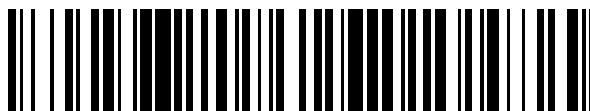


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 565 019**

51 Int. Cl.:

C07D 213/26 (2006.01)

C07D 213/57 (2006.01)

C07D 401/04 (2006.01)

C07D 407/04 (2006.01)

C07D 417/04 (2006.01)

A61K 31/506 (2006.01)

A61K 31/4439 (2006.01)

A61P 25/16 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.04.2007 E 07747756 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.01.2016 EP 2027091**

54 Título: **Nuevos compuestos farmacéuticos**

30 Prioridad:

10.04.2006 EP 06007534

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

30.03.2016

73 Titular/es:

**BIAL - PORTELA & CA., S.A. (100.0%)
Av. da Siderurgia Nacional
4745-457 S. Mamede do Coronado - Trofa, PT**

72 Inventor/es:

**LEARMONTH, DAVID, ALEXANDER;
KISS, LASZLO, ERNO;
LEAL PALMA, PEDRO, NUNO;
DOS SANTOS FERREIRA, HUMBERTO y
ARAÚJO SOARES DA SILVA, PATRÍCIO,
MANUEL, VIEIRA**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 565 019 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

Nuevos compuestos farmacéuticos

Esta invención se refiere a nuevos derivados de nitrocatecol sustituidos, su uso en el tratamiento de algunos trastornos del sistema nervioso central y periférico y composiciones farmacéuticas que los contienen.

5 A pesar de utilizarse en la práctica clínica desde hace varias décadas, la levodopa (L-DOPA) continúa siendo el fármaco de referencia para el tratamiento sintomático de la enfermedad de Parkinson. Esto ha contribuido a mantener elevado el interés en el desarrollo de inhibidores de la enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT), con base en la hipótesis de que la inhibición de esta enzima puede proporcionar mejoras clínicas en pacientes aquejados de la enfermedad de Parkinson que están en tratamiento con L-DOPA y un inhibidor periférico de la aminoácido-
10 descarboxilasa (AADC).

El razonamiento para el uso de inhibidores de COMT como auxiliares para la terapia con L-DOPA/AADC se basa en su capacidad para reducir la O-metilación metabólica de L-DOPA a 3-O-metil-L-DOPA (3-OMD). La duración de la mejoría clínica inducida por L-DOPA es breve como consecuencia de la corta semivida *in vivo* de L-DOPA, que contrasta con la larga semivida de 3-OMD. Además, la 3-OMD compite con L-DOPA para el transporte a través de la barrera hematoencefálica (BHE), lo que significa que sólo una cantidad muy limitada de una dosis de L-DOPA administrada por vía oral alcanza realmente el lugar de acción, es decir, el cerebro. Normalmente, en el plazo de sólo unos pocos años desde el inicio de la terapia con L-DOPA en el régimen posológico habitual, la mejoría clínica inducida por L-DOPA disminuye al final de cada ciclo de dosis, dando lugar al denominado patrón de fluctuaciones motoras por "disminución de eficacia" (en inglés, "wearing-off"). Se ha descrito una estrecha relación entre el fenómeno de disminución de eficacia y la acumulación de 3-OMD (Tohgi, H., *et al.*, *Neurosci. Letters*, 132:19-22, 1992). Se ha especulado que ello ser consecuencia de una deficiente penetración cerebral de la L-DOPA debida a la competencia con la 3-OMD por el sistema de transporte a través de la BHE (Reches, A., *et al.*, *Neurology*, 32:887-888, 1982) o, más sencillamente, por que hay menos L-DOPA disponible para llegar al cerebro (Nutt, J.G., Fellman, J.H., *Clin. Neuropharmacol.*, 7:35-49, 1984). En efecto, la inhibición de la COMT protege a la L-DOPA de la degradación metabólica en la periferia a través de O-metilación de modo que, con dosis repetidas de L-DOPA, se eleva la concentración plasmática media de L-DOPA. Además de disminuir la competencia por el transporte al cerebro, un porcentaje significativamente mayor de la dosis de L-DOPA administrada por vía oral es capaz de alcanzar el lugar de acción. Así, la inhibición de la COMT sirve para aumentar la biodisponibilidad de L-DOPA, y la duración de la acción antiparkinsoniana se prolonga con dosis únicas de L-DOPA (Nutt, J.G., *Lancet*, 351:1221-1222, 1998).
15
20
25
30

Los inhibidores de la COMT más potentes descritos hasta la fecha son la 3,4-dihidroxi-4'-metil-5-nitrobenzofenona (tolcapona, patente australiana AU-B-69764/87) y la (E)-2-ciano-N,N-dietil-3-(3,4-dihidroxi-5-nitrofenil)acrilamida (entacapona, patente alemana DE 3740383 A1), ambas con constantes de inhibición en el rango de pocos nanomoles. Aunque comparten esencialmente el mismo farmacóforo, la tolcapona difiere de la entacapona en que entra fácilmente en el sistema nervioso central (SNC) y es capaz de inhibir tanto la COMT cerebral como la COMT periférica. Se podría especular que la inhibición central puede ser menos importante si la acción más significativa de la inhibición de la COMT es evitar la degradación de L-DOPA en la periferia. De hecho, el uso de inhibidores de la COMT que no penetren en el cerebro a dosis clínicamente relevantes puede evitar efectos secundarios potencialmente indeseables de estos agentes sobre el SNC. Otros ejemplos de inhibidores de la COMT incluyen los descritos por Bernauer *et al.*, documento US-A-5 236 952, Baeckstrom Reijo *et al.*, documento US-A-4 963 590, Learmonth y Soares da Silva en el documento EP 1 164 342A1 y Learmonth y Kiss en el documento WO2007/013830 A.
35
40

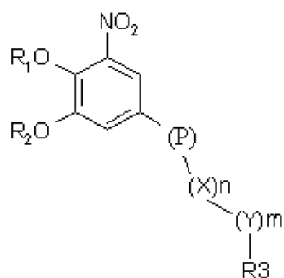
Otro grave problema que ha surgido desde que se introdujeron en la práctica clínica estos inhibidores de la COMT está relacionado con el potencial que tienen estos xenobióticos basados en nitrocatecol para causar grave daño hepático (hepatotoxicidad). De hecho, la tolcapona fue retirada del mercado poco después de su lanzamiento, tras haberse informado de varios casos de hepatotoxicidad, entre ellos tres desafortunadas muertes por hepatitis letal fulminante. Hoy en día sólo se puede utilizar tolcapona en pacientes de Parkinson que no respondan a otros tratamientos y estrictamente solo con vigilancia periódica de la función hepática, que resulta costosa e inconveniente para el paciente. Aunque las causas mecanicistas reales de la toxicidad hepática asociada con la tolcapona no se comprenden por completo, estudios *in vitro* han demostrado que la tolcapona puede ser reducida metabólicamente a intermedios reactivos, y se ha especulado que estos pueden formar aductos covalentes con proteínas hepáticas, dando lugar al daño hepatocelular (Smith, K.S., *et al.*, *Chem. Res. Toxicol.*, 16:123-128, 2003).
45
50

La entacapona, por otra parte, a pesar de compartir con la tolcapona el mismo farmacóforo nitrocatecolico, no está asociada con toxicidad hepática y generalmente se considera un fármaco seguro. Sin embargo, por desgracia la entacapona es un inhibidor de la COMT significativamente menos potente que la tolcapona y tiene una semivida *in vivo* mucho más corta. Esto significa que la entacapona tiene una duración de efecto muy limitada y, en consecuencia, se debe administrar el fármaco en dosis muy altas con cada dosis de L-DOPA tomada por el paciente. Se ha cuestionado la eficacia clínica de la entacapona en sí - de hecho, un estudio reciente (Parashos, S.A. *et al.*, *Clin. Neuropharmacol.*, 27(3):119-123, 2004) ha revelado que el principal motivo de interrupción del tratamiento con entacapona en pacientes con enfermedad de Parkinson es la falta de eficacia percibida.
55
60

Por consiguiente, existe todavía la necesidad de inhibidores de la COMT que presenten propiedades equilibradas de bioactividad, biodisponibilidad y seguridad, con una larga duración de acción.

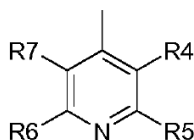
5 Los autores de la presente invención han encontrado ahora, sorprendentemente, que compuestos de la fórmula general I son inhibidores de COMT que están dotados de tales propiedades y presentan una duración de acción excepcionalmente larga.

La presente invención proporciona un compuesto de fórmula I:

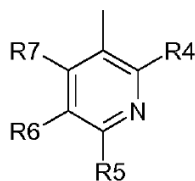


I

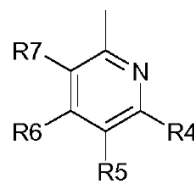
10 en donde R₁ y R₂ son hidrógeno; X representa un grupo metileno; Y representa un átomo de oxígeno o de azufre; n representa el número 0, 1, 2 o 3 y m representa el número 0 o 1; R₃ representa un grupo de piridina según la fórmula A, B o C, que está conectado como indica el enlace sin señalar:



A



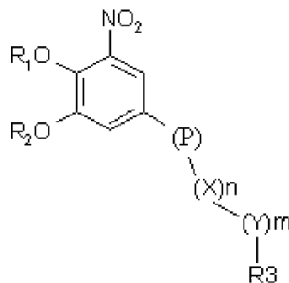
B



C

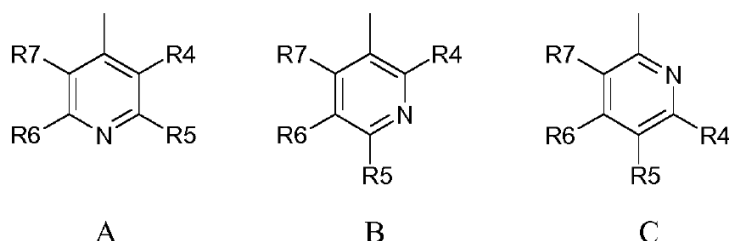
15 donde R₄, R₅, R₆ y R₇, de manera independiente entre sí, representan hidrógeno, alquilo C₁-C₆, tioalquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, ariloxi C₆-C₁₂ o un grupo tioarilo C₆-C₁₂, alcanilo C₁-C₆ o grupo aroilo C₇-C₁₃, amino, (alquil C₁-C₆)amino, di(alquil C₁-C₆)amino, (cicloalquil C₃-C₁₂)amino, (heterocicloalquil C₃-C₁₂)amino, (alquil C₁-C₆)sulfonilo, (aril C₆-C₁₂)sulfonilo, halógeno, haloalquilo C₁-C₆, trifluorometilo, ciano, nitro o un grupo heteroarilo; o bien dos o más de los restos R₄, R₅, R₆ y R₇ tomados juntos representan anillos alifáticos o heteroalifáticos o anillos aromáticos o heteroaromáticos y en donde P es 1,2,4-oxadiazol-3,5-diilo o una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula I.

También se describen compuestos de fórmula general G como se define a continuación:



(G)

20 en donde R₁ y R₂ son, de manera independiente entre sí, hidrógeno o un grupo que es hidrolizable en condiciones fisiológicas, alcanilo inferior o aroilo opcionalmente sustituidos; X representa un grupo metileno; Y representa un átomo de oxígeno, de nitrógeno o de azufre; n representa el número 0, 1, 2 o 3 y m representa el número 0 o 1; R₃ representa un grupo de piridina según la fórmula A, B o C, que está conectado como indica el enlace sin señalar:



donde R₄, R₅, R₆ y R₇, de manera independiente entre sí, representan hidrógeno, alquilo C₁-C₆, tioalquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, ariloxi C₆-C₁₂ o un grupo tioarilo C₆-C₁₂, alcanilo C₁-C₆ o grupo aroilo C₇-C₁₃, amino, (alquil C₁-C₆)amino, di(alquil C₁-C₆)amino, (cicloalquil C₃-C₁₂)amino, (heterocicloalquil C₃-C₁₂)amino, (alquil C₁-C₆)sulfonilo, (aril C₆-C₁₂)sulfonilo, halógeno, haloalquilo C₁-C₆, trifluorometilo, ciano, nitro o un grupo heteroarilo; o bien dos o más de los restos R₄, R₅, R₆ y R₇ tomados juntos representan anillos alifáticos o heteroalifáticos o anillos aromáticos o heteroaromáticos y en donde P representa una unidad central, que es preferiblemente una unidad plana y que incluso más preferiblemente se selecciona de los regioisómeros de 1,3,4-oxadiazol-2,5-diilo, 1,2,4-oxadiazol-3,5-diilo, 4-metil-4H-1,2,4-triazol-3,5-diilo, 1,3,5-triazin-2,4-diilo, 1,2,4-triazin-3,5-diilo, 2H-tetrazol-2,5-diilo, 1,2,3-tiadiazol-4,5-diilo, 1-alquil-3-(alcoxicarbonil)-1H-pirrol-2,5-diilo, en donde alquilo está representado por metilo, etilo, n-propilo y n-butilo y en donde alcoxi está representado por metoxi, etoxi, n-propoxi e isopropoxi, 1-alquil-1H-pirrol-2,5-diilo, en donde alquilo está representado por metilo, etilo, n-propilo y n-butilo, tiazol-2,4-diilo, 1-H-pirazol-1,5-diilo, pirimidin-2,4-diilo, oxazol-2,4-diilo, carbonilo, 1H-imidazol-1,5-diilo, isoxazol-3,5-diilo, furano-2,4-diilo, 3-alcoxicarbonilfurano-2,4-diilo, en donde alcoxi está representado por metoxi, etoxi, n-propoxi e isopropoxi, benceno-1,3-diilo y (Z)-1-cianoeten-1,2-diilo.

En la definición precedente, los regioisómeros de la unidad central incluyen regioisómeros realizables por intercambio tanto del resto nitrocatecólico como del resto -(X)_n-(Y)_m-R₃.

Preferiblemente, los restos alquilo C₁-C₆ representan metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo o hexilo. Preferiblemente, los restos tioalquilo C₁-C₆ representan tiometilo, tioetilo, tio-n-propilo, tio-isopropilo, tio-n-butilo, tio-n-pentilo y tio-n-hexilo. Preferiblemente, los restos alcoxi C₁-C₆ representan metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, sec-butoxi y terc-butoxi. Preferiblemente, los restos ariloxi C₆-C₁₂ representan fenoxi o naftoxi que pueden estar opcionalmente sustituidos. Preferiblemente, los restos tioarilo C₆-C₁₂ representan tiofenilo y tionaftilo que pueden estar opcionalmente sustituidos. Preferiblemente, los restos alcanilo C₁-C₆ representan metanoilo, etanoilo, propanoilo o butanoilo. Preferiblemente, los restos aroilo C₇-C₁₃ representan benzoilo y naftoilo. Preferiblemente, los restos (alquil C₁-C₆)amino representan metilamino, etilamino, n-propilamino, isopropilamino y n-butilamino. Preferiblemente, los restos di(alquil C₁-C₆)amino representan dimetilamino, dietilamino, di-n-propilamino, di-n-butilamino, di-isopropilamino, metiletilamino, metilpropilamino y etilpropilamino. Preferiblemente, los restos (cicloalquil C₃-C₁₂)amino representan pirrolidino, piperidino, ciclohexilamino y dicitclohexilamino. Preferiblemente, los restos (heterocicloalquil C₃-C₁₂)amino representan morfolino, 2,6-dimetilmorfolino, 3,5-dimetilmorfolino, piperazino, N-metilpiperazino y N-etilpiperazino. Preferiblemente, los restos (alquil C₁-C₆)sulfonilo o (aril C₆-C₁₂)sulfonilo representan metilsulfonilo, etilsulfonilo, fenilsulfonilo y toilsulfonilo. Preferiblemente, los restos de halógeno representan cloro, bromo, yodo y fluoro. Preferiblemente, haloalquilo C₁-C₆ representa clorometilo, fluorometilo, diclorometilo, difluorometilo, triclormetilo y trifluorometilo. Preferiblemente, los restos heteroarilo representan piridilo, pirimidilo, isoxazolilo, oxazolilo, isoxadiazolilo, oxadiazolilo, triazolilo y tetrazolilo. En los casos en que dos o más de los restos R₄, R₅, R₆ y R₇ tomados juntos representan anillos alifáticos o heteroalifáticos o anillos aromáticos o heteroaromáticos, son restos combinados preferidos indoliznilo, isoindolilo, indolilo, indazolilo, purinilo, quinoliznilo, naftiridinilo, isoquinolilo y quinolilo.

