte (argônio) foram colocados 1 mol do composto 2-(*tert*-butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3) junto com 1 mol de 1-metilpiperazina ou morfolina anidra, tendo como solvente 10 mL dioxano anidro e como catalisadores 0,05 mol do acetato de paládio II, 0,1 mol do 4,5-bis-(difenilfosfino)-9,9-dimetila (xantphos) e 1,5 mol de carbonato de cézio. A reação foi mantida sob agitação a uma temperatura de 55° C em banho de óleo durante 20 a 24 horas. Constatado término de reação por cromatografia em camada delgada, a solução foi extraída três vezes com acetato de etila. A fase orgânica foi lavada duas vezes com água destilada, seca sob CaCl₂ e concentrada em evaporador rotativo. O resíduo sólido obtido foi purificado por coluna cromatográfica.

4.1.5.2.4. Síntese da 1-(2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a) e 4-(2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-morfolina (5b) (Metodologia D)

Em um balão de 50 mL previamente seco e sob atmosfera inerte (argônio) foram colocados 1 mol do composto 2-(*tert*-butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3) junto com 1 mol de 1-metilpiperazina ou morfolina anidra, tendo como solvente 10 mL dioxano anidro e como catalisadores 0,05 mol do acetato de paládio II, 0,1 mol do 2,2'-bis-(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo (BINAP) e 1,5 mol de carbonato de cézio. A reação foi mantida sob agitação a uma temperatura de 55° C em banho de óleo durante 20 a 24 horas. Constatado término de reação por cromatografia em camada delgada, a solução foi extraída três vezes com acetato de etila. A fase orgânica foi lavada duas vezes com água destilada, seca sob CaCl₂ e concentrada em evaporador rotativo. O resíduo sólido obtido foi purificado por coluna cromatográfica.

4.1.5.3. Procedimento geral de síntese dos 6-(cicloamina)-3-nitro-piridin-2-ol (6a-b)

Em balão de fundo redondo foram postos a reagir 1 mol do composto 1-(2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a) ou 4-(2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-morfolina (5b) junto com 20 mL de ácido fórmico, sob agitação, em temperatura ambiente por 30 minutos. Constatado o término da reação, o ácido foi evaporado por completo e o precipitado obtido foi lavado com quantidade mínima de água gelada.

4.1.5.4. Procedimento geral de síntese dos ésteres ácidos de 4-toluenosulfonila-6-(cicloamin-4-il)-3-nitropiridin-2-il (7a-b)

Em balão de fundo redondo foram postos a reagir 1 mol dos compostos 6-(cicloamina)-3-nitro-piridin-2-ol (6a-b) junto com o 1,1 mol de cloreto de tosilato, 1,1 mol de carbonato de potássio e 20 mL de acetonitrila, sob agitação, em temperatura de refluxo por 3 horas. Constatado o término da reação, o solvente foi evaporado por completo e o precipitado obtido foi extraído com acetato de etila/água, a fase orgânica foi tratada com sulfato de sódio, o solvente evaporado e o produto bruto purificado por coluna cromatográfica.

4.1.5.5. Procedimento geral de síntese dos 2-amino-cicloalquil[b]tiofenos-3-carbonitrila (11a-c) e 2-amino-cicloalquil[b]tiofenos-3-etanoato de etila (11d-f)

Foram postos a reagir em um balão de fundo redondo, 1 mol de cetona cíclica (ciclopentanona, ciclohexanona, cicloheptanona) ou propionaldeído, com 1 mol de malononitrila ou ciano acetato de etila e 1 mol enxofre, sob agitação em banho de gelo usando 100 mL de etanol como solvente. A essa mistura, foi adicionado 0,6 mol de morfolina gota a gota durante 30 min, o sistema foi deixado em banho de gelo por mais 20 minutos, e depois deixada à temperatura ambiente por 3 horas e 10 minutos. O balão reacional foi colocado no freezer por 2 horas, e os cristais obtidos foram filtrados e lavados com etanol gelado. A água mãe foi concentrada sob pressão reduzida a um terço do volume e resfriada. Os cristais obtidos foram filtrados e lavados novamente com quantidade mínima de etanol a frio.

4.2. RESULTADO E DISCUSSÃO

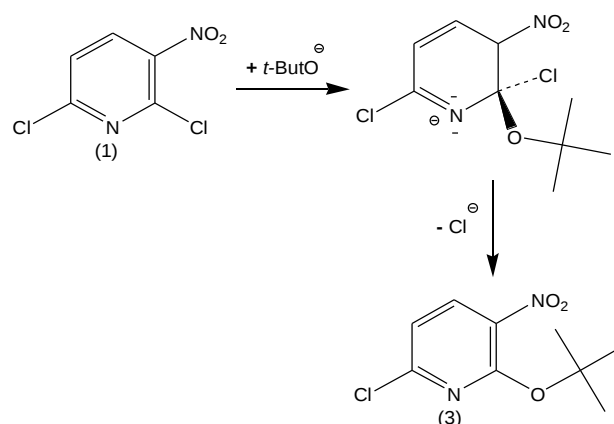
4.2.1. Mecanismos reacionais

4.2.1.1. Reação de Substituição Nucleofílica Aromática - 1ª Etapa

O mecanismo reacional para esta etapa de síntese foi iniciado pelo ataque nucleofílico do *tert*-butanolato de potássio (2) à molécula 2,6-dicloro-3-nitropiridina (1), na posição 2 do anel. Surge então, uma estrutura intermediária, que após eliminação do grupo retirante gera a 2-(*tert*-butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3), em tetrahidrofurano anidro.

Na piridina e derivados relacionados, sabe-se que a presença do átomo de nitrogênio gera uma deficiência eletrônica no anel, devido à maior eletronegatividade do nitrogênio em relação ao carbono. Esta deficiência favorece o ataque preferencialmente nos carbonos α e γ (menos facilmente no carbono β). Estudos de reatividade das halopiridinas indicam que o nucleófilo tem preferência pelos carbonos 2- e 4- (FIORI, 2010; STEFANI, 2009). Um fato que contribui para que a substituição ocorra no carbono 2, é a presença do grupo nitro ligado ao carbono 4 do anel. Este grupo é um forte retirador de elétrons que atua como orientador *meta* na molécula do substrato (SOLOMONS e FRYHLE, 2002; SHIMTH e MARCH, 2001). A deficiência eletrônica do anel leva a formação de um complexo aniônico, pois o nitrogênio pode facilmente estabilizar um estado de transição com um excesso de carga negativa. Essas características demonstram a tendência das halopiridinas serem excelentes reagentes para Substituição Nucleofílica Aromática pelo mecanismo de Adição-Eliminação. (HARPER, 2008; ISENMANN, 2013; CRAMPTON, 2003; COFFEY; KOLIS; MAY, 2002; FIORI, 2010).

Portanto, ocorre um processo em dois passos. Na primeira etapa (adição), dois elétrons do nucleófilo *tert*-butanolato de potássio (2), uma base forte, são utilizados para formar uma ligação *sigma* com o carbono 2 do anel na 2,6-dicloro-3-nitropiridina (1), levando a uma estrutura intermediária não aromática carregada negativamente. Nessa estrutura, os seis elétrons π do sistema aromático encontram-se deslocalizados nos cinco orbitais *p* dos átomos que permanecem com hibridização sp^2 . Na segunda etapa (eliminação), o cloro considerado bom grupo de saída é retirado, restabelecendo, dessa forma, a aromaticidade do sistema (Esquema 4) (SOLOMONS e FRYHLE, 2002; SHIMTH e MARCH, 2001; CAREY e SUNDBERG 2007; ISENMANN, 2013; STEFANI, 2009).



Esquema 4: Mecanismo de obtenção da 2-(*tert*-butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3).

4.2.1.2. Reação de Buchwald e Substituição Nucleofílica Aromática - 2ª Etapa

A presença de um grupo volumoso, *tert*-butóxido, no C2 da piridina dessimetrizada (3) orientou o acoplamento das aminas cíclicas (4a-b) na posição 6 dessa molécula. Portanto, os compostos (2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocícloaminas (5a-b) puderam ser obtidos via reação de Buchwald e, alternativamente, por reação de Substituição Nucleofílica Aromática, possibilitando breve estudo comparativo entre as metodologias.

Nas reações de Buchwald foram empregados ligantes do tipo fosfina 4,5-bis-(difenilfosfino)-9,9-dimetila (xantphos) e 2,2'-bis-(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo (BINAP), acetato de paládio II, carbonato de cézio, em dioxano anidro, sob atmosfera inerte (argônio). Nas reações em que o ligante utilizado foi o BINAP, houve formação dos compostos com rendimentos mais altos (entre 57,5 e 86,0%) quando confrontados com os resultados obtidos pelo uso do ligante xantphos. Esse último gerou os compostos *N*-substituídos (5a-b) com menores rendimentos, entre 39,04 e 62,02%. Em contraste com a utilização do BINAP, as reações com o uso do xantphos necessitaram de uma hora a mais para formação dos compostos (5a-b) acompanhados por seis subprodutos com estruturas químicas não identificadas (Tabela 4).

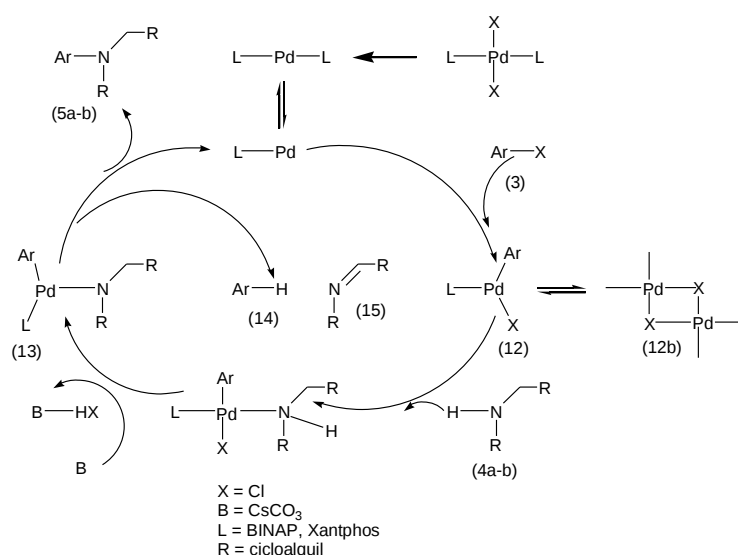
Tabela 4: Comparativo das metodologias utilizadas na obtenção dos (2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocícloaminas (5a-b), reação de Buchwald.

Produto	1-(2-<i>tert</i>-Butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a)	4-(2-<i>tert</i>-Butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-morfolina (5b)
Reagente	1-metilpiperazina/AcOPd/xantphos /Cs ₂ CO ₃ /dioxano (seco)	morfolina/AcOPd/xantphos/Cs ₂ CO ₃ /dioxano (seco)
Eq/mL	1/0,05/0,1/1,5/10	1/0,05/0,1/1,5/10
Tempo	24h	23h
Rdt(%)	62,02	39,04
Subproduto	6 (não identificados)	6 (não identificados)
Purificação	Extração/Coluna (<i>n</i> -hexano/AcOEt 9:1)	Extração/Coluna (<i>n</i> -hexano/AcOEt 9:1)
Reagente	1-metilpiperazina/AcOPd/BINAP/ Cs ₂ CO ₃ /dioxano (seco)	morfolina/AcOPd/BINAP/Cs ₂ CO ₃ /dioxano (seco)
Eq/mL	1/0,05/0,1/1,5/10	1/0,05/0,1/1,5/10
Tempo	26h45min	27h45min
Rdt(%)	86	57,5
Subproduto	4 (não identificados)	4 (não identificados)
Purificação	Extração/Coluna (<i>n</i> -hexano/AcOEt 9:1)	Extração/Coluna (<i>n</i> -hexano/AcOEt 9:1)

Uma provável explicação para os menores rendimentos nas reações em que foi utilizado o xantphos, seria o fato deste último favorecer a eliminação β -hidreto, de modo mais efetivo que o BINAP, gerando maior quantidade de subprodutos e, consequentemente, menores rendimentos reacionais (VAN DER EYCKEN et al., 2009; MARTINELLI et al., 2008; PASTRE e CORREIA, 2008), como sugere a elucidação do mecanismo a seguir descrita.

