



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 342 946**

51 Int. Cl.:
C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/4985 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05742482 .2**
96 Fecha de presentación : **18.05.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1756111**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **28.02.2007**

54 Título: **Indoloquinoxalinas sustituidas con alquilo.**

30 Prioridad: **17.06.2004 SE 2004101555**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
19.07.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
19.07.2010

73 Titular/es: **OxyPharma AB.**
P.O. Box 47041
S-100 74 Stockholm, SE

72 Inventor/es: **Bergman, Jan;**
Engqvist, Robert;
Gerdin, Bengt;
Kihlstrom, Ingemar y
Bjorklund, Ulf

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

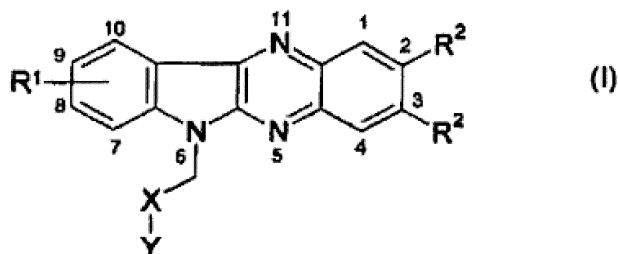
ES 2 342 946 T3

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

Indoloquinoxalinas sustituidas con alquilo.

La presente invención se refiere a nuevas indoloquinoxalinas sustituidas con alquilo de la fórmula general (I)



en la que

R^1 es hidrógeno o representa uno o más sustituyentes iguales o diferentes en las posiciones 7 a 10 que se seleccionan entre el grupo de halógenos, por ejemplo cloro flúor, bromo, alquilo/alcoxi inferior, hidroxilo, trifluorometilo, triclorometilo trifluorometoxi.

R^2 representa sustituyentes alquilo C_1 - C_4 iguales o diferentes,

X es CO,

Y es OH, NH_2 , $NH-(CH_2)_n-R^3$ en la que R^3 representa alquilo inferior, OH, NHR^4 o NR^5R^6 en las que R^4 , R^5 y R^6 son independientemente alquilo o cicloalquilo inferior y n es un número entero de 2 a 4,

y sales de las mismas farmacológicamente aceptables.

Las nuevas indoloquinoxalinas sustituidas con alquilo de la presente invención son útiles como medicamentos y en particular para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias, por ejemplo para la prevención y/o el tratamiento de artritis reumatoide (AR) y esclerosis múltiple (EM).

En esta memoria el término halógeno quiere dar a entender cloro, flúor o bromo.

La expresión alquilo inferior quiere dar a entender grupos alquilo lineales o ramificados con 1 a 4 átomos de carbono, tales como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, preferiblemente metilo o etilo.

El término alcoxi quiere dar a entender grupos alcoxi lineales o ramificados con 1 a 4 átomos de carbono, tales como metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, isobutoxi, *sec*-butoxi, *terc*-butoxi.

El término cicloalquilo quiere dar a entender grupos cicloalquilo C_5 a C_7 tales como ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo.

Un grupo de compuestos adecuado es el de compuestos de fórmula (I) en la que los dos R^2 son grupos metilo.

Otro grupo de compuestos adecuado es el de compuestos de fórmula (I) en la que R^1 es un grupo halógeno y los dos R^2 son grupos metilo.

Un grupo de compuestos preferido es el de compuestos de fórmula (I) en la que R^1 es un grupo de cloro o flúor.

Otro grupo de compuestos preferido es el de compuestos de fórmula (I) en la que Y es NR^5R^6 , especialmente cuando R^5 y R^6 son grupos alquilo inferior iguales o diferentes.

Un objeto de la invención también se refiere a los compuestos de fórmula (I) para uso como medicamentos.

Otro objeto de la invención es el uso de los compuestos de fórmula (I) para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias especialmente para la prevención y el tratamiento de artritis reumatoide (AR) y esclerosis múltiple (EM).

La invención también se refiere a procedimientos para preparar las nuevas indoloquinoxalinas sustituidas con alquilo.

Antecedentes

En ciertas condiciones, incluso en ciertos estados de enfermedad, el sistema inmunitario de un individuo identifica a sus propios constituyentes como “no-propios”, e inicia una respuesta inmunitaria contra el material “propio”, lo que causa a veces más daño o incomodidad que los de un microbio invasor o un material extraño, produciendo graves trastornos en el individuo. La enfermedad autoinmunitaria se produce cuando el sistema inmunitario de un individuo ataca a sus propios órganos o tejidos, produciendo una afección clínica asociada a la destrucción de ese tejido, como se ejemplifica por enfermedades tales como artritis reumatoide (AR), diabetes mellitus dependiente de insulina, síndrome de inmunodeficiencia adquirida (“SIDA”), anemias hemolíticas, fiebre reumática, enfermedad de Alzheimer, asma, aterosclerosis, enfermedad inflamatoria del intestino, lesión isquémica, enfermedad de Parkinson, miastenia gravis, anemia, escleroderma, enfermedad de Addison; choque séptico, psoriasis, tiroiditis, glomerulonefritis, hepatitis autoinmunitaria, esclerosis múltiple (EM), lupus eritematoso sistémico (LES), etc. Por lo tanto, en estos casos es deseable bloquear, neutralizar o inhibir la respuesta inmunitaria, contrarrestando las consecuencias de la actividad inmunitaria o eliminando su causa.

Se cree que la artritis reumatoide es resultado de la exposición de un hospedador susceptible desde el punto de vista inmunogenético a un antígeno relevante. Los antígenos que podrían iniciar potencialmente una respuesta inmunitaria que diera como resultado artritis reumatoide podrían ser endógenos o exógenos. Antígenos endógenos posibles incluyen colágeno, mucopolisacáridos y factores reumatoides. Antígenos exógenos incluyen, por ejemplo, micoplasmas, micobacterias, espiroquetas y virus. Los subproductos (por ejemplo prostaglandinas y radicales oxígeno) de la reacción inmunitaria inflaman el sinovio y lanzan cambios articulares destructivos (por ejemplo colagenasa). Las artritis reumatoides (que implican la destrucción del tejido de revestimiento articular) se caracterizan por ser el resultado de una respuesta autoinmunitaria mayoritariamente mediada por células y parece que se deben principalmente a la acción de células T (véase Sinha y col., *Science* 248:1380 (1990)).

Hay un amplio espectro en la gravedad de la enfermedad, pero muchos pacientes llevan una secuencia de recaídas y remisiones intermitentes con un patrón general de destrucción articular y deformidad que progresa lentamente. Las manifestaciones clínicas pueden incluir poliartrosis simétrica de las articulaciones periféricas con dolor, sensibilidad, hinchazón y pérdida de función de las articulaciones afectadas, entumecimiento matinal, y pérdida de cartílago, erosión de material óseo y subluxación de articulaciones después de inflamación persistente. Las manifestaciones extraarticulares incluyen nódulos reumatoides, vasculitis reumatoide, inflamaciones pleuro-pulmonares, escleritis, síndrome sicca, síndrome de Felty (esplenomegalia y neutropenia), osteoporosis y pérdida de peso (Katz (1995), *Am. J. Med.*, 79:24 y Krane y Simon (1986), *Advances in Rheumatology*, Synderman (ed.), 70(2):263-268). Las manifestaciones clínicas dan como resultado un grado alto de morbilidad que como consecuencia perturba la vida diaria del paciente. Desgraciadamente, y a pesar de los considerables esfuerzos de investigación, no hay curación para la AR.

Los tratamientos de AR establecidos están diseñados para inhibir o bien las rutas de inflamación finales comunes o los mediadores inmunológicos. Ambas aproximaciones son no específicas y, por lo tanto, están asociadas con graves efectos laterales. Los corticosteroides tienen múltiples efectos sobre el sistema inmunitario y sobre diversos tejidos. Su uso se complica por la incidencia muy alta de efectos laterales musculoesqueléticos, metabólicos, neurológicos y del tejido conjuntivo, así como de la inmunosupresión que puede conducir a infecciones que ponen en peligro la vida. Por esta razón, habitualmente se evitan los corticosteroides hasta que fracasan otras formas de tratamiento. Véase en general, R. Million y col., “Long-Term Study of Management of Rheumatoid Arthritis”, *Lancet* 1:812 (1984).

