

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 389 879**

51 Int. Cl.:  
**C07D 413/04** (2006.01)  
**C07D 413/14** (2006.01)  
**A61K 31/405** (2006.01)  
**A61P 37/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **10158582 .6**  
96 Fecha de presentación: **19.12.2007**  
97 Número de publicación de la solicitud: **2206710**  
97 Fecha de publicación de la solicitud: **14.07.2010**

54 Título: **Derivados de indol como agonistas del receptor S1P1**

30 Prioridad:  
**21.12.2006 GB 0625647**  
**19.04.2007 GB 0707615**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:  
**02.11.2012**

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:  
**02.11.2012**

73 Titular/es:  
**GLAXO GROUP LIMITED (100.0%)**  
**GLAXO WELLCOME HOUSE BERKELEY**  
**AVENUE GREENFORD**  
**MIDDLESEX UB6 0NN, GB**

72 Inventor/es:  
**AHMED, MAHMOOD;**  
**MYATT, JAMES;**  
**NORTON, DAVID y**  
**RIVERS, DEAN ANDREW**

74 Agente/Representante:  
**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

ES 2 389 879 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Derivados de indol como agonistas del receptor S1P1.

La presente invención se refiere a nuevos derivados de oxadiazol que tienen actividad farmacológica, a procesos para su preparación, a composiciones farmacéuticas que los contienen y a su uso en el tratamiento de diversos trastornos.

El 1-fosfato de esfingosina (S1P) es un mediador lípido bioactivo formado por la fosforilación de esfingosina mediante esfingosina cinasas y se encuentra en altos niveles en la sangre. Es producido y secretado por diversos tipos de células, incluidas las de origen hematopoyético tales como plaquetas y mastocitos (Okamoto *et al* 1998 *J Biol Chem* 273(42):27104; Sanchez y Hla 2004, *J Cell Biochem* 92:913). Tiene un amplio espectro de acciones biológicas, incluida la regulación de la proliferación celular, diferenciación, motilidad, vascularización y activación de células inflamatorias y plaquetas (Pyne y Pyne 2000, *Biochem J.* 349: 385). Se han descrito cinco subtipos de receptor sensible a S1P, S1P1 (Edg-1), S1P2 (Edg-5), S1P3 (Edg-3), S1P4 (Edg-6), y S1P5 (Edg-8), que forman parte de la familia de receptores de los genes de diferenciación endotelial acoplados a la proteína G (Chun *et al* 2002 *Pharmacological Reviews* 54:265, Sanchez y Hla 2004 *J Cellular Biochemistry*, 92:913). Estos 5 receptores presentan expresión de ARNm diferencial, estando S1P1-3 ampliamente expresado, S1 P4 expresado en tejidos linfoides y hematopoyéticos y S1 5 principalmente expresado en el cerebro y en menor grado en el bazo. Señalizan mediante diferentes subgrupos de proteínas G para estimular una gama de respuestas biológicas (Kluk y Hla 2002 *Biochem et Biophysica Acta* 1582:72, Sanchez y Hla 2004, *J Cellular Biochem* 92:913).

Los papeles propuestos para el receptor de S1 P1 incluyen el tráfico de linfocitos, la inducción/supresión de citocinas y los efectos sobre las células endoteliales (Rosen y Goetzl 2005 *Nat Rev Immunol.* 5:560). Los agonistas del receptor de S1P1 se han usado en diversos modelos de autoinmunidad y trasplante en animales, incluyendo los modelos de encefalomiелitis autoinmunitaria experimental (EAE) de MS, para disminuir la gravedad de la enfermedad inducida (Brinkman *et al* 2003 *JBC* 277:21453; Fujino *et al* 2003 *J Pharmacol Exp Ther* 305:70; Webb *et al* 2004 *J Neuroimmunol* 153:108; Rausch *et al* 2004 *J Magn Reson Imaging* 20:16). Se describe que esta inmunidad está mediada por el efecto de los agonistas de S1P1 sobre la circulación de linfocitos a través del sistema linfático. El tratamiento con agonistas de S1 P1 da como resultado el secuestro de linfocitos dentro de órganos linfoides secundarios tales como los ganglios linfáticos, induciendo una linfopenia periférica reversible en modelos animales (Chiba *et al* 1998, *J Immunology* 160:5037, Forrest *et al* 2004 *J Pharmacol Exp Ther* 309:758; Sanna *et al* 2004 *JBC* 279:13839). Los datos publicados sobre agonistas sugieren que el tratamiento con el compuesto induce la pérdida del receptor de S1P1 de la superficie celular mediante internalización (Graler y Goetzl 2004 *FASEB J* 18:551; Matloubian *et al* 2004 *Nature* 427:355; Jo *et al* 2005 *Chem Biol* 12:703) y es esta disminución del receptor de S1P1 sobre las células del sistema inmunitario lo que contribuya a la disminución del retroceso de las células T desde los ganglios linfáticos hasta el torrente sanguíneo.

La supresión del gen S1P1 causa letalidad embrionaria. Los experimentos para examinar el papel del receptor de S1 P1 en la migración y el tráfico de linfocitos han incluido la transferencia adoptiva de células T deficientes en S1 P1 marcadas en los ratones de tipo salvaje irradiados. Estas células mostraron menos egrésión desde órganos linfoides secundarios (Matloubian *et al* 2004 *Nature* 427:355).

También se ha atribuido a S1 P1 un papel en la modulación de la unión a las células endoteliales (Allende *et al* 2003 102:3665, Blood Singelton *et al* 2005 *FASEB J* 19:1646). Con respecto a esta acción endotelial, se ha descrito que los agonistas de S1 P1 tienen un efecto sobre los ganglios linfáticos aislados que pueden estar contribuyendo a un papel en la modulación de los trastornos del sistema inmunitario. Los agonistas de S1 P1 causaron un cierre de las "puertas" del estroma endotelial de los senos linfáticos que drenan los ganglios linfáticos y evitan la egrésión de los linfocitos (Wei *et al* 2005, *Nat. Immunology* 6:1228).

Se ha demostrado que el compuesto inmunosupresor FTY720 (JP11080026-A) disminuye los linfocitos circulantes en animales y el hombre, tienen actividad moduladora de enfermedades en modelos animales de trastornos inmunitarios y disminuyen las velocidades de remisión en esclerosis múltiple de recaída y remisión (Brinkman *et al* 2002 *JBC* 277:21453, Mandala *et al* 2002 *Science* 296:346, Fujino *et al* 2003 *J Pharmacology and Experimental Therapeutics* 305:45658, Brinkman *et al* 2004 *American J Transplantation* 4:1019, Webb *et al* 2004 *J Neuroimmunology* 153:108, Morris *et al* 2005 *Eur J Immunol* 35:3570, Chiba 2005 *Pharmacology and Therapeutics* 108:308, Kahan *et al* 2003, *Transplantation* 76:1079, Kappos *et al* 2006 *New Eng J Medicine* 335:1124). Este compuesto es un profármaco que es fosforilado in vivo por esfingosina quinasas para dar una molécula que tiene actividad agonista en los receptores S1 P1, S1 P3, S1 P4 y S1 P5. Los estudios clínicos han demostrado que el tratamiento con FTY720 da como resultado bradicardia en las primeras 24 horas de tratamiento (Kappos *et al* 2006 *New Eng J Medicine* 335:1124). Se cree que la bradicardia es debida a agonismo en el receptor de S1 P3, en base a cierto número de experimentos con animales y basados en células. Entre ellos, se incluye el uso de animales genosuprimidos para S1 P3 que, a diferencia de los ratones naturales, no demuestran bradicardia tras la administración de FTY720 y el uso de compuestos selectivos para S1 P1. (Hale *et al* 2004 *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 14:3501, Sanna *et al* 2004 *JBC* 279:13839, Koyrakh *et al* 2005 *American J Transplantation* 5:529)

Por esto, existe necesidad de compuestos agonistas del receptor de S1 P1 con selectividad sobre S1 P3 que pueda

esperarse que presenten una tendencia reducida a inducir bradicardia.

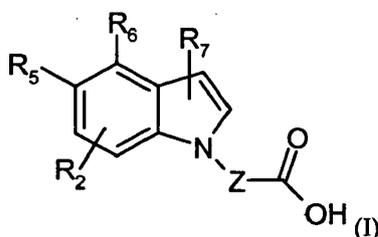
Las siguientes solicitudes de patentes describen derivados de oxadiazol como agonistas de S1 P1: WO03/105771, WO05/058848, WO06/047195, WO06/100633, WO06/115188, WO06/131336, WO07/024922 y WO07/116866.

- 5 La siguiente solicitud de patente describe derivados de indol-oxadiazol como agentes antipicornvirales: WO96/009822. Las siguientes solicitudes de patentes describen derivados de ácidos indolcarboxílicos como antagonistas de receptores leucotriénicos, plaguicidas y fungicidas agroquímicos, respectivamente: WO06/090817, EP 0 439 785 y DE 39 39 238.

