

Radioligantes para neurorreceptores benzodiazepínicos

Sibila Roberta Marques Grallert¹, Leoberto Costa Tavares^{1*}, Elaine Bortoleti de Araújo²

¹Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, ²Centro de Radiofarmácia, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares

Os inúmeros avanços técnico-científicos das últimas décadas possibilitaram identificar e caracterizar a estrutura de uma variedade de neurotransmissores e de seus receptores no cérebro, bem como estudar suas interações. Nesse artigo serão relacionados os radiofármacos utilizados em medicina nuclear diagnóstica para acesso a neurorreceptores. Radioligantes cerebrais são moléculas marcadas com isótopos emissores de pósitron ou emissores de fótons (gama emissores) que se ligam seletivamente a sítios receptores específicos no SNC (Sistema Nervoso Central). Para utilização in vivo esses radioligantes não devem apresentar toxicidade e, também, não devem apresentar atividade farmacológica na dose administrada. Utilizando-se ligantes marcados com núclídeos radioativos, em técnicas como tomografia por emissão de pósitron (PET) e tomografia por emissão de fóton único (SPECT), é possível gerar imagens que auxiliam eficazmente no diagnóstico de doenças neuropsiquiátricas, tanto pela visualização da distribuição e função dos inúmeros tipos de neurorreceptores como pela investigação de anormalidades neuroquímicas. Salienta-se que a utilização dessas técnicas constitui-se em ferramenta de fundamental importância para a exploração funcional do SNC.

Unitermos:

- Radiotraçadores cerebrais
- Neurorreceptores
- Sítios receptores benzodiazepínicos
- Radiofármacos

*Correspondência:

L. C. Tavares
Departamento de Tecnologia
Bioquímico-Farmacêutica
FCF-USP
Av. Prof. Lineu Prestes, 580 - Bloco 16.
Cidade Universitária - São Paulo/SP -
05315-970.
E-mail: leoberto@usp.br

INTRODUÇÃO

Utilizando-se ligantes marcados com núclídeos radioativos e técnicas de auto-radiografia é possível visualizar a distribuição de vários tipos de neurorreceptores *in vitro* e *ex-vivo*. O mesmo princípio tem sido aplicado para possibilitar a visualização e a medida da função do neurorreceptor *in vivo*, utilizando tomografia por emissão de pósitron (PET) e tomografia por emissão de fóton único (SPECT). Esta metodologia é, atualmente, uma das formas de investigar condições neurológicas e patologias

neuroquímicas, sendo também empregada no estudo de mecanismos de ação de psicofármacos (Camargo, 2001).

A imagem de neurorreceptores consiste no registro da distribuição espacial da radioatividade, após injeção de um radioligante na circulação, que atravessa a barreira hematoencefálica e se liga a um neurorreceptor por fração de tempo suficiente. É importante considerar que para ser utilizado *in vivo* o radioligante não deve apresentar toxicidade ou atividade farmacológica na dose utilizada (Baulieu, Guilloreau, 1998).

Radioligantes são moléculas marcadas com isótopos emissores de pósitron (radiação particulada β^+) ou emissores gama (radiação eletromagnética - fótons), que se ligam seletivamente a sítios receptores específicos. Ligantes que são antagonistas de receptor são preferidos por possuírem maior afinidade pelo sítio ativo em comparação com agonistas e são menos propensos a produzir respostas decorrentes da interação fármaco-receptor.

Vale salientar que o estudo *in vivo* de receptores de neurotransmissores se constitui como ferramenta funcional eficiente de exploração do Sistema Nervoso Central (SNC) (Katsifis *et al.*, 2003).

Os inúmeros avanços tecnológicos do século XX possibilitaram caracterizar a estrutura e estudar as interações de variedade de neurotransmissores específicos com seus receptores no cérebro. Assim, a obtenção de imagens de neurorreceptores em estudos *in vivo* é aplicada, basicamente, em duas grandes frentes: (1) para determinar o papel do sistema receptor específico na fisiopatologia das disfunções neuropsiquiátricas como esquizofrenia, epilepsia, demência do tipo Alzheimer, ansiedade e depressão, entre outras, bem como nos casos de uso de drogas de abuso; (2) para avaliar a interação de agentes farmacológicos com sistemas receptores visando ao esclarecimento do mecanismo de ação de agentes psicotrópicos, bem como assistir o desenvolvimento de tratamentos alternativos de doenças neuropsiquiátricas e (3) auxiliar o desenvolvimento de novos fármacos para utilização em diagnóstico ou terapia. (Mazière, Mazière, 1990; Katsifis *et al.*, 2003).

O desafio relacionado à obtenção de imagens de receptores cerebrais com PET (*Positron Emission Tomography*) e SPECT (*Single Photon Emission Tomography*) tem se multiplicado nos últimos anos. Estudos de biologia molecular descobrem novos subtipos de receptores para muitos sistemas neurotransmissores com propriedades características e, possivelmente, com papel específico em condições neuropsiquiátricas. Isto aumenta a necessidade do desenvolvimento de novos radioligantes com alta especificidade por estes subtipos de receptores sem, contudo, perder os padrões de excelência na geração de imagens observadas para a maioria dos radiotraçadores empregados rotineiramente (Mazière, Mazière, 1990; Katsifis *et al.*, 2003).

Diante do problema e dispersão de informações pretende-se, neste artigo, apresentar de forma sistematizada os radioligantes utilizados na medicina nuclear diagnóstica bem como os que estão em desenvolvimento para acesso aos receptores cerebrais, com ênfase em radioligantes de receptores benzodiazepínicos, bem como suas aplicações na obtenção de imagens de neurorreceptores.

Neurotransmissores, neuro-receptores e sinapses

A comunicação entre células do SNC ocorre através de junções neuronais ou sinapses, que podem ser mediadas química ou eletricamente. Quase todas as sinapses utilizadas para a transmissão de sinais no SNC, no ser humano, são quimicamente mediadas. Nas junções neuronais, o primeiro neurônio secreta na fenda sináptica o neurotransmissor, que nada mais é do que uma substância química, que atuando sobre proteínas receptoras localizadas na membrana do neurônio seguinte o excita, inibe ou muda sua sensibilidade de alguma maneira (Trevor, 1998; Bloom, 1996). Cada neurotransmissor é secretado por diferentes tipos de células e funciona em áreas distintas, porém específicas do cérebro, resultando em efeito que depende do local de interação com o tecido neuronal.

A atividade de fármacos resulta da interação destes com macromoléculas específicas de forma a alterar sua atividade bioquímica ou biofísica. Assim, após ser liberado, o neurotransmissor se liga a receptores específicos na superfície da célula pós-sináptica, já tendo sido demonstrada, inclusive, a existência de inúmeros subtipos de receptores para cada neurotransmissor específico (Trevor, 1998; Bloom, 1996). Os neurorreceptores estão presentes tanto nos neurônios pós-sinápticos como nos pré-sinápticos, sendo que nestes últimos funcionam como inibidores da liberação adicional de neurotransmissor na fenda sináptica (Baulieu, Guilloateau, 1998).

Os neurotransmissores são secretados por diferentes tipos de células e são moléculas relativamente simples e pequenas. Cerca de 60 dessas substâncias já foram identificadas, podendo ser classificadas em quatro categorias: (1) colinas – sendo a acetilcolina a mais importante; (2) aminas biogênicas - serotonina, histamina e catecolaminas como a dopamina e norepinefrina; (3) aminoácidos - o glutamato e o aspartato são transmissores excitatórios bem conhecidos, enquanto que o ácido g-aminobutírico (GABA), a glicina e a taurina são neurotransmissores inibidores; (4) neuropeptídeos – esses são formados por cadeias mais longas de aminoácidos. Sabe-se que mais de 50 deles ocorrem no cérebro e muitos deles são implicados na modulação ou na transmissão de informação neural (Baulieu, Guilloateau, 1998).

Conceito importante na farmacologia de receptores é a atividade ou a eficácia intrínseca, medida da capacidade do ligante em ativar receptor específico. Se a interação com o receptor aumentar a resposta celular (inibitória ou excitatória) este ligante possui eficácia intrínseca positiva e é classificado como agonista. Se, no entanto, esta interação diminuir a associação entre receptor e transdutor, o ligante possui eficácia negativa e é referido como

agonista inverso. Assim, um antagonista passa a ser um ligante que se une a um receptor específico sem afetar a associação entre o receptor e o transdutor (Bloom, 1996).

GABA e receptores GABAérgicos

A atividade do sistema nervoso central depende basicamente das funções de excitação e inibição. O principal neurotransmissor excitatório no SNC de mamíferos é o L-glutamato, que despolariza os neurônios por ativação de receptores. Já o GABA, considerado o principal neurotransmissor inibitório no SNC, ativa os receptores resultando em hiperpolarização (Bloom, 1996; Korpi *et al.*, 2002).