Los autores de la presente invención han encontrado, sorprendentemente, que los compuestos de fórmula general I incrementan notablemente la biodisponibilidad de L-DOPA, aumentan el aporte de L-DOPA al cerebro y elevan significativamente aumentan los niveles de dopamina en el cerebro durante períodos prolongados. Los compuestos de fórmula general I no sólo inhiben la COMT, evitando así la degradación de la L-DOPA, sino que también tienen el efecto adicional de aumentar la biodisponibilidad de la L-DOPA. Estos efectos sobre los niveles de L-DOPA tras la administración de compuestos de fórmula general I son notablemente mayores que los observados con tolcapona, el único inhibidor de la COMT del que hasta ahora se sabe que está dotado de una duración de acción razonablemente larga.

Además, incluso después de tiempos prolongados desde el comienzo (por ejemplo, 24 horas después de la administración), los compuestos de fórmula general I producen incrementos en el aporte de L-DOPA al cerebro similares a los observados en puntos temporales anteriores (por ejemplo, 2 y 7 horas), lo que contrasta con lo observado en el caso de tolcapona. Esto da lugar a un aporte más constante de L-DOPA al cerebro después de la administración de compuestos de fórmula general I, mientras que la tolcapona es propensa a producir pronunciadas oscilaciones en el aporte de L-DOPA al cerebro, lo que provoca efectos secundarios indeseables en pacientes de Parkinson.

Por tanto, los compuestos de fórmula general I pueden estar dotados de ventajas terapéuticas debido a la elevación sostenida y constante de los niveles de L-DOPA, mientras que el uso de tolcapona induce discinesias en pacientes debido a oscilaciones bruscas en los niveles de L-DOPA.

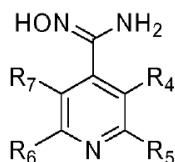
- 5 La biodisponibilidad, bioactividad, perfil de seguridad y otras propiedades relacionadas conocidas en la técnica (por ejemplo, la permeabilidad a través de la barrera hematoencefálica) pueden optimizarse de forma rutinaria por el experto sobre la base de las enseñanzas de la presente solicitud, haciendo variar los sustituyentes R₁-R₇ de la fórmula general I con el fin de obtener una mezcla equilibrada deseable de propiedades.

Los compuestos preferidos de la fórmula general anterior (I) que tienen un 1,2,4-oxadiazol-3,5-diilo como unidad central incluyen 3-nitro-5-(3-(4-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)benceno-1,2-diol, 5-(3-(2-cloro-4,6-dimetilpiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(3-(2-metil-6-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 3-nitro-5-(3-(6-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)benceno-1,2-diol, 5-(3-(6-metil-4-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(3-(2,6-dimetil-4-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(3-(3,5-dicloropiridin-4-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(3-(6-metil-2-fenil-4-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(3-(2-bromo-4,5,6-trimetilpiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(3-(2-cloro-4,5,6-trimetilpiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 3-nitro-5-(3-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)benceno-1,2-diol, 5-(3-(2,5-dicloro-4,6-dimetilpiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 3-nitro-5-(3-(5-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)benceno-1,2-diol, 5-(3-(2-fluoropiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(3-(2-fluoropiridin-4-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(3-(6-fluoropiridin-2-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(3-(2-cloro-6-metilpiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(3-(2-bromo-6-metilpiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(3-(2-bromo-5-cloro-4,6-dimetilpiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 3-nitro-5-(5-(4-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)benceno-1,2-diol, 5-(5-(2-cloro-4,6-dimetilpiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(5-(2-metil-6-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 3-nitro-5-(5-(6-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)benceno-1,2-diol, 5-(5-(6-metil-4-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(5-(2,6-dimetil-4-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(5-(3,5-dicloropiridin-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(5-(6-metil-2-fenil-4-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(5-(2-bromo-4,5,6-trimetilpiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(5-(2-cloro-4,5,6-trimetilpiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 3-nitro-5-(5-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)benceno-1,2-diol, 5-(5-(2,5-dicloro-4,6-dimetilpiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 3-nitro-5-(5-(5-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)benceno-1,2-diol, 5-(5-(2-fluoropiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(5-(2-fluoropiridin-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(5-(6-fluoropiridin-2-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(5-(2-cloro-6-metilpiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(5-(2-bromo-6-metilpiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol, 5-(5-(2-bromo-5-cloro-4,6-dimetilpiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol.

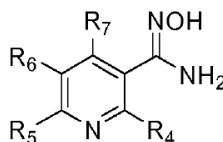
En la presente memoria, las expresiones "compuesto de la invención" o "compuestos de la invención" incluyen un compuesto de fórmula general I como se ha definido más arriba, e incluyen cualquiera de los compuestos preferidos enumerados en lo que antecede.

- 40 El ejemplo más preferido de un compuesto según la fórmula general I es 5-[3-(2,5-dicloro-4,6-dimetilpiridin-3-il)-[1,2,4]oxadiazol-5-il]-3-nitrobenceno-1,2-diol, denominado en lo sucesivo compuesto A.

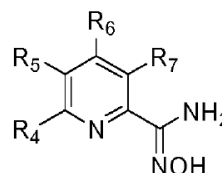
En una realización preferida, los compuestos de la fórmula general I en donde la unidad central se compone de un resto de 1,2,4-oxadiazol-3,5-diilo se pueden preparar mediante un procedimiento en donde un compuesto de la fórmula general IIA, IIB o IIC,



IIA

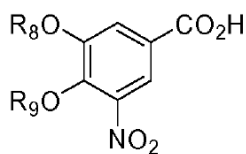


IIB



IIC

- 45 en donde R₄, R₅, R₆ y R₇ se definen como en la fórmula general I, se somete a una reacción de ciclación que comprende condensación y deshidratación con un compuesto de la fórmula general III,



(III),

en donde R₈ y R₉, de manera independiente entre sí, representan hidrógeno o grupos protectores adecuados para grupos hidroxilo aromáticos, en condiciones adecuadas para producir derivados de oxadiazol, seguida de eliminación de los grupos protectores de hidroxilo, para proporcionar los compuestos de fórmula general I.

5 Los grupos protectores adecuados para grupos hidroxilo aromáticos son bien conocidos en la técnica. Los ejemplos de grupos protectores adecuados para grupos hidroxilo aromáticos incluyen metilo, etilo, isopropilo, bencilo, 4-metoxibencilo, metoximetilo, benciloximetilo, metoxietoximetilo, tetrahidropiraniolo, fenacilo, alilo, trimetilsililo, terc-butildimetilsililo, benciloxicarbonilo, terc-butoxicarbonilo, derivados de éster, sulfonato, carbamato, fosfinato, acetal y cetal.

10 En una realización preferida, uno de los grupos R₈ y R₉ es hidrógeno y el otro es metilo. En una realización particularmente preferida, R₈ representa metilo y R₉ representa hidrógeno.

En una alternativa, los grupos protectores R₈ y R₉ se reemplazan por hidrógeno o un grupo que es hidrolizable en condiciones fisiológicas. Los grupos protectores R₈ y R₉ se pueden eliminar de manera independiente entre sí en etapas de reacción separadas, o bien se pueden eliminar en la misma etapa de reacción. Del mismo modo, la inserción de un grupo que es hidrolizable en condiciones fisiológicas puede tener lugar ya sea en la misma etapa de reacción o en una subsiguiente.

En la presente invención, las condiciones adecuadas para producir derivados de oxadiazol comprenden condiciones que proporcionan el derivado de oxadiazol con alto rendimiento y pureza. Preferiblemente, el rendimiento del derivado de oxadiazol deseado es al menos 70%, más preferiblemente de 75 a 99%, incluso más preferiblemente de 80 a 97% y lo más preferiblemente de 85 a 95%. Preferiblemente, la pureza del derivado de oxadiazol deseado es al menos 90%, más preferiblemente al menos 95%, incluso más preferiblemente al menos 99% y lo más preferiblemente al menos 99,5%. Siguiendo las enseñanzas de la presente invención, el experto puede determinar rutinariamente las condiciones de reacción más adecuadas con el fin de optimizar el rendimiento y la pureza del oxadiazol. Los parámetros a tener en cuenta por la persona experta incluyen, pero sin limitación, los reactivos que realizan la condensación y los agentes deshidratantes, la elección de grupos protectores R₈ y R₉, el sistema disolvente, la temperatura de reacción y el tiempo de reacción y la solubilidad de los reactivos.

El compuesto de fórmula general III requiere activación antes de su condensación con un compuesto de fórmula IIA-IIC. Los reactivos adecuados para la activación del compuesto de fórmula III incluyen 1,1-carbonildiimidazol, cloruro de tionilo, cloruro de sulfonilo, N,N'-diciclohexilcarbodiimida, 1-hidroxibenzotriazol y N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida, fosgeno, PCl₃, POCl₃, PCl₅, anhídridos, triclorotriazina y clorodimetoxitriazina, y similares. Son particularmente preferibles 1,1-carbonildiimidazol y cloruro de tionilo. En algunos casos, se pueden emplear los mismos reactivos para realizar la etapa de ciclación, que consiste en la condensación y deshidratación. Los reactivos alternativos para realizar la condensación y/o deshidratación incluyen piridina y fluoruro de tetrabutilamonio.

Preferiblemente, la deshidratación se puede realizar por calentamiento térmico de la mezcla de reacción en conjunción con los reactivos antes mencionados.

El compuesto de fórmula general III se puede activar con un exceso de un reactivo tal como cloruro de tionilo en un disolvente adecuado o sin necesidad de un disolvente adicional. Si se prefiere, se puede eliminar después el exceso de reactivo, por ejemplo por destilación, y reemplazarlo por un disolvente y otro reactivo tal como piridina para realizar las etapas de condensación y deshidratación. Los sistemas disolventes preferidos para la activación del compuesto de fórmula general III y la ciclación con compuestos de fórmulas generales IIA-IIC son disolventes apróticos dipolares, entre ellos dimetilformamida, dimetilsulfóxido, dimetilacetamida y N-metilpirrolidinona. Son particularmente preferibles dimetilsulfóxido y dimetilacetamida.

Las temperaturas de reacción y tiempos de reacción adecuados dependen de la reactividad de los reactivos utilizados para realizar la condensación y deshidratación. Preferiblemente, la temperatura de reacción se sitúa en el intervalo de 0°C hasta el punto de ebullición del sistema disolvente utilizado, más preferiblemente en el intervalo de 20 a 150°C y lo más preferiblemente en el intervalo de 25 a 120°C. Preferiblemente, el tiempo de reacción se sitúa en el intervalo de 30 minutos a 24 horas, más preferiblemente en el intervalo de 1 hora a 18 horas y lo más preferiblemente de 2 a 6 horas.

En una realización preferida alternativa, la reacción de condensación y deshidratación se lleva a cabo en presencia

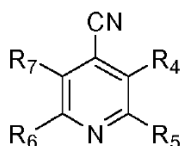
de una base orgánica o inorgánica. Las bases preferidas adecuadas incluyen trietilamina, tributilamina, 2,6-lutidina, N-metilmorfolina, piridina, imidazol, N-metilimidazol y 4-dimetilaminopiridina. Las bases particularmente preferidas incluyen piridina, N-metilimidazol y 4-dimetilaminopiridina.

5 En una realización preferida de la presente invención, la condensación y deshidratación se llevan a cabo en dos etapas de reacción separadas. En esta realización particular, para optimizar el rendimiento y la pureza del producto obtenido se pueden utilizar diferentes agentes de condensación y deshidratación y sistemas disolventes.

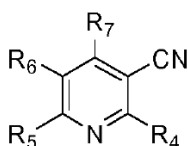
10 En una realización preferida alternativa de la presente invención, la condensación y deshidratación se llevan a cabo secuencialmente en el mismo recipiente sin aislamiento de compuestos intermedios. En esta realización particular, los reactivos que realizan la condensación y deshidratación pueden ser iguales o diferentes, pero preferiblemente son idénticos.

15 La cantidad de reactivos que realizan la condensación y deshidratación no es crítica. Las cantidades típicas de reactivos que realizan la condensación y deshidratación incluyen al menos una cantidad de 1 mol, preferiblemente de 2,1 moles a 5 moles, más preferiblemente de 2,2 moles a 4 moles y lo más preferiblemente de 2,3 moles a 3 moles, por mol de derivado de piridina. En los casos en los que los reactivos que realizan la condensación y deshidratación también sirven como disolventes o codisolventes, la cantidad en exceso puede ser mucho mayor.

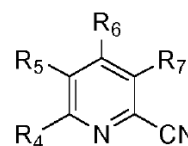
Los compuestos de fórmula IIA, IIB y IIC se preparan haciendo reaccionar compuestos de la fórmula general IVA, IVB o IVC,



IVA



IVB



IVC

con hidroxilamina en presencia de un agente quelante, en condiciones de reacción adecuadas.

20 Las condiciones de reacción adecuadas de la reacción anterior comprenden condiciones que proporcionan el derivado de amidoxima con alto rendimiento y pureza. Preferiblemente, el rendimiento del derivado de amidoxima deseado es al menos 70%, más preferiblemente de 72 a 95%, incluso más preferiblemente de 75 a 90% y lo más preferiblemente de 78 a 85%. Preferiblemente, la pureza del derivado de amidoxima deseado es al menos 90%, más preferiblemente al menos 95%, incluso más preferiblemente al menos 96% y lo más preferiblemente al menos 97%.

25 Siguiendo las enseñanzas de la presente invención, el experto puede determinar rutinariamente las condiciones de reacción más adecuadas con el fin de optimizar el rendimiento y la pureza de la amidoxima. Los parámetros a tener en cuenta por el experto incluyen, pero sin limitación, la cantidad de hidroxilamina, la elección del catalizador, la naturaleza de los sustituyentes R₄-R₇, el sistema disolvente, el tiempo de reacción y la temperatura de reacción, y la solubilidad de los reactivos.

