



(11) Número de Publicação: PT 799210 E

(51) Classificação Internacional: (Ed. 6 )

C07D241/02 A A61K031/495 B  
C07D401/12 B C07D471/04 B

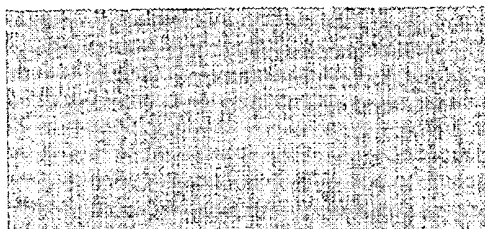
(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO

|                                                  |                                                                                                                                                  |
|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| (22) Data de depósito: 1995.12.22                | (73) Titular(es):<br>XENOVA LIMITED<br>240 BATH ROAD SLOUGH BERKSHIRE SL1 4EF GB                                                                 |
| (30) Prioridade: 1994.12.23 GB 9426090           |                                                                                                                                                  |
| (43) Data de publicação do pedido:<br>1997.10.08 | (72) Inventor(es):<br>PHILIP ANTHONY ASHWORTH GB<br>SUKHJIT HUNJAN GB<br>IAN ANDREW PRETSWELL GB<br>HAMISH RYDER GB<br>STEPHEN JAMES BROCCINI US |
| (45) Data e BPI da concessão:<br>2001.08.22      | (74) Mandatário(s):<br>ANTÓNIO JOÃO COIMBRA DA CUNHA FERREIRA<br>RUA DAS FLORES 74 4/AND. 1294 LISBOA PT                                         |

(54) Epígrafe: DERIVADOS DE PIPERAZINA-2,5-DIONA COMO MODULADORES DE RESISTÊNCIA A MÚLTIPLAS DROGAS

(57) Resumo:

DERIVADOS DE PIPERAZINA-2,5-DIONA COMO MODULADORES DE  
RESISTÊNCIA A MÚLTIPLAS DROGAS





## DESCRIÇÃO

### **“Derivados de piperazina-2,5-diona como moduladores de resistência a múltiplas drogas”**

A presente invenção refere-se a compostos úteis como moduladores de resistência a múltiplas drogas (MDR), à sua preparação e a composições farmacêuticas e veterinárias que as contêm.

A resistência de tumores ao tratamento com certos agentes citotóxicos é um obstáculo ao tratamento quimioterapêutico bem sucedido de pacientes com cancro. Um tumor pode adquirir resistência a um agente citotóxico utilizado num tratamento anterior. Um tumor pode também manifestar uma resistência intrínseca, ou resistência cruzada, para um agente citotóxico ao qual não tenha sido exposto anteriormente, não estando esse agente relacionado, por estrutura ou mecanismo de acção, com qualquer outro agente utilizado em tratamentos anteriores do tumor.

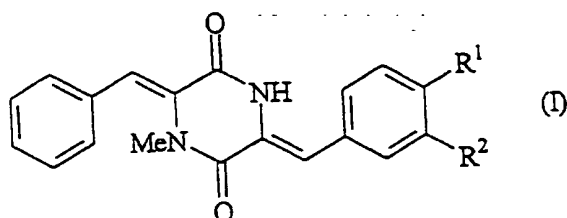
Analogamente, certos agentes patogénicos podem adquirir resistência para agentes farmacêuticos utilizados em tratamentos anteriores das doenças ou perturbações a que esses agentes patogénicos dão origem. Os agentes patogénicos podem também manifestar uma resistência intrínseca, ou resistência cruzada, para agentes farmacêuticos aos quais não tenham sido expostos anteriormente. Exemplos deste efeito incluem formas resistentes a múltiplas drogas de malária, tuberculose, leishmaniose e disenteria amibica.

Os fenómenos acima são referidos colectivamente como resistência a múltiplas drogas (MDR). Como discutido em maior detalhe adiante, uma glicoproteína de membrana plasmática (P-gp) está implicada no mecanismo que está na base da MDR. A P-gp possui propriedades de ligação a drogas. Certos agentes que possuem a capacidade de modular a MDR podem portanto ser também úteis para facilitar a administração de drogas através da barreira sanguínea cerebral e o tratamento da SIDA e do complexo relacionado com a SIDA.

As desvantagens das drogas que têm sido utilizadas até agora para modular a MDR, denominadas agentes modificadores de resistência ou RMA, são o facto de frequentemente possuírem um perfil farmacocinético fraco e/ou de serem tóxicas nas concentrações requeridas para a modulação da MDR.

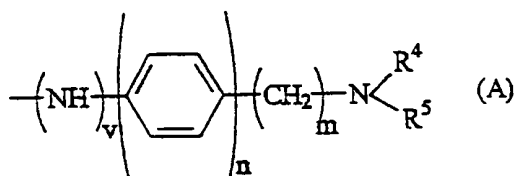
A WO94/04513 revela uma série de derivados de piperazinadiona que são moduladores da resistência a múltiplas drogas e assim têm utilidade em potenciar o efeito citotóxico de um agente quimioterápêutico. Verificou-se agora que uma outra série de derivados de piperazinadiona possuem actividade como moduladores da resistência a múltiplas drogas.

A presente invenção proporciona portanto um derivado de piperazinadiona de fórmula (I):



em que  $R^1$  é seleccionado de entre:

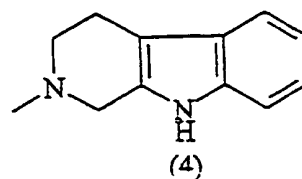
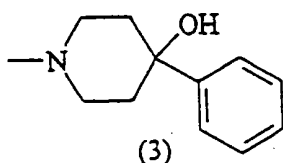
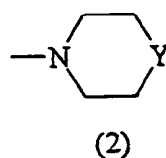
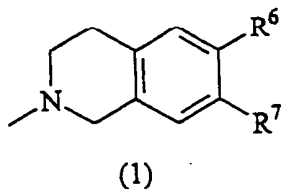
- hidrogénio; e
- um grupo de fórmula  $-(NH)_t-COR^3$  em que  $t$  é 0 e  $R^3$  é um grupo de fórmula:



em que  $v$  é 1; e

em que  $n$  é 0 ou 1 e  $m$  é 0, 1, 2 ou 3, sendo pelo menos um de entre  $n$  e  $m$  outro que não 0, e

$R^4$  e  $R^5$ , em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão ligados, formam um grupo heterocíclico seleccionado entre (1) a (4):



em que  $R^6$  e  $R^7$ , que são iguais ou diferentes, são H ou alcoxi  $C_1-C_6$  ou  $R^6$  e  $R^7$  formam em conjunto um grupo metilenodioxí; e Y é O ou  $-NR^8$  em que  $R^8$  é alquilo  $C_1-C_6$  ou um grupo fenilo opcionalmente substituído com  $CF_3$ ;

e  $R^2$  é hidrogénio ou um grupo de fórmula  $-COR^3$ , tal como definido acima, desde que um de entre  $R^1$  e  $R^2$  seja hidrogénio e o outro não seja hidrogénio; ou um sal farmacologicamente aceitável seu derivado.

Um grupo alquilo pode ser linear ou ramificado. Um grupo alquilo  $C_1-C_6$  é tipicamente um grupo alquilo  $C_1-C_4$ , por exemplo, um grupo metilo, etilo, propilo, i-propilo, n-butilo, sec-butilo ou terc-butilo. Um grupo alcoxi  $C_1-C_6$  é tipicamente um grupo alcoxi  $C_1-C_4$ , por exemplo, um grupo metoxi, etoxi, propoxi, i-propoxi, n-butoxi, sec-butoxi ou terc-butoxi.

No grupo de fórmula  $-(NH)_t-COR^3$ , t é 0, caso em que o grupo tem a fórmula  $-COR^3$ . O número inteiro v na fórmula (A) é 1. Com  $R^3$  como um grupo de fórmula (A), n é tipicamente 1 e m é 0, 1, 2 ou 3, ou n é 0 e m é 2.

Quando  $R^4$  e  $R^5$  em conjunto formam o anel heterocíclico (1),  $R^6$  e  $R^7$  são tipicamente o mesmo e são, preferivelmente, hidrogénio ou metoxi, ou em conjunto formam um grupo metilenodioxí. Quando  $R^4$  e  $R^5$  em conjunto formam o anel heterocíclico (2), Y é O ou  $-NR^8$  em que  $R^8$  é preferivelmente metilo, fenilo ou 3-trifluorometilfenilo.

Numa primeira concretização da fórmula (I),  $R^1$  é hidrogénio e  $R^2$  é um grupo de fórmula  $-COR^3$ .

Numa segunda concretização da fórmula (I),  $R^2$  é hidrogénio e  $R^1$  é um grupo de fórmula  $-COR^3$ .