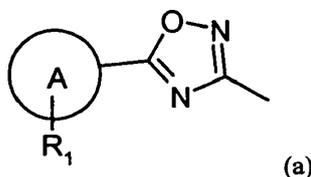
- 10 La solicitud de patente JP 2007 262009 describe derivados de indol que tienen actividad como agonistas del receptor S1P. Las solicitudes de patente WO 04/103279 y WO 05/032465 describen derivados de oxadiazol como agonistas del receptor S1P.

Por lo tanto, la presente invención proporciona un compuesto que es ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il]butanoico y sus sales farmacéuticamente aceptables.

- 15 La presente invención también describe compuestos de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



en donde, uno de R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> es hidrógeno o R<sub>2</sub> y el otro es (a)



A es un fenilo o un anillo heteroarílico de 5 o 6 miembros;

- 20 R<sub>1</sub> es hidrógeno o hasta tres sustituyentes independientemente seleccionados de halógeno, alquilo C<sub>(1-6)</sub>, cicloalquilo C<sub>(3-6)</sub>, alcoxi C<sub>(1-6)</sub>, cicloalquiloxi C<sub>(3-6)</sub>, trifluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometilo, ciano, nitro, piperidina opcionalmente sustituida, pirrolidina opcionalmente sustituida, fenilo opcionalmente sustituido y anillos heteroarílicos de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituidos;

- 25 cuando R<sub>1</sub> es fenilo, piperidina, pirrolidina o un anillo heteroarílico de 5 o 6 miembros puede estar sustituido con hasta tres sustituyentes seleccionados de halógeno, alquilo C<sub>(1-6)</sub>, alcoxi C<sub>(1-6)</sub>, trifluorometoxi, difluorometoxi, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, trifluorometilo y ciano; R<sub>2</sub> es hidrógeno o hasta tres sustituyentes independientemente seleccionados de halógeno, alquilo C<sub>(1-4)</sub>, alcoxi C<sub>(1-4)</sub>, trifluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometilo y ciano;

R<sub>7</sub> es hidrógeno o halógeno;

- 30 Z es alquilo C<sub>(1-4)</sub> que está opcionalmente interrumpido con N o O y está opcionalmente sustituido con halógeno o metilo.

En una realización de la fórmula (I), cuando A es fenilo o piridilo R<sub>1</sub> es dos sustituyentes en las posiciones para y meta en A respecto del anillo de oxadiazol.

En una realización de la fórmula (I), cuando A es tienilo R<sub>1</sub> es dos sustituyentes en las posiciones 4 y 5.

En una realización de la fórmula (I)

- 35 R<sub>5</sub> es hidrógeno y R<sub>6</sub> es (a); y/o

A es tienilo, piridilo o fenilo; y/o

R<sub>1</sub> es hasta tres sustituyentes seleccionados de halógeno, alcoxi C<sub>1-6</sub>, o trifluorometilo, fenilo opcionalmente sustituido, ciclohexilo opcionalmente sustituido, ciano, trifluorometoxi, piperidina opcionalmente sustituida, pirrolidina opcionalmente sustituida, alquilo C<sub>1-6</sub> y NO<sub>2</sub>; y/o

R<sub>2</sub> es hidrógeno; y/o

5 R<sub>7</sub> es hidrógeno o halógeno; y/o

Z es alquilo C<sub>(1-4)</sub> que está opcionalmente interrumpido con N o O y está opcionalmente sustituido con fluoro o metilo.

En una realización de la fórmula (I)

R<sub>5</sub> es hidrógeno y R<sub>6</sub> es (a); y/o

10 A es piridilo o fenilo; y/o

R<sub>1</sub> es hasta dos sustituyentes seleccionados de halógeno, alcoxi C<sub>1-6</sub>, o trifluorometilo, fenilo opcionalmente sustituido, ciclohexilo opcionalmente sustituido, ciano, trifluorometoxi, piperidina opcionalmente sustituida, pirrolidina opcionalmente sustituida, alquilo C<sub>1-6</sub> y NO<sub>2</sub>; y/o

R<sub>2</sub> es hidrógeno; y/o

15 R<sub>7</sub> es hidrógeno, cloro o bromo; y/o

Z es alquilo C<sub>(2-3)</sub> no sustituido.

En una realización de la fórmula (I)

R<sub>5</sub> es hidrógeno y R<sub>6</sub> es (a); y/o

A es piridilo o fenilo; y/o

20 R<sub>1</sub> es hasta dos sustituyentes seleccionados de cloro, bromo, metoxi, propoxi, isopropoxi, trifluorometilo, fenilo sustituido con halo, fenilo, ciclohexilo, ciano, trifluorometoxi, piperidina, pirrolidina, etilo o NO<sub>2</sub>; y/o

R<sub>2</sub> es hidrógeno; y/o

R<sub>7</sub> es hidrógeno, cloro o bromo; y/o

Z es alquilo C<sub>(2-3)</sub> no sustituido.

25 En una realización de la fórmula (I)

R<sub>5</sub> es hidrógeno y R<sub>6</sub> es (a); y/o

A es piridilo o fenilo; y/o

R<sub>1</sub> es hasta dos sustituyentes seleccionados de cloro, isopropoxi y ciano; y/o

R<sub>2</sub> es hidrógeno; y/o

30 R<sub>7</sub> es hidrógeno; y/o

Z es alquilo C<sub>(2-3)</sub> no sustituido.

En una realización de la fórmula (I),

R<sub>5</sub> es (a) y R<sub>6</sub> es hidrógeno.

A es tiofeno o fenilo opcionalmente sustituido; y/o

35 R<sub>1</sub> es hidrógeno, halógeno, alcoxi C<sub>1-4</sub>, o trifluorometilo; y/o

R<sub>2</sub> es hidrógeno; y/o

Z es etileno.

En otra realización de la fórmula (I),

R<sub>5</sub> es (a) y R<sub>6</sub> es hidrógeno; y/o

A es tiofeno sustituido con fenilo; y/o

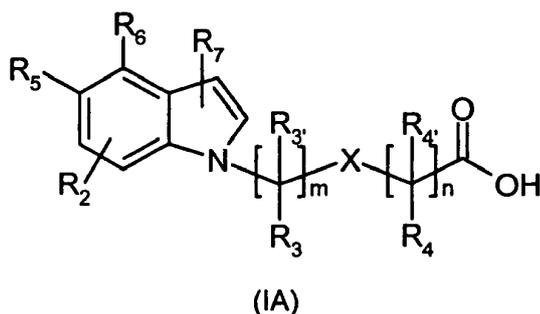
R<sub>1</sub> es hidrógeno, halógeno, alcoxi C<sub>(1-4)</sub>, o trifluorometilo; y/o

R<sub>2</sub> es hidrógeno; y/o

Z es etileno.

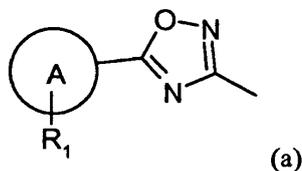
- 5 cuando R<sub>1</sub> es fenilo o un anillo heteroarílico de 5 ó 6 miembros puede estar sustituido con hasta tres sustituyentes seleccionados de halógeno, alquilo C<sub>(1-4)</sub>, alcoxi C<sub>(1-4)</sub>, trifluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometilo y ciano;

La presente invención también describe compuestos de fórmula (IA) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



10 donde:

uno de R<sub>5</sub> y R<sub>6</sub> es hidrógeno o R<sub>2</sub> y el otro es (a)



A es un fenilo o un anillo heteroarílico de 5 o 6 miembros;

- 15 R<sub>1</sub> es hidrógeno o hasta tres sustituyentes independientemente seleccionados de halógeno, alquilo C<sub>(1-4)</sub>, alcoxi C<sub>(1-4)</sub>, trifluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometilo, ciano, fenilo opcionalmente sustituido y anillos heteroarílicos de 5 ó 6 miembros opcionalmente sustituidos;

R<sub>2</sub> es hidrógeno o hasta tres sustituyentes independientemente seleccionados de halógeno, alquilo C<sub>(1-4)</sub>, alcoxi C<sub>(1-4)</sub>, trifluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometilo y ciano;

cada uno de R<sub>3</sub>, R<sub>3'</sub>, R<sub>4</sub> y R<sub>4'</sub> se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno y metilo;

- 20 R<sub>7</sub> es hidrógeno o halógeno;

X es NH opcionalmente sustituido con metilo, O, CH<sub>2</sub> opcionalmente sustituido con fluoro o metilo, o un enlace directo;

m es 0-2; y

n es 0 -4.

- 25 Cuando R<sub>1</sub> es fenilo o un anillo heteroarílico de 5 ó 6 miembros puede estar sustituido con hasta tres sustituyentes seleccionados de halógeno, alquilo C<sub>(1-4)</sub>, alcoxi C<sub>(1-4)</sub>, trifluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometilo y ciano.

Cuando X es NH puede estar sustituido con metilo.

Cuando X es CH<sub>2</sub> puede estar sustituido con fluoro o metilo.

