

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 676 198**

51 Int. Cl.:

C07D 241/42 (2006.01)

A61K 31/498 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.03.2012** **PCT/EP2012/055903**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.10.2012** **WO12131080**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.03.2012** **E 12713125 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.03.2018** **EP 2691377**

54 Título: **Derivados amino-quinoxalina para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas**

30 Prioridad:

30.03.2011 FR 1152645

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.07.2018

73 Titular/es:

**CENTRE NATIONAL DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE (C.N.R.S.) (50.0%)
3, rue Michel-Ange
75016 Paris, FR y
UNIVERSITÉ PARIS-SUD 11 (50.0%)**

72 Inventor/es:

**FERRIE, LAURENT;
FIGADERE, BRUNO;
LE DOUARON, GAËL;
RAISMAN-VOZARI, RITA y
SCHMIDT, FANNY**

74 Agente/Representante:

SALVA FERRER, Joan

ES 2 676 198 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados amino-quinoxalina para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas

5 **[0001]** La presente invención se refiere a derivados de amino-quinoxalina para su utilización como medicamento destinado al tratamiento o a la prevención de la enfermedad de Parkinson.

[0002] Con el alargamiento de la esperanza de vida, cada vez más personas padecen enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer o la enfermedad de Parkinson.

10

[0003] Una enfermedad neurodegenerativa es una enfermedad que afecta al funcionamiento del sistema nervioso, y en particular del cerebro, de forma progresiva, en la que la enfermedad puede evolucionar más o menos rápidamente (de unas semanas a varios años), y a menudo de forma irreversible. Así, el funcionamiento de las células nerviosas, en particular las neuronas, se ve deteriorado, lo que puede conducir a su muerte celular. Según la
15 región del sistema nervioso afectada por la enfermedad, podrán verse afectadas diferentes funciones como la motricidad, el lenguaje, la memoria, la percepción o la cognición. Entre las enfermedades neurodegenerativas más frecuentes, se pueden citar en particular la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson.

[0004] La enfermedad de Alzheimer, que afecta a aproximadamente 24 millones de personas en todo el mundo, es una enfermedad del tejido cerebral que conlleva la pérdida progresiva e irreversible de las funciones mentales. El primer síntoma es la pérdida del recuerdo de acontecimientos recientes (amnesia), después las deficiencias cognitivas se extienden a los ámbitos del lenguaje (afasia), de la organización de los movimientos (apraxia), del reconocimiento visual (agnosia) y de las funciones ejecutivas (como la toma de decisiones y la planificación).

25

[0005] La enfermedad de Parkinson, por su parte, afecta al sistema nervioso central y provoca trastornos motores de evolución progresiva, particularmente temblores del cuerpo.

[0006] Actualmente, los medicamentos prescritos para estas dos enfermedades únicamente permiten
30 retardar la evolución de la enfermedad. Ninguno permite curar la enfermedad, ni siquiera detener su evolución, de ahí la necesidad de encontrar nuevas moléculas más activas para el tratamiento de estas enfermedades neurodegenerativas.

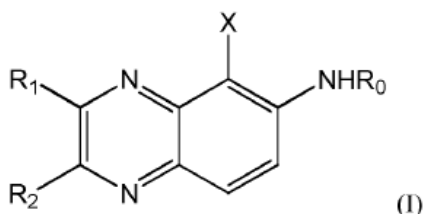
[0007] Los inventores de la presente invención ya han demostrado el potencial de compuestos quimeras que poseen un núcleo quinoxalina sustituido por una cadena hidrófoba alifática en el tratamiento de enfermedades
35 neurodegenerativas (WO 2010/007179).

[0008] Sin embargo, los inventores han descubierto de forma sorprendente que los derivados de quinoxalina conservaban su actividad y seguían siendo capaces de atravesar la barrera hematoencefálica en ausencia de
40 sustitución con una cadena hidrófoba que sin embargo parecía esencial para atravesar la barrera hematoencefálica.

[0009] Dichos compuestos derivados de amino-quinoxalina están descritos en concreto en WO 2011/044229; WO 2010/151799; WO 2004/030635; EP 1 479 384; US 2004/0102360; US 5 480 883; Barton et al. Tetrahedron 1979, 35, 241-247; Kasai et al. Chemistry Letters 1981, 675-678; Nasielski-Hinkens y Kaisin Organic Mass Spectrometry 1985, 20(12), 733-737; Nasielski et al. Bull. Soc. Chim. Belg. 1988, 97(10), 743-750; Nasielski et al. Bull. Soc. Chim. Belg. 1988, 97, 983-992; Poradowska H. Zeszyty Naukowe Uniwersytetu Jagiellonskiego, Prace Chemiczne 1987, 30, 97-115; Zhang et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. 2007, 17, 2118-2122; y Elmes et al. Chem. Commun. 2011, 47, 686-688, sin que una utilización en el tratamiento o la prevención de la enfermedad de Parkinson se mencione o se sugiera.

50

[0010] La presente invención tiene por objeto un compuesto de fórmula (I) siguiente:



en la que:

- 5 - X representa un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno como un bromo o un cloro, un grupo NO₂ o NH₂;
 - R₀ representa H o -CH₂-C≡CH, y particularmente H, y
 - R₁ y R₂ representan cada uno, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno; una cadena hidrocarbonada saturada o insaturada, lineal o ramificada, que consta de 1 a 10, preferentemente de 1 a 6 átomos de carbono; o un grupo arilo eventualmente sustituido;

10

así como sus sales farmacéuticamente aceptables, sus estereoisómeros o mezclas de estereoisómeros en cualquier proporción, en particular una mezcla de enantiómeros, y particularmente una mezcla racémica para su utilización como medicamento destinado al tratamiento o a la prevención de la enfermedad de Parkinson.

- 15 **[0011]** Por «halógeno» se entiende, en el sentido de la presente invención, un átomo de bromo, cloro, yodo o flúor, y particularmente un átomo de bromo.

- [0012]** Por grupo «(C₁-C₆)-alquilo» se entiende, en el sentido de la presente invención, una cadena hidrocarbonada saturada, lineal o ramificada, que consta de 1 a 6 átomos de carbono, en particular los grupos metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, iso-butilo, sec-butilo, terc-butilo, n-pentilo, n-hexilo.

- [0013]** Por grupo «(C₁-C₆)-alcoxi», se entiende, en el sentido de la presente invención, un grupo (C₁-C₆)-alquilo como el que se ha definido anteriormente unido al resto de la molécula mediante un átomo de oxígeno y en particular los grupos metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, iso-butoxi, sec-butoxi, terc-butoxi, n-pentoxi, n-hexoxi.

- [0014]** Por grupo «arilo» se entiende, en el sentido de la presente invención, un grupo hidrocarbonado aromático, que consta preferentemente de 6 a 10 átomos de carbono y que comprende uno o varios ciclos unidos, como por ejemplo un grupo fenilo o naftilo. Ventajosamente, se trata del fenilo.

30

- [0015]** Cuando el grupo arilo está sustituido, podrá estar sustituido ventajosamente por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, arilo, N₃, NO₂, NH₂, o -NH-((C₁-C₆)alquilo); preferentemente elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi o arilo.

- 35 **[0016]** Por «insaturada», se entiende, en el sentido de la presente invención, que la cadena hidrocarbonada puede constar de una o varias insaturación(es).

- [0017]** Por «insaturación», se entiende en el sentido de la presente invención, un doble o un triple enlace.

- 40 **[0018]** En la presente invención, se entiende por «farmacéuticamente aceptable» lo que es útil en la preparación de una composición farmacéuticamente que es generalmente segura, no tóxica y ni biológicamente ni de otro modo no deseable y que es aceptable para una utilización veterinaria así como farmacéutica humana.

- [0019]** Por «grupo N-protector», se entiende, en el sentido de la presente invención, cualquier sustituyente que protege al grupo NH₂ contra las reacciones indeseables tales como los grupos N-protector descritos en Greene «Protective Groups In Organic Synthesis» (John Wiley & Sons, New York (1981)) y Harrison et al. «Compendium of Synthetic Organic Methods» Vols. 1 a 8 (J. Wiley & sons, 1971 a 1996). Los grupos N-protectores comprenden, función amina protegida incluida, los carbamatos, las amidas, los derivados N-alquilados, los derivados amino acetato, los derivados N-bencilados, los derivados imina, los derivados enamina, los derivados mono- o di-alquilaminopropargilaminas y los derivados N-heteroátomo. En particular, el grupo N-protector comprende el formilo,

50

el acetilo, el benzoilo, el pivaloil, el fenilsulfonilo, el bencilo (Bn), el t-butiloxicarbonilo (Boc), el benziloxicarbonilo (Cbz), el p-metoxibenziloxicarbonilo, el p-nitrobencil-oxicarbonilo, el tricloroetoxicarbonilo (TROC), el aliloxicarbonilo (Aloc), el 9-fluorenilmetiloxicarbonilo (Fmoc), el trifluoro-acetilo, el dimetilaminopropargilo, los carbamatos de bencilo (sustituidos o no) y similares.

5

[0020] Por «sales farmacéuticamente aceptables» de un compuesto, se designan en la presente invención sales que son farmacéuticamente aceptables, como se han definido aquí, y que poseen la actividad farmacológica deseada del compuesto padre. Tales sales comprenden:

10 (1) los hidratos y los solvatos;

(2) las sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos tales como el ácido clorhídrico, el ácido bromhídrico, el ácido sulfúrico, el ácido nítrico, el ácido fosfórico y similares; o formadas con ácidos orgánicos tales como el ácido acético, el ácido bencenosulfónico, el ácido benzoico, el ácido canforsulfónico, el ácido cítrico, el ácido etano-sulfónico, el ácido fumárico, el ácido glucoheptónico, el ácido glucónico, el ácido glutámico, el ácido glicólico, el ácido hidroxinaftoico, el ácido 2-hidroxietanosulfónico, el ácido láctico, el ácido maléico, el ácido málico, el ácido

15

mandélico, el ácido metasulfónico, el ácido mucónico, el ácido 2-naftalenosulfónico, el ácido propiónico, el ácido salicílico, el ácido succínico, el ácido dibenzoil-L-tátrico, el ácido tátrico, el ácido p-toluenesulfónico, el ácido trimetilacético, el ácido trifluoroacético y similares; y

20

(3) las sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto padre está, bien sustituido por un ion

25

metálico, por ejemplo, un ion de metal alcalino (Na^+ , K^+ o Li^+ por ejemplo), un ion de metal alcalinotérreo (como Ca^{2+} o Mg^{2+}) o un ion de aluminio; o bien se coordina con una base orgánica o inorgánica. Las bases orgánicas aceptables comprenden la dietanolamina, la etanolamina, N-metilglucamina, la trietanolamina, la trometamina y similares. Las bases inorgánicas aceptables comprenden el hidróxido de aluminio, el hidróxido de calcio, el hidróxido de potasio, el carbonato de sodio y el hidróxido de sodio.

[0021] Por «estereoisómero», se entiende en el sentido de la presente invención, un isómero geométrico o un isómero óptico.

30

[0022] Los isómeros geométricos resultan de la posición diferente de los sustituyentes sobre un doble enlace que puede tener entonces una configuración Z o E.

[0023] Los isómeros ópticos resultan en particular de la posición diferente en el espacio de los sustituyentes sobre un átomo de carbono que comprende 4 sustituyentes diferentes. Este átomo de carbono constituye entonces un centro quiral o asimétrico. Los isómeros ópticos comprenden los diastereoisómeros y los enantiómeros. Los isómeros ópticos que son imágenes el uno del otro en un espejo, pero no superponibles se designan como «enantiómeros». Los isómeros ópticos que no son imágenes superponibles el uno del otro en un espejo se designan como «diastereoisómeros».

35

[0024] Una mezcla que contiene cantidades iguales de dos formas enantiómeras individuales de quiralidad opuesta se designa como «mezcla racémica».

40

[0025] Ventajosamente, X representará un átomo de hidrógeno, un átomo de bromo, un grupo NH_2 o NO_2 . Más particularmente, X podrá representar un átomo de hidrógeno.

[0026] Según otra realización, X representará un átomo de halógeno o un grupo NH_2 o NO_2 ; en particular un átomo de bromo o un grupo NH_2 o NO_2 .

45

[0027] El término «cadena hidrocarbonada saturada o insaturada, lineal o ramificada, que consta de 1 a 10, preferentemente de 1 a 6 átomos de carbono» representará más particularmente una cadena hidrocarbonada saturada, lineal o ramificada, que consta de 1 a 10, preferentemente de 1 a 6 átomos de carbono según la definición de los grupos R_1 y R_2 , y más particularmente un grupo $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ alquilo tal como el definido anteriormente.

50

[0028] Ventajosamente, R_1 y R_2 representan cada uno, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno; un grupo $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ alquilo; o un grupo arilo eventualmente sustituido, en particular por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ alquilo, $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ alcoxi, arilo, N_3 , NO_2 , NH_2 , o $-\text{NH}-(\text{C}_1\text{-C}_6)$ alquilo); preferentemente elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ alquilo, $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ alcoxi o arilo.

55

[0029] En particular, R_1 y R_2 podrán representar cada uno, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno; un grupo $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ alquilo; o un grupo fenilo eventualmente sustituido, en particular por uno o varios grupos

elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, arilo, N₃, NO₂, NH₂, o -NH-((C₁-C₆)alquilo); preferentemente elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi o arilo.

[0030] Según una realización particular, R₁ representará un grupo arilo, y particularmente fenilo, eventualmente sustituido, en particular por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, arilo, N₃, NO₂, NH₂, o -NH-((C₁-C₆)alquilo); preferentemente elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi o arilo.

[0031] Según otra realización particular de la invención, R₂ representará una cadena hidrocarbonada saturada o insaturada, lineal o ramificada, que consta de 1 a 10, preferentemente de 1 a 6 átomos de carbono; preferentemente un grupo (C₁-C₆)alquilo.

[0032] Según todavía otra realización particular de la invención:

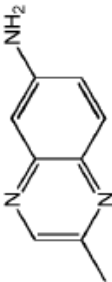
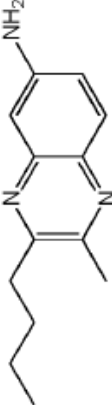
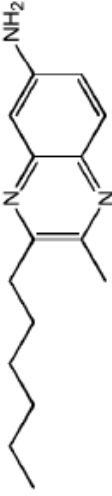
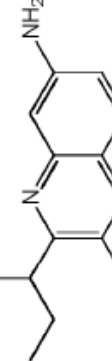
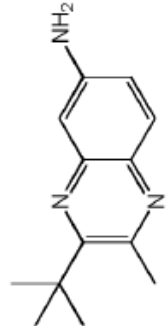
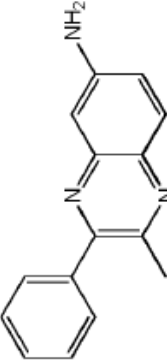
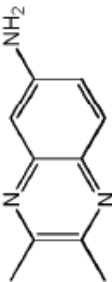
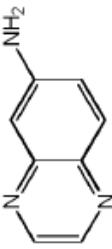
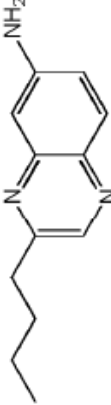
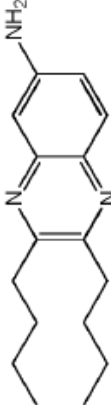
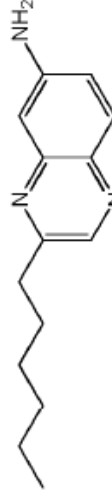
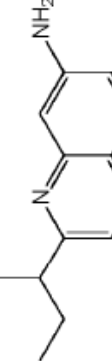
- 15 - R₁ representará una cadena hidrocarbonada saturada o insaturada, lineal o ramificada, que consta de 1 a 10, preferentemente de 1 a 6 átomos de carbono, tal como un grupo (C₁-C₆)alquilo; o un grupo arilo eventualmente sustituido, particularmente por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, arilo, N₃, NO₂, NH₂, o -NH-((C₁-C₆)alquilo), y
- 20 - R₂ representará una cadena hidrocarbonada saturada o insaturada, lineal o ramificada, que consta de 1 a 10, preferentemente de 1 a 6 átomos de carbono, tal como un grupo (C₁-C₆)alquilo.

[0033] En particular, los radicales R₁ y R₂ podrán definirse como sigue:

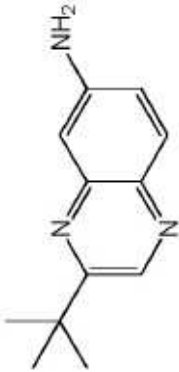
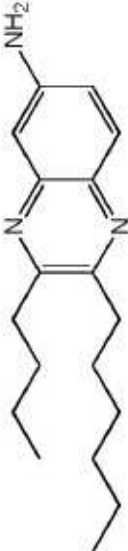
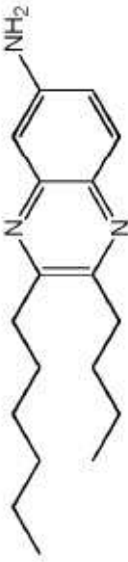
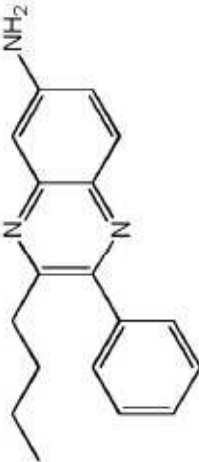
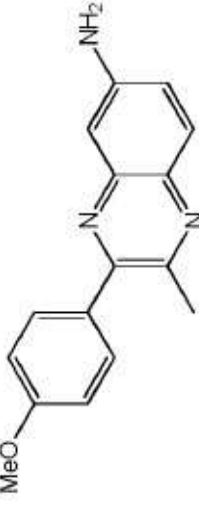
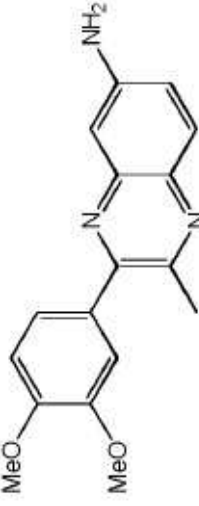
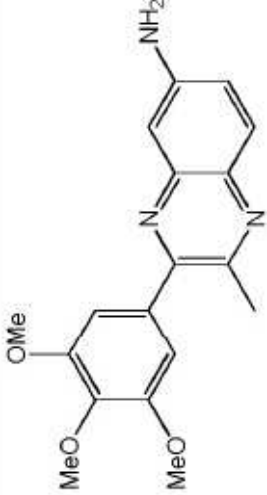
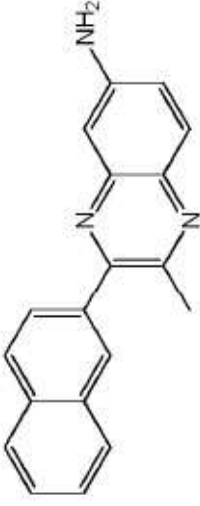
- 25 - R₁ representará un grupo (C₁-C₆)alquilo o un grupo arilo eventualmente sustituido, en particular por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, arilo, N₃, NO₂, NH₂, o -NH-((C₁-C₆)alquilo); ventajosamente un grupo arilo eventualmente sustituido, particularmente por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, arilo, N₃, NO₂, NH₂, o -NH-((C₁-C₆)alquilo), y
- 30 - R₂ representará un grupo (C₁-C₆)alquilo.

[0034] En las definiciones de R₁ y R₂ anteriores, el grupo (C₁-C₆)alquilo podrá ser más particularmente un grupo metilo, *n*-butilo, *n*-hexilo, *s*-butilo o *t*-butilo; y el grupo arilo eventualmente sustituido podrá ser más particularmente un grupo fenilo, *p*-metoxifenilo, *m*-metoxifenilo, 3,4-dimetoxifenilo, 3,4,5-trimetoxifenilo, 2-naftilo, *p*-fluorofenilo, *p*-metilfenilo, *p*-clorofenilo, 3,4-diclorofenilo, o bifenilo.

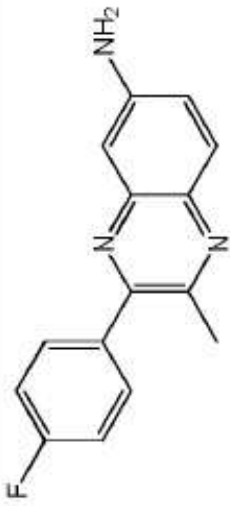
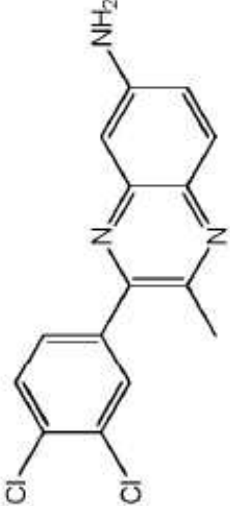
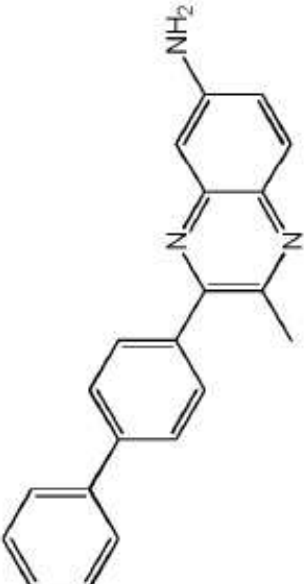
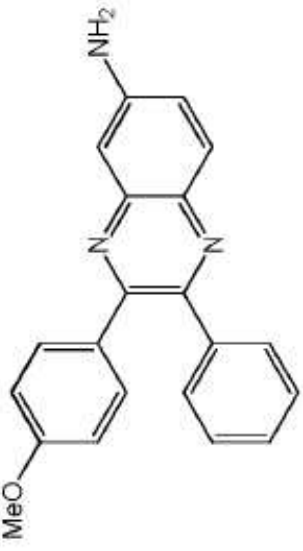
[0035] Los compuestos de fórmula (I) podrán elegirse particularmente entre los compuestos siguientes:
Tabla

	4ba		4bd
	4be		4bf
	4bg		4bc
	4bb		4aa
	4ad		4dd
	4ae		4af

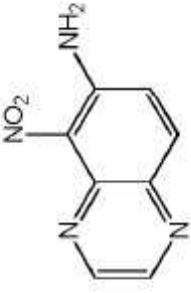
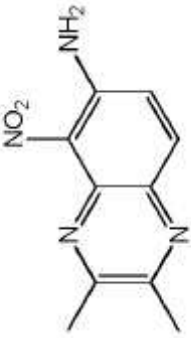
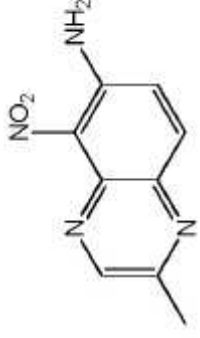
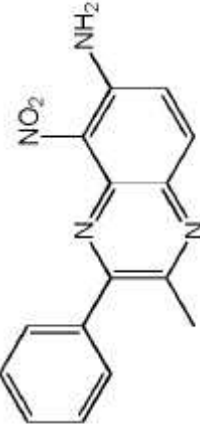
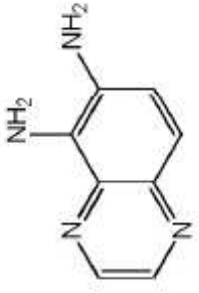
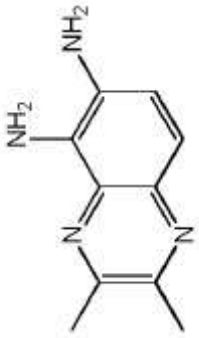
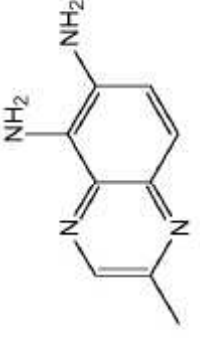
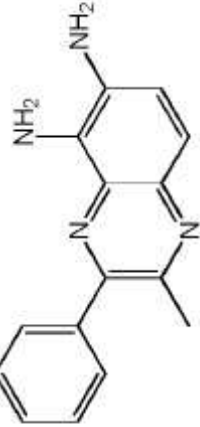
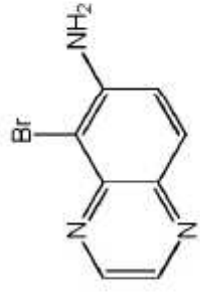
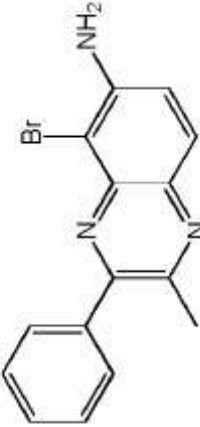
(continuación)