Na fórmula (A), na primeira e segunda concretizações descritas acima, prefere-se que  $n$  seja 0 e  $m$  seja 2, ou  $n$  seja 1 e  $m$  seja 0, 1, 2 ou 3 ou  $n$  seja 1 e  $m$  seja 0 e que  $R^4$  e  $R^5$  formem, em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão ligados, um grupo heterocíclico seleccionado de entre os grupos de fórmulas: (1) em que  $R^6$  e  $R^7$  são ambos H ou ambos alcoxi  $C_1-C_6$ , ou em que  $R^6$  e  $R^7$  em conjunto formam um grupo metilenodioxio; (2) em que Y é O ou  $-NR^8$  em que  $R^8$  é metilo, fenilo ou trifluorometilfenilo; (3); e (4).

Preferivelmente,  $R^4$  e  $R^5$  formam em conjunto um anel heterocíclico (1) em que  $R^6$  e  $R^7$  são ambos H ou ambos OMe, ou em conjunto formam um grupo metilenodioxio.

Exemplos de compostos preferidos de fórmula (I) são os seguintes:

Cloridrato de N-(4-(4-fenil-1-piperazinil)etilfenil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)etilbenzamida (9104)

N-(2-(4-metil-1-piperazinil)etil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)etilbenzamida (9007)

Cloridrato de N-(2-morfolinoetil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)etilbenzamida (9053)

Cloridrato de N-(4-morfolinofenil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)etilbenzamida (9054)

N-(4-(2-(1,2,3,4-tetra-hidro- $\beta$ -carbolin-2-il)etil)fenil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)etilbenzamida (9080)

N-(4-(1,2,3,4-tetra-hidro- $\beta$ -carbolin-2-il)etilfenil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)etilbenzamida (9096)



N-(4-(2-(4-fenil-1-piperazinil)etil)fenil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9103)

N-(4-(2-(1,2,3,4-tetra-hidro-2-isoquinolil)etil)fenil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9065)

N-(4-(2-(4-(3-trifluorometilfenil)-1-piperazinil)etil)fenil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9049)

N-(4-(2-(6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidro-2-isoquinolil)etil)fenil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9006)

N-(2-(6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidro-2-isoquinolil)etil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9008)

Cloridrato de N-(4-(6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidro-2-isoquinolil)etilfenil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9064)

Cloridrato de N-(4-(2-(6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidro-2-isoquinolil)etil)fenil)-3-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9051)

N-(4-(6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidro-2-isoquinolil)etilfenil)-3-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9128)

N-(2-(6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidro-2-isoquinolil)etil)-3-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9136)

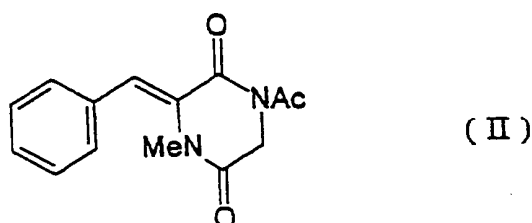
N-(4-(2-(4-fenil-1-piperazinil)etil)fenil)-3-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9083)

Cloridrato de N-(4-(3-(6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidro-2-isoquinolil)propil)fenil)-3-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9161)

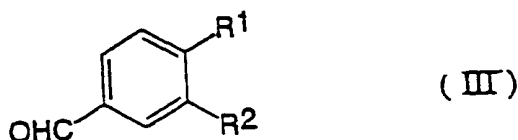
1-(4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzoil)-4-(6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidroisoquinolil)metilpiperidina (9200);

e os seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

Os compostos de fórmula (I) são produzidos por um processo que compreende o tratamento de 1-acetil-3-benzilideno-4-metil-2,5-piperazinadiona, que tem a fórmula (II):



com um aldeído com a fórmula (III) seguinte:



em que R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup> são tal como definidos para a fórmula (I), num solvente orgânico na presença de uma base; e, se desejado, a conversão do composto resultante num sal seu derivado farmacologicamente aceitável.

As bases adequadas incluem carbonato de cézio, carbonato de sódio, carbonato de potássio, hidreto de sódio, t-butoxido de potássio e trietilamina.

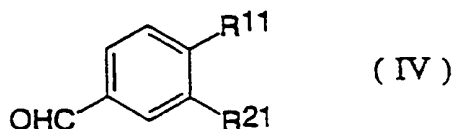
Os solventes orgânicos adequados incluem dimetilformamida (DMF), tetra-hidrofurano (THF) e no caso de t-butoxido de potássio, t-butanol e suas misturas.

Quando se utiliza a DMF como solvente, a temperatura está tipicamente compreendida entre 0°C e a temperatura de refluxo, por exemplo, desde 80°C a 95°C, quando se utiliza carbonato de cézio como base.

Quando se utiliza hidreto de sódio ou t-butoxido de potássio como base, a mistura reaccional é tipicamente aquecida desde 0°C até à temperatura ambiente ou até 40°C.

A duração da reacção pode ser desde 1 a 4 horas, por exemplo desde 2 a 3 horas.

O composto de fórmula (II) pode ser preparado como descrito no Exemplo de Referência 1 que se segue. Os compostos de fórmula (III) podem ser preparados a partir de materiais de partida comercialmente disponíveis por métodos convencionais, dependendo o material de partida particular e o método empregues da identidade do aldeído. Por exemplo, um aldeído de fórmula (III) em que um de entre  $R^1$  e  $R^2$  seja hidrogénio e o outro seja um grupo de fórmula  $-COR^3$ , tal como definido acima, pode ser preparado por um processo que compreende o tratamento de um composto de fórmula (IV):



em que um de entre  $R^{11}$  e  $R^{21}$  é hidrogénio e o outro é  $-COOH$ ,  $-COX$  em que  $X$  é um halogéneo ou  $-CO(OCOR')$  em que  $R'$  é alquilo  $C_1-C_6$ , com uma amina de fórmula



em que  $R^3$  é tal como definido acima, num solvente orgânico inerte, sendo a reacção efectuada na presença de um agente de acoplamento quando  $R^{11}$  ou  $R^{21}$  são  $-COOH$ .

Os agentes de acoplamento adequados para utilização quando  $R^{11}$  ou  $R^{12}$  são  $-COOH$ , incluem 1,3-diciclo-hexilcarbodi-imida, meto-p-toluenossulfonato de 1-ciclo-hexil-3-(2-morfolinoetil)carbodi-imida e iodeto de 2-cloro-1-metilpiridínio.

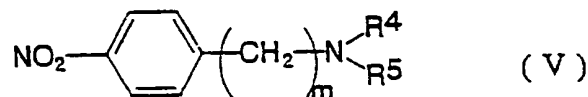
Quando  $R^{11}$  ou  $R^{21}$  são um grupo  $-COX$  ou  $-CO(OCOR')$  tal como definido acima, a reacção é opcionalmente conduzida na presença de uma base, por exemplo uma amina terciária tal como  $Et_3N$  ou piridina. O solvente é então, adequadamente, diclorometano.

Os compostos activados de fórmula (IV) em que  $R^{11}$  ou  $R^{21}$  é  $-\text{COX}$  ou  $-\text{CO}(\text{OCOR}')$ , podem ser preparados a partir do composto correspondente de fórmula (IV) em que  $R^{11}$  ou  $R^{21}$ , respectivamente, é o grupo carboxi  $-\text{COOH}$ , por métodos convencionais que são rotina em síntese orgânica.

Por exemplo, os compostos em que  $R^{11}$  ou  $R^{21}$  é  $-\text{COX}$ , podem ser preparados por tratamento do composto carboxi com um agente de halogenação, por exemplo um agente de cloração tal como  $\text{SOCl}_2$ ,  $\text{PCl}_3$ , cloreto de oxalilo ou  $\text{PCl}_5$ .

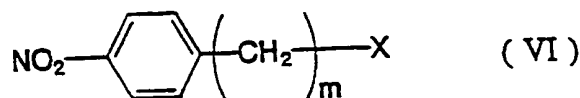
Os compostos em que  $R^{11}$  ou  $R^{21}$  é  $-\text{CO}(\text{OCOR}')$ , podem ser preparados por tratamento do composto carboxi com um haloformato de alquilo  $\text{C}_1\text{-C}_6$ , na presença de uma amina terciária, por exemplo  $\text{EtOCOCI}$  ou  $\text{iBuOCOCI}$ , na presença de  $\text{Et}_3$ . Neste caso é geralmente conveniente tratar a mistura resultante directamente com a amina  $\text{H-R}^3$ .

Quando  $\text{R}^3$  é um grupo de fórmula (A), tal como definido acima, em que  $n$  é 1 e  $v$  é 1, a amina  $\text{H-R}^3$  pode ser preparada por redução do composto nitro correspondente de fórmula (V):

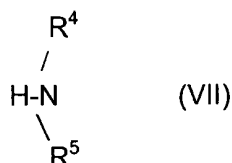


em que  $m$ ,  $\text{R}^4$  e  $\text{R}^5$  são tal como definidos acima para a fórmula (A). A redução pode adequadamente ser efectuada usando pó de ferro e ácido clorídrico concentrado em metanol, tipicamente sob refluxo. Em alternativa, a redução pode ser efectuada usando hidrogénio sobre um catalisador de paládio sobre carvão.