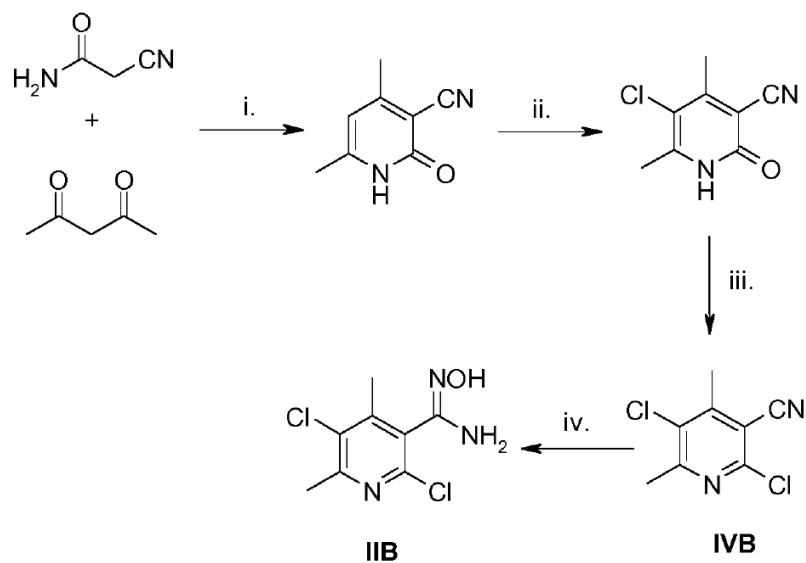
30 La cantidad preferida de hidroxilamina se sitúa en el intervalo de cantidades equimolares a un exceso de 50 veces respecto al derivado de piridina. Preferiblemente, la cantidad de hidroxilamina se sitúa en el intervalo de un exceso de 1,2 veces a 20 veces, más preferiblemente un exceso de 1,5 veces a 10 veces y lo más preferiblemente un exceso de 3 veces a 5 veces.

35 Los agentes quelantes preferidos incluyen 8-hidroxiquinolina, orto-fenantrolina y sus hidratos y derivados. La cantidad preferida de agente quelante se sitúa en el intervalo de 0,1-10% en moles, más preferiblemente 0,5-5% en moles, más preferiblemente 0,75-3% en moles y lo más preferiblemente 1-1,5% en moles.

El sistema disolvente no está particularmente limitado e incluye agua, alcoholes tales como metanol, etanol o isopropanol, éteres tales como THF o 1,4-dioxano, y disolventes apróticos dipolares tales como dimetilsulfóxido y similares, o mezclas de estos disolventes.

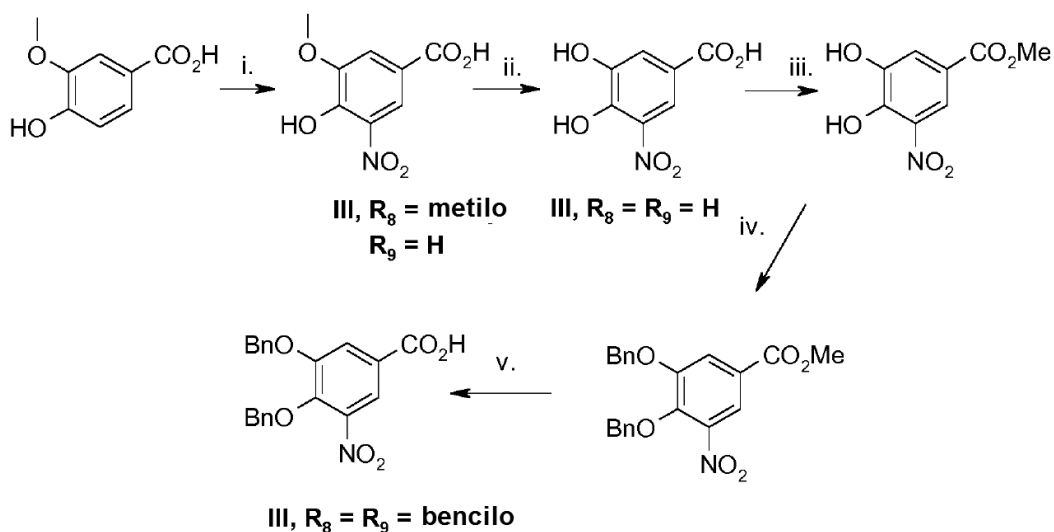
40 Preferiblemente, la temperatura de reacción se sitúa en el intervalo de 0°C hasta el punto de ebullición del sistema disolvente utilizado, más preferiblemente en el intervalo de 20 a 100°C y lo más preferiblemente en el intervalo de 40 a 80°C. Preferiblemente, el tiempo de reacción se sitúa en el intervalo de 30 minutos a 24 horas, más preferiblemente en el intervalo de 1 hora a 18 horas y lo más preferiblemente de 2 a 8 horas.

45 El siguiente Esquema 1 de reacción ilustra un ejemplo de cómo producir un compuesto de la fórmula general IIB a partir de un compuesto de la fórmula general IVB:



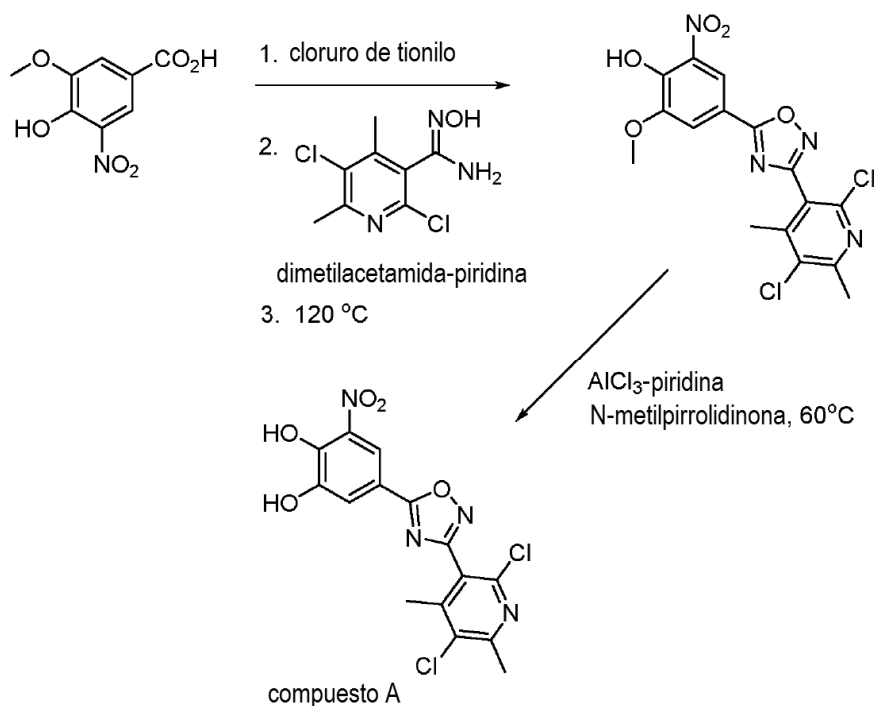
Esquema 1: Reactivos: i. Piperidina, etanol, reflujo; ii. SO_2Cl_2 , CCl_4 , reflujo; iii. POCl_3 , 120°C , 18 h; iv. H_2NOH al 50%, $\text{MeOH-H}_2\text{O}$, 1,25% en moles de hidrato de 1,10-fenantrolina.

5 El siguiente Esquema 2 de reacción ilustra un ejemplo de cómo producir ciertos compuestos de fórmula general III:



Esquema 2: Reactivos: i. HNO_3 al 65%; ii. HBr(aq) al 48%, 140°C ; iii. MeOH , HCl(g) ; iv. BnBr , K_2CO_3 , CH_3CN , reflujo; v. NaOH 3N , $\text{MeOH/H}_2\text{O}$.

10 El siguiente Esquema 3 de reacción ilustra un ejemplo de cómo producir el compuesto A mediante activación de un compuesto según la fórmula general III, seguido de ciclación que implica condensación con un compuesto según la fórmula IIB, deshidratación y desprotección del resto metilo que protege el grupo hidroxilo;



Esquema 3. Preparación del compuesto A

Los principios generales de reacción ilustrados en lo que antecede se ejemplifican en los Ejemplos 17 y 18.

- 5 El experto puede preparar fácilmente compuestos de la anterior fórmula general I que tengan unidades centrales distintas del resto de 1,2,4-oxadiazol-3,5-diilo, según se bosqueja en los procesos empleados en los Ejemplos.

Otra realización de la presente invención se refiere a un compuesto de la invención para uso como un ingrediente activo en una composición farmacéutica.

Una forma de realización adicional de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

- 10 Los compuestos de la invención pueden estar presentes en la composición farmacéutica en forma de sales o ésteres farmacológicamente aceptables de los mismos. En la técnica se conocen contraiones farmacéuticamente aceptables adecuados. También se pueden emplear profármacos de los compuestos para modificar el perfil terapéutico del compuesto activo.

- 15 Para preparar composiciones o preparaciones farmacéuticas de la invención, se mezclan vehículos inertes farmacológicamente aceptables con los compuestos activos. Los vehículos farmacéuticamente aceptables pueden ser sólidos o líquidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen polvos, comprimidos, gránulos dispersables y cápsulas. Un vehículo sólido puede ser una o más sustancias que también pueden actuar como diluyentes, agentes saborizantes, solubilizantes, lubricantes, agentes suspensionantes, aglutinantes o agentes disgregantes de comprimidos; también puede ser un material encapsulante.

- 20 Preferiblemente, la preparación farmacéutica está en forma de dosis unitaria, por ejemplo una preparación envasada en donde el envase contiene cantidades discretas de preparación tales como comprimidos envasados, cápsulas y polvos en viales o ampollas.

En la presente memoria se describe un método para tratar enfermedades, comprendiendo dicho método la etapa de administrar una dosis eficaz de una composición farmacéutica de la invención a un sujeto que lo necesite.

- 25 Las enfermedades que se pueden tratar mediante la administración de una composición farmacéutica de la invención incluyen trastornos del sistema nervioso central y periférico en donde pueda tener beneficio terapéutico una disminución de la O-metilación de catecolaminas, en concreto trastornos del movimiento tales como el síndrome de piernas inquietas, la enfermedad de Parkinson y trastornos o estados patológicos que implican síntomas de parkinsonismo y de Parkinson, trastornos gastrointestinales, estados de formación de edema e hipertensión.

- 30 En la presente memoria se describe un método para reducir la actividad de COMT en un sujeto, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I. Preferiblemente, la inhibición de la COMT se reduce durante 24 a 48 horas.

En la presente memoria se describe un método para elevar los niveles de L-DOPA en el cerebro o plasma de un sujeto, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I. Preferiblemente, los niveles de L-DOPA se elevan durante 24 a 48 horas.

5 En la presente memoria se describe un método para incrementar la biodisponibilidad de L-DOPA en el cerebro o plasma de un sujeto, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I. Preferiblemente, la biodisponibilidad de L-DOPA se incrementa durante 24 a 48 horas.

En la presente memoria se describe un método para reducir los niveles de 3-O-metil-L-DOPA (3-OMD) en el cerebro o plasma de un sujeto, que comprende la etapa de administrar una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula I. Preferiblemente, los niveles de 3-OMD se reducen durante 24 a 48 horas.

10 Preferiblemente, la etapa de administración se produce de aproximadamente dos veces cada día a aproximadamente una vez cada dos días, preferiblemente una vez al día.

15 En la presente memoria, el término "tratamiento" y variaciones tales como "tratar" o "tratando" se refieren a cualquier régimen que pueda beneficiar a un animal humano o no humano. El tratamiento puede establecerse con respecto a un afección existente o bien puede ser profiláctico (tratamiento preventivo). El tratamiento puede incluir efectos curativos, de alivio o profilácticos,

La posología puede variar dependiendo de las necesidades del paciente, la gravedad de la enfermedad, el compuesto particular empleado y la vía de administración. Por conveniencia, la dosis diaria total se puede dividir y administrar en porciones a lo largo del día. La determinación de la posología adecuada para una situación particular está dentro de la capacidad de los miembros de la profesión médica.

20 Dichas dosis se pueden administrar de cualquier manera útil para dirigir los compuestos activos hacia el sitio diana del sujeto, en concreto el sistema nervioso central y periférico. Las vías de administración adecuadas incluyen la vía oral, mediante implantes, la parenteral (que incluye la intravenosa, intraperitoneal, intraarticular y subcutánea), rectal, intranasal, tópica, ocular (mediante colirios), vaginal y transdérmica.

25 Los compuestos de la invención se utilizan preferiblemente para preparar un medicamento para la prevención o tratamiento de un trastorno o estado patológico según un régimen posológico específico.

Los regímenes posológicos adecuados comprenden regímenes que tienen una periodicidad de administración que varía de aproximadamente dos veces al día a aproximadamente una vez cada dos días.

En la presente memoria, la expresión "periodicidad de administración" se refiere al número de dosis eficaces de un compuesto de fórmula general I administradas en el intervalo de tiempo especificado.

30 Preferiblemente, la periodicidad de administración se selecciona de dos veces al día, una vez al día y una vez cada dos días.

35 En caso de una periodicidad de administración de dos veces al día, se pueden administrar las dosis con intervalos de administración de 8 a 16 horas, en donde los dos intervalos de administración individuales deben sumar aproximadamente 24 horas. Los puntos de partida adecuados, no limitantes, para los intervalos de administración comprenden la mañana, el mediodía, la media tarde, la tarde, la noche y la medianoche. Por ejemplo, un régimen de administración de dos veces al día según la invención puede requerir la administración de una dosis a las 8:00 de la mañana y otra dosis a las 17:00 de la tarde (en este caso, los intervalos de administración son 11 horas y 13 horas, y suman aproximadamente 24 horas). Preferiblemente, el intervalo de tiempo entre dos dosis es aproximadamente 12 horas.

40 En caso de una periodicidad de administración de una vez al día, se pueden administrar las dosis con intervalos de administración de alrededor de 24 horas. Los puntos de partida adecuados, no limitantes, para los intervalos de administración comprenden la mañana, el mediodía, la media tarde, la tarde, la noche y la medianoche. Por ejemplo, un régimen de administración de una vez al día según la invención puede requerir la administración de una dosis a las 8:00 de la mañana y otra dosis a las 8:00 de la mañana siguiente (en este caso, el intervalo de administración es aproximadamente 24 horas).

45 En caso de una periodicidad de administración de una vez cada dos días, se pueden administrar las dosis con intervalos de administración de 18 a 30 horas, en donde los dos intervalos de administración individuales deben sumar aproximadamente 48 horas. Los puntos de partida adecuados, no limitantes, para los intervalos de administración comprenden la mañana, el mediodía, la media tarde, la tarde, la noche y la medianoche. Por ejemplo, un régimen de administración diario de una vez cada dos días según la invención puede requerir la administración de una dosis a las 8:00 de la mañana del primer día y otra dosis a las 13:00 de la tarde del segundo día (en este caso, los intervalos de administración son 29 horas y 19 horas, y suman aproximadamente 48 horas). Preferiblemente, el intervalo de tiempo entre dos dosis es aproximadamente 24 h.

En la presente invención, las dosis diarias efectivas de compuestos de fórmula general I se sitúan en el intervalo de

1-1.000 mg/día, más preferiblemente de 2 a 500 mg/día, aún más preferiblemente de 3 a 250 mg/día y lo más preferiblemente 5-100 mg/día.