GABA é inibidor pré-sináptico de grande importância na regulação da função neural. É formado pela descarboxilação do L-glutamato através da enzima glutamato-descarboxilase (GAD) e catabolizado pela GABA-transaminase (GABA-T) por transaminação em semialdeído succínico (Stahl, 2002; Trevor, 1998). Este neurotransmissor exerce seus efeitos mais estudados pela ligação a dois tipos de receptores distintos: (1) GABA_A, presente nos canais iônicos de cloro e que tem a função de aumentar a condutância de cloro nos neurônios pré-sinápticos e (2) GABA_B, que atua via proteína-G intracelular, aumentando a condutância de canais de potássio associados.

O aumento da condutância de cloro pode ser obtido por fármacos ansiolíticos como os benzodiazepínicos,

enquanto que sua diminuição acontece em presença de picrotoxina, substância convulsivante (Bloom, 1996).

Já foram relatados três tipos de interações ligante-receptor benzodiazepínico: (1) os agonistas facilitam a ação do GABA, alterando a afinidade pelo complexo receptor; (2) os antagonistas, exemplificados pelo flumazenil, bloqueiam as ações dos benzodiazepínicos por ocupação do receptor, mas não exercem qualquer atividade intrínseca e (3) os agonistas inversos reduzem a eficiência da transmissão sináptica GABA-adrenérgica, resultando em estimulação do SNC (Bovill, 2001). Apresenta-se na Figura 1 um modelo proposto para a representação do receptor GABA-benzodiazepínico.

Compostos benzodiazepínicos

Os compostos benzodiazepínicos constituem-se em classe de fármacos que atua no SNC, sendo uma das mais intensamente estudadas entre os psicofármacos, destacando-se pela sua utilidade como sedativo-hipnótico. As razões para tal aceitação na medicina atual incluem seu amplo espectro de ação no SNC, comprovada eficácia na redução da ansiedade e tratamento de distúrbios do sono, relativa segurança terapêutica e propaganda intensa, nem sempre correta, dos produtos dessa família (Stahl, 2002; Hobbs, 1996; Coleman, Temo, 2001).

Os fármacos pertencentes a essa classe ligam-se a sítio do canal de cloro que funciona como o receptor GABA_A, mas não ao local de ligação do GABA propria-

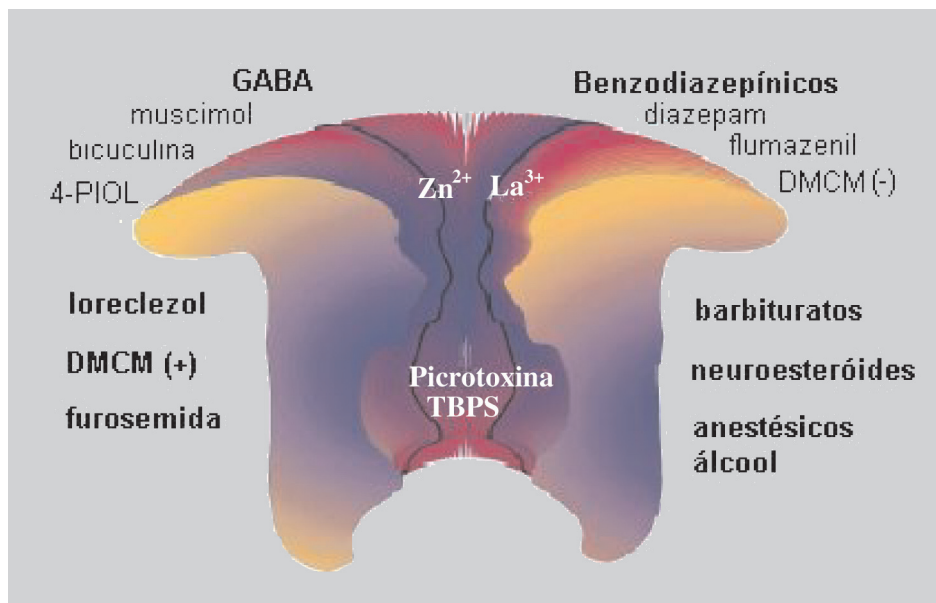


FIGURA 1 - Modelo do Complexo Receptor GABA-benzodiazepínico. Adaptado de: Korpi *et al.*, 2002.

mente dito. Quando se ligam ao receptor, facilitam a ação inibitória do GABA na transmissão neuronal. Existem várias conformações de receptores benzodiazepínicos, mas, ainda hoje, não se sabe ao certo como essas diferentes conformações podem resultar em diferenças tanto na interação ligante-receptor como na atividade funcional (Stahl, 2002). Existem, pelo menos, cinco subtipos de receptores de benzodiazepínicos, sendo que três deles apresentam perfis farmacológicos distintos: (1) os receptores de benzodiazepínicos 1 (denominados ômega 1) com reconhecimento de alta afinidade pelos benzodiazepínicos, localizados preferencialmente no cerebelo; (2) receptores de benzodiazepínicos 2 (ômega 2), localizados predominantemente na medula espinhal e núcleo estriado; (3) o receptor de benzodiazepínico 3, localizado fora do SNC e encontrados abundantemente nos rins (Stahl, 2002). Entretanto, estas denominações variam conforme o autor considerado.

Interação de ligantes radiomarcados com neurorreceptores

O radiotraçador ideal para a geração de imagem de neurorreceptor deve apresentar as seguintes características: (1) alta seletividade, concentrando sua radioatividade no receptor alvo; (2) lipofilicidade adequada para atravessar a barreira hematoencefálica de forma fácil e rápida; (3) estabilidade metabólica, com baixo acúmulo de metabólitos ativos; (4) rápida saída dos sítios de ligação não-específicos; (5) rápida eliminação sanguínea; (6) ausência de efeitos clínicos em doses de saturação do receptor e (7) processo de síntese economicamente viável (Mazière, Mazière, 1990).

A interação de um ligante com seu receptor exibe duas propriedades que são comumente utilizadas para caracterização do receptor, que são a especificidade molecular e a saturabilidade. A especificidade molecular descreve o comportamento da interação do ligante com seu receptor em termos de afinidade e habilidade em reconhecer molécula em particular, enquanto que a saturabilidade está relacionada à densidade do receptor. O tecido cerebral contém concentração de receptores de aproximadamente 10^{-12} mol/g e, se um ligante é liberado em excesso, os receptores serão saturados. Concentrações muito baixas de ligantes devem, portanto, ser injetadas, o que implica preparação de radioligantes marcados com alta atividade específica expressas em Becquerel/nanomol. A localização receptor-específico de um ligante em um órgão ou uma estrutura anatômica deve ser validada *in vivo*, de acordo com critérios como saturabilidade, estereoespecificidade, distribuição regional específica dos

receptores e alta afinidade pelo radioligante (Mazière, Mazière, 1990; Katsifis *et al.*, 2003).

PET e SPECT

No início dos anos 70 a geração de imagens cerebrais foi revolucionada pela associação de computadores a vários sistemas de detecção externos. Tal associação deu origem aos métodos de imagens tridimensionais atualmente utilizados como PET e SPECT.

As técnicas de PET e SPECT possibilitam a monitoração, em função do tempo, da concentração do radiotraçador no tecido regional após administração de molécula marcada com radionuclídeo emissor de pósitron ou de fóton de média energia, respectivamente (Turkington, 2001; Groch, Erwin, 2001).

As técnicas de imagens funcionais envolvem a conversão da energia do fóton emitido em mapas tomográficos da atividade cerebral regional. Isto se dá pela administração de moléculas marcadas com elementos radioativos, possibilitando o mapeamento da captação cerebral com detectores de radiação externos. Dependendo do radioligante utilizado, podem-se obter índices gerais da função cerebral como fluxo sanguíneo regional ou metabolismo de glicose ou, ainda, a medida da funcionalidade dos receptores.

As imagens geradas em estudos de PET resultam de conjunto de detectores que, circulando a cabeça do paciente, registram a chegada simultânea de pares de fótons emitidos em sentidos opostos, após a interação dos pósitrons emitidos pelo radioligante com elétrons do tecido. Imagens tridimensionais, de alta resolução e precisão, são adquiridas e quando se coletam amostras de sangue, quantificação absoluta da atividade regional pode ser obtida. Contudo, a complexidade da tecnologia e necessidade de um ciclotron local para produzir os radioligantes emissores de pósitron com tempo de meia-vida físico curto tornam a técnica recurso dispendioso e de aplicabilidade limitada.