4ag		4ac	
4ed		4de	
4cd		4bh	
4bi		4bj	
4bk		4bi	

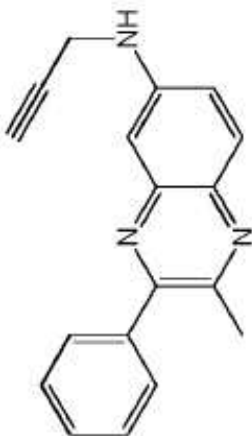
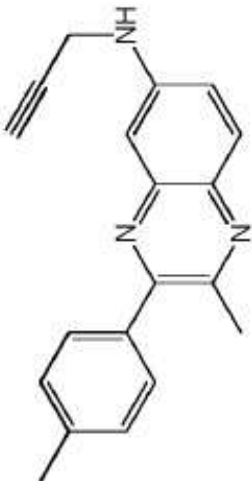
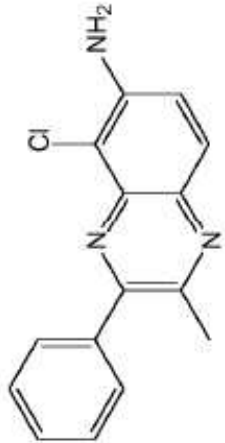
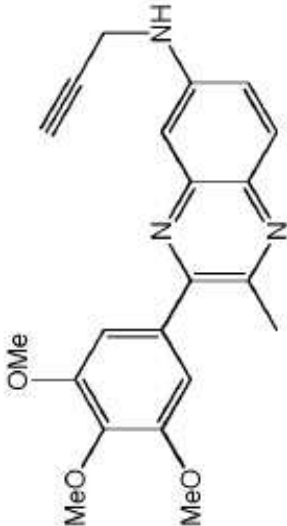
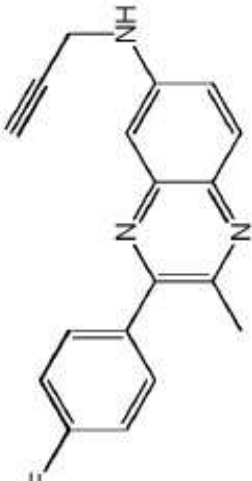
(continuación)

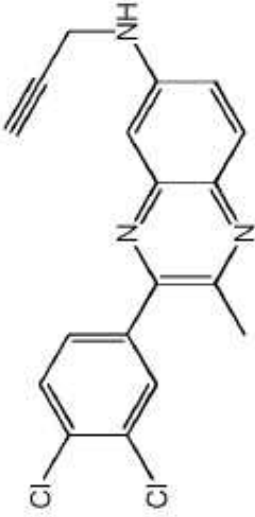
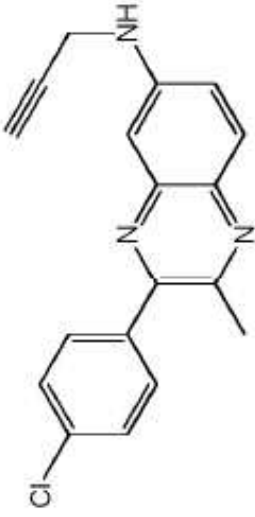
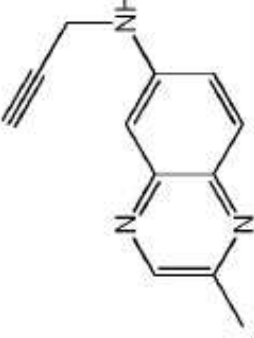
	4bm
	4bo
	4bp
	4bq
	4bn
	4ca
	4ch
	4cb

(continuación)

5aa		5b b	
5ba		5bc	
6aa		6b b	
6ba		6bc	
7aa		7bc	

(continuación)

	9bc
	9bj
	9bl
	9bn
	8bc
	9bh
	9bk
	9bm

	
9b p	
	
9bo	HCl 9ba

(continuación)

[0036]

La presente invención tiene por objeto un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido

anteriormente para su utilización en el tratamiento o la prevención de la enfermedad de Parkinson.

[0037] La presente solicitud describe asimismo la utilización de un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento o la prevención de la enfermedad de Parkinson.

[0038] La presente solicitud describe asimismo una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

[0039] Estas composiciones farmacéuticas pueden formularse para una administración parenteral (por ejemplo, subcutánea, intraperitoneal, intramuscular, intravenosa, intracraneal, intratecal, etc.) oral, sublingual, transdérmica, local o rectal, destinada a los mamíferos, incluido el hombre. La posología varía según el tratamiento y según la afectación en cuestión.

[0040] En estas composiciones farmacéuticas, el ingrediente activo puede administrarse en formas unitarias de administración, mezclado con soportes farmacéuticos clásicos, a los animales o a los seres humanos.

[0041] Las formas unitarias de administración por vía oral apropiadas comprenden los comprimidos, las cápsulas, los polvos, los gránulos y las soluciones o suspensiones orales, y las formas de administración parenteral, particularmente intraperitoneal.

[0042] Cuando se prepara una composición sólida en forma de comprimidos, se mezcla el ingrediente activo principal con un vehículo farmacéutico como la gelatina, el almidón, la lactosa, el estearato de magnesio, el talco, la goma arábiga o análogos. Se pueden recubrir los comprimidos con sacarosa o con otros materiales apropiados o se pueden tratar de forma que tengan una actividad prolongada o retardada y que liberen de forma continua una cantidad predeterminada de principio activo.

[0043] Se obtiene una preparación en cápsulas mezclando el ingrediente activo con un diluyente y vertiendo la mezcla obtenida en cápsulas blandas o duras.

[0044] Una preparación en forma de jarabe o de elixir puede contener el ingrediente activo conjuntamente con un edulcorante, un antiséptico, así como un agente que dé sabor y un colorante apropiado.

[0045] Los polvos o los gránulos dispersables en el agua pueden contener el ingrediente activo mezclado con agentes de dispersión o agentes tensoactivos, o agentes de suspensión, así como correctores de sabor o edulcorantes.

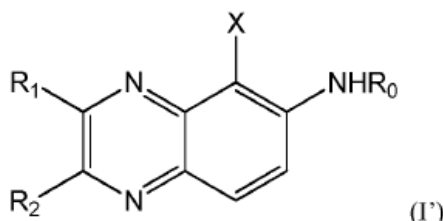
[0046] Para una administración parenteral, se utilizan suspensiones acuosas, soluciones salinas isotónicas o soluciones estériles e inyectables que contienen agentes de dispersión y/o agentes tensoactivos farmacológicamente compatibles.

[0047] El principio activo puede formularse asimismo en forma de microcápsulas, eventualmente con uno o varios soportes aditivos.

[0048] Los compuestos de la invención pueden utilizarse con dosis comprendidas entre 0,01 mg y 1000 mg al día, dados en una sola dosis una vez al día o administrados en varias dosis a lo largo del día, por ejemplo dos veces al día en dosis iguales. La dosis administrada por día está ventajosamente comprendida entre 5 mg y 500 mg, aún más ventajosamente entre 10 mg y 200 mg. Puede ser necesario utilizar dosis que se salgan de estas gamas, de lo que el experto en la materia se dará cuenta por sí mismo.

[0049] Según una realización particular, la composición farmacéutica tal como se ha definido anteriormente podrá comprender además un principio activo, útil particularmente en el tratamiento o la prevención de enfermedades neurodegenerativas, y ventajosamente elegido entre los inhibidores de acetilcolinesterasa tales como el donepezilo, la galantamina, la rivastigmina, la memantina, y la tacrina; inhibidores de monoaminas oxidasa tales como la selegilina o rasagilina; inhibidores de catecolaminas O-metiltransferasa tales como la entacapona; inhibidores glutamatérgicos tales como la amantadina y el baclofeno; agonistas colinérgicos tales como la sabcomelina; agonistas dopaminérgicos tales como la pergolida, la cabergolina, el ropirinol y el pramipexol; análogos o precursores de neuromediadores tales como la L-3,4-dihidroxifenilalanina; y anticolinérgicos tales como el trihexifenidil y la tropatepina.

[0050] La presente solicitud describe asimismo un compuesto de fórmula (I) siguiente:



5

en la que:

- X representa un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno como un bromo o un cloro, un grupo NO₂ o NH₂;

- R₀ representa H o -CH₂-C≡CH, y particularmente H, y

10 - R₁ y R₂ representan cada uno, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno; una cadena hidrocarbonada saturada o insaturada, lineal o ramificada, que consta de 1 a 10, preferentemente de 1 a 6 átomos de carbono; o un grupo arilo eventualmente sustituido;

así como sus sales farmacéuticamente aceptables, sus estereoisómeros o mezclas de estereoisómeros en cualesquiera proporciones, en particular una mezcla de enantiómeros, y particularmente una mezcla racémica, con la exclusión de los compuestos para los cuales X y R₀ representan cada uno un átomo de hidrógeno, y R₁ y R₂ representan cada uno, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno; una cadena hidrocarbonada saturada o insaturada, lineal o ramificada, que consta de 1 a 6 átomos de carbono; o un grupo arilo no sustituido, y sus sales farmacéuticamente aceptables.

20

[0051] Los compuestos excluidos corresponden a compuestos descritos en WO 2010/007179 como intermediarios de síntesis.

[0052] Según una realización particular, el compuesto de fórmula (I') no será un compuesto para el cual X y R₀ representen cada uno un átomo de hidrógeno y R₁ y R₂ representan cada uno, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno o un grupo arilo eventualmente sustituido, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

25

[0053] Preferentemente, el compuesto de fórmula (I') no será la 6-amino-5-bromoquinoxalina, la 5-nitro-6-aminoquinoxalina, la 3-metil-5-nitro-6-amino-quinoxalina, la 2-metil-5-nitro-6-amino-quinoxalina, la 5,6-diaminoquinoxalina, la 5,6-diamino-2-metil-quinoxalina, la 5,6-diamino-2-decil-quinoxalina y la 5,6-diamino-3-decil-quinoxalina. Dichos compuestos están descritos particularmente en WO 2011/044229; Nasielski-Hinkens y Kaisin Organic Mass Spectrometry 1985, 20(12), 733-737; y Nasielski *et al.* Bull. Soc. Chim. Belg. 1988, 97(10), 743-750.

30

[0054] Según una primera realización particular, X y R₀ representan cada uno un átomo de hidrógeno y al menos uno de los grupos R₁ y R₂ representa un grupo arilo sustituido, particularmente por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, arilo, N₃, NO₂, NH₂, o -NH-((C₁-C₆)alquilo); preferentemente elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi o arilo.

35

[0055] Este grupo arilo sustituido podrá ser un grupo *p*-metoxifenilo, *m*-metoxifenilo, 3,4-dimetoxifenilo, 3,4,5-trimetoxifenilo, *p*-fluorofenilo, *p*-metilfenilo, *p*-clorofenilo, 3,4-diclorofenilo, o bifenilo.

40

[0056] El otro grupo R₁ o R₂ podrá representar entonces un átomo de hidrógeno; un grupo (C₁-C₆)alquilo; o un grupo arilo, tal como el fenilo, eventualmente sustituido, en particular por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, arilo, N₃, NO₂, NH₂, o -NH-((C₁-C₆)alquilo), preferentemente elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi o arilo.

45

[0057] Ventajosamente, X y R₀ representan cada uno un átomo de hidrógeno, uno de los grupos R₁ y R₂ representa un grupo arilo, tal como fenilo, sustituido, particularmente por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, arilo, N₃, NO₂, NH₂, o -NH-((C₁-C₆)alquilo), y el otro grupo R₁ o R₂ representa una cadena hidrocarbonada saturada o insaturada, lineal o ramificada, que consta de 1 a 10,

50

preferentemente 1 a 6 átomos de carbono, tal como un grupo (C₁-C₆)alquilo.

[0058] En el marco de esta primera realización particular, el grupo (C₁-C₆)alquilo podrá ser más particularmente un grupo metilo, *n*-butilo, *n*-hexilo, *s*-butilo o *t*-butilo; y el grupo arilo eventualmente sustituido podrá ser más particularmente un grupo fenilo, *p*-metoxifenilo, *m*-metoxifenilo, 3,4-dimetoxifenilo, 3,4,5-trimetoxifenilo, 2-naftilo, *p*-fluorofenilo, *p*-metilfenilo, *p*-clorofenilo, 3,4-diclorofenilo, o bifenilo.

[0059] Ventajosamente, R₁ representará un grupo arilo, y particularmente fenilo, eventualmente sustituido, en particular por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, arilo, N₃, NO₂, NH₂, o -NH-((C₁-C₆)alquilo); preferentemente elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi o arilo. Este grupo podrá elegirse particularmente entre los grupos fenilo *p*-metoxifenilo, *m*-metoxifenilo, 3,4-dimetoxifenilo, 3,4,5-trimetoxifenilo, 2-naftilo, *p*-fluorofenilo, *p*-metilfenilo, *p*-clorofenilo, 3,4-diclorofenilo, o bifenilo.

[0060] Según otra realización de la invención, X representa un átomo de halógeno, un grupo NO₂ o NH₂; y en particular representa un átomo de bromo, un grupo NO₂ o NH₂, y/o R₀ representa -CH₂-C≡CH.

[0061] R₁ y R₂ representarán entonces ventajosamente cada uno, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno; un grupo (C₁-C₆)alquilo; o un grupo arilo eventualmente sustituido, en particular por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, arilo, N₃, NO₂, NH₂, o -NH-((C₁-C₆)alquilo); preferentemente elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi o arilo.

[0062] En particular, R₁ y R₂ podrán representar cada uno, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno; un grupo (C₁-C₆)alquilo; o un grupo fenilo eventualmente sustituido, en particular por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, arilo, N₃, NO₂, NH₂, o -NH-((C₁-C₆)alquilo); preferentemente elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi o arilo.

[0063] Según una realización particular, R₁ representará un grupo arilo, y particularmente fenilo, eventualmente sustituido, en particular por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, arilo, N₃, NO₂, NH₂, o -NH-((C₁-C₆)alquilo); preferentemente elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi o arilo.

[0064] Según otra realización particular de la invención, R₂ representará una cadena hidrocarbonada saturada o insaturada, lineal o ramificada, que consta de 1 a 10, preferentemente de 1 a 6 átomos de carbono; preferentemente un grupo (C₁-C₆)alquilo.

[0065] Según todavía otra realización particular de la invención:

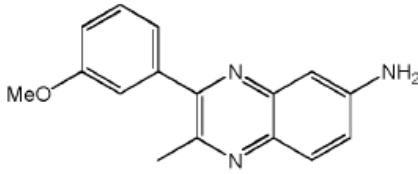
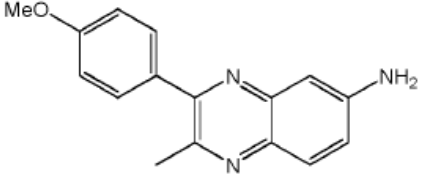
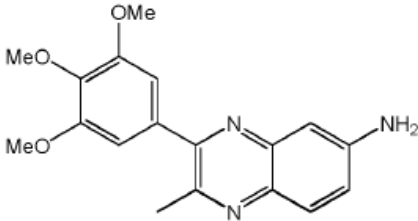
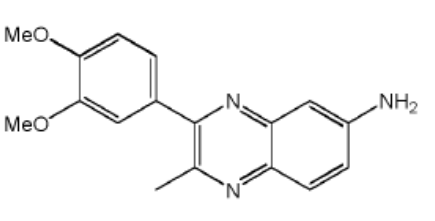
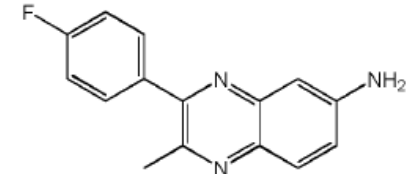
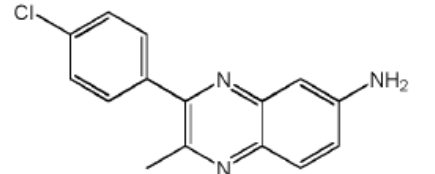
- R₁ representará una cadena hidrocarbonada saturada o insaturada, lineal o ramificada, que consta de 1 a 10, preferentemente de 1 a 6 átomos de carbono, tal como un grupo (C₁-C₆)alquilo; o un grupo arilo eventualmente sustituido, particularmente por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, arilo, N₃, NO₂, NH₂, o -NH-((C₁-C₆)alquilo), y
- R₂ representará una cadena hidrocarbonada saturada o insaturada, lineal o ramificada, que consta de 1 a 10, preferentemente de 1 a 6 átomos de carbono, tal como un grupo (C₁-C₆)alquilo.

[0066] En particular, los radicales R₁ y R₂ podrán definirse como sigue:

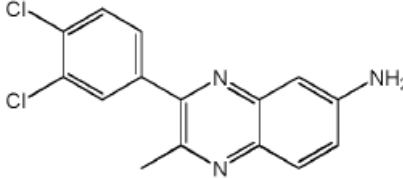
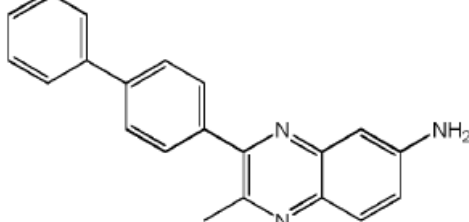
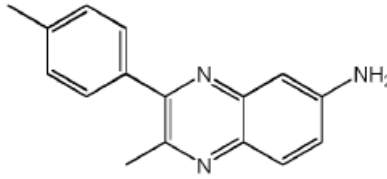
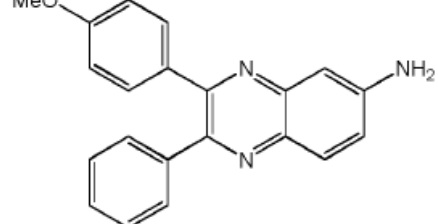
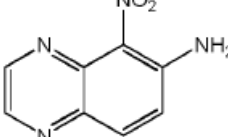
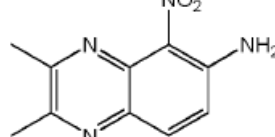
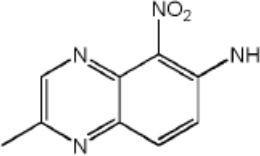
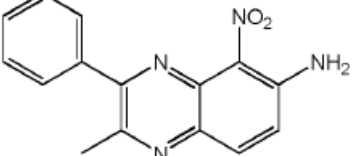
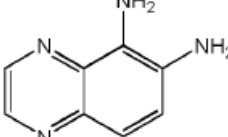
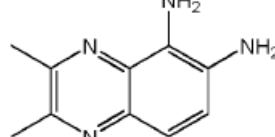
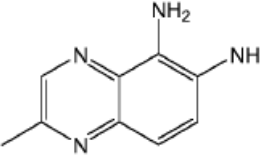
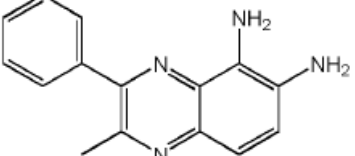
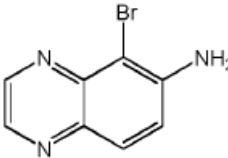
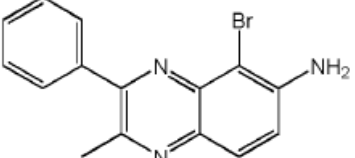
- R₁ representará un grupo (C₁-C₆)alquilo o un grupo arilo eventualmente sustituido, en particular por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, arilo, N₃, NO₂, NH₂, o -NH-((C₁-C₆)alquilo); ventajosamente un grupo arilo eventualmente sustituido, particularmente por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, arilo, N₃, NO₂, NH₂, o -NH-((C₁-C₆)alquilo), y
- R₂ representará un grupo (C₁-C₆)alquilo.

[0067] En las definiciones de R₁ y R₂ anteriores, el grupo (C₁-C₆)alquilo podrá ser más particularmente un grupo metilo, *n*-butilo, *n*-hexilo, *s*-butilo o *t*-butilo; y el grupo arilo eventualmente sustituido podrá ser más particularmente un grupo fenilo, *p*-metoxifenilo, *m*-metoxifenilo, 3,4-dimetoxifenilo, 3,4,5-trimetoxifenilo, 2-naftilo, *p*-fluorofenilo, *p*-metilfenilo, *p*-clorofenilo, 3,4-diclorofenilo, o bifenilo.

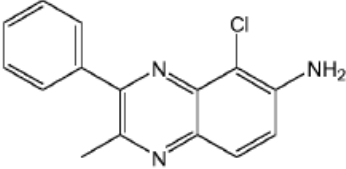
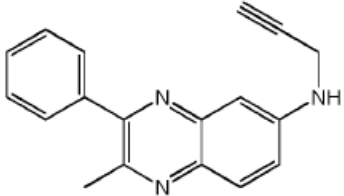
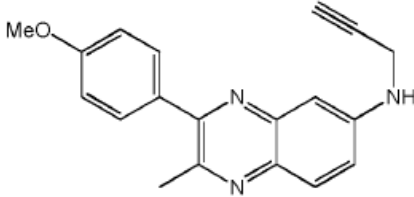
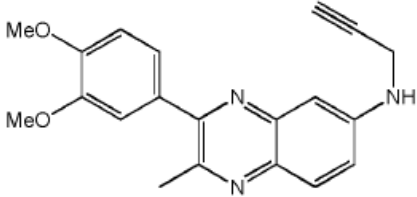
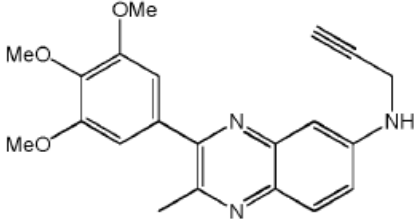
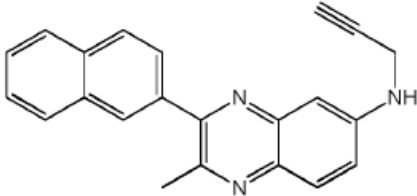
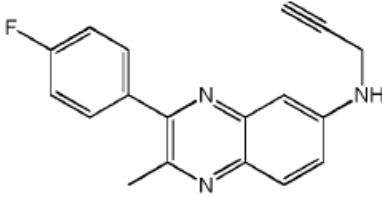
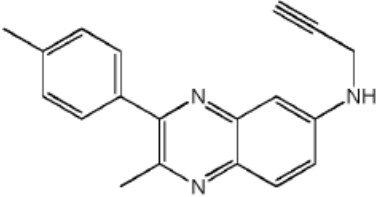
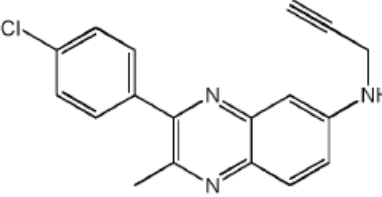
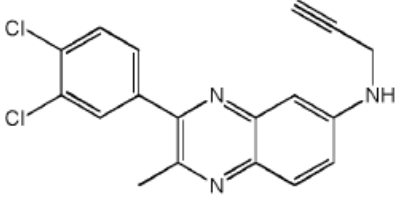
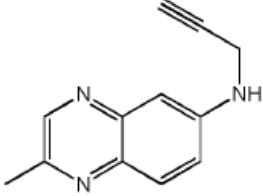
[0068] Los compuestos de fórmula (I') podrán elegirse particularmente entre los compuestos siguientes:

4bi		4bh	
4bk		4bj	
4bm		4bo	

(continuación)

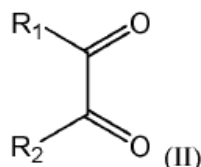
4bp		4bq	
4bn		4ch	
5aa		5bb	
5ba		5bc	
6aa		6bb	
6ba		6bc	
7aa		7bc	

(continuación)

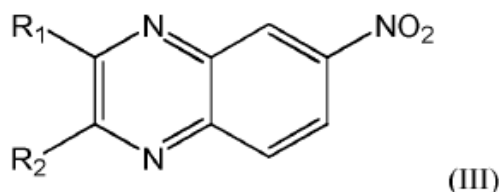
8bc		9bc	
9bh		9bj	
9bk		9bl	
9bm		9bn	
9bo		9bp	
9ba	HCl 		

[0069] La presente solicitud describe asimismo un procedimiento (1) de preparación de un compuesto de fórmula (I) anterior para el cual $X = R_0 = H$ y al menos uno de los grupos R_1 y R_2 representa un grupo arilo sustituido, que comprende las etapas sucesivas siguientes:

(a1) acoplamiento entre la 4-nitrofenileno-1,2-diamina y un compuesto de fórmula (II) siguiente:



para la cual R_1 y R_2 son tales como los definidos anteriormente, uno al menos de los grupos R_1 y R_2 representando un grupo arilo sustituido, para dar un compuesto de fórmula (III) siguiente:



para la cual R_1 y R_2 son tales como los definidos anteriormente, uno al menos de los grupos R_1 y R_2 representando un grupo arilo sustituido, y (b1) reducción de la función nitro del compuesto (III) obtenido en la etapa (a1) anterior para dar un compuesto de fórmula (I) para el cual $\text{X} = \text{R}_0 = \text{H}$ y al menos uno de los grupos R_1 y R_2 representa un grupo arilo sustituido

[0070] Preferentemente, X representa un átomo de hidrógeno, uno de los grupos R_1 y R_2 representa un grupo arilo, tal como fenilo, sustituido, particularmente por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ alquilo, $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ alcoxi, arilo, N_3 , NO_2 , NH_2 , o $-\text{NH}-((\text{C}_1\text{-C}_6)\text{alquilo})$, y el otro grupo R_1 o R_2 representa una cadena hidrocarbonada saturada o insaturada, lineal o ramificada, que consta de 1 a 10, preferentemente 1 a 6 átomos de carbono, tal como un grupo $(\text{C}_1\text{-C}_6)$ alquilo.