Medicamentos citotóxicos y antimetabólicos, tales como metotrexato, azatioprina y ciclofosfamida, afectan de modo no específico a todas las células que se dividen rápidamente y por lo tanto se asocian con toxicidad gastrointestinal y a la médula ósea y con un aumento de la incidencia de malignidad. Además, se ha reseñado que el tratamiento de la AR con metotrexato induce daños en el hígado y enfermedad pulmonar que pueden ser fatales. Véase U.A. Engelbrecht y col., “Methotrexate Pneumonitis After Low-Dose Therapy for Rheumatoid Arthritis”, *Arthritis and Rheumatism* 26:1275 (1983) y G.W. Cannon y col., “Acute Lung Disease Associated With Low-Dose Pulse Methotrexate Therapy In Patients With Rheumatoid Arthritis”, *Arthritis and Rheumatism* 26:1269 (1983).

La mayoría de los medicamentos anti-inflamatorios no esteroides (NSAID) que se usan actualmente están diseñados para inhibir la síntesis de prostaglandina de modo no específico. Los NSAID actualmente en uso modifican o disminuyen la respuesta inflamatoria -pero no la detienen-. El ácido acetilsalicílico sigue siendo el NSAID que se usa más comúnmente. La toxicidad del ácido acetilsalicílico adopta muchas formas, que incluyen reacciones de hipersensibilidad, sordera, toxicidad gastrointestinal y renal. Véase en general Simon y Mills, “Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs”, *N. Eng. J. Med.* 302:1179 (1980).

También se han usado compuestos de oro y penicilamina en el tratamiento de AR. Ambos se asocian con alta incidencia de toxicidad renal, mucocutánea y de médula ósea. El tratamiento con oro, en particular, se asocia con nefropatía, W. Katz y col., “Proteinuria in Gold-Treated Rheumatoid Arthritis”, *Ann. Int. Med.* 101:176 (1984). La penicilamina, a la vez que es discutiblemente eficaz, es tóxica incluso a dosis relativamente bajas. Véase W.F. Kean y col., “The Toxicity Pattern Of D-Penicillamine Therapy”, *Arthritis and Rheumatism* 23:158 (1980). Estos problemas han conducido al abandono casi completo de estos medicamentos en la terapia de la AR.

Otras terapias establecidas son ciclosporina y anticuerpos anti-TNF. Sin embargo, la grave toxicidad renal y la inmunosupresión no específica limitan de modo significativo la utilidad de la ciclosporina. Debido a su actuación ubicua en muchas funciones celulares, la terapia anti-TNF puede que no sea una estrategia terapéutica segura para la AR. En algunos casos se ha detectado el desarrollo de enfermedad de tipo lupus. Sin embargo, los datos de eficacia clínica muestran resultados prometedores con la aproximación anti-TNF.

Así pues, las terapias actuales para la AR se asocian con incidencia alta de efectos laterales graves. Además, aunque algunas medicaciones pueden ofrecer alivio sintomático, en muchos casos, no modifican significativamente la progresión de la destrucción articular. Lo que se necesita es una aproximación terapéutica eficaz con toxicidad más baja de tal manera que el tratamiento se tolere mejor y sea más apropiado para el tratamiento de la AR.

La presente invención contempla una nueva clase de medicamento anti-AR, es decir, compuestos que producen reducción de los signos y síntomas clínicos de la enfermedad.

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad del sistema nervioso central que afecta al cerebro y a la médula espinal. Se estima que afecta a 2,5 millones de personas en el mundo y es la principal enfermedad neurológica adquirida en adultos jóvenes. Con la destrucción de la capa protectora de mielina, se interrumpen los impulsos nerviosos, lo que conduce a diversos síntomas neurológicos. Signos y síntomas comunes de EM incluyen fatiga, cambios psicológicos y cognitivos, debilidad y parálisis de las extremidades, obnubilación, problemas de visión, dificultades en el habla, espasticidad muscular, dificultad con el equilibrio al caminar o al estar en pie, disfunción del intestino y de la vejiga, y disfunción sexual. Aproximadamente la mitad de las personas con esta enfermedad tiene EM que recae-remite en la que hay ataques imprevisibles, en los cuales los síntomas clínicos empeoran (exacerbación), que están separados por períodos de remisión en los que se estabilizan o disminuyen los síntomas. La otra mitad tiene EM progresiva crónica sin períodos de remisión.

En la actualidad no hay curaciones para EM. Hay disponibles muchas medicaciones para aliviar los síntomas en la EM progresiva. Por ejemplo, se usan corticosteroides para reducir la inflamación en el tejido nervioso y acortar la duración de los recrudescimientos; relajantes musculares tales como tizanidina (Zanaflex) y baclofeno (Lioresal) son tratamientos orales para la espasticidad muscular; la medicación con antidepresivos de fluoxetina (Prozac), el medicamento antiviral amantadina (Symmetrel) o una medicación para la narcolepsia denominada modafinilo (Provigil) se usan para reducir la fatiga.

Hay disponibles unos pocos medicamentos más para la EM que no se refieren directamente a la gestión de los síntomas pero pueden actuar para alterar el curso de la enfermedad. Estos medicamentos incluyen interferones beta (Betaferon, Avonex, Rebif) y acetato de glatirámico (Copaxone). Estos medicamentos pueden tener impacto sobre la frecuencia e intensidad de las recaídas, y el número de lesiones como se observa en los escaneados de IRM. Parece que algunos medicamentos tienen efecto de frenar la progresión de la discapacidad. La patente de EE.UU. N° 4.617.319 describe un procedimiento para tratar la esclerosis múltiple usando 1,4-dihidroxi-5,8-bis[[2-hidroxietilamino)etil] amino]antraquinona, que también es conocida por el nombre genérico de mitoxantrona (Novantrone).

Ninguna de estas terapias existentes ha demostrado que sea satisfactoria a causa de su limitada eficacia y/o significativa toxicidad. Además, se requiere que muchas de estas terapias sean administradas frecuentemente y algunas son muy costosas. Así pues, existe claramente necesidad de procedimientos nuevos y eficaces para tratar la EM.

Los compuestos de la presente invención se pueden formular para administración oral, parenteral (por ejemplo intravenosa, intramuscular o subcutánea), dérmica, bucal, intranasal, sublingual o rectal o se pueden formular para administración mediante inhalación o insuflación. Además, los compuestos según la presente invención también se pueden formular para suministro retardado.

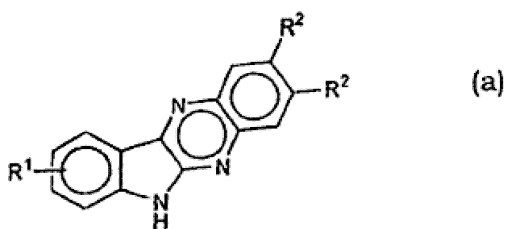
Técnica anterior

La técnica anterior más próxima es la de los compuestos que se describen en la patente europea EP 238459 y la correspondiente patente de EE.UU. 4990510 y los usos de dichos compuestos que se describen en EP 799038 y EP 1261344 y las correspondientes US 6248742, US 6465466 y US 6333327. De los compuestos que se describen en dichas patentes por ejemplo se ha demostrado que el compuesto 2,3-dimetil-6-(N,N-dimetilaminoetil)-6H-indolo-(2,3-b)quinoxalina (B220) es un compuesto prometedor para tratar la AR y la EM en los ensayos comunes, es decir el modelo de artritis inducida por colágeno (AIC) y el modelo EAE, respectivamente. Sin embargo, los compuestos según la presente invención tienen un efecto sorprendentemente mejor frente a la AR y la EM en comparación con B220.