Em SPECT os detectores são posicionados ao redor da cabeça do paciente e registram a radioatividade cerebral após a administração de radioligantes, que são, eles próprios, emissores de fótons. Apesar da sensibilidade e resolução menores, quando comparados com PET, a simplicidade relativa e o baixo custo dos radioligantes e dos equipamentos geradores de imagem tornam o SPECT ferramenta mais apropriada para o uso rotineiro e com alto potencial para aplicabilidade clínica. Além disso, desenvolvimentos recentes na área de instrumentação resultaram em aumento significativo da qualidade das imagens geradas por SPECT, aproximando-se, em termos de reso-

lução de imagem, à técnica de PET. A técnica de SPECT, método que apresenta custo relativamente baixo, utiliza também para tomocintilografia convencional de cérebro e medida do fluxo sanguíneo cerebral, é promissora na investigação clínica de receptores cerebrais. Vários ligantes para receptores marcados com ^{123}I e, mais recentemente, $^{99\text{m}}\text{Tc}$, encontram-se disponíveis (Groch, Erwin, 2001).

Imagens de neurorreceptores: aplicações e potencialidade

A aplicação de estudos *in vivo* de receptores cerebrais através de detecção externa foi demonstrada por Comar *et al.*, em 1979, utilizando técnica de PET. Os estudos demonstraram que o flunitrazepam marcado com ^{11}C é deslocado do cérebro de macacos pela administração de doses terapêuticas de benzodiazepínico não-marcado. Contudo, a primeira visualização de receptores cerebrais *in vivo* em animais, utilizando-se SPECT, foi realizada por Friedman *et al.*, em 1982, e em humanos, utilizando-se PET, por Wagner *et al.*, em 1983. Esta última permite, atualmente, mapear receptores dopaminérgicos, opióides, serotoninérgicos, benzodiazepínicos e muscarínicos em humanos e em primatas (Mazière, Mazière, 1990).

Os metabolismos da glicose e do oxigênio estão intimamente relacionados à atividade cerebral e a investigação de PET com ^{18}F fluordesoxiglicose e ^{15}O mostra claramente que estudos metabólicos do cérebro são importantes para o entendimento de disfunções psiquiátricas e neurodegenerativas. Desta forma, anormalidades no metabolismo neuronal podem estar relacionadas à alterações em um sistema neuroquímico regulador de transmissão da informação entre neurônios (Mazière, Mazière, 1990).

Quando a molécula radiomarcada interage seletivamente com um receptor, esta pode ser usada *in vivo* para avaliar a distribuição regional e afinidade dos sítios de ligação envolvidos. Este princípio é aplicado em psicofarmacologia clínica e farmacologia. De fato, várias doenças neurológicas e psiquiátricas têm sido relacionadas a neurotransmissores e disfunções em receptores que podem ser diagnosticados por estudos de PET e SPECT. Assim, radioligantes específicos para vários sistemas neurotransmissores têm sido sintetizados e avaliados para uso em PET e SPECT. Os mais extensivamente aplicados em investigações de condições neuropsiquiátricas estão listados nas Tabelas Ia e Ib (Busato, Pilowsky, 1995; Baulieu, Guilloteau, 1998; Mazière, Mazière, 1990).

Os receptores dopaminérgicos apresentam em comum a capacidade de reconhecimento de um ligante específico, a dopamina. Os subtipos D_1 e D_2 se diferenciam

pelo modo de ação, ativação ou inibição da adenilciclase, respectivamente. Os radioligantes de receptores D_1 pertencem à família das benzazepinas, cuja estrutura está representada na Figura 2 (Baulieu, Guilloteau, 1998).

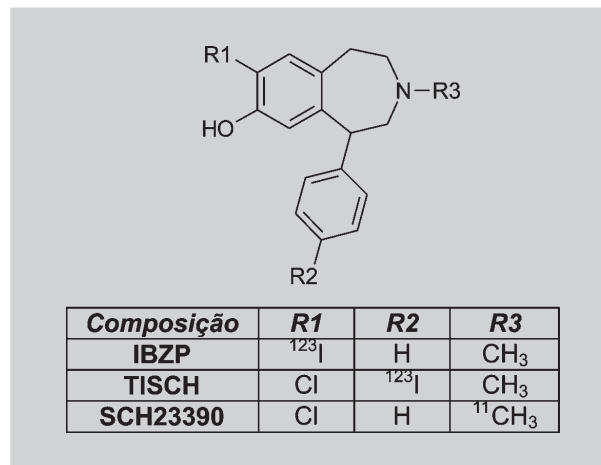


FIGURA 2 - Ligantes de receptores D_1 .

Os radioligantes de receptores D_2 pertencem a diferentes famílias químicas, sendo que os mais importantes são derivados de butirofenonas, em particular a espi-perona, derivados de benzamidas (Figura 3) e derivados do tropano (análogos da cocaína), usados em imagens de transportadores dopaminérgicos e serotoninérgicos (Figuras 4 e 5) (Baulieu, Guilloteau, 1998; Günther *et al.*, 1997; Carpinelli *et al.*, 2001; Amatamey *et al.*, 1995; Fang *et al.*, 2000; Leslie *et al.*, 1996).

Radioligantes para receptores dopaminérgicos são utilizados na avaliação de inúmeras doenças, particular-

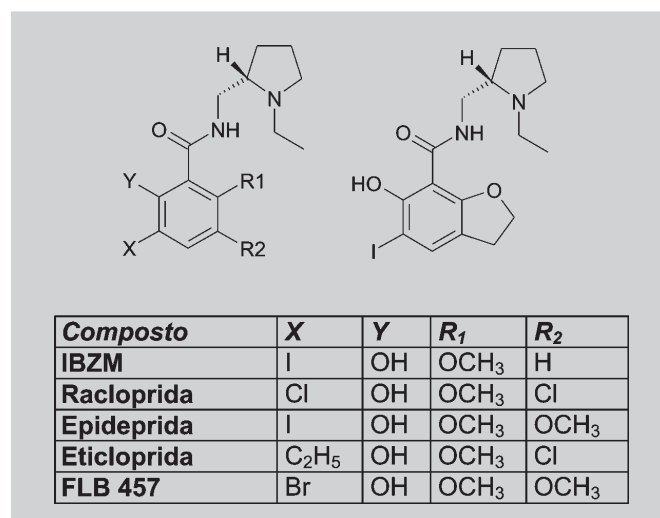


FIGURA 3 - Ligantes de receptores D_2 da família das benzamidas.

TABELA Ia - Radiotraçadores empregados em PET e SPECT com afinidade por neuro-receptores

SISTEMA RECEPTOR DOPAMINÉRGICO			
Subtipo	Técnica de imagem	Radioligante	Observações
D ₂	PET	[¹¹ C]racloprida	Benzamida do tipo salicilamida, que tem sido utilizada com sucesso na análise seletiva de receptores centrais D ₂ por PET
		[¹¹ C] ou [¹⁸ F] <i>N</i> -metilespiperona	Derivados da espiperona (butirofenona); a marcação com ¹⁸ F, que apresenta tempo de meia-vida maior que ¹¹ C, é mais adequada já que as imagens são adquiridas após 1 hora da administração; afinidade por receptores D ₂ e 5HT ₂
		[¹¹ C]CFT	2β-carbometoxi-2β-(4-fluorofenil)tropano
		[¹⁸ F]FPbCIT	<i>N</i> -(3-fluoro-propil)-2β-carbometoxi-3β(4-iodo-fenil)nortropano
	SPECT	[¹²³ I]iodobenzamida (IBZM)	Análogo radioiodado da racloprida
		[¹²³ I]epideprida	Benzamida de alta afinidade
		[¹²³ I]βCIT	2β-carbometoxi-3β-(4-iodo-fenil)tropano
		[¹²³ I]FP-βCIT	<i>N</i> -(fluoropropil)2βcarbometoxi-3β-(4-iodofenil)tropano
		[^{99m} Tc]TRODAT-1	^{99m} Tc-2β[<i>N,N'</i> -bis(2-mercaptoetil)etilenodiaminometil]-3β-(4-clorofenil)tropano
		[¹²³ I]IPT	<i>N</i> -(3-iodopropen-2-il)-2β-carbometoxi-3β-(4-clorofenil)nortropano
D ₁	PET	[¹¹ C]SCH23390	Derivado benzazepínico, primeiro antagonista seletivo de receptor D ₁ de alta afinidade descrito
	SPECT	[¹²³ I]SCH 23982	Análogo radioiodado do SCH23390 – afinidade e seletividade por receptores D ₁ similares ao antagonista original
		[¹²³ I]IBZP	8-iodo-2,3,4,5-tetraidro-3-metil-5-fenil-1- <i>H</i> -3-benzazepina-7-ol
		[¹²³ I]TISCH	7-cloro-8-hidroxi-1-(3'-iodofenil)3-metil-2,3,4,5-tetraidro-1- <i>H</i> -3-benzazepina – radiofármaco potencial para imagem de receptor D ₁ em SPECT

TABELA Ib - Radiotraçadores empregados em PET e SPECT com afinidade por neuro-receptores