Etapas (a1):

[0071] Los productos de inicio utilizados para esta etapa están generalmente disponibles para la venta o pueden prepararse fácilmente por procedimientos bien conocidos por el experto en la materia.

[0072] Esta reacción se realizará ventajosamente con agua como disolvente, particularmente por reflujo.

Etapas (b1):

[0073] El reductor utilizado en la etapa (b1) para reducir la función nitro en función amino será ventajosamente SnCl_2 . Esta reacción podrá realizarse en etanol, preferentemente absoluto, y ventajosamente por reflujo de este.

[0074] Esta etapa de reducción podrá realizarse igualmente en atmósfera de hidrógeno, en presencia de paladio sobre carbón.

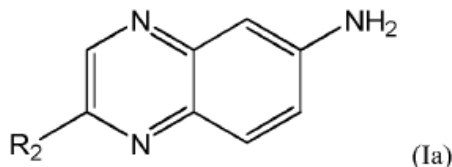
[0075] El compuesto así obtenido podrá separarse del medio reaccional por procedimientos bien conocidos por el experto en la materia, como por ejemplo por extracción, evaporación del disolvente o incluso por precipitación y filtración.

[0076] El compuesto podrá purificarse además si es necesario con técnicas bien conocidas por el experto en la materia, como por recristalización si el compuesto es cristalino, por destilación, por cromatografía en columna de gel de sílice o por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

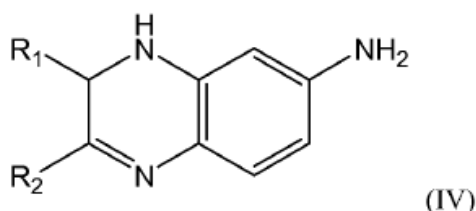
[0077] La presente solicitud describe asimismo un procedimiento (2) de preparación de un compuesto de fórmula (I) anterior para el cual $\text{X} = \text{R}_0 = \text{H}$ y al menos uno de los grupos R_1 y R_2 representa un grupo arilo sustituido, que comprende las etapas sucesivas siguientes:

(a2) reacción de un compuesto de fórmula R_1Li para el cual R_1 es tal como se ha definido anteriormente pero no

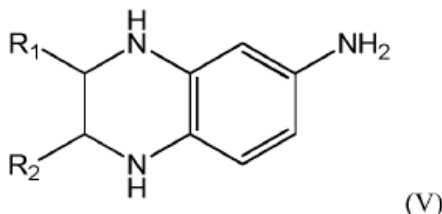
puede representar un átomo de hidrógeno, con un compuesto de fórmula (Ia) siguiente:



5 para el cual R_2 es tal como se ha definido anteriormente, a una temperatura comprendida entre -100 y 25 °C, particularmente a aproximadamente -78 °C, para dar un compuesto de fórmula (IV) siguiente:



10 para el cual R_1 y R_2 son tales como los definidos anteriormente con $R_1 \neq H$, al menos uno de los grupos R_1 y R_2 representando un grupo arilo sustituido, (b2) eventualmente, cuando $R_2 = H$ en la fórmula (IV) anterior, reacción del compuesto de fórmula (IV) obtenido en la etapa (a2) anterior con un compuesto de fórmula R_2Li para el cual R_2 es tal como se ha definido anteriormente pero no puede representar un átomo de hidrógeno, a una temperatura comprendida entre -78 y 25 °C, particularmente a aproximadamente 0 °C, para dar un compuesto de fórmula (V) siguiente:



para los cuales R_1 y R_2 son tales como los definidos anteriormente con R_1 y $R_2 \neq H$, al menos uno de los grupos R_1 y R_2 representando un grupo arilo sustituido, y (c2) oxidación del compuesto de fórmula (IV) o (V) obtenido respectivamente en la etapa (a2) o (b2) anterior para dar un compuesto de fórmula (I) para el cual R_1 y R_2 son tales como los definidos anteriormente, al menos uno de los grupos R_1 y R_2 representa un grupo arilo sustituido.

25 **[0078]** Preferentemente, X representa un átomo de hidrógeno, uno de los grupos R_1 y R_2 representa un grupo arilo, tal como fenilo, sustituido, particularmente por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C_1-C_6) alquilo, (C_1-C_6) alcoxi, arilo, N_3 , NO_2 , NH_2 , o $-NH-((C_1-C_6)alquilo)$, y el otro grupo R_1 o R_2 representa una cadena hidrocarbonada saturada o insaturada, lineal o ramificada, que consta de 1 a 10, preferentemente 1 a 6 átomos de carbono, tal como un grupo (C_1-C_6) alquilo.

30 **Etapla (a2):**

[0079] El compuesto R_1Li utilizado para esta etapa puede ser bien comercial, bien fácilmente accesible por procedimientos de síntesis bien conocidos por el experto en la materia.

35 **[0080]** Los compuestos de fórmula (Ia), por su parte, pueden prepararse según el procedimiento (1) descrito anteriormente o por cualquier otro procedimiento conocido por el experto en la materia.

[0081] Esta reacción se realizará ventajosamente en tetrahidrofurano como disolvente.

Etapla (b2):

[0082] El compuesto R_2Li utilizado para esta etapa puede ser bien comercial, bien fácilmente accesible por procedimientos de síntesis bien conocidos por el experto en la materia.

[0083] Esta reacción se realizará ventajosamente en tetrahidrofurano como disolvente.

Etapla (c2):

10

[0084] Esta etapa podrá realizarse en presencia de un oxidante, tal como MnO_2 , que permita rearomatizar el núcleo quinoxalina.

15

[0085] La reacción podrá realizarse en cloroformo utilizado como disolvente, particularmente por reflujo.

[0086] El compuesto así obtenido podrá separarse del medio reaccional por procedimientos bien conocidos por el experto en la materia, como por ejemplo por extracción, evaporación del disolvente o incluso por precipitación y filtración.

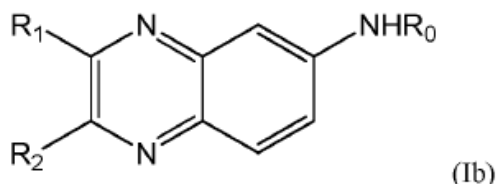
20

[0087] El compuesto podrá purificarse además si es necesario con técnicas bien conocidas por el experto en la materia, como por recristalización si el compuesto es cristalino, por destilación, por cromatografía en columna de gel de sílice o por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

25

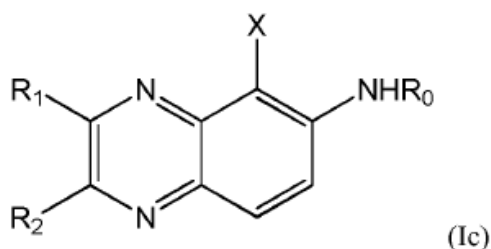
[0088] La presente solicitud describe asimismo un procedimiento (3) de preparación de un compuesto de fórmula (I) anterior para el cual $X \neq H$, que comprende las etapas sucesivas siguientes:

(a3) nitración o halogenación de un compuesto de fórmula (Ib) siguiente:



30

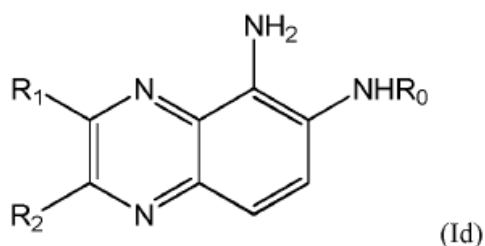
para el cual R_0 , R_1 y R_2 son tales como los definidos anteriormente, para dar un compuesto de fórmula (Ic) siguiente:



35

para el cual R_0 , R_1 y R_2 son tales como los definidos anteriormente y X representa un átomo de halógeno o un grupo NO_2 , y

(b3) eventualmente, cuando $X = NO_2$ en la fórmula (Ic) anterior, reducción del compuesto de fórmula (Ic) obtenido en la etapa (a3) anterior para dar un compuesto de fórmula (Id) siguiente:



para el cual R_0 , R_1 y R_2 son tales como los definidos anteriormente.

5 Etapas (a3):

[0089] Los compuestos de fórmula (Ib) pueden prepararse particularmente según el procedimiento (1) o (2) descrito anteriormente cuando $R_0 = H$ o según el procedimiento (4) siguiente cuando $R_0 = CH_2-C\equiv CH$.

- 10 **[0090]** La reacción de nitración podrá realizarse en presencia de KNO_3 en ácido sulfúrico, particularmente a una temperatura inferior a $0^\circ C$, por ejemplo, a aproximadamente $-10^\circ C$.

- [0091]** La etapa de halogenación podrá efectuarse con cualquier agente de halogenación conocido por el experto en la materia. En el caso de una bromación, el dibromo podrá utilizarse, en concreto en ácido acético, por ejemplo, a temperatura ambiente. En el caso de una cloración, la *N*-clorosuccinimida podrá utilizarse, en concreto en diclorometano como disolvente, por ejemplo, a temperatura ambiente.
- 15

Etapas (b3):

- 20 **[0092]** El reductor utilizado en la etapa (b3) para reducir la función nitro a función amino será ventajosamente $SnCl_2$. Esta reacción podrá realizarse en etanol, preferentemente absoluto, y ventajosamente por reflujo de este.

[0093] Esta etapa de reducción podrá realizarse igualmente en atmósfera de hidrógeno, en presencia de paladio sobre carbón.

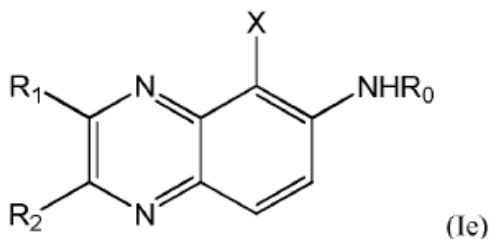
- 25 **[0094]** El compuesto (Ic) o (Id) así obtenido podrá separarse del medio reaccional por procedimientos bien conocidos por el experto en la materia, como por ejemplo por extracción, evaporación del disolvente o incluso por precipitación y filtración.

- 30 **[0095]** El compuesto podrá purificarse además si es necesario con técnicas bien conocidas por el experto en la materia, como por recristalización si el compuesto es cristalino, por destilación, por cromatografía en columna de gel de sílice o por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

- [0096]** Hay que señalar que las fórmulas (Ia) a (Id) descritas anteriormente representan subfórmulas particulares de la fórmula (I) y deben considerarse por tanto como que representan los compuestos de fórmula (I).
- 35

[0097] La presente solicitud describe asimismo un procedimiento (4) de preparación de un compuesto de fórmula (I) anterior para el cual $R_0 = CH_2-C\equiv CH$, que comprende la reacción de un compuesto de fórmula (Ie) siguiente:

40



en la que:

- X representa un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno tal como un bromo o un cloro, o un grupo NO₂;
- R₀ representa H; y

5 - R₁ y R₂ representan cada uno, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno; una cadena hidrocarbonada saturada o insaturada, lineal o ramificada, que consta de 1 a 10, preferentemente de 1 a 6 átomos de carbono; o un grupo arilo eventualmente sustituido;

con un halogenuro de propargilo, preferentemente con el bromuro de propargilo.

10

[0098] La fórmula (Ie) representa por tanto una subfórmula particular de la fórmula (I) según la invención (para la cual principalmente R₀ = H) y deben considerarse por tanto como que representan los compuestos de fórmula (I).

15 **[0099]** Los compuestos de fórmula (Ie) pueden prepararse particularmente según los procedimientos (1), (2) y (3) descritos anteriormente.

[0100] Compuestos de fórmula (I) para los cuales X = NH₂ no pueden utilizarse en esta reacción porque la unidad propargilo podría adicionarse asimismo en esta función amino. Por tanto, es preferible en este caso efectuar la reacción de sustitución por una unidad propargilo a partir de un compuesto para el cual R₀ = H y X = NO₂ y reducir después esta función nitro a función amino de conformidad con la etapa (b3) del procedimiento (3) descrito anteriormente.

20 **[0101]** La reacción con el halogenuro de propargilo se realiza ventajosamente en un medio básico, particularmente en presencia de una base tal como K₂CO₃. Podrá realizarse en presencia de iones yoduros ventajosamente introducidos por adición de una sal de yoduro tal como KI.

[0102] Esta reacción podrá realizarse en un disolvente tal como la dimetilformamida, particularmente a una temperatura de 100 °C.

30

[0103] Pueden ser eventualmente necesarias etapas adicionales de protección/desprotección para proteger las funciones que fueran sensibles/reactivas en las condiciones de reacción, lo que sabrá apreciar el experto en la materia.

35 **[0104]** El compuesto así obtenido podrá separarse del medio reaccional por procedimientos bien conocidos por el experto en la materia, como por ejemplo por extracción, evaporación del disolvente o incluso por precipitación y filtración.

40 **[0105]** El compuesto podrá purificarse además si es necesario con técnicas bien conocidas por el experto en la materia, como por recristalización si el compuesto es cristalino, por destilación, por cromatografía en columna de gel de sílice o por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

[0106] La presente invención se comprenderá mejor a la luz de los ejemplos no limitativos que siguen.

45 FIGURAS

[0107]

La **figura 1** presenta imágenes de cultivos bien no tratados (control, B), bien tratados con el compuesto **4bc** a 100 nM (A) o con el dbc-AMP a 200 μM (C), cuyas neuronas dopaminérgicas están inmunomarcadas por reconocimiento de la tirosina hidroxilasa.

La **figura 2** presenta un esquema de disección del cerebro de ratón en 3 partes.

La **figura 3** presenta un diagrama que representa la media de los pesos (g) de ratones de un mismo grupo en función del tiempo (j) durante el tratamiento *per os* en ratones no tratados, ratones que han recibido el vehículo o ratones que han recibido el compuesto **4bc** a razón de 300 mg/kg/día.

55 La **figura 4** presenta cromatogramas (abscisas: tiempos (mín); ordenadas: intensidad relativa (%)) obtenidos por HPLC-MS/MS a partir de extractos de cerebros de diferentes ratones del estudio por vía IP para cuantificar el compuesto **4bc**.

La **figura 5** presenta cromatogramas (abscisas: tiempos (mín); ordenadas: intensidad relativa (%)) obtenidos por

HPLC-MS/MS a partir de extractos de cerebros de diferentes ratones del estudio por vía IP eutanasiados 2 h después del último tratamiento, los extractos habiendo sido conservados 40 días a 4 °C antes del análisis para cuantificar el compuesto **4bc**.

La **figura 6** presenta cromatogramas (abscisas: tiempos (mín); ordenadas: intensidad relativa (%)) obtenidos por HPLC-MS/MS a partir de extractos de cerebros de diferentes ratones del estudio por vía IP eutanasiados entre 4 y 6 h después del último tratamiento, los extractos habiendo sido conservados 40 días a 4 °C antes del análisis para detectar el compuesto **4bc**.

La **figura 7** presenta cromatogramas (abscisas: tiempos (mín); ordenadas: intensidad relativa (%)) obtenidos por HPLC-MS/MS a partir de extractos de cerebros de diferentes ratones del estudio *per os* para verificar la presencia del compuesto **4bc**.

La **figura 8** presenta la cinética en el cerebro y el plasma del ratón del compuesto **4bc** después de administración por vía IP.

La **figura 9** presenta la densidad óptica media de los estriados (ST.R) e izquierdo (ST.L) de los diferentes grupos de ratones (NT/NL: no tratados/no lesionados; T/NL: tratados/no lesionados; NT/L: no tratados/lesionados; T/L: tratados/lesionados) utilizados en el estudio *in vivo* de neuroprotección del compuesto **4bc** administrado por vía oral, frente a una toxina - MPTP - administrada por vía intranasal.

La **figura 10** presenta cantidad media de neurona positiva para tirosina hidroxilasa (TH⁺) en la sustancia negra de los diferentes grupos de ratones (NT/NL: no tratados/no lesionados; T/NL: tratados/no lesionados; NT/L: no tratados/lesionados; T/L: tratados/lesionados) utilizados en el estudio *in vivo* de neuroprotección del compuesto **4bc** administrado por vía oral, frente a una toxina - MPTP - administrada por vía intranasal.

EJEMPLOS

[0108] Las abreviaciones siguientes se han utilizado en esta parte:

AMP	Adenosina 3',5'-monofosfato
dbc-AMP	Dibutiril adenosina 3',5'-monofosfato cíclico
DCM	Diclorometano
DMSO	Dimetilsulfóxido
30 Equiv.	Equivalente
ESI	Ionización por electrospray
EtOH _{abs}	Etanol absoluto
HPLC	Cromatografía Líquida de Alta Resolución
HPLC-	Cromatografía Líquida de Alta Resolución acoplada a dos
35 MS/MS	Espectrometrías de masa IR Infrarrojo
NCS	N-cloro-succinimida
MPTP	1-Metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina
MRM	Multiple Reaction Monitoring
MS	Espectro de masa
40 RMN	Resonancia Magnética Nuclear
t.a.	Temperatura ambiente
THF	Tetrahidrofurano
UV	Ultravioleta

45 **[0109]** Los compuestos se han nombrado como sigue:

- primer sufijo = R₂
- segundo sufijo = R₁

50 con **a** = H, **b** = Me, **c** = Ph, **d** = *n*-Bu, **e** = *n*-Hex, **f** = *s*-Bu, **g** = *t*-Bu, **h** = *p*-metoxifenilo, **i** = *m*-metoxifenilo, **j** = 3,4-dimetoxifenilo, **k** = 3,4,5-trimetoxifenilo, **l** = 2-naftilo, **m** = *p*-fluorofenilo, **n** = *p*-metilfenilo, **o** = *p*-clorofenilo, **p** = 3,4-diclorofenilo, **q** = bifenilo.

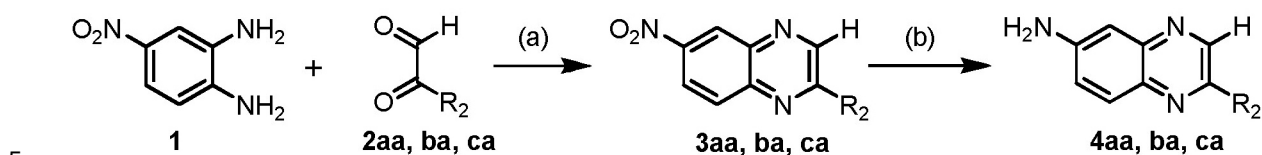
I. Síntesis de los compuestos según la invención

55 **I.1. Procedimientos generales**

[0110] Una condensación de Hinsberg entre la 4-nitrofenileno-1,2-diamina **1** y el glioxal **2aa**, el piruvaldehído **2ba** o el fenilglioxal **2ca**, compuestos comerciales todos, permite obtener regioselectivamente la 6-nitroquinoxalina

3aa, el Sólido anaranjado **3ba** o la 2-fenil-6-nitroquinoxalina **3ca**. Una reducción de la función nitro en función amina por el cloruro de estaño (o el hidrógeno en presencia del paladio sobre carbón) conduce a la 6-aminoquinoxalina **4aa**, la 2-metil-6-aminoquinoxalina **4ba** y la 2-fenil-6-aminoquinoxalina **4ca** (ver esquema 1).

Esquema 1^a



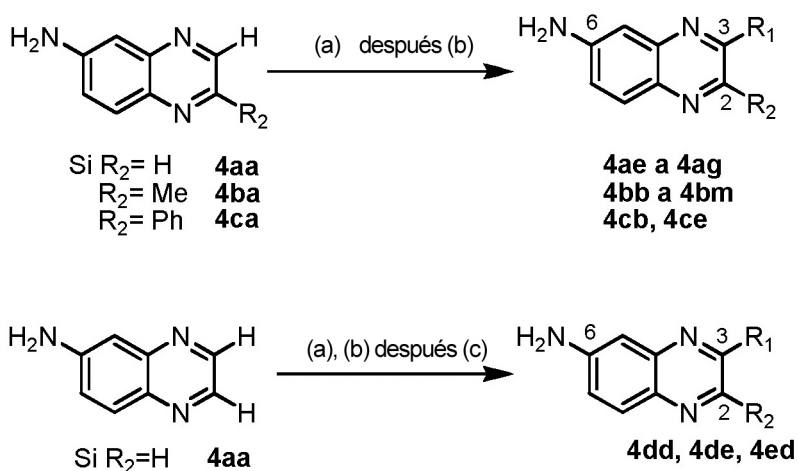
^a Reactivos y condiciones: (a) H₂O, reflujo. (b) SnCl₂, EtOH_{abs}, reflujo, o H₂, Pd/C, 60 °C.

[0111] Las sustituciones en posiciones 2 y 3 de la quinoxalina se introducen por una reacción que implica compuestos organolíticos. Efectivamente, la sustitución en posición 3 del ciclo por un organolítico es selectiva a -78 °C sobre los compuestos **4aa**, **4ba** o **4ca**, que permiten así obtener quinoxalinas diversamente sustituidas en posición 3. Una segunda sustitución en posición 2 del ciclo es posible a 0 °C cuando la posición 3 ya está ocupada por un sustituyente y la posición 2 está libre, lo que permite obtener quinoxalinas disustituidas no simétricas. Una rearomatización con dióxido de manganeso permitió obtener los compuestos 4 diversamente sustituidos (ver esquema 2). También es posible obtener una quinoxalina 4 disustituida efectuando una reacción de Hinsberg descrita anteriormente con una dicetona en lugar del cetoaldehído (ver esquema 3).

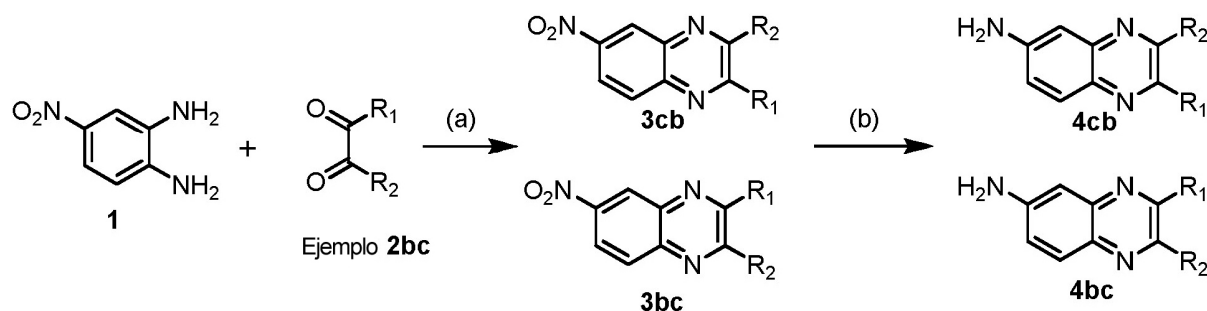
10

15

Esquema 2^a



20 ^a Reactivos y condiciones: (a) R₁Li, THF, -78°C. (b) R₂Li, THF, -78 °C después 0 °C. (b) MnO₂, CHCl₃, reflujo.