5 Se prefiere que las unidades de administración individuales de compuestos de fórmula general I se sitúen en el intervalo de 1-500 mg, más preferiblemente de 2 a 300 mg/día, aún más preferiblemente de 3 a 100 mg/día y lo más preferiblemente 5-50 mg, en donde la dosis diaria puede variar en función del momento de la administración. Por ejemplo, en un régimen de administración de dos veces al día, es posible administrar una dosis que contenga 11/24 de la dosis diaria de un compuesto de fórmula general I a las 8:00 de la mañana y otra dosis que contenga 13/24 de la dosis diaria de un compuesto de fórmula general I a las 17:00 horas de la tarde.

10 En la presente memoria, la expresión "unidad de administración" se refiere a la formulación farmacéutica individual, por ejemplo un comprimido, que contiene el compuesto de fórmula general I a administrar a un paciente en ese punto temporal del régimen de administración.

Preferiblemente, el sujeto a quien se está tratando con el compuesto de fórmula general I también está recibiendo terapia con L-DOPA y/o un inhibidor de la descarboxilasa de L-aminoácidos aromáticos (AADC), por ejemplo un inhibidor de la DOPA-descarboxilasa. Son inhibidores adecuados la carbidopa y la benserazida.

15 Los compuestos de fórmula general I, L-DOPA y AADC se pueden administrar por separado o en cualquier combinación. Se pueden administrar de forma concomitante (por ejemplo, simultáneamente) o bien secuencialmente, y con la misma o distinta periodicidad de administración. Por ejemplo, los compuestos de la fórmula general I se pueden administrar de forma concomitante o secuencial con L-DOPA. En caso de administración concomitante también es posible combinar ambos ingredientes activos en una formulación farmacéutica.

20 Una realización adicional de la presente invención se refiere al uso de los compuestos de la invención o sus sales farmacéuticamente aceptables para tratar un estado patológico o enfermedad en un animal humano o no humano.

25 Una realización adicional más de la presente invención se refiere al uso de compuestos de la invención o sus sales farmacéuticamente aceptables en la preparación de una composición farmacéutica para tratar tales estados patológicos o enfermedades.

También es posible emplear profármacos de compuestos de la invención con el fin de modificar el perfil terapéutico del compuesto activo.

30 La presente invención también se refiere a un envase que comprende una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula general I en combinación con instrucciones para administrar dicha composición con un régimen posológico que tiene una periodicidad de administración que varía de aproximadamente dos veces al día a aproximadamente una vez cada dos días, preferiblemente una vez al día.

El envase también puede incluir L-DOPA y/o un inhibidor de AADC tal como benserazida o carbidopa.

35 Las características preferidas de cada realización o aspecto de la invención también son aplicables, *mutatis mutandis*, a cada una de las demás realizaciones o aspectos de la invención, a menos que el contexto indique otra cosa. Por ejemplo, cuando se administra una composición de la invención preferiblemente una vez al día, la etapa de administración en un método de tratamiento también puede realizarse preferiblemente una vez al día.

40 La actividad de COMT se manifiesta por la capacidad para metilar adrenalina a metanefrina, como se ha descrito con anterioridad (Vieira-Coelho, M.A., Soares-da-Silva, P., Brain Res., 1999, 821, 69-78). A continuación se describe una configuración experimental: se preincubaron durante 20 minutos partes alícuotas de 0,5 ml de homogeneizados de hígado con 0,4 ml de tampón de fosfato (5 mM); después de eso, se incubó la mezcla de reacción durante 10 minutos con adrenalina (500 μ M; 0,1 ml) en presencia de una concentración saturante de S-adenosil-L-metionina, el donante de metilo (250 μ M). El medio de incubación contenía también pargilina (100 μ M), MgCl₂ (100 μ M) y EGTA (1 mM). La preincubación y la incubación se llevaron a cabo a 37°C en condiciones de protección contra la luz, con agitación continua y sin oxigenación. Al final del periodo de incubación, se transfirieron los tubos a hielo y se detuvo

45 la reacción mediante la adición de 200 μ l de ácido perclórico 2M. Después se centrifugaron (200xg, 4 minutos, 4°C) las muestras, y se utilizaron partes alícuotas de 500 μ l del sobrenadante, filtradas a través de tubos Spin-X (Costar) con filtro de tamaño de poro 0,22 μ m, para determinar la metanefrina por cromatografía líquida de alta presión con detección electroquímica.

50 En experimentos diseñados para evaluar los efectos de los compuestos de prueba sobre la COMT hepática, se administraron los compuestos de prueba (en carboximetilcelulosa al 5%) por sonda gástrica a ratones mantenidos en ayunas durante una noche. Después de eso, a intervalos definidos, se extirparon los hígados y se utilizaron para determinar la actividad de COMT como se ha descrito más arriba.

55 La toxicidad celular se manifiesta por el método descrito por Pedrosa y Soares-da-Silva (Br. J. Pharmacol., 137, 1 1305-1313, 2002). A continuación se describe un montaje experimental: se sembraron células Neuro 2A de neuroblastoma de ratón en placas de 96 pocillos, a razón de 200 μ l por pocillo de medio de cultivo para fijación

celular (CMA, por sus siglas en inglés), bajo una atmósfera humidificada de CO₂/aire (5%/95%), a 37°C. Los controles del sistema de ensayo antes de las incubaciones consistieron en un control morfológico (microscopía óptica) de las células cultivadas: fijación, difusión y densidad. Cinco días después de la siembra (24 horas después de que las células se hubieran hecho confluentes), se incubaron durante 24 horas los compuestos de prueba con células cultivadas. Se realizaron en paralelo cultivos sin artículo de prueba o con etanol, como testigos negativos y positivos. Todas las incubaciones contenían el mismo porcentaje de disolvente necesario para el compuesto de prueba.

La viabilidad celular se determina midiendo la viabilidad por medio de calceína-AM (Molecular Probes, Eugene, OR, EE.UU.). La calceína-AM, que es un colorante no fluorescente permeable a través de la membrana, es absorbida y transformada por esterasas intracelulares a calceína, que no es permeable a través de la membrana, y emite fluorescencia verde. A continuación se describe una configuración experimental: después del tratamiento con el artículo de prueba o vehículo durante 24 horas, se lavaron las células dos veces con medio de Hanks (composición del medio, en mM: NaCl 137, KCl 5, MgSO₄ 0,8, Na₂HPO₄ 0,33, KH₂PO₄ 0,44, CaCl₂ 0,25, MgCl₂ 1,0, Tris HCl 0,15 y butirato de sodio 1,0, pH = 7,4) y se cargaron con calceína-AM 2 µM en medio de Hanks, a temperatura ambiente durante 30 minutos. La fluorescencia se midió en un lector multiplaca a longitudes de onda de excitación de 485 nm y de emisión de 530 nm. Para determinar la tinción mínima con calceína-AM (calceína_{min}), se trataron con etanol ocho pocillos 30 minutos antes de la adición de calceína-AM. Después se calcula el porcentaje de viabilidad como $[(\text{calceína}_{\text{muestra}} - \text{calceína}_{\text{min}})/(\text{calceína}_{\text{testigo}} - \text{calceína}_{\text{min}})] \times 100$.

Conclusión

Los compuestos de la invención son candidatos prometedores para la terapia medicamentosa, como se evidencia por su potencial para actuar como inhibidores de COMT que presentan propiedades equilibradas de bioactividad, biodisponibilidad y seguridad durante un largo período de tiempo.

Breve descripción de las Figuras 1 a 3

Figura 1. Efecto del compuesto A y tolcapona (ambos a razón de 3 mg/kg) sobre la actividad de COMT en hígado al cabo de 0,5, 1, 3, 6, 9 y 24 horas después de la administración de cualquiera de los inhibidores de COMT. Los símbolos representan las medias ± DT de 5 experimentos por grupo. * Significativamente diferentes de los valores testigo correspondientes (P<0,05).

Figura 2. Efecto del compuesto A y tolcapona (ambos a razón de 3 mg/kg) sobre los niveles plasmáticos de L-DOPA y 3-O-metil-L-DOPA (3-OMD) en ratas tratadas con L-DOPA (12 mg/kg) más benserazida (3 mg/kg) al cabo de 2, 7 y 24 horas después de la administración de cualquiera de los inhibidores de COMT. Las columnas representan las medias ± DT de 5 experimentos por grupo. * Significativamente diferentes de los valores testigo correspondientes (P<0,05).

Figura 3. Efecto del compuesto A y tolcapona (ambos a razón de 3 mg/kg) sobre los niveles cerebrales de L-DOPA, 3-O-metil-L-DOPA (3-OMD), dopamina, DOPAC y HVA en ratas tratadas con L-DOPA (12 mg/kg) más benserazida (3 mg/kg), al cabo de 2, 7 y 24 horas después de la administración de cualquiera de los inhibidores de COMT. Las columnas representan las medias ± DT de 5 experimentos por grupo. * Significativamente diferentes de los valores testigo correspondientes (P<0,05).

Materiales y métodos de los ensayos biológicos

Ensayo de actividad de COMT

En todos los experimentos se utilizaron hígados de ratas Wistar macho de 60 días de edad, con un peso de 240-260 g (Harlan-Interfauna Ibérica, Barcelona, España), mantenidas a razón de dos animales por jaula en condiciones ambientales controladas (ciclo de luz/oscuridad de 12 horas y temperatura ambiente de 24°C). Tras la decapitación, se extirparon inmediatamente los órganos y se homogeneizaron en tampón de fosfato 5 mM, de pH 7,8. La actividad de COMT se evaluó a través de la capacidad para metilar adrenalina a metanefrina. Se preincubaron durante 20 minutos partes alícuotas de 0,5 ml de homogeneizados de hígado con 0,4 ml de tampón de fosfato (5 mM); después de eso, se incubó la mezcla de reacción durante 15 minutos con epinefrina (2.000 µM; 0,1 ml) en presencia de una concentración saturante de S-adenosil-L-metionina (500 mM), el donante de metilo; el medio de incubación contenía también pargilina (100 µM), MgCl₂ (100 µM) y EGTA (1 mM). La preincubación y la incubación se llevaron a cabo a 37°C en condiciones de protección contra la luz, con agitación continua y sin oxigenación.

En experimentos diseñados para evaluar la biodisponibilidad oral de las sustancias de prueba, se administraron los compuestos de prueba, por sonda gástrica, a ratas mantenidos en ayunas durante una noche. Después de eso, a intervalos definidos, se sacrificaron los animales por decapitación y se extirparon los hígados, y se utilizaron para determinar la actividad de COMT como se ha descrito más arriba. Al final del período de incubación (5 minutos) se transfirieron los tubos a hielo y se detuvo la reacción mediante la adición de 200 µl de ácido perclórico 2M. Después se centrifugaron (200xg, 4 minutos, 4°C) las muestras, y se utilizaron partes alícuotas de 500 µl del sobrenadante, filtradas a través de tubos Spin-X (Costar) con filtro de tamaño de poro de 0,22 µm, para la determinación de

metanefrina. La determinación de la metanefrina se llevó a cabo por cromatografía líquida de alta presión con detección electroquímica. Los límites inferiores de detección de metanefrina oscilaron de 350 a 500 fmol (de 0,5 a 1,0 pmol/mg de proteína/hora).

Niveles de L-DOPA y sus derivados en el cerebro entero y el plasma

- 5 Se administró por vía oral tolcapona y compuestos de fórmula general I (todos a razón de 3 mg/kg) o vehículo (carboximetilcelulosa al 0,5%, 4 ml/kg) a ratas mantenidas en ayunas durante una noche. 1, 6 o 23 horas después se administró por vía oral a las ratas L-DOPA (12 mg/kg) más benserazida (3 mg/kg) o bien vehículo (carboximetilcelulosa al 0,5%, 4 ml/kg). Una hora más tarde se anestesiaron las ratas con pentobarbital sódico (60 mg/kg, i.p.), se extrajo sangre a través de la vena cava y se extirpó rápidamente el cerebro completo. Los
- 10 cerebros se conservaron en ácido perclórico 0,2M para la ulterior determinación de L-DOPA, 3-O-metil-L-DOPA, dopamina, DOPAC y HVA. Se centrifugaron durante 15 minutos a 3.000xg (4°C) las muestras de sangre, y se conservaron a -80°C las muestras de plasma hasta la determinación de L-DOPA y 3-O-metil-L-DOPA. Todas las intervenciones en animales se realizaron de acuerdo con la Directiva Europea número 86/609 y las reglas de "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals", 7ª edición, 1996, Institute for Laboratory Animal Research (ILAR), Washington, DC.
- 15

Determinación de L-DOPA y derivados de catecol

- Se analizaron L-DOPA, 3-O-metil-L-DOPA, dopamina y metabolitos (DOPAC y HVA) en muestras de dializado, mediante HPLC con detección electroquímica, como se ha descrito con anterioridad (Soares-da-Silva *et al.*, Brain Res. 2000; 863:293-297). En resumen, se inyectaron en el cromatógrafo alícuotas de 20 µl. El sistema
- 20 cromatográfico se componía de una bomba (Gilson 307) y una columna ODS2 de acero inoxidable de 5 µm (Biophase; Bioanalytical Systems, West Lafayette, IN) de 25 cm de longitud y 4,6 mm diámetro; las muestras se inyectaron mediante un inyector automático de muestras (Gilson 231) conectado a un diluidor Gilson (Gilson 401). La fase móvil era una disolución desgasificada de ácido cítrico 0,1 mM; octilsulfato de sodio 0,5 mM; acetato de sodio 0,1 M; Na₂EDTA 0,17 mM; dibutilamina 1 mM y metanol (10% v/v), ajustada a pH 3,5 con PCA 2 M, y se bombeaba con un caudal de 1,0 ml min⁻¹. La detección se llevó a cabo electroquímicamente con un electrodo de carbono vítreo, un electrodo de referencia Ag/AgCl y un detector amperométrico (Gilson 142); la celda del detector se hizo funcionar a 0,75 V. La corriente producida se registró utilizando el software Gilson Unipoint HPLC. El límite inferior de detección de dopamina, DOPAC y HVA varió desde 350 hasta 1.000 fmol.
- 25

Resultados biológicos

- 30 Se encontró que el compuesto A era un potente inhibidor de la COMT hepática, alcanzándose el efecto inhibidor máximo a las 6 horas de su administración oral (Figura 1). El efecto inhibidor máximo de tolcapona se observó a los 30 minutos de su administración (Figura 1). Nueve horas después de la administración, la tolcapona produce efectos inhibidores mínimos, mientras que el compuesto A todavía es capaz de inhibir la actividad de COMT en 90% de los niveles testigo (Figura 1). Tal como se muestra en la Figura 1, 24 horas después de su administración, el compuesto
- 35 A mantiene la inhibición de la COMT hepática en 60% de los niveles testigo, mientras que la tolcapona ya está casi desprovista de propiedades inhibitoras de la COMT en este momento.

- La Figura 2 muestra los niveles de L-DOPA y 3-O-metil-L-DOPA (3-OMD) en el plasma de ratas tratadas con L-DOPA más benserazida al cabo de 2, 7 y 24 horas después de la administración de tolcapona y compuesto A (ambos a razón de 3 mg/kg). La L-DOPA más benserazida se administraron 1 hora antes de la extracción de
- 40 muestras de sangre. Se escogió este punto temporal porque representaba la T_{max} para la L-DOPA. Como se observará, el compuesto A produjo aumentos significativos de la L-DOPA plasmática, acompañados de una pronunciada disminución de la 3-O-metil-L-DOPA circulante, siendo esto idéntico en todos los tiempos anteriores al tratamiento con el compuesto A (1, 7 y 24 horas). Los niveles plasmáticos de L-DOPA y 3-O-metil-L-DOPA no se alteraron cuando se administró tolcapona 24 horas antes. Solamente se observaron cambios significativos en los
- 45 niveles plasmáticos de L-DOPA y 3-O-metil-L-DOPA debidos a tolcapona a las 2 y 7 horas después de la administración del compuesto.