Los nuevos compuestos según la invención se pueden preparar mediante los siguientes procedimientos generales:

Se alquilan los aniones de indolo[2,3-b]quinoxalinas de fórmula (a) generados mediante tratamiento con una base adecuada, tal como hidruro de sodio (NaH), t-butoxido de potasio o hidróxido de potasio en un sistema de dos fases

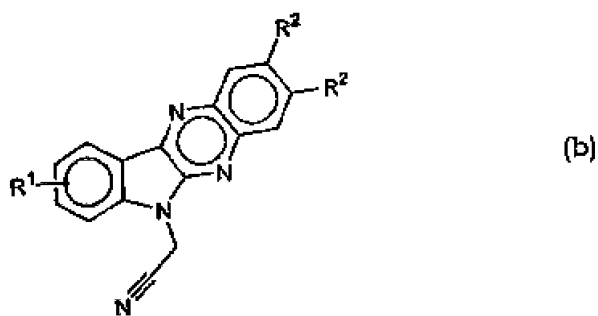
5



10

mediante alquilonitrilos α -halogenados o ésteres alquílicos α -halogenados, por ejemplo cloroacetoni-
 15 moacetato de metilo o etilo respectivamente, de modo que se obtienen respectivamente 6-cianometilindolo[2,3-*b*]
 quinoxalinas de fórmula (b)

20

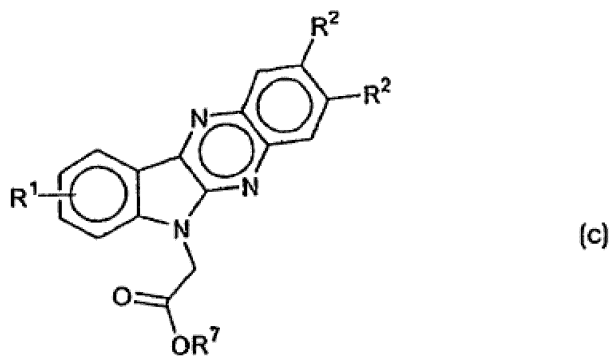


25

30

y ácido indolo[2,3-*b*]quinoxalina-6-il-acético (c; $R^7=H$) o sus sales (por ejemplo de Na) e indolo[2,3-*b*]quinoxalina-
 6-il-acetatos de alquilo de fórmula (c)

35



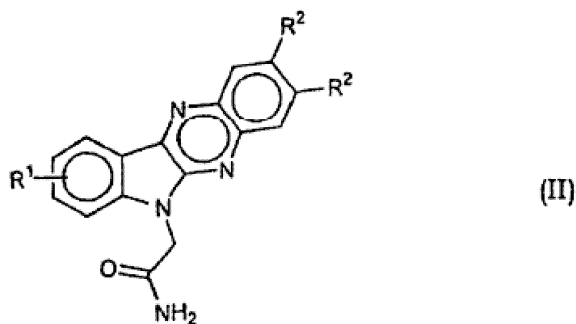
40

45

50

en la que R^7 es metilo o etilo. Las amidas primarias, indolo[2,3-*b*]quinoxalina-6-il-acetamidas de fórmula (II)

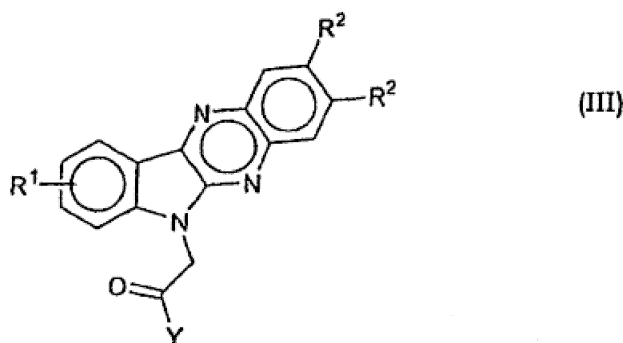
55



60

65

se forman a continuación mediante hidrólisis ácida de los compuestos de fórmula (b) en un ácido fuerte tal como ácido sulfúrico. Las amidas secundarias de fórmula (III)



20 se elaboran mediante condensación de los ésteres alquílicos de fórmula (c) con un exceso de la amina apropiada con o sin disolvente.

Ejemplos

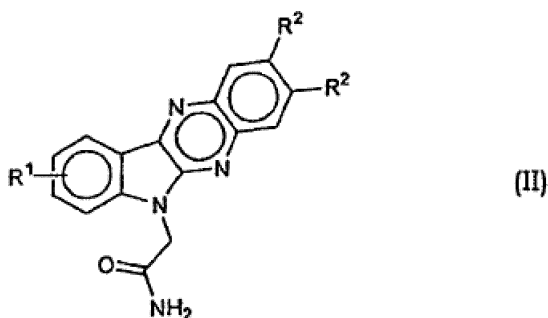
25 En los siguientes experimentos se llevaron a cabo mediciones por medio de los siguientes aparatos y condiciones.

30 Se registraron los espectros de RMN en disoluciones de DMSO- d_6 a temperatura ambiente y usando la señal de DMSO- d_6 (^1H : $\delta=2,50$ ppm; ^{13}C : $\delta=39,5$) como patrón interno, en un espectrómetro Bruker DPX 300 (300 MHz). Los valores δ se dan en ppm. Los puntos de fusión se tomaron en un aparato de punto de fusión Büchi B-545 y están sin corregir. Los disolventes fueron de calidad analítica y se usaron tal como se recibieron.

35 Se añade un derivado de indolo[2,3-*b*]quinoxalina de fórmula (a) (1 eq.) en porciones a una suspensión de NaH (1,1 eq.) en N,N-dimetilacetamida (DMA), N,N-dimetilformamida (DMF) o DMSO (5 ml/1 mmol de compuesto a) a 30°C en atmósfera inerte (Ar o N₂) y se agita durante 30 min. Se añade cloroacetnitrilo (1,1 eq.) en una porción. La mezcla de reacción resultante se agita durante 20 h a temperatura ambiente. Finalmente, se vertió la mezcla de reacción en agua, se filtró, se lavó con agua y se secó para dar un compuesto de fórmula (b).

40 Cuando R¹ es cloro en la fórmula (a), se obtiene el siguiente compuesto de fórmula (b), es decir el producto 9-cloro-2,3-dimetil-6-cianometil-6*H*-indolo[2,3-*b*]quinoxalina. Rendimiento: 98%; Pf: 286-388°C; RMN ^1H δ : 8,36 (d, 1H), 8,04 (s, 1H), 7,99-9,94 (m, 2H), 7,86 (dd, 1H), 5,75 (s, 2H), 2,53 (s, 6H).

Los nuevos compuestos según la presente invención que son amidas primarias de la fórmula (II)



60 se pueden preparar según el siguiente procedimiento:

65 Se disuelve un compuesto de fórmula b en H₂SO₄ (conc., 10 ml/1 g de b) y se vierte a continuación en hielo-agua y se agita durante 5 min. Se recoge el sólido así formado y se lava con agua. El sólido seco se trata con CH₂Cl₂ caliente, se filtra y se lava con más CH₂Cl₂ y se seca para dar un compuesto de fórmula (II).