Um composto de fórmula (V) pode ser preparado por tratamento de um composto com a seguinte fórmula (VI):

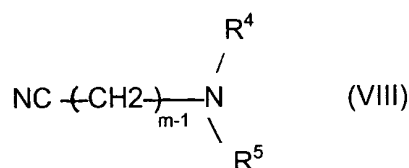


em que m é tal como definido na fórmula (V) e X é um halogéneo, com uma amina de fórmula (VII):



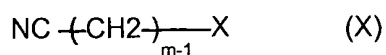
em que R<sup>4</sup> e R<sup>5</sup> são tal como definidos acima para a fórmula (A), num solvente orgânico na presença de base. O solvente orgânico é tipicamente DMF ou acetonitrilo e a base é tipicamente K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. A temperatura está tipicamente entre a temperatura ambiente e 100°C, por exemplo entre 60°C e 80°C. A duração da reacção é usualmente de 1 a 30 horas, por exemplo 2 a 24 horas, tipicamente desde cerca de 8 horas a cerca de 12 horas.

Quando R<sup>3</sup> é um grupo de fórmula (A), tal como definido acima, em que n é 0 e v é 1, a amina H-R<sup>3</sup> pode ser preparada por redução do nitrilo correspondente de fórmula (VIII):

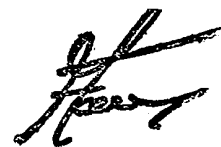


em que m é 1, 2 ou 3 e R<sup>4</sup> e R<sup>5</sup> são tal como definido acima para a fórmula (A). A redução pode ser efectuada adequadamente com LiAlH<sub>4</sub> em éter etilenoglicol dimetilico, a uma temperatura entre 0°C e 40°C, tipicamente aquecendo desde 0°C até à temperatura ambiente, por exemplo de 0°C a 20°C. Outras aminas H-R<sup>3</sup>, podem ser preparadas por métodos análogos usando materiais de partida conhecidos, ou são produtos comercialmente disponíveis.

Um nitrilo de fórmula (VIII) pode ser preparado por tratamento de um composto de fórmula (VII) tal como definido acima, com um composto de fórmula (X):



em que X é um halogéneo e m é definido tal como para a fórmula (VIII), num solvente orgânico na presença de uma base. O solvente é adequadamente



acetonitrilo. A base pode ser, por exemplo,  $K_2CO_3$ . A reacção é tipicamente realizada à temperatura de refluxo do solvente, por um período compreendido entre 1 e 30 horas, por exemplo de 1 hora a 20 horas.

Os compostos de fórmula (I) podem ser convertidos em sais farmacologicamente aceitáveis e os sais podem ser convertidos no composto livre por métodos convencionais. Os sais adequados incluem sais com ácidos inorgânicos ou orgânicos farmacologicamente aceitáveis. Exemplos de ácidos inorgânicos incluem ácido clorídrico, ácido sulfúrico e ácido ortofosfórico. Exemplos de ácidos orgânicos incluem ácido p-toluenossulfónico, ácido metanossulfónico, ácido mícico e ácido succínico.

As células cancerosas que exibem resistência a múltiplas drogas, referidas como células MDR, revelam uma redução na acumulação intracelular de droga, comparativamente às células correspondentes sensíveis a drogas. Estudos, utilizando linhas celulares MDR derivadas in vitro, demonstraram que a MDR está frequentemente associada a uma expressão aumentada de uma glicoproteína de membrana plasmática (P-gp) que possui propriedades de ligação a drogas. Pensa-se que a P-gp actua como uma bomba de efluxo para muitos compostos hidrófobos e estudos de transfecção usando P-gp clonada demonstraram que esta sobre-expressão pode conferir o fenótipo MDR às células: ver, por exemplo, Ann. Rev. Biochem 58 137-171 (1989).

Uma das principais funções da P-gp em tecidos normais é exportar toxinas intracelulares para fora da célula. Há evidência que sugere que a sobre-expressão da P-gp pode desempenhar um papel clínico na resistência a múltiplas drogas. Níveis elevados de ARNm, ou proteína, P-gp foram detectados em muitas formas de cancro humano – leucemias, linfomas, sarcomas e carcinomas. De facto, nalguns casos verificou-se que os níveis de P-gp se encontravam aumentados em biópsias de tumores, após recaídas pós-quimioterapia.

A inibição da função da P-gp na MDR mediada por P-gp, revelou conduzir a uma acumulação de agente anti-cancro nas células. Por exemplo o Verapamil, um inibidor conhecido do canal do cálcio, demonstrou sensibilizar células MDR para os alcalóides da Vinca in vitro e in vivo: Cancer Res., 41, 1967-1972 (1981). O mecanismo de acção proposto envolve a competição com o agente anti-cancro para ligação à P-gp. Foi descrita uma variedade de agentes modificadores de resistência, estruturalmente não relacionados, que actuam por este mecanismo, tal



como o tamoxifeno (Nolvadex: ICI) e compostos relacionados e a ciclosporina A e derivados.

Os compostos de fórmula I e os seus sais farmaceuticamente aceitáveis (aqui em seguida referidos como os "presentes compostos") demonstraram em testes biológicos possuir actividade na modulação da resistência a múltiplas drogas. Os resultados são apresentados no Exemplo 3 que se segue. Os presentes compostos podem assim ser utilizados como agentes modificadores da resistência a múltiplas drogas, também denominados agentes modificadores de resistência, ou RMA. Os presentes compostos podem modular, e.g. reduzir ou eliminar a resistência a múltiplas drogas.

Os presentes compostos podem portanto ser utilizados num método de potenciação da citotoxicidade de um agente que seja citotóxico para uma célula de tumor. Esse método compreende, por exemplo, a administração de um dos presentes compostos à célula de tumor enquanto a célula de tumor é exposta ao agente citotóxico em questão. O efeito terapêutico de um agente quimioterapêutico, ou antineoplásico, pode assim ser aumentado. A resistência a múltiplas drogas de uma célula de tumor para um agente citotóxico durante a quimioterapia pode ser reduzida ou eliminada.

Os presentes compostos podem também ser utilizados num método de tratamento de uma doença no qual o agente patogénico em causa exiba resistência a múltiplas drogas, por exemplo formas de malária (Plasmodium falciparum), tuberculose, leishmaniose e disenteria amibica, resistentes a múltiplas drogas. Esse método compreende por exemplo, a administração de um dos presentes compostos com (separadamente, simultaneamente ou sequencialmente) a droga em relação à qual o agente patogénico em questão exibe resistência a múltiplas drogas. O efeito terapêutico da droga pode assim ser aumentado.

Um paciente animal ou humano abrigando um tumor pode ser tratado da resistência a um agente quimioterapêutico, por um método compreendendo a administração de um dos presentes compostos. O presente composto é administrado numa quantidade eficaz para potenciar a citotoxicidade do referido agente quimioterapêutico. Exemplos de agentes quimioterapêuticos ou antineoplásicos que são preferidos no contexto da presente invenção incluem alcalóides da Vinca tais como a vincristina e a vinblastina; antibióticos de



antraciclina tais como daunorubicina e doxorubicina; mitoxantrona; actinomicina D; taxanos, e.g. taxol; epipodofilotoxinas, e.g. etopopósido e plicamicina.

Adicionalmente, um paciente animal ou humano que sofra de uma doença na qual o agente patogénico responsável exiba resistência a múltiplas drogas, pode ser tratado da resistência a um agente terapêutico por um método compreendendo a administração de um dos presentes compostos.

Exemplos de tais doenças incluem formas de malária (Plasmodium falciparum), tuberculose, leishmaniose e disenteria amibica, resistentes a múltiplas drogas.

Os moduladores de MDR têm também utilidade na administração de drogas através da barreira sanguínea cerebral e no tratamento da SIDA e do complexo relacionado com a SIDA. Os presentes compostos podem portanto ser utilizados num método para facilitar a administração de drogas através da barreira sanguínea cerebral e para o tratamento da SIDA e do complexo relacionado com a SIDA. Um paciente animal ou humano, necessitado desse tratamento, pode ser tratado por um método compreendendo a administração de um dos presentes compostos.

Os presentes compostos podem ser administrados numa variedade de formas de dosagem, por exemplo, oralmente tal como na forma de comprimidos, cápsulas, comprimidos revestidos com açúcar ou com uma película, soluções ou suspensões líquidas, ou parentericamente, por exemplo intramuscularmente, intravenosamente ou subcutaneamente. Os presentes compostos podem portanto ser administrados por injeção ou infusão.

A dosagem depende de vários factores incluindo a idade, peso e condição do paciente e da via de administração. Tipicamente, no entanto, a dosagem adoptada para cada via de administração, quando um composto da invenção é administrado sozinho a humanos adultos, é de 0,001 a 50 mg/kg, mais comumente na gama de 0,01 a 5 mg/kg, de peso corporal. Uma tal dosagem pode ser administrada, por exemplo, de 1 a 5 vezes por dia por infusão de uma só vez, infusão ao longo de várias horas e/ou administração repetida.