SISTEMA RECEPTOR DOPAMINÉRGICO			
Subtipo	Técnica de imagem	Radioligante	Observações
5-HT ₂	PET	[¹¹ C] ou [¹⁸ F]setoperona	Imagens de receptores 5-HT ₂ ; seletividade cruzada com receptores adrenérgicos α1 e D ₂
		[¹¹ C] ou [¹⁸ F]N-metilespiperona	Derivados da espiperona (butirofenona)
	SPECT	[¹¹ C]cetanserina	
5-HT ₁	PET	[¹¹ C]WAY-100635 (WAY)	Ligantes de alta afinidade, produzem excelentes imagens de receptores 5HT ₁
		[¹¹ C]desmetil-WAY-100635 (DWAY)	
		p-[¹⁸ F]MPPF	Ligantes de alta afinidade, produzem excelentes imagens de receptores 5HT ₁
		¹¹ C]robalzotam (NAD-299)	
SISTEMA RECEPTOR COLINÉRGICO			
M ₁	PET	[¹¹ C]QNB	Ligantes não-seletivos, mas ainda utilizados para caracterizar receptores muscarínicos da acetilcolina
	SPECT	[¹²³ I]QNB	
SISTEMA RECEPTOR OPIÓIDE			
	PET	[¹¹ C]diprenorfina ou [¹⁸ F]ciclofoxi	Dois potentes antagonistas opióides de alta afinidade, sem efeitos colaterais
SISTEMA RECEPTOR GABAérgico			
GABA _A	PET	[¹¹ C]flumazenil	Antagonista de receptor benzodiazepínico
	SPECT	[¹²³ I]iomazenil	Análogo radioiodado do flumazenil
		[¹²³ I]NNC 13-8241	3-(5-ciclopropil-1,2,4-oxadiazol-3-il)-7-iodo-5,6-diidro-5-metil-6-oxo-4H-imidazo[1,5-a][1,4]-benzodiazepina – análogo do iomazenil mais resistente a metabolização <i>in vivo</i>

mente no grupo das doenças relacionadas a anomalias da motricidade, como o mal de Parkinson, paralisia supranuclear progressiva (mal de Steel Richardson), mal de Huntington e síndrome de Rett, principalmente como forma de diagnóstico diferencial do mal de Parkinson e indicação de tratamento dopaminérgico substitutivo

(Baulieu, Guilloreau, 1998, Bourguignon *et al.*, 1997).

Alguns derivados de espiperona apresentam reação cruzada com receptores serotoninérgicos do tipo 5HT₂. Na tentativa de obtenção de ligantes específicos para receptores 5HT₂ foram desenvolvidos derivados da cetanserina (Figura 6), mas que ainda apresentam problemas de

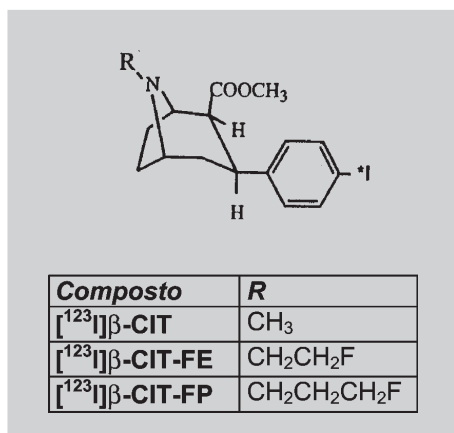


FIGURA 4 - Derivados do tropano como ligantes para receptores D₂.

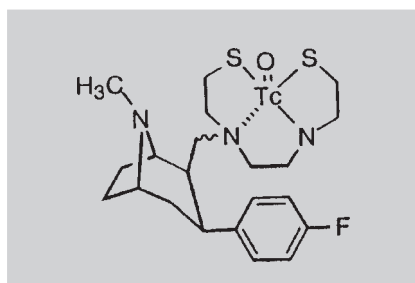


FIGURA 5 - Derivados do tropano como ligantes para receptores D₂ ([^{99m}Tc]TRODAT-1).

especificidade. Outros derivados encontram-se em estudo (Baulieu, Guilloteau, 1998; Pietzsch *et al.*, 1999).

Diversos compostos vêm sendo estudados visando à elaboração de um ligante para receptor serotoninérgico do tipo 5HT₁. Entre eles citam-se análogos estruturais do agonista 8-OH-DPAT, análogos estruturais do antagonista WAY-100635 e apomorfina. Os radioligantes mais bem sucedidos são [¹¹C] WAY-100635 (WAY), [¹¹C] desmetil-WAY-1-635 (DWAY), p[¹⁸F]MPPF e [¹¹C] robalzotam (NAD-299) (Figura 7).

Os receptores 5HT₁ estão envolvidos na patogênese da ansiedade, depressão, comportamento alucinógeno e disfunções alimentares, constituindo-se em importantes alvos para farmacoterapia (Baulieu e Guilloteau, 1998; Passchier *et al.*, 2001; Sandell *et al.*, 2001).

A acetilcolina é neurotransmissor importante dos sistemas nervoso central e periférico. Liga-se aos receptores nicotínicos e muscarínicos, que diferem entre si por sua distribuição, pelos agonistas farmacológicos e pelo mecanismo molecular de ação. Os receptores nicotínicos são distribuídos essencialmente no sistema nervoso periférico, nos gânglios do sistema nervoso autônomo e nas

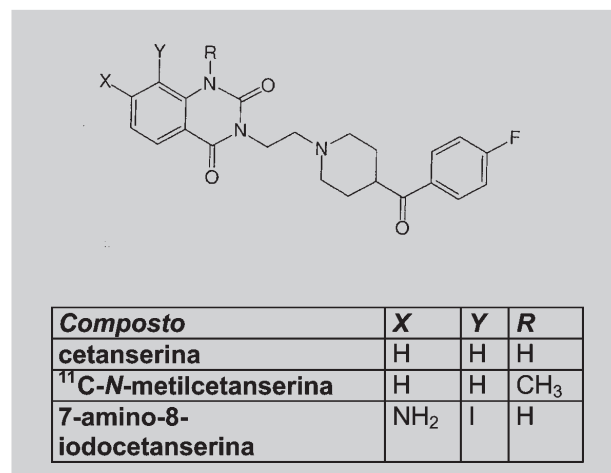


FIGURA 6 - Ligantes de receptores serotoninérgicos 5HT₂.

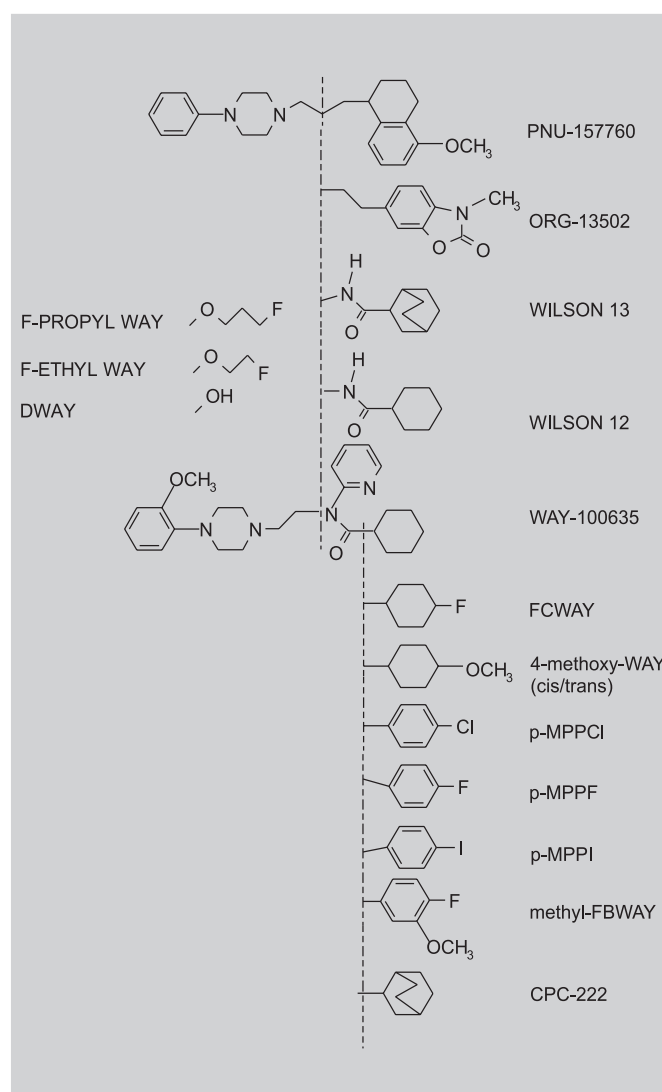


FIGURA 7 - Ligantes para receptores serotoninérgicos 5HT₁. Adaptado de: Passchier, J., Waarde, V. A. *Eur. J. Nucl. Med.*, v. 28, n.1, p.113-129, 2001.

junções neuromusculares enquanto que os receptores muscarínicos estão presentes, essencialmente, no SNC, nas versões pré e pós-sinápticas (Bloom, 1996).