O mecanismo reacional das reações de Buchwald, onde o catalisador divalente Pd^2 é reduzido à espécie ativa Pd^0 e estabilizada pelo ligante fosfina (L), tem seu ciclo catalítico iniciado pela ligação entre o paládio e o ligante fosfina (Pd-L), sem um ligante. Em seguida, a piridina dessimetrizada (3) coordenada ao paládio, por adição oxidativa, forma uma estrutura intermediária (12), que está em equilíbrio químico com as espécies diméricas (12b).

Em seguida, um átomo de haleto é substituído pelo nitrogênio das aminas cíclicas (4a-b). O carbonato de cério, como base forte, é necessário para retirar prótons da amina e levar para a estrutura intermediária (13). Este intermediário (13) tanto gera os compostos (2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocicloaminas (5a-b) desejados, por eliminação redutiva, quanto os compostos indesejados areno (14) e imina (15) por eliminação β -hidreto. Em ambos os casos, as espécies (Pd-L) são liberadas para começar um novo ciclo catalítico (Esquema 6) (NICHELE, 2007; NOBRE, 2008; SOUZA, 2012; KLINGENSMITH, 2005; YANG e BUCHWALD, 1999).



Esquema 5: Mecanismo de obtenção dos compostos (2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocicloaminas (5a-b) via reação de Buchwald.

Alternativamente, os compostos (2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocicloaminas (5a-b) foram produzidos por reações de substituição nucleofílica aromática. Para tanto, foram

empregadas as bases hidreto de sódio e metóxido de sódio (solução 1,0 M em metanol), tetrahidrofurano anidro, sob atmosfera inerte (argônio).

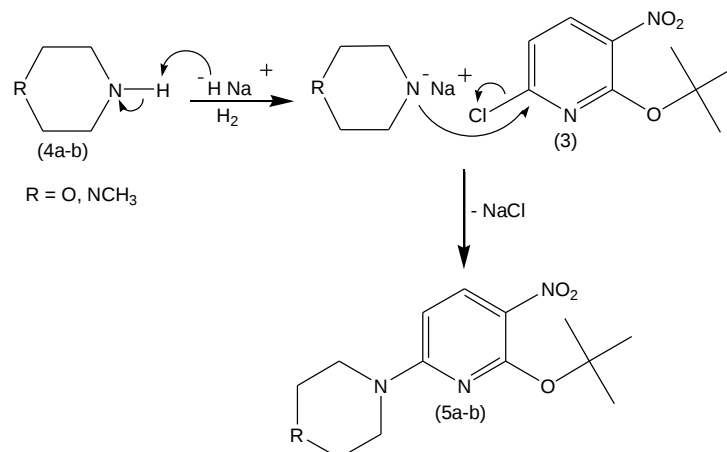
As reações em que a base de escolha foi o hidreto de sódio, os compostos (2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocícloaminas (5a-b) foram gerados com rendimentos entre 32,0 e 83,64%. No entanto, nas reações em que foi utilizada a solução de metóxido de sódio 1,0 M em metanol, sob as mesmas condições metodológicas anteriormente descritas, não ocorreu formação dos compostos intermediários desejados. Posteriormente, foram executados ajustes nas condições reacionais (temperatura, tempo de reação, concentração molar dos reagentes), porém sem sucesso (Tabela 5).

Tabela 5: Comparativo das metodologias utilizadas na obtenção dos compostos (2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocícloaminas (5a-b), reação de Substituição Nucleofílica Aromática.

Produto	1-(2-<i>tert</i>-Butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a)	4-(2-<i>tert</i>-Butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-morfolina (5b)
Reagente	1-metilpiperazina /NaH/THF (seco)	morfolina /NaH/THF (seco)
Eq/mL	1/1,5/10	1/1,5/10
Tempo	24h	48h
Rdt(%)	83,64	32
Subproduto	4 (não identificados) 1(reagente)	4 (não identificados) 1(reagente)
Purificação	Extração/Coluna (<i>n</i> -hexano/AcOEt 9:1)	Extração/Coluna(<i>n</i> -hexano/AcOEt9:1)
Reagente	1-metilpiperazina /MeONa/THF (seco)	morfolina/MeONa/THF (seco)
Eq/mL	1/1/5	1/1/5
Tempo	8h	8h
Rdt(%)	Não funcionou	Não funcionou
Subproduto	3 (não identificados)	3 (não identificados)
Purificação	Evaporação de solvente	Evaporação de solvente

Uma provável explicação para o insucesso dessa reação seria a força da base. O hidreto de sódio seria mais efetivo que o metóxido de sódio, na retirada de um próton das aminas (4a-b), tornando-as, assim, um nucleófilo mais potente para iniciar à etapa crucial do mecanismo de obtenção dos compostos (5a-b).

Assim, o mecanismo foi iniciado quando a base promoveu a desprotonação das aminas (4a-b), formando um sal sódico *in situ*, com aumento do caráter nucleofílico. Essas aminas, portanto, atuaram como nucleófilo mais duro, promovendo, assim, o ataque ao intermediário piridínico dessimetrizado (3). Esse fato levou à substituição do halogênio pela amina, com a geração dos compostos (2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocícloaminas (5a-b) (Esquema 6) (CAREY e SUNDBERG, 2007, DAVID et al., 2005).



Esquema 6: Mecanismo de obtenção das moléculas (2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocicloaminas (5a-b) por reação de Substituição Nucleofílica Aromática.

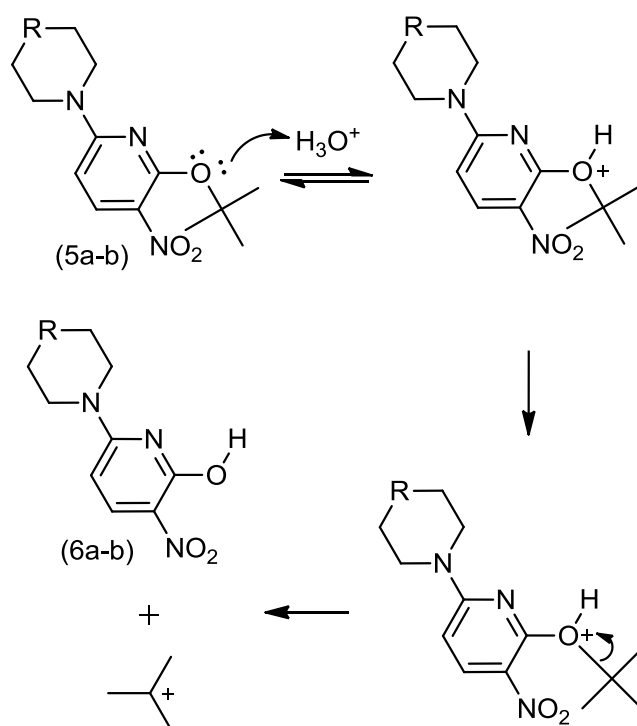
Dentre as quatro diferentes estratégias empregadas para obtenção dos compostos (2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocicloaminas (5a-b), a mais efetiva foi a que utiliza o ligante fosfina BINAP pela metodologia de Buchwald, quando se considera o rendimento reacional. Entretanto, quando se analisa o tempo reacional, a formação de subprodutos e os custos, a utilização do hidreto de sódio na reação de Substituição Nucleofílica Aromática, se mostra como uma boa alternativa para esta etapa da rota sintética, apesar de levar a rendimentos reacionais ligeiramente menores.

Esses resultados também mostram que as reações com a 1-metilpiperazina, para a substituição na posição 6 do anel piridínico, geraram os compostos (5a-b) com maiores rendimentos reacionais independente da metodologia utilizada, portanto, esta heterocicloamina se revelou um nucleófilo mais potente que a morfolina.

4.2.1.3. Catálise ácida - 3ª Etapa

Nesta etapa o grupo *tert*-butila das moléculas (2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocicloaminas (5a-b) é removido por meio de catálise ácida, empregando ácido fórmico para fornecer os derivados 6-(cicloamina)-3-nitro-piridin-2-ol (6a-b).

O mecanismo dessa reação é iniciado pela formação do cátion oxônio a partir do equilíbrio entre os compostos *N*-substituídos (5a-b) e o ácido fórmico. Em seguida, são gerados os compostos piridínicos hidrolisados (6a-b) e o cátion *tert*-butila (Esquema 7) (SOUZA, P. J. F., 2012).

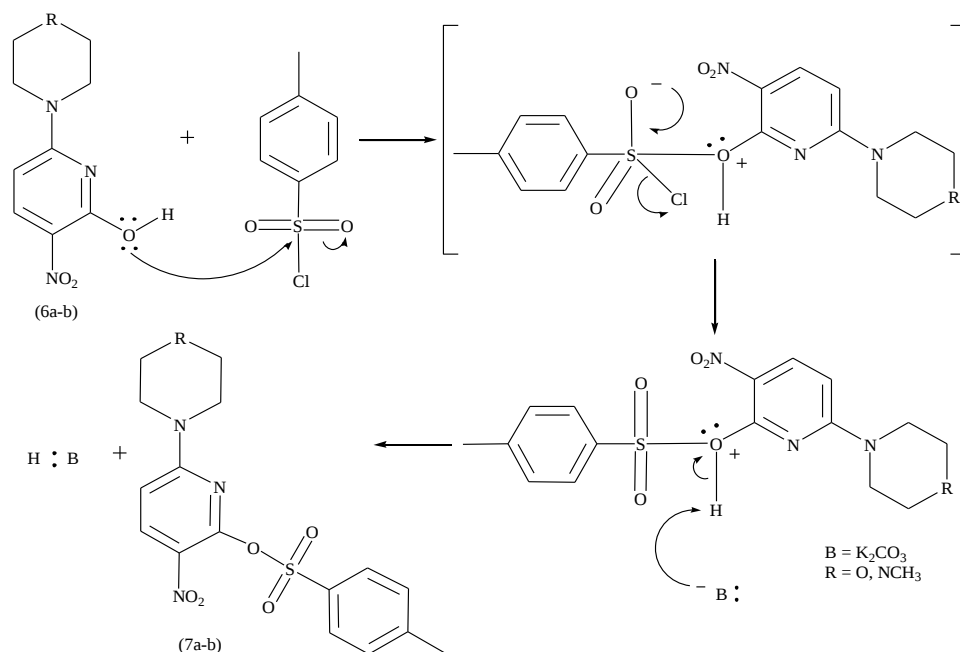


Esquema 7: Mecanismo de obtenção dos compostos 6-(cicloamina)-3-nitro-piridin-2-ol (6a-b).

4.2.1.4. Ativação - 4ª Etapa

O cloreto de tosila é um ácido clorado, muito usado para criar ésteres do ácido tosílico, a partir de álcoois. Ele torna os álcoois mais reativos à substituição (ALMEIDA, 2009). A troca do hidrogênio da hidroxila dos compostos 6-(cicloamina)-3-nitro-piridin-2-ol (6a-b) pelo grupo tosila torna o carbono 2 mais deficiente de elétrons, ficando assim com caráter duro segundo a definição de Pearson (FRANÇA et al, 2014).

A reação é iniciada pelo ataque nucleofílico do oxigênio, do derivado piridínico hidrolisado (6a-b), ao carbono polarizado do cloreto de tosila, em seguida ocorre a desprotonação, pelo ataque da base, e a saída do cloro para posterior formação do éster ácido de 4-toluenosulfonila-6-(cicloamin-4-il)-3-nitropiridin-2-il (7a-b) (Esquema 8) (CAREY e SUNDBERG, 2007, SOLOMONS, 2002, SHIMTH e MARCH, 2001).



Esquema 8: Mecanismo de obtenção dos ésteres ácidos de 4-toluenosulfonila-6-(cicloamin-4-il)-3-nitropiridin-2-il (7a-b).