- La Figura 3 muestra los niveles de L-DOPA, 3-O-metil-L-DOPA, DOPAC, dopamina y HVA en el cerebro de ratas tratadas con L-DOPA más benserazida a las 2, 7 y 24 horas tras la administración de tolcapona y compuesto A (3 mg/kg). La L-DOPA más benserazida se administraron 1 hora antes de la extracción de muestras de cerebro.
- 50 Se escogió este punto temporal porque representaba la T_{max} para la L-DOPA. Como se observará, el compuesto A produjo aumentos significativos en la L-DOPA, dopamina y DOPAC cerebrales, acompañados de una pronunciada disminución de la 3-O-metil-L-DOPA cerebral, siendo esto idéntico en todos los tiempos anteriores al tratamiento con el compuesto A (1, 7 y 24 horas). Los niveles cerebrales de L-DOPA, dopamina, DOPAC y 3-O-metil-L-DOPA no se alteraron cuando se administró tolcapona 24 horas antes. Solamente se observaron cambios significativos en los
- 55 niveles cerebrales de L-DOPA, dopamina, DOPAC y 3-O-metil-L-dopa debidos a tolcapona a las 2 y 7 horas después de la administración del compuesto.

Se describirá ahora la invención haciendo referencia a los Ejemplos 17 a 20, que no se pretende que limiten el alcance de la solicitud.

Ejemplo 1

Como ejemplo de un compuesto de la fórmula general (G) con un resto de 1,3,4-oxadiazol-2,5-diilo como unidad central, se preparó 3-nitro-5-[5-(2-trifluorometil-piridin-3-il)-[1,3,4]oxadiazol-2-il]-benceno-1,2-diol mediante el siguiente procedimiento:

- 5 a) Se calentó a reflujo en tetrahidrofurano (10 mL) durante tres horas una mezcla de ácido 3,4-dimetoxi-5-nitrobenzoico (0,53 g, 2,34 mmol) y 1,1-carbonildiimidazol (0,42 g, 2,59 mmol) y luego se enfrió hasta la temperatura ambiente. Se añadió hidrazida de ácido 2-trifluorometil-nicotínico (0,53 g, 2,57 mmol) en una porción y se agitó a reflujo durante una noche la mezcla de color amarillento y después se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente. Se vertió la mezcla en agua fría (100 mL) y se separó por filtración el copioso precipitado, se lavó con agua y se secó para proporcionar N'-(3,4-dimetoxi-5-nitro-benzoil)hidrazida de ácido 2-trifluorometil-nicotínico (0,71 g, 73%).
- 10 b) Se agitó a 130°C durante tres horas una suspensión de N'-(3,4-dimetoxi-5-nitro-benzoil)hidrazida de ácido 2-trifluorometil-nicotínico (0,60 g, 1,44 mmol) en oxiclورو de fósforo (10 mL), convirtiéndose en una disolución de color amarillo pálido. Se dejó enfriar la mezcla hasta la temperatura ambiente y después se vertió en agua de hielo (200 mL). Se separó por filtración el precipitado blanco, se lavó con agua y se secó para proporcionar 2-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-5-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,3,4-oxadiazol, 0,48 g (84%).
- 15 c) Se calentó a 140°C durante una noche una suspensión de 2-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-5-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,3,4-oxadiazol (0,289 g, 0,73 mmol) en una mezcla de ácido bromhídrico al 48% (5 mL) y bromuro de hidrógeno al 30% en ácido acético (5 mL), y después se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente. Después de evaporar a sequedad bajo presión reducida, se añadió tolueno (10 mL) al residuo y se volvió a evaporar bajo presión reducida.
- 20 Se recristalizó en isopropanol el sólido resultante para proporcionar 3-nitro-5-[5-(2-trifluorometil-piridin-3-il)-[1,3,4]oxadiazol-2-il]-benceno-1,2-diol en forma de un sólido amarillo, 0,183 g (68%).

Ejemplo 2

Como ejemplo de un compuesto de la fórmula general (G) con un resto de pirimidin-2,4-diilo como unidad central, se preparó 3-nitro-5-(2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)pirimidin-4-il)benceno-1,2-diol mediante el siguiente procedimiento:

- 25 a) Se calentó a 80°C durante una hora, en un tubo cerrado, una suspensión agitada de 1-(3,4-dimetoxi-5-nitro-fenil)-3-dimetilamino-propen-1-ona (0,28 g, 1,0 mmol), 2-(trifluorometil)nicotinimidamida (0,283 g, 1,5 mmol) y terc-butóxido de potasio (0,17 g, 1,5 mmol) en etanol absoluto (5 mL), y después se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente. Se vertió la mezcla en agua fría (100 mL) y se separó por filtración el precipitado resultante, se lavó con agua y se secó para proporcionar 4-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)pirimidina, 0,296 g (73%).
- 30 b) Se agitó a 140°C durante cuatro horas una suspensión de 4-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)pirimidina (0,239 g, 0,59 mmol) en ácido bromhídrico al 48% (5 mL), y después se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente. Se vertió la mezcla en agua de hielo (100 mL) y se separó por filtración el filtrado resultante, se lavó con agua y se secó para proporcionar 3-nitro-5-(2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)pirimidin-4-il)benceno-1,2-diol, 0,201 g (90%).

Ejemplo 3

Como ejemplo de un compuesto de la fórmula general (G) con un resto de benceno-1,3-diilo como unidad central, se preparó 5-nitro-3'-(6-(trifluorometil)piridin-2-il)bifenil-3,4-diol mediante el siguiente procedimiento:

- 40 a) A una disolución agitada de ácido 4-benciloxi-3-metoxifenilborónico (1,0 g, 3,87 mmol) y 2-(3-bromofenil)-6-(trifluorometil)piridina (1,063 g, 3,52 mmol) en tolueno (10 mL) y etanol (1 mL) a temperatura ambiente bajo argón se añadió disolución acuosa 2N de carbonato de sodio (5,41 mL, 10,82 mmol) seguida de tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0,22 g, 0,19 mmol). Se agitó a 90°C durante dos horas la mezcla resultante y después se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente. Se separaron las fases y se extrajo la fase acuosa con tolueno (5 mL). Se lavaron con agua y salmuera las fases orgánicas combinadas, después se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se filtraron. La evaporación del disolvente dejó un aceite marrón que se cromatografió sobre gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo, 9:1) para proporcionar 2-(4'-(benciloxi)-3'-metoxibifenil-3-il)-6-(trifluorometil)piridina en forma de un aceite transparente, 1,072 g (70%).
- 45 b) A una disolución de 2-(4'-(benciloxi)-3'-metoxibifenil-3-il)-6-(trifluorometil)piridina (1,061 g, 2,44 mmol) en diclorometano (20 mL), enfriada en un baño de hielo y agua, se añadió gota a gota una disolución al 30% de bromuro de hidrógeno en ácido acético (4 mL, 20 mmol). Se dejó en agitación a temperatura ambiente durante seis horas la disolución resultante y después se vertió en agua de hielo (100 mL). Se separaron las fases y se extrajo la fase acuosa con diclorometano (10 mL). Se lavaron con agua y salmuera las capas orgánicas combinadas, después se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se filtraron. La evaporación del disolvente dejó un aceite marrón que se cromatografió sobre gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo, 4:1) para proporcionar 3-metoxi-3'-(6-(trifluorometil)piridin-2-il)bifenil-4-ol en forma de un aceite transparente, 0,547 g (65%).
- 50 c) A una disolución de 3-metoxi-3'-(6-(trifluorometil)piridin-2-il)bifenil-4-ol (0,476 g, 1,38 mmol) en ácido acético
- 55

(10 mL) a temperatura ambiente se le añadió gota a gota ácido nítrico al 60% (0,12 mL, 1,52 mmol). Se dejó en agitación durante treinta minutos la mezcla resultante y después se vertió en agua de hielo (100 mL) y se separó por filtración el precipitado resultante, se lavó con agua y se secó. Tras cromatografiar sobre gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo, 2:1) se obtuvo 3-metoxi-5-nitro-3'-(6-(trifluorometil)piridin-2-il)bifenil-4-ol en forma de un sólido amarillo, 0,323 g (60%).

d) A una disolución agitada de 3-metoxi-5-nitro-3'-(6-(trifluorometil)piridin-2-il)bifenil-4-ol (0,288 g, 0,738 mmol) en 1,2-dicloroetano (10 mL), enfriada en un baño de hielo y agua, se añadió cloruro de aluminio (0,123 g, 0,922 mmol) en una porción, seguido de piridina (0,233 g, 2,95 mmol) gota a gota. Se agitó a 80°C durante dos horas la suspensión de color rojo resultante, después se enfrió hasta la temperatura ambiente y se vertió en ácido clorhídrico 2N acuoso frío (100 mL). Se separó por filtración el precipitado, se lavó con agua y se secó para proporcionar 5-nitro-3'-(6-(trifluorometil)piridin-2-il)bifenil-3,4-diol, 0,164 g (59%).

Ejemplo 4

Como ejemplo de un compuesto de la fórmula general (G) con un resto carbonilo como unidad central, se preparó (3,4-dihidroxi-5-nitrofenil)(2-(trifluorometil)piridin-3-il)metanona por el procedimiento siguiente:

a) A una disolución de 4-benciloxi-3-metoxi-bromobenceno (2,0 g, 6,82 mmol) en tetrahidrofurano (50 mL) a -78°C, bajo argón, se añadió gota a gota disolución 2N de butil-litio en hexanos (3,75 mL, 7,5 mmol). Se dejó en agitación durante una hora la mezcla resultante, tras de lo cual se añadió gota a gota una disolución de N-metoxi-N-metil-2-trifluorometil-nicotinamida (1,76 g, 7,5 mmol) en tetrahidrofurano (20 mL). Se dejó que la mezcla alcanzara la temperatura ambiente en el transcurso de dos horas, y después se vertió en ácido clorhídrico acuoso 2N frío (150 mL). Se extrajo la mezcla con éter dietílico, y se lavaron con agua y salmuera las capas orgánicas combinadas, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se filtraron. La evaporación del disolvente dejó un aceite de color marrón que se cromatografió sobre gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo, 2:1) para proporcionar (4-benciloxi-3-metoxi-fenil)-(2-trifluorometil-piridin-3-il)-metanona, 1,72 g (65%).

b) A una disolución agitada de (4-benciloxi-3-metoxi-fenil)-(2-trifluorometil-piridin-3-il)-metanona (0,913 g, 2,36 mmol) en diclorometano, enfriada en un baño de hielo y agua, se añadió gota a gota una disolución de bromuro de hidrógeno al 30% en ácido acético (3,54 mL, 17,7 mmol). Se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una noche la disolución resultante, y después se vertió en agua de hielo (100 mL). Se separaron las fases y se extrajo con diclorometano (10 mL) la fase acuosa. Se lavaron con agua y salmuera las capas orgánicas combinadas, después se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se filtraron. La evaporación del disolvente dejó un aceite de color marrón que se cromatografió sobre gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo, 1:1) para proporcionar (4-hidroxi-3-metoxifenil)(2-(trifluorometil)piridin-3-il)metanona en forma de un sólido incoloro, 0,561 g (80%).

c) A una disolución de (4-hidroxi-3-metoxifenil)(2-(trifluorometil)piridin-3-il)metanona (0,472 g, 1,59 mmol) en ácido acético (10 mL) a temperatura ambiente se añadió gota a gota ácido nítrico al 60% (0,14 mL, 1,75 mmol). Se dejó en agitación durante treinta minutos la mezcla resultante, y después se vertió en agua de hielo (100 mL) y se separó por filtración el precipitado resultante, se lavó con agua y se secó. La recristalización en etanol proporcionó (4-hidroxi-3-metoxi-5-nitrofenil)(2-(trifluorometil)piridin-3-il)metanona en forma de un sólido amarillo, 0,315 g (58%).

d) A una disolución agitada de (4-hidroxi-3-metoxi-5-nitrofenil)(2-(trifluorometil)piridin-3-il)metanona (0,287 g, 0,84 mmol) en 1,2-dicloroetano (10 mL), enfriada en un baño de hielo y agua, se añadió cloruro de aluminio (0,14 g, 1,05 mmol) en una porción, seguido de piridina (0,26 g, 3,35 mmol) gota a gota. Se agitó a 80°C durante dos horas la suspensión de color rojo resultante, después se enfrió hasta la temperatura ambiente y se vertió en ácido clorhídrico acuoso 2N frío (100 mL). Se separó por filtración el precipitado, se lavó con agua y se secó para proporcionar (3,4-dihidroxi-5-nitrofenil)(2-(trifluorometil)piridin-3-il)metanona, 0,182 g (66%).

Ejemplo 5

Como ejemplo de un compuesto de la fórmula general (G) con un resto de (Z)-1-cianoeten-1,2-diilo como unidad central, se preparó (Z)-3-(3,4-dihidroxi-5-nitrofenil)-2-(6-(trifluorometil)piridin-3-il)acrilonitrilo mediante el siguiente procedimiento:

a) Se agitó a reflujo durante cuarenta y ocho horas una suspensión de vainillina (1,0 g, 6,57 mmol), 2-(6-(trifluorometil)piridin-3-il)acetonitrilo (1,222 g, 6,57 mmol) y piperidina (0,71 mL, 7,23 mmol) en etanol absoluto (10 mL), y después se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente. Se separó por filtración el precipitado resultante, se lavó con agua y se secó. La recristalización en isopropanol proporcionó (Z)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-2-(6-(trifluorometil)piridin-3-il)acrilonitrilo en forma de cristales blancos, 0,904 g (43%).

b) A una disolución de (Z)-3-(4-hidroxi-3-metoxifenil)-2-(6-(trifluorometil)piridin-3-il)acrilonitrilo (0,858 g, 2,68 mmol) en ácido acético (20 mL) se añadió gota a gota ácido nítrico al 60% (0,23 mL, 2,95 mmol). Se dejó en agitación a temperatura ambiente durante treinta minutos la mezcla resultante, y luego se vertió en agua de hielo (100 mL). Se separó por filtración el precipitado amarillo, se lavó con agua y se secó. La recristalización en isopropanol proporcionó (Z)-3-(4-hidroxi-3-metoxi-5-nitrofenil)-2-(6-(trifluorometil)piridin-3-il)acrilonitrilo en forma de un sólido amarillo, 0,597 g (61%).

c) A una disolución agitada de (Z)-3-(4-hidroxi-3-metoxi-5-nitrofenil)-2-(6-(trifluorometil)piridin-3-il)acrilonitrilo (0,526 g, 1,44 mmol) en 1,2-dicloroetano (10 mL), enfriada en un baño de hielo y agua, se añadió cloruro de aluminio (0,24 g, 1,80 mmol) en una porción, seguido de piridina (0,46 g, 5,77 mmol) gota a gota. Se agitó a 80°C durante dos horas la suspensión de color rojo resultante, después se enfrió hasta la temperatura ambiente y se vertió en ácido clorhídrico acuoso 2N frío (100 mL). Se separó por filtración el precipitado, se lavó con agua y se secó para proporcionar (Z)-3-(3,4-dihidroxi-5-nitrofenil)-2-(6-(trifluorometil)piridin-3-il)acrilonitrilo, 0,308 g (61%).