Não existem radioligantes para receptores nicotínicos utilizados em PET ou SPECT. Dois tipos de compostos são propostos para estudar receptores muscarínicos, a dexametida (Figura 8) e o benzilato de quinuclidina, marcados com ^{18}F , ^{76}Br e ^{11}C para PET e com ^{123}I para SPECT (Figura 9) (Baulieu, Guilloteau, 1998; Bourguignon *et al.*, 1997).

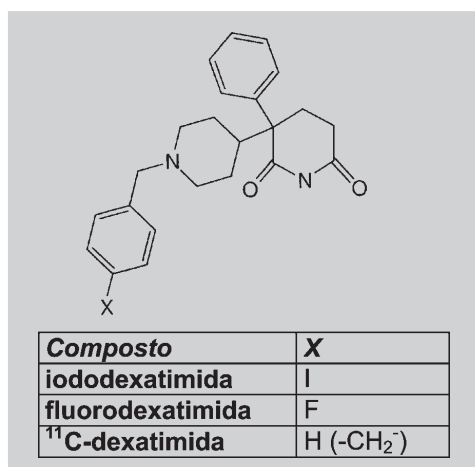


FIGURA 8 - Ligantes de receptores muscarínicos derivados da dexametida.

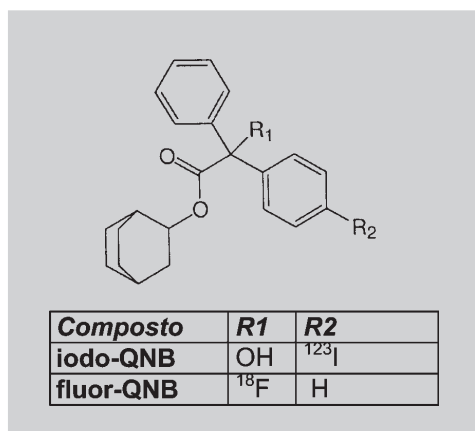


FIGURA 9 - Ligantes de receptores muscarínicos derivados da quinuclidina.

Com esse objetivo, foram desenvolvidos alguns derivados quinuclidínicos marcados com $^{99\text{m}}\text{Tc}$ (Hom *et al.*, 1997). As principais aplicações potenciais de imagens de SPECT de receptores muscarínicos são no diagnóstico de epilepsia e do mal de Alzheimer. No caso da epilepsia,

a visualização da perda de receptores muscarínicos permite localizar e delimitar o foco gerador de acesso. No caso do mal de Alzheimer, detectar a degeneração das fibras colinérgicas é importante e deve ser feita precocemente. A cintilografia de receptores colinérgicos permite o diagnóstico diferencial e o acompanhamento evolutivo do mal de Alzheimer (Baulieu, Guilloteau, 1998).

Ligantes para receptores benzodiazepínicos

Na regulação da atividade neuronal, o complexo receptor GABA/benzodiazepina apresenta papel essencial como desencadeador de inibição. Estudos relatam que a densidade deste receptor complexo é alterada em estados como depressão, epilepsia e síndrome do pânico (Kuikka *et al.*, 1996).

Estudos de PET e SPECT utilizando [^{11}C]flumazenil permitiram mapear a densidade de sítios receptores BZ no cérebro humano (os quais serão referidos a seguir como RBZ) evidenciando alteração na densidade destes receptores em apoplexia experimental, doença de Huntington, doença de Alzheimer, distúrbios de ansiedade, dependência ao etanol, encefalopatia hepática, síndrome de Angelman, esquizofrenia e epilepsia (Baulieu, Guilloteau, 1998; Beer *et al.*, 1996; Dargham *et al.*, 1995; Hatazawa *et al.*, 1995; Ishibashi *et al.*, 1998; Moriwaki *et al.*, 1998; Kukichi *et al.*, 1997; Sasaki *et al.*, 1997; Busato *et al.*, 1995).

O iomazenil (Ro 16-0154) (Figura 10), análogo radioiodado do flumazenil, apresenta afinidade subnanomolar por sítios RBZ *in vitro*. Este composto é utilizado como radioligante para geração de imagem em SPECT de sítios receptores BZ em primatas (Pike *et al.*, 1993; Foged *et al.*, 1996; Hatazawa *et al.*, 1995; Onishi *et al.*, 1996; Dey *et al.*, 1994).

Apresenta características favoráveis para o acesso *in vivo* aos sítios RBZ como alta captação cerebral, pequena ligação não-específica, alta afinidade por sítios RBZ e por não promover efeitos farmacológicos intrínsecos em doses traço (Foged *et al.*, 1996; Onishi *et al.*, 1995; Onishi *et al.*, 1996).

Vários estudos de SPECT têm demonstrado a aplicabilidade clínica do [^{123}I]iomazenil para o acesso a sítios RBZ no cérebro humano (Beer *et al.*, 1990; Onishi *et al.*, 1995; Odano *et al.*, 1996; Busato *et al.*, 1995; Dargham *et al.*, 1995; Onishi *et al.*, 1996; Dey *et al.*, 1994; Ishibashi *et al.*, 1998; Moriwaki *et al.*, 1998; Kukichi *et al.*, 1997; Sasaki *et al.*, 1997), sendo desenvolvido para geração de imagem de sítio RBZ em SPECT, o [^{123}I]iomazenil é extremamente seletivo e apresenta alta afinidade, cerca de dez vezes maior que o [^{11}C]flumazenil.

Westera *et al.* (1996) demonstraram que os parâmetros cinéticos e de biodistribuição do [^{11}C]flumazenil são comparáveis aos do [^{123}I]iomazenil, ilustrando, desta forma, que a técnica de SPECT representa uma alternativa viável ao PET neste caso (Bourguignon *et al.*, 1997).

Dargham *et al.* (1995) investigaram a reprodutibilidade das medidas de SPECT examinando seis indivíduos duas vezes no intervalo de uma semana. Estes autores observaram que, com base em variabilidade de 10-17% e comparando os resultados do teste e sua comprovação, a medida do acúmulo do [^{123}I]iomazenil regional em SPECT é procedimento reprodutível.

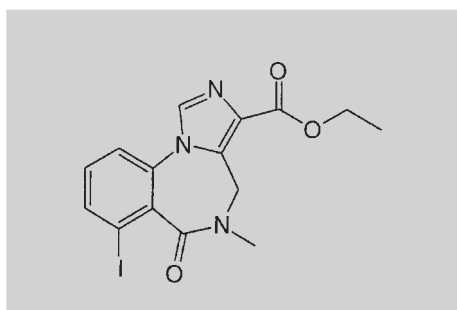


FIGURA 10 - Estrutura química do [^{123}I]iomazenil.

Um inconveniente associado ao uso do [^{11}C]flumazenil e [^{123}I]iomazenil é o rápido metabolismo destes ligantes no plasma. Estudos realizados com [^{123}I]iomazenil em humanos revelam que menos de 10% da radioatividade do plasma representa o composto não metabolizado 20 minutos após a injeção.

A rápida metabolização do radioligante implica baixas taxas de contagem e, conseqüentemente, estatística de contagem de radioatividade pobre (Baulieu, Guilloteau, 1998; Foged *et al.*, 1996; Foged *et al.*, 1997; Bohórquez *et al.*, 2000).

O composto NNC 13-8241 [3'-5-ciclopropil-1,2,4-oxadiazol-3-il)-7-iodo-5,6-diidro-5-metil-6-oxo-4H-imidazo[1,5-a][1,4]benzodiazepina] (Figura 11) é um agonista parcial, que se liga seletivamente e com afinidade subnanomolar aos sítios RBZ em homogenatos de tecidos. Análogos do NNC 13-8241 foram, então, sintetizados observando-se maior eficácia agonista para o 3-oxadiazolil imidazol do que para os ésteres análogos. Estes análogos são potentes anticonvulsivantes e são aplicados em modelos experimentais para estudo de ansiedade apresentando utilização potencial como fármacos para tratamento de apoplexia e ansiedade, o que não ocorre com os antagonistas de BZ flumazenil e iomazenil (Kuikka *et al.*, 1996; Foged *et al.*, 1996).

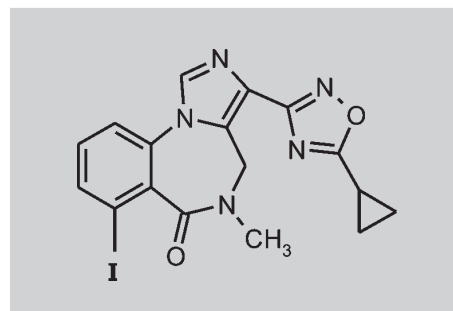


FIGURA 11 - Estrutura química do NNC 13-8241.