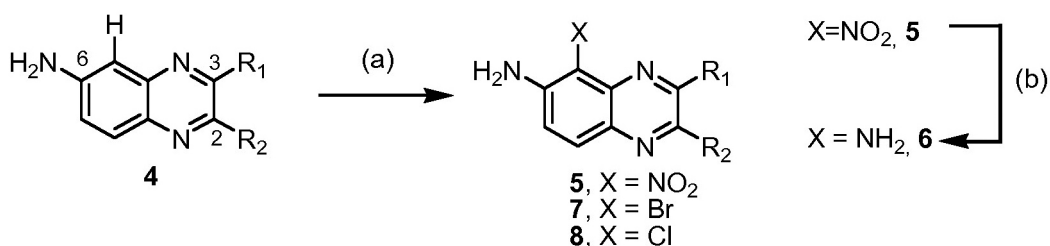
Esquema 3^a

^a Reactivos y condiciones: (a) H₂O, refuerzo. (b) (i) SnCl₂, EtOH_{abs}, refuerzo, o H₂, Pd/C, 60 °C. (ii) Cromatografía, separación de los isómeros

5

[0112] Las quinoxalinas 4 están selectivamente sustituidas en posición 5 por sustitución aromática con electrófilos tales como el ion nitronio producido con nitrato de potasio en el ácido sulfúrico que dan los compuestos nitrados 5, así como los halogenuros como bromo en ácido acético que dan los compuestos halogenados 7. A partir de los derivados nitrados 5, los compuestos aminados 6 se obtienen por reducción con el cloruro de estaño (II) por refuerzo en etanol absoluto o en atmósfera de hidrógeno en presencia de Pd/C a 60 °C (ver esquema 4).

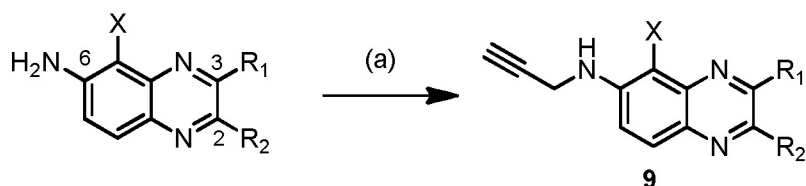
10

Esquema 4^a

^a Reactivos y condiciones: (a) KNO₃, H₂SO₄, -10 °C o Br₂, AcOH, t.a. o NCS, DCM, t.a. (b) SnCl₂, EtOH_{abs}, refuerzo, o H₂, Pd/C, 60 °C.

15

[0113] La función amina de las 6-amino-quinoxalinas puede sustituirse asimismo por un grupo propargilo por reacción de las quinoxalinas con el bromuro de propargilo en condición básica en DMF a 100 °C (ver esquema 5).

Esquema 5^a

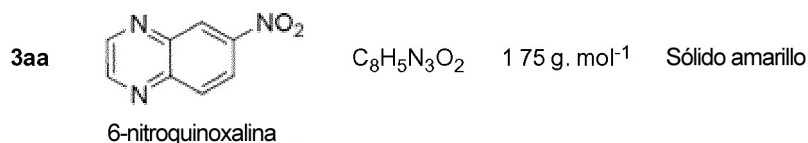
20

^a Reactivos y condiciones: (a) KI, K₂CO₃, DMF, 100°C.

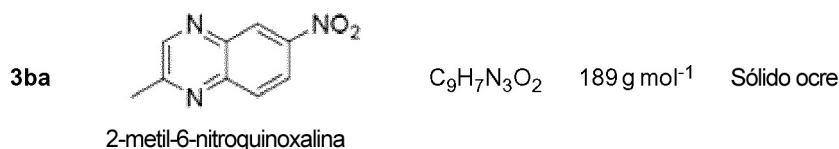
1.2. Síntesis de los compuestos 3

25

[0114]

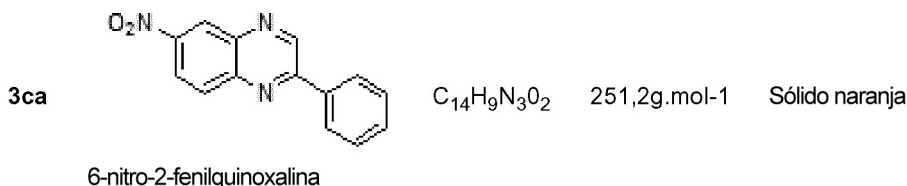


- 5 **[0115]** Se calienta una solución acuosa (30 ml) de 4-nitro-fenileno-1,2-diamina comercial (1,53 g, 10 mmol, 1 equiv.) y de glicoxal (40 % en agua) comercial (1,8 ml, 10 mmol, 1 equiv.) por reflujo durante 4 horas. Una vez enfriada, se recupera el precipitado por filtración y se lava con agua. El sólido obtenido se seca en el autoclave a 100 °C durante 24 h.
- Rendimiento: 93 % (1,63 g). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 8.26 (d, J = 9.2 Hz, 1H); 8.52 (dd, J = 9.2 Hz, J = 2.4 Hz, 1H); 9.01 (s, 3H). RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ ppm: 123.4, 125.9, 131.3, 141.9, 145.3, 147.0, 147.6, 147.9. IR ν cm⁻¹: 3090, 3055, 1610, 1585, 1545, 1520, 1490, 1445, 1370, 1345, 1295, 1205, 1190, 1130, 1075, 955, 930, 870, 850, 810, 740. MS (ESI) m/z: 176 ([M+H]⁺, 23).



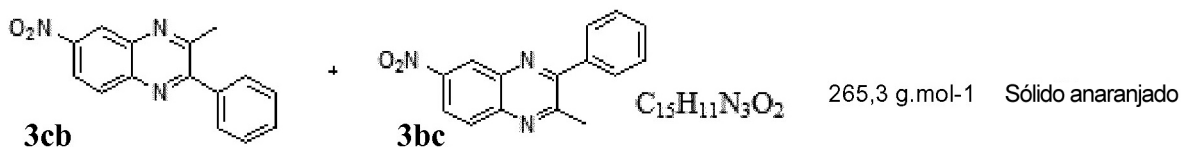
15

- [0116]** Se calienta una solución acuosa (50 ml) de 4-nitro-fenileno-1,2-diamina comercial (3,06 g, 20 mmol, 1 equiv.) y de aldehído pirúvico (40 % en agua) comercial (3,6 ml, 20 mmol, 1 equiv.) por reflujo durante 1,5 horas. Una vez enfriada, se recupera el precipitado por filtración y se lava con agua. El sólido obtenido se seca en el autoclave a 100 °C durante 24 h.
- 20 Rendimiento: 90 % (3,40 g). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 2.82 (s, 3H); 8.10 (d, J = 8.4 Hz, 1H); 8.45 (d, J = 8.0 Hz, 1H); 8.87 (s, 1H); 8.92 (s, 1H). RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ ppm: 22.8, 123.3, 125.5, 130.2, 139.7, 144.5, 147.0, 148.1, 157.3. IR ν cm⁻¹: 3045, 2955, 1615, 1565, 1520, 1490, 1455, 1390, 1340, 1295, 1210, 1185, 1080, 965, 940, 930, 860, 830, 795, 745, 715. MS (ESI) m/z: 190 ([M+H]⁺, 100).



25

- [0117]** Se calienta una solución acuosa (40 ml) de 4-nitro-fenileno-1,2-diamina comercial (1,530 g, 10 mmol, 1 equiv.) y de fenilglicoxal monohidrato comercial (1,522 g, 10 mmol, 1 equiv.) por reflujo durante 1 hora. Una vez enfriada, se recupera el precipitado por filtración y se lava con agua. El sólido obtenido se seca en el autoclave a 100 °C durante 24 h.
- 30 Rendimiento: 98 % (2,455 g). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 7.61 (m, 3H), 8.24-8.29 (m, 3H), 8.55 (dd, J = 9.3 y 2.3 Hz, 1H), 9.02 (d, J = 2.4 Hz, 1H), 9.49 (s, 1H). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm: 123.8, 125.6, 127.9 (2C), 129.4 (2C), 131.2, 131.4, 135.6, 140.3, 144.9, 145.5, 147.4, 154.3.



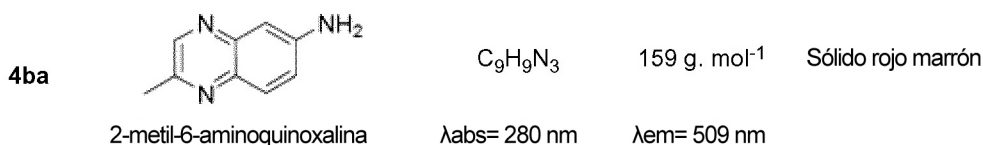
3-metil-6-nitro-2-fenilquinoxalina 2-metil-6-nitro-3-fenilquinoxalina

35

[0118] Se calienta una solución hidroalcohólica (20 ml isopropanol/agua 50:50) de 4-nitro-fenileno-1,2-diamina comercial (0,516 g, 3,4 mmol, 1 equiv.) y de 1-fenil-1,2-propanediona comercial (0,45 ml, 3,4 mmol, 1 equiv.) por reflujo durante 1,5 horas. Después de añadir 30 ml de agua y del enfriarla, se recupera el precipitado por filtración y se lava con agua. El sólido de color naranja obtenido se seca en el autoclave a 100 °C durante 24 h. Rendimiento: 93 % (834,4 mg).

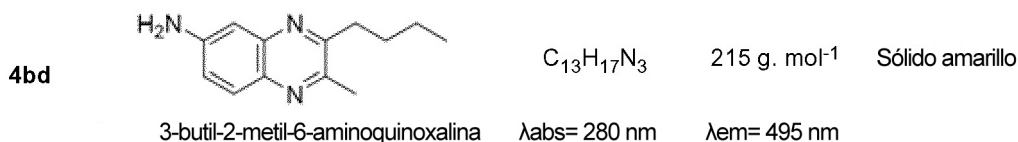
1.3. Síntesis de los compuestos 4

10 **[0119]**



[0120] A una solución de compuesto 3-metil-6-nitroquinolina **3ba** (20 mmol, 1 equiv.) en etanol (100 ml), se añaden 318 mg de Pd/C (10 % m/m). La reacción se agita a 60 °C y se coloca en hidrógeno durante 4 h. Una vez enfriada, se filtra la reacción sobre celite y después se enjuaga con etanol y el filtrado se concentra a presión reducida.

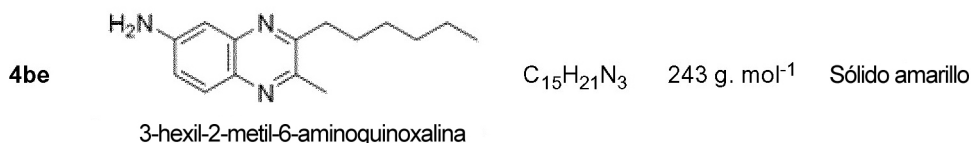
Rendimiento: 80 % (2,54 g). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 2.62 (s, 3H); 4.22 (s, 2H); 7.09-7.11 (m, 2H); 7.73 (d, J = 4.2 Hz, 1H); 8.52 (s, 1H). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ ppm: 149.3, 147.1, 145.7, 142.5, 141.7, 136.8, 129.4, 121.7, 108.1, 121.8. IR ν cm⁻¹: 3330, 3205, 3055, 2920, 1615, 1555, 1500, 1475, 1420, 1365, 1345, 1310, 1230, 1210, 1170, 1130, 1015, 970, 940, 910, 830, 780, 755, 730. MS (ESI) m/z: 160 ([M+H]⁺, 100).



[0121] A una solución de 2-metil-6-aminoquinolina (1 mmol, 1equiv.) en THF (2 ml), colocada en atmósfera inerte de nitrógeno a -78 °C, se añade lentamente n-BuLi (1 mL, 2,5 mmol, 1,5 equiv.). La solución cambia inmediatamente a rojo oscuro. La mezcla reaccional se agita a -78 °C durante 2,5 horas, se hidroliza con 3 ml de una solución acuosa saturada de NH₄Cl después se extrae tres veces con acetato de etilo (3 x 20 ml). Reunidas las fases orgánicas se lavan con 100 ml de una solución acuosa saturada de NaCl, se secan en MgSO₄, se filtran después se concentran a presión reducida. El residuo obtenido se retoma después en CHCl₃ (20 ml) después se añaden 430 mg de MnO₂ (5 mmol, 5 equiv.). La solución se calienta a reflujo durante 4 horas. La mezcla reaccional se hidroliza a continuación con 2 ml de agua, se filtra sobre celite y después se lava en acetato de etilo (30 ml). La fase orgánica se seca con MgSO₄ después se evapora a presión reducida. Una purificación sobre gel de sílice en una mezcla de ciclohexano y de acetato de etilo en proporciones 80:20 permitió obtener el compuesto **4bd**.

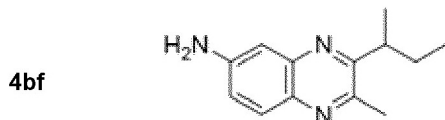
Rendimiento: 75 % (1,61 g). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 0.98 (t, J = 7.2 Hz, 3H); 1.47 (m, 2H); 1.77 (m, 2H); 2.90 (t, J = 7.8 Hz, 2H); 4.04 (s, 2H); 7.07 (m, 2H); 7.75 (d, J = 8.1 Hz, 1H). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ ppm: 13.9, 22.3, 22.8, 30.5, 35.7, 108.1, 120.5, 129.1, 135.7, 142.7, 146.9, 148.9, 156.9. IR ν cm⁻¹: 3320, 3170, 2955, 2925, 2870, 1655, 1620, 1555, 1500, 1460, 1375, 1345, 1315, 1285, 1250, 1160, 1130, 1105, 1075, 1010, 970, 955, 875, 855, 830, 790, 780, 740, 705. MS (ESI) m/z: 216 ([M+H]⁺, 100).

40



[0122] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bd**.

Rendimiento: 65 % (158 mg). RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.89 (t, $J = 6.6$ Hz, 3H); 1.21 (m, 4H); 1.47 (m, 2H); 1.77 (m, 2H); 2.68 (s, 3H); 2.92 (t, $J = 8.1$ Hz, 2H); 4.05 (s, 2H); 7.06 (m, 2H); 7.77 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ ppm: 14.0, 22.3, 22.6, 28.4, 29.4, 31.6, 108.2, 120.5, 129.2, 135.7, 142.8, 146.9, 148.8, 156.9. IR ν cm^{-1} : 3340, 3225, 2955, 2925, 2855, 2360, 2345, 2145, 2005, 1690, 1620, 1585, 1545, 1500, 1465, 1375, 1345, 1240, 1135, 1080, 1005, 830. MS (ESI) m/z : 244 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).



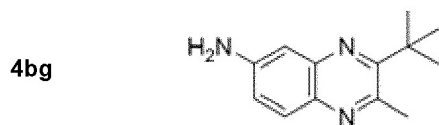
$\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_3$ 215 g. mol^{-1} Sólido amarillo

3-sec-butil-2-metil-6-aminoquinolina

10

[0123] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bd**.

Rendimiento: 65 % (140 mg). RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.89 (t, $J = 7.5$ Hz, 3H); 1.32 (d, $J = 6.9$ Hz, 3H); 1.63 (m, 1H); 1.92 (m, 1H); 2.69 (s, 3H); 3.14 (sex, $J = 6.9$ Hz, 1H); 4.02 (s, 2H); 7.09 (m, 2H); 7.74 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ ppm: 12.3, 19.3, 22.4, 28.9, 38.9, 108.5, 120.5, 129.0, 135.3, 140.6, 146.8, 148.7, 160.7. IR ν cm^{-1} : 3345, 3220, 2960, 2925, 2870, 2360, 1620, 1555, 1500, 1460, 1375, 1320, 1235, 1180, 1130, 1075, 1050, 1020, 1000, 910, 855, 830, 730. MS (ESI) m/z : 216 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).



$\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_3$ 215 g. mol^{-1} Sólido amarillo

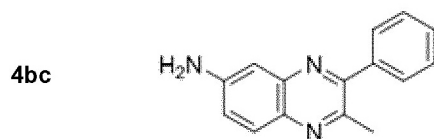
3-tert-butil-2-metil-6-aminoquinolina

20 **[0124]**

Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bd**.

Rendimiento: 25 % (54 mg). RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 1.51 (s, 9H); 2.84 (s, 3H); 4.22 (s, 2H); 7.09 (m, 2H); 7.73 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ ppm: 25.7, 29.4, 108.8, 120.7, 128.7, 134.9, 141.5, 146.8, 148.4, 162.2. IR ν cm^{-1} : 3340, 3220, 2965, 2930, 2870, 2360, 1620, 1565, 1545, 1495, 1455, 1410, 1395, 1365, 1325, 1245, 1200, 1130, 1070, 1000, 910, 855, 830, 785, 730. MS (ESI) m/z : 216 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).

25

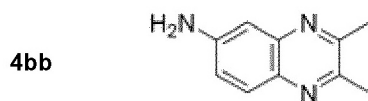


$\text{C}_{15}\text{H}_{13}\text{N}_3$ 235 g. mol^{-1} Sólido amarillo

2-metil-3-fenil-6-aminoquinolina $\lambda_{\text{abs}} = 283$ nm $\lambda_{\text{em}} = 505$ nm

[0125] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bd**.

Rendimiento: 75 % (176 mg). RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 2.68 (s, 3H); 3.88 (s, 2H); 7.16 (m, 2H); 7.48 (m, 3H); 7.61 (m, 2H); 7.83 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ ppm: 23.8, 108.4, 121.7, 128.4, 128.7, 128.9, 129.2, 136.2, 139.4, 142.6, 147.3, 148.0, 154.8. IR ν cm^{-1} : 3210, 2965, 2925, 2480, 2215, 1965, 1625, 1560, 1515, 1490, 1420, 1380, 1345, 1325, 1255, 1160, 1005, 970, 905, 830, 775, 725. MS (ESI) m/z : 236 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).

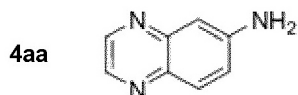


$\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{N}_3$ 173 g. mol^{-1} Sólido amarillo

2,3-dimetil-6-aminoquinolina

[0126] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bd**.

Rendimiento: 8 % (176 mg). RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ ppm: 2.58 (s, 3H); 2.59 (s, 3H); 4.11 (s, 2H); 6.98 (m, 2H); 7.67 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ ppm: 22.52, 22.95, 107.86, 120.45, 129.08, 135.78, 142.68, 147.04, 149.01, 153.21. IR ν cm^{-1} : 680, 728, 793, 829, 913, 949, 996, 1128, 1160, 1243, 1340, 1379, 1445, 1466, 1501, 1560, 1618, 2919, 2947, 2990, 3030, 3208, 3329. MS (ESI) m/z : 174 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).



$\text{C}_8\text{H}_7\text{N}_3$

145 g. mol^{-1}

Sólido amarillo

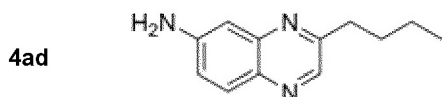
6-aminoquinoxalina

$\lambda_{\text{abs}} = 280$ nm

$\lambda_{\text{em}} = 506$ nm

10 **[0127]** Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4ba**.

Rendimiento: 80 % (2,32 g). RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 4.10 (s, 2H); 7.12 (d, $J = 2.4$ Hz, 1H); 7.15 (dd, $J = 8.8$ Hz, $J = 2.4$ Hz, 1H); 7.84 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H); 8.52 (s, 1H); 8.62 (s, 1H). RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ ppm: 148.1, 144.9, 140.9, 137.9, 130.3, 122.0, 107.8. IR ν cm^{-1} : 3395, 3315, 3185, 3055, 1645, 1615, 1545, 1500, 1470, 1435, 1370, 1310, 1225, 1210, 1135, 1030, 960, 860, 815, 765. MS (ESI) m/z : 146 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).



3-butil-2-metil-6-aminoquinoxalina

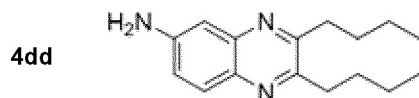
$\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{N}_3$

201 g. mol^{-1}

Sólido amarillo

[0128] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bd**.

Rendimiento: 54% (108 mg). RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.93 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); 1.40 (m, 2H); 1.74-1.82 (m, 2H); 2.89 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H); 4.17 (s, 2H); 7.08 (m, 2H); 7.81 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H); 8.44 (s, 1H). RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ ppm: 13.9, 22.6, 31.7, 36.2, 107.9, 120.7, 130.1, 136.1, 141.8, 144.0, 147.9, 157.7. IR ν cm^{-1} : 3335, 3210, 2955, 2930, 2860, 1620, 1550, 1510, 1465, 1435, 1370, 1275, 1240, 1165, 1130, 1080, 995, 955, 905, 855, 830, 775, 730. MS (ESI) m/z : 202 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).



2,3-dibutil-6-aminoquinoxalina

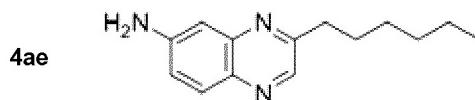
$\text{C}_{16}\text{H}_{23}\text{N}_3$

257 g. mol^{-1}

Sólido amarillo

[0129] Producto minoritario obtenido durante la síntesis del compuesto **4ad**.

RMN ^1H (200 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.95 (t, $J = 7.2$ Hz, 6H); 1.48 (m, 4H); 1.76 (m, 4H); 2.92 (m, 4H); 4.05 (s, 2H); 7.05 (m, 2H); 7.75 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H). RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ ppm: 13.9, 22.9, 31.2, 31.3, 35.2, 34.9, 108.7, 120.5, 129.4, 135.9, 142.6, 146.9, 152.6, 156.6. IR ν cm^{-1} : 730, 830, 862, 962, 1076, 1137, 1173, 1232, 1346, 1375, 1419, 1463, 1499, 1564, 1629, 2870, 2928, 2953, 3197, 3317, 3444. MS (ESI) m/z : 258 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 42).



3-hexil-6-aminoquinoxalina

$\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}_3$

229 g. mol^{-1}

Sólido amarillo

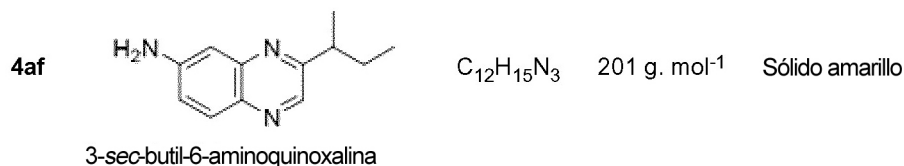
$\lambda_{\text{abs}} = 280$ nm

$\lambda_{\text{em}} = 502$ nm

35 **[0130]** Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bd**.

Rendimiento: 53 % (122 mg). RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.87 (t, $J = 6.9$ Hz, 3H); 1.29 (m, 6H); 1.77 (m, 4H); 2.88 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H); 4.14 (s, 2H); 7.09 (m, 2H); 7.80 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H); 8.42 (s, 1H). RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ

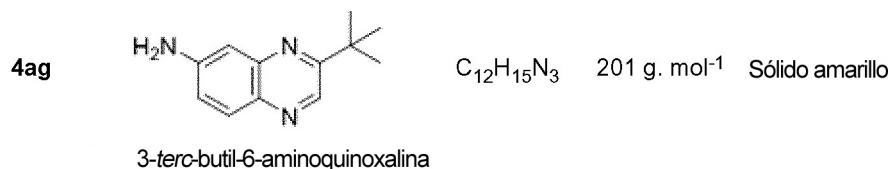
ppm: 14.0, 22.5, 29.1, 29.6, 31.6, 36.5, 108.0, 120.7, 130.0, 136.1, 141.8, 144.0, 147.9, 157.7. IR ν cm^{-1} : 3340, 3215, 2955, 2925, 2855, 2360, 1620, 1550, 1510, 1465, 1370, 1340, 1280, 1235, 1185, 1160, 1135, 1080, 975, 905, 830, 775, 730. MS (ESI) m/z : 230 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).