Ejemplo 6

Como ejemplo de un compuesto de la fórmula general (G) con un resto de 1H-imidazol-1,5-diilo como unidad central, se preparó 3-nitro-5-(1-(5-(trifluorometil)piridin-2-il)-1H-imidazol-5-il)benceno-1,2-diol mediante el siguiente procedimiento:

a) A una disolución agitada de 5-(trifluorometil)piridin-2-amina (0,405 g, 2,5 mmol) en una mezcla de etanol (12,5 mL) y ácido acético (0,25 mL) a temperatura ambiente, se añadió 3,4-dimetoxi-5-nitrobenzaldehído (0,53 g, 2,5 mmol). Se calentó la reacción a la temperatura de reflujo durante dos horas y después se evaporó el etanol. Se disolvió el residuo oleoso en una mezcla de metanol (17 mL) y 1,2-dimetoxietano (7,5 mL), tras de lo cual se añadieron, en una porción, 1-(isocianometilsulfonil)-4-metilbenceno (TOSMIC) (0,73 g, 3,75 mmol) y carbonato de potasio (0,69 g, 5 mmol). Se agitó durante 3 horas, a la temperatura de reflujo, la mezcla resultante. Se evaporó a sequedad la reacción, y después se tomó en diclorometano (50 mL). Se lavó la fase orgánica con agua (50 mL) y después se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se evaporó para dejar un aceite de color marrón. La cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo-acetato de etilo 9:1) proporcionó 2-(5-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-1H-imidazol-1-il)-5-(trifluorometil)piridina, 0,542 g (55%).

b) Se calentó a 140°C 2-(5-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-1H-imidazol-1-il)-5-(trifluorometil)piridina (0,394 g, 1 mmol), en bromuro de hidrógeno acuoso al 48% (6 mL), durante 2,5 horas. Se enfrió hasta la temperatura ambiente la disolución homogénea de color oscuro, y se eliminaron por evaporación los volátiles para dejar un sólido cristalino de color marrón pálido, que se secó sobre P₂O₅ bajo vacío. La trituración del sólido resultante con éter dietílico proporcionó 3-nitro-5-(1-(5-(trifluorometil)piridin-2-il)-1H-imidazol-5-il)benceno-1,2-diol en forma de un sólido cristalino de color amarillo, 0,263 g (72%).

Ejemplo 7

Como ejemplo de un compuesto de la fórmula general (G) con un resto de isoxazo-3,5-diilo como unidad central, se preparó 3-nitro-5-(4-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)isoxazol-3-il)benceno-1,2-diol mediante el siguiente procedimiento:

a) A una suspensión agitada de (E)-3-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-1-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)prop-2-en-1-ona (1,146 g, 3 mmol) en etanol (15 mL) se añadió disolución acuosa de hidroxilamina al 50% (0,74 mL, 4,5 mmol) y se calentó a 80°C la mezcla. Después de agitar durante 1 hora, comenzó a separarse de la mezcla de reacción un precipitado fino. Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, se separó por filtración el precipitado amarillo, se lavó con etanol y se secó bajo vacío para proporcionar 3-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-4-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-4,5-dihidroisoxazol-5-ol, 0,904 g (73%).

b) Se calentó a 70°C 3-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-4-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-4,5-dihidroisoxazol-5-ol (2,06 g, 5 mmol) en 20 mL de acetato de etilo. A la suspensión resultante se añadió gota a gota ácido trifluoroacético (0,74 g, 6,5 mmol). Transcurridos 10 minutos, se evaporó a sequedad la reacción y se recrystalizó el residuo en isopropanol para proporcionar 3-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-4-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)isoxazol, 1,224 g (62%).

c) Se tomó 3-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-4-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)isoxazol (0,79 g, 2 mmol) en diclorometano (15 mL) y, bajo argón, se enfrió a -78°C la suspensión amarillenta, tras de lo cual se añadió gota a gota tribromuro de boro (4,5 g, 18 mmol). Se dejó calentar hasta la temperatura ambiente la mezcla de reacción de color rojizo y se agitó durante 18 horas, después se vertió cuidadosamente en agua de hielo (100 mL) y se dejó en agitación durante 1 hora. Se separó por filtración el precipitado amarillo, se lavó con agua y se secó sobre P₂O₅ bajo vacío. La trituración con etanol en ebullición proporcionó 3-nitro-5-(4-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)isoxazol-3-il)benceno-1,2-diol en forma de un sólido amarillo, 0,47 g (64%).

Ejemplo 8

Como ejemplo de un compuesto de la fórmula general (G) con un resto de furano-2,4-diilo como unidad central, se preparó 4-(3,4-dihidroxi-5-nitrofenil)-2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)furano-3-carboxilato de etilo mediante el siguiente procedimiento:

a) A una disolución agitada de 3-oxo-3-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)propanoato de etilo (1,305 g, 5 mmol) en piridina (25 mL) se añadió 2-bromo-1-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)etanona (1,67 g, 5,5 mmol). Se calentó a 70°C la mezcla de reacción y se agitó durante 5 horas, después se enfrió hasta la temperatura ambiente y se vertió en HCl acuoso 6N (100 mL). Se separó por filtración el precipitado, se lavó con agua y se secó sobre P₂O₅ bajo vacío. Se recrystalizó el sólido en diclorometano/isopropanol para proporcionar 4-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)furano-3-carboxilato de metilo bruto, 1,00 g (43%).

- b) Se tomó 4-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)furano-3-carboxilato de metilo (466 mg, 1 mmol) en diclorometano (8 mL). Bajo argón se enfrió a -78°C la suspensión amarillenta, y se añadió gota a gota tribromuro de boro (0,85 mL, 9 mmol). Se dejó calentar hasta la temperatura ambiente la mezcla de reacción de color rojizo y se agitó durante 18 horas y después se vertió cuidadosamente en agua de hielo (100 mL) y se agitó durante 1 hora. Se separó por filtración el precipitado amarillo, se lavó con agua y se secó sobre P₂O₅ bajo vacío. La recrystalización del sólido en etanol proporcionó 4-(3,4-dihidroxi-5-nitrofenil)-2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)furano-3-carboxilato de metilo en forma de un sólido amarillo, 0,298 g (68%).

Ejemplo 9

- Como ejemplo de un compuesto de la fórmula general (G) con un resto de oxazol-2,4-diilo como unidad central, se preparó 3-nitro-5-(2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)oxazol-4-il)benzeno-1,2-diol mediante el siguiente procedimiento:

- a) A una disolución de acetato de 2-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-2-oxoetilo (4,24, g, 15 mmol) en xileno (30 mL) se añadieron 2-(trifluorometil)nicotinamida (3,135 g, 16,5 mmol) y eterato de trifluoruro de boro (0,18 mL, 15 mmol). Se calentó a reflujo durante 18 horas la disolución amarilla resultante, y después se enfrió hasta la temperatura ambiente. Tras evaporar el disolvente, se distribuyó el residuo entre acetato de etilo y bicarbonato de sodio acuoso saturado. Se separó la fase orgánica, se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se evaporó. Se obtuvo 4-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)oxazol puro por cromatografía en columna sobre gel de sílice (éter de petróleo/acetato de etilo 2:1) en forma de un sólido de color amarillo pálido, 2,488 g (42%).

- b) Se tomó 4-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)oxazol (1,185 g, 3 mmol) en diclorometano (25 mL). Bajo argón, se enfrió hasta -78°C la suspensión amarillenta, y se añadió gota a gota tribromuro de boro (2,55 mL, 27 mmol). Se dejó calentar hasta la temperatura ambiente la mezcla de reacción de color rojo, y se agitó durante 18 horas. Después se vertió cuidadosamente en agua de hielo (100 mL) y se agitó durante 1 hora. Se separó por filtración el precipitado amarillo resultante, se lavó con agua y se secó sobre P₂O₅ bajo vacío. Se recrystalizó el sólido en etanol para proporcionar 3-nitro-5-(2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)oxazol-4-il)benzeno-1,2-diol en forma de un sólido amarillo, 0,627 g (57%).

Ejemplo 10

Como ejemplo de un compuesto de la fórmula general (G) con un resto de 1,2,4-triazin-3,5-diilo como unidad central, se preparó 3-nitro-5-(3-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-triazin-5-il)benzeno-1,2-diol mediante el siguiente procedimiento:

- a) A una disolución agitada de (Z)-2-(trifluorometil)nicotinohidrazonamida (1,02 g, 5 mmol) en etanol (30 mL) se añadió 2-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-2-oxoacetaldehído (1,19 g, 5 mmol). Se calentó a reflujo la mezcla de reacción durante 5 horas. Después se enfrió hasta la temperatura ambiente y se eliminó por evaporación el disolvente. Se disolvió el residuo en diclorometano (30 mL) y se lavó con agua la fase orgánica y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se evaporó. Se recrystalizó en isopropanol el producto bruto, para proporcionar 5-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-3-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-triazina, 1,628 g (80%).

- b) Se tomó 5-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-3-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-triazina (1,221 g, 3 mmol) en diclorometano (25 mL). Bajo argón, se enfrió a -78°C la disolución amarillenta, y se añadió gota a gota tribromuro de boro (2,55 mL, 27 mmol). Se dejó calentar hasta la temperatura ambiente la mezcla de reacción de color rojo, y se agitó durante 18 horas. Después se vertió cuidadosamente en agua de hielo (100 mL) y se agitó durante 1 hora. Se separó por filtración el precipitado amarillo, se lavó con agua y se secó sobre P₂O₅ bajo vacío. Se recrystalizó el sólido en diclorometano/etanol para proporcionar 3-nitro-5-(3-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-triazin-5-il)benzeno-1,2-diol en forma de un sólido amarillo, 0,807 g (71%).

Ejemplo 11

- Como ejemplo de un compuesto de la fórmula general (G) con un resto de 1,3,5-triazin-2,4-diilo como unidad central, se preparó 3-nitro-5-(4-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,3,5-triazin-2-il)benzeno-1,2-diol mediante el siguiente procedimiento:

- a) A una disolución de (E)-N-((dimetilamino)metileno)-3,4-dimetoxi-5-nitrobenzamida (1,12 g, 4 mmol) en etanol (30 mL) se añadió 2-(trifluorometil)nicotinimidamida (0,756 g, 4 mmol). Se calentó a reflujo la mezcla de reacción durante 5 horas. Se enfrió hasta la temperatura ambiente y se eliminó por evaporación el disolvente. Después se disolvió el residuo en una mezcla diclorometano/isopropanol (50 mL, 70:30), y se lavó con agua la fase orgánica, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se evaporó. Se recrystalizó en etanol el producto bruto, para proporcionar 2-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-4-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,3,5-triazina, 1,221 g (75%).

- b) Se tomó en diclorometano (25 mL) una porción de la 2-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-4-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,3,5-triazina (1,221 g, 3 mmol). Bajo argón, se enfrió hasta -78°C la disolución amarillenta y se añadió gota a gota tribromuro de boro (2,55 mL, 27 mmol). Se dejó calentar hasta la temperatura ambiente la mezcla de reacción de color rojo, y se agitó durante 18 horas. Después se vertió cuidadosamente en agua de hielo (100 mL) y se agitó

durante 1 hora. Se separó por filtración el precipitado amarillo, se lavó con agua y se secó sobre P₂O₅ bajo vacío. La recristalización en una mezcla diclorometano/etanol proporcionó 3-nitro-5-(4-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,3,5-triazin-2-il)benceno-1,2-diol en forma de un sólido de color amarillo, 0,966 g (85%).

Ejemplo 12

5 Como ejemplo de un compuesto de la fórmula general (G) con un resto de pirrol-2,5-diilo como unidad central, se preparó 5-(3,4-dihidroxi-5-nitrofenil)-1-metil-2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1H-pirrol-3-carboxilato de etilo mediante el siguiente procedimiento:

10 a) A una disolución agitada de metilamina (0,63 mL, disolución en EtOH al 33%, 5 mmol) en una mezcla de etanol (25 mL) y ácido acético (0,5 mL) a temperatura ambiente, se añadió 3-oxo-3-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)propanoato de etilo (1,305 g, 5 mmol). Se calentó a reflujo durante dos horas la mezcla de reacción, tras de lo cual se eliminó el disolvente por evaporación bajo vacío. A una disolución del producto crudo en dimetilformamida (25 mL) se añadió carbonato de potasio (2,07 g, 15 mmol) en una porción, seguido de 1-(3,4-bis(benciloxi)-5-nitro-fenil)-2-bromo-etanona (2,51 g, 5,50 mmol) y después se agitó a 100°C la mezcla. Cuando ya no era detectable material de partida, se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente la mezcla de reacción y se vertió sobre ácido clorhídrico acuoso 1N enfriado con hielo (100 mL). Se separó por filtración el precipitado resultante, se lavó con agua y se secó. Se cromatografió el residuo sobre gel de sílice. Se reunieron fracciones homogéneas y se evaporaron para proporcionar 5-(3,4-bis(benciloxi)-5-nitrofenil)-1-metil-2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1H-pirrol-3-carboxilato de etilo, 2,492 g (79%).

20 b) Se enfrió a -78°C, con agitación, una disolución de 5-(3,4-bis(benciloxi)-5-nitrofenil)-1-metil-2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1H-pirrol-3-carboxilato de etilo (0,189 g, 0,30 mmol) en diclorometano (10 mL) y se trató, bajo argón, con tribromuro de boro (0,30 g, 1,21 mmol). Se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una hora la suspensión de color morado oscuro resultante, antes de enfriar de nuevo hasta -78°C. Se inactivó la mezcla mediante la adición cuidadosa de metanol. Tras agitar a temperatura ambiente durante treinta minutos, se evaporaron los volátiles y se agitó el residuo con ácido clorhídrico 2N (5 mL) durante treinta minutos. Se separó por filtración el sólido resultante, se lavó con agua (25 mL), y luego con isopropanol frío (5 mL), para proporcionar 5-(3,4-dihidroxi-5-nitrofenil)-1-metil-2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1H-pirrol-3-carboxilato de etilo en forma de un sólido amarillo, 0,126 g (93%).

Ejemplo 13

30 Como ejemplo de un compuesto de la fórmula general (G) con un resto de 2H-tetrazol-2,5-diilo como unidad central, se preparó 3-nitro-5-(2-(5-(trifluorometil)piridin-2-il)-2H-tetrazol-5-il)benceno-1,2-diol mediante el siguiente procedimiento:

35 a) Se agitó a 85°C durante 20 horas una mezcla de 3,4-bis(benciloxi)-5-nitro-benzonitrilo (0,54 g, 1,50 mmol), azida de sodio (0,15 g, 2,25 mmol) y cloruro de amonio (0,12 g, 2,25 mmol) en dimetilformamida (3 ml). Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, se vertió en agua (30 mL) la mezcla de reacción y se acidificó con ácido clorhídrico diluido. Se recogió el precipitado resultante, se lavó con agua y se secó para proporcionar 5-(3,4-bis(benciloxi)-5-nitro-fenil)-2H-tetrazol, 0,53 g (87%).