Com a presença do grupo 5-ciclopropil-1,2,4-oxadiazol na posição 3' do NNC 13-8241 espera-se que a molécula se torne menos sensível ao metabolismo, quando comparado ao flumazenil e iomazenil, que apresentam o grupo éster.

Sabe-se que o grupo éster na posição 3 do ligante imidazobenzodiazepínico é importante para a ativação de sítios RBZ. A substituição do grupo éster pelo grupo 3'-oxadiazolil é identificada como sendo metabolicamente mais estável mantendo a afinidade pelo sítio RBZ.

Experimentos *in vitro* e *in vivo* em ratos e macacos demonstraram a ligação do radioligante a sítios RBZ. Estudos realizados em humanos indicaram que o [^{123}I]NNC 13-8241 apresenta cinética favorável e constitui-se em agente específico e promissor para o mapeamento de receptores BZ no cérebro (Kuikka *et al.*, 1996; Foged *et al.*, 1996). Mais recentemente, outros derivados do flumazenil foram propostos (Compostos 1 e 2, Figura 12), com modificações no grupamento éster. Os estudos de afinidade de ligação aos receptores cerebrais foram, contudo, ainda inconclusivos (Katsifis *et al.*, 1999).

Receptores GABA_A contendo subunidade protéica $\alpha_4\beta_2\gamma_2$ e $\alpha_6\beta_2\gamma_2$ ligam-se fortemente ao agonista inverso parcial Ro 15-4513, com afinidade reduzida ao antagonista flumazenil e não apresentam afinidade para os agonistas BZ como diazepam e triazolam. Designados como diazepam insensíveis (DI), por sua baixa afinidade micromolar pelo diazepam, estes receptores são encontrados predominantemente no cerebelo e, em menor extensão, no hipocampo de áreas corticais (Katsifis *et al.*, 1999; Korpi *et al.*, 2002).

Exibindo alta afinidade de ligação por receptores benzodiazepínicos o Ro 15-4513, um derivado azídico do flumazenil, tem sido utilizado extensivamente como marcador de fotoafinidade para receptores BZ por apresentar alta afinidade farmacológica e estrutural por receptores diferentes dos ligados por benzodiazepinas convencionais (Katsifis *et al.*, 1999).

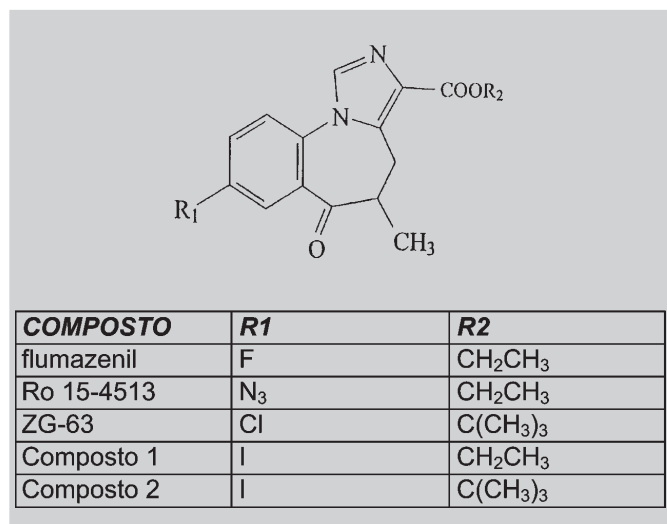


FIGURA 12 - Ligantes para receptores BZ: flumazenil e derivados.

Investigações com [¹¹C]Ro 15-4513 utilizando autorradiografia *in vitro* de cérebros humanos após morte e de macacos *Cynomolgus* com PET indicaram alta captação da atividade no neocórtex, gânglio basal e córtex cerebelar.

Ro 15-4513 e outros agonistas inversos apresentam propriedades como ansiogênese, proconvulsão e ação anoréxica, que são farmacologicamente opostas as do diazepam. Também há relatos de ação cognitiva potencializada e capacidade de antagonizar algumas ações neuroquímicas e fisiológicas do etanol (Katsifis *et al.*, 1999).

O composto bretazenil (Figura 13) apresenta propriedades favoráveis para o estudo de receptores benzodiazepínicos *in vivo*. A presença do grupo *tert*-butil éster e do anel pirrol fundido ao núcleo benzodiazepínico no bretanezil melhoram a estabilidade metabólica da molécula, quando comparado ao iomazenil e flumazenil, como, também, permite a realização de imagens em SPECT e PET, quando marcado com ¹²³I e ⁷⁶Br, respectivamente (Katsifis *et al.*, 2003).

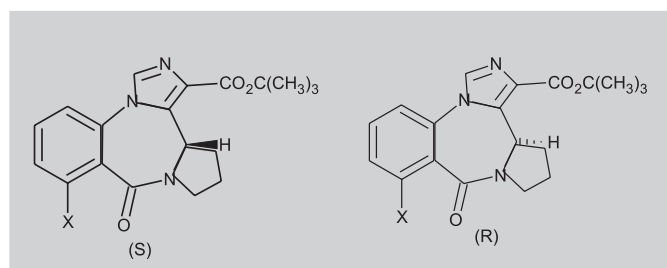


FIGURA 13 - Estruturas químicas do (*S*)-bretanezil e (*R*)-bretanezil (X= Br ou I).

Estudos recentes em instituições brasileiras

No Brasil, o IPEN, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares, autarquia estadual vinculada à Secretaria de Ciência, Tecnologia e Desenvolvimento Econômico do Governo do Estado de São Paulo, gerido, técnica, administrativa e financeiramente pela Comissão Nacional de Energia Nuclear (CNEN), detém o monopólio de produção de radiofármacos, distribuindo para todo o território nacional diversos produtos entre radioisótopos primários, moléculas marcadas e reagentes liofilizados para pronta marcação com ^{99m}Tc.

O IPEN possui um reator de pesquisa e um ciclotron de 30 MeV de prótons destinados à produção de radioisótopos de interesse para produção de radiofármacos.

O desenvolvimento de radiofármacos para interação com receptores cerebrais, utilizando-se radiotraçadores emissores de pósitron de meia-vida ultracurta, tais como ¹¹C, ¹³N ou ¹⁸F, implicaria o desenvolvimento prévio de múltiplos centros produtores do radionuclídeo e detentores de tecnologia automatizada de produção e controle de qualidade. Assim, a obtenção de imagens de receptores cerebrais utilizando-se PET representa uma realidade ainda distante para o Brasil. Apesar disso, a tecnologia de obtenção de imagens em PET foi recentemente implantada em alguns hospitais da cidade de São Paulo, visando ao diagnóstico de tumores específicos, utilizando-se como radiofármaco o [¹⁸F]FDG (fluordesoxiglicose).

Por outro lado, a técnica de SPECT é amplamente utilizada no País e radioisótopos gama-emissores, com características potenciais para utilização em radiotraçadores para mapeamento de receptores cerebrais, tais como o ^{99m}Tc (Araújo, 1995) e ¹²³I, são produzidos rotineiramente pelo IPEN (Colturato *et al.*, 2002).

Apesar da potencialidade para produção de radioisótopos emissores gama com características favoráveis para utilização diagnóstica em SPECT, os radiotraçadores destinados à interação com receptores cerebrais ainda não são utilizados no Brasil, em função das dificuldades de importação dos ligantes ou substratos para marcação, agravadas pelas barreiras protecionistas internacionais.

Por outro lado, a importação do radiofármaco já preparado torna-se inviável tendo em vista as limitações físicas dos radionuclídeos empregados para marcação, como tempo de meia-vida curto (Colturato *et al.*, 2002).

Sob esta perspectiva, o desenvolvimento da metodologia de síntese de ligantes para neurorreceptores benzodiazepínicos possibilitará a realização de estudos de marcação necessários ao desenvolvimento de um novo radiotraçador e, conseqüentemente, produção para atendimento da demanda nacional.

Para tanto, foi estabelecida parceria entre o IPEN, instituição detentora da produção de radionuclídeos, e o Departamento de Tecnologia Bioquímico-Farmacêutica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo, instituição detentora de conhecimento na área de planejamento, síntese e desenvolvimento de fármacos.

Em um dos projetos em andamento, no contexto dessa parceria, tem-se como objetivo a síntese de intermediário-chave, com núcleo benzodiazepínico bromado, que, marcado com radioiodo, resulta no radiotraçador [^{123}I]iomazenil, radiofármaco aplicado em SPECT para investigação de neuropatologias associadas aos receptores benzodiazepínicos (Katsifis, 1999). Além disso, alguns compostos análogos a este radiotraçador, racionalmente planejados, estão sendo sintetizados, visando à obtenção de produtos com características de distribuição biológica melhoradas e com potencial de reserva patentária. O planejamento e desenvolvimento desses análogos conta com forte contribuição dos estudos de QSAR, *Quantitative Structure Activity Relationships*, que vêm sendo utilizado para descrever quali e quantitativamente as relações entre a estrutura química de moléculas e a atividade biológica por elas desempenhadas.