En una realización de la fórmula (IA),

A es tiofeno o fenilo opcionalmente sustituido;

R<sub>1</sub> es hidrógeno, halógeno, alcoxi C<sub>1-4</sub>, o trifluorometilo;

cada uno de R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> es hidrógeno;

X es un enlace directo;

5 m es 2; y

n es 0.

En otra realización de la fórmula (IA),

A es tiofeno sustituido con fenilo;

R<sub>1</sub> es hidrógeno, halógeno, alcoxi C<sub>1-4</sub>, o trifluorometilo;

10 cada uno de R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> y R<sub>4</sub> es hidrógeno;

X es un enlace directo;

m es 2; y

n es 0

15 El término "alquilo" como grupo o parte de un grupo, p.ej. alcoxi o hidroxialquilo se refiere a un grupo alquilo lineal o ramificado en todas las formas isómeras. El término "alquilo C<sub>(1-6)</sub>" se refiere a un grupo alquilo, copmo se ha definido más arriba, que contiene al menos 1, y a lo sumo 6 átomos de carbono.

Ejemplos de tales grupos alquilo incluyen metilo, etilo, propilo, *iso*-propilo, *n*-butilo, *isobut*ilo, *sec*-butilo, o *terc*-butilo. Ejemplos de tales grupos alcoxi incluyen metoxi, etoxi, *n*-propoxi, *iso*-propoxi, *n*-butoxi, *iso*-butoxi, *sec*-butoxi y *terc*-butoxi.

20 Los grupos cicloalquilo C<sub>(3-6)</sub> adecuados incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

Los grupos cicloalquiloxi C<sub>(3-6)</sub> adecuados incluyen ciclopropoxi, ciclobutoxi, ciclopentoxi y ciclohexiloxi.

Tal como se usa aquí, el término "halógeno" se refiere a flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br), o yodo (I) y el término "halo" se refiere al halógeno: fluoro (-F), cloro (-Cl), bromo(-Br) y yodo(-I).

25 El término "heteroarilo" representa un anillo insaturado que comprende uno o más heteroátomos. Cuando el término heteroarilo representa un grupo de 5 miembros, contiene un heteroátomo seleccionado entre O, N o S y opcionalmente puede contener de 1 a 3 átomos de nitrógeno adicionales. Cuando el heteroarilo representa un grupo de 6 miembros, contiene de 1 a 3 átomos de nitrógeno. Los ejemplos de tales anillos heteroarílicos de 5 o 6 miembros incluyen pirrolilo, triazolilo, tiadiazolilo, tetrazolilo, imidazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, tiazolilo, isoxazolilo, oxazolilo, oxadiazolilo, furazanilo, furanilo, tienilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridazinilo y triazinilo.

30 En algunos de los compuestos de fórmula (I), dependiendo de la naturaleza del sustituyente hay átomos de carbono quirales y, por lo tanto, los compuestos de fórmula (I) pueden existir como estereoisómeros. La descripción se extiende a todos los isómeros ópticos tales como los estereoisómeros de los compuestos de fórmula (I) incluyendo los enantiómeros, diastereoisómeros y las mezclas de los mismos, tales como los racematos. Las diferentes formas estereoisómeras pueden separarse o resolverse entre sí mediante métodos convencionales, o cualquier isómero  
35 dado puede obtenerse mediante síntesis estereoselectivas o asimétricas convencionales.

Algunos de los compuestos de la presente invención pueden existir en diversas formas tautómeras y hay que entender que la invención abarca todas estas formas tautómeras.

Compuestos adecuados de fórmula (I) son:

40 Ácido 3-(5-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1*H*-indol-1-il)propanoico

Ácido 3-[5-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1*H*-indol-1-il]propanoico

Ácido 3-[3-cloro-5-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1*H*-indol-1-il]propanoico

Ácido 3-(3-cloro-5-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1*H*-indol-1-il)propanoico

Ácido 3-(4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1*H*-indol-1-il)propanoico

Ácido 3-[4-(5-{3-cloro-4-[(trifluorometil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1*H*-indol-1-il]propanoico

- Ácido 3-[4-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoico
- Ácido 3-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoico
- Ácido 3-[5-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoico
- Ácido (5-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)acético
- 5 Ácido 3-[3-bromo-5-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoico
- Ácido 5-[5-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]pentanoico
- Ácido 4-[5-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico
- Ácido 4-[5-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico
- Ácido (2S)-3-[5-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]-2-metilpropanoico
- 10 Ácido 2,2-dimetil-3-(5-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico
- Ácido 3-[5-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]-2,2,3-trifluoropropanoico
- Ácido 4-[4-(5-{3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico
- Ácido 3-[5-(5-{3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoico
- Ácido 3-[4-(5-{3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoico
- 15 Ácido 3-(4-{5-[2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico
- Ácido 3-(4-{5-[4-ciclohexil-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico
- Ácido 3-(4-{5-[4-[(1-metiletil)oxi]-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico
- Ácido [4-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]acético
- Ácido [4-(5-{3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]acético
- 20 Ácido 3-(4-{5-[2'-fluoro-2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico
- Ácido 4-[4-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico
- Ácido 4-[4-(5-{3-cloro-4-[(trifluorometil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico
- Ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico
- Ácido 4-(4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)butanoico
- 25 Ácido 4-(4-{5-[2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)butanoico
- Ácido 3-(4-{5-[4-metiloxi-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico
- Ácido 4-(4-[5-(3-ciano-4-[(R)-1-metilpropil]oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il)butanoico
- Ácido 4-(4-[5-(3-ciano-4-[(1S)-1-metilpropil]oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il)butanoico
- Ácido 3-(4-{5-[3-etil-4-(1-piperidinil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico
- 30 Ácido 3-(4-[5-(4-ciclohexil-3-etilfenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il)propanoico
- Ácido 3-(4-{5-[5-cloro-6-(1-pirrolidinil)-3-piridinil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico
- Ácido 4-[4-(5-{3-bromo-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico
- Ácido 4-(4-{5-[3-cloro-4-(2-metilpropil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)butanoico
- Ácido 3-(4-{5-[4-(2-metilpropil)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico
- 35 Ácido 4-(4-{5-[3-ciano-4-(2-metilpropil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)butanoico
- Ácido 4-(4-[5-(2-ciano-4-bifenilil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il)butanoico
- Ácido 3-(3-cloro-4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico

Ácido 3-[3-cloro-5-(5-[3-cloro-4-[(trifluorometil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoico

Ácido 3-(3-cloro-5-{5-[3-cloro-4-(propiloxi)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico

Ácido 3-(3-cloro-5-{5-[3-cloro-4-(metiloxi)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico

Ácido 3-(3-cloro-5-{5-[4-(metiloxi)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico

5 Ácido 3-(3-cloro-5-{5-[3-cloro-4-(etiloxi)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico

Ácido 3-[3-cloro-5-(5-{3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoico

Ácido 3-(3-cloro-5-{5-[4-nitro-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico

Ácido 3-[3-cloro-5-(5-{4-cloro-3-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoico

Ácido 3-(3-cloro-5-{5-[6-(metiloxi)-3-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico

10 3-(5-{5-[6-(trifluorometil)-3-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico

Ácido 3-(5-[5-(4-fenil-2-tienil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il)propanoico

Ácido 3-(3-cloro-5-[5-(4-ciclohexilfenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il)propanoico

Ácido 3-(3-cloro-5-{5-[6-(4-fluorofenil)-3-piridinil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico

Ácido 3-(3-cloro-5-{5-[6-(4-fluorofenil)-3-piridinil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico

15 o sus sales farmacéuticamente aceptables.

Los derivados farmacéuticamente aceptables del ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico incluyen cualquier sal, éster o sal de dicho éster, farmacéuticamente aceptable, que, al administrarlo al paciente es capaz de proporcionar (directa o indirectamente) el ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico o un residuo o metabolito activo del mismo.

20 El ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico puede formar sales. Se apreciará que, para uso en medicina, las sales del ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico deberán ser farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables, adecuadas, serán evidentes para los expertos en la materia e incluyen las descritas en J. Pharm. Sci., 1977, 66, 1-19, tales como las sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos, por ejemplo, ácido clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, nítrico o fosfórico; y ácidos orgánicos, por ejemplo ácido succínico, maleico, acético, fumárico, cítrico, tartárico, benzoico, p-toluensulfónico, metansulfónico o naftalensulfónico. Ciertos compuestos de fórmula (I) pueden formar sales de adición de ácidos con uno o más equivalentes del ácido. La presente invención incluye dentro de su alcance todas las formas estequiométricas y no estequiométricas posibles.