40 b) Se añadió 2-cloro-5-(trifluorometil)piridina (0,181 g, 1,00 mmol) a una suspensión agitada de 5-(3,4-bis(benciloxi)-5-nitro-fenil)-2H-tetrazol (0,4 g, 1,00 mmol) y carbonato de potasio (0,14 g, 1 mmol) en acetonitrilo (10 mL). Se agitó a temperatura ambiente la mezcla de reacción hasta que esta se hubo completado, después se diluyó con diclorometano y se lavó con agua. Se separó la fase orgánica, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se evaporó a sequedad para dejar un residuo bruto que se recristalizó en una mezcla diclorometano/isopropanol para proporcionar 2-(5-(3,4-bis(benciloxi)-5-nitrofenil)-2H-tetrazol-2-il)-5-(trifluorometil)piridina, 0,389 g (71%).

45 c) Con agitación y bajo argón, se enfrió hasta -78°C una disolución de 2-(5-(3,4-bis(benciloxi)-5-nitrofenil)-2H-tetrazol-2-il)-5-(trifluorometil)piridina (0,274 g, 0,5 mmol) en diclorometano (15 mL), y se trató gota a gota con tribromuro de boro (1,00 g, 4,00 mmol). Se dejó en agitación durante una hora, a temperatura ambiente, la suspensión de color morado oscuro resultante, antes de enfriar de nuevo hasta -78°C. Se inactivó la mezcla mediante la adición cuidadosa de metanol. Tras agitar a temperatura ambiente durante treinta minutos, se evaporaron los volátiles y, durante treinta minutos, se agitó con ácido clorhídrico 2N (5 mL) el residuo. Se separó por filtración el sólido resultante, se lavó con agua (25 mL) y después isopropanol frío (5 mL) para proporcionar 3-nitro-5-(2-(5-(trifluorometil)piridin-2-il)-2H-tetrazol-5-il)benceno-1,2-diol en forma de un sólido amarillo, 0,165 g (90%).

Ejemplo 14

50 Como ejemplo de un compuesto de la fórmula general (G) con un resto de 1,3-tiazol-2,4-diilo como unidad central, se preparó 3-nitro-5-(2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)tiazol-4-il)benceno-1,2-diol mediante el siguiente procedimiento:

55 a) Se hizo refluir durante una noche una mezcla de 2-(trifluorometil)piridina-3-carbotioamida (0,227 g, 1,10 mmol) y 1-[3,4-bis(benciloxi)-5-nitrofenil]-2-bromoetanona (0,50 g, 1,10 mmol) en etanol absoluto (5 mL). Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, se vertió en agua (50 mL) la mezcla de reacción. Se separó por filtración el precipitado resultante, se lavó con agua (25 mL) y se secó. La recristalización en diclorometano/isopropanol proporcionó 4-(3,4-

bis(benciloxi)-5-nitrofenil)-2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)tiazol, 0,539 g (87%).

b) Se enfrió hasta -78°C una disolución de 4-(3,4-bis(benciloxi)-5-nitrofenil)-2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)tiazol (0,146 g, 0,26 mmol) en diclorometano (10 ml) y se trató, bajo argón, con tribromuro de boro (0,26 g, 1,03 mmol). Se dejó en agitación durante una hora la suspensión de color morado oscuro resultante, a temperatura ambiente, antes de enfriar de nuevo hasta -78°C. Se inactivó la mezcla mediante la adición cuidadosa de metanol. Después de agitar a temperatura ambiente durante treinta minutos, se evaporaron los volátiles y se agitó el residuo con ácido clorhídrico 2N (5 mL) durante treinta minutos. Se separó por filtración el sólido resultante, se lavó con agua (25 mL) y después isopropanol frío (5 mL) para proporcionar 3-nitro-5-(2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)tiazol-4-il)benceno-1,2-diol en forma de un sólido amarillo, 0,087 g (87%).

10 **Ejemplo 15**

Como ejemplo de un compuesto de la fórmula general (G) con un resto de 1,2,4-triazol-3,5-diílo como unidad central, se preparó 5-(4-metil-5-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-4H-1,2,4-triazol-3-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol mediante el siguiente procedimiento:

15 a) A una disolución agitada de cloruro de 3,4-dimetoxi-5-nitro-benzoílo (0,50 g, 2,04 mmol) en diclorometano (10 mL) a 0°C, se añadió gota a gota metilamina (1,02 mL, 2,04 mmol, 2M en THF). Se agitó a temperatura ambiente la mezcla de reacción hasta que desapareció todo el material de partida, después se diluyó con diclorometano y se lavó con agua. Se secó sobre sulfato de magnesio anhidro la fase orgánica, se filtró y se evaporó a sequedad para dejar un residuo bruto, que se recristalizó en una mezcla diclorometano/isopropanol para proporcionar 3,4-dimetoxi-N-metil-5-nitro-benzamida, 0,44 g (89%).

20 b) A una suspensión agitada de 3,4-dimetoxi-N-metil-5-nitro-benzamida (0,40 g, 1,66 mmol) en tolueno (10 mL) se añadió pentacloruro de fósforo (0,28 g, 1,83 mmol) en porciones. Una vez finalizada la adición, se calentó a reflujo la mezcla de reacción hasta la desaparición completa del material de partida. La evaporación a sequedad proporcionó un sólido bruto, que se lavó con éter dietílico, proporcionando cloruro de 3,4-dimetoxi-N-metil-5-nitro-bencimidoílo, 0,37 g (85%).

25 c) Se agitó a 85°C durante 20 horas una mezcla de 2-(trifluorometil)nicotinonitrilo (0,43 g, 2,50 mmol), azida de sodio (0,24 g, 3,75 mmol) y cloruro de amonio (0,20 g, 3,75 mmol) en dimetilformamida (2,5 mL). Después de enfriar hasta la temperatura ambiente, se vertió en agua (20 mL) la mezcla de reacción y se acidificó con ácido clorhídrico diluido. Se recogió el precipitado resultante, se lavó con agua y se secó para proporcionar 3-(2H-tetrazol-5-il)-2-(trifluorometil)piridina, 0,484 g (90%).

30 d) Se añadió cloruro de 3,4-dimetoxi-N-metil-5-nitro-bencimidoílo (0,28 g, 1,08 mmol) a una disolución agitada de 3-(2H-tetrazol-5-il)-2-(trifluorometil)piridina (0,215 g, 1 mmol) en piridina seca (3 mL), precalentada a 50°C. Se calentó con precaución a 75-90°C la mezcla resultante, y se mantuvo a esta temperatura hasta que cesó el desprendimiento de nitrógeno. Después se vertió en agua (30 mL) la mezcla y se extrajo con diclorometano (25 mL). Se separó la fase orgánica, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se evaporó a sequedad.

35 Se purificó mediante cromatografía el residuo resultante, para proporcionar 3-(5-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)-2-(trifluorometil)piridina, 0,241 g (59%).

e) A una suspensión agitada de 3-(5-(3,4-dimetoxi-5-nitrofenil)-4-metil-4H-1,2,4-triazol-3-il)-2-(trifluorometil)piridina (0,192 g, 0,47 mmol) en diclorometano (20 mL) a -78°C, bajo argón, se añadió gota a gota tribromuro de boro (0,47 g, 1,88 mmol). Después se dejó en agitación a temperatura ambiente la suspensión púrpura resultante, durante siete horas, antes de enfriarla en un baño de hielo-agua. Se inactivó cuidadosamente la mezcla mediante la adición de metanol. Tras agitar a temperatura ambiente durante treinta minutos, se evaporaron los volátiles y se agitó con ácido clorhídrico 2N (5 mL) durante treinta minutos el residuo. Se separó por filtración el sólido resultante, se lavó con agua (25 mL) y después isopropanol frío (5 mL) para proporcionar, después del secado, 5-(4-metil-5-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-4H-1,2,4-triazol-3-il)-3-nitrobenceno-1,2-diol en forma de un sólido de color anaranjado,

45 0,154 g (86%).

Ejemplo 16

Como ejemplo de un compuesto de la fórmula general (G) con un resto de 1,2,3-tiadiazol-4,5-diílo como unidad central, se preparó 3-nitro-5-(5-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,3-tiadiazol-4-il)benceno-1,2-diol mediante el siguiente procedimiento:

50 a) Se calentó a reflujo una mezcla de 1-(3,4-bis(benciloxi)-5-nitrofenil)-2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)etanona (0,485 g, 0,93 mmol), carbazato de etilo (0,11 g, 1,06 mmol) y ácido p-toluensulfónico (4 mg) en tolueno (10 mL) hasta que cesó la destilación del agua. Se enfrió hasta la temperatura ambiente la mezcla de reacción, se evaporaron a sequedad los disolventes, y se trituró el sólido bruto con éter dietílico (15 mL), se filtró y se secó, proporcionando (Z)-2-(1-(3,4-bis(benciloxi)-5-nitrofenil)-2-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)etiliden)hidrazinocarboxilato de etilo, 0,475 g (84%).

b) Se calentó a reflujo una mezcla de (Z)-2-(1-(3,4-bis(benciloxi)-5-nitrofenil)-2-(2-(trifluorometil)piridin-3-

il)etiliden)hidrazinocarboxilato de etilo (0,388 g, 0,64 mmol) en cloruro de tionilo (2 mL) hasta que no se detectó más material de partida. Se eliminó el exceso de disolvente y se purificó el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílice utilizando como eluyente una mezcla diclorometano/etanol. Se reunieron fracciones homogéneas, y se evaporaron para proporcionar 4-(3,4-bis(benciloxi)-5-nitrofenil)-5-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,3-tiadiazol, 0,184 g (51%).

c) Con agitación, se enfrió hasta -78°C 4-(3,4-bis(benciloxi)-5-nitrofenil)-5-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,3-tiadiazol (0,147 g, 0,26 mmol) en diclorometano (10 mL) y, bajo argón, se trató con tribromuro de boro (0,26 g, 1,03 mmol). Se dejó en agitación a temperatura ambiente la suspensión de color morado oscuro resultante, durante una hora, antes de enfriar de nuevo a -40°C . Se inactivó la mezcla mediante la adición cuidadosa de metanol. Después de agitar a temperatura ambiente durante treinta minutos, se evaporaron los volátiles y se agitó el residuo con ácido clorhídrico 2N (5 mL) durante treinta minutos. Se separó por filtración el sólido resultante, se lavó con agua (25 mL) y después isopropanol frío (5 mL) para proporcionar 3-nitro-5-(5-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,3-tiadiazol-4-il)benceno-1,2-diol en forma de un sólido amarillo, 0,089 g (89%).

Ejemplo 17

Como ejemplo de un compuesto de la fórmula general (I) con un resto de 1,2,4-oxadiazol-3,5-diilo como unidad central, se preparó 3-nitro-5-(3-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)benceno-1,2-diol mediante el siguiente procedimiento:

a) A una disolución agitada de ácido 3,4-bis(benciloxi)-5-nitrobenzoico (0,759 g, 2 mmol) en dimetilformamida (10 mL), a temperatura ambiente, se añadió 1,1-carbonildiimidazol (0,34 g, 2,10 mmol) en una porción. Se dejó en agitación durante noventa minutos la mezcla amarilla resultante, tras de lo cual se añadió (Z)-N'-hidroxi-2-(trifluorometil)nicotinimidamida (0,41 g, 2 mmol) en una porción. Se agitó a temperatura ambiente, durante dos horas, la mezcla resultante y después se vertió en agua (100 mL). Se separó por filtración el precipitado resultante, se lavó con agua y se secó. Tras recristalizar en diclorometano/isopropanol, se obtuvo (Z)-N'-(3,4-bis(benciloxi)-5-nitrobenzoiloxi)-2-(trifluorometil)nicotinimidamida en forma de un sólido de color amarillo claro, 0,88 g (78%).

b) A una disolución agitada del sólido arriba obtenido (0,26 g, 0,46 mmol) en tetrahidrofurano (15 mL), a temperatura ambiente y bajo argón, se añadió una disolución 1N de fluoruro de tetrabutilamonio en tetrahidrofurano (0,7 mL, 0,7 mmol). Se dejó en agitación a temperatura ambiente, durante cuatro horas, la disolución amarilla transparente resultante. Se añadió fluoruro de tetrabutilamonio adicional (0,7 mmol) y se dejó en agitación la mezcla de reacción durante quince horas a temperatura ambiente y después diez horas a 55°C . Tras enfriar hasta la temperatura ambiente, se vertió en agua (150 mL) la mezcla de reacción. Se separó por filtración el precipitado resultante, se lavó con agua y se secó. Se cromatografió sobre gel de sílice el producto bruto, empleando diclorometano como eluyente. Se reunieron fracciones homogéneas, y se evaporaron para proporcionar 5-(3,4-bis(benciloxi)-5-nitrofenil)-3-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol en forma de un sólido casi blanco, 0,21 g (82%).

c) Con agitación, se enfrió hasta -78°C una disolución de 5-(3,4-bis(benciloxi)-5-nitrofenil)-3-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol (0,099 g, 0,18 mmol) en diclorometano (5 mL), bajo argón, y se trató gota a gota con tribromuro de boro (0,18 g, 0,74 mmol). Después se dejó en agitación a temperatura ambiente la suspensión de color morado oscuro resultante, durante una hora, antes de enfriar de nuevo hasta -78°C . Se inactivó la mezcla mediante la adición cuidadosa de metanol. Tras agitar a temperatura ambiente durante treinta minutos, se evaporaron los volátiles y se agitó con ácido clorhídrico 2N (5 mL) durante treinta minutos el residuo. Se separó por filtración el sólido resultante, se lavó con agua (25 mL) y después isopropanol frío (5 mL), para proporcionar 3-nitro-5-(3-(2-(trifluorometil)piridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)benceno-1,2-diol en forma de un sólido amarillo, 0,058 g (88%).

Ejemplo 18

Como ejemplo de un compuesto de la fórmula general (I) con un resto de 1,2,4-oxadiazol-3,5-diilo como unidad central, se preparó 5-[3-(2,5-dicloro-4,6-dimetilpiridin-3-il)-[1,2,4]oxadiazol-5-il]-3-nitrobenceno-1,2-diol mediante el siguiente procedimiento:

a) Se calentó a 80°C durante dos horas una suspensión agitada de ácido 4-hidroxi-3-metoxi-5-nitrobenzoico (2,00 g, 9,38 mmol) en cloruro de tionilo (8,2 mL). Se eliminó a vacío el exceso de cloruro de tionilo. Se disolvió en DMA (15,4 mL) el sólido amarillo resultante y, a continuación, se añadieron (Z)-2,5-dicloro-N'-hidroxi-4,6-dimetilnicotinimidamida (2,636 g, 11,26 mmol) y piridina (6,2 mL). Se calentó a 120°C durante 2,5 horas la disolución de color rojo. Se enfrió hasta la temperatura ambiente la mezcla de reacción, y se vertió en una mezcla de HCl concentrado (10 mL) y hielo (80 g), y después se agitó durante treinta minutos. Se separó por filtración el precipitado de color amarillo, se lavó con agua y se secó a vacío. La recristalización en mezcla diclorometano/isopropanol proporcionó 2,42 g (62%) de 4-(3-(2,5-dicloro-4,6-dimetilpiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-2-metoxi-6-nitrofenol en forma de un sólido cristalino amarillo.

b) A una disolución, enfriada con hielo, de 4-(3-(2,5-dicloro-4,6-dimetilpiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-2-metoxi-6-nitrofenol (2,40 g, 5,84 mmol) en NMP (19 mL) se añadió cloruro de aluminio (0,977 g, 7,33 mmol) seguido de la adición de piridina (1,93 mL). Se calentó a 60°C , durante 1 hora, la mezcla de reacción. Se enfrió hasta la temperatura ambiente y se vertió en disolución 2N de HCl (aproximadamente 40 mL). Se separó por filtración el

precipitado, se lavó con agua y se secó bajo vacío. La recristalización en ácido acético proporcionó 1,88 g (81%) de 5-[3-(2,5-dicloro-4,6-dimetilpiridin-3-il)-[1,2,4]oxadiazol-5-il]-3-nitrobenzeno-1,2-diol.