Este estudo visa à quantificação de propriedades físico-químicas, que influenciam a interação dos ligantes com a biofase, dando base para o planejamento de análogos mais específicos, com maior atividade intrínseca ou com melhor perfil farmacológico (Drug Fut., 2002).

Em paralelo, estão sendo estudados, também, os parâmetros de marcação com radioiodo dos análogos sintetizados, objetivando obtenção de radiotraçador com alta pureza radioquímica. Estudos de distribuição biológica dos análogos marcados serão realizados de modo a identificar análogo(s) com características de distribuição biológica compatíveis com a utilização clínica do produto em medicina nuclear diagnóstica.

ABSTRACT

Radioligands for benzodiazepine neuroreceptors

In the last decade several technological advances allowed the biochemical characterization of many specific transmitters and receptors in the brain and the study of the respective interactions. This review focuses the most important radiopharmaceuticals used in diagnostic nuclear medicine to access neuroreceptors. In this case, radioligands are molecules labeled with positron or photon emission (gamma) radioisotopes that interact with a specific neuroreceptor. For in vivo application, these

radioligands must present no toxicity and pharmacological properties in the administered dose. The visualization of the neuroreceptors distribution in brain and the study of the neuroreceptors function is possible using labeled radioligands in diagnostic techniques like positron emission tomography (PET) and single photon emission tomography (SPECT). The same principle can be applied to the investigation of neurochemical abnormalities. This development represents an important tool for the investigation of neurological dysfunction and exploration of functional aspects of the central nervous system.

UNITERMS: Brain radiotracers. Neuroreceptors. Benzodiazepine receptors. Radiopharmaceuticals

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMATAMEY, S.M.; HALLDIN, C.; SWAHN, C.G.; HALL, H.; SCHUBIGER, P.A.; FARDE, L. Synthesis of nor-b-CIT, b-CIT and trimethylstannyl-b-CT. *Nucl. Med. Biol.*, New York, v.22, p.959-964, 1995.
- ARAÚJO, E.B. *Conjuntos de reativos liofilizados de compostos diaminoditiólicos para marcação com tecnécio-99m: estudo farmacocinético e elaboração de modelos compartimentalizados dos respectivos complexos*. São Paulo, 1995, 147p. Tese de Doutorado – Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares.
- BAULIEU, J.L.; GUILLOTEAU, D. Les récepteurs des neurotransmetteurs. In: COMET, M.; VIDAL, M. *Radiopharmaceutiques: chimie des radiotraceurs et applications biologiques*. S.I.: Grenoble Sciences, 1998. p.575-591.
- BEER, H.F.; BLÄUENSTEIN, P.A.; HASLER, P.H.; DELALOYE, B.; RICCABONA, G.; BANGERL, I.; HUNKELER, W.; BONETTI, E.P.; PIERE, L.; RICHARDS, J.G.; SCHUBIGER, P.A. *In vitro* and *in vivo* evaluation of iodine-123-Ro 16-0154: a new imaging agent for SPECT investigations of benzodiazepine receptors. *J. Nucl. Med.*, Reston, v.31, p.1007-1014, 1990.
- BLOOM, E.F. Neurotransmissão e o sistema nervoso central. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E.; MOLINOFF, P.B.; RUDDON, R.W.; GILMAN, A.G., eds. *Goodman & Gilman as bases farmacológicas da terapêutica*. 9.ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana, 1996. p.198-216.

- BOHÓRQUEZ, S.M.S.; LABAR, D.; LEVÊQUE, P.; BOL, A.; VOLDER, A.G.; MICHEL, C.; VERAART, C. [11C] Flumazenil metabolite measurement in plasma is not necessary for accurate brain benzodiazepine receptor quantification. *Eur. J. Nucl. Med.*, Berlin, v.27, p.1674-1683, 2000.
- BOURGUIGNON, M.H.; PAUWELS, E.K.J.; LOC'H, C.; MAZIÈRE, B. Iodine-123 labelled radiopharmaceuticals and single-photon emission tomography: a natural liaison. *Eur. J. Nucl. Med.*, Berlin, v.24, p.331-344, 1997.
- BOVILL, J.G. Mecanismos de anestesia venosa. In: WHITE, P.F., org. *Tratado de anestesia venosa*. Porto Alegre: Artmed, 2001. p.42-59.
- BUSATO, G.F.; PILOWSKY, L.S.; COSTA, D.C.C.; ELL, P.J.; LINGGORD-HUGHES, A.; KERWIN, R.W. *In vivo* imaging of GABA_A receptors using sequential whole-volume iodine-¹²³ iomazenil single-photon emission tomography *Eur. J. Nucl. Med.*, Berlin, v.22, p.12-16, 1995.
- BUSATO, G.F.; PILOWSKY, L.S. Neuroreceptor imaging with PET and SPECT: research and clinical applications. In: KERWIN, R.; DAWBARN, D.; MCCULLOCH, J.; TAMMINGA, C., eds. *Neuroimaging*. Cambridge: Cambridge University Press, 1995. (Cambridge Medical Reviews: neurobiology and psychiatry, v.3 XY/N-1).
- CAMARGO, E.E. Brain SPECT in neurology and psychiatry. *J. Nucl. Med.*, Reston, v.42, p.611-623, 2001.
- CARPINELLI, A.; MATARRESE, M.; MORESCO, R.M.; SIMONELLI, P.; TODDE, S.; MAGNI, F.; KIENLE, M.G.; FAZIO, F. Radiosynthesis of [123I] b-CIT, a selective ligand for the study of the dopaminergic and serotonergic systems in human brain. *Appl. Radiat. Isotop.*, Oxford, v.54, p.93-95, 2001.
- COLEMAN, R.L.; TEMO, J. Benzodiazepínicos. In: WHITE, P.F., org. *Tratado de anestesia venosa*. Porto Alegre: Artmed, 2001. p.91-105.
- COLTURATO, M.T.; MURAMOTO, E.; CARVALHO, O.G.; ARAÚJO, E.B.; SILVA, C.P.G. Optimization of labeling conditions to produce N-isopropyl-p-[¹²³I]-iodoamphetamine: a radiopharmaceutical for brain perfusion imaging. *ALASBIMN J.*, Santiago, v.4, 2002. Disponível em: <http://www2.alasbimnjournal.cl/ alasbimn/CDA/secb/0.1990>. Acesso em: 01 jul. 2002.
- DARGHAM, A.A.; GANDELMAN, M.; ZOGHBI, S.S.; LARUELLE, M.; BALDWIN, R.M.; RANDALL, P.; ZEA-PONCE, Y.; CHARNEY, D.S.; HOFFER, P.B.; INNIS, R.B. Reproducibility of SPECT measurement of benzodiazepine receptors in human brain with iodine-123-iomazenil. *J. Nucl. Med.*, Reston, v.36, p.167-175, 1995.
- DEY, H.M.; SEIBYL, J.P.; STUBBS, J.B.; ZOGHBI, S.S.; BALDWIN, R.M.; SMITH, E.O.; ZUBAL, I.G.; ZEA-PONCE, Y.; OLSON C.; CHARNEY, D.S. Human biodistribution and dosimetry of the SPECT benzodiazepine receptor radioligand iodine-123-iomazenil. *J. Nucl. Med.*, Reston, v.35, p.399-404, 1994.
- DRUGS of the future. Barcelona, v.27, suppl.A, 2002. (Abstracts of the International Symposium on Medicinal Chemistry, 17, Barcelona, 2002).
- FANG, P.; WU, C.; LIU, Z.; WAN, W.; WANG, T.; CHEN, S.; CHEN, Z.; ZHOU, X. The preclinical pharmacologic study of dopamine transporter imaging agent ^{99m}TcTRODAT-1. *Nucl. Med. Biol.*, New York, v.27, p.69-75, 2000.
- FOGED, C.B.; HALLDIN, C.; HILTUNEN, J.; BRAESTRUP, C.; THOMSEN, C.; HANSEN, H.C.; SUHARA, T.; PAULI, S.; SWAHN, C.; KARLSSON, P.; LARSSON, S.; FARDE, L. Development of 123I-labelled NNC 113-8241 as a radioligand for SPECT visualization of benzodiazepine receptor binding. *Nucl. Med. Biol.*, New York, v.23, p.201-209, 1996.
- FOGED, C.; HALLDIN, C.; LOC'H, C.; MAZIÈRE, B.; PAULI, S.; MAZIÈRE, M.; HANSEN, H.C.; SUHARA, T.; SWAHN, C.; KARLLSSON, P.; FARDE, L. Bromine-76 and carbon-11 labelled NNC 13-8199, metabolically stable benzodiazepine receptor agonists as radioligands for positron emission tomography (PET). *Eur. J. Nucl. Med.*, Berlin, v.24, p.1261-1267, 1997.
- GROCH, M.W.; ERWIN, W.D. Single-photon emission computed tomography in the year 2001: instrumentation and quality control. *J. Nucl. Med. Technol.*, Reston, v.29, p.9-15, 2001.
- GÜNTHER, I.; HALL, H.; HALLDIN, C.; SWAHN, C.; FARDE, L.; SEDVALL, G. [125I]b-CIT-FE and [125I]b-CIT_FP are superior to [125I]b-CIT for dopamine transporter visualization: autoradiographic evaluation in the human brain. *Nucl. Med. Biol.*, New York, v.24, p.629-634, 1997.