5

[0131] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bd**.

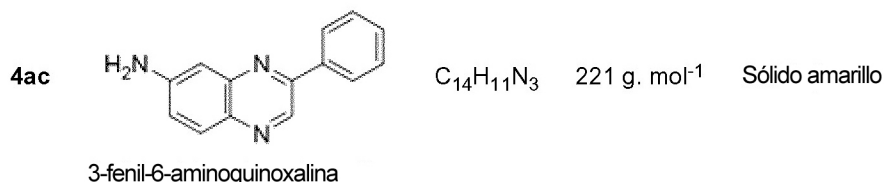
Rendimiento: 40 % (80 mg). RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.90 (t, J = 7.5 Hz, 3H); 1.37 (d, J = 7.2 Hz, 3H); 1.73 (m, 1H); 1.88 (m, 1H); 2.96 (m, 1H); 4.12 (s, 2H); 7.09 (m, 2H); 7.84 (d, J = 9.6 Hz, 1H); 8.45 (s, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ ppm: 12.1, 19.9, 29.6, 42.1, 108.1, 120.7, 130.0, 136.3, 141.0, 144.0, 147.8, 161.4. IR ν cm^{-1} : 3340, 3215, 2960, 2925, 2875, 2360, 1620, 1545, 1510, 1460, 1430, 1370, 1275, 1250, 1230, 1175, 1130, 1275, 1250, 1230, 1175, 1130, 1085, 1050, 1015, 980, 960, 905, 855, 830, 775, 735. MS (ESI) m/z : 202 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).



15

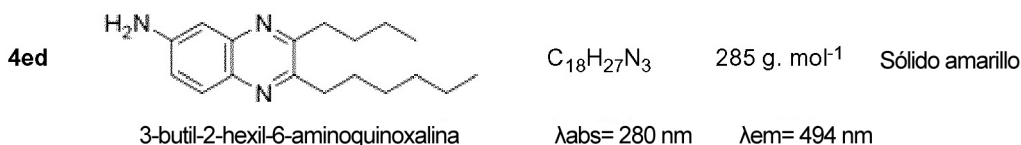
[0132] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bd**.

Rendimiento: 26 % (52 mg). RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 1.44 (s, 9H); 4.21 (s, 2H); 7.05 (m, 1H); 7.78 (d, J = 9.3 Hz, 1H); 8.67 (s, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ ppm: 29.6, 36.9, 108.2, 120.7, 127.9, 135.6, 139.1, 143.2, 147.8, 163.6. IR ν cm^{-1} : 3335, 3215, 2960, 1620, 1545, 1505, 1460, 1430, 1365, 1280, 1245, 1200, 1110, 1020, 975, 955, 905, 855, 830, 775, 730. MS (ESI) m/z : 202 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).



[0133] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bd**.

Rendimiento: 28 % (62 mg). RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 4.21 (brs, 2H NH), 7.16 (dd, J = 8.9 y 2,5 Hz, 1H), 7.21 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.49-7.57 (m, 3H), 7.89 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 8.14 (dd, J = 7.2 y 1,2 Hz, 2H), 9.04 (s, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ ppm: 107.5, 120.5, 126.5 (2C), 128.0 (2C), 128.8, 129.1, 135.7, 136.3, 138.5, 143.2, 147.2, 151.1. MS (ESI) m/z : 222,2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100. Pureza (HPLC/UV 254 nm): 100 %

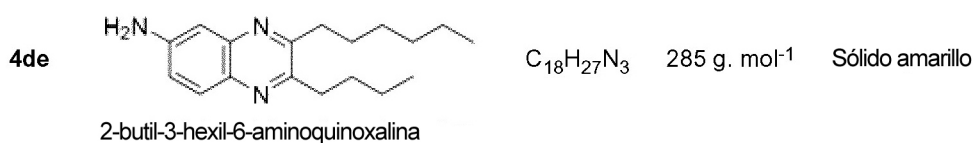


30

[0134] A una solución de 6-aminoquinoxalina **4aa** (1 mmol, 1equiv.) en THF (2 ml), colocada en atmósfera inerte de nitrógeno a -78 °C, se añade lentamente 1mL (2,5 mmol, 2,5 equiv.) de *n*-BuLi a 2,5 M. La solución cambia a rojo oscuro. La mezcla se agita durante 2,5 horas. Seguidamente la solución se coloca a 0 °C y 0,8 ml (2 mmol, 2 equiv.) de *n*-HexLi a 2,5 M se añaden inmediatamente gota a gota. La mezcla reaccional se agita a 0 °C durante 2

horas después se hidroliza con 5 ml de una solución acuosa saturada de NH_4Cl y se extrae con acetato de etilo (3 x 20 ml). Una vez reunidas las fases orgánicas se lavan con 100 ml de una solución acuosa saturada de NaCl , se secan con MgSO_4 , se filtran y después se concentran a presión reducida. El residuo obtenido se retoma en CHCl_3 (20 ml) después se añaden 430 mg de MnO_2 (5 mmol, 5 equiv.) y se agita la mezcla por reflujo durante 4 h. La mezcla reaccional se hidroliza con 2 ml de agua y después se filtra sobre celite. La fase orgánica se seca con MgSO_4 , se filtra y después se concentra a presión reducida. Una purificación por cromatografía sobre gel de sílice en una mezcla de ciclohexano: acetato de etilo en proporciones 50:50 permitió obtener el compuesto **4ed**.

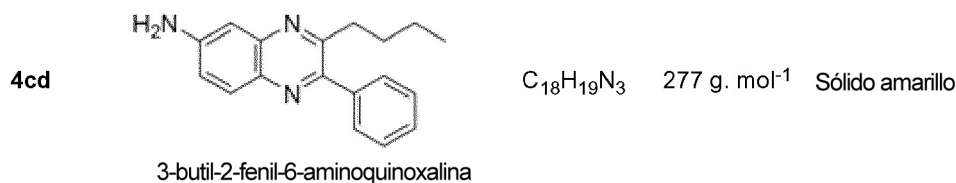
Rendimiento: 49 % (140 mg). RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.96 (m, 6H); 1.25 (m, 8H); 1.40 (m, 2H); 1.70 (m, 2H); 2.90 (m, 4H); 4.10 (s, 2H); 7.05 (m, 2H); 7.74 (d, $J = 9.6$ Hz, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ ppm: 13.9, 14.0, 22.5, 29.1, 29.2, 29.3, 29.4, 31.6, 35.1, 35.4, 108.0, 120.5, 129.3, 135.8, 142.5, 146.9, 152.6, 156.6. IR ν cm^{-1} : 3335, 3215, 2955, 2855, 1620, 1500, 1465, 1340, 1235, 1135, 1080, 960, 930, 855, 830, 725. MS (ESI) m/z : 286 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 40).



15

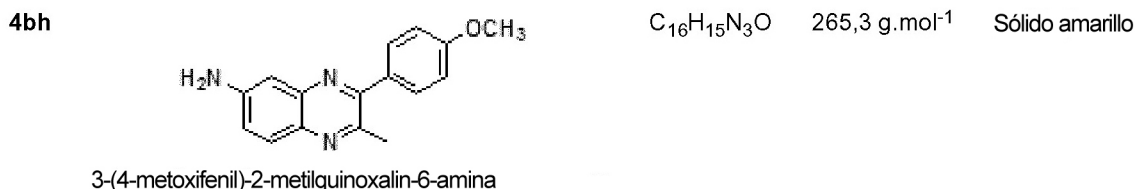
[0135] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4ed**.

Rendimiento: 45 % (128 mg). RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.92 (m, 6H); 1.25 (m, 8H); 1.40 (m, 2H); 1.72 (m, 2H); 2.92 (m, 4H); 4.06 (s, 2H); 7.06 (m, 2H); 7.77 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ ppm: 13.9, 14.0, 22.5, 22.8, 29.0, 29.1, 29.4, 31.6, 35.1, 35.4, 108.0, 120.5, 129.2, 135.8, 142.5, 146.9, 152.5, 156.6. IR ν cm^{-1} : 3335, 3215, 2955, 2930, 2860, 1625, 1550, 1465, 1345, 1235, 1170, 1135, 1075, 960, 905, 855, 830, 730. MS (ESI) m/z : 286 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).



25 **[0136]** Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4ed**.

Rendimiento: 32 % (88 mg). RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 0.82 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H); 1.25 (m, 4H); 1.67 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H); 2.95 (t, $J = 7.8$ Hz, 2H); 4.15 (s, 2H); 7.13 (m, 2H); 7.43-7.58 (m, 5H); 7.88 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ ppm: 13.7, 22.6, 26.8, 31.3, 35.6, 107.5, 121.1, 128.0, 128.2, 128.3, 128.8, 129.6, 129.7, 130.1, 135.6, 139.5, 143.2, 147.8, 151.1, 156.2. IR ν cm^{-1} : 3335, 3215, 3060, 2955, 2925, 2855, 1620, 1580, 1560, 1495, 1460, 1445, 1420, 1345, 1240, 1135, 1075, 1010, 965, 910, 855, 830, 765, 730. MS (ESI) m/z : 278 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).



35 **[0137]** A una solución de 4-bromoanisol (8 mmol, 4 equiv.) en éter anhidro (5 ml), se añaden 10 ml de *tert*-butil litio (1,6 M en pentano, 8 equiv.) gota a gota a -78°C en atmósfera inerte de nitrógeno. Después de 1 h de agitación a -78°C , se añade una solución de compuesto **4ba** (2 mmol, 1 equiv.) en THF (5 ml) gota a gota. La mezcla reaccional se agita a -78°C durante 2 h, después se deja calentar lentamente a temperatura ambiente.

40 **[0138]** Después de 24 h, el medio reaccional se hidroliza con una solución acuosa saturada de NaHCO_3 después se extrae con acetato de etilo. Una vez reunidas las fases orgánicas se lavan a continuación con una

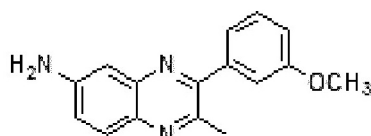
solución acuosa saturada de NaCl, después se secan sobre Na₂SO₄, se filtran y se evaporan a presión reducida.

[0139] El residuo obtenido se retoma después en cloroformo y después se añaden 0,869 g de MnO₂ (10 mmol, 5 equiv.). El medio reaccional se calienta por reflujo durante 2 h después se deja a temperatura ambiente 5 durante 24 h.

[0140] El medio reaccional se filtra sobre celite y después se concentra a presión reducida. Una purificación por cromatografía sobre gel de sílice en una mezcla DCM: MeOH en proporciones 98: 2 permitió obtener el compuesto **4bh**.

10 Rendimiento: 34 % (168,2 mg). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 2.68 (s, 3H); 3.85 (s, 3H); 4.16 (brs, 2H); 7.00 (d, J = 8.4 Hz, 2H); 7.09 (d, J = 9.1 Hz, 1H); 7.14 (s, 1H); 7.58 (d, J = 9.1 Hz, 2H); 7.79 (d, J = 9.1 Hz, 1H). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm: 23.8, 55.3, 108.3, 113.8 (2C), 121.4, 129.1, 130.3 (2C), 131.8, 135.9, 142.7, 147.3, 148.1, 154.4, 160.0. MS (ESI) m/z: 266,2 ([M+H]⁺, 100). Pureza (HPLC/UV 254 nm): 100 %.

4bi



3-(3-metoxifenil)-2-metilquinoxalin-6-amina

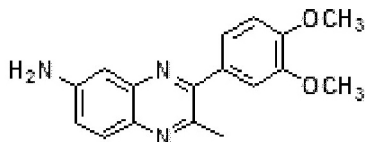
C₁₆H₁₅N₃O 265,3 g.mol⁻¹ Sólido amarillo

15

[0141] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bh**.

Rendimiento: 6 % (59,7 mg). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 2.70 (s, 3H), 3.88 (s, 3H), 3.90 (brs, 1H, NH) 4.20 (brs, 1H NH), 7.02 (d, J = 8.1 Hz, 1H), 7.12-7.23 (m, 4H), 7.42 (td, J = 8.1 y 1.5 Hz, 1H), 7.85 (dd, J = 8.7 y 1.5 Hz, 1H). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ ppm: 23.7, 55.3, 108.3, 114.3, 114.5, 121.2, 121.7, 129.1, 129.4, 136.2, 140.7, 142.6, 147.4, 148.0, 154.6, 159.5. MS (ESI) m/z: 266,2 ([M+H]⁺, 100). Pureza (HPLC/UV 254 nm): 100 %.

4bj



3-(3,4-dimetoxifenil)-2-metilquinoxalin-6-amina

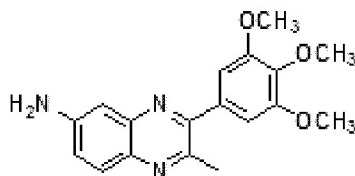
C₁₇H₁₇N₃O₂ 295,3 g.mol⁻¹ Sólido amarillo

25 **[0142]** Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bh**.

Rendimiento: 31 % (310,0 mg). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 2.74 (s, 3H), 3.94 (brs, 2H NH), 3.95 (s, 3H), 3.96 (s, 3H), 6.99 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.17 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.22 (d, J = 6.0 Hz, 1H), 7.27 (s, 1H), 7.87 (d, J = 8.8 Hz, 1H). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ ppm: 23.8, 56.0 (2C), 108.4, 110.9, 112.3, 121.5, 121.7, 129.2, 132.1, 136.1, 142.7, 147.3, 148.2, 148.9, 149.6, 154.5. MS (ESI) m/z: 296,2 ([M+H]⁺, 100). Pureza (HPLC/UV 254 nm): 92 %.

30

4bk



2-metil-3-(3,4,5-trimetoxifenil)quinoxalin-6-amina

C₁₈H₁₉N₃O₃ 323,3 g.mol⁻¹ Sólido amarillo

[0143] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bh**.

35 Rendimiento: 21 % (317,4 mg). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 2.72 (s, 3H), 3.92 (s, 9H), 4.28 (brs, 2H NH), 6.84 (s, 2H), 7.17 (dd, J = 8.8 et 2.4 Hz, 1H), 7.18 (s, 1H), 7.83 (d, J = 8.1 Hz, 1H). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm: 23.7, 56.1 (2C), 60.8, 106.2 (2C), 108.0, 121.7, 129.1, 134.9, 136.1, 138.5, 142.4, 147.5, 147.8, 153.1 (2C), 154.4.

MS (ESI) m/z: 326,1 ([M+H]⁺, 100), 348,2 ([M+Na]⁺, 100). Pureza (HPLC/UV 254 nm): 96 %.

4bl

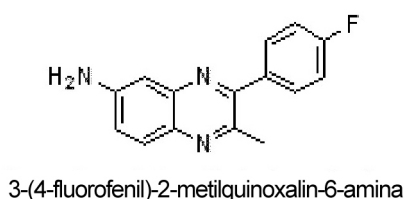


C₁₉H₁₅N₃ 285,3 g.mol⁻¹ Sólido marrón

5 **[0144]** Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bh**.

Rendimiento: 48 % (531,8 mg). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 2.74 (s, 3H), 4.14 (brs, 2H NH), 7.16(dd, J = 8.9 Hz y 2.5 Hz, 1H), 7.21 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.52-7.57 (m, 2H), 7.74 (dd, J = 8.1 y 1.8 Hz, 1H), 7.86 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 7.91 (d, J = 9.5 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 9.5 Hz, 1H), 7.97 (d, J = 8.9 Hz, 1H), 8.10 (s, 1H). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm: 23.9, 108.4, 121.7, 126.4, 126.7 (2C), 127.7, 128.1, 128.4, 128.5, 129.3, 133.1, 133.2, 136.3, 136.9, 142.8, 147.4, 148.3, 154.8. MS (ESI) m/z: 286,2 ([M+H]⁺, 100). Pureza (HPLC/UV 254 nm): 88 %.

4bm

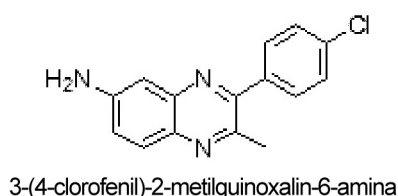


C₁₅H₁₂FN₃ 253,2 g.mol⁻¹ Sólido amarillo

[0145] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bh**.

15 Rendimiento: 35 % (352,2 mg). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 2.68 (s, 3H), 3.90 (brs, 2H NH), 7.16-7.21 (m, 4H), 7.61 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.63 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.85 (d, J = 9.2 Hz, 1H). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm: 23.7, 108.1, 115.5 (d, J = 21.5 Hz), 122.0, 129.2, 130.9 (d, J = 8.1 Hz), 135.3 (d, J = 2.5 Hz), 136.2, 142.6, 147.5, 147.8, 153.6, 163.1 (d, J = 250.4 Hz). MS (ESI) m/z: 254,2 ([M+H]⁺, 100). Pureza (HPLC/UV 254 nm): 92 %.

4bo



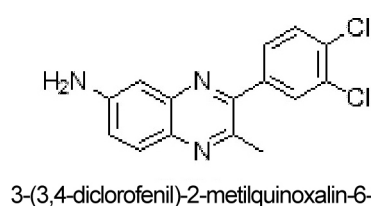
C₁₅H₁₂ClN₃ 269,7 g.mol⁻¹ Sólido amarillo

20

[0146] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bh**.

Rendimiento: 70 % (1,1274 g). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 2.67 (s, 3H), 4.15 (brs, 2H NH), 7.15 (s, 1H), 7.16 (d, J = 7.5 Hz, 1H), 7.47 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.58 (d, J = 7.9 Hz, 2H), 7.83 7.47 (d, J = 9.1 Hz, 1H). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ ppm: 23.7, 108.2, 122.0, 128.7 (2C), 129.3, 130.4 (2C), 134.9, 136.4, 137.9, 142.7, 147.4, 147.8, 153.5. MS (ESI) m/z: 270.1 (35Cl) ([M+H]⁺, 100), 272.2 (37Cl) ([M+H]⁺, 40).

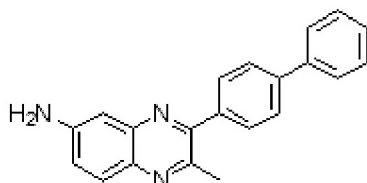
4bp



C₁₅H₁₁Cl₂N₃ 304,2 g.mol⁻¹ Sólido amarillo

30 **[0147]** Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bh**.

Rendimiento: 45 % (813,9 mg). RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 2.68 (s, 3H), 4.17 (brs, 2H NH), 7.14 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.18 (dd, $J = 9.1$ y 2.3 Hz, 1H), 7.47 (dd, $J = 8.4$ y 2.0 Hz, 1H), 7.58 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.75 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H), 7.83 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ ppm: 23.7, 108.1, 122.3, 128.3, 129.3, 130.4, 131.1, 132.8, 133.1, 136.5, 139.4, 142.7, 147.4, 147.6, 152.2. MS (ESI) m/z : 304.1 (35Cl y 35Cl) ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100), 306.1 (35Cl 5 y 37Cl) ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 55).

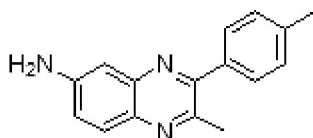
4bq

3-(bifenil)-2-metilquinoxalin-6-amina

$\text{C}_{21}\text{H}_{17}\text{N}_3$ 311,4 g.mol $^{-1}$ Sólido marrón

[0148] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bh**.

10 Rendimiento: 30 % (219,3 mg). RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 2.77 (s, 3H), 4.23 (brs, 2H NH), 7.12 (dd, $J = 8.7$ y 1.8, 1H), 7.18 (d, $J = 1.8$, 1H), 7.38 (t, $J = 7.5$, 1H), 7.47 (t, $J = 7.5$, 2H), 7.66 (d, $J = 7.5$, 2H), 7.71 (m, 4H), 7.84 (d, $J = 8.7$, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ ppm: 23.7, 108.1, 121.7, 127.0 (4C), 127.5, 128.8 (2C), 129.0, 129.3 (2C), 136.0, 138.2, 140.4, 141.4, 142.7, 147.4, 147.9, 154.3. MS (ESI) m/z : 312,2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).

4bn

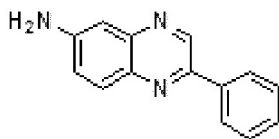
2-metil-3-p-toliquinoxalin-6-amina

$\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{N}_3$ 249,3 g.mol $^{-1}$ Sólido amarillo

15

[0149] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bh**.

Rendimiento: 56 % (851,7 mg). RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 2.45 (s, 3H), 2.72 (s, 3H), 4.28 (brs, 2H NH), 7.12 (dd, $J = 8.9$ y 2.1 Hz, 1H), 7.20 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.32 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.56 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.84 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ ppm: 21.2, 23.7, 108.0, 121.5, 128.7 (2C), 128.9 (3C), 135.9, 136.4, 138.5, 142.6, 147.3, 147.9, 154.6. MS (ESI) m/z : 250,2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).

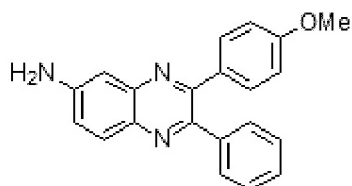
4ca

2-fenilquinoxalin-6-amina

$\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_3$ 221,2 g.mol $^{-1}$ Sólido amarillo

25 **[0150]** A una solución de compuesto **3ca** (9,8 mmol) en etanol (150 ml), se añaden 245 mg de Pd/C (10 % m/m). La reacción se agita a 60 °C y se coloca en hidrógeno durante 24 h. Una vez enfriada, se filtra la reacción sobre celite y después se enjuaga con etanol. Por último, el filtrado se concentra a presión reducida. Una purificación por cromatografía sobre gel de sílice en una mezcla DCM: MeOH en proporciones 98:2 permitió obtener el compuesto **4ca** (mayoritario) así como el compuesto **4ac** (minoritario: 4 % (79,5 mg)).

30 Rendimiento: 21 % (453,3 mg). RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 3.99 (brs, 2H NH), 7.17 (brs, 1H), 7.18 (dd, $J = 8.9$ y 2.6 Hz, 1H), 7.45 (tt, $J = 7.4$ y 1.6 Hz, 1H), 7.52 (td, $J = 7.4$ y 1.6 Hz, 2H), 7.9 (d, $J = 8.9$ Hz, 1H), 8.11 (dd, $J = 7.3$ y 1.6 Hz, 2H), 9.15 (s, 1H). RMN ^{13}C (100 MHz, CDCl_3) δ ppm: 107.8, 122.2, 126.8 (2C), 128.9 (2C), 129.2, 130.5, 137.1 (2C), 143.2 (2C), 147.7, 148.1. MS (ESI) m/z : 222,2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100). Pureza (HPLC/UV 254 nm): 100 %.

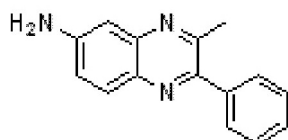
4chC₂₁H₁₇N₃O 327,4 g.mol⁻¹ Sólido amarillo

3-(4-metoxifenil)-2-fenilquinoxalin-6-amina

[0151] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **4bh** pero a partir del compuesto **4ca**.

5 Rendimiento: 2 % (8,3 mg HPLC prep). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 3.63 (brs, 2H NH), 3.81 (s, 3H), 6.83 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.16 (dd, J = 8.8 y 2.1 Hz, 1H), 7.22 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 7.32 (m, 3H), 7.44 (d, J = 8.8 Hz, 2H), 7.46-7.49 (m, 2H), 7.94 (d, J = 8.9 Hz, 1H). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ ppm: 55.3, 107.9, 113.6 (2C), 121.7, 128.1, 128.2 (2C), 129.7 (2C), 130.2, 131.3 (2C), 131.7, 136.1, 139.7, 143.0, 148.0, 149.6, 152.9, 160.0. MS (ESI) m/z: 328,2 ([M+H]⁺, 100).