Um derivado de piperazinadiona de fórmula (I) ou um sal derivado farmaceuticamente aceitável é formulado para utilização como composição farmacêutica ou veterinária, compreendendo também um veículo ou diluente



farmaceuticamente ou veterinariamente aceitável. As composições são tipicamente preparadas seguindo métodos convencionais e são administradas numa forma farmaceuticamente ou veterinariamente aceitável. É assim proporcionado um agente para utilização como modulador de resistência a múltiplas drogas compreendendo qualquer um dos presentes compostos.

Por exemplo, as formas orais sólidas podem conter, em conjunto com o composto activo, diluentes tais como lactose, dextrose, sacarose, celulose, amido de milho ou amido de batata; lubrificantes tais como sílica, talco, ácido esteárico, estearato de magnésio ou de cálcio e/ou polietilenoglicóis; agentes ligantes tais como amidos, gomas arábicas, gelatina, metilcelulose, carboximetilcelulose, ou polivinilpirrolidona; agentes desintegrantes tais como amido, ácido algínico, alginatos ou glicolato de amido e sódio; misturas efervescentes; corantes, edulcorantes; agentes humidificantes tais como lecitina, polisorbatos, laurilsulfatos. Tais preparações podem ser manufacturadas de maneiras conhecidas, por exemplo, por meio de processos de mistura, granulação, compressão, revestimento com açúcar ou revestimento com películas.

As dispersões líquidas para administração oral podem ser xaropes, emulsões e suspensões. Os xaropes podem conter como veículo, por exemplo, sacarose ou sacarose com glicerol e/ou manitol e/ou sorbitol. Em particular, um xarope para pacientes diabéticos pode conter como veículos apenas produtos, por exemplo sorbitol, que não sejam metabolizados em glucose ou que sejam apenas metabolizados em glucose numa pequena quantidade. As suspensões podem conter como veículo, por exemplo, uma goma natural, ágar, alginato de sódio, pectina, metilcelulose, carboximetilcelulose ou poli(álcool vinílico).

As suspensões ou soluções para injeções intramusculares podem conter, em conjunto com o composto activo, um veículo farmaceuticamente aceitável tal como água estéril, azeite, oleato de etilo, glicóis tais como propilenoglicol e, se desejado, uma quantidade adequada de cloridrato de lidocaína. Alguns dos presentes compostos são insolúveis em água. Esses compostos podem ser encapsulados em lipossomas.

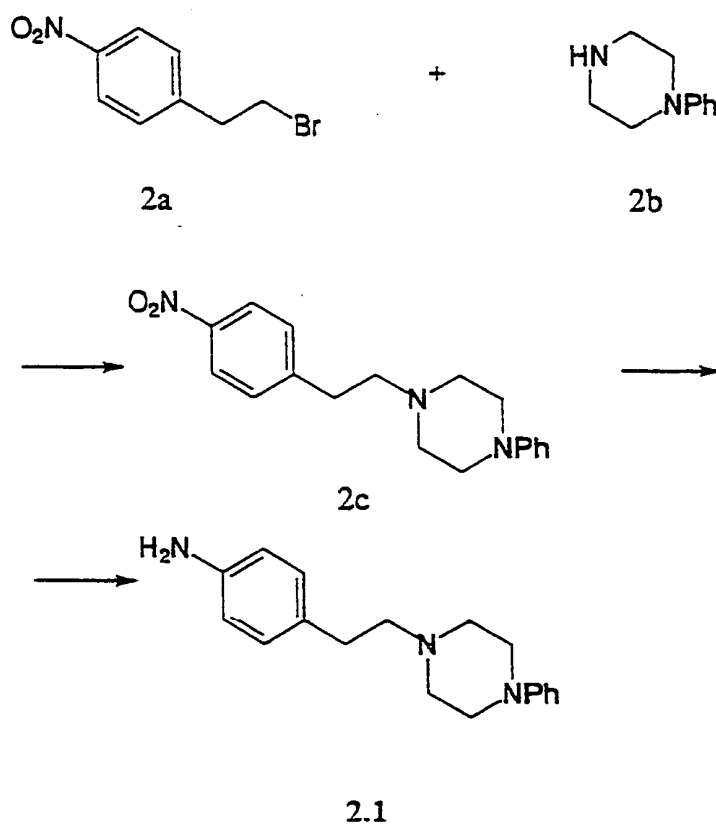
A invenção será ilustrada mais completamente nos Exemplos que se seguem.

Exemplo de Referência 1: 1-acetil-3-benzilideno-4-metil-2,5-piperazinadiona.

Tratou-se 1,4-diacetil-2,5-piperazinadiona (descrita por Marcuccio e Elix em Aust. J. Chem., 1984, 37, 1791) (25,0 g, 126 mmol) a 130°C em DMF (200 ml), com trietilamina (17,6 ml, 126 mmol) e benzaldeído (13,0 ml, 126 mmol). Após 4 horas, a mistura foi arrefecida até à temperatura ambiente e vertida em EtOAc (1000 ml) e lavada 3 vezes com salmoura. Qualquer sólido formado neste passo foi removido por filtração. O filtrado foi seco (MgSO<sub>4</sub>) e o solvente foi removido em vácuo. O resíduo foi recristalizado em EtOAc:Hexano para dar 11,78 g (38%) de 1-acetil-3-benzilideno-2,5-piperazinadiona.

O composto anterior foi tratado com NaH e MeI em DMF: THF (1:5) a uma temperatura de 0°C e deixado aquecer até à temperatura ambiente para dar o composto do título com um rendimento de 57%.

Exemplo de Referência 2: Preparação de aminas H-R<sup>3</sup> por meio de nitrobenzeno substituído.



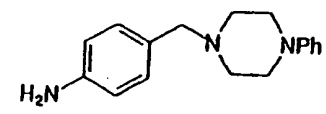
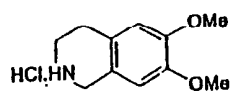
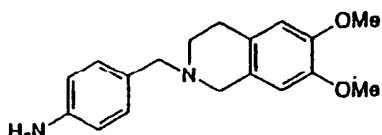
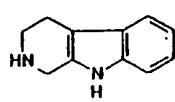
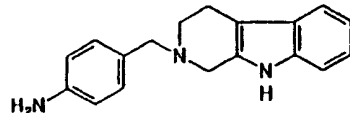
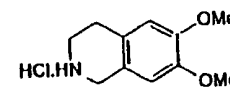
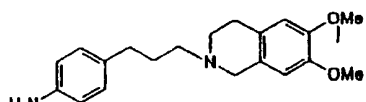
Tratou-se 4-bromoetilnitrobenzeno (2a) com 1-fenilpiperazina (2b) na presença de  $K_2CO_3$  em DMF a  $80^\circ C$ , durante 8 horas. O composto 2c foi obtido com um rendimento de 58%. O composto 2c foi então reduzido por tratamento com pó de ferro e HCl concentrado em MeOH sob refluxo durante 3 horas. A amina desejada 2.1 foi obtida com um rendimento de 40%.

Seguindo uma via de síntese análoga, mas usando quando necessário 4-bromoetilnitrobenzeno ou 4-(3-bromopropil)nitrobenzeno em vez de 4-(2-bromoetil)nitrobenzeno (2a) e substituindo a 4-fenilpiperazina (2b) pelo composto apropriado de fórmula (VII), prepararam-se outras aminas  $H-R^3$  tal como mostrado na Tabela 1. As condições empregues em cada passo na preparação destas outras aminas foram tal como descrito acima para a amina 2.1.

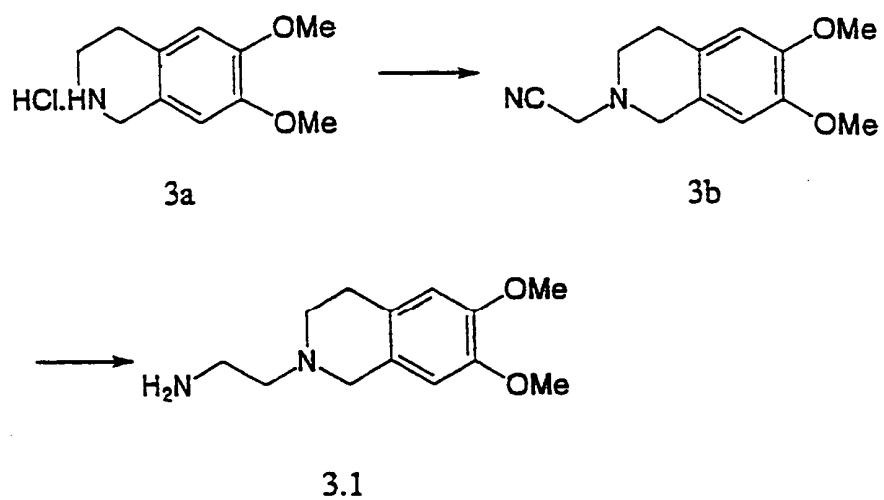
TABELA 1

| Composto (VI)<br><br>em que m é: | Composto VII | Amina<br>$H-R^3$<br>(Nº) |
|----------------------------------|--------------|--------------------------|
| 2                                |              |                          |
| 2                                |              |                          |
| 2                                |              |                          |

*[Handwritten signature]*

|   |                                                                                     |                                                                                                   |
|---|-------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1 |    | <br>( 2.6 )    |
| 1 |    | <br>( 2.7 )     |
| 1 |    | <br>( 2.8 )    |
| 3 |  | <br>( 2.10 ) |

Exemplo de Referência 3: Preparação de aminas H-R<sup>3</sup> por meio de nitrilo substituído.