25 También se pueden preparar sales a partir de bases farmacéuticamente aceptables, incluidas bases orgánicas y bases inorgánicas. Las sales derivadas de bases inorgánicas incluyen sales de aluminio, amonio, calcio, cobre, férricas, ferrosas, de litio, de magnesio, sales mangánicas, manganosas, de potasio, de sodio, de cinc y similares. Las sales derivadas de bases orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias; aminas sustituidas, incluidas las aminas sustituidas naturales; y las aminas cíclicas. Bases orgánicas farmacéuticamente aceptables convencionales incluyen arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etil-morfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, procaína, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, tris(hidroximetil)aminometano (TRIS, trometamol) y similares. También se pueden formar sales a partir de resinas de intercambio iónico básicas, por ejemplo resinas de poliaminas. Cuando el compuesto de la presente invención es básico, pueden prepararse sales a partir de ácidos farmacéuticamente aceptables, incluyendo ácidos inorgánicos y orgánicos. Tales ácidos incluyen ácido acético, bencenosulfónico, benzoico, canforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, etanodisulfónico, fumárico, glucónico, glutámico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, múcico, pamoico, pantoténico, fosfórico, propiónico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluenosulfónico y similares.

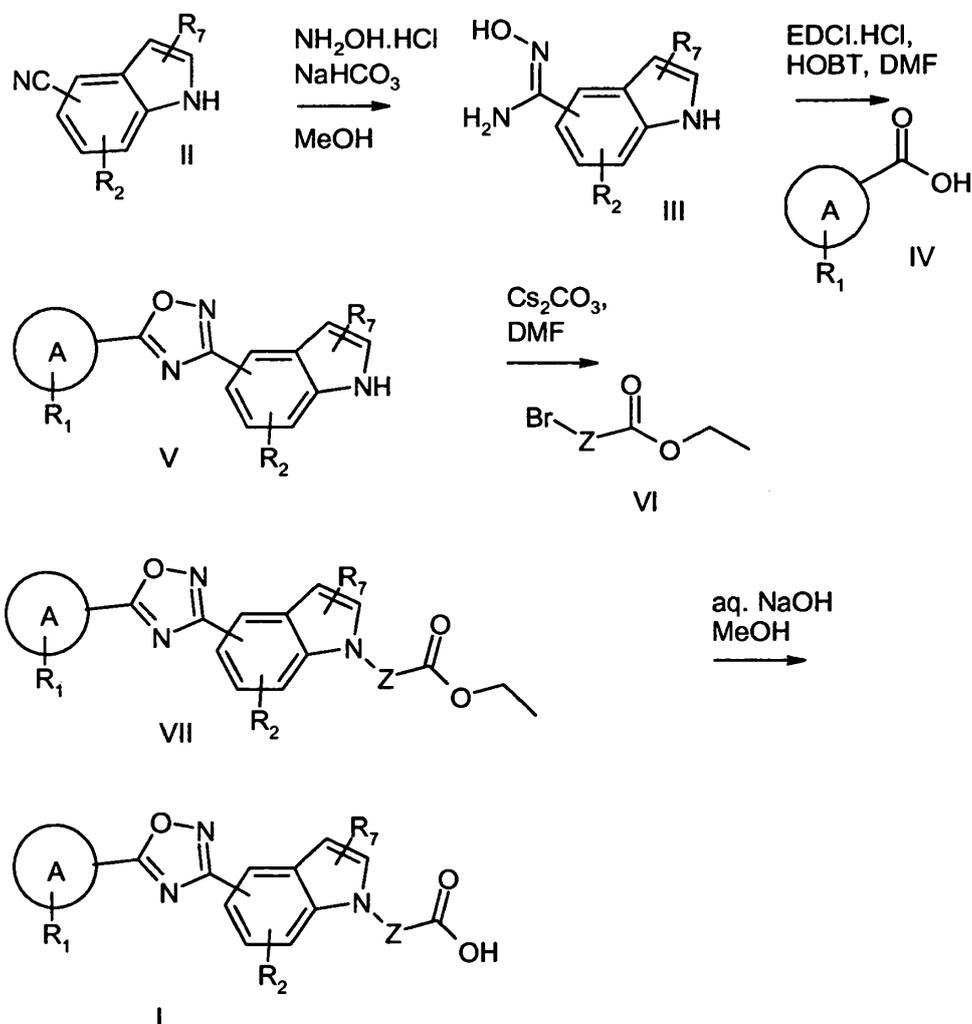
El ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico

se puede preparar en forma cristalina o no cristalina, y, si es cristalina, puede estar opcionalmente hidratada o solvatada. Esta invención incluye dentro de su alcance hidratos o solvatos estequiométricos así como compuestos que contienen cantidades variables de agua y/o disolvente.

50 dentro del alcance de la invención están todas las sales, solvatos, hidratos, complejos, polimorfos, profármacos,

derivados radiomarcados, estereoisómeros e isómeros ópticos del ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto adicional, esta invención proporciona procedimientos para la preparación de ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable., un compuesto de fórmula (I). En un aspecto, el compuesto de fórmula (I) se puede preparar por el procedimiento del Esquema I, donde A, Z, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>7</sub> se definen igual que para la fórmula (I).



Esquema I

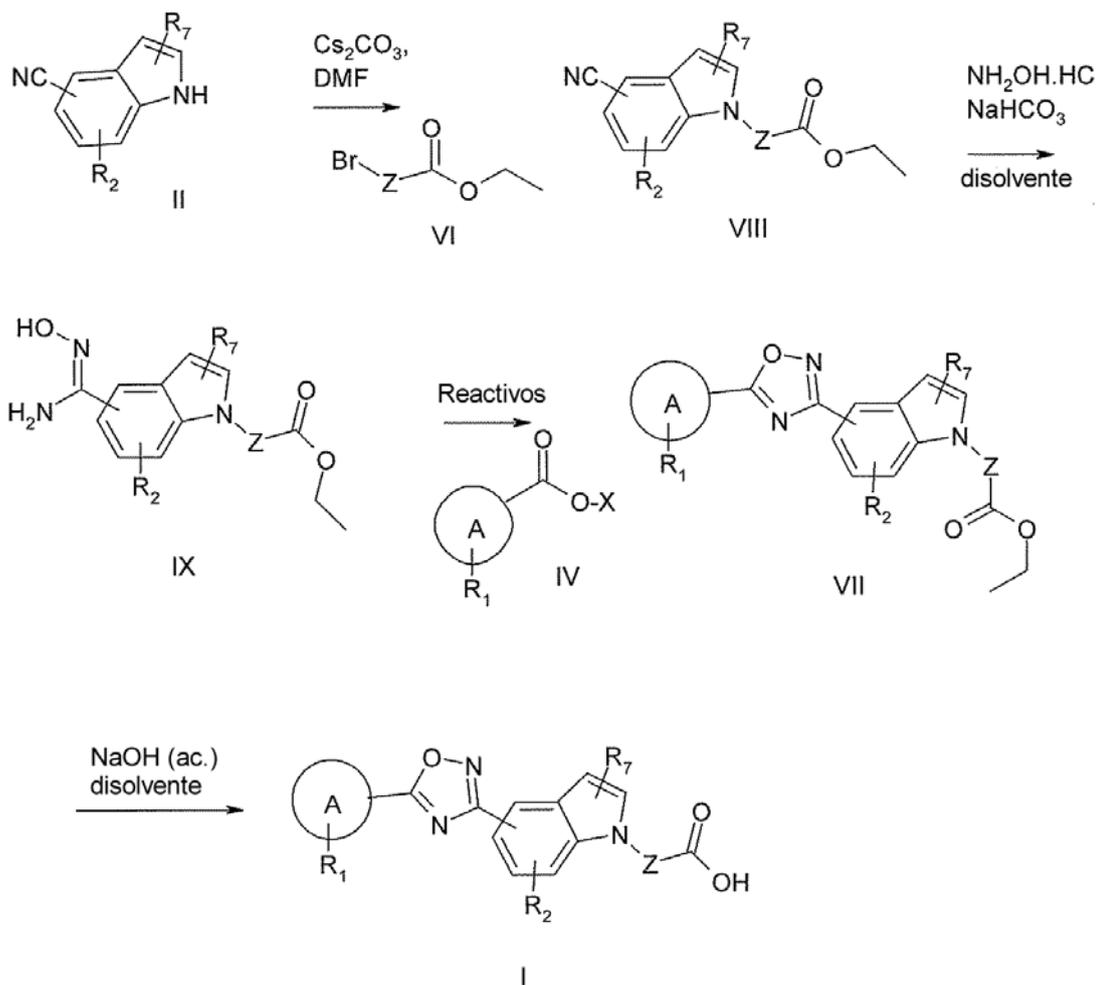
La primera etapa del procedimiento (II a III) se lleva a cabo en un disolvente adecuado, tal como metanol o etanol y se calienta a una temperatura tal como 50-80 °C. En la segunda etapa del procedimiento (III a V) los reactivos adecuados incluyen EDC.HCl y HOBt en un disolvente tal como DMF a una temperatura entre la temperatura ambiente y 90 °C o alternativamente PyBOP en DMF. Alternativamente (III) puede convertirse en (V) por tratamiento con el éster carboxílico de (IV) y etóxido de sodio en etanol en una reacción realizada bajo microondas a una temperatura tal como 120 °C. En la tercera etapa (V a VII) se usa una base tal como carbonato de cesio o alternativamente carbonato de potasio y la reacción se puede calentar ya sea de manera convencional o usando un reactor de microondas a una temperatura tal como 140 °C. La cuarta etapa del proceso (VII a I) se lleva a cabo en un disolvente adecuado tal como metanol o alternativamente etanol y se puede llevar a cabo ya sea a temperatura ambiente o temperatura elevada tal como 40 o 50 °C.