10

4cbC₁₅H₁₃N₃ 235,3 g.mol⁻¹ Sólido amarillo

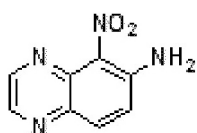
3-metil-2-fenilquinoxalin-6-amina

[0152] A una solución de compuesto **3cb** y **3bc** (3 mmol) en etanol (100 ml), se añaden 80 mg de Pd/C (10 % m/m). La reacción se agita a 60 °C y se coloca en hidrógeno durante 4 h. Una vez enfriada, se filtra la reacción sobre celite y después se enjuaga con etanol y el filtrado se concentra a presión reducida. Una purificación por cromatografía sobre gel de sílice en una mezcla DCM: MeOH en proporciones 98:2 permitió obtener el compuesto **4cb** (minoritario) así como el compuesto **4bc** (mayoritario). (Proporción RMN (1:3)).

15 Rendimiento: 33 % en RMN (3 mg aislado). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 2.70 (s, 3H), 4.18 (brs, 2H NH), 7.12 (s, 1H), 7.13 (dd, J = 2.5 et 8.2 Hz, 1H), 7.45-7.43 (m, 3H), 7.62 (dd, J = 7.6 y 2.0 Hz, 2H), 7.89 (dd, J = 8.2 y 1.1 Hz, 1H). RMN ¹³C (75 MHz, CDCl₃) δ ppm: 24.1, 107.2, 121.1, 128.3 (3C), 128.9 (2C), 130.1, 135.8, 139.3, 143.0, 147.9, 150.8, 152.3.

1.4. Síntesis de los compuestos 5

25

[0153]**5aa**C₈H₆N₄O₂ 190,2 g.mol⁻¹ Sólido marrón

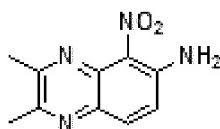
5-nitroquinoxalin-6-amina

30 **[0154]** A una solución de compuesto **4aa** (1 equiv.) en ácido sulfúrico (20 ml, d = 1,83) se añade KNO₃ (1,25 equiv.) lentamente a una temperatura inferior a -10 °C. La solución se agita a esta temperatura durante 1 h, después se coloca en un baño de agua-hielo y se deja toda la noche. La mezcla reaccional se vierte sobre una mezcla de agua-hielo, se neutraliza por la adición de NH₄OH (d=0,9) después se extrae con AcOEt. La fase orgánica se lava con una solución saturada de NaCl, se seca sobre MgSO₄ después se concentra a presión reducida. Una purificación por cromatografía flash en columna de sílice permitió obtener el compuesto **5aa** deseado.

35 Rendimiento: 30,5 % (sobre 2 etapas, a partir del compuesto **3aa** sin purificación intermedia). RMN ¹H (200 MHz,

DMSO) δ ppm: 7.31 (s, 2H), 7.42 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 7.90 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 7.63 (d, $J = 2.2$ Hz, 1H), 8.76 (d, $J = 2.0$ Hz, 1H). RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO) δ ppm: 145.46, 144.29, 141.18, 138.06, 135.33, 133.12, 125.72, 123.82. IR ν cm^{-1} : 3383, 3293, 3200, 3086, 2924, 2851, 1629, 1560, 1544, 1506, 1479, 1463, 1425, 1364, 1342, 1283, 1265, 1214, 1150, 1118, 1053, 1017, 892, 867, 837, 804, 793, 751. MS (ESI) m/z : 191 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 20).

5

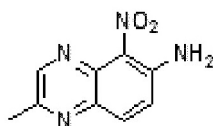
5bb

2,3-dimetil-5-nitroquinoxalin-6-amina

 $\text{C}_{10}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$ 218,2 g.mol $^{-1}$ Sólido marrón

[0155] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **5aa**.

Rendimiento: 23,3 %. RMN ^1H (200 MHz, DMSO) δ ppm: 2.55 (s, 3H), 2.56 (s, 3H), 6.96 (s, 2H), 7.27 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H), 7.76 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H). RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO) δ ppm: 154.11, 149.34, 142.99, 135.61, 133.00, 132.05, 126.28, 121.75, 22.68, 21.80. IR ν cm^{-1} : 3459, 3336, 3200, 2920, 1630, 1548, 1508, 1481, 1457, 1427, 1381, 1361, 1350, 1285, 1255, 1211, 1168, 1044, 992, 954, 835, 797, 744, 687, 674. MS (ESI) m/z : 219 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 15).

5ba

2-metil-5-nitroquinoxalin-6-amina

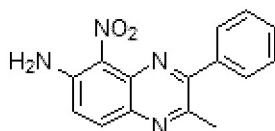
 $\text{C}_9\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_2$ 204,2 g.mol $^{-1}$ Sólido marrón

15

[0156] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **5aa**.

Rendimiento: 27,9 %. RMN ^1H (200 MHz, DMSO) δ ppm: 2.59 (s, 3H), 7.16 (s, 2H), 7.38 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 7.82 (d, $J = 9.4$ Hz, 1H), 8.69 (s, 1H). RMN ^{13}C (50 MHz, DMSO) δ ppm: 154.57, 149.76, 145.98, 143.45, 134.31, 132.53, 125.96, 123.44, 21.11. IR ν cm^{-1} : 3450, 3328, 3178, 1635, 1557, 1544, 1512, 1476, 1420, 1376, 1341, 1269, 1218, 1200, 1148, 1035, 1014, 949, 909, 833, 817, 799, 768. MS (ESI) m/z : 227 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 75).

20

5bc

2-metil-5-nitro-3-fenilquinoxalin-6-amina

 $\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{N}_4\text{O}_2$ 280,3 g.mol $^{-1}$ Sólido amarillo

[0157] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **5aa**.

Rendimiento: 20 % (121,2 mg). RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 2.74 (s, 3H), 6.08 (brs, 2H NH), 7.11 (d, $J = 9.5$ Hz, 1H), 7.42-7.52 (m, 3H), 7.75 (d, $J = 6.6$ Hz, 2H), 7.83 (d, $J = 9.2$ Hz, 1H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ ppm: 23.7, 122.5, 126.5, 128.4 (2C), 129.3, 129.4 (2C), 133.8, 134.7, 136.9, 138.3, 144.2, 148.9, 154.8. MS (ESI) m/z : 281.1 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 50), 303.1 ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, 85), 583.2 ($[\text{2M}+\text{Na}]^+$, 100).

30 I.5. Síntesis de los compuestos 6

[0158]

6aa

quinoxalin-5,6-diamina

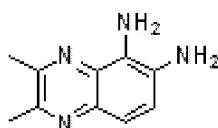
 $C_8H_8N_4$ 160,2 g.mol⁻¹

Sólido marrón

[0159] A una solución de compuesto **5aa** (1 equiv.) en EtOH absoluto (40 ml) se añade SnCl₂ (5 equiv.). El medio reaccional se coloca en reflujo durante 42-68 h en N₂, después se basicifica (pH = 8) por adición de NaHCO₃.

5 Después de filtración sobre celite y adición de agua al filtrado obtenido, se realiza una extracción con AcOEt. La fase orgánica se lava con agua, se seca sobre MgSO₄ y después se concentra a presión reducida. Una purificación por cromatografía flash sobre columna de gel de sílice permitió obtener el compuesto **6aa** deseado.

Rendimiento: 75,0 %. Partiendo de la 4-nitro-fenilen-1,2-diamina sin purificación intermedia, el rendimiento es del 30,0 % (en 3 etapas). RMN ¹H (200 MHz, DMSO) δ ppm: 5.20 (s, 4H), 7.17 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.25 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 8.49 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 8.57 (d, J = 1.8 Hz, 1H). RMN ¹³C (50 MHz, DMSO) δ ppm: 141.83, 140.06, 136.88, 132.97, 132.42, 125.95, 121.79, 116.36. IR v cm⁻¹: 3379, 3306, 3225, 1610, 1570, 1542, 1505, 1483, 1420, 1367, 1322, 1269, 1233, 1174, 1120, 1073, 1035, 908, 856, 827, 807, 779, 667. MS (ESI) m/z: 161([M+H]⁺, 100).

6bb

2,3-dimetilquinoxalina-5,6-diamina

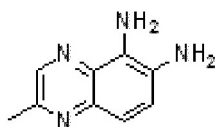
 $C_{10}H_{12}N_4$ 188,2 g.mol⁻¹

Sólido marrón

15

[0160] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **6aa**.

Rendimiento: 7,9 % (en 2 etapas, partiendo del compuesto **4bb** sin purificación intermedia). RMN ¹H (200 MHz, CDCl₃) δ ppm: 2.64 (s, 3H), 2.66 (s, 3H), 3.96 (s, 4H), 7.10 (d, J = 8.8 Hz, 7.32 (d, J = 8.8 Hz, 1H). RMN ¹³C (50 MHz, CDCl₃) δ ppm: 150.85, 149.64, 131.74, 127.44, 118.16, 23.08, 22.71. IR v cm⁻¹: 3440, 3355, 3177, 2917, 1651, 1615, 1571, 1501, 1477, 1441, 1408, 1377, 1344, 1291, 1257, 1202, 1143, 999, 935, 820, 785, 733. MS (ESI) m/z: 189([M+H]⁺, 100).

6ba

2-metilquinoxalin-5,6-diamina

 $C_9H_{10}N_4$ 174,2 g.mol⁻¹

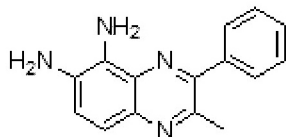
Sólido marrón

25 **[0161]**

Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **6aa**.

Rendimiento: 42,6 %. RMN ¹H (200 MHz, DMSO) δ ppm: 2.56 (s, 3H), 5.12 (s, 4H), 7.07 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.19 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 8.50 (s, 1H). RMN ¹³C (50 MHz, DMSO) δ ppm: 148.06, 142.31, 135.86, 131.86, 130.56, 126.36, 121.47, 115.29, 21.38. IR v cm⁻¹: 3380, 3280, 3218, 2918, 2852, 1671, 1613, 1571, 1497, 1478, 1420, 1355, 1309, 1296, 1267, 1238, 1172, 1115, 1066, 1014, 953, 903, 816, 784, 708, 683. MS (ESI) m/z: 175 ([M+H]⁺, 100).

30

6bc

2-metil-3-fenilquinoxalin-5,6-diamina

 $C_{15}H_{14}N_4$ 250,3 g.mol⁻¹

Sólido amarillo

[0162]

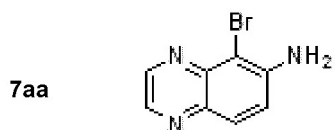
Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **6aa**.

Rendimiento: 90 % (10 mg). RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 2.73 (s, 3H), 3.78-4.30 (2 brs, 4H), 7.23 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.43 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.48-7.55 (m, 3H), 7.69 (dd, J = 8.1 y 1.9 Hz, 2H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ ppm: 24.0, 118.1, 122.1, 127.9, 128.3 (2C), 128.7, 129.2 (2C), 132.0, 132.4, 136.7, 139.6, 148.6, 152.1. MS (ESI) m/z : 251.2 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 80).

5

1.6. Síntesis de los compuestos 7

[0163]



$\text{C}_8\text{H}_6\text{BrN}_3$ 224,1 g.mol $^{-1}$ Sólido marrón

5-bromoquinoxalin-6-amina

10

[0164] A una solución de compuesto 4aa (14,2 mmol) en ácido acético (15 ml) a una temperatura cercana a 15 °C se añade lentamente una solución de bromo (14,4 mmol, 0,74 ml) en 10 ml de ácido acético glacial. Aparece un sólido rojo anaranjado. La mezcla reaccional se agita durante 1 h, se hidroliza y se basifica con una solución 1N de NaOH. A continuación, se extrae la mezcla reaccional con acetato de etilo (200 ml x 3), se seca sobre Na_2SO_4 después se concentra a presión reducida para dar 2,9918 g de un sólido marrón.

15

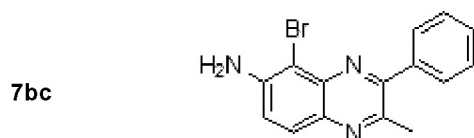
Rendimiento: 94,0 %. RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ ppm: 4.80 (s, 2H), 7.24 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 7.81 (d, J = 9.2 Hz, 1H), 8.56 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 8.76 (d, J = 1.6 Hz, 1H). RMN ^{13}C (50 MHz, CDCl_3) δ ppm: 145.91, 145.11, 142.08, 141.04, 138.56, 129.30, 121.27, 102.66. IR ν cm^{-1} : 3458, 3305, 3185, 3049, 1619, 1541, 1495, 1460, 1422, 1373, 1326, 1270, 1218, 1181, 1142, 1044, 974, 957, 861, 829, 788. MS (ESI) m/z : 224 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 80), 226 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 75).

20

[0165] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto 7aa.

Rendimiento: 90 % (385,2 mg). RMN ^1H (300 MHz, CDCl_3) δ ppm: 2.73 (s, 3H), 4.83 (brs, 2H NH), 7.13 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.46 (m, 3H), 7.73 (m, 3H). RMN ^{13}C (75 MHz, CDCl_3) δ ppm: 23.3, 102.9, 120.9, 127.4, 128.2 (2C), 128.8, 129.3 (2C), 135.7, 138.6, 140.0, 145.3, 147.7, 154.5. MS (ESI) m/z : 314 (79Br) y 316 (81Br) ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 70), 336 (79Br) y 338 (81Br) ($[\text{M}+\text{Na}]^+$, 80), 651 ($[\text{2M}+\text{Na}]^+$, 100).

25

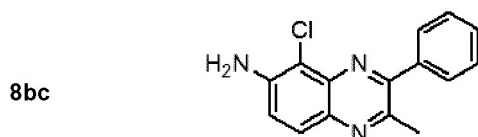


$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{BrN}_3$ 314,2 g.mol $^{-1}$ Sólido marrón

5-cloro-2-metil-3-fenilquinoxalin-6-amina

30 1.7. Síntesis de los compuestos 8

[0166]



$\text{C}_{15}\text{H}_{12}\text{ClN}_3$ 269,5 g.mol $^{-1}$ Sólido marrón

5-cloro-2-metil-fenilquinoxalin-6-amina

35

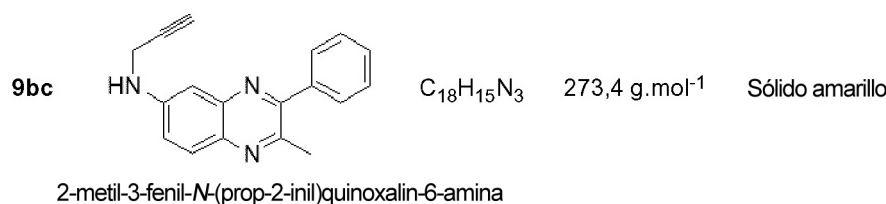
[0167] A una solución de compuesto 4bc (208 mg, 0,89 mmol, 1 equiv.) en diclorometano anhidro a temperatura ambiente se añaden 118 mg de *N*-clorosuccinimida (1,07 mmol, 1,2 equiv.). El medio reaccional se mantiene después en reflujo de CH_2Cl_2 durante una noche. Una vez enfriado, el medio reaccional se hidroliza con

una solución de NaOH al 5 %, después se extrae 3 veces con CH₂Cl₂. Las fases orgánicas se reúnen, se lavan con una solución saturada de NaCl, se secan sobre Na₂SO₄ después se concentran a presión reducida para dar 279 mg del producto deseado.

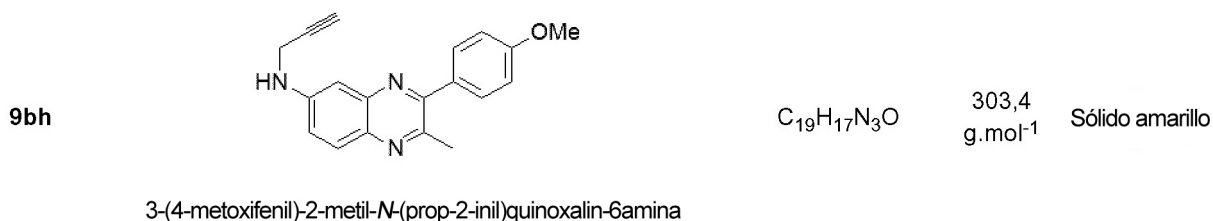
Rendimiento: 99 % (279 mg). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 2.73 (s, 3H), 4.60 (brs, 2H NH), 7.19 (d, J = 9,2 Hz, 1H), 7.48 (m, 3H), 7.71 (dd, J = 8,6 y 1,3 Hz, 2H), 7.45 (d, J = 9,2 Hz, 1H). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm: 23.7, 111.1, 120.8, 127.3, 128.3 (2C), 128.9, 129.3 (2C), 136.4, 139.0, 139.1, 143.6, 148.3, 154.6.

1.8. Síntesis de los compuestos 9

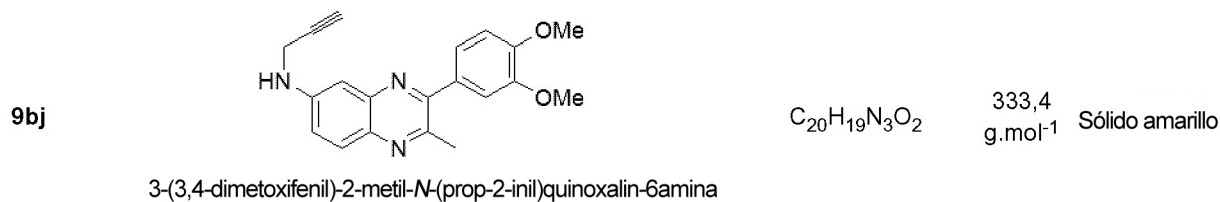
10 [0168]



[0169] A una solución de compuesto **4bc** (200 mg, 0,85 mmol, 1 equiv.) en dimetilformamida anhidro se añaden 118 mg de K₂CO₃ (0,85 mmol, 1 equiv.), 141 mg de KI (0,85 mmol, 1 equiv.) y 0,19 ml de bromuro de propargilo (1,7 mmol, 2 equiv.). A continuación, se calienta el medio reaccional a 100 °C durante 24 h. Una vez enfriado, el medio reaccional se hidroliza con una solución saturada de K₂CO₃, después se extrae 3 veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas, se reúnen, se lavan con una solución saturada de NaCl, se secan sobre Na₂SO₄ después se concentran a presión reducida. Una purificación por cromatografía sobre gel de sílice en una mezcla de ciclohexano: acetato de etilo en proporciones 7:3 después 6:4 permitió obtener el compuesto **9bc** (mayoritario, 90,1 mg) así como el compuesto dialquilado (minoritario, 14 mg, no descrito). Rendimiento: 40 % (90,1 mg). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ ppm: 2.23 (t, J = 2,4 Hz, 1H), 2.67 (s, 3H), 4.01 (brs, 2H), 4.56 (brs, 1H, NH), 7.09 (dd, J = 2,6 et 8,8 Hz, 1H), 7.12 (d, J = 2,6 Hz, 1H), 7.43-7.50 (m, 3H), 7.61 (dd, J = 1,6 et 8,8 Hz, 2H), 7.81 (d, J = 8,8 Hz, 1H). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm: 23.6, 33.3, 71.7, 79.9, 105.2, 121.6, 128.3 (2C), 128.6, 128.8 (2C), 128.9, 136.3, 139.4, 142.8, 147.3, 147.9, 154.6. MS (ESI) m/z: 274.2 ([M+H]⁺, 100). Pureza (HPLC/UV 260 nm): 100 %.

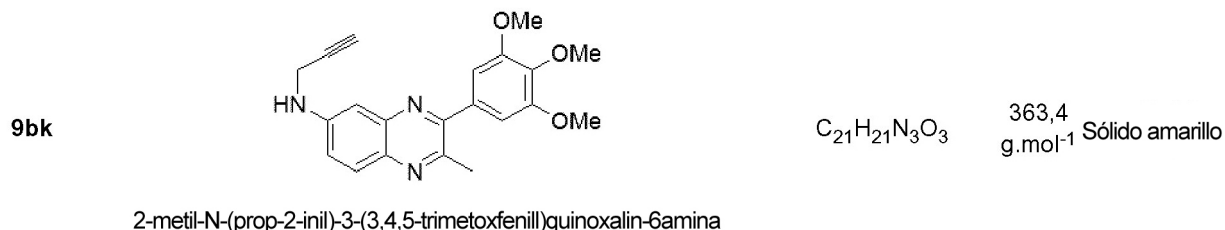


30 [0170] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **9bc**. Rendimiento: 71 % (280,0 mg). MS (ESI) m/z: 304.3 ([M+H]⁺, 100). Pureza (HPLC/UV 260 nm): 100 %.

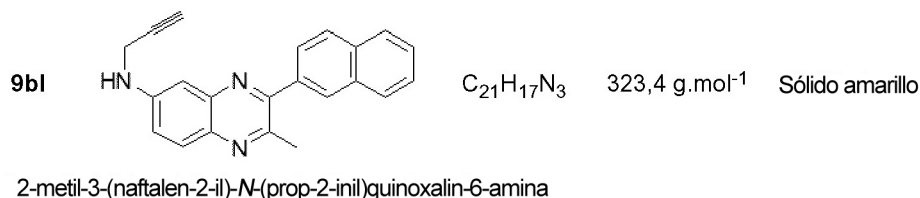


35 [0171] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **9bc**.

Rendimiento: 47 % (29,6 mg). MS (ESI) m/z: 334.2 ([M+H]⁺, 100). Pureza (HPLC/UV 260 nm): 84 %.

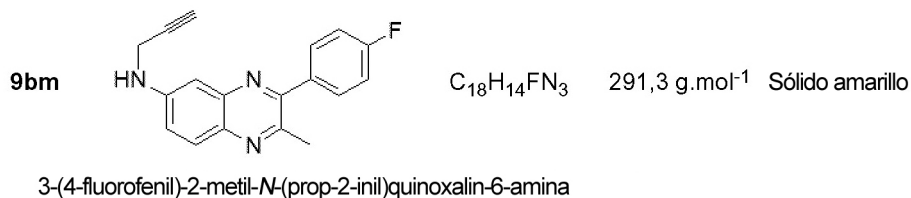


- 5 **[0172]** Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **9bc**.
Rendimiento: 42 % (118,7 mg). MS (ESI) m/z: 364.2 ([M+H]⁺, 60) y 749.3 [2M+Na]⁺, 100). Pureza (HPLC/UV 260 nm): 92 %.



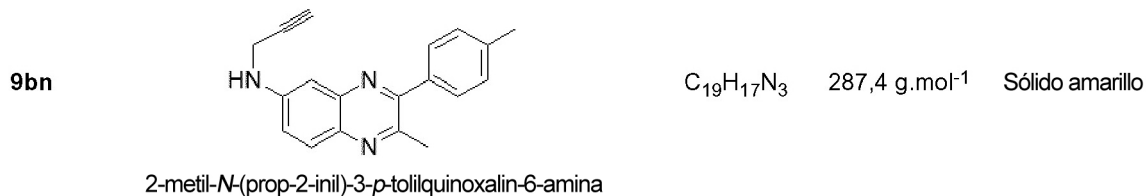
10

- [0173]** Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **9bc**.
Rendimiento: 28% (80,5 mg). MS (ESI) m/z: 324.2 ([M+H]⁺, 100). Pureza (HPLC/UV 220 nm): 90 %.



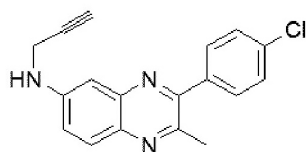
15

- [0174]** Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **9bc**.
Rendimiento: 28 % (74 mg). RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 2.26 (t, J = 2,4 Hz, 1H), 2.69 (s, 3H), 4.06 (brs, 2H), 4.38 (brs, 1H, NH), 7.12-7.15 (m, 2H), 7.20 (t, J = 8,8 Hz, 2H), 7.61-7.65 (m, 2H), 7.84 (d, J = 8,8 Hz, 1H). RMN ¹³C (100 MHz, CDCl₃) δ ppm: 23.8, 33.5, 71.9, 79.9, 105.3, 115.4, 115.6, 121.8, 129.1, 130.8, 130.9, 136.5, 139.4, 142.9, 147.4, 147.9, 153.7, 164.3. MS (ESI) m/z: 292.2 ([M+H]⁺, 100). Pureza (HPLC/UV 260 nm): 94 %.



- [0175]** Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **9bc**.
25 Rendimiento: 40 % (207,0 mg). MS (ESI) m/z: 288.2 ([M+H]⁺, 100).