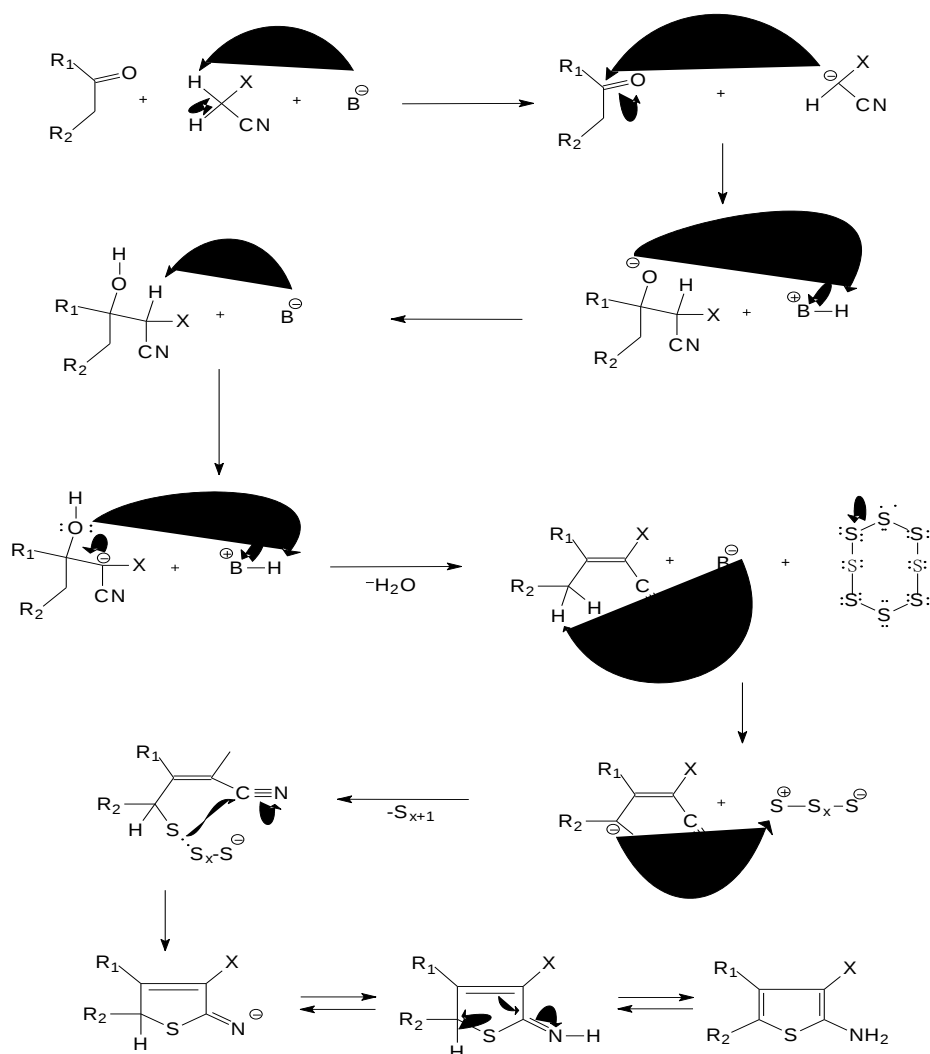
A ativação com cloreto de tosila é bastante relatada na literatura onde é possível observar o uso de diversas bases para promover a etapa de desprotonação. Em 2009, Almeida descreveu a ativação de compostos hidroxilados pelo uso de solução levemente aquecida de cloreto de tosila em éter dietílico, etilenoglicol e trietilamina, em refluxo por 12 horas. França em 2014 realizou a mesma ativação utilizando como reagentes o cloreto de tosila, carbonato de sódio e acetona como solvente, em ultrassom. Para transformar o grupo 3- β -OH em um bom grupo abandonador por tosilação Gárate et al, em 1998, empregaram piridina, tratada com KOH e destilada, e cloreto de tosila sob agitação por 24 horas à temperatura ambiente.

A metodologia aplicada na ativação dos derivados piridínicos hidrolisados (6a-b) fez uso de cloreto de tosila, carbonato de potássio e acetonitrila, sob agitação, em temperatura de refluxo por 3 horas. Esta foi escolhida por apresentar procedimento reacional mais simples e rápido em comparação com as já descritas, porém, por razões ainda não elucidadas, não obtivemos o produto esperado com sucesso, apesar das modificações metodológicas realizadas posteriormente. Inicialmente, essas modificações compreenderam aumento da concentração da base utilizada, bem como tempo reacional. Apesar disso, o produto esperado não foi obtido novamente, a partir de então, foram empregadas as metodologias encontradas na literatura tais como as que utilizam como base o carbonato de sódio (FRANÇA, 2014), a trietilamina (ALMEIDA, 2009), a piridina (GÁRATE et al, 1998), descritas anteriormente.

Porém, os resultados obtidos nos dados dos espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H), realizado após as sínteses, indicaram que os compostos sintetizados não correspondiam à estrutura planejada.

4.2.1.5. Reação de Gewald

A primeira etapa do mecanismo dessa reação, é a condensação de Knoevenagel onde a base, morfolina, ataca o carbono metilênico da malononitrila, retirando um hidrogênio, formando, assim, um carbânion que logo se liga a cetona com eliminação de água gerando então uma nitrila α,β -insaturada (Esquema 9).



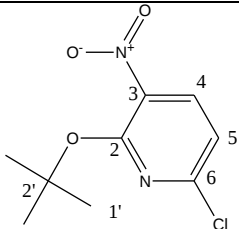
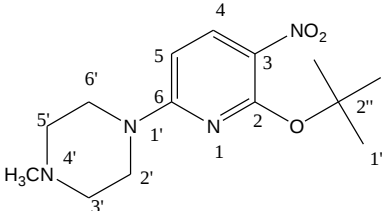
Esquema 9: Mecanismo de obtenção dos 2-amino-cicloalquil[b]tiofenos-3-carbonitrila (11a-c) e 2-amino-cicloalquil[b]tiofenos-3-etanoato de etila (11d-f).

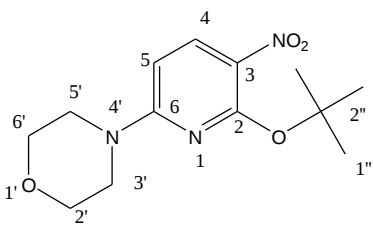
Na segunda etapa, este intermediário perde inicialmente um próton (o mais ácido - α à carbonila) por ação da base e novamente um carbânion é formado. Este intermediário se liga ao enxofre elementar (S_8), que cicliza por ataque nucleofílico do enxofre ao carbono da nitrila, e que, com a perda do segundo próton, seguido pela estabilização por ressonância, fornece os tiofenos substituídos (11a-f) (BALAMURUGAN, 2009).

2.2. Caracterização estrutural dos compostos sintetizados

Todos os compostos obtidos tiveram suas estruturas caracterizadas através de diferentes técnicas: espectroscopia de RMN 1H , RMN ^{13}C , IV. Os resultados dessas análises confirmaram as estruturas propostas, em cada etapa reacional até a obtenção dos produtos da terceira reação. A tabela 6 mostra os dados espectroscópicos de RMN 1H , RMN ^{13}C e IV da 6-cloro-2-(*tert*-butóxi)-3-nitro-piridina (3), obtida na primeira etapa reacional através de reação de substituição nucleofílica aromática; e também os dados das mesmas análises realizadas nos derivados (2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocícloaminas (5a-b), que puderam ser produzidos por reação de Buchwald, e por uma metodologia alternativa, através da reação de Substituição Nucleofílica Aromática na segunda etapa da rota sintética.

Tabela 6: Dados espectroscópicos de RMN 1H , RMN ^{13}C e IV da 6-cloro-2-(*tert*-butóxi)-3-nitro-piridina (3), derivados (2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocícloaminas (5a-b).

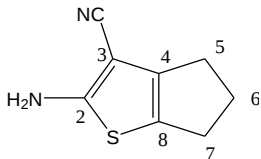
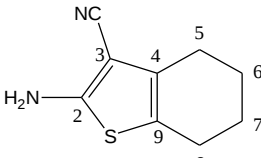
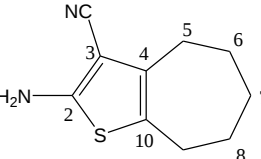
Estrutura Molecular	RMN 1H (300MHz, $CDCl_3$) δ / RMN ^{13}C (300MHz, $CDCl_3$) δ / IV (ν cm^{-1} KBr)
	1,65 (s, 9H, $-C(CH_3)_3$); 6,94 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz, <u>H-4</u>); 8,13 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz, <u>H-5</u>). 28,4 (CI'), 85,6 (CNO_2), 115,6 ($C5$), 136,8 ($C4$), 151,5 (CCl), 155,4 ($C2$). 2967 e 765 (CH), 1593 (C=C), 1523 e 1300 (N=O), 1435 (C=N), 1366 e 952 (C-H), 1158 (CCl).
	1,57 (s, 9H, $-C(CH_3)_3$); 2,20 (s, 3H, $N-CH_3$); 2,38 (t, 4H, $J = 9,9$ Hz, $J = 5,1$ Hz, $J = 4,8$ Hz, <u>H-2'</u> e <u>H-6'</u>); 3,66 (t, 4H, $J = 9,6$ Hz, $J = 5,1$ Hz, $J = 4,5$ Hz, <u>H-3'</u> e <u>H-5'</u>); 6,46 (d, 1H, $J = 9,3$ Hz, <u>H-4</u>); 8,14 (d, 1H, $J = 9,3$ Hz, <u>H-5</u>). 28,3 (CI''), 44,6 (CNR_2), 45,5 ($C2''$), 54,1 ($C3'$) e ($C5'$), 81,9 ($C2'$) e ($C6'$), 98,7 ($C6$), 122,7 (CNO_2), 137,5 ($C2$), 156,4 ($C3$), 158,1 ($C4$). 2974 e 762 (CH), 2932 (C-H), 2803 e 1167 (N-C), 1601 (C=C), 1500 e 1319 (N=O), 1418 (C=N), 905 (C-H).

	1,58 (s, 9H, $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$); 2,49-2,51 (m, 4H, $\text{H-2}'$ e $\text{H-6}'$); 3,63-3,72 (m, 4H $\text{H-3}'$ e $\text{H-5}'$); 6,48 (d, 1H, $J = 9,0$ Hz H-4); 8,18 (d, 1H, $J = 8,7$ Hz H-5).
	2981 e 769 (CH), 1255 (N-C), 1590 (C=C), 1487 e 1317 (N=O), 1365 (C=N), 1121 (C-O).

Todos dados espectroscópicos acima descritos, confirmam a substituição do átomo de cloro na posição 2 do anel piridínico pelo grupo *tert*-butóxi, na estrutura da 6-cloro-2-(*tert*-butóxi)-3-nitro-piridina (3), assim como comprovam a estrutura proposta para os derivados (2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)heterocícloaminas (5a-b), onde é possível visualizar os sinais característicos das aminas heterocíclicas, que substituíram o átomo de cloro na posição 6 do composto 6-cloro-2-(*tert*-butóxi)-3-nitro-piridina (3).

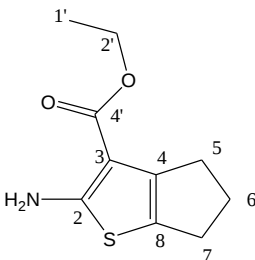
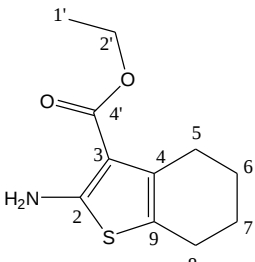
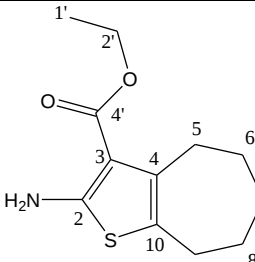
A tabela 7 expõe os dados obtidos como resultado das análises espectroscópicas de RMN ^1H , RMN ^{13}C e IV realizadas nos derivados 2-amino-cicloalquil[b]tiofenos-3-carbonitrila (11a-c), evidenciando a comprovação das estruturas propostas, principalmente pela presença dos sinais característicos dos grupos NH_2 e CN, além dos sinais característicos do anel tiofeno e dos grupos cicloalquil a estes acoplados.

Tabela 7: Dados espectroscópicos de RMN ^1H , RMN ^{13}C e IV dos derivados 2-amino-cicloalquil[b]tiofenos-3-carbonitrila (11a-c).