Los compuestos de fórmula (IV) o son disponibles comercialmente, o se pueden preparar usando métodos descritos en la bibliografía o se pueden preparar como se describe en la parte experimental de esta memoria. Los bromuros de fórmula (VI) están disponibles en el mercado o pueden prepararse usando métodos descritos en la bibliografía o usando los métodos descritos.

En otro aspecto, el compuesto de fórmula (I) se puede preparar por el procedimiento del Esquema II, donde A, Z, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>7</sub> se definen igual que para la fórmula (I). En la primera etapa, la reacción (II a VIII) se puede calentar a 80 °C.

5 La segunda etapa del proceso (VIII a IX) se lleva a cabo en un disolvente adecuado tal como etanol o metanol. La tercera etapa de este proceso (IX a VII) requiere reactivos de acoplamiento amídico tales como EDC.HCl y HOBt en un disolvente tal como DMF a una temperatura entre la temperatura ambiente y 120 °C. La cuarta etapa del proceso se lleva a cabo en un disolvente adecuado tal como etanol o metanol. Los compuestos de fórmula (IV) o son disponibles comercialmente, o se pueden preparar usando métodos descritos en la bibliografía or se pueden preparar como se describe en la parte experimental de esta memoria. Los bromuros de fórmula (VI) están disponibles en el mercado o pueden prepararse usando métodos descritos en la bibliografía o por los métodos descritos.

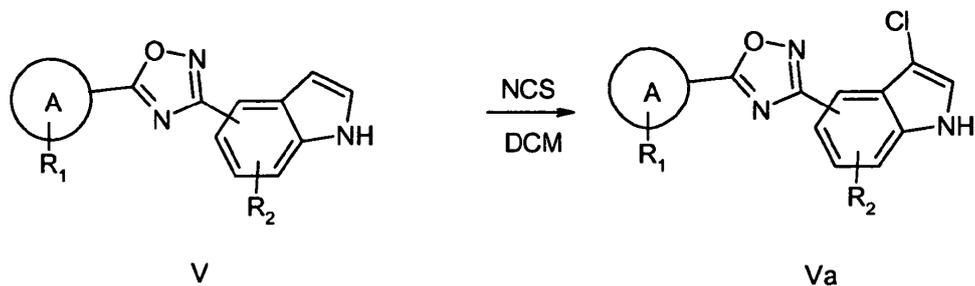
Esquema II



En los casos en que el sustituyente  $R_7$  en la fórmula I es un átomo de cloro unido a C-3 del anillo de indol, este se puede introducir de diversas maneras. El intermedio (V) en el esquema I donde  $R_7 = H$  y  $R_1$ ,  $R_2$  y A se definen como en la fórmula (I) se puede tratar con N-clorosuccinimida en diclorometano para generar el 3-cloro-compuesto (Va) que puede después convertirse en (I) como se describe en el esquema I (Esquema III)

15

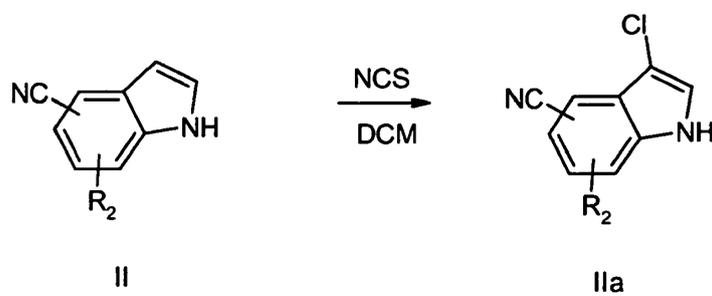
Esquema III



Alternativamente, el intermedio (II) donde  $R_7 = H$  se puede clorar por tratamiento con N-clorosuccinimida en DMF para generar un 3-cloro-indol (IIa) que puede convertirse en un compuesto de estructura (I) como se describe en el esquema II (Esquema IV).

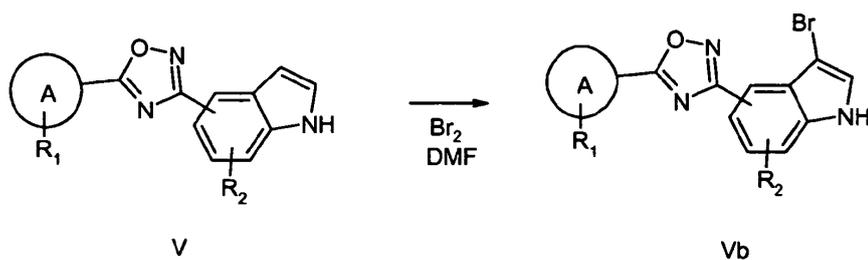
5

Esquema IV



Cuando  $R_7 = Br$  el Intermedio (V) donde  $R_7 = H$  y A,  $R_1$  y  $R_2$  son como se definen en la fórmula (I) se puede bromar por tratamiento con  $Br_2$  en DMF para generar (Vb) donde  $R_7 = Br$  (Esquema V).

Esquema V

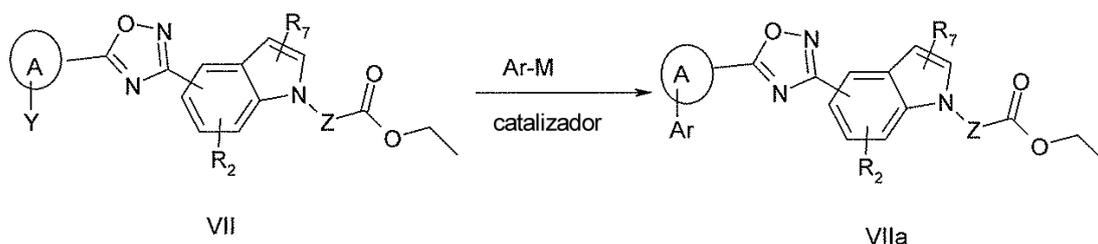


10

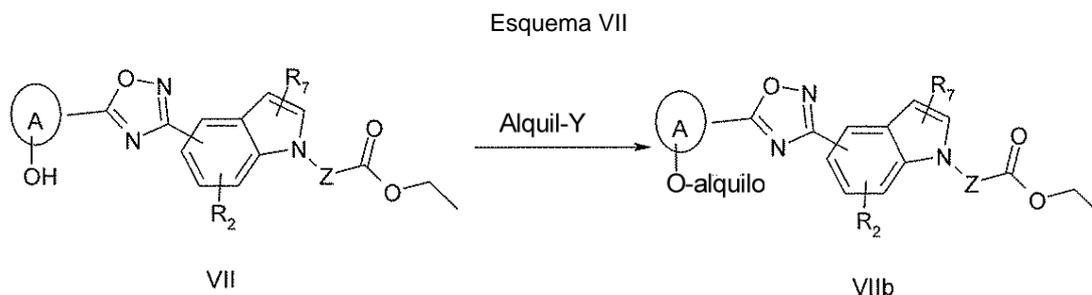
En los casos en que  $R_1$  es un grupo fenilo es posible introducir este grupo por una reacción de trans-acoplamiento sobre un compuesto de estructura VII para generar VIIa (Esquema VI) donde A, Z,  $R_2$  y  $R_7$  son como se definen en la fórmula (I), y Ar es fenilo opcionalmente sustituido, seguida de hidrólisis para dar el compuesto I. En esta transformación, M es un grupo tal como  $B(OH)_2$  que permite que ocurra la reacción de transacoplamiento, Y es un grupo tal como bromo, yodo o trifluorometanosulfonato y el catalizador es una especie de paladio tal como tetrakis(trifenilfosfina) paladio(0). Tales reacciones se llevan a cabo típicamente a temperatura elevada.

15

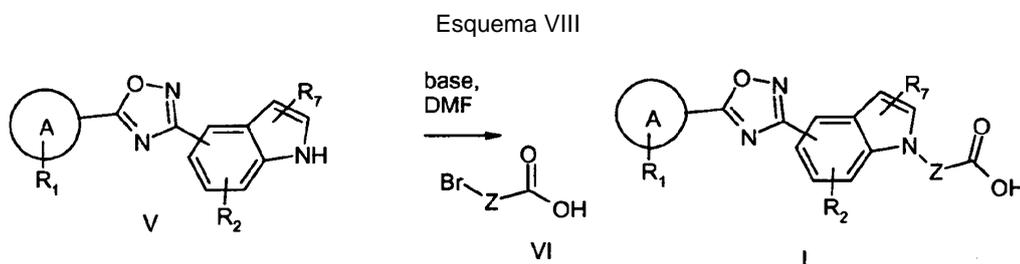
Esquema VI



- En los casos en que  $R_1$  es un grupo alcoxi tal como O-etilo u O-isopropilo el sustituyente alquilo se puede introducir en un compuesto de fórmula VII donde  $R_1 = OH$  y A, Z,  $R_7$  y  $R_2$  son como se definen en la fórmula (I) para generar un compuesto de fórmula VIIb donde  $R_1 = O$ -alquilo (Esquema VII). En este caso Y es un halógeno tal como yodo.
- 5 La reacción se puede realizar en un disolvente polar tal como DMF en presencia de una base tal como carbonato de potasio.