- HATAZAWA, J.; SATOH, T.; SHIMOSEGAWA, E.; OKUDERA, T.; INUGAMI, A.; OGAWA, T.; FUJITA, H.; NOGUCHI, K.; KANNO, I.; MIURA, S. Evaluation of cerebral infarction with iodine 123-iomazenil SPECT. *J. Nucl. Med.*, Reston, v.36, p.2154-2161, 1995.
- HOBBS, W. R.; RALL, T. W.; VERDOORN, T. A. Hipnóticos e sedativos: etanol. In: HARDMAN, J. G.; LIMBIRD, L. E.; MOLINOFF, P. B.; RUDDON, R. W.; GILMAN, A. G., eds. *Goodman & Gilman as bases farmacológicas da terapêutica*. 9.ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana, 1996. p.264-275.
- HOM, R. K.; KATZENELLENBOGEN, J. A. Technetium-99m-labeled receptor-specific small-molecule radiopharmaceuticals: recent developments and encouraging results. *Nucl. Med. Biol.*, New York, v.24, p.485-498, 1997.
- ISHIBASHI, M.; MATSUIISHI, T.; YONEKURA, Y.; YAMASHITA, Y.; ABE, T.; OHNISHI, Y.; HAYABYUCHI, N. Decreased benzodiazepine receptor binding in Machado-Joseph disease. *J. Nucl. Med.*, Reston, v.39, p.1518-1520, 1998.
- KATSIFIS, A.; MARDON, K.; MCPHEE, M.; MATTNER, F.; DIKIC, B.; RIDLEY, D. Synthesis and evaluation of [¹²³I]labelled analogues of the partial inverse agonist Ro 15-4513 for the study of diazepam-insensitive benzodiazepine receptors. *Nucl. Med. Biol.*, New York, v.26, p.641-649, 1999.
- KATSIFIS, A.; MARDON, K.; MATTNER, F.; LOC'H, C.; MCPHEE, M.; DIKIE, B.; KASSIOU, M.; RIDLEY, D. Pharmacological evaluation of (S)-8-[¹²³I]iodobretanezil: a radioligand for *in vivo* studies of central benzodiazepine receptors. *Nucl. Med. Biol.*, New York, v.30, p.191-198, 2003.
- KORPI, E. R.; GRÜNDER, G.; LÜDDENS, H. Drug interactions at GABA_A receptors. *Prog. Neurobiol.*, Oxford, v.67, p.113-159, 2002.
- KUKICHI, K.; HASHIKAWA, K.; SEIKE, Y.; MORIWAKI, H.; OKU, N.; ISHIDA, M.; FUJITA, M.; UEHARA, T.; TANABE, H.; KUSUOKA, H.; NISHIMURA, T. Comparison of iodine-123-iomazenil SPECT and technetium-99m-HMPAO_SPECT in Alzheimer's disease. *J. Nucl. Med.*, Reston, v.3, p.467-470, 1997.
- KUIKKA, J. T.; HILTUNEN, J.; FOGED, C.; BERGSTRÖN, K. A.; HALLDIN, C.; AKERMAN, K.; TIHONEN, J.; FARDE, L. Initial human studies with single-photon emission tomography using iodine-123 labelled 3-(5-cyclopropyl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)-7-iodo-5,6-dihydro-5-methyl-6-oxo-4H-imidazo[1,5-a][1,4]-benzodiazepine (NNC 13-8241). *Eur. J. Nucl. Med.*, Berlin, v.23, p.798-803, 1996.
- LESLIE, W. D.; ABRAMS, D. N.; GREENBERG, C. R.; HOBSON, D. Comparison of iodine-123-epidepride and iodine-123-IBZM for dopamine D2 receptor imaging. *J. Nucl. Med.*, Reston, v.37, p.1589-1591, 1996.
- MAZIÈRE, B.; MAZIÈRE, M. Where have we got to with neuroreceptor mapping of the human brain? *Eur. J. Nucl. Med.*, Berlin, v.16, p.817-835, 1990.
- MORIWAKI, H.; MATSUMOTO, M.; HASHIKAWA, K.; OKU, N.; ISHIDA, M.; SEIKE, Y.; FUKUCHI, K.; HORI, M.; NISHIMURA, T. Iodine-123-iomazenil and iodine 123-iodiamphetamine SPECT in major cerebral artery occlusive disease. *J. Nucl. Med.*, Reston, v.39, p.1348-1353, 1998.
- ODANO, I.; ANEZAKI, T.; OHKUBO, M.; YONEKURA, Y.; ONISHI, Y.; INUZUKA, T.; TAKAHASHI, M.; TSUJI, S. Decrease in benzodiazepine receptor binding in a patient with Angelman syndrome detected by iodine-123 iomazenil and single-photon emission tomography. *Eur. J. Nucl. Med.*, Berlin, v.23, p.598-604, 1996.
- ONISHI, Y.; YONEKURA, Y.; MUKAI, T.; NISHIZAWA, S.; TANAKA, F.; OKAZAWA, H.; ISHIZU, K.; FUJITA, T.; SHIBASAKI, H.; KONISHI, J. Simple quantification of benzodiazepine receptor binding and ligand transport using iodine-123-iomazenil and two SPECT scans. *J. Nucl. Med.*, New York, v.36, p.1201-1210, 1995.
- ONISHI, Y.; YONEKURA, Y.; NISHIZAWA, S.; TANAKA, F.; OKAZAWA, H.; ISHIZU, K.; FUJITA, T.; KONISHI, J.; MUKAI, T. Noninvasive quantification of iodine-123-iomazenil SPECT. *J. Nucl. Med.*, Reston, v.37, p.374-378, 1996.
- PASSCHIER, J.; WAARDE, A. V. Visualization of serotonin-1A(5-HT_{1A}) receptors in the central nervous system. *Eur. J. Nucl. Med.*, Berlin, v.28, p.113-129, 2001.

- PIKE, V. W.; HALLDIN, C.; CROUZEL, C.; BARRÉ, L.; NUTT, D. J.; OSMAN, S.; SHAH, F.; TURTON, D. R.; WATERS, S. L. Radioligands for PET studies of central benzodiazepine receptors and PK (Peripheral benzodiazepine) binding sites- current status. *Nucl. Med. Biol.*, New York, v.20, p.503-525, 1993.
- PIETZSCH, H. J.; SCHEUNEMANN, M.; KRETZSCHMAR, M.; ELZ, S.; PERTZ, H. H.; SEIFERT, S.; BRUST, P.; SPIES, H.; SYHRE, R.; JOHANNSEN, B. Synthesis and autoradiographic evaluation of a novel high-affinity Tc-99m ligand for the 5-HT_{2A} receptor. *Nucl. Med. Biol.*, New York, v.26, p.865-875, 1999.
- SANDELL, J.; HALLDIN, C.; PIKE, V.W.; CHOU, Y.-H.; VARNAS, K.; HALL, H.; MARCHAIS, S.; NOWICKI, B.; WIKSTROM, H. V.; SWAHN, C.-G.; FARDE, L. New halogenated [¹¹C] WAY analogues, [¹¹C] 6 FPWAY and [¹¹C] 6 BPWAY- Radiosynthesis and assessment as radioligands for the study of brain 5-HT_{1A} receptors in living monkey. *Nucl. Med. Biol.*, New York, v.28, p.177-185, 2001.
- SASAKI, M.; YCHIYA, Y.; KUWABARA, Y.; YOSHIDA, T.; FUKUMURA, T.; MASUDA, K. Benzodiazepine receptors in chronic cerebrovascular disease: comparison with blood flow and metabolism. *J. Nucl. Med.*, Reston, v.38, p.1693-1698, 1997.
- STAHL, S. M. Princípios da neurotransmissão química. In: _____. *Psicofarmacologia: base neurocientífica e aplicações práticas*. 2.ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2002. p.1-33.
- STAHL, S. M. Ansiolíticos e hipnóticos-sedativos. In: _____. *Psicofarmacologia: base neurocientífica e aplicações práticas*. 2.ed. Rio de Janeiro: Medsi, 2002. p.289-324.
- TREVOR, A. J. Drogas sedativo-hipnóticas. In: KATSUNG, B.G. *Farmacologia básica e clínica*. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. p.255-266.

Recebido para publicação em 29 de abril de 2003.