ES 2 342 946 T3

De esta manera se prepararon los siguientes compuestos:

Compuesto A

5 2,3-dimetilindolo[2,3-*b*]quinoxalina-6-il-acetamida ($R^1=H$, $R^2=CH_3$, $X=CO$, $Y=NH_2$)

Rendimiento: 72%; RMN 1H δ : 8,38 (d, 1H), 8,16 (s, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,70 (m, 2H), 7,59 (d, 1H), 7,40 (t, 1H), 7,16 (s, 1H), 5,08 (s, 2H), 2,50 (s, 6H);

10 Compuesto B

9-cloro-2,3-dimetil-indolo[2,3-*b*]quinoxalina-6-il-acetamida ($R^1=Cl$, $R^2=CH_3$, $X=CO$, $Y=NH_2$)

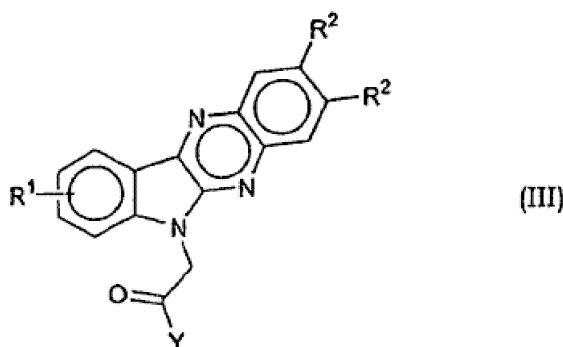
15 Rendimiento: 66%; RMN 1H δ : 8,29 (s, 1H), 7,99 (s, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,65-7,50 (m, 3H), 7,07 (bs, 1H), 5,06 (s, 2H), 2,48 (s, 6H);

Compuesto C

20 2,3-dimetil-9-fluor-indolo[2,3-*b*]quinoxalina-6-il-acetamida ($R^1=F$, $R^2=CH_3$, $X=CO$, $Y=NH_2$)

Rendimiento: 32%; Pf: 316-319°C; RMN 1H δ : 8,11 (dd, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,86 (s, 1H), 7,70 (s, 1H), 7,65-7,55 (m, 2H), 7,29 (s, 1H), 5,05 (s, 2H), 2,50 (s, 6H).

25 Las nuevas amidas secundarias de la fórmula (III) según la presente invención



se pueden preparar mediante el siguiente procedimiento:

45 Se añade un derivado de indolo[2,3-*b*]quinoxalina de fórmula a (1 eq.) en porciones a una suspensión de NaH (1,1 eq.) en DMA, DMF o DMSO (5 ml/1 mmol de a) a 30°C en atmósfera inerte (Ar o N₂) y se agita durante 30 min. Se añade bromoacetato de alquilo (1,1 eq.) en una porción. La mezcla de reacción resultante se agita durante 20 h a temperatura ambiente. A continuación se vierte la mezcla de reacción en agua, se filtra, se lava con agua y se seca para dar un compuesto de fórmula (c).

50 Cuando se usa bromoacetato de metilo como el bromoacetato de alquilo y R¹ es 9-fluor y R² es metilo se obtiene el siguiente producto de fórmula (c):

2,3-dimetil-9-fluor-indolo[2,3-*b*]quinoxalina-6-il-acetato de metilo

55 Rendimiento: 74%; Pf: 257-259°C; RMN 1H δ : 8,16 (dd, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,91 (s, 1H), 7,82 (dd, 1H), 7,62 (dt, 1H), 5,41 (s, 2H), 3,65 (s, 3H), 2,50 (s, 6H).

Las amidas secundarias de fórmula (III) se obtienen a continuación por medio del siguiente procedimiento:

60 Se añade un compuesto de fórmula c a la amina apropiada (10 ml/0,5 g de c) a reflujo y se somete finalmente a reflujo durante 4-15 min. Se deja enfriar la mezcla de reacción hasta la temperatura ambiente tras de lo cual se añade agua. El sólido formado se filtra y se lava con agua, se seca y se trata con etanol caliente y se filtra, y se lava otra vez con etanol y se seca para dar un producto de fórmula (III).

65

ES 2 342 946 T3

De esta manera se prepararon los siguientes compuestos:

Compuesto D

5 2,3-dimetil-6-(*N,N*-dimetilaminoetilamino-2-oxoetil)-6*H*-indolo[2,3-*b*]quinoxalina ($R^1=H$, $R^2=CH_3$, $X=CO$, $Y=NH-CH_2-CH_2-R^3$; $R^3=NR^5R^6$; $R^5=R^6=CH_3$)

Rendimiento: 63%; RMN 1H δ : 8,33 (d, 1H), 8,27 (t, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,70 (t, 1H), 7,58 (d, 1H), 7,39 (t, 1H), 5,09 (s, 2H), 3,17 (q, 2H), 2,49 (s, 6H), 2,32 (t, 2H), 2,14 (s, 6H);

Compuesto E

9-cloro-2,3-dimetil-6-(*N,N*-dimetilaminoetilamino-2-oxoetil)-6*H*-indolo[2,3-*b*]quinoxalina ($R^1=Cl$, $R^2=CH_3$, $X=CO$, $Y=NH-CH_2-CH_2-R^3$; $R^3=NR^5R^6$; $R^5=R^6=CH_3$)

Rendimiento: 58%; RMN 1H δ : 8,29 (d, 1H), 8,23 (t, 1H), 7,98 (s, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,71 (dd, 1H), 7,61 (d, 1H), 5,09 (s, 2H), 3,16 (q, 2H), 2,47 (s, 6H), 2,28 (t, 2H), 2,12 (s, 6H);

Compuesto F

9-cloro-2,3-dimetil-6-(aminoetilamino-2-oxoetil)-6*H*-indolo[2,3-*b*]quinoxalina ($R^1=Cl$, $R^2=CH_3$, $X=CO$, $Y=NH-CH_2-CH_2-NH_2$)

Rendimiento: 71%; RMN 1H δ : 8,32 (d, 1H), 8,27 (t, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,85 (s, 1H), 7,73 (dd, 1H), 7,66 (d, 1H), 5,11 (s, 1H), 3,17 (s, 2H), 3,07 (q, 2H), 2,57 (t, 2H), 2,49 (s, 6H);

Compuesto G

2,3-dimetil-6-(*N,N*-dimetilaminoetilamino-2-oxoetil)-9-fluor-6*H*-indolo[2,3-*b*]quinoxalina ($R^1=F$, $R^2=CH_3$, $X=CO$, $Y=NH-CH_2-CH_2-R^3$; $R^3=NR^5R^6$; $R^5=R^6=CH_3$)

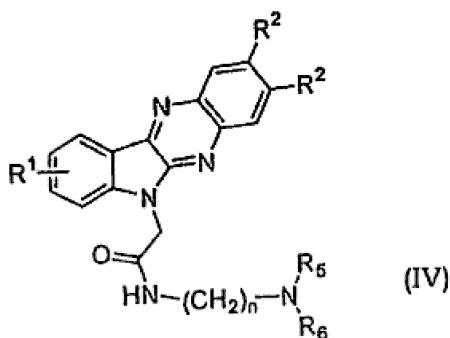
Rendimiento: 51%; Pf: 241-242°C; RMN 1H δ : 8,10-8,00 (m, 3H), 7,84 (s, 1H), 7,59-7,53 (m, 2H), 5,09 (s, 2H), 3,19 (q, 2H), 2,94 (s, 1H), 2,79 (s, 1H), 2,50 (s, 6H), 2,31 (t, 2H), 2,14 (s, 6H);

Compuesto H

2,3-dimetil-6-(aminoetilamino-2-oxoetil)-9-fluor-6*H*-indolo[2,3-*b*]quinoxalina ($R^1=F$, $R^2=CH_3$, $X=CO$, $Y=NH-CH_2-CH_2-NH_2$)

Rendimiento: 88%; Pf: 269-271°C; RMN 1H δ : 8,26 (t, 1H), 8,13 (dd, 1H), 8,04 (s, 1H), 7,88 (s, 1H), 7,68-7,56 (m, 2H), 5,12 (s, 2H), 3,07 (q, 2H), 2,57 (t, 2H), 2,50 (s, 6H).