Estrutura Molecular	RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) δ / RMN ^{13}C (300MHz, CDCl_3) δ / IV (ν cm^{-1} KBr)
	2,30-2,41 (m, 2H, H-6); 2,64-2,78 (m, 4H, H-5 , H-7); 4,62 (sl, 2H, NH_2).
	27,3 (C5), 28,4 (C6) 29,3 (C7), 84,6 (C3), 115,6 (CN), 125,2 (C2), 141,9 (C4), 165,2 (C8).
	3436 e 3335 (N-H), 2954,2915 e 2857 (CH,CH ₂), 2193 (C $\equiv$ N), 1616 (C=C).
	1,73-1,80 (m, 4H, H-6 , H-7); 2,44-2,50 (m, 4H, H-5 , H-8); 4,63 (sl, 2H, NH_2).
	22,0 (C5), 23,3 (C6), 24,0 (C7), 24,4 (C8), 88,6 (CN), 115,4 (C4), 120,5 (C9), 132,2 (C3), 159,9 (C2).
	3446 e 3328 (N-H), 2955, 2930, 2910 e 2836 (CH,CH ₂), 2197 (C $\equiv$ N), 1616 (C=C).
	1,59-1,66 (m, 4H, H-6 , H-8); 1,75-1,83 (m, 2H, H-7); 2,53-2,63 (m, 4H, H-5 , H-9); 4,46 (sl, 2H, NH_2).
	27,2 (C5), 28,0 (C6), 29,1 (C7), 29,4 (C8), 31,9 (C9), 76,8 (C3), 115,8 (CN), 123,8 (C10), 136,9 (C4), 157,8 (C2).
	3443 e 3311 (N-H), 2926 e 2838 (CH,CH ₂), 2201 (C $\equiv$ N), 1622 (C=C).

Já na tabela 8, estão os dados espectroscópicos de RMN ^1H , RMN ^{13}C e IV efetuados nos derivados 2-amino-cicloalquil[b]tiofenos-3-etanoato de etila (11d-f). Neles, além dos sinais característicos do anel tiofeno e dos grupos cicloalquil a estes acoplados, são encontrados os sinais característicos do grupo éster, presente na posição 3 do dito anel. Esses dados confirmam o êxito na obtenção desses derivados.

Tabela 8: Dados espectroscópicos de RMN ^1H , RMN ^{13}C e IV dos derivados 2-amino-cicloalquil[b]tiofenos-3-etanoato de etila (11d-f).

Estrutura Molecular	RMN ^1H (300MHz, CDCl_3) δ / RMN ^{13}C (300MHz, CDCl_3) δ / IV (ν cm^{-1} KBr)
	1,32 (t, 3H, $J = 13,8$, $J = 6,9$, $\underline{\text{CH}_3}$); 2,26-2,35 (m, 1H, $\underline{\text{H-6}}$); 2,68-2,72 (m, 2H, $\underline{\text{H-5}}$); 2,79-2,85 (m, 2H, $\underline{\text{H-7}}$); 4,25 (dd, 2H, $J = 14,4$, $J = 7,2$, $\underline{\text{H-2'}}$); 5,40 (sl, 1H, $\underline{\text{NH}}$). 14,1-14,3 (C1); 25,0 (C6); 26,5 (C8); 27,1 (C7); 59,3 (C2); 115,5 (C10); 121,2 (C5); 142,5 (C9); 161,6(C3). 1643 (C=O); 3295 e 3414 (N-H); 1494 e 1265 (C-H); 1038 (C=O).
	1,33 (t, 3H, $J = 14,0$, $J = 7,2$, $\underline{\text{CH}_3}$); 1,74-1,81 (m, 4H, $\underline{\text{H-6}}$ e $\underline{\text{H-7}}$); 2,49 (sl, 2H, $\underline{\text{H-5}}$); 2,69-2,71 (m, 2H, $\underline{\text{H-8}}$); 4,25 (dd, 2H, $J = 14,4$, $J = 7,2$, $\underline{\text{H-2'}}$); 5,74 (sl, 1H, $\underline{\text{NH}}$). 14,3 (C1); 26,8 (C5); 27,7 (C9); 28,5 (C7); 26,1 (C8); 26,3 (C6); 59,5 (C2); 107,4 (C11); 121,2 (C10); 159,8 (C3). 1651 (C=O); 3398 e 3301 (N-H); 1481 e 1277 (C-H); 1024 (C=O).
	1,34 (t, 3H, $J = 6,9$, $J = 14,1$, $\underline{\text{CH}_3}$); 1,56-1,66 (m, 2H, $\underline{\text{H-6}}$ e $\underline{\text{H-8}}$); 1,77-1,82 (m, 2H, $\underline{\text{H-7}}$); 2,55-2,58 (m, 2H, $\underline{\text{H-5}}$); 2,95-2,98 (m, 2H, $\underline{\text{H-9}}$); 4,27 (dd, 2H, $J = 14,1$, $J = 7,2$, $\underline{\text{H-2'}}$); 5,57 (sl, 1H, $\underline{\text{NH}}$). 14,3 (C1); 26,8 (C5); 27,7 (C9); 28,5 (C7); 26,1 (C8); 26,3 (C6); 59,5 (C2); 107,4 (C11); 121,2 (C10); 159,8 (C3). 1651 (C=O); 3398 e 3301 (N-H); 1481 e 1277 (C-H); 1024 (C=O).

Nas seções seguintes são discutidos, de forma mais detalhada, alguns exemplos representativos dos espectros gerados nas análises de RMN ^1H , RMN ^{13}C e IV, realizados em cada uma das etapas reacionais.

4.2.2.1. Espectroscopia RMN ^1H

4.2.2.1.1. 2-(*tert*-Butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3)

Na primeira etapa da rota sintética a 2,6-dicloro-3-nitropiridina reagiu *tert*-butóxido de potássio por Substituição Nucleofílica Aromática com o objetivo de colocar no carbono 2 do anel piridínico um grupo protetor. A piridina dessimetrizada foi obtida com sucesso, como mostra os sinais do espectro de hidrogênio da figura 4.

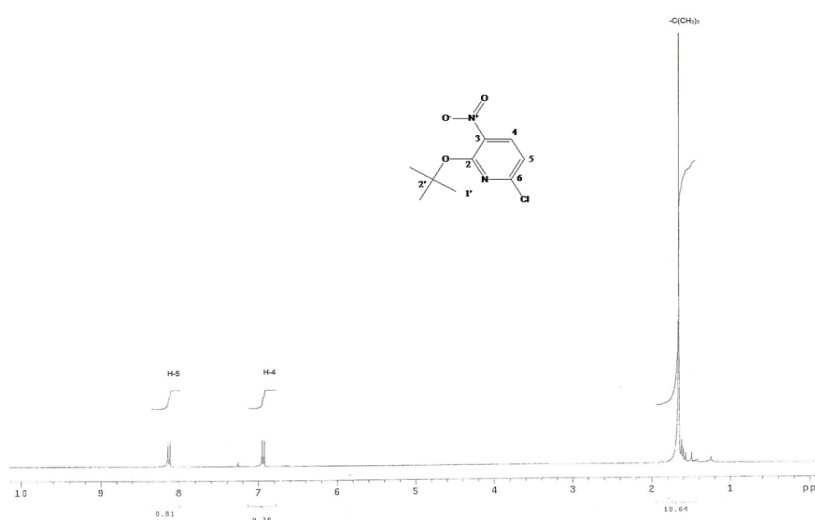


Figura 4: Espectro de RMN¹H da molécula 2-(*tert*-butóxi)-6-cloro-3-nitropiridina (3).

Nele é possível ver um singlete largo em δ 1,65 com integração correspondente a nove hidrogênios referente ao grupo *tert*-butóxi. Ainda há a presença de dois dubletos em δ 6,94 e 8,13 com integração para um hidrogênio e constantes de acoplamento de 8,4 e 8,1 Hz, correspondente aos hidrogênios 4 e 5, respectivamente.

4.2.2.1.2. 1-(2-*tert*-Butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a)

Nessa etapa da rota sintética houve retirada do átomo de cloro e entrada de amina heterocíclica na posição 2 do anel piridínico. A estrutura para esta molécula foi confirmada pelo surgimento de dois tripletos em região blindada do espectro (Figura 5).

Os tripletos em δ 2,38 e 3,66 possuem área de integração para quatro hidrogênios, cada uma, com constantes de acoplamentos iguais a 9,9, 5,1, 4,8 Hz e 9,6, 5,1, 4,5 Hz relacionada aos hidrogênios equivalentes 2', 6' e 3', 5'. Junto aos deslocamentos mencionados está o singlete em δ 2,2 com área de integração para três hidrogênios do grupo metil na posição *para* da amina heterocíclica, além do singlete em região blindada correspondente ao grupo protetor 6-*tert*-butóxi.

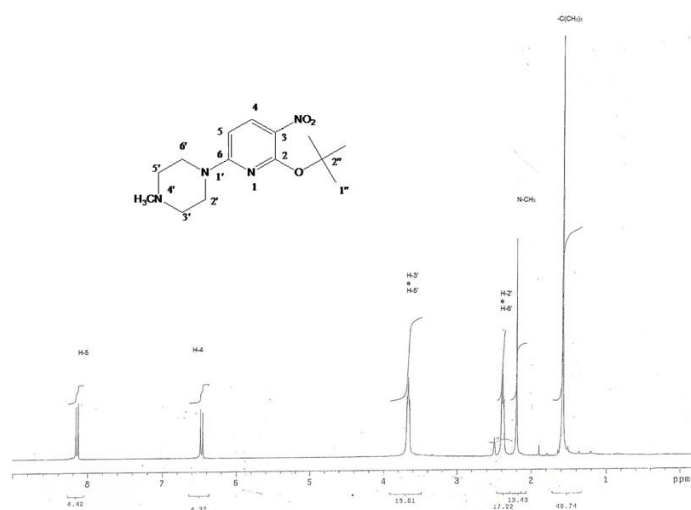


Figura 5: Espectro de RMN¹H da molécula 1-(2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a).

4.2.2.1.3. 2-Amino-5,6-diidro-4*H*-ciclopenta[*b*]tiofeno-3-carbonitrila (11a)

No espectro de RMN ¹H do composto (11a), ilustrado na figura 6, é possível a observação de um singlete largo localizado a 4,62 ppm, com integração para dois hidrogênios referente ao grupo NH₂. Os hidrogênios H-5, H-7 se apresentaram com sinais sobrepostos, com aparência de multipeto, com deslocamento químico variando entre 2,64-2,78 ppm. O hidrogênio H-6 também aparece como multipeto, em campo um pouco mais alto (2,30-2,41 ppm).

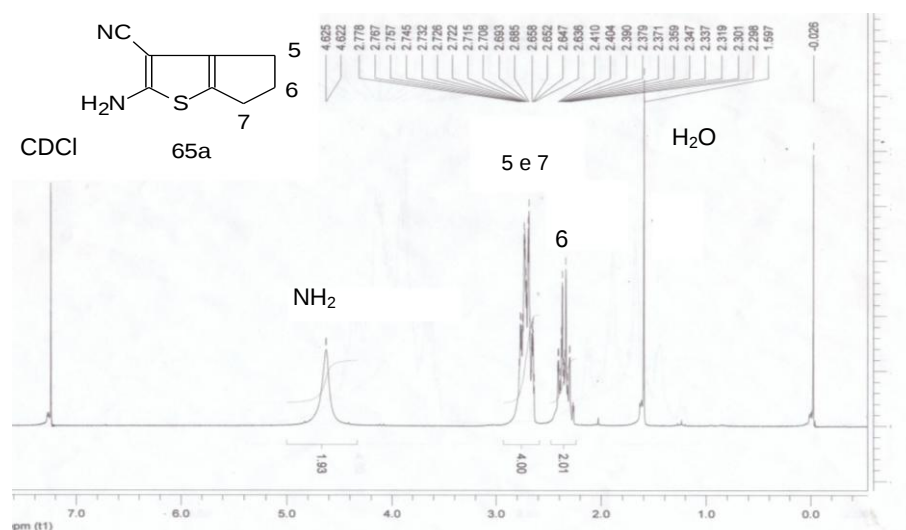


Figura 6: Espectro de RMN ¹H da molécula 2-amino-5,6-diidro-4*H*-ciclopenta[*b*]tiofeno-3-carbonitrila (11a).