Ejemplo 19

Se preparan formulaciones farmacéuticas de la manera siguiente:

5 Cápsula:

Compuesto A	15,0%
Monohidrato de lactosa	43,0%
Celulosa microcristalina	30,0%
Povidona	4,0%

10 Croscarmelosa sódica	5,0%
Talco	2,0%
Estearato de magnesio	1,0%

Cápsula:

Compuesto A	15,0%
15 Celulosa microcristalina	72,5%
Etilcelulosa	5,0%
Almidón-glicolato de sodio	6,0%
Dióxido de silicio coloidal	0,5%
Estearato de magnesio	1,0%

20 Comprimido:

Compuesto A	20,0%
Celulosa microcristalina	25,0%
Dihidrato de fosfato de calcio dibásico	40,0%
Povidona	6,0%

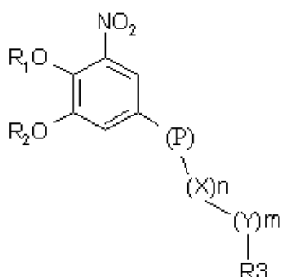
25 Croscarmelosa sódica	6,0%
Talco	2,0%
Estearato de magnesio	1,0%

Ejemplo 20

30 Se trata con comprimidos que contienen 50 mg de compuesto A a pacientes que padecen enfermedad de Parkinson y que están en terapia con L-DOPA. Se manifiesta una mejora significativa del cuadro clínico.

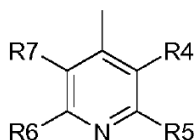
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I:

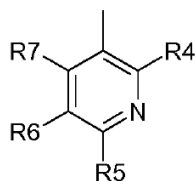


I

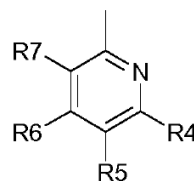
- 5 en donde R_1 y R_2 son hidrógeno; X representa un grupo metileno; Y representa un átomo de oxígeno o de azufre; n representa el número 0, 1, 2 o 3 y m representa el número 0 o 1; R_3 representa un grupo de piridina según la fórmula A, B o C, que está conectado como indica el enlace sin señalar:



A



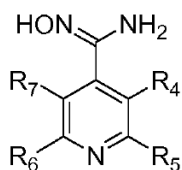
B



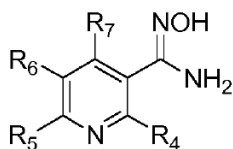
C

- 10 en donde R_4 , R_5 , R_6 y R_7 , de manera independiente entre sí, representan hidrógeno, alquilo C_1-C_6 , tioalquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , ariloxi C_6-C_{12} o un grupo tioarilo C_6-C_{12} , alcanilo C_1-C_6 o grupo aroilo C_7-C_{13} , amino, (alquil C_1-C_6)amino, di(alquil C_1-C_6)amino, (cicloalquil C_3-C_{12})amino, (heterocicloalquil C_3-C_{12})amino, (alquil C_1-C_6)sulfonilo, (aril C_6-C_{12})sulfonilo, halógeno, haloalquilo C_1-C_6 , trifluorometilo, ciano, nitro o un grupo heteroarilo; o bien dos o más de los restos R_4 , R_5 , R_6 y R_7 tomados juntos representan anillos alifáticos o heteroalifáticos o anillos aromáticos o heteroaromáticos y en donde P es 1,2,4-oxadiazol-3,5-diilo o una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula I.
- 15 2. Un compuesto o sal según la reivindicación 1, en donde el compuesto es 5-(3-(2,5-dicloro-4,6-dimetilpiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-3-nitrobenzo-1,2-diol.
3. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o sal según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2.
4. Un compuesto o sal según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, o una composición según la reivindicación 3, para uso en el tratamiento de un trastorno del sistema nervioso central y periférico.
- 20 5. Un compuesto o sal o composición para uso según la reivindicación 4, en donde el trastorno del sistema nervioso central o periférico es la enfermedad de Parkinson.
6. Un compuesto o sal según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, o una composición según la reivindicación 3, para uso en la reducción de la actividad de COMT en un sujeto que padece un trastorno del sistema nervioso central y periférico.
- 25 7. Un compuesto o sal según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, o una composición según la reivindicación 3, para uso en el incremento de los niveles de L-DOPA en el cerebro o el plasma de un sujeto que padece un trastorno del sistema nervioso central y periférico.
8. Un compuesto o sal según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, o una composición según la reivindicación 3, para uso en el incremento de la biodisponibilidad de L-DOPA en el cerebro o plasma de un sujeto que padece un trastorno del sistema nervioso central y periférico.
- 30 9. Un compuesto o sal según cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2, o una composición según la reivindicación 3, para uso en la disminución de los niveles de 3-O-metil-L-DOPA (3-OMD) en el cerebro o plasma de un sujeto que padece un trastorno del sistema nervioso central y periférico.

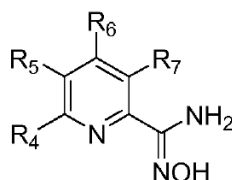
10. Procedimiento para preparar compuestos según la fórmula general I de la reivindicación 1, en donde P representa un grupo 1,2,4-oxadiazolilo, comprendiendo dicho procedimiento etapas en donde un compuesto de fórmula IIA, IIB o IIC,



IIA

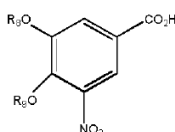


IIB

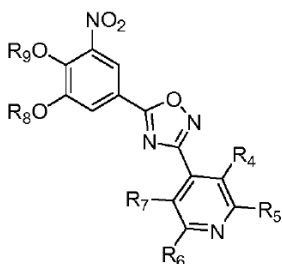


IIC,

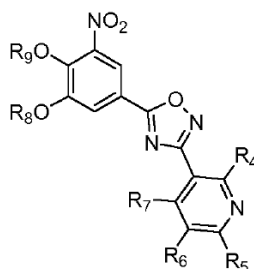
5 en donde R₄, R₅, R₆ y R₇ se definen como en la fórmula general I de la reivindicación 1, se somete a ciclación con un compuesto de fórmula III



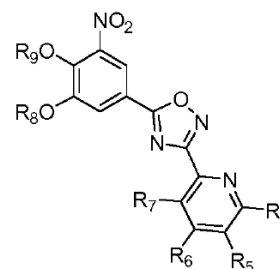
en condiciones adecuadas para producir derivados de oxadiazol de fórmula VIA, VIB o VIC,



VIA



VIB



VIC,

10 opcionalmente seguida de eliminación de los grupos protectores R₈ y/o R₉.

11. Procedimiento según la reivindicación 10, en donde se activa el compuesto de fórmula III por reacción con cloruro de tionilo o 1,1-carbonildiimidazol.

12. Procedimiento según la reivindicación 10 u 11, en donde la etapa de ciclación que consiste en condensación y deshidratación se lleva a cabo secuencialmente en una reacción en un solo recipiente.

15 13. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 12, en donde la etapa de ciclación se lleva a cabo en presencia de una base orgánica adecuada.

14. Procedimiento según la reivindicación 12, en donde la etapa de ciclación se lleva a cabo en presencia de piridina.

20 15. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 14, en donde, de manera independiente entre sí o de forma conjunta, se eliminan y se sustituyen por hidrógeno los grupos R₈ y R₉.

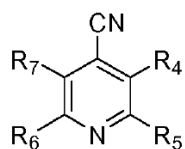
16. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 15, en donde R₈ y R₉ del compuesto de fórmula III, de manera independiente entre sí, representan metilo o hidrógeno.

17. Procedimiento según la reivindicación 16, en donde se elimina el grupo metilo por reacción con cloruro de aluminio y piridina en N-metilpirrolidinona.

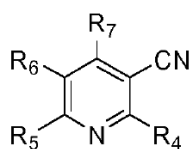
25 18. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 17, en donde la condensación y deshidratación se llevan a cabo en un disolvente aprótico dipolar.

19. Procedimiento según la reivindicación 18, en donde la condensación y deshidratación se llevan a cabo en dimetilacetamida, N-metilpirrolidinona o dimetilsulfóxido.

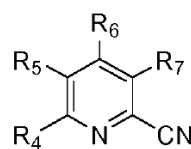
20. Procedimiento según una cualquiera de las reivindicaciones 10 a 19, en donde el compuesto de fórmula VA, VB o VC se obtiene mediante la reacción del compuesto IVA, IVB o IVC, respectivamente,



IVA



IVB

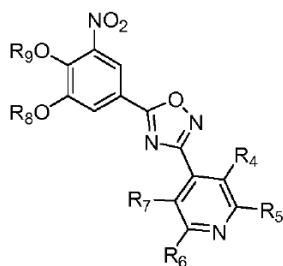


IVC

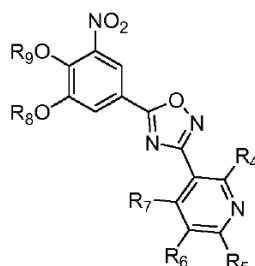
5 en donde R₄, R₅, R₆ y R₇ se definen como en la fórmula general I de la reivindicación 1, con hidroxilamina en presencia de un agente quelante en condiciones adecuadas para producir derivados de amidoxima.

21. 4-(3-(2,5-Dicloro-4,6-dimetilpiridin-3-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il)-2-metoxi-6-nitrofenol.

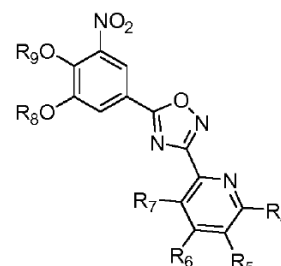
22. Un compuesto o sal de fórmula VIA, VIB o VIC



VIA



VIB



VIC

10 en donde R₄, R₅, R₆ y R₇ se definen como en la reivindicación 1, en donde R₈ y R₉ representan cada uno, de manera independiente, hidrógeno o un grupo protector seleccionado de metilo, etilo, isopropilo, bencilo, 4-metoxibencilo, metoximetilo, benciloximetilo, metoxietoximetilo, tetrahidropiranilo, fenacilo, alilo, trimetilsililo, terc-butildimetilsililo, benciloxicarbonilo, terc-butoxicarbonilo, derivados de éster, sulfonato, carbamato, fosfinato, acetal y cetal.

Figura 1

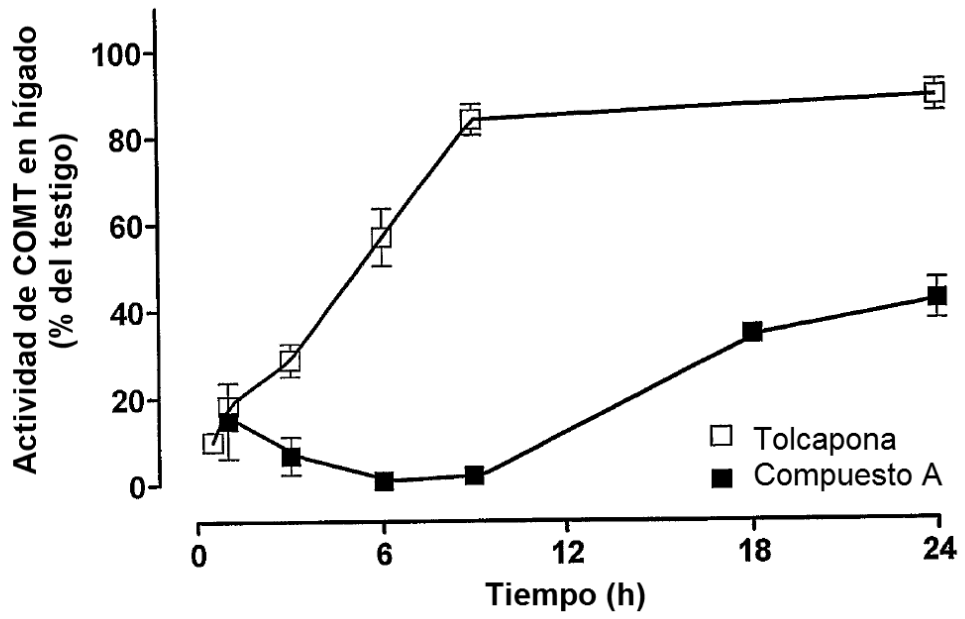


Figura 2

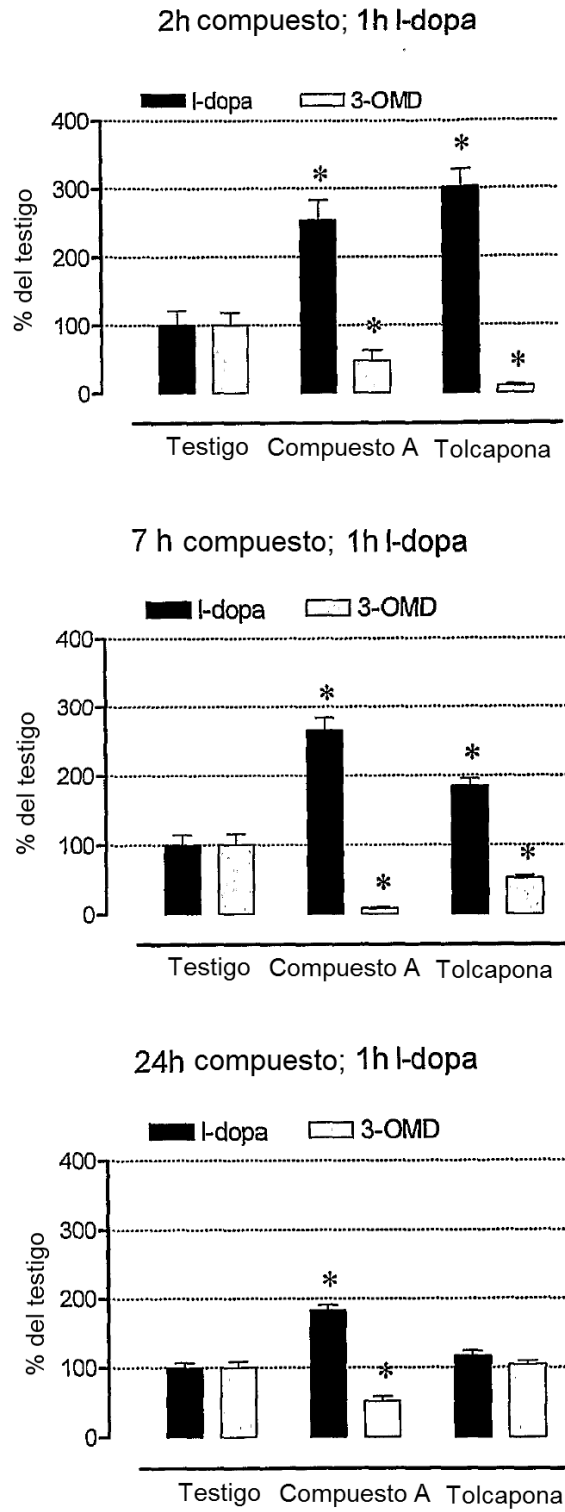


Figura 3