Las nuevas amidas secundarias de fórmula (IV)



en las que R^1 , R^2 , R^3 , R^5 y R^6 y n son como se han definido en la fórmula (I) también se pueden preparar mediante el siguiente procedimiento alternativo general como se ilustra en el siguiente ejemplo:

Se añadió el correspondiente derivado de indolo[2,3-*b*]quinoxalina (fórmula a) (1 eq.) en porciones a una suspensión de NaH (3 eq.) en DMA o DMSO (5 ml/1 mmol de fórmula a) a 30°C en atmósfera inerte (Ar o N_2) y se agitó durante 30 min. Se añadió en una porción hidrocloreto de 2-cloro-*N*-(2-dimetilaminoetil)acetamida (1,5 eq.) (Este reactivo de alquilación se preparó según se describe por Sánchez *col.*, J. Heterocycl. Chem., 31: 297-304 (1994)). La mezcla de reacción resultante se agitó durante 20 h a 40°C. y a continuación se vertió en agua, se filtró, se lavó con

ES 2 342 946 T3

agua y se secó. Se acidificó el sólido mediante tratamiento con ácido clorhídrico y después se filtró. El filtrado se hizo básico mediante tratamiento con hidróxido de sodio y se aisló el sólido formado mediante filtración, se lavó con agua y se secó.

5 Compuesto J

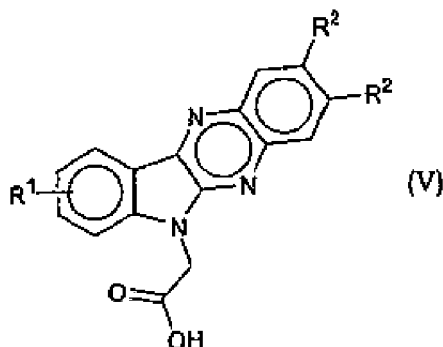
2,3-dimetil-6-(N,N-dimetilaminoetilamino-2-oxoetil)-9-fluor-6H-indolo[2,3-b]quinoxalina

Rendimiento: 89%; Pf: 242-243°C.

10

El nuevo ácido carboxílico de la fórmula (V)

15



30

en la que R¹ y R² son como se han definido en la fórmula (I) se puede preparar según el siguiente procedimiento:

Procedimiento general

35 Se añadió el apropiado derivado de indolo[2,3-b]quinoxalina de la fórmula (a) (1 eq.) en porciones a una suspensión de NaH (1,1 eq.) en DMA o DMSO (5 ml/1 mmol de a) a 30°C en atmósfera inerte (Ar o N₂) y se agitó durante 30 min, tras de lo cual se añadió cloroacetato de sodio (1,1 eq.) en una porción. La mezcla de reacción resultante se agitó durante 20 h a temperatura ambiente y finalmente se vertió en agua, se acidificó con HCl, se filtró, se lavó con agua, se secó y se recrystalizó (DMF).

40 Compuesto K

Ácido 2,3-dimetil-9-cloro-indolo[2,3-b]quinoxalina-6-il-acético

45 Rendimiento: 0,77 g (45%); RMN ¹H δ 13,29 (bs, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,83-7,75 (m, 2H), 5,26 (s, 2H), 2,50 (s, 6H); Pf: 331-332°C.

El nuevo ácido carboxílico de la fórmula (V) en la que R¹ y R² son como se han definido en la fórmula (I) también se puede preparar mediante el procedimiento alternativo general según ilustra el siguiente ejemplo:

50 Se agitó 2,3-dimetil-9-fluor-indolo[2,3-b]quinoxalina-6-il-acetato de metilo en etanol (30 ml) con NaOH aq. (5%, 30 ml) durante 24 h. La mezcla de reacción se acidificó con HCl (1M). Se filtró el sólido así formado, se lavó con agua y se secó.

55 Compuesto L

Ácido 2,3-dimetil-9-fluor-indolo[2,3-b]quinoxalina-6-il-acético

60 Rendimiento: 1,54 g (97%); RMN ¹H δ: 14-13 (bs, 1H), 8,06 (dd, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,75 (dd, 1H), 7,56 (m, 1H), 5,21 (s, 2H), 2,43 (s, 6H); Pf: 317-318°C.

Los compuestos según la presente invención se ensayaron según los siguientes modelos para la evaluación del efecto contra la artritis reumatoide y contra la esclerosis múltiple.

65 La artritis inducida por colágeno (AIC) en ratones se usa ampliamente como modelo experimental de la artritis reumatoide (AR) en seres humanos. La AIC está mediada por autoanticuerpos que se unen a una región particular de colágeno de tipo II, tal como CB11 (fragmento de colágeno de tipo II digerido con CNBr).

ES 2 342 946 T3

Se puede inducir AIC mediada por anticuerpo por medio de inyección de una combinación de 4 anticuerpos monoclonales diferentes (Arthrogen-CIA[®] mAb) generados por líneas celulares de B-hibridoma de ratón Arthrogen-CIA[®].

- 5 Tres de los mAb reconocen epítomos autoantigénicos agrupados dentro de un fragmento residual de 84 aminoácidos, LyC2 (el fragmento artritogénico más pequeño de colágeno de tipo II) de CB11 y el cuarto mAb reacciona con LyC1 (Fig. 1). Lo que es importante es que los 4 mAb reconocen los epítomos conservados que son compartidos por diversas especies de colágeno de tipo II y producen reacción cruzada con colágeno de tipo II homólogo y heterólogo.
- 10 Se usa un cóctel de 4 anticuerpos monoclonales. Estos mAb artritogénicos solos o en combinación con LPS bacteriano pueden inducir artritis grave en unos días en lugar de semanas (modelo clásico de AIC).

Se hace referencia a la Fig. 1.

15 1. Ventajas del modelo de artritis inducida por anticuerpo

- La artritis se desarrolla en los ratones dentro de las 24-48 hr después de la inyección iv. de mAb artritogénico solo o después de una inyección de LPS que sigue a una dosis subartritogénica de mAbs. En ambos casos, la artritis persiste durante al menos 2-3 semanas o más y conduce a anquilosis.
- La artritis se induce no solo en ratones DBA/1 y B10.RIII susceptibles a AIC, sino también en algunos ratones resistentes a AIC, tales como Balb/c.
- Este modelo es ideal para seleccionar agentes terapéuticos antiinflamatorios.

25 Este modelo es ideal para estudiar mediadores inflamatorios tales como citoquinas, quimioquinas y metaloproteinasas y otros factores tales como la función de la flora bacteriana y sus subproductos en el lanzamiento y exacerbación de la artritis.

30 *Comparación de AIC auténtica y artritis inducida por mAb-LPS*

(A) Se inyecta por vía intravenosa el día 0 un cóctel de 4 anticuerpos monoclonales para colágeno de tipo II (2 mg) a lo que sigue una inyección intraperitoneal de LPS (50 µg) el día 3. La artritis se va a desarrollar en el día 4 y va a alcanzar su cima en el día 7-8. El efecto terapéutico de los compuestos de ensayo se va a determinar en el día 7. La formación de osteoblasto y la degradación ósea va a ser más significativa en el día 14 y en el día 21 (no se muestra).

(B) Artritis inducida por colágeno auténtica.

Se hace referencia a la Fig. 2.

40 Medición de artritis. Se midió en mm el grosor de las patas traseras, izquierda y derecha de cada animal (9 animales en cada grupo) en los días de estudio 0 (línea de base), 7, 9 y 11 usando un Calibre Electrónico Digital de Mitutoyo. Se encontró que el grosor de las patas traseras en animales tras la administración de Compuesto H, Compuesto E y Dexametasona (control positivo) fue muy significativamente inferior que el correspondiente al vehículo de control (aceite de maíz). Dexametasona es una cortisona que suprime la inflamación y la respuesta inmunitaria normal, y se usa sistémicamente y localmente para tratar trastornos inflamatorios. Por razones de seguridad, se aplican a los pacientes breves tratamientos de cortisonas para mantener la inflamación bajo control en el lapso entre el comienzo de DMARD o combinación de DMARD y el momento de la respuesta probable.

	día 0	día 7	día 9	día 11
Aceite de maíz	2,2	3,3	3,3	3,2
55 B-220	2,2	3,1	3,0	2,8
Comp. C	2,2	3,1	3,0	2,8
Comp. H	2,2	2,5	2,5	2,5
60 Comp. E	2,2	2,3	2,3	2,3
Dexametasona	2,2	2,3	2,3	2,3

65 Se hace referencia a la Fig. 3.

Nota: Las curvas para compuesto E y Dexametasona (Dexa) y las curvas para B 220 y compuesto C, respectivamente se solapan entre sí.