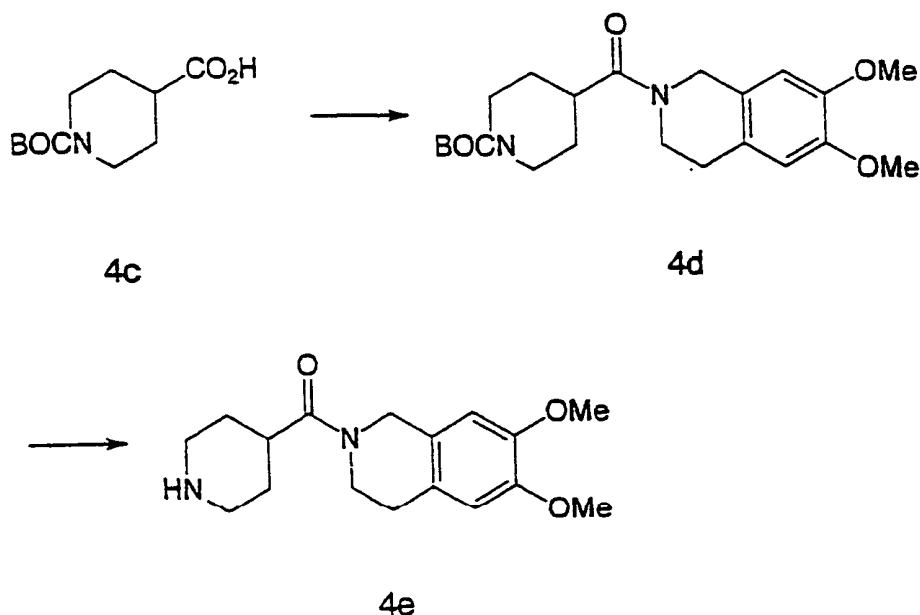
Tratou-se cloridrato de 6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidroisoquinolina (3a) com cloroacetonitrilo na presença de  $K_2CO_3$ , em acetonitrilo sob refluxo, durante 24 horas. O composto 3b foi obtido com um rendimento de 92%. O composto 3b foi então tratado com  $LiAlH_4$  em éter etilenoglicol-dimetílico à temperatura ambiente durante a noite. A temperatura foi então elevada para  $40^\circ C$  e a reacção continuou durante 30 minutos. A amina desejada, 3.1, foi obtida com um rendimento de 98%.

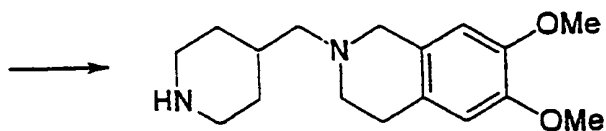
Seguindo uma via de síntese análoga, mas modificando as condições do primeiro passo, quando necessário e substituindo o composto 3a pelo composto apropriado de fórmula VII, prepararam-se as outras aminas  $H-R^3$  listadas na Tabela 2:

**TABELA 2**

| Composto de fórmula VII | Condições do primeiro passo                        | Amina $H-R^3$ (Nº) |
|-------------------------|----------------------------------------------------|--------------------|
|                         | $K_2CO_3$<br>$ClCH_2CN$ , $CH_3CN$<br>refluxo 20 h | <br>(3.2)          |
|                         | $K_2CO_3$<br>$ClCH_2CN$<br>Refluxo 24 h            | <br>(3.5)          |

3. Amina 4.3





4.3

O composto 4c foi tratado com 6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidroisoquinolina em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  a  $0^\circ\text{C}$ , na presença de iodeto de 2-cloro-1-metilpiridínio e de trietilamina. A solução foi deixada aquecer até à temperatura ambiente durante a noite. O composto 4d, que foi obtido com um rendimento de 93%, foi tratado com ácido trifluoroacético em diclorometano à temperatura ambiente, durante 30 minutos. O composto 4e foi obtido com um rendimento de 10%, após trituração com acetona. O composto 4e foi tratado com  $\text{LiAlH}_4$  em THF a  $10^\circ\text{C}$  e deixado durante a noite a aquecer até à temperatura ambiente. O composto 4.3 foi obtido com um rendimento de 75%.

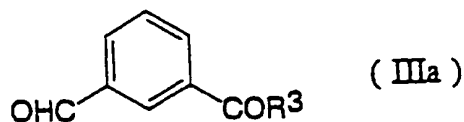
#### Exemplo de Referência 5: Preparação de aldeídos de fórmula (III)

##### Método 1

Os aldeídos de fórmula IIIa listados na Tabela 3 abaixo foram preparados por tratamento de ácido 3-formilbenzóico com a amina  $\text{H-R}^3$  apropriada (um composto preparado num dos Exemplos de Referência 2 e 3) em  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , na presença de iodeto de 2-cloro-1-metilpiridínio a  $0^\circ\text{C}$ . A mistura de reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente durante a noite.

(Segue Tabela 3)

TABELA 3: Aldeídos de fórmula IIIa

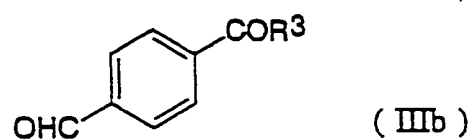


| Aldeído nº | R <sup>3</sup> | Amina H- R <sup>3</sup><br>correspondente |
|------------|----------------|-------------------------------------------|
| 6.1        |                | 2.2                                       |
| 6.2        |                | 2.1                                       |
| 6.3        |                | 2.7                                       |
| 6.5        |                | 3.5                                       |

### Método 2

Os aldeídos de fórmula IIIb listados na Tabela 4 abaixo foram preparados por tratamento de cloreto de 4-formilbenzoílo com a amina H-R<sup>3</sup> apropriada em CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, na presença de trietilamina a 0°C. No caso do aldeído 6,32, utilizou-se 4-carboxibenzaldeído em vez de cloreto de 4-formilbenzoílo e adicionalmente, estava presente iodeto de 2-cloro-1-piridínio na mistura reaccional. A mistura de reacção foi deixada aquecer até à temperatura ambiente durante a noite. Cada amina era, ou um composto preparado num dos Exemplos de Referência 2 e 3, ou um produto comercialmente disponível.

TABELA 4: Aldeídos de fórmula IIIb



| Aldeído nº | R³ | Amina H- R³ correspondente |
|------------|----|----------------------------|
| 6.7        |    | 2.2                        |
| 6.8        |    | 3.2                        |
| 6.9        |    | 3.1                        |
| 6.11       |    | Produto comercial          |
| 6.13       |    | Produto comercial          |
| 6.14       |    | Produto comercial          |
| 6.15       |    | 2.7                        |

|      |  |      |
|------|--|------|
| 6.16 |  | 2.3  |
| 6.21 |  | 2.5  |
| 6.22 |  | 2.8  |
| 6.23 |  | 2.1  |
| 6.24 |  | 2.6  |
| 6.27 |  | 2.10 |
| 6.32 |  | 4.3  |

Exemplo 1: Preparação de compostos de fórmula (I)

Por tratamento de 1-acetil-3-benzilideno-4-metil-2,5-piperazinadiona, como descrito no Exemplo de Referência 1, com um aldeído preparado no Exemplo de Referência 5 em DMF, na presença de  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ , a uma temperatura compreendida entre 80 e 90°C, prepararam-se os compostos de fórmula I listados na Tabela 5:



TABELA 5

| Aldeído N° | Composto de fórmula I |
|------------|-----------------------|
| 6,7        | 9006                  |
| 6,8        | 9007                  |
| 6,9        | 9008                  |
| 6,11       | 9049                  |
| 6,1        | 9051                  |
| 6,13       | 9053                  |
| 6,14       | 9054                  |
| 6,15       | 9064                  |
| 6,16       | 9065                  |
| 6,21       | 9080                  |
| 6,2        | 9083                  |
| 6,22       | 9096                  |
| 6,23       | 9103                  |
| 6,24       | 9104                  |
| 6,3        | 9128                  |
| 6,5        | 9136                  |
| 6,27       | 9161                  |
| 6,32       | 9200                  |

Os compostos 9052, 9071, 9076, 9116, 9104, 9053, 9054, 9064 e 9051 foram convertidos, num passo final, nos seus sais cloridrato, fazendo borbulhar HCl gasoso através de uma solução de cada um dos compostos em THF. (Para estes compostos, foi utilizado o sal cloridrato em vez da base livre, no ensaio biológico descrito no Exemplo 3).