9bo

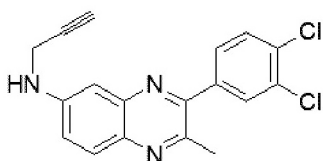
C₁₈H₁₄ClN₃ 307,8 g.mol⁻¹ Sólido amarillo

3-(4-diclorofenil)-2-metil-N-(prop-2-inil)quinoxalin-6amina

[0176] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **9bc**.

Rendimiento: 34 % (160 mg). MS (ESI) m/z: 308.2 ([M+H]⁺, 25) y 310.1 ([M+H]⁺, 7,5). Pureza (HPLC/UV 274 nm): 95 %.

9bp

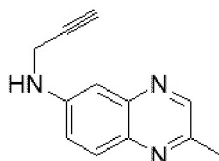
C₁₈H₁₃Cl₂N₃ 342,2 g.mol⁻¹ Sólido amarillo

3-(3,4-diclorofenil)-2-metil-N-(prop-2-inil)quinoxalin-6amina

[0177] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **9bc**.

10 Rendimiento: 50 % (196,0 mg). MS (ESI) m/z: 242.1 ([M+H]⁺, 100) y 344.1 ([M+H]⁺, 50). Pureza (HPLC/UV 264 nm): 94 %.

9ba

C₁₂H₁₁N₃ 197,2 g.mol⁻¹ Sólido amarillo

2-metil-N-(prop-2-inil)quinoxalin-6-amina

15 [0178] Procedimiento de obtención similar al utilizado para la síntesis del compuesto **9bc**.

Rendimiento: 41 % (2,570 g). MS (ESI) m/z: 198.2 ([M+H]⁺, 100). Pureza (HPLC/UV 220 nm): 94 %.

II. Evaluación biológica

20 [0179] Las amino-quinoxalinas se evaluaron a continuación según sus propiedades neuroprotectoras y neurodiferenciadoras (o neuritogénicas)

II.1 Efecto de los compuestos sobre la neuroprotección y la diferenciación de las neuronas dopaminérgicas en cultivo primario en un modelo de degeneración espontánea.

25

II.1.1 Relación estructura-actividad y determinación de la concentración eficaz (EC50)

[0180]

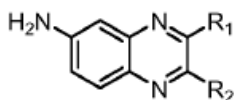
30 • Los derivados quinoxalinas se probaron en un modelo de degeneración espontánea de las neuronas dopaminérgicas en cultivo según el protocolo descrito en el artículo de F. Schmidt *et al.* PLoS ONE 2009, 4(7) e2615 («Chemicals Possessing a Neurotrophin-Like Activity on Dopaminergic Neurons in Primary Culture»). Este modelo consiste en la puesta en cultivo de mesencéfalo ventral de embrión de rata. Esta parte del cerebro en cultivo contiene una proporción de neuronas dopaminérgicas del 5 % de las neuronas totales, las otras neuronas siendo

35 esencialmente gabérgicas. Estos cultivos también están compuestos de células gliales a saber, los astrocitos, oligodendrocitos y la microglía. Estos cultivos están caracterizados por la muerte progresiva de las neuronas. El

efecto neuroprotector de los compuestos según la invención se evaluó por recuentos de las neuronas dopaminérgicas (TH⁺) marcadas por inmunohistoquímica de la tirosina hidroxilasa (TH) después de 8 días de cultivo. Así, por ejemplo, los compuestos **4aa**, **4ba**, **4ad**, **4bd**, **4bc** y **4ed** se evaluaron a 1nM, 10nM, 100nM y 1µM y se compararon con la actividad del dibutiril-AMP cíclico (dbc-AMP) a 200 µM.

5

Tabla 1 Actividad de ciertos derivados de aminoquinoxalina a 100 nM en la supervivencia de las neuronas dopaminérgicas fetales en cultivo.



10

Compuesto (100nM)	R ₁	R ₂	Neuronas TH ⁺ en % del control +/- SEMa	Dif. en % del control +/- SEM
control			100 +/- 1,9%	100 +/- 5,6%
dbcAMP			149,9 +/- 3,6 %	333 +/- 8,7%
4ad	<i>n</i> -Bu	H	101,0 +/- 4,1 %	118,4 +/- 9,0%
4bd	<i>n</i> -Bu	CH ₃	120,6 +/- 5,4 %	102,5 +/- 4,6%
4bc	Ph	CH ₃	140,4 +/- 4,1 %	142,1 +/- 3,3%
4ed	<i>n</i> -Bu	<i>n</i> -Hex	114,6 +/- 5,9 %	104,3 +/- 9,5%

^a Error Estándar en la Media. Los datos están expresados en porcentaje del valor del control negativo (media 6 SEM).

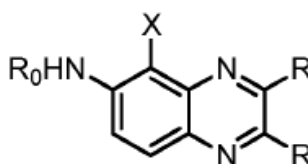
[0181] Los resultados muestran una actividad particularmente importante del compuesto **4bc** con un porcentaje de supervivencia casi igual al inducido por el dbc-AMP. Se observa además una actividad particularmente interesante de los compuestos sustituidos en posición 2 del ciclo quinoxalina por una unidad aromática.

15

• Los derivados quinoxalinas se probaron asimismo en un modelo de degeneración espontánea de las neuronas dopaminérgicas en cultivo según un protocolo ligeramente diferente del descrito anteriormente. Este segundo protocolo está descrito en el artículo de S. Mourlevat, P. P. Michel *et al.* Molecular Pharmacology 2003, 64:578-586 («Prevention of Dopaminergic Neuronal Death by Cyclic AMP in Mixed Neuronal/Glial Mesencephalic Cultures Requires the Repression of Presumptive Astrocytes»). El efecto neuroprotector de los compuestos según la invención se evaluó por recuento de las neuronas dopaminérgicas (TH⁺) marcadas por inmunohistoquímica de la tirosina hidroxilasa (TH) después de 10 días de cultivo. Los compuestos según la invención fueron evaluados a 50 µM, salvo el compuesto **4bc** que se evaluó a 100 µM. Se compararon con la actividad del dibutiril-AMP cíclico (dbc-AMP) a 1 mM.

20

Tabla 2. Actividad de ciertos derivados de aminoquinoxalina a 50 o 100 µM sobre la supervivencia de las neuronas dopaminérgicas fetales en cultivo



Compuesto (50 µM)	R ₁	R ₂	R ₀	X	Dif. en % del control +/- SEM
control					100 ± 4%
dbcAMPc					241 ± 9 %
4bc*	Ph 4-OMe-Ph	CH ₃	H	H	139 ± 11 %
4ch		Ph	H	H	130 ± 10 %
4ac	Ph	H	H	H	189 ± 11 %
9bc	Ph	CH ₃	CH ₂ C≡CH	H	174 ± 15 %
9bm	4-F-Ph	CH ₃	CH ₂ C≡CH	H	166 ± 15 %
7bc	Ph	CH ₃	H	Br	153 ± 12 %
8bc	Ph	CH ₃	H	Cl	129 ± 8%

^a Error Estándar en la Media. Los datos están expresados en porcentaje del valor del control negativo (media 6 SEM).

II.1.2 Efecto neuritogénico de los compuestos según la invención

5 [0182] Para evaluar la actividad neuritogénica de los compuestos según la invención, el crecimiento neurítico por célula se cuantificó con ayuda del programa Neurite Outgrowth desarrollado por Explora Nova. 60 neuronas por condición como mínimo se fotografiaron y estudiaron. Los resultados obtenidos con el compuesto **4bc** se presentan en la figura 1.

10 [0183] Las imágenes de la figura 1 (tomadas con un aumento x20 e invertidas con ayuda de un programa informático de retratamiento de imágenes) muestran cultivos bien no tratados (control, B), bien tratados con el compuesto **4bc** a 100 nM (A) o con dbc-AMP a 200 μM (C), cuyas neuronas dopaminérgicas están inmunomarcadas por reconocimiento de la tirosina hidroxilasa. Se observa un aumento significativo respecto del control negativo de la diferenciación de las neuronas TH⁺.

15 [0184] Este compuesto **4bc** activo en la supervivencia de las neuronas dopaminérgicas muestra asimismo una actividad sobre su diferenciación con neuronas que poseen prolongaciones axónicas (es decir, conjunto de axones y dendritas) más largas y más numerosas.

II.2. Estudio del paso de la barrera hematoencefálica del compuesto **4bc**

20

II.2.1. Materiales y Procedimientos

Animales

25 [0185] Se mantienen ratones macho RjOrl:SWISS, con aproximadamente 5 semanas de edad y con un peso entre 20 y 24 g a su llegada (Centro de cría R Janvier, Francia) en el animalario, a temperatura constante (22 ± 1 °C) y con higrometría controlada (55 ± 20 %), con un ciclo luz/oscuridad de 12 horas (8h00-20h00). Durante el periodo de aclimatación y del estudio, los ratones tienen acceso libre a la comida y a la bebida.

30 [0186] Todos los experimentos se desarrollaron de conformidad con las condiciones del decreto n°2001-464 de 29 de mayo de 2001 relativo a los experimentos practicados con animales.

Tratamientos:

35 [0187] Se utilizaron dos modos de tratamiento: una administración por vía intraperitoneal (IP) durante un periodo de 1 o 2 días o una administración por vía oral o *per os* durante 5 días.

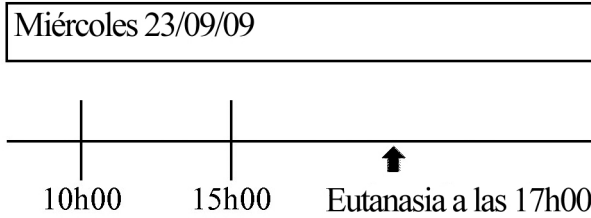
• Tratamiento por vía intraperitoneale (IP)

40 [0188] La solución del compuesto **4bc** a inyectar a la concentración de 7,0 g/l se prepara en el vehículo que contiene un 10 % de Tween20 + 20 % de DMSO + 70 % de NaCl al 0,9 % en agua.

[0189] Se constituyeron tres grupos de animales:

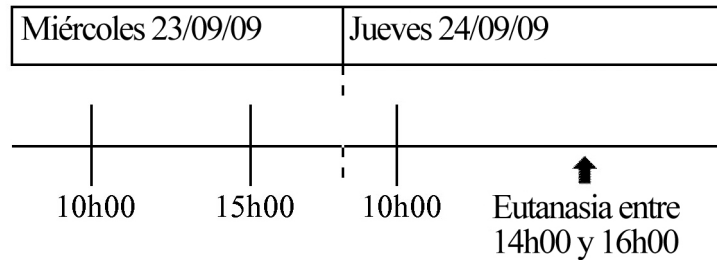
- 45 - ratones que recibieron el vehículo por vía IP, a 10 ml/kg (Grupo V, n=2);
 - ratones tratados con el compuesto **4bc** por vía IP a 70 mg/kg y a 10 ml/kg (Grupo T, n=6)
 - un ratón no tratado que se utilizará como control positivo durante el análisis.

50 [0190] Los ratones tratados T2 y T3 recibieron los tratamientos de la siguiente manera:



[0191] Los ratones tratados T1, T4, T5 y T6, así como los ratones que recibieron el vehículo V1 y V2 recibieron los tratamientos/vehículos siguientes:

5



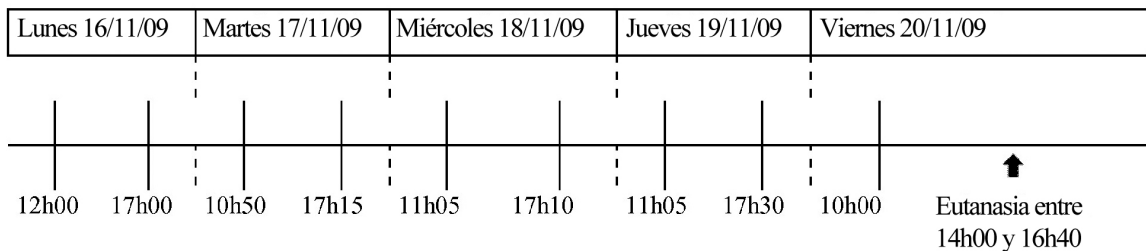
**Tratamiento por vía oral (per os)*

- 10 **[0192]** La solución del compuesto **4bc** con la concentración de 15,0 g/l que hay que administrar se prepara en el vehículo siguiente: 0,5 % Tween80 + 99,5 % carboxi-metil celulosa al 1 %, en NaCl 0,9 % en agua.

[0193] Se constituyeron tres grupos:

- 15 - ratones que recibieron el vehículo por vía oral, a 10 mL/kg (Grupo V, n=4);
 - ratones tratados con el compuesto **4bc** por vía oral a 150 mg/kg y a 10 mL/kg (Grupo T, n=6)
 - ratones control que no recibieron ningún tratamiento (n=2).

- [0194]** Todos los ratones son tratados o reciben el vehículo a razón de 2 veces al día durante 4 días. El 5º día se administra un último tratamiento y los animales son eutanasiados entre 4h00 y 6h40 después de este último tratamiento según este esquema:



25 *Eutanasia y disección:*

- [0195]** Los ratones son anestesiados con una inyección de 0,1 ml de pentobarbital sódico al 6 % después son perfundidos, de forma que se elimine el compuesto presente a nivel plasmático, con una solución de NaCl 0,9 % que contiene heparina (200 µL de heparina choay a 5000 UI/ml en un litro de NaCl 0,9 %) Cada animal es perfundido con, como mínimo, 50 ml de esta solución. A continuación, se descerebra el ratón, y después se eliminan por

30

disección el cerebelo, el tronco cerebral y los bulbos olfativos.

[0196] Para el estudio IP se diseca el cerebro en 2 partes (hemisferio derecho y hemisferio izquierdo).

5 **[0197]** Para el estudio *per os* se diseca el cerebro en 3 partes según el esquema presentado en la figura 2.

[0198] Las diferentes partes del cerebro se congelan en isopentano a -30 °C durante un minuto, después se conservan separadamente a -80 °C.

10 *Procedimiento de extracción:*

[0199] Cada muestra de cerebro de ratón tratada por el compuesto **4bc** se pesa, se coloca en MeOH (100 µl de MeOH para 10 mg de tejido cerebral) después se mezcla por ultrasonidos. Las suspensiones así obtenidas se centrifugan a 14 000 g durante 7 minutos, a 4 °C para la vía IP o a 27 000 g durante 10 minutos, a 4 °C para la vía
15 oral. Los sobrenadantes, diluidos a la mitad en MeOH, se transfieren a viales HPLC para el análisis de la presencia del compuesto **4bc** por HPLC-MS/MS.

[0200] Hay que señalar que, para conservar muestras para futuros análisis, solo las partes 1 de los cerebros de ratones tratados *per os* fueron extraídos y analizados. Las partes de cerebros 1 y 2 de los ratones T2 y T4 sin
20 embargo se extrajeron para verificar que el compuesto **4bc** no se distribuye preferentemente en una de estas dos partes.

[0201] Todas las muestras se almacenan a -4 °C antes y durante los análisis.

25 **[0202]** Los extractos se analizan en las mismas condiciones, sin embargo, los extractos IP y *per os* se analizaron en días diferentes.

Controles positivos y negativos:

30 **[0203]** El cerebro de un ratón que solo recibió el vehículo, utilizado en el estudio IP, se utiliza como control negativo. El cerebro de un ratón que no fue tratado, utilizado en el estudio IP, se utiliza como control positivo.

[0204] Cada muestra de cerebro se pesa, se coloca en MeOH (100 µl de MeOH para 10 mg de tejido cerebral) y se añaden de 10 a 20 µl de la solución de compuesto **4bc** a 7g/l al hemisferio izquierdo o al hemisferio
35 derecho del ratón control. El conjunto se mezcla en vórtex y después por ultrasonidos. Las suspensiones así obtenidas se centrifugan a 14 000 g durante 7 minutos, a 4 °C. Los sobrenadantes, diluidos a la quinta parte en MeOH, se transfieren a viales HPLC para el análisis del compuesto **4bc** por HPLC-MS/MS.

Preparación de la gama de compuesto 4bc:

40

[0205] Se prepara extemporáneamente una solución madre de compuesto **4bc** en MeOH a una concentración de 1,0 mg/ml. El resto de soluciones se preparan por dilución de esta solución madre en MeOH y después se almacenan a -4 °C.

45 *Instrumental y condiciones para el análisis del compuesto 4bc:*

[0206] La detección y la cuantificación, basada en el área de los picos, se realizan por HPLC-MS/MS, en modo MRM.

50 **[0207]** El sistema HPLC se compone de una bomba Dionex Ultimate 3000 equipada con un inyector automático de muestras Dionex WPS-3000PL. El espectrómetro de masa utilizado es un Water-Micromass Quattro Ultima equipado con una fuente de ionización con electrospray y un analizador de triple cuadrupolo. La adquisición de los datos, así como los análisis se efectúan a través de Masslynx 3.5.

55 **[0208]** La cromatografía líquida se realiza en modo isocrático con una columna Nucleodur™ (Macherey-Nagel) C18, 125 3 2,1 mm, con un tamaño de partícula de 5,0 mm. La fase móvil se compone de una mezcla de dos fases A y B, en proporciones 30/70. La fase A está compuesta por un 1 % de ácido acético en agua (v/v). La fase B está compuesta por un 1 % de ácido acético en MeOH (v/v). El flujo se fija a 0,2 ml/min; el volumen de inyección es de 5 µl.

[0209] El espectrómetro de masas se conecta al sistema HPLC utilizando una fuente de ionización con electrospray. Se programa una válvula de conmutación antes de la inyección de la muestra para el enjuagado y el equilibrado del capilar, de forma que se impida una posible acumulación de sal a la altura del capilar de la fuente. El voltaje del capilar se ajusta a 4000 V y el voltaje del cono a 80 V; la temperatura de la fuente se ajusta a 120 °C; el gas de desolvatación (N₂) se ajusta a un flujo de 529 L/h y la temperatura a 350 °C. Los espectros de masas se obtienen en modo positivo. Los parámetros se optimizan para obtener el máximo de ion molecular ([M+H]⁺) a m/z 236,41, correspondiente al compuesto **4bc**. La colisión se efectúa con argón y la energía se fija en 30eV en modo MS/MS para detectar las transiciones de masa: m/z 236,41 → 117,08; 236,41 → 131,10 y 236,41 → 158,27.

[0210] La recta de calibrado se realiza a partir de una gama de estándar que consta 9 concentraciones (100 mg/ml; 10 mg/ml; 1 mg/ml; 0,5 mg/ml; 0,1 mg/ml; 20 ng/ml; 4 ng/ml; 0,8 ng/ml y 0,16 ng/ml).

II.2.2. Resultados

Toxicidad del compuesto 4bc:

[0211] Los animales se pesan casa día, a lo largo del estudio subcrónico para controlar su estado general. Como el peso de los animales se considera un buen índice de salud general, una toxicidad del compuesto se caracterizaría por una bajada notoria del peso corporal a lo largo del tiempo.

[0212] La figura 3 representa así la media de los pesos de los ratones de un mismo grupo en función del tiempo durante el tratamiento *per os* (ratones no tratados, que recibieron el vehículo o que recibieron el compuesto **4bc** a razón de 300 mg/kg/día).

• Estudio *per os*:

[0213] El aumento del peso de los animales es lineal a lo largo del experimento reflejando un buen estado general de los animales y una falta de toxicidad importante del compuesto.

• Estudio *IP*:

[0214] El seguimiento del peso de los ratones a lo largo del estudio *IP* no tiene valor dada la corta duración del experimento (1 o 2 días).

Validación del procedimiento HPLC-MS/MS:

• Vía *IP*:

[0215] El área de los picos HPLC es la función de la concentración de compuestos **4bc** en la gama de 20 ng/mL a 100,00 mg/μl con un coeficiente de correlación R² igual a 0,9999. El límite de detección es de 4 ng/ml con una relación S/R (señal sobre ruido) de 3:1. El tiempo de retención del compuesto **4bc** es de 3,3 minutos; el periodo de adquisición es de 8 minutos.

• Vía *per os*:

[0216] El área de los picos HPLC es la función de la concentración de compuesto **4bc** en la gama de 4 a 1000,00 ng/ml con un coeficiente de correlación R² igual a 0,9999. El límite de detección es de 0,8 ng/ml con una relación S/R (señal/ruido) de 3:1. El tiempo de retención del compuesto **4bc** es de 3,7 minutos; el periodo de adquisición es de 8 minutos.

Concentración del compuesto 4bc en los extractos de cerebros y en el plasma:

• Vía *IP*:

[0217] El compuesto **4bc** no es detectable en el extracto de cerebros de ratón que han recibido el vehículo (control negativo) y cuantificado a 0,18 μg/ml y 0,42 μg/ml en los controles positivos (ratón control + 10 o 20 μl de compuesto **4bc** a 7 mg/ml). El compuesto **4bc** se cuantifica en los extractos de cerebros de ratones tratados por *IP* y eutanasiados 2 h después del último tratamiento, con la concentración media de 8,83 μg/ml ± 0,92 SEM (n=3).

[0218] Los cromatogramas obtenidos se presentan en la figura 4.

[0219] Hay que señalar que los extractos se conservaron a 4 °C varios días correspondientes a la duración total de los análisis. Para evitar cualquier error relacionado con la degradación del compuesto, la última muestra de una serie analizada durante un día se reanalizó al día siguiente y se utilizó como estándar.

• *Vía IP, análisis ulterior de los extractos:*

10 [0220] El compuesto **4bc** es cuantificable en los antiguos extractos de cerebros de ratones tratados por IP y eutanasiados 2 h después del último tratamiento, con la concentración media de $1,39 \mu\text{g/ml} \pm 0,09 \text{ SEM}$ (n=4). Los extractos de cerebros se conservaron durante 40 días a 4 °C. El compuesto **4bc** es detectable en los antiguos extractos de cerebros de ratones tratados IP y eutanasiados entre 4 y 6 h después del último tratamiento (n=8).

15 [0221] Los cromatogramas obtenidos se presentan en la figura 5 para los extractos de cerebros de ratones eutanasiados 2 h después del último tratamiento y en la figura 6 para los extractos de cerebros de ratones eutanasiados entre 4 y 6 h después del último tratamiento, los extractos habiendo sido conservados 40 días a 4 °C antes del análisis en los dos casos.

20 • *Vía per os:*

[0222] El compuesto **4bc** es indetectable en todas las muestras de cerebros de ratones tratados *per os* como lo muestran los cromatogramas obtenidos presentados en la figura 7. Sin embargo, parece que el resultado deriva del hecho de que la eutanasia de los ratones se realizó demasiado tarde después del último tratamiento. Un nuevo estudio descrito más abajo se realizó por tanto para examinar la influencia del tiempo antes de la eutanasia sobre la concentración del compuesto **4bc** en los extractos de cerebros.

• *Estudio de la influencia del tiempo antes de la eutanasia sobre la concentración en el compuesto 4bc:*

30 [0223] Este estudio se realizará en ratones C57BL/6J (en lugar de RjOrl:SWISS) tratados con el compuesto **4bc** por vía IP o *per os*.

- Vía IP

35 [0224]

➤ Los ratones tratados por vía IP recibieron un tratamiento de 70 mg/kg a 10 mL/kg de una solución de compuesto **4bc** durante 2 días que comprendió 2 inyecciones IP el 1^{er} día y 1 inyección IP al día siguiente. Los resultados obtenidos se presentan en la siguiente tabla.

40

Tiempo de la eutanasia después del último tratamiento	Concentración de los extractos de cerebro	Concentración plasmática
aproximadamente 1 h	1 $\mu\text{g/ml}$	1,2 $\mu\text{g/ml}$
aproximadamente 1 h 30	0,74 $\mu\text{g/ml}$	3,1 $\mu\text{g/ml}$
aproximadamente 1 h 55	0,1 $\mu\text{g/ml}$	1,7 $\mu\text{g/ml}$
aproximadamente 2 h 20	0,09 $\mu\text{g/ml}$	no medido

La cinética del compuesto **4bc** después de administración por vía IP en el cerebro y el plasma del ratón se presenta además en la figura 8.

45 ➤ Se realizó otro estudio en ratas tratadas por vía IP. Estas ratas recibieron un tratamiento de 20 o 45 mg/kg a 10 ml/kg de una solución de compuesto **4bc** durante 2 días que comprendió 2 inyecciones IP el 1^{er} día y 1 inyección IP al día siguiente. Los resultados obtenidos se presentan en la siguiente tabla.