ES 2 342 946 T3

Fig. 3. Valores medios de grupo (mm) de grosor de las patas traseras medidos durante el período completo de 11 días de observación en ratones con artritis inducida por mAB/LPS tras administración subcutánea repetida una vez al día (días 0-5) de análogos de B-220, Dexametasona (control positivo) o aceite de maíz (control negativo).

5 Estudios que usaron un modelo de ratón de EM, encefalomiелitis alérgica experimental (EAE) (Alvord, E.C., y col., Prog. Clin. Biol. Res. 146:1-8 (1984); Swanborg, R.H., Clin. Immunol. Immunopathol. 77:4-13 (1995); Martin, R. y McFarland, H.F., Crit. Rev. Clin. Lab. Sciences 32:121-182 (1995)), han sido útiles para caracterizar la respuesta inmunitaria en una enfermedad similar a EM. Se puede inducir EAE en varias razas de ratones mediante inyección subcutánea (s.c.) de proteínas de mielina tales como proteína básica de mielina (PBM) o proteínas proteolípídicas (PLP) en presencia de adyuvante de Freund. Estudios de transferencia adoptiva en el modelo de EAE demostraron que 10 las células T CD4+ de ratones inmunizados con PBM o PLP podían transferir la enfermedad a ratones intactos lo que sugiere que la EAE es una enfermedad mediada por células T.

Los resultados presentados se generan en el modelo de EAE como sigue: El modelo consiste en un período de 15 sensibilización, inducida por la inyección subcutánea (s.c.) única de PLP emulsionada en adyuvante entero de Freund (CFA) en el día 0 del estudio, a la que sigue inmunoestimulación intraperitoneal suplementaria con toxina de tosferina en el día 0 y 48 horas más tarde. Los artículos de ensayo se administraron diariamente en sesiones de dosificación repetidas una vez al día a lo largo de 10 días sucesivos de tratamiento (días 0-9). Sin embargo, se administró Copaxone 20 cada dos días desde el día 0 hasta el día 18, es decir 10 administraciones, cf. Fig. 5. Se examinaron todos los animales (10 en cada grupo) en cuanto a signos de cualquier respuesta neurológica y síntomas antes de la inducción de EAE (día 0) y a continuación diariamente a lo largo del período de observación de 21 días. Se calificaron y registraron las reacciones de EAE según una escala clásica 0-5 en orden ascendente de gravedad (grado 0, normal a grado 5 moribundo y/o muerto).

25 Se hace referencia a la Fig. 4.

Fig. 4. Calificación clínica de EAE media del grupo observada a lo largo del período de observación de 21 días.

30 Se hace referencia a la Fig. 5.

Fig. 5. Calificación clínica de EAE media del grupo observada a lo largo del período de observación de 21 días.

35

40

45

50

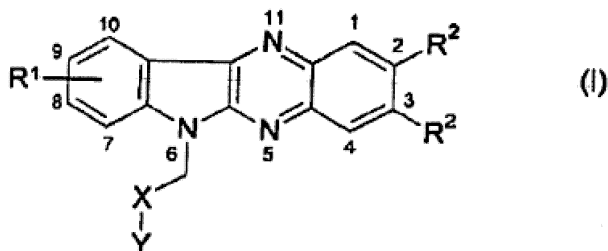
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



en el que

R¹ es hidrógeno o representa uno o más sustituyentes iguales o diferentes en las posiciones 7 a 10 que se seleccionan entre el grupo de halógeno, alquilo lineal o ramificado con 1 a 4 átomos de carbono, alcoxi lineal o ramificado con 1 a 4 átomos de carbono, hidroxilo, trifluorometilo, triclorometilo, trifluorometoxi.

R² representa sustituyentes alquilo C₁-C₄ iguales o diferentes,

X es CO,

Y es OH, NH₂, o NH-(CH₂)_n-R³ en la que R³ representa alquilo lineal o ramificado con 1 a 4 átomos de carbono, OH, NH₂, NHR⁴ o NR⁵R⁶ en la que R⁴, R⁵ y R⁶ son independientemente alquilo lineal o ramificado con 1 a 4 átomos de carbono o cicloalquilo C₅ a C₇ y n es un número entero de 2 a 4,

y sales del mismo farmacológicamente aceptables.

2. Un compuesto según la reivindicación 1 en el que Y es OH o NH₂ y R¹ es un átomo de halógeno.

3. Un compuesto según la reivindicación 1 o la 2 en el que R¹ es un átomo de cloro o flúor.

4. Un compuesto según la reivindicación 1 en el que Y es NH-CH₂-CH₂-R³ en la que R³ es NH₂, o N(CH₃)₂.

5. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-4 en el que R² es metilo en las posiciones 2 y 3.

6. Un compuesto según la reivindicación 1, que se selecciona entre

2,3-dimetilindolo[2,3-*b*]quinoxalina-6-il-acetamida;

9-cloro-2,3-dimetil-indolo[2,3-*b*]quinoxalina-6-il-acetamida;

2,3-dimetil-9-fluor-indolo[2,3-*b*]quinoxalina-6-il-acetamida;

2,3-dimetil-6-(*N,N*-dimetilaminoetilamino-2-oxoetil)-6*H*-indolo[2,3-*b*]quinoxalina;

9-cloro-2,3-dimetil-6-(*N,N*-dimetilaminoetilamino-2-oxoetil)-6*H*-indolo[2,3-*b*]quinoxalina;

9-cloro-2,3-dimetil-6-(aminoetilamino-2-oxoetil)-6*H*-indolo[2,3-*b*]quinoxalina;

2,3-dimetil-6-(*N,N*-dimetilaminoetilamino-2-oxoetil)-9-fluor-6*H*-indolo[2,3-*b*]quinoxalina;

2,3-dimetil-6-(aminoetilamino-2-oxoetil)-9-fluor-6*H*-indolo[2,3-*b*]quinoxalina;

ácido 2,3-dimetil-9-cloro-indolo[2,3-*b*]quinoxalina-6-il-acético; y

ácido 2,3-dimetil-9-fluor-indolo[2,3-*b*]quinoxalina-6-il-acético, o una

sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

ES 2 342 946 T3

7. El compuesto según la reivindicación 6, que es 9-cloro-2,3-dimetil-6-(*N,N*-dimetilaminoetilamino-2-oxoetil)-6*H*-indolo[2,3-*b*]quinoxalina o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

8. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-7 para uso como medicamento.

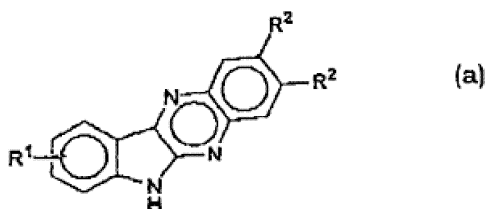
9. Una composición farmacéutica que contiene un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-7 junto con disolventes, vehículos y adyuvantes opcionales.

10. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-8 para uso en la prevención y/o tratamiento de enfermedades autoinmunitarias.

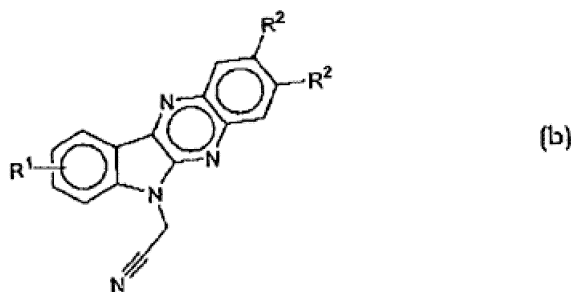
11. Un compuesto según la reivindicación 10 para uso en la prevención y/o tratamiento de artritis reumatoide.