Exemplo 2: Composição Farmacêutica

Os comprimidos, pesando cada um 0,15 g e contendo 25 mg de um composto da invenção, podem ser manufacturados como se segue:

Composição para 10000 comprimidos

composto da invenção (250 g)

lactose (800 g)

amido de milho (415 g)



pó de talco (30 g)  
estearato de magnésio (5 g)

Misturam-se o composto da invenção, a lactose e metade do amido de milho. A mistura é então forçada através de um crivo de 0,5 mm de dimensão de malha. Suspende-se amido de milho (10 g) em água quente (90 ml). A pasta resultante é utilizada para granular o pó. O granulado é seco e partido em pequenos fragmentos num crivo de 1,4 mm de dimensão de malha. A quantidade remanescente de amido, talco e estearato de magnésio é adicionada, cuidadosamente misturada e processada em comprimidos.

### Exemplo 3: ensaio de compostos (I) como moduladores da MDR

#### Materiais e Métodos

Cultivaram-se a linha celular de carcinoma mamário de ratinho EMT6 e a sub-linha AR 1,0 MDR resistente, em meio RPMI 1640 contendo 10% de soro fetal de vitela e glutamina 2 mM a 37°C em 5% de CO<sub>2</sub>. As células foram passadas entre 1 e 200 e 1 e 2000 no caso da linha celular progenitora e entre 1 e 20 e 1 e 200 no caso da sub-linha MDR resistente, após triptinização (0,25% de tripsina, 0,2 gl<sup>-1</sup>, EDTA).

#### 1. Ensaio de acumulação de droga

Semearam-se células AR 1,0 em placas opacas de cultura de 96 poços (Canberra Packard). O meio de ensaio continha uma mistura de Daunorubicina tritiada (DNR), um agente citotóxico, um DNR não marcado (0,3 µCi/ml; 2 µM). Os compostos de fórmula I foram diluídos em série em meio de ensaio, numa gama de concentrações desde 5 nM a 100 µM. As células foram incubadas a 37°C durante 1 hora, antes da lavagem e determinação da radioactividade associada às células. Os resultados foram expressos como % de acumulação máxima em que 100% de acumulação é a observada na presença do RMA verapamil conhecido, a 100 µM. Quando possível foi determinado um IC<sub>50</sub>.

Os resultados são apresentados na Tabela 6, seguinte.



TABELA 6

| Composto Nº | IC <sub>50</sub> (µM)<br>Acumulação | Acumulação<br>Máx |
|-------------|-------------------------------------|-------------------|
| 9006        | 0,4                                 |                   |
| 9007        |                                     | 30%               |
| 9008        | 3,0                                 |                   |
| 9049        |                                     | 20%               |
| 9051        | 0,15                                |                   |
| 9053        | 50                                  |                   |
| 9054        |                                     | 32%               |
| 9064        | 0,3                                 |                   |
| 9065        | 6                                   |                   |
| 9080        |                                     | 18%               |
| 9083        | 2                                   |                   |
| 9096        |                                     | 20%               |
| 9103        |                                     | 20%               |
| 9104        | 5                                   |                   |
| 9128        | 3                                   | -                 |
| 9136        | 0,9                                 | -                 |
| 9161        |                                     | 20%               |
| 9200        | 1,700                               |                   |

2. Potenciação da toxicidade da Doxorubicina

Os compostos de fórmula (I) foram examinados quanto à sua capacidade para potenciar a toxicidade da doxorubicina em células AR 1,0. Em ensaios iniciais de proliferação, os compostos foram titulados contra uma concentração fixa de doxorubicina (0,86 µM), a qual por si só não é tóxica para as células AR 1,0. Após uma incubação de quatro dias com doxorubicina, a proliferação foi medida usando o ensaio colorimétrico com sulforrodamina B (Skehan et al.; J. Natl. Cancer Inst. 82 pág. 1107-1112 (1990)). Os resultados são apresentados na Tabela 7.

Os compostos que demonstraram ser capazes de sensibilizar as células AR 1,0 para doxorubicina 0,86 µM sem uma toxicidade inata elevada, foram seleccionados para estudo posterior. As células foram cultivadas durante quatro dias com um título de doxorubicina (0,01 nm – 50 µM), na presença de uma concentração fixada de



cada composto. A proliferação foi quantificada tal como descrito por Skehan et al., loc cit. O IC<sub>50</sub> (concentração requerida para reduzir a proliferação para 50% dos controlos não tratados) para a doxorubicina sozinha e com cada composto, foi derivado e utilizado para calcular o índice de potenciação (PI):

$$PI = \frac{IC_{50} \text{ para Doxorubicina sozinha}}{IC_{50} \text{ para Doxorubicina mais RMA}}$$

Os resultados são apresentados na Tabela 8:

TABELA 7

| Composto Nº | Toxicidade do composto<br>(IC <sub>50</sub> µM) | Toxicidade com agente<br>citotóxico<br>(IC <sub>50</sub> µM) |
|-------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| 9006        | 2                                               | 0,04                                                         |
| 9008        | 10                                              | 2,0                                                          |
| 9049        | 2                                               | 0,2                                                          |
| 9051        | 2                                               | 0,01                                                         |
| 9053        | 40                                              | 4,0                                                          |
| 9054        | 50                                              | 30                                                           |
| 9064        | 2                                               | 0,01                                                         |
| 9065        | 2                                               | 0,2                                                          |
| 9083        | 3                                               | 0,1                                                          |
| 9104        | 40                                              | 0,05                                                         |
| 9128        | 10                                              | 2                                                            |
| 9136        | 13                                              | 2                                                            |
| 9200        | 13                                              | 0,8                                                          |



TABELA 8

| Índices de Potenciação |                                                   |
|------------------------|---------------------------------------------------|
| <u>Composto Nº</u>     | <u>Índice de Potenciação</u><br>(RMA a 1 $\mu$ M) |
| 9006                   | 1000                                              |
| 9049                   | 15                                                |
| 9051                   | 2000                                              |
| 9064                   | 750                                               |
| 9065                   | 15                                                |
| 9104                   | 17                                                |
| 9136                   | 25                                                |

Exemplo 4: Caracterização dos presentes compostos

Os compostos e sais preparados nos Exemplos anteriores foram caracterizados por técnicas de espectroscopia de massa, microanalíticas e de RMN do próton. Os resultados são apresentados nas tabelas 9 e 10:

(Seguem Tabelas)

TABELA 9

| Nº   | Fórmula Molecular                                                 | Dados esp. Massa       |      | Dados de <sup>1</sup> H-RMN     |                                                                                                                                                                  | Microanálise |            |
|------|-------------------------------------------------------------------|------------------------|------|---------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------|------------|
|      |                                                                   | Massa<br>(intensidade) | modo | Solvente/<br>campo              | δ                                                                                                                                                                | Calc.        | Encontrado |
| 9054 | C <sub>30</sub> H <sub>28</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> HCl | 509 (40)               | Cl   | d <sub>6</sub> -DMSO/<br>300MHz | 2,96 (3H,s), 3,40 (4H,s), 3,99<br>(4H,s), 6,98 (1H,s), 7,20 (1H,s),<br>7,43-7,56 (7H,m), 7,82 (2H,d), 7,89<br>(2H,d), 8,12 (2H,d), 10,43 (1H,s),<br>10,83 (1H,s) | C            | 66,0       |
|      |                                                                   | 508 (45)               |      |                                 |                                                                                                                                                                  | H            | 5,30       |
|      |                                                                   | 331 (35)               |      |                                 |                                                                                                                                                                  | N            | 10,3       |
|      |                                                                   | 178 (100)              |      |                                 |                                                                                                                                                                  |              |            |

TABELA 10

| Nº   | Fórmula Molecular                                                 | Dados esp. Massa       |      | Dados de <sup>1</sup> H-RMN     |                                                                                                                                                                                           |
|------|-------------------------------------------------------------------|------------------------|------|---------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      |                                                                   | Massa<br>(intensidade) | modo | Solvente/campo                  | δ                                                                                                                                                                                         |
| 9006 | C <sub>39</sub> H <sub>18</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> HCl | 643 (100)              | ESI  | d <sub>6</sub> -DMSO/<br>400MHz | 2,87 (3H,s), 2,89-3,23 (8H,m), 3,73 (2x3H,s), 4,20-<br>4,54 (2H,m), 6,78 (1H,s), 6,82 (1H,s), 6,88 (1H,s),<br>7,09 (1H,s), 7,20-8,07 (13H,m), 10,30 (1H,s), 10,62<br>(1H,s), 11,01 (1H,s) |
| 9007 | C <sub>27</sub> H <sub>31</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub>     | 474 (100)              | ESI  | CDCI <sub>3</sub> /400MHz       | 2,35 (3H,s), 2,49-2,73 (10H,m), 3,07 (3H,s), 3,59<br>(2H,m), 7,07 (1H,s), 7,28-7,44 (6H,m), 7,50 (2H,d),<br>7,86 (2H,d)                                                                   |