4.2.2.2. Espectroscopia RMN ¹³C

4.2.2.2.1. 2-(*tert*-Butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3)

O espectro da figura 7 mostra os picos característicos de carbonos aromáticos não substituídos em δ 115 e 136 correspondente aos carbonos 4 e 5, e os carbonos aromáticos substituídos em δ 85, 151 e 155 referente aos carbonos quaternários 3, 6 e 2, do anel piridínico. Em área blindada está um sinal alto em δ 28,3 característico de carbono primário referente aos três carbonos equivalentes do grupo *tert*-butóxi, além do sinal característico de carbono quaternário, desse mesmo grupo, em δ 28,7.

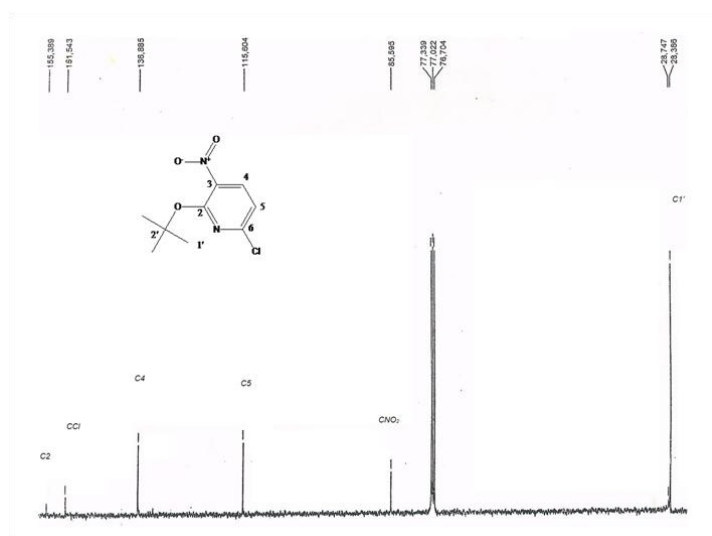


Figura 7: Espectro de RMN ^{13}C da molécula 2-(*tert*-butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3).

4.2.2.2.2. 1-(2-*tert*-Butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a)

A molécula 2-(*tert*-butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3) foi submetida à reação de substituição nucleofílica aromática com aminas heterocíclicas.

No espectro da figura 8 além dos picos dos carbonos do anel piridínico em δ 115, 136 e 85, 151, do sinal alto em δ 28,3 do grupo *tert*-butóxi e ainda o sinal do carbono quaternário, desse mesmo grupo, em δ 28,7. Está visível o surgimento dos picos em δ 54,1 e 81,9 referente aos carbonos equivalentes 3', 5' e 2', 6' do grupo 4-metil-piperazinil e o pico de carbono primário em região blindada δ 44,6 referente ao grupo *p*-CH₃. Os dados acima confirmam a estrutura da molécula desejada.

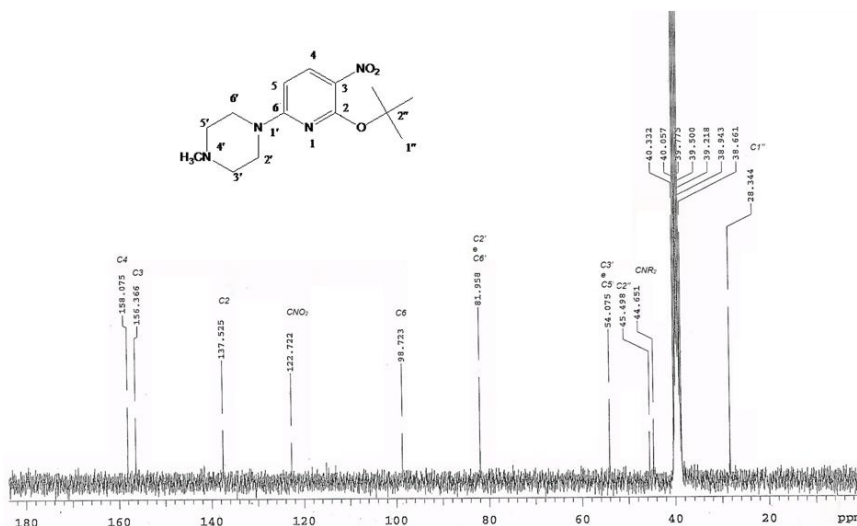


Figura 8: Espectro de RMN ^{13}C da molécula 1-(2-*tert*-butoxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a).

4.2.2.2.3. 2-Amino-5,6-diidro-4*H*-ciclopenta[*b*]tiofeno-3-carbonitrila (11a)

Os principais sinais observados no espectro de RMN ^{13}C para a molécula 2-amino-5,6-diidro-4*H*-ciclopenta[*b*]tiofeno-3-carbonitrila (11a) foram os deslocamentos químicos dos carbonos do heterociclo (tiofenos) e os carbonos metilênicos, que apareceram entre 76,8-165,2 ppm e 22,0-31,9 ppm, respectivamente. Os carbonos do anel tiofeno ligados aos grupos CN e NH_2 aparecem entre 115,4-115,8 ppm e 157,7-165,2 ppm respectivamente (Figura 9).

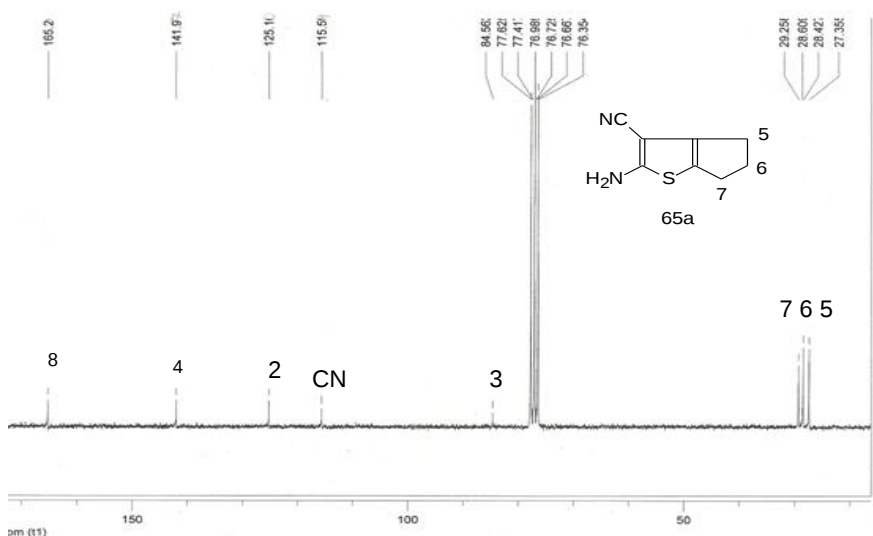


Figura 9: Espectro de RMN ^{13}C da molécula 2-amino-5,6-diidro-4*H*-ciclopenta[*b*]tiofeno-3-carbonitrila (11a).

4.2.2.3. Espectroscopia de Infravermelho

4.2.2.3.1. 2-(*tert*-Butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3)

Nesse espectro é possível encontrar as bandas referentes ao anel piridínico com vibrações de deformação axial e angular fora do plano em 2967 e 765 cm^{-1} características de C-H aromático e vibrações de deformação axial em 1593 e 1435 cm^{-1} referente a C=C e C=N do esqueleto. Quanto às vibrações provocadas pelos grupos substituintes na piridina, podem-se verificar duas bandas de deformação axial e angular em 1366 e 952 cm^{-1} , respectivamente, correspondentes ao C-H de *tert*-butóxi. Bandas de deformação axial assimétrica e simétrica em 1523 e 1300 cm^{-1} , respectivamente, correspondente a N=O de grupo nitro aromático. Por fim a banda de deformação axial em 1158 cm^{-1} , correspondente a CCl (Figura 10).

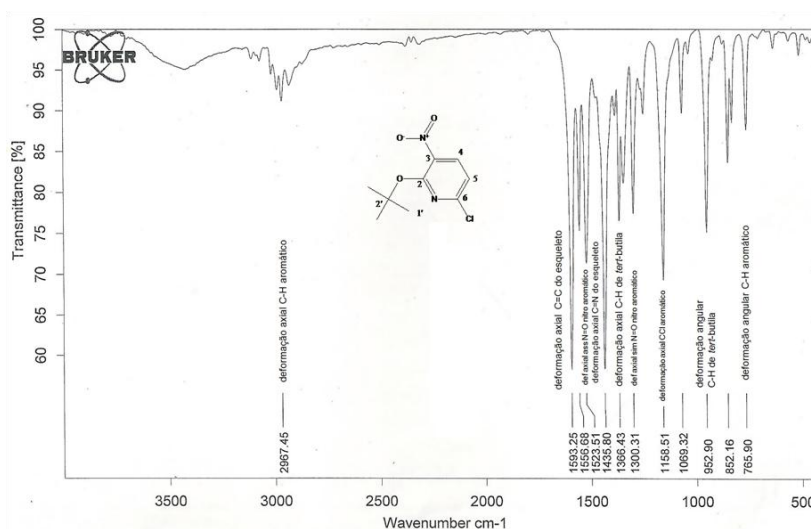


Figura 10: Espectro de infravermelho da molécula 2-(*tert*-butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3).

4.2.2.3.2. 1-(2-*tert*-Butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a)

Como mencionado anteriormente a molécula 1-(2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a) sofreu uma substituição na posição 2 do anel piridínico, onde o cloro sai para entrada da 4-metil-piperazina.

Essa troca é confirmada pelo desaparecimento da banda de deformação axial em 1158 cm^{-1} , correspondente a CCl. Como esperado, há o surgimento da banda de deformação axial de C-H em 2932 cm^{-1} , referente ao grupo metileno, além da deformação angular e axial de N-C de amina terciária em 2803 e 1167 cm^{-1} , correspondentes ao anel piperazínico. Permanecem as bandas referentes ao anel piridínico com vibrações de deformação axial e angular fora do plano em 2974 e 762 cm^{-1} características de C-H aromático e vibrações de deformação axial em 1601 e 1418 cm^{-1} referente a C=C e C=N do esqueleto (Figura 11).

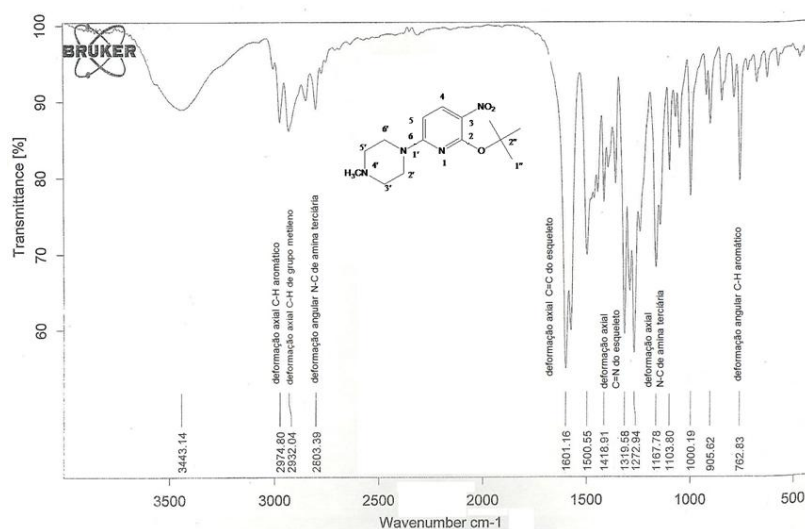


Figura 11: Espectro de Infravermelho da molécula 1-(2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-4-metil-piperazina (5a).

4.2.2.3.3. 2-Amino-5,6-diidro-4H-ciclopenta[b]tiofeno-3-carbonitrila (11a)

Nesse espectro, exemplificado na figura 12, é possível observar os sinais referentes as deformações axial simétrica e assimétrica N-H de amina primária aromática entre 3500-3400 cm^{-1} , além dos estiramentos CH e CH₂ de cicloalcano entre 3000-2800 cm^{-1} , deformação axial C≡N de nitrila aromática entre 2240-2222 cm^{-1} e a deformação axial C=C de anel aromático entre 1600-1400 cm^{-1} .