12. Un compuesto según la reivindicación 10 para uso en la prevención y/o tratamiento de esclerosis múltiple.

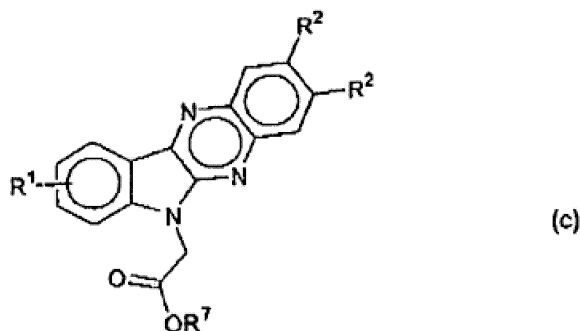
13. Un procedimiento para preparar compuestos de la fórmula general (I), en los que R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 , R^6 , X e Y se definen como en la reivindicación 1, en el que aniones de un compuesto de fórmula (a)



se alquilan mediante alquilnitrilos α -halogenados o ésteres de alquilo α -halogenados respectivamente, de modo que se obtienen, 6-ciamometilindolo[2,3-*b*]quinoxalinas de fórmula (b)



y ácido indolo[2,3-*b*]quinoxalina-6-il-acético (c; $R^7=H$) o sus sales (por ejemplo de Na) e indolo[2,3-*b*]quinoxalina-6-il-acetatos de alquilo de fórmula (c)



en los que R^7 es metilo o etilo, respectivamente,

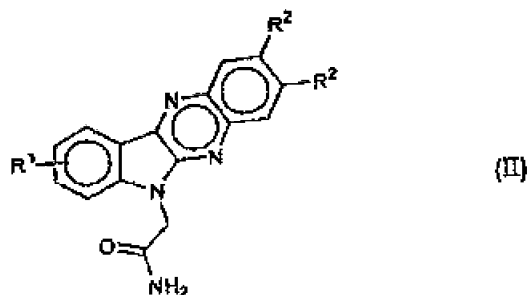
ES 2 342 946 T3

tras de lo cual, los compuestos de fórmula (b) dan las amidas primarias, es decir, indolo[2,3-*b*]quinoxalina-6-il-acetamidas de fórmula (II)

5

10

15

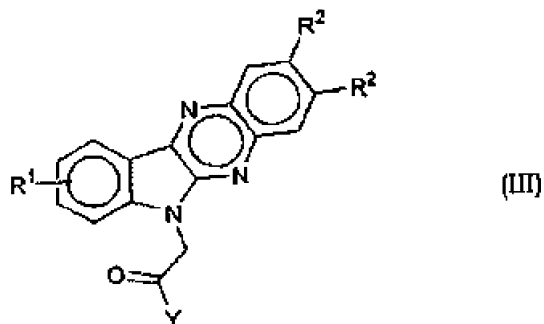


mediante hidrólisis ácida en un ácido fuerte, tal como ácido sulfúrico y los compuestos de fórmula (c) dan amidas secundarias de fórmula (III)

20

25

30



mediante condensación de los ésteres de alquilo de fórmula (c) con exceso de la amina apropiada con o sin disolvente.

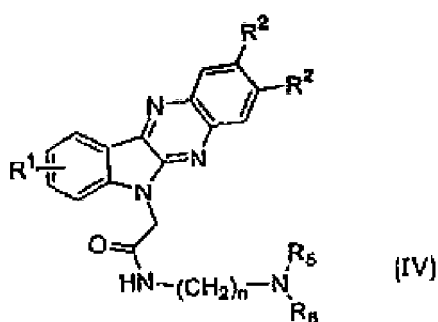
35

14. Un procedimiento para preparar compuestos de la fórmula general (IV)

40

45

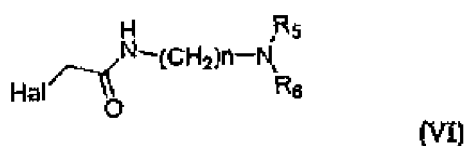
50



en los que R¹, R², R³, R⁵ y R⁶ y n son como se han definido en la reivindicación 1, en el que aniones de un compuesto de fórmula (a) se hacen reaccionar con un reactivo de alquilación de fórmula (VI)

55

60



65

en el que Hal es un átomo de halógeno

ES 2 342 946 T3

y el sólido así obtenido se acidifica, se filtra y el filtrado resultante se hace básico, lo que da el compuesto de fórmula (IV).

5 15. El uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-7 para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o tratamiento de enfermedades autoinmunitarias.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

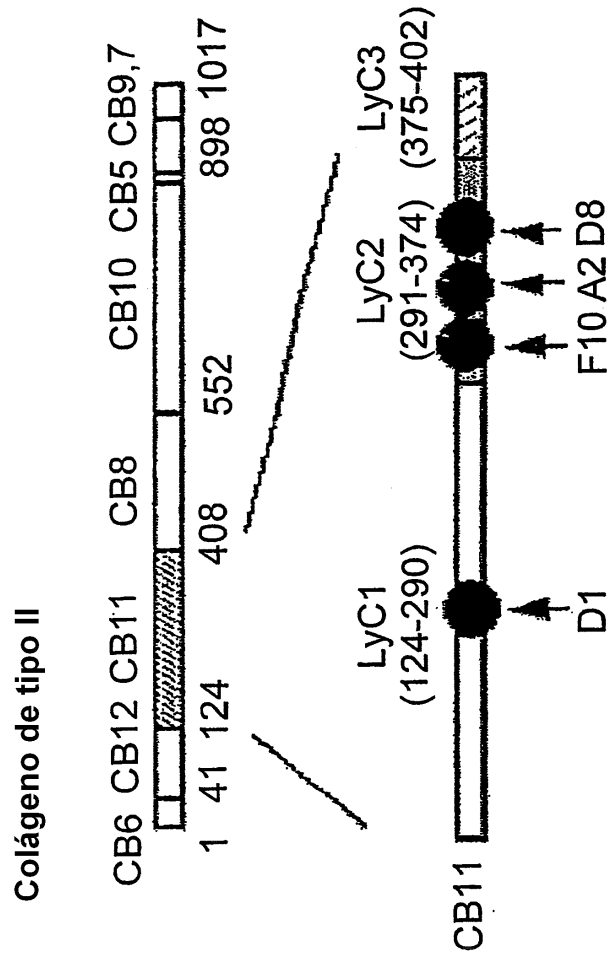


Fig. 1

Localización de epítomos artríticos en colágeno de tipo II reconocidos por mAb artríticos de ArthroGen-CIA®

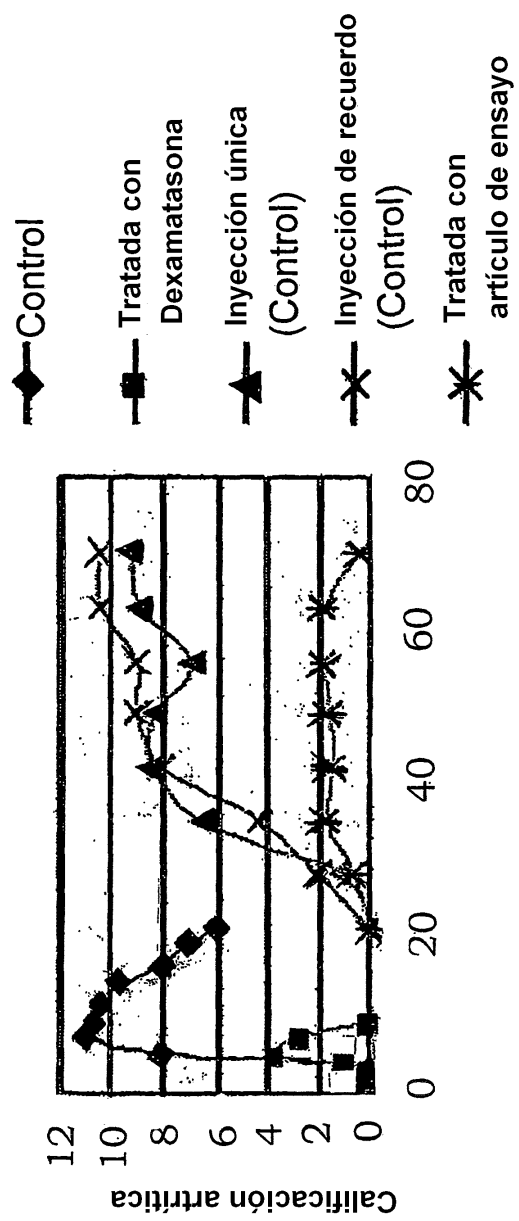


Fig 2.