| Nº   | Fórmula Molecular                                                            | Dados esp. Massa              |      | Dados de <sup>1</sup> H-RMN     |                                                                                                                                                                                                                                         |
|------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------|------|---------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      |                                                                              | Massa<br>(intensidade)        | modo | Solvente/campo                  | δ                                                                                                                                                                                                                                       |
| 9008 | C <sub>33</sub> H <sub>34</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub>                | 567 (100)                     | ESI  | CDCl <sub>3</sub> /400MHz       | 2,76-2,90 (6H,m), 3,02 (3H,s), 3,61-3,70 (4H,m), 3,85 (2x3H,s), 6,55 (1H,s), 6,64 (1H,s), 6,94 (1H,sl), 7,07 (1H,s), 7,27-7,43 (6H,m), 7,47 (2H,d), 7,85 (2H,d)                                                                         |
| 9049 | C <sub>39</sub> H <sub>36</sub> F <sub>3</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub> | 680 (100)                     | ESI  | CDCl <sub>3</sub> /400MHz       | 2,64-2,75 (6H,m), 2,87 (2H,m), 3,04 (3H,s), 3,23-3,31 (4H,m), 7,04-7,10 (3H,m), 7,12 (1H,s), 7,23-7,42 (9H,m), 7,55 (2H,d), 7,59 (2H,d), 7,78 (1H,s), 7,96 (2H,d)                                                                       |
| 9051 | C <sub>39</sub> H <sub>38</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> HCl            | 643(22), 348(30),<br>206(100) | CI   | d <sub>6</sub> -DMSO/<br>400MHz | 2,86 (3H,s), 2,92-3,18 (6H,m), 3,36-3,48 (2H,m), 3,73 (2x3H,s), 4,22-4,55 (2H,m), 6,78 (1H,s), 6,82 (1H,s), 6,89 (1H,s), 7,09 (1H,s), 7,28-8,14 (13H,m), 10,29 (1H,s), 10,69 (2H,sl)                                                    |
| 9053 | C <sub>28</sub> H <sub>28</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> HCl            | 461(100), 331(10)             | FAB+ | d <sub>6</sub> -DMSO/<br>300MHz | 2,82 (3H,s), 3,05-3,20 (2H,sl), 3,45-3,32 (2H,sl), 3,68-3,78 (4H,sl), 3,80-3,90 (2H,sl), 3,90-4,00 (2H,sl), 6,82 (1H,s), 7,07 (1H,s), 7,33-7,48 (5H,m), 7,66 (2H,d), 7,96 (2H, d), 8,80-9,05 (1H,sl), 10,15 (1H,s), 10,95-11,15 (1H,sl) |
| 9064 | C <sub>38</sub> H <sub>36</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> HCl            | 629(100)                      | ESI  | d <sub>6</sub> -DMSO/<br>400MHz | 2,87 (3H,s), 2,90-3,40 (4H,m), 3,70 (2x3H,s), 4,10-4,52 (4H,m), 6,80 (2x1H,s), 6,89 (1H,s), 7,11 (1H,s), 7,30-7,45 (5H,m), 7,59 (2H,d), 7,73 (2H,d), 7,91 (2H,d), 8,02 (2H,d), 10,46 (1H,s), 10,64 (2H,sl)                              |
| 9065 | C <sub>37</sub> H <sub>34</sub> N <sub>4</sub> O <sub>3</sub>                | 582(10), 449(30),<br>331(100) | CI   | CDCl <sub>3</sub> /400MHz       | 2,65-3,10 (1H,m), 3,74 (2H,s), 6,95-8,10 (21H,m)                                                                                                                                                                                        |

| Nº   | Fórmula Molecular                                                 | Dados esp. Massa           |      | Dados de <sup>1</sup> H-RMN     |                                                                                                                                                                                             |
|------|-------------------------------------------------------------------|----------------------------|------|---------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      |                                                                   | Massa<br>(intensidade)     | modo | Solvente/campo                  | δ                                                                                                                                                                                           |
| 9070 | C <sub>23</sub> H <sub>21</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>     | 388(100)                   | CI   | CDCl <sub>3</sub> /300MHz       | 3,05 (3H,s), 4,15 (2H,t), 5,35 (2H,m), 5,95 (1H,m), 6,24 (1H,sl), 7,10 (1H,s), 7,32-7,46 (6H,m), 7,53 (2H,d), 7,90 (2H,d), 8,05 (1H,sl)                                                     |
| 9071 | C <sub>31</sub> H <sub>30</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub> HCl | 523(100), 331(75), 162(60) | FAB+ | d <sub>6</sub> -DMSO/<br>300MHz | 2,88 (3H,s), 3,12 (4H,m), 3,69 (4H,m), 3,72 (3H,s), 6,86-6,89 (3H,m), 7,02 (2H,d), 7,11 (1H,s), 7,35-7,52 (7H,m), 7,63 (2H,d), 10,36 (1H,sl) (70°C)                                         |
| 9080 | C <sub>39</sub> H <sub>35</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub>     | 622(100)                   | ESI  | d <sub>6</sub> -DMSO/<br>400MHz | 2,64-2,90 (8H,m), 2,86 (3H,s), 3,68 (2H,s), 6,88 (1H,s), 6,90-7,04 (2H,m), 7,10 (1H,s), 7,22-7,48 (9H,m), 7,72 (4H,m), 8,00 (2H,d), 10,19 (1H,s), 10,67 (1H,s)                              |
| 9096 | C <sub>38</sub> H <sub>33</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub>     | 608(15), 291(100)          | CI   | d <sub>6</sub> -DMSO/<br>400MHz | 2,74 (3H,s), 2,70 (2H,m), 2,80 (2H,m), 3,58 (2H,s), 3,70 (2H,s), 6,88 (1H,s), 6,90-7,05 (2H,m), 7,10 (1H,s), 7,20-7,50 (9H,m), 7,65-7,80 (4H,m), 8,00 (2H,d), 10,27 (1H,s), 10,62 (1H,s)    |
| 9103 | C <sub>38</sub> H <sub>37</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub>     | 612(87), 175(100)          | CI   | d <sub>6</sub> -DMSO/<br>400MHz | 2,5-2,6 (6H,m), 2,75 (2H,m), 2,85 (3H,s), 3,11 (4H,m), 6,75 (1H,t), 6,88 (1H,s), 6,90 (2H,d), 7,1 (1H,s), 7,2 (3H,m), 7,28-7,49 (7H,m), 7,75 (3H,m), 8,1 (2H,d), 10,15 (1H,s), 10,6 (1H,sl) |
| 9104 | C <sub>37</sub> H <sub>35</sub> N <sub>5</sub> O HCl              | 598(100)                   | CI   | d <sub>6</sub> -DMSO/<br>400MHz | 2,5 (4H,m), 2,85 (3H,s), 3,11 (4H,m), 3,5 (2H,s), 6,75 (1H,t), 6,88 (1H,s), 6,90 (2H,d), 7,1 (1H,s), 7,2 (3H,m), 7,28-7,49 (7H,m), 7,75 (3H,m), 8,1 (2H,d)                                  |

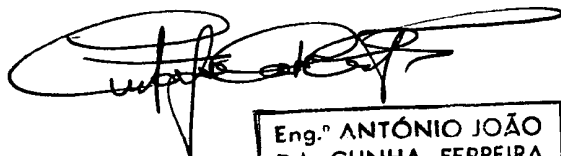
| Nº   | Fórmula Molecular                                             | Dados esp. Massa       |      | Dados de <sup>1</sup> H-RMN |                                                                                                                                                                                                               |
|------|---------------------------------------------------------------|------------------------|------|-----------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|      |                                                               | Massa<br>(intensidade) | modo | Solvente/campo              | δ                                                                                                                                                                                                             |
| 9161 | C <sub>40</sub> H <sub>40</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> | 657(7)                 | CI   | CDCl <sub>3</sub> /400MHz   | 1,92 (2H,m), 2,47-2,85 (8H,m), 2,99 (3H,s), 3,57 (2H,s), 3,85 (2x3H,s), 6,52 (1H,s), 6,59 (1H,s), 7,10 (1H,s), 7,15-7,60 (13H,m), 7,85 (1H,m), 7,98 (1H,s), 8,08 (1H,s)                                       |
| 9083 | C <sub>38</sub> H <sub>37</sub> N <sub>5</sub> O <sub>3</sub> | 612(100)               | ESI  | CDCl <sub>3</sub> /400MHz   | 2,62-2,72 (6H,m), 2,82-2,89 (2H,m), 2,99 (3H,s), 3,25 (4H,m), 6,88 (1H,t), 6,96 (2H,d), 7,09 (1H,s), 7,20-7,29 (6H,m), 7,32-7,42 (4H,m), 7,53-7,61 (4H,m), 7,85 (1H,m), 7,97 (1H,s), 8,05 (1H,s), 8,53 (1H,s) |
| 9128 | C <sub>38</sub> H <sub>36</sub> O <sub>5</sub> N <sub>4</sub> | 629(100)               | ESI  | CDCl <sub>3</sub> /400MHz   | 2,74 (2H,m), 2,83 (2H,m), 3,01 (3H,s), 3,55 (2H,s), 3,69 (2H,s), 3,82 (3H,s), 3,85 (3H,s), 6,49 (1H,s), 6,58 (1H,s), 7,09 (1H,s), 7,25-7,44 (10H,m), 7,58-7,64 (4H,m), 7,92 (1H,s), 7,96 (1H,s)               |
| 9136 | C <sub>33</sub> H <sub>34</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> | 567(100)               | CI   | CDCl <sub>3</sub> /400MHz   | 2,75-2,90 (6H,m), 3,00 (3H,s), 3,60-3,72 (4H,m), 3,84 (6H,s), 6,54 (1H,s), 6,60 (1H,s), 7,03-7,11 (2H,m), 7,24-7,78 (10H,m), 7,84 (1H,s)                                                                      |
| 9200 | C <sub>37</sub> H <sub>40</sub> N <sub>4</sub> O <sub>5</sub> | 620 (32)               | EI   | CDCl <sub>3</sub> /400MHz   | 1,05-2,00 (9H,m), 2,35-2,45 (2H,d), 2,62-2,84 (4H,m), 3,2 (3H,s), 3,55 (2H,s), 3,84 (2x3H,s), 6,52 (1H,s), 6,60 (1H,s), 7,06 (1H,s), 7,20-7,55 (11H,m)                                                        |