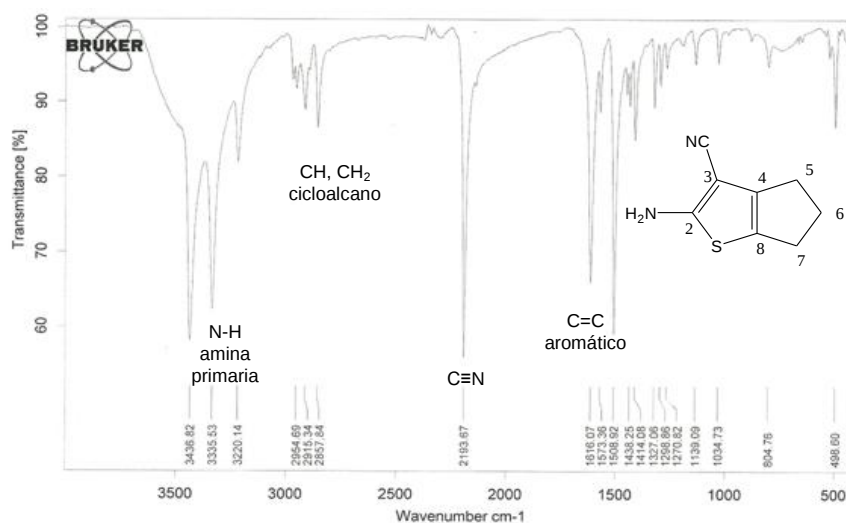


Figura 12: Espectro de Infravermelho da molécula 2-amino-5,6-diidro-4*H*-ciclopenta[*b*]tiofeno-3-carbonitrila (11a).

4.2.3. Caracterização físico-química

Todos os compostos tiveram suas características físico-químicas determinadas, que se fazem saber: cálculo do fator de retenção (*R_f*); determinação dos pontos de fusão; aparência dos cristais; fórmulas moleculares e rendimentos reacionais. As análises físico-químicas em conjunto com as espectroscópicas, auxiliaram na caracterização e elucidação estrutural dos compostos, indicando a eficácia da metodologia empregada.

4.2.3.1. 2-(*tert*-Butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3)

Na tabela 9 estão descritas as características físico-químicas da 2-(*tert*-butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3), obtida com razoável valor de rendimento reacional.

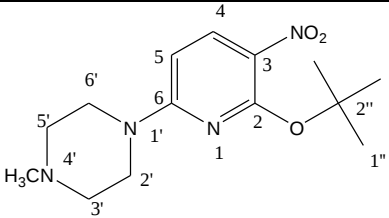
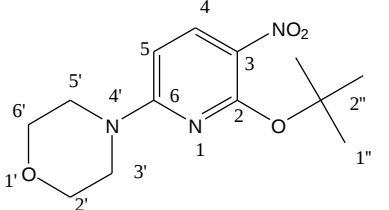
Tabela 9: Características físico-químicas da 2-(*tert*-butóxi)-6-cloro-3-nitro-piridina (3).

Estrutura Molecular	Características Físico-Químicas
	MM(g/mol): 230,6. FM: C ₉ H ₁₁ ClN ₂ O ₃ . Cor/Aparência: Cristais amarelo. Rdt(%): 41,86. PF(°C): 58-60. Rf (<i>n</i> -Hex/AcOEt 9,5:0,5): 0,8.

4.2.3.2. (2-*tert*-Butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocicloaminas (5a-b)

A tabela 10 expõe os rendimentos reacionais dos compostos (2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocicloaminas (5a-b), gerados pela metodologia de Buchwald com ligante BINAP. A utilização da 1-metilpiperazina, como substituinte na posição 2 do anel piridínico, levou a obtenção do composto (5a) com excelente rendimento reacional.

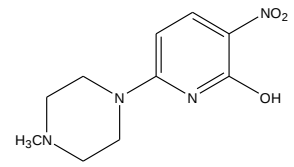
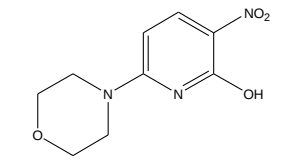
Tabela 10: Características físico-químicas dos compostos (2-*tert*-butóxi-3-nitro-piridin-6-il)-heterocicloaminas (5a-b).

Estrutura Molecular	Características Físico-Químicas
	MM(g/mol): 294,35. FM: C ₁₄ H ₂₂ N ₄ O ₃ . Cor/Aparência: Cristais amarelos. Rdt(%): 86. PF(°C): 54-55. Rf (MeOH): 0,6.
	MM(g/mol): 281,31. FM: C ₁₃ H ₁₉ N ₃ O ₄ . Cor/Aparência: Cristais amarelo. Rdt(%): 57,5. PF(°C): 155-156. Rf (<i>n</i> -Hex/AcOEt 7,0:3,0) 0,6.

4.2.3.3. 6-(Cicloamina)-3-nitro-piridin-2-ol (6a-b)

Os compostos 6-(cicloamina)-3-nitro-piridin-2-ol (6a-b) foram gerados com ótimo rendimento reacional (Tabela 11).

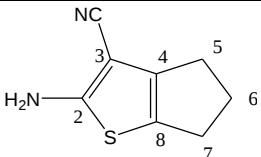
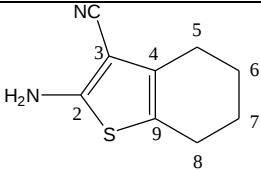
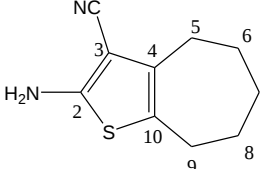
Tabela 11: Características físico-químicas dos compostos 6-(cicloamina)-3-nitro-piridin-2-ol (6a-b).

Estrutura Molecular	Características Físico-Químicas
	MM(g/mol): 238,24. FM: C ₁₀ H ₁₄ N ₄ O ₃ . Cor/Aparência: Cristais amarelo. Rdt(%): 100,0. PF(°C): 112. Rf (<i>n</i> -Hex/AcOEt 7,0:3,0) 0,6.
	MM(g/mol): 225,20. FM: C ₉ H ₁₁ N ₃ O ₄ . Cor/Aparência: Cristais amarelo escuro. Rdt(%): 100,0. PF(°C): 265. Rf (<i>n</i> -Hex/AcOEt 7,0:3,0) 0,7.

4.2.3.4. 2-Amino-cicloalquil[b]tiofenos-3-carbonitrila (11a-c)

A tabela 12 revela as características físico-químicas dos derivados 2-amino-cicloalquil[b]tiofenos-3-carbonitrila (11a-c). Ao analisar esses dados, nota-se que a ciclohexanona utilizada na obtenção do composto (11b), favoreceu o aumento do rendimento reacional, em relação aos rendimentos obtidos nos compostos (11a e 11c), em que outras cetonas cíclicas foram empregadas.

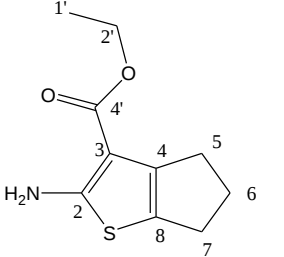
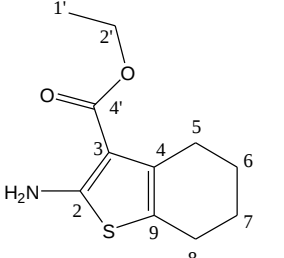
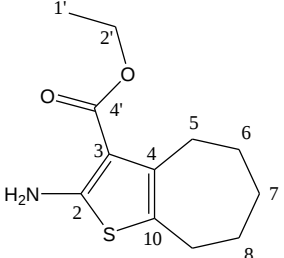
Tabela 12: Características físico-químicas dos derivados 2-amino-cicloalquil[b]tiofenos-3-carbonitrila (11a-c).

Estrutura Molecular	Características Físico-Químicas
	MM(g/mol): 164,22. FM: C ₈ H ₈ N ₂ S. Cor/Aparência: Cristais bege claro. Rdt(%): 51. PF(°C): 148-150. Rf (<i>n</i> -Hex/AcOEt 7,5:2,5): 0,4.
	MM(g/mol): 178,25. FM: C ₉ H ₁₀ N ₂ S. Cor/Aparência: Cristais bege claro. Rdt(%): 68. PF(°C): 157-159. Rf (<i>n</i> -Hex/AcOEt 8,5:1,5): 0,45.
	MM(g/mol): 192,28. FM: C ₁₀ H ₁₂ N ₂ S. Cor/Aparência: Cristais bege claro. Rdt(%):58. PF(°C): 108-110. Rf (<i>n</i> -Hex/AcOEt 7,5:2,5): 0,5.

4.2.3.5. 2-Amino-cicloalquil[b]tiofenos-3-etanoato de etila (11d-f)

Os derivados tiofênicos (11d-f), com grupo éster na posição 3 do anel, foram obtidos com rendimentos menores quando comparados com os derivados (11a-c), substituídos na mesma posição por grupo nitrila. É possível perceber, também, que a utilização da cicloheptanona nas reações de Gewald, contribuiu para o maior valor de rendimento reacional do derivado (11f), quando comparado aos rendimentos reacionais dos derivados (11d e 11e), em que outras cetonas cíclicas foram usadas nessa mesma reação (Tabela 13).

Tabela 13: Características físico-químicas dos derivados 2-amino-cicloalquil[b]tiofenos-3-etanoato de etila (11d-f).

Estrutura Molecular	Características Físico-Químicas
	MM(g/mol): 211,28. FM: C₁₀H₁₃NO₂S. Cor/Aparência: Cristais bege claro. Rdt(%): 24,8. PF(°C): 89-90. Rf (<i>n</i>-Hex/AcOEt 9:1): 0,48.
	MM(g/mol): 225,30. FM: C₁₁H₁₅NO₂S. Cor/Aparência: Cristais amarelo claro. Rdt(%): 29. PF(°C): 99-100. Rf (<i>n</i>-Hex/AcOEt 8:2): 0,6.
	MM(g/mol): 239,33. FM: C₁₂H₁₇NO₂S. Cor/Aparência: Cristais amarelo escuro. Rdt(%): 30. PF(°C): 77-78. Rf (<i>n</i>-Hex/AcOEt 9:1): 0,5.

4.3. CONCLUSÃO

A rota sintética inicialmente proposta possui nove etapas, onde ocorreram as reações de Substituição Nucleofílica Aromática, para entrada do grupo protetor na posição 2 da halopiridina, seguida da reação de Buchwald ou de Substituição Nucleofílica Aromática, para acoplamento às aminas heterocíclicas; hidrólise na posição 2 do anel piridínico e ativação na mesma posição. Subsequente acoplamento a derivados tiofênicos por reação de Buchwald; hidrogenação do grupo nitro à amina e reação de ciclização, para obtenção dos novos análogos da olanzapina.

As etapas iniciais geraram cinco produtos intermediários que apresentaram rendimentos com valores entre 32 a 100% e tempo reacional variando entre 1 a 8 horas. Entretanto, na quarta etapa da rota convergente, o produto da reação de ativação da posição 2 no anel piridínico não foi obtido. Essa reação é bastante descrita na literatura onde são empregados diferentes bases, solventes e condições reacionais. Alguns desses métodos alternativos foram utilizados nas várias tentativas de obtenção do composto intermediário (7a-b), porém, não tendo o sucesso esperado, a rota sintética não foi concluída. Os derivados tiofênicos, produzidos paralelamente através de reação de Gewald, tiveram rendimentos variando entre 21 a 67,7%, com tempo reacional de 2 a 3 horas.

Todas as novas moléculas iniciais tiveram suas características físico-químicas determinadas, tais como: ponto de fusão; razão de frente; entre outras que em conjunto com os dados espectroscópicos reforçaram a identificação dos compostos obtidos. Além disso, suas estruturas químicas foram confirmadas pelos resultados das análises espectroscópicas e espectrométricas de Infravermelho (IV), Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H) e Carbono (RMN ^{13}C). Com exceção dos ésteres ácidos de 4-toluenosulfonila-6-(cicloamin-4-il)-3-nitropiridin-2-il (7a-b), que não geraram espectros com sinais correspondentes a estrutura química esperada. A cada modificação na metodologia de obtenção destes compostos, foram realizadas análises espectrométricas de Ressonância Magnética Nuclear de Hidrogênio (RMN ^1H), e em todos os resultados dessas análises, a estrutura não correspondia ao composto almejado.