(B) Artritis inducida por colágeno auténtica

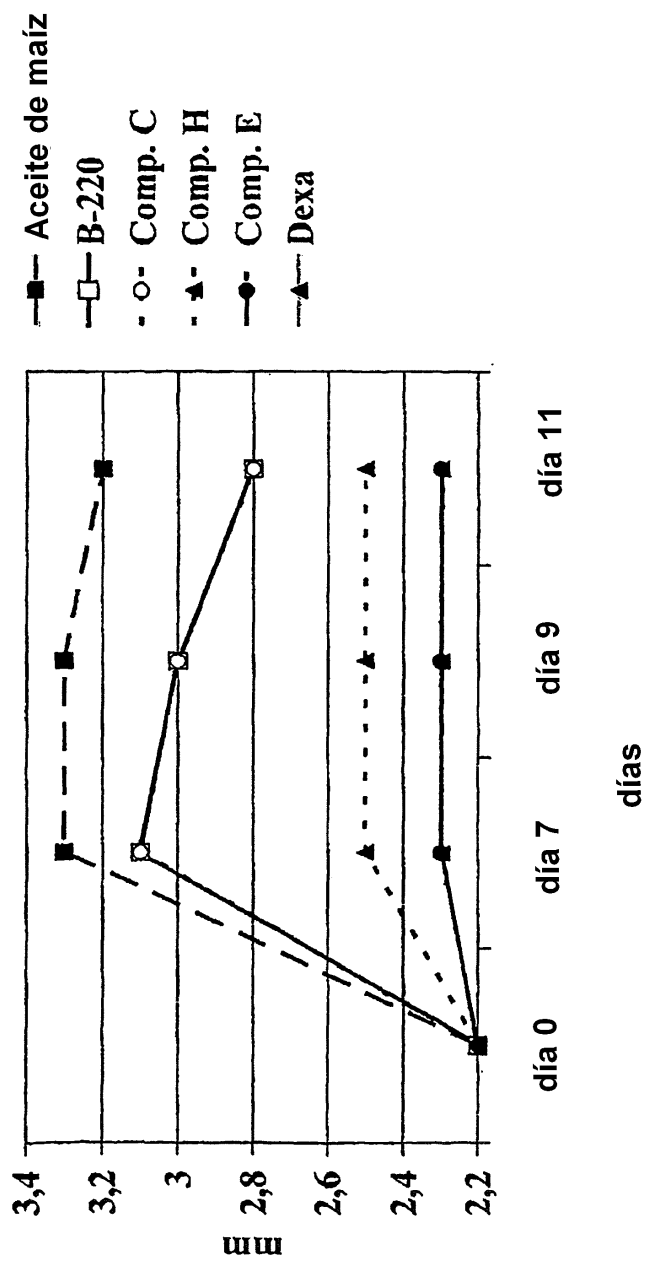


Fig. 3

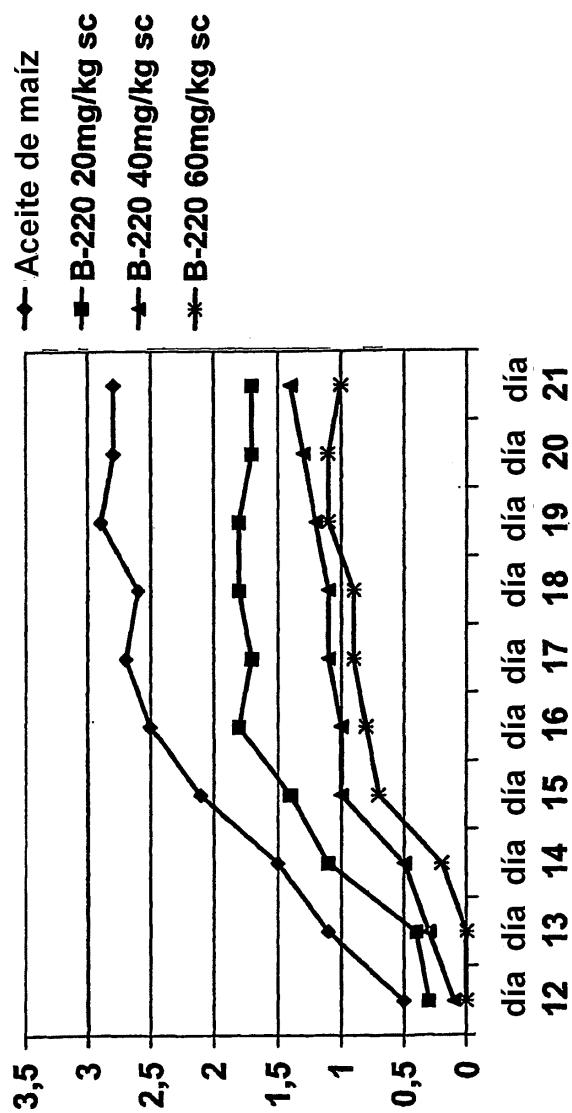


Fig. 4

Calificación clínica de EAE media de grupo a lo largo del período de observación de 21 días

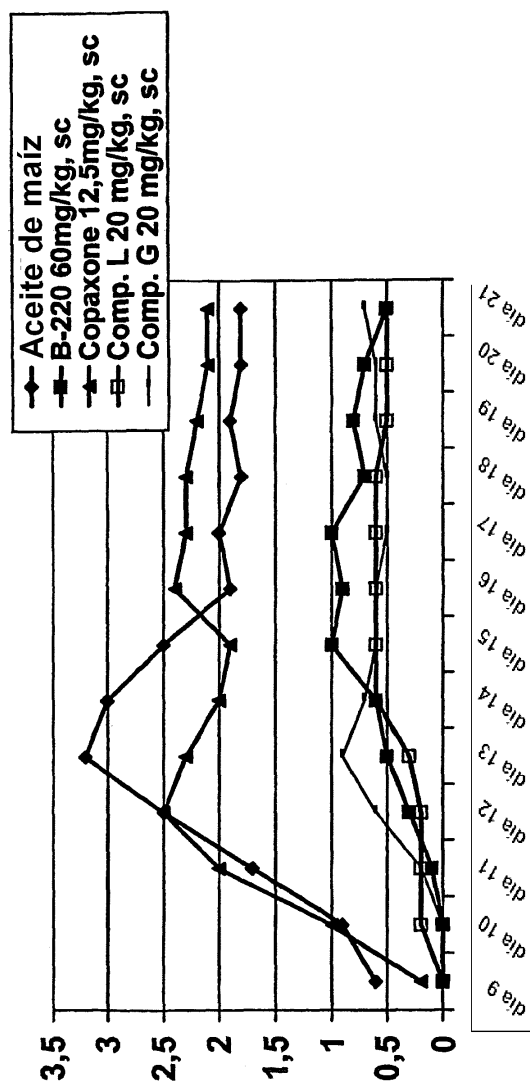


Fig. 5

Calificación clínica de EAE media de grupo observada a lo largo del período de observación de 21 días