- En ciertos casos es posible alquilar el indol intermedio (V) donde  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_7$  y A son como se definen en la fórmula (I) directamente con el bromuro de alquilo sustituido con ácido carboxílico para generar el compuesto final (I) sin necesidad de una etapa de hidrólisis (Esquema VIII). Una base adecuada para esta transformación es el carbonato de cesio.
- 10



- 15 Las sales farmacéuticamente aceptables se pueden preparar convencionalmente mediante reacción con el ácido o derivado de ácido apropiado.

Las potencias y eficacias de los compuestos de esta invención para el receptor de S1P1 se pueden determinar por ensayo GTPγS realizado sobre el receptor humano clonado como se describe aquí o por el ensayo de unión a levadura, también descrito aquí. El ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico ha demostrado actividad agonista en el receptor de S1P1, usando los ensayos funcionales descritos aquí.

20

El ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico y sus sales farmacéuticamente aceptables son, por tanto, de utilidad en el tratamiento de afecciones o trastornos que están mediados por el receptor de S1P1. En particular, el ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico ) y sus sales farmacéuticamente aceptables son de utilidad en el tratamiento de esclerosis múltiple, enfermedades autoinmunitarias, trastornos inflamatorios crónicos, asma, neuropatías inflamatorias, artritis, trasplantes, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, lupus eritematoso, psoriasis, lesión por isquemia-reperusión, tumores sólidos, y metástasis tumoral, enfermedades asociadas con angiogénesis, enfermedades vasculares, afecciones dolorosas, enfermedades víricas agudas, afecciones inflamatorias intestinales, diabetes insulín y no-insulín-dependientes (denominados aquí en lo sucesivo "Trastornos de la invención").

25

30

Debe entenderse que "tratamiento", como se usa en este documento, incluye tanto la profilaxis como el alivio de síntomas manifiestos.

Así, la invención también proporciona ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-

indol-1-il]butanoico o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para uso como una sustancia terapéutica, en particular, en el tratamiento de afecciones o trastornos que pueden mediarse por los receptores S1P1. En particular, la invención proporciona el ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il]butanoico o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para uso como sustancia terapéutica en el tratamiento de esclerosis múltiple, enfermedades autoinmunitarias, trastornos inflamatorios crónicos, asma, neuropatías inflamatorias, artritis, trasplantes, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, lupus eritematoso, psoriasis, lesión por isquemia-reperfusión, tumores sólidos, y metástasis tumoral, enfermedades asociadas con angiogénesis, enfermedades vasculares, afecciones dolorosas, enfermedades víricas agudas, afecciones inflamatorias intestinales, diabetes insulín y no-insulín-dependientes. La invención además proporciona un método de tratamiento de afecciones o trastornos en mamíferos, incluyendo seres humanos, que pueden estar mediados por el receptor de S1P1, que comprende administrar al individuo que padece la afección o el trastorno una cantidad terapéuticamente segura y eficaz de ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il]butanoico o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

En otro aspecto, la invención también proporciona el uso de ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il]butanoico o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de afecciones o trastornos que pueden mediarse por los receptores S1P1.

Para usar el ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il]butanoico y sus sales farmacéuticamente aceptables en terapia, normalmente se formularán en una composición farmacéutica de acuerdo con la práctica farmacéutica convencional. La presente invención proporciona una composición farmacéutica, que comprende ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il]butanoico o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar una composición farmacéutica, que comprende mezclar ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il]butanoico o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Una composición farmacéutica de la invención, que puede prepararse por mezcla, adecuadamente a temperatura ambiente y a presión atmosférica, se adapta normalmente para administración oral, parenteral o rectal y, como tal, puede estar en forma de comprimidos, cápsulas, preparaciones líquidas orales, polvos, gránulos, pastillas, polvos reconstituibles, disoluciones o suspensiones inyectables o infundibles o supositorios. Se prefieren generalmente las composiciones administrables oralmente.

Los comprimidos y cápsulas para administración oral pueden estar en forma de unidades de dosificación y pueden contener excipientes convencionales, tales como agentes aglutinantes (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetilcelulosa); cargas (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina o hidrógeno-fosfato cálcico); lubricantes para fabricar comprimidos (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice); disgregantes (por ejemplo, almidón de patata o glicolato sódico de almidón); y agentes humectantes aceptables (p. ej., laurilsulfato sódico). Los comprimidos se pueden recubrir de acuerdo con métodos bien conocidos en la práctica farmacéutica clásica.

Las preparaciones líquidas orales pueden estar, por ejemplo, en forma de suspensiones, disoluciones, emulsiones, jarabes o elixires acuosos u oleosos, o pueden estar en forma de un producto seco para reconstituirlo con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Tales preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales tales como agentes de suspensión (p. ej., jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas comestibles hidrogenadas), agentes emulsionantes (p. ej., lecitina o goma arábiga), vehículos no acuosos (que pueden incluir aceites comestibles, p. ej., aceite de almendras, ésteres oleosos, alcohol etílico o aceites vegetales fraccionados), conservantes (p. ej., p-hidroxibenzoatos de metilo o propilo o ácido sórbico) y, si se desea, agentes saporíferos o colorantes convencionales, sales tamponantes y agentes edulcorantes en la medida apropiada. Las preparaciones para administración oral pueden formularse adecuadamente para dar una liberación controlada del compuesto activo.

Para administración parenteral, se preparan formas farmacéuticas unitarias fluidas utilizando un compuesto de la invención o sales farmacéuticamente aceptables del mismo y un vehículo estéril. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en una forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o en multi-dosis, que utilizan un compuesto de la invención o derivados farmacéuticamente aceptables del mismo y un vehículo estéril, opcionalmente con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar formas tales como suspensiones, disoluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Como alternativa, el ingrediente activo puede estar en forma de polvo para reconstituirse con un vehículo adecuado, p. ej. agua estéril apirogénica, antes de su uso. El compuesto, dependiendo del vehículo y la concentración usados, puede estar suspendido o disuelto en el vehículo. En la preparación de disoluciones, el compuesto se puede disolver para inyección y esterilizar por filtración antes de cargarlo en un vial o ampolla adecuado y sellarlo. De manera ventajosa, se disuelven en el vehículo coadyuvantes tales como anestésicos locales, conservantes o agentes de tamponamiento. Para mejorar la estabilidad, la

composición puede congelarse después de cargarse en el vial y el agua puede retirarse al vacío. Las suspensiones parenterales se preparan esencialmente de la misma manera, con la excepción de que el compuesto se suspende en el vehículo en lugar de disolverse, y la esterilización no puede efectuarse por filtración. El compuesto se puede esterilizar por exposición a óxido de etileno antes de ser suspendido en un vehículo estéril. Ventajosamente, se incluye un tensioactivo o agente humectante en la composición para facilitar la distribución uniforme del compuesto.

Pueden formularse lociones con una base acuosa u oleosa y, en general, contendrán también uno o más agentes emulsionantes, agentes estabilizantes, agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes espesantes o agentes colorantes. Pueden formularse gotas con una base acuosa o no acuosa que también comprenden uno o más agentes dispersantes, agentes estabilizantes, agentes solubilizantes o agentes de suspensión. Pueden contener también un conservante.

El ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il]butanoico o sus sales farmacéuticamente aceptables también se pueden formular en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, p. ej., que contienen bases de supositorios convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

El ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il]butanoico o sus sales farmacéuticamente aceptables también se pueden formular como preparaciones de actividad prolongada. Estas formulaciones de actuación prolongada pueden administrarse por implantación (por ejemplo, por vía subcutánea o por vía intramuscular) o por inyección intramuscular. De esta manera, por ejemplo, los compuestos de la invención pueden formularse con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico o como derivados poco solubles, por ejemplo, como una sal poco soluble.

Para la administración intranasal, el ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il]butanoico o sus sales farmacéuticamente aceptables pueden formularse como disoluciones para administración por medio de un dispositivo de dosis medidas o de dosis unitarias o, como alternativa, como una mezcla en polvo con un vehículo adecuado para administración usando un dispositivo de liberación adecuado. Así el ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il]butanoico o sus sales farmacéuticamente aceptables pueden formularse para administración oral, bucal, parenteral, tópica (incluyendo oftálmica y nasal), de liberación retardada o rectal o en una forma adecuada para administración por inhalación o aspiración (a través de la boca o de la nariz).

El ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il]butanoico o sus sales farmacéuticamente aceptables pueden formularse para administración tópica en forma de pomadas, cremas, geles, lociones, supositorios vaginales, aerosoles o gotas (por ejemplo, gotas oculares, para los oídos o nasales). Los ungüentos y cremas se pueden formular, por ejemplo, con una base acuosa u oleosa con la adición de agentes espesantes y/o gelificantes adecuados. Las pomadas para administración oftálmica se pueden fabricar de manera estéril usando componentes esterilizados.