Apesar da rota sintética proposta não ter sido finalizada pelos motivos já expostos, suas etapas iniciais se mostraram bem sucedidas, pois geraram novos derivados piridínicos, com bons rendimentos, em curto tempo reacional e razoável custo financeiro.

Conclusão Final

5. CONCLUSÃO FINAL

Esse trabalho objetivou um breve estudo teórico sobre as benzo e tienobenzo-diazepinas e a síntese dos derivados piridobenzodiazepinas. Todas estas pertencentes a classes distintas de *N*-heterociclos.

O primeiro capítulo desse trabalho descreveu os efeitos, atividades, afinidades e especificidades das benzo- e tienobenzo-diazepinas utilizadas na terapêutica e nos diferentes alvos biológicos, além de propor doze análogos da olanzapina classificando-os como antagonista ativo ou inativo em receptores e transportador da dopamina, utilizando Modelos de Florestas Aleatórias (Random Forest). Dentre esses doze análogos, obtidos a partir do banco de dados ChEMBL, seis se mostraram antagonistas ativos de receptores e transportador dopamina. Os análogos da olanzapina com grupo metil-piperazina mostraram maior potencial para ser antagonista ativo de mais de um receptor, do que os compostos com o grupo morfolina. Além disso, a presença do grupo *n*-benzil-tetrahidropiridina na estrutura dos compostos aumenta o potencial multi-alvo dos análogos da olanzapina tanto com metil-piperazina quanto com morfolina.

O segundo capítulo descreveu a síntese das piridobenzodiazepinas planejadas de forma a se obter análogos estruturais da olanzapina, onde o benzeno seria substituído pela piridina. O procedimento sintético se mostrou viável nas três primeiras etapas, porém não foi possível confirmar a estrutura química dos compostos ésteres ácidos de 4-toluenosulfonila-6-(cicloamin-4-il)-3-nitropiridin-2-il (7a-b), que seriam condensados a aductos de Gewald com posterior redução/ciclização fornecendo o esqueleto químico desejado, o que inviabilizou a continuidade da rota sintética. Portanto, os produtos finais obtidos foram os derivados piridínicos hidrolisados (6a-b) em oposição aos análogos da olanzapina inicialmente propostos.

6. PERSPECTIVAS

Buscar alternativas para solucionar as dificuldades encontradas nas reações de ativação e finalizar o plano de síntese para obtenção dos derivados piridobenzodiazepinas.

Realizar as análises de espectroscopia de massa e LMSI para todos os derivados piridínicos, para confirmar de forma efetiva suas estruturas e grau de pureza.

Planejar um diagrama de síntese para obtenção dos novos análogos das olanzapinas, com estruturas geradas pelo estudo *in silico*, descrito no primeiro capítulo deste trabalho; uma vez, que os resultados dessas análises indicaram o alto potencial multi-receptor dessas moléculas.

REFERÊNCIAS

7. REFERÊNCIAS

AKAMATSU, M. Current state and perspectives of 3D-QSAR. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 2, p. 1381-1394, 2002.

ALMEIDA, V. R. Síntese, Caracterização e Estudos em Solução de um Complexo de CuII com o Ligante tacn-Ipr2mff: Potencial Biomimético para Nucleases/Proteases. **Relatório de Estágio Supervisionado**, Departamento de Química, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.

AMARAL, A. T.; MONTANARI, C. A. Química Medicinal: 25 Anos de Planejamento Racional de Fármacos. **Quim. Nova**, Vol. 25, Supl. 1, 39-44, 2002.

BALAMURUGAN, K.; PERUMAL, S.; REDDY, A. S. K.; YOGESWAR, P.; SRIRAM, D. A facile domino protocol for the regioselective synthesis and discovery of novel 2-amino-5-arylthieno-[2,3-*b*]thiophenes as antimycobacterial agents. **Tetrahedron Letters**, v. 50, p. 6191-6195, 2009.

BALDESSARINI, R. J.; HUSTON-LIONS, D.; CAMPBELL, A.; MARSH, E.; COHEN, B. M. Do central antiadrenergic actions contribute to the atypical properties of clozapine?. **Br. J. Psychiatry Suppl.**, p. 12-16, 1992.

BARREIRO, E.J., FRAGA, C.A.M. **Química Medicinal: As Bases Moleculares da Ação dos Fármacos**. Artmed Editora. p. 163-175, 2002.

BERMEJO, J. C.; RODRIGUEZ, S. G. Antipsicóticos típicos. Antipsicóticos Atípicos, Terapêutica em APS. **FMC**, v. 14, n. 10, p. 637-47, 2007.

BHANA, N.; FOSTER, R.H.; OLNEY, R.; PLOSKER, G.L. Olanzapine—an updated review of its use in the management of schizophrenia, **Drugs**, 61(1), 111-161, 2001.

BHANA, N.; PERRY, C.M. Olanzapine—a review of its use in the treatment of bipolar I disorder, **CNS Drugs**, 15(11), 871-904, 2001.

BYMASTER, F. P.; CALLIGARO, D. O.; FALCONE, J. F.; MARSH, R. D.; MOORE, N. A.; TYE, N. C.; SEEMAN, P.; WONG, D. T. Radioreceptor binding profile of the atypical antipsychotic olanzapine. **Neuropsychopharmacology**, v. 14, n. 2, p. 87-96, 1996.

CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. **Advanced Organic Chemistry Part A-Structure and Mechanisms**. 5^a ed. Virginia: Springer, 2007.

CAREY, F. A.; SUNDBERG, R. J. **Advanced Organic Chemistry Part B-Reactions and Synthesis**. 5^a ed. Virginia: Springer, 2007.

CHEN, L. -H.; CHANG, C. -M.; SALUNK, D.B.; SUN, C. -M. "Divergent Synthesis of Unsymmetrical Annulated Biheterocyclic Compound Libraries: Benzimidazole Linked Indolo-benzodiazepines/quinoxaline" **ACS Comb. Sci.** 13, 391, 2011.

CLAYDEN, GREEVES, WARREN, WOTHERS. **Organic Chemistry**. Oxford, University Press, 2008.

COFFEY, S.; KOLIS, S. P. AND MAY, S. A. Six-Membered Ring Systems: Pyridines and Benzo Derivatives. *In: Progress In Heterocyclic Chemistry*, 1. ed. Oxford: Elsevier Science Ltd, v. 14, cp. 6.1, p. 90-113, 2002.

CRAMPTON, M. R. Nucleophilic Aromatic Substitution. *In: Organic Reaction Mechanisms - 1998: An Annual Survey Covering the Literature Dated December 1997 to November 1998*. England: John Wiley & Sons Ltd, p. 275, 2003.

DAVID, E.; PERRIN, J.; PELLET-ROSTAING, S.; CHABERT, J. F. D.; LEMAIRE, M. Efficient Access to 2-Aryl-3-Substituted Benzo[b]thiophenes. **J. Org. Chem.**, v. 70, p. 3569-3573, 2005.

DESIMONE, R. W.; CURRIE, K. S.; MITCHEL, S. A.; DARROW, J. W.; PIPPIN, D. A. "Privileged structures: applicatios in drug discovery". **Comb. Chem. High. Throughput. Screen.** 7, 473, 2004.

ENGEL, WOLFHARD W.; EBERLEINF, WOLFGANG G.; MIHM, GERHARD; HAMMER, RUDOLF; TRUMMLITZT, GUNTER. Tricyclic Compounds as Selective Muscarinic Receptor Antagonists. Structure-Selectivity Relationships in a Series of Cardiosensitive (M,) Antimuscarinics. **J. Med. Chem**, vol. 32, nº 8, p.1718-1724, 1989.

EVANS, B. E. et al. "Methods for drug discovery: development of potent, selective, orally effective cholecystokinin antagonists". **J. Med. Chem.** 31, 2235, 1988.

FIORI, S. **Estudos da reação de hidrólise alcalina de derivados N-alquil-2-azidopiridínios e de derivados N-alquil-4-cianopiridínios**. Tese de doutorado em Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2010.

FRANÇA, J. A. A., LIMA, M. S. F., SILVA, G. B., CAMARA, C. A. Rota Síntética para a Formação de uma Molécula com Potencial Anticâncer a partir da Fusão dos Núcleos Naftoquinônico e 1,2,3-Triazólico, **62ª Reunião Anual da SBPC**, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Disponível em:<
www.sbpnet.org.br/livro/62ra/resumos/resumos/1357.htm>. Acessado em: 18/9/2014.

FROTA, L. H. **Cinquenta Anos de Medicamentos Antipsicóticos em Psiquiatria**. Brasil, p.1-486, 2003.

FULTON, B.; GOA, K.L. Olanzapine: a review of its pharmacological properties and therapeutic efficacy in the management of schizophrenia and related psychosis, **Drugs**, 53(2), 281–298, 1997.

GÁRATE, J.L. M., MAGALHÃES, G. C., ROMEIRO, L. A. S. Síntese de Análogo de Brassinoesteróide a Partir de Vespertilina, **Química Nova**, 21(6), p. 726-730, 1998.

GEWALD, K. 2-Amiono-thiophene aus α -oxo-mercaptanen und methylenaktiven nitrilen. **Chem. Ber.**, v. 98, p. 3571-7, 1965.

GEWALD, K.; SCHINKE, E.; BOTTCHER, H., 2-Amiono-thiophene aus methylenaktiven nitrilen, Carbonylverbindungen und schwefel. **Chem. Ber.**, v. 99, p. 99-100, 1966.

GOODMAN e GILMAN. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica**, 10. ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill, 2005.

GUNTHER SCHMIDT, Novel 5,6-dihydro-6-oxo-11H-pyrido[2,3-b][1,4]benzodiazepines, **Patent nº US 3406168 A**, 15 out. 1968.

HARPER, J. B. Pyridines and their Benzo Derivatives: Structure. *In: Comprehensive Heterocyclic Chemistry*. University of New South Wales, Sydney, NSW, Australia: Elsevier Ltd., p. 1-35, 2008.

HOUGHTON, P. J.; HOWES, M. J.; LEE, C. C.; STEVENTON, G. Uses and abuses of *in vitro* tests in ethnopharmacology: visualizing an elephant. **Journal of Ethnopharmacology**, v.110, p.391-400, 2007.

ISENMANN, A. F. Substituição aromática, Piridina, Substituição nucleofílica aromática, Reação com nucleófilos (SN) pelo mecanismo adição-eliminação. *In: Princípios da Síntese Orgânica*, 2ª ed. Timóteo, MG: Armin Franz Isenmann, p. 279, 322, 325, 2013.

JEAN-FRANCOIS F. LIÉGEOIS, JACQUES BRUHWYLER, JACQUES DAMAS, THUY PHUONG NGUYEA, ERIC M. G. CHLEIDEF, MICHEL G. A. MERCIER, FRANCOISE A. REGISTER, AND JACQUES E. DELARGET. New Pyridobenzodiazepine Derivatives as Potential Antipsychotics: Synthesis and Neurochemical Study, **J. Med. Chem.**, vol.36, nº 15, p. 2107-2114, 1993.

JEAN-FRANCOIS F. LIEGEOIS, JACQUES E. DELARGE, Methylpiperazino azepine derivatives, preparation and use thereof, **Patent nº US 5,393,752A**, 28 de fevereiro de 1995.

JLANHUA SHEN, SHANGHAI; YLNG LENG, SHANGHAI; HUALIANG JIANG; JUNHUA CHEN, SHANGHAI, Heptacyclic compounds and the foreign patent documents pharmaceutical uses thereof for preventing and treating diabetes and metabolic syndrome, **Patent nº US 8,158,623 B2**, 17 de abril de 2012.

KLINGENSMITH L. M. **Mechanistic Studies on Palladium-Catalyzed Carbon-Nitrogen Bond Forming Reactions**. Dissertação de Mestrado, Massachusetts Institute of Technology, Massachusetts, 2005.