Tratamiento	Tiempo de la eutanasia después del último tratamiento	Concentración de los extractos de cerebro	Concentración plasmática
45 mg/kg a 10 ml/kg	aproximadamente 1 h	5,1 $\mu\text{g/ml}$	no medido

de compuesto 4bc			
20 mg/kg a 10 ml/kg de compuesto 4bc	aproximadamente 3 h	0,1 µg/ml	0,4 µg/ml

- Vía per os

[0225] Los ratones tratados por vía *per os* recibieron un tratamiento de 150 mg/kg a 10 ml/kg de una solución de compuesto **4bc** durante 5 días que comprendió 2 administraciones por día durante 4 días y 1 administración el último día. Los resultados obtenidos se presentan en la siguiente tabla.

Tiempo de la eutanasia después del último tratamiento	Concentración de los extractos de cerebro	Concentración plasmática
aproximadamente 1 h	2,2 µg/ml	11,6 µg/ml
aproximadamente 1 h 30	0,2 µg/ml	0,7 µg/ml
aproximadamente 2 h	0,1 µg/ml	0,04 µg/ml
aproximadamente 2 h 25	0,05 µg/ml	0,4 µg/ml

- Conclusión

10

[0226] El compuesto **4bc** es por tanto bien detectable y cuantificable en todas las muestras (cerebro y plasma) ya sea por vía IP o *per os*.

II.2.3. Exposición y conclusión

15

[0227] El compuesto **4bc** es capaz de traspasar *in vivo* la barrera hematoencefálica después de administración por vía intraperitoneal. Los extractos de cerebros de animales tratados por vía IP y eutanasiados entre 4 y 6 h son 2000 veces menos concentrados en compuesto **4bc** que los extractos de cerebros de animales tratados por vía IP y eutanasiados después de 2 h postratamiento. Los extractos analizados posteriormente, de cerebros de animales tratados por vía IP y eutanasiados a las 2 h, poseen un valor medio de aproximadamente 6 veces menos elevado que el anteriormente calculado (relación de las medias de las concentraciones de los mismos extractos analizados a 10 semanas de intervalo). Como esta variación es despreciable comparada con la relación de 2000 observada entre los extractos de cerebros de animales tratados por vía IP y eutanasiados en tiempos diferentes, se puede concluir que el compuesto **4bc** se elimina rápidamente del cerebro con el paso del tiempo.

25

[0228] El compuesto **4bc** es indetectable en los cerebros de animales tratados por administración oral y eutanasiados con un mínimo de 6 horas después del último tratamiento. Sin embargo, dada la depuración rápida del compuesto **4bc** tras tratamiento por vía IP, este resultado se debe probablemente a un tiempo de espera demasiado largo entre el último tratamiento y la eutanasia. Un segundo estudio por vía oral permitió confirmar esta hipótesis. Efectivamente, cuando se ha realizado la eutanasia 1 h después de la última administración, el compuesto se detecta en cantidades comparables a la administración bien por IP o *per os* (1 mg/ml vs 2,2 mg/ml).

30

[0229] El compuesto **4bc** es capaz de atravesar *in vivo* la barrera hematoencefálica de ratones o de ratas después de administración por vía oral y sin efectos no deseados con una dosis de 300 mg/kg/día durante un tratamiento de 5 días.

35

II.3. Estudio de la eficacia del compuesto 4bc sobre un modelo animal de la enfermedad de Parkinson

[0230] El objetivo de este estudio es probar a través de un estudio *in vivo* la actividad neuroprotectora del compuesto **4bc** administrado por vía oral a un ratón tras intoxicación de esta con MPTP por vía intranasal. La toma alimentaria y la ganancia de peso de los animales se controlarán también respecto de los grupos testigo. El análisis densitométrico de las fibras estriatales y el recuento de los cuerpos celulares dopaminérgicos de sustancia negra, permitirán cuantificar el efecto neuroprotector de la molécula después del marcado inmunohistoquímico de la tirosina hidroxilasa.

45

II.3.1. Materiales y procedimientos

Tratamiento:

[0231] 30 ratones macho C57BL/6J con una edad de 3 meses (proveedor: Elevage janvier) se utilizaron a lo largo de este estudio.

[0232] El compuesto **4bc** se administró por vía oral a la dosis de 150 mg/kg a 10 ml/kg, dos veces al día durante dos días, después a 75 mg/kg, una vez al día. El vehículo está compuesto por el 0,5 % de Tween 80 + 99,5 % de carboximetilcelulosa (al 1 % en agua). Una sonda rígida curvada acoplada a jeringas de 1 ml Terumo se utilizaron para la administración.

[0233] El MPTP, toxina específica de las neuronas dopaminérgicas, se administró por vía intranasal. 1 mg (10 µL) de MPTP/HCl (sigma) disueltos en una solución de NaCl al 0,9 % se suministró por la fosa nasal con un intervalo de 3 minutos entre las dos fosas nasales. Las dos fosas nasales se someten a inyección a razón de una vez al día durante 4 días.

[0234] El estudio se realizó siguiendo el siguiente protocolo:

- Cotratamiento con MPTP y con el compuesto **4bc**: D1 a D4
- Postratamiento con el compuesto **4bc** (1 vez al día durante 6 días) D5 a D10
- Eutanasia D11

[0235] Se constituyeron cuatro grupos de ratones:

(**T** = tratado con el compuesto **4bc**, **NT** = no tratado, **L** = lesionado con MPTP, **NL** = no lesionado con MPTP);

- ratones que recibieron el vehículo por vía oral, a 10 ml/kg (Grupo **NT/NL**, n=6);
- ratones tratados con el compuesto **4bc** por vía oral a 150 mg/kg y a 10 mL/kg 2 veces al día durante 2 días después a 75 mg/kg y a 10 ml/kg 1 vez al día durante 7 días (Grupo **T/NL**, n=6);
- ratones que recibieron el MPTP por vía IN (intranasal) (Grupo **NT/L**, n=9);
- ratones que recibieron MPTP por vía IN (intranasal) y que fueron tratados con el compuesto **4bc** por vía oral a 150 mg/kg y a 10 ml/kg 2 veces al día durante 2 días después a 75 mg/kg y a 10 ml/kg 1 vez al día durante 7 días (Grupo **NT/L**, n=9).

Immunohistoquímica:

[0236] El 11º día, los animales son anestesiados, perfundidos (NaCl 0,9 % después paraformaldehído 4 %) después eutanasiados. Seguidamente se extrajeron los cerebros y se posijaron durante 2 h en una solución de formaldehído al 4 % después crioprotectados en sacarosa al 30 % durante 1 día. Por último, estos cerebros se congelan y se realizan cortes finos con el microtomo de congelación.

[0237] Para cuantificar el poder neuroprotector del compuesto **4bc**, se realiza un estudio inmunohistoquímico sobre cortes flotantes de cerebros. Se analizan dos estructuras anatómicas del cerebro: el estriado (cortes de 20 mm, 10 niveles) y la *substantia nigra* (cortes de 20 µm, 7 niveles).

[0238] La tirosina hidroxilasa (TH) se eligió como marcador biológico para evaluar la densidad óptica de las fibras dopaminérgicas en el estriado y el número de neuronas dopaminérgicas en la *substantia nigra* de cada animal.

II.3.2. Resultados

[0239] Los resultados obtenidos se presentan en las figuras 9 y 10.

[0240] Las abreviaciones siguientes se han utilizado en estas dos figuras:

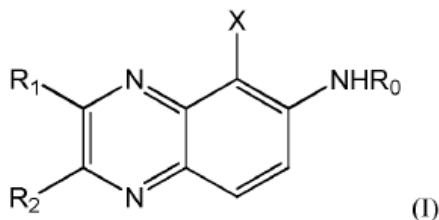
- ST.R: estriado derecho;
- ST.L: estriado izquierdo;
- **: diferencia significativa ($p < 0,01$);
- *: diferencia significativa ($p < 0,05$), y
- NS: no significativo ($p \geq 0,05$),

los valores estadísticos obtuvieron con ayuda de un test no paramétrico de comparación de las medias de 2 grupos diferentes (test de Mann-Whitney). Estos resultados muestran que el compuesto **4bc** posee de forma significativa

una actividad neuroprotectora de las fibras dopaminérgicas *in vivo*. La ligera toxicidad observada en los animales que han recibido únicamente el tratamiento por el compuesto **4bc** no es significativa.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I) siguiente,



así como sus sales farmacéuticamente aceptables, sus estereoisómeros o mezclas de estereoisómeros en cualquier proporción, en particular una mezcla de enantiómeros, y particularmente una mezcla racémica, en la que:

- 10 - X representa un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno como un bromo o un cloro, un grupo NO₂ o NH₂;
 - R₀ representa H o -CH₂-C≡CH, y
 - R₁ y R₂ representan cada uno, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno; una cadena hidrocarbonada saturada o insaturada, lineal o ramificada, que consta de 1 a 10, preferentemente de 1 a 6 átomos de carbono; o un grupo arilo eventualmente sustituido;

para su utilización como medicamento destinado al tratamiento o a la prevención de la enfermedad de Parkinson.

2. Compuesto según la reivindicación 1, **caracterizado porque** X representa un átomo de hidrógeno, un átomo de bromo, un grupo NH₂ o NO₂.

3. Compuesto según la reivindicación 2, **caracterizado porque** X representa un átomo de hidrógeno.

4. Compuesto según la reivindicación 1, **caracterizado porque** R₀ representa un átomo de hidrógeno.

5. Compuesto según la reivindicación 1, **caracterizado porque** R₁ y R₂ representan cada uno, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno; un grupo (C₁-C₆)alquilo; o un grupo arilo eventualmente sustituido.

6. Compuesto según la reivindicación 5, **caracterizado porque** R₁ y R₂ representan cada uno, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno; un grupo (C₁-C₆)alquilo; o un grupo arilo eventualmente sustituido por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, arilo, N₃, NO₂, NH₂, y -NH-((C₁-C₆)alquilo).

7. Compuesto según la reivindicación 6, **caracterizado porque** R₁ y R₂ representan cada uno, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno; un grupo (C₁-C₆)alquilo; o un grupo arilo eventualmente sustituido por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi y arilo.

8. Compuesto según la reivindicación 1, **caracterizado porque** R₁ y R₂ representan cada uno, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno; un grupo (C₁-C₆)alquilo; o un grupo fenilo eventualmente sustituido.

9. Compuesto según la reivindicación 8, **caracterizado porque** R₁ y R₂ representan cada uno, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno; un grupo (C₁-C₆)alquilo; o un grupo fenilo eventualmente sustituido por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, arilo, N₃, NO₂, NH₂, y -NH-((C₁-C₆)alquilo).

10. Compuesto según la reivindicación 9, **caracterizado porque** R₁ y R₂ representan cada uno, independientemente el uno del otro, un átomo de hidrógeno; un grupo (C₁-C₆)alquilo; o un grupo fenilo eventualmente sustituido por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-

C₆)alcoxi y arilo.

11. Compuesto según la reivindicación 1, **caracterizado porque** R₁ representa un grupo arilo eventualmente sustituido.

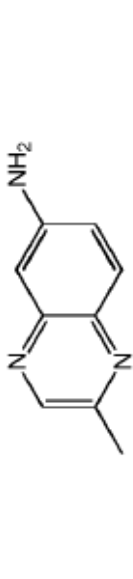
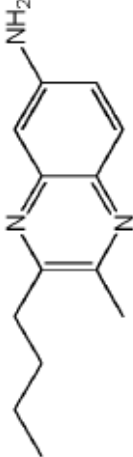
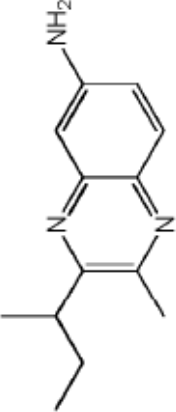
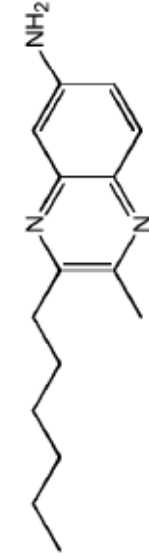
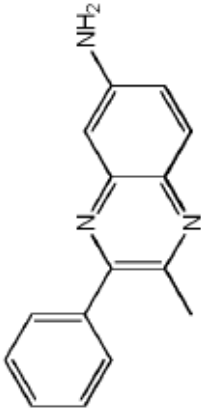
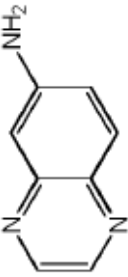
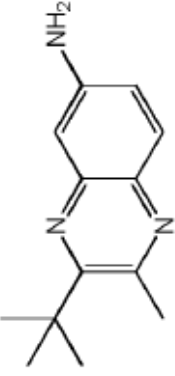
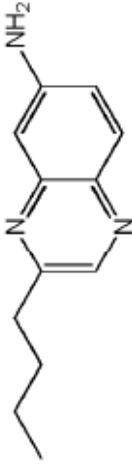
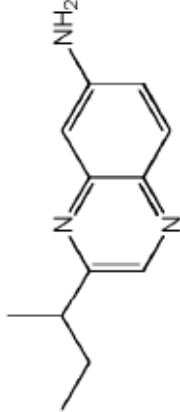
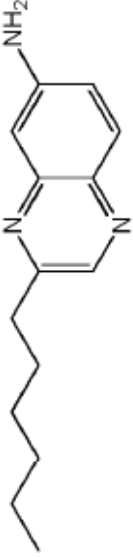
5

12. Compuesto según la reivindicación 11, **caracterizado porque** R₁ representa un grupo arilo eventualmente sustituido por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, arilo, N₃, NO₂, NH₂, y -NH-((C₁-C₆)alquilo).

10 13. Compuesto según la reivindicación 12, **caracterizado porque** R₁ representa un grupo arilo eventualmente sustituido por uno o varios grupos elegidos entre un átomo de halógeno, un grupo (C₁-C₆)alquilo, (C₁-C₆)alcoxi, y arilo.

14. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 11 a 13, caracterizado porque el grupo arilo es
15 un grupo fenilo.

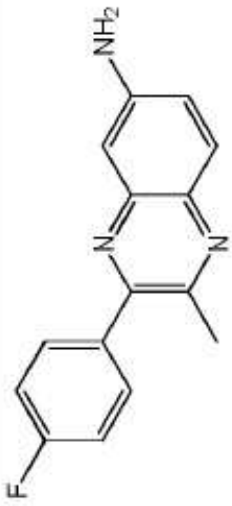
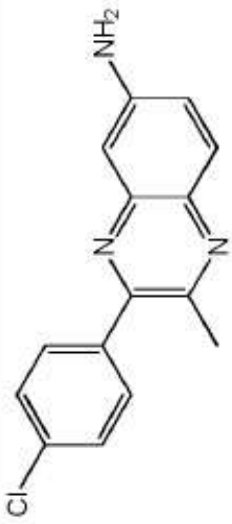
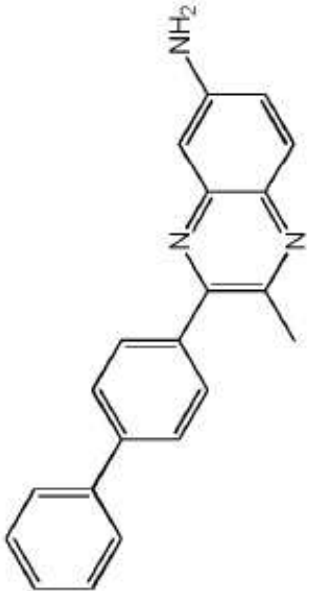
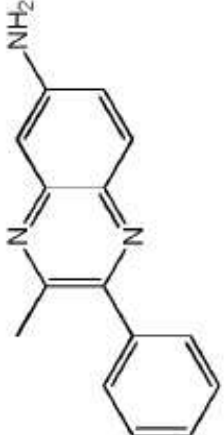
15. Compuesto según la reivindicación 1, **caracterizado porque** se elige entre los compuestos siguientes

	4ba		4bd		4bf
	4be		4bc		4aa
	4bg		4dd		4af
	4bb		4ae		

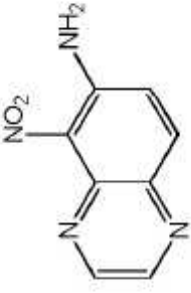
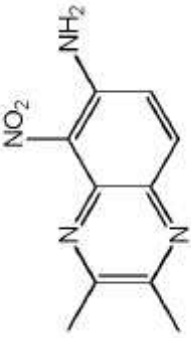
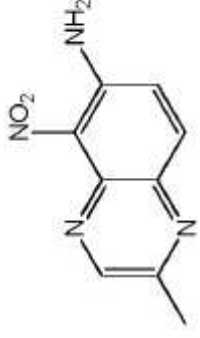
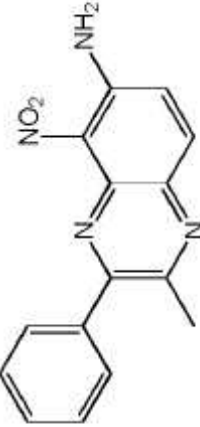
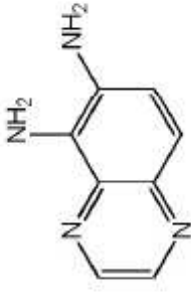
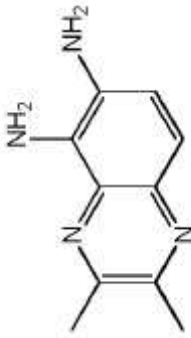
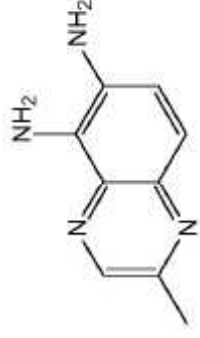
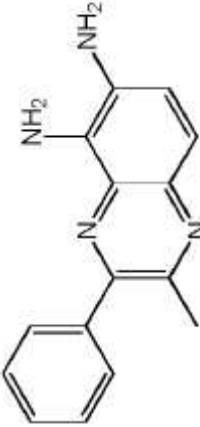
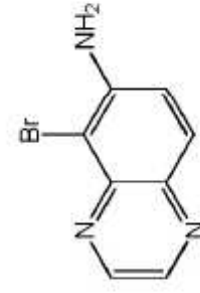
(continuación)

4ag		4ac	
4ed		4de	
4cd		4bh	
4bi		4bj	
4bk		4bi	

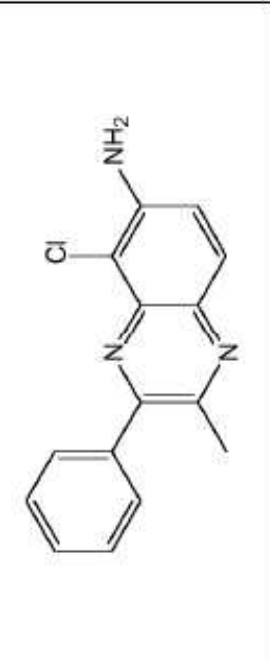
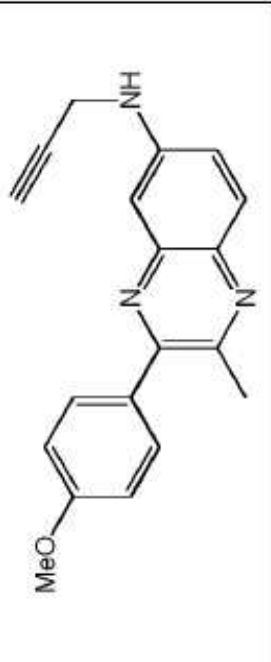
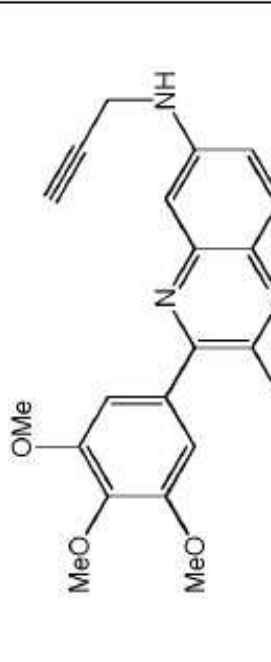
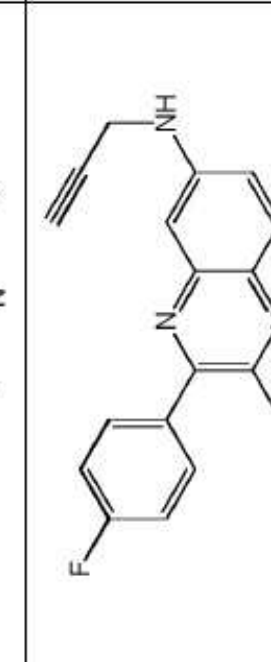
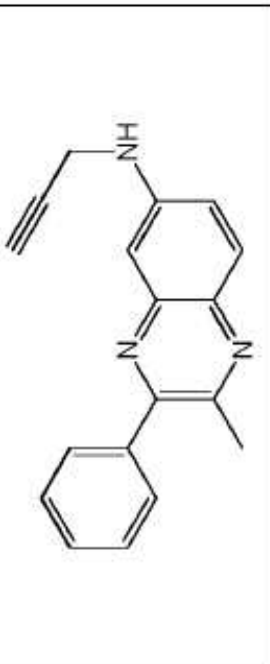
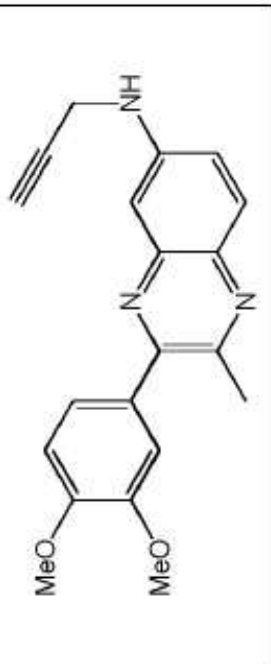
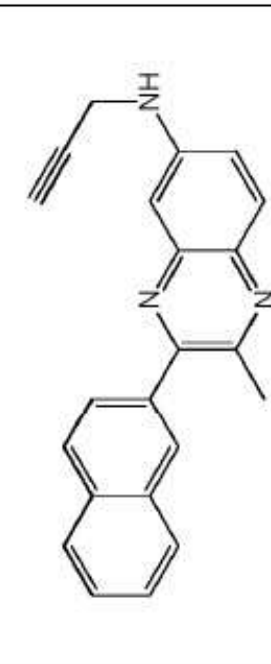
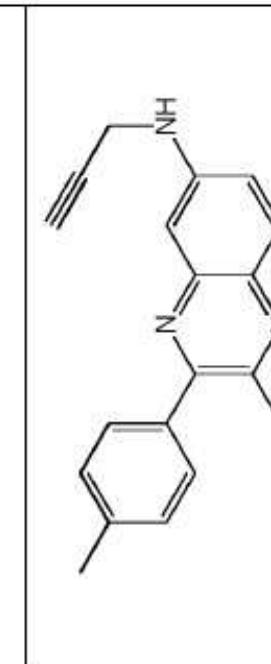
(continuación)

	4bm
	4bo
	4bp
	4bn
	4bq
	4ca
	4cb
	4ch

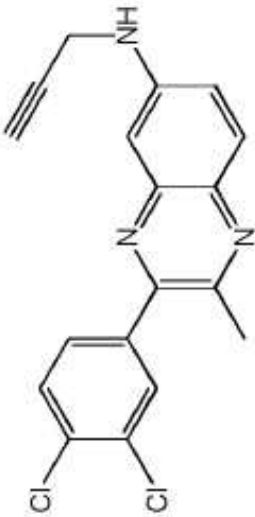
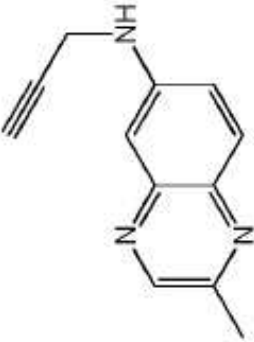
(continuación)

5aa		5b b	
5ba		5bc	
6aa		6b b	
6ba		6bc	
7aa		7bc	

(continuación)

	8bc
	9bh
	9bk
	9bm
	9bc
	9bj
	9bl
	9bn

(continuación)

9bo		9b p	
9ba	 HCl		