86 662  
EP 0 799 210/PT

31

Lisboa, 22. JUL 2004

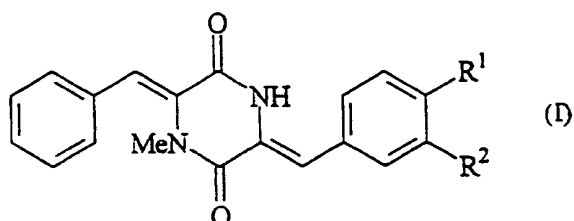
Por XENOVA LIMITED  
- O AGENTE OFICIAL -



Eng.º ANTÓNIO JOÃO  
DA CUNHA FERREIRA  
Ag. Of. Pr. Ind.  
Rua das Flores, 74-4.º  
1200-195 LISBOA

REIVINDICAÇÕES

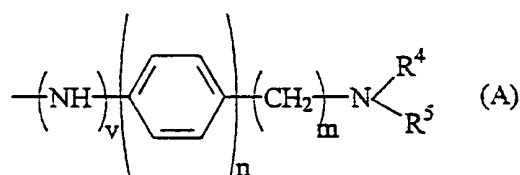
1 - Piperazinadiona de fórmula geral (I):



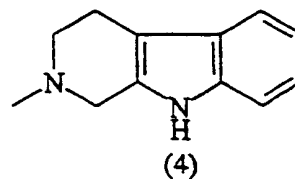
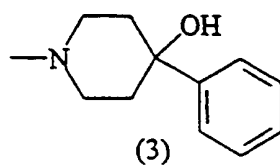
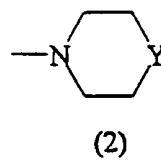
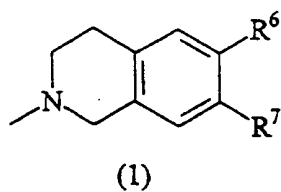
em que R<sup>1</sup> é seleccionado de entre:

- hidrogénio; e

- um grupo de fórmula -COR<sup>3</sup> em que R<sup>3</sup> é um grupo de fórmula:



em que v é 1 e n é 0 ou 1 e m é 0, 1, 2 ou 3, sendo pelo menos um de entre n e m outro que não 0, e R<sup>4</sup> e R<sup>5</sup>, em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão ligados, formam um grupo heterocíclico seleccionado de entre (1) a (4):



em que  $R^6$  e  $R^7$ , que são iguais ou diferentes, são H ou alcoxi  $C_1-C_6$  ou  $R^6$  e  $R^7$  formam em conjunto um grupo metilenodioxi; e Y é O ou  $-NR^8$  em que  $R^8$  é alquilo  $C_1-C_6$  ou um grupo fenilo opcionalmente substituído com  $CF_3$ ; e

$R^2$  é hidrogénio ou um grupo de fórmula  $-COR^3$ , tal como definido acima, desde que um de entre  $R^1$  e  $R^2$  seja hidrogénio e o outro não seja hidrogénio; ou um sal farmaceuticamente aceitável seu derivado.

2 - Composto de acordo com a reivindicação 1 em que  $R^1$  é hidrogénio e  $R^2$  é um grupo de fórmula  $-COR^3$ , tal como definido na reivindicação 1.

3 - Composto de acordo com a reivindicação 1 em que  $R^2$  é hidrogénio e  $R^1$  é um grupo de fórmula  $-COR^3$ , tal como definido na reivindicação 1.

4 - Composto de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores, em que na fórmula (A), n é 0 e m é 2, ou n é 1 e m é 0, 1, 2 ou 3, ou n é 1 e m é 0 e  $R^4$  e  $R^5$  formam, em conjunto com o átomo de azoto ao qual estão ligados, um grupo heterocíclico seleccionado de entre os grupos de fórmulas: (1) em que  $R^6$  e  $R^7$  são ambos H ou ambos alcoxi  $C_1-C_6$ , ou em conjunto formam um grupo metilenodioxi; (2) em que Y é O ou  $-NR^8$  em que  $R^8$  é metilo, fenilo ou trifluorometilfenilo; (3); e (4).

5 - Composto seleccionado de entre:

Cloridrato de N-(4-(4-fenil-1-piperazinil)metilfenil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9104)

N-(2-(4-metil-1-piperazinil)etil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9007)

Cloridrato de N-(2-morfolinoetil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9053)

Cloridrato de N-(4-morfolinofenil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9054)

N-(4-(2-(1,2,3,4-tetra-hidro- $\beta$ -carbolin-2-il)etil)fenil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9080)



N-(4-(1,2,3,4-tetra-hidro- $\beta$ -carbolin-2-il)metilfenil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9096)

N-(4-(2-(4-fenil-1-piperazinil)etil)fenil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9103)

N-(4-(2-(1,2,3,4-tetra-hidro-2-isoquinolil)etil)fenil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9065)

N-(4-(2-(4-(3-trifluorometilfenil)-1-piperazinil)etil)fenil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9049)

N-(4-(2-(6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidro-2-isoquinolil)etil)fenil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9006)

N-(2-(6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidro-2-isoquinolil)etil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9008)

Cloridrato de N-(4-(6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidro-2-isoquinolil)metilfenil)-4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9064)

Cloridrato de N-(4-(2-(6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidro-2-isoquinolil)etil)fenil)-3-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9051)

N-(4-(6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidro-2-isoquinolil)metilfenil)-3-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9128)

N-(2-(6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidro-2-isoquinolil)etil)-3-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9136)

N-(4-(2-(4-fenil-1-piperazinil)etil)fenil)-3-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9083)

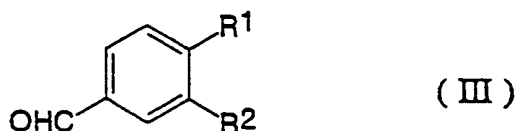
Cloridrato de N-(4-(3-(6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidro-2-isoquinolil)propil)fenil)-3-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzamida (9161)

1-(4-((3Z,6Z)-6-benzilideno-1-metil-2,5-dioxo-3-piperazinilideno)metilbenzoil)-4-(6,7-dimetoxi-1,2,3,4-tetra-hidroisoquinolil)metilpiperidina (9200);

e os seus sais farmaceuticamente aceitáveis

6 – Composição farmacêutica ou veterinária que compreende um veículo ou diluente farmaceuticamente ou veterinariamente aceitável e, como princípio activo, um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações anteriores.

7 – Processo para a produção de um composto tal como definido na reivindicação 1, processo esse que compreende o tratamento de 1-acetil-3-benzilideno-4-metil-2,5-piperazinadiona, com um aldeído de fórmula (III):



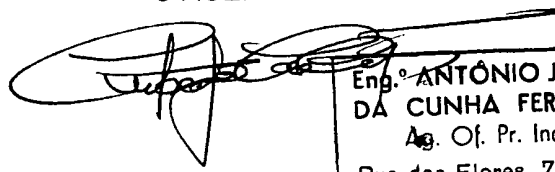
em que R<sup>1</sup> e R<sup>2</sup> são tal como definidos na reivindicação 1, num solvente orgânico na presença de uma base; e, se desejado, a conversão do composto resultante num sal seu derivado farmaceuticamente aceitável.

8 – Composto de acordo com o definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 6, para utilização como modulador na resistência a múltiplas drogas.

9 – Utilização de um composto de acordo com o definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 6, na manufactura de um medicamento para utilização como modulador na resistência a múltiplas drogas.

Lisboa, 21. VII. 2001

Por XENOVA LIMITED  
- O AGENTE OFICIAL -



Eng.º ANTÓNIO JOÃO  
DA CUNHA FERREIRA  
Ag. Of. Pr. Ind.  
Rua das Flores, 74-4.º  
1200-195 LISBOA