La composición puede contener de 0,1% a 99% en peso, preferiblemente de 10 a 60% en peso, del material activo, dependiendo del método de administración. La dosis del compuesto usada en el tratamiento de los trastornos mencionados anteriormente variará de manera usual con la gravedad de los trastornos, el peso del que los sufre, y otros factores similares. Sin embargo, como norma general, las dosis unitarias adecuadas pueden ser de 0,05 a 1000 mg, 1,0 a 500 mg o 1,0 a 200 mg, y dichas dosis unitarias se pueden administrar más de una vez al día, por ejemplo dos o tres veces al día.

El ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il]butanoico o sus sales farmacéuticamente aceptables se pueden usar en preparaciones de combinación. Por ejemplo, el compuesto de la invención se pueden usar en combinación con ciclosporina A, metotrexato, esteroides, rapamicina, inhibidores de las citocinas proinflamatorias, inmunomoduladores, incluyendo materiales biológicos u otros compuestos terapéuticamente activos.

La presente memoria también describe compuestos marcados con isótopos, que son idénticos a los citados en las fórmula I y siguientes salvo en que uno o más átomos se han reemplazado por un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico encontrado habitualmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor, yodo y cloro, tales como  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{123}\text{I}$  y  $^{125}\text{I}$ .

Los compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos que contienen los isótopos mencionados anteriormente y/u otros isótopos de otros átomos están dentro del alcance de la presente invención. Los compuestos marcados con isótopos de la presente invención, por ejemplo aquellos en los que se incorporan isótopos radioactivos tales como  $^3\text{H}$  o  $^{14}\text{C}$  son útiles en ensayos de distribución de fármacos y/o sustratos en tejidos. Se prefieren particularmente los isótopos tritio, es decir  $^3\text{H}$ , y carbono-14, es decir,  $^{14}\text{C}$ , por su facilidad de preparación y detectabilidad. Los isótopos  $^{11}\text{C}$  y  $^8\text{F}$  son particularmente útiles en PET (tomografía de emisión de positrones), y los isótopos  $^{125}\text{I}$  son particularmente útiles en SPECT (tomografía computerizada de emisión de un

5 solo fotón), todos útiles en la formación de imágenes del cerebro. Además, la sustitución con isótopos más pesados, tales como deuterio, es decir  $^2\text{H}$ , puede producir ciertas ventajas terapéuticas debidas a una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo una mayor semivida *in vivo* o menores requisitos de dosificación y, por lo tanto, pueden preferirse en algunas circunstancias. Los compuestos marcados con isótopos de fórmula (I) pueden prepararse, en general, realizando los procedimientos descritos en los esquemas y/o en los ejemplos que se muestran a continuación, sustituyendo un reactivo no marcado con isótopos por un reactivo marcado con isótopos fácilmente adquirible.

Las siguientes Descripciones y Ejemplo ilustran la preparación del ácido 4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico.

10 **Condiciones, hardware y software para Sistemas de LCMS Analíticos**

**Hardware**

- Bomba de gradiente Agilent 1100
- Autoinyector Agilent 1100
- Detector Agilent 1100 DAD
- 15 Desgasificador Agilent 1100
- Estufa Agilent 1100
- Controlador Agilent 1100
- Gestor de disolvente binario Waters Acquity
- Gestor de muestras Waters Acquity
- 20 PDA Waters Acquity
- Espectrómetro de Masas Waters ZQ
- Sedere Sedex 55, Sedere Sedex 85, Sedere Sedex 75 o Polymer Labs PL-ELS-2100

**Software**

Waters MassLynx versión 4.0 SP2 o versión 4.1

25 **Para el método de 5 minutos**

**Columna:**

La columna usada es una Waters Atlantis, cuyas dimensiones son 4,6 mm x 50 mm.

El tamaño de partículas de la fase estacionaria es 3 µm.

**Disolventes**

- 30 A: Disolvente acuoso = agua + ácido fórmico al 0,05%
- B: Disolvente orgánico = Acetonitrilo + ácido fórmico al 0,05%

**Método**

El método genérico usado tiene un tiempo de ejecución de 5 minutos.

Tiempo / min	%B
0	3
0,1	3
4	97
4.8	97

Tiempo / min	%B
4.9	3
5.0	3

**Caudal**

El método anterior tiene un caudal de 3 ml/min

**Para el método de 2 minutos**

**Software**

5 [0078]

Waters Masslynx versión 4.1

**Columna:**

La columna usada es una Waters Acquity BEH UPLC C18, cuyas dimensiones son 2,1 mm x 50 mm. El tamaño de partículas de la fase estacionaria es 1,7 µm.

10 **Disolventes**

**[0080]**

A: Disolvente acuoso = agua + ácido fórmico al 0,05%

B: Disolvente orgánico = Acetonitrilo + ácido fórmico al 0,05%

Lavado débil = 1:1 Metanol : Agua

15 Lavado fuerte = Agua

**Método**

El método genérico usado tiene un tiempo de ejecución de 2 minutos.

Tiempo / min	%B
0	3
0,1	3
1,5	97
1,9	97
2,0	3

El método anterior tiene un caudal de 1 ml/min.

El volumen de inyección para el método genérico es 0,5 ul.

20 La temperatura de la columna es de 40 grados.

El intervalo de detección UV es de 220 a 330 nm

**Sistema Auto Prep dirigido por masas de acceso abierto (MDAP)**

**Hardware**

Los instrumentos Prep dirigidos por masas de acceso abierto consisten en los siguiente:

25 1 bomba de gradiente Waters 600

- 1 inyector / colector Waters 2767
- 1 gestor de reactivos Waters
- 1 Espectrómetro de masas Micromass ZQ
- 1 Colector de residuos Gilson Aspec
- 5 1 Detector de UV post-fracción Gilson 115
- 1 sistema Computer.

**Software**

Waters MassLynx v4,0

**Columna:**

- 10 La columna usada típicamente es una columna Supelco LCABZ+ cuyas dimensiones son 20 mm de diámetro interno por 100 mm de longitud. El tamaño de partículas de la fase estacionaria es 5 µm.

**Disolventes**

- A: Disolvente acuoso = agua + ácido fórmico al 0,1%
- B: Disolvente orgánico = MeCN: agua 95:5 + ácido fórmico al 0,05%
- 15 Disolvente de constitución = MeOH: agua 80:20 + acetato amónico 50 mM
- Disolvente de aclarado de la aguja = MeOH: Agua: DMSO 80:10:10

**Métodos**

Se puede usar uno de cinco métodos dependiendo del tiempo de retención analítico del compuesto de interés.

- 20 Todos tienen un tiempo de ejecución de 15 minutos, que comprende un gradiente de 10 minutos seguido de un lavado abundante de la columna de 5 minutos y una etapa de re-equilibrado.

MDP 1,5-2,2 = 0-30% de B

MDP 2,0-2,8 = 5-30% de B

MDP 2,5-3,0 = 15-55% de B

MDP 2,8-4,0 = 30-80% de B

- 25 MDP 3,8-5,5 = 50-90% de B

**Caudal**

Todos los métodos anteriores tienen un caudal de 20ml/min.

**Sistema alternativo:**

**Hardware**

- 30
  - Módulo de Gradiente Binario Waters 2525
  - Bomba de Preparación Waters 515
  - Módulo de Control de Bomba Waters
  - Colector de Inyección Waters 2767
  - Conductor de Fluidos de la Columna Waters
- 35
  - Detector de Serie de Fotodiodos Waters 2996
  - Espectrómetro de Masas Waters ZQ

- Colector de fracciones Gilson 202
- Colector de residuos Gilson Aspec

**Software**

Waters Masslynx versión 4 SP2

5 **Columna:**

Las columnas usadas son Waters Atlantis, cuyas dimensiones son 19 mm x 100 mm (escala pequeña) y 30 mm x 100 mm (escala grande). El tamaño de partículas de la fase estacionaria es de 5m m.

**Disolventes**

A: Disolvente acuoso = agua + ácido fórmico al 0,1%

10 B: Disolvente orgánico = Acetonitrilo + ácido fórmico al 0,1%

Disolvente de preparación = Metanol : agua

Disolvente de aclarado de agujas = Metanol

**Métodos**

15 Se usan cinco métodos dependiendo del tiempo de retención analítico del compuesto de interés. Todos tienen un tiempo de ejecución de 13,5 minutos, que comprende un gradiente de 10 minutos seguido de un lavado abundante de la columna de 3,5 minutos y una etapa de re-equilibrado.