KO, T-C., HOUR, M-J., LIEN, J-C., TENG, C-M., LEE, K-H., KUO, S-C., HUANG, L-J. Synthesis of 4-Alkoxy-2-phenylquinoline Derivatives as Potent Antiplatelet Agents. **Bioorg.Med. Chem. Lett.**, v. 11, p. 279-282, 2001.

KOCHKANYAN, R. O.; ISRAELYAN, Y. A.; ZARITOVSKII, A. N. New method for synthesis of azolidones. **Chem. Heter. Comp.**, v. 1, p. 70-72, 1978.

KOROLKOVAS, A. **Fundamentos de farmacologia molecular: base para o planejamento de fármacos**. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo, 1974.

KOROLKOVAS, A.; BURCKHALTER, J.H.; **Química Farmacêutica**, Ed. Guanabara, Rio de Janeiro, p 516-522, 513, 1982.

LIBERMANN, D., HIMBERT, J., HENG, L. La thiazolidione, point de départ d'une synthèse de acides thiopyruviques et thioglyoxyliques substitués. **Bull. Soc. Chim. Fr.**, p.1120-1124, 1948.

LIEGEOIS JF, BRUHWYLER J, PETIT C, DAMAS J, DELARGE J, GECZY J, KAUFFMANN JM, LAMY M, MELTZER H, MOUTHYS-MICKALAD A., Oxidation sensitivity may be a useful tool for the detection of the hematotoxic potential of newly developed molecules: application to antipsychotic drug, **Arch Biochem Biophys**, 1;370(1):126-37, 1999.

LIMA, F. B.; CUNHA, R. S.; COSTA, L. M.; JESUS, R. S.; SENA, E. P.; SCIPPA, A. M.; RIBEIRO, M. G.; OLIVEIRA, I. R. Meta-análise para avaliar a eficácia e a segurança da olanzapina comparada ao haloperidol no tratamento da esquizofrenia: achados preliminares. **Jornal Brasileiro de Psiquiatria**, v. 48, n. 4, p. 169-175, 1999.

LIMA, L. M. Química Medicinal Moderna: Desafios e Contribuição Brasileira. **Quim. Nova**, v. 30, nº 6, p. 1456-1468, 2007

LOUIS, D.; QUIN, J. A.; TYRELL, J. W. **Importance in Nature and in the Synthesis of Pharmaceuticals**; Fundamentals of Heterocyclic Chemistry, New York: Wiley, 2010.

MANN, C. M.; MARKHAM, J. L. A new method for determining the minimum inhibitory concentration of essential oils. **Journal of Applied Microbiology**, v.84, p.538-544, 1998.

MARTINELLI, J. R.; WATSON, D. A.; FRECKMANN, BARDER, D. M. M.; T. E.; BUCHWALD, S. L. Palladium-Catalyzed Carbonylation Reactions of Aryl Bromides at Atmospheric Pressure: A General System Based on Xantphos. **J Org Chem**. 73(18): p. 7102–7107, 2008.

McGOVERN, D. L. CoMFA analyses of C-2 position salvinorin A analogs at the kappa-opioid receptor provides insights into epimer selectivity. **J. Mol. Graph Model.**, v. 28, n. 2, p. 612-625, 2009.

MEDEIROS F. L.; ANDRADE A. G.; HIROCE V. Y.; ALVES T. C. T. F. Síndrome neuroleptica maligna e o uso de olanzapina. **Bras Psiquiatr**, v. 57, n. 2, p. 145-147, 2008.

MENEGATTI, R.; FRAGA, C. A. M.; BARREIRO, E. J. Importância da síntese de fármacos. **Cadernos Temáticos de Química Nova na Escola**, nº 3, p. 16-21, 2001.

MOGILIAIAH, K., REDDY, C. An Efficient Friedlander Condensation Using Sodium Fluoride as Catalyst in the Solid State. **Synth. Commun.** v.33, p.3131-3134, 2003.

MONTANARI, C. A. Química Medicinal: contribuição e Perspectiva no desenvolvimento da Farmacoterapia. **Química Nova**, v. 18, n.1, p. 56-64, 1995.

MONTANARI, C.A. A química medicinal na próxima década. **Química Nova**, v. 23, p. 134-137, 2000.

NICHELE, T. Z. **Síntese de Diarilmetanos a partir de Cloretos de Benzila Via Reações de Acoplamento Stille**. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.

NOBRE, S. M. **Reações de Acoplamento C-C: Desenvolvimento de Sistemas Catalíticos, Estudo do Mecanismo e Aplicação na Síntese do *Trans*-Resveratrol**. Tese de Doutorado, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

PASTRE, J. C. e CORREIA, C. R. D. Catalisadores Contendo Carbenos *N*-Heterocíclicos como Ligantes: Propriedades, Sínteses, Aplicações e Comparação com outros Ligantes. **Quim. Nova**, v. 31, nº 4, p. 872-884, 2008.

PAZ, O. S. Estudos de QSAR 2D e QSAR 3D para um Conjunto de Antagonistas de Receptores de Adenosina 2b, Potencialmente Úteis no Tratamento da Anemia Falciforme. Dissertação, Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia, 2012.

PERKINS, R. et al. Quantitative structure-activity relationship methods: perspectives on drug discovery and toxicology. **Environmental Toxicology and Chemistry.**, v. 22, n. 8, p. 1666-1679, 2003.

PRESS, J. B.; HOFMANN, C. M.; EUDY, N. H.; DAY, I. P.; GREENBLATT, E. N.; SAFIR, S. R. Thiophene Systems 5. Thieno[3,4-*b*][1,5]benzoxazepines, Thieno[3,4-*b*] [1,5] benzothiazepines, and Thieno[3,4-*b*][1,1]benzodiazepines as Potential Central Nervous System Agents, **J. Med. Chem.**,v. 24, p. 154-159, 1981.

PRESS, J. B.; HOFMANN, C. M.; EUDY, N. H.; FANSHAW, W. J.; DAY, I. P.; GREENBLATT, E. N.; SAFIR, S. R. 10-(Alkylamino)-4*H*-thieno[3,4-*b*][1,5]benzodiazepines. A Novel Class of Potential Neuroleptic Agents, **J. Med. Chem.**, v. 22, n. 6, p. 725-731, 1979.

QUEIROZ, M.-J. R. P.; FERREIRA, I. C. F. R.; CALHELHA, R. C.; ESTEVINHO, L. M. Synthesis and antioxidant activity evaluation of new 7-aryl or 7-heteroaryl-amino-2,3-dimethylbenzo[*b*]thiophenes obtained by Buchwald–Hartwig C–N cross-coupling. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**. v. 15, p. 1788–1794, 2007.

RAJENDRAPRASAD, N.; BASAVAIAH, K. Determination of olanzapine by spectrophotometry using permanganate, **Braz. J. Pharm. Sci.**, 45(3), 539–550, 2009.

RISS, PATRICK J.; SOSKIC, VUKIC; SCHRATTENHOLZ, ANDRE; ROESCH, FRANK. Synthesis and radiosynthesis of N⁵-[¹⁸F]fluoroethyl-pirenzepine and its metabolite N⁵-[¹⁸F]fluoroethyl-LS 75. **J. Label Compd. Radiopharm**, vol. 52, p. 576–579, 2009.

SARIN, L. M.; PORTO, J. A. D. Antipsicóticos atípicos na depressão refratária. **J Bras Psiquiatr.**, p. 58, n. 2, p. 73-78, 2009.

SEEMAN, P.; LEE, T.; CHAU-WONG, M.; WONG, K. Antipsychotic drug doses and neuroleptic/dopamine receptors. **Nature**, 261, p. 717–719, 1976.

SERRETTI, A.; RONCHI, D.D.; LORENZI, C.; BERARDI, D. New antipsychotics and schizophrenia: a review on efficacy and side effects. **Curr. Med. Chem.**, 11(3), 343–358, 2004.

SHIMTH, M. B.; MARCH, J. Aromatic Nucleophilic Substitution. *In: Advanced Organic Chemistry Reactions, Mechanisms, and Structure*. 5^a ed. New York: Wiley, p. 641-653, 2001.

SILVA, L. E. **Heterociclos Aromáticos Nitrogenados – Síntese e Potencial Quimioterápico**. Tese de Doutorado, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, Santa Catarina, 2006.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. Reações de Compostos aromáticos. *In: Química Orgânica*. 7^a ed. Rio de Janeiro: LTC, v. 1 e 2. p. 564-601, 2002.

SOUZA, E. L.; STAMFORD, T. L. M.; LIMA, E. O.; TRAJANO, V. N. Effectiveness of *Origanum vulgare* L. essential oil to inhibit the growth of food spoiling yeasts. **Food Control**, v. 18, n° 5, p. 409-413, 2007.

SOUZA, P. J. F. **Acoplamento de aminas secundárias ao sistema 3,5-isoxazol dissustituído, utilizando as metodologias de Ullmann e Buchwald**. Trabalho de Conclusão de Curso, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

STAWINSKI, T.; RECHNIO, J.; MAJKA, Z., A process for the preparation of n-demethylolanzapine, **Patent n° WO 2006053870 A1**, 26 de maio de 2006.

STEFANI, H.A. **Introdução à Química de compostos heterocíclicos**. Rio de Janeiro, 1ª ed. Guanabara Koogan, p. 68-69; 137-153, 2009.

SZEPSEL GERSZBERG, Process for preparing derivatives of 5,11-dihydro-6H-pyrido[2,3-b][1,4]-benzodiazepin-6-one, and the final derivatives and synthesis intermediates obtained thereby, **Patent n° US 4,308,206**, 29 de dezembro de 1981.

TAVARES, L.C. QSAR: A abordagem de Hansch. **Quim. Nova**, v. 27, N°. 4, p. 631-639, 2004.

THOMAS, G. **Química Medicinal: uma introdução**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 413, 2003.

VOLLHARDT, P.; SCHORE, N. **Organic Chemistry; Structure and Function**, 6th Edition, Freeman, 2007.

WELSCH, M.E.; SNYDER, S. A.; STOCKWELL, B. R. "Privileged scaffold for library design and drug discovery". **Curr. Opin Chem. Biol.** 14, 347, 2010.

WERMUTH, C.G. **Strategies in the search for new lead compounds or original working hypothesis**. The practice of medicinal chemistry. San Diego: Academic Press, p. 69-87, 2003.

WOLFHARD W. ENGEL, WOLFGANG G. EBERLEIN, F GERHARD MIHM, RUDOLF HAMMER, AND GUNTER TRUMMLITZT, Tricyclic Compounds as Selective Muscarinic Receptor Antagonists. 3. Structure-Selectivity Relationships in a Series of Cardiosensitive (M₁) Antimuscarinics, **J. Med. Chem**, vol. 32, n° 8, p.1718-1724, 1989.

WORREL, J.A.; MARKEN, P.A.; BECKMAN, S.E.; RUEHTER, V.L. Atypical antipsychotic agents: a critical review. **Am. J. Health Syst. Pharm.**, 57(3), 238–255, 2000.

WÓZNIAK, M., DER PLAS, H. V. **Advances in Heterocyclic Chemistry**. Chemistry of Nitronaphthyridines. Ed. Academic Press, New York, v. 77, p. 285-343, 2000.

WRIGHT, JR. W. B.; GREENBLATT, E. N.; DAY, I. P.; QUINONES, N. Q.; HARDY, J. R. R. A. Derivatives of 1 1-(1-Piperazinyl)-5H-pyrrolo[1,2-c][1,4]benzodiazepine as Central Nervous System Agents, **J. Med. Chem.**, v. 23, p. 462-465, 1980.

YANAGISAWA, H., NAKAO, H., ANDO, A. Studies on Chemotherapeutic Agents. 1. Synthesis of Quinoline and Naphthyridine Sulfonamide or Phosphonic Acid Derivatives. **Chem. Pharm. Bull.**, v. 21, p. 1080-1089, 1973.

YANG, B.H.; BUCHWALD, S.L. Palladium-Catalyzed Amination of Aryl Halides and Sulfonates. **J. Organomet. Chem.** 576, 125, 1999.

YELLE, W. E., Olanzapine-N-oxide compositions and methods, **Patent n° 6,352,984**, 07 de agosto de 2000.