Escala Grande/Pequeña 1,0-1,5 = 5-30% de B

Escala Grande/Pequeña 1,5-2,2 = 15-55% de B

Escala Grande/Pequeña 2,2-2,9 = 30-85% de B

20 Escala Grande/Pequeña 2,9-3,6 = 50-99% de B

Escala Grande/Pequeña 3,6-5,0 = 80-99% de B (en 6 minutos seguida de lavado abundante de 7,5 minutos y re-equilibrado)

**Caudal**

Todos los métodos anteriores tienen un caudal de 20 ml/min (Small Scale) o 40 ml/min (Large Scale)

25 **Gradientes poco escalonados**

**[0099]**

Amplitud 1,5 a 2,3 min = 13-29% B

Amplitud 1,9 a 2,3 min = 25-41% B

Amplitud 2,3 a 2,6 min = 37-53% B

30 Amplitud 2,6 a 3,1 min = 49-65% B

Amplitud 3,1 a 3,6 min = 61-77% B

**Condiciones usadas para la RMN**

**Hardware**

Bruker 400 MHz Ultrashield

35 Automuestreador Bruker B-ACS60

Consola Bruker Advance 400

Bruker DPX250

Bruker AVANCE 500

Bruker DRX600

**Software**

Interfase del usuario - RMN Kiosk

Software de control - XWin RMN versión 3.0

**5 Cromatografía**

Salvo indicación en contrario, toda la cromatografía se llevó a cabo usando columnas de sílice

**Abreviaturas:**

	g	gramos
	mg	miligramos
10	ml	mililitros
	ul	microlitros
	MeCN	acetonitrilo
	MeOH	metanol
	EtOH	etanol
15	Et <sub>2</sub> O	éter dietílico
	EtOAc	acetato de etilo
	DCM	diclorometano
	DIAD	azodicarboxilato de diisopropilo
	DME	1,2-bis(metiloxi)etano
20	DMF	N,N-dimetilformamida
	DMSO	dimetilsulfóxido
	EDAC	hidrocloruro de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida
	EDC	hidrocloruro de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida
	EDCI	hidrocloruro de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida
25	HOBT/HOBt	Hidroxibenzotriazol
	IPA	alcohol isopropílico
	NCS	N-clorosuccinimida
	PyBOP	PyBOP – Hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxitripirrolidinofosfonio
	THF	tetrahidrofurano
30	dba	dibenciliden acetona
	TA	temperatura ambiente
	°C	grados Celsius
	M	Molar
	H	protón
35	s	singlete
	d	doblete
	t	triplete

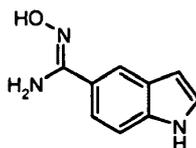
	q	cuartete
	MHz	megahertzios
	MeOD	metanol deuterado
	LCMS	Cromatografía líquida / Espectrometría de masas
5	LC/MS	Cromatografía líquida / Espectrometría de masas
	MS	Espectrometría de masas
	ES	Electropulverización
	MH <sup>+</sup>	ion molecular + H <sup>+</sup>
	MDAP	cromatografía líquida preparativa automatizada dirigida por masas.
10	sat.	saturado

### Sección de química general

Cabe la posibilidad de que los intermedios para la preparación de los ejemplos no se hayan preparado necesariamente a partir del lote específico descrito.

### Descripción para D1

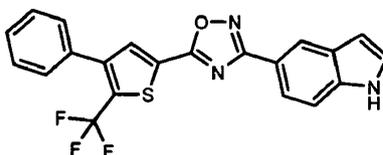
#### 15 **N-Hidroxi-1H-indol-5-carboximidamida (D1)**



5-Cianoindol (1,00 g), hidroxilamina.HCl (978 mg) y NaHCO<sub>3</sub> (2,95 g) se disolvieron/suspendieron en MeOH (14 ml), se calentaron a 50 °C y se agitaron durante una noche. El análisis LCMS indicó que la reacción era incompleta después de este tiempo, así que se añadió otra porción de hidroxilamina.HCl (978 mg) y la temperatura de la reacción se elevó a 80 °C. Después de 4 horas, la reacción se completó. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se evaporó hasta sequedad a presión reducida. El residuo se trató con HCl acuoso 1 M (50 ml) y se extrajo con EtOAc (2 x 50 ml). Esto no logró extraer el producto de la solución acuosa así que se trató con NaOH acuoso 2M para ajustar el pH aproximadamente a 7 y después se extrajo de nuevo con EtOAc (3 x 50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se evaporaron hasta sequedad para producir el compuesto del título (1,36 g) en forma de un aceite pardo. δH (MeOD, 400MHz) 6,50 (1H, s), 7,27 (1H, s), 7,36-7,45 (2H, m), 7,88 (1H, s). MS (ES): C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>N<sub>3</sub>O requiere 175; encontrado 176 (MH<sup>+</sup>).

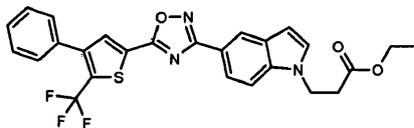
### Descripción para D2

#### **5-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol (D2)**

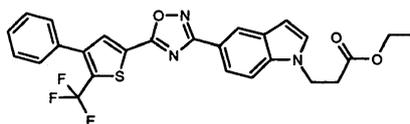


D1 (174 mg) y 4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tiofenocarboxilato (286 mg) se combinaron, trataron con etóxido de sodio (21 % peso en EtOH, 411 ul) y calentaron a 120 °C en un reactor de microondas durante 30 minutos. El análisis LCMS indicó que la reacción era incompleta, así que se continuó calentando con microondas durante dos periodos adicionales de 30 minutos. Después, la mezcla de reacción se enfrió a RT, se inactivó con H<sub>2</sub>O (2 ml) y se evaporó hasta sequedad a presión reducida para dar el producto bruto (411 mg) en forma de un sólido pardo. El residuo bruto se purificó en un cartucho 40+S Biotage, eluyendo con una mezcla del 0 al 50 % de Et<sub>2</sub>O en éter de petróleo. Esto dio el compuesto del título (122 mg) en forma de un sólido blanquecino. δH (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): 6,68 (1H, s), 7,30 (1H, t), 7,41-7,55 (6H, m), 7,92 (1H, s), 7,99 (1H, d), 8,36 (1H, s ancho), 8,50 (1H, s). MS (ES): C<sub>21</sub>H<sub>12</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>OS requiere 411; encontrado 410 (M-H<sup>+</sup>).

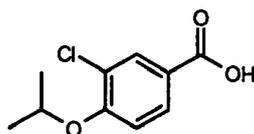
### Descripción para D3

**3-(5-{5-[4-Fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (D3)**

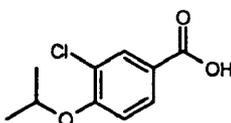
5 **D2** (100 mg) se disolvió en DMF (1,2 ml), se trató con  $K_2CO_3$  (50 mg) después con 3-bromopropionato de etilo (90 mg) y se calentó a 130 °C durante una noche. Al cabo de este tiempo la LCMS indicó que la reacción era incompleta, así que se añadió más 3-bromopropionato de etilo (45 mg) y se continuó agitando a 130 °C durante 2 horas. La LCMS no indicó ningún cambio, así que la mezcla de reacción se evaporó y después se repartió entre DCM y  $H_2O$ . La capa orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con DCM. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre  $MgSO_4$ , y se evaporaron para dar el producto deseado (148 mg). Este se purificó sobre un cartucho de sílice (25+S), eluyendo con una mezcla del 0 al 25% de EtOAc en éter de petróleo y después nuevamente sobre un cartucho 25+M con una mezcla del 0 al 30% de EtOAc en éter de petróleo para dar el compuesto del título MF105672-144A3 (38 mg) en forma de un sólido blanco.  $\delta H$  ( $CDCl_3$ , 400MHz): 1,21 (3H, t), 2,85 (2H, t), 4,12 (2H, q), 4,50 (2H, t), 6,60 (1H, d), 7,21 (1H, d), 7,42-7,52 (6H, m), 7,91 (1H, s), 8,00 (1H, d), 8,46 (1H, s). EM (ES+):  $C_{26}H_{20}F_3N_3O_3S$  requiere 511; encontrado 512 ( $MH^+$ ).

**Descripción para D3 (Procedimiento alternativo)****15 3-(5-{5-[4-Fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (D3)**

20 5-{5-[4-Fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol (D2) (600 mg), 3-bromopropionato de etilo (374  $\mu l$ ), carbonato de cesio (950 mg) y DMF se calentaron a 140 °C durante 1 hora en un reactor de microondas. Se añadió 1 eq. adicional de 3-bromopropionato de etilo (187  $\mu l$ ) y la mezcla se calentó durante 30 minutos. Después, la mezcla de reacción se evaporó, disolvió en DCM y filtró para dar el compuesto del título (650 400mg) en forma de un sólido pardo.  $\delta H$  ( $CDCl_3$ , 400MHz): 1,21 (3H, t), 2,85 (2H, t), 4,13 (2H, q), 4,50 (2H, t), 6,61 (1H, d), 7,22 (1H, d), 7,44-7,52 (6H, m), 7,89-7,92 (1H, m), 7,98-8,02 (1H, m), 8,45-8,46 (1H, m). MS (ES):  $C_{26}H_{20}F_3N_3O_3S$  requiere 511; encontrado 512 ( $MH^+$ ).

**Descripción para D4 Ácido 3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]benzoico (D4)**

25 Propan-2-ol (2,45 ml) y  $PPh_3$  (1,18 g) se disolvieron en THF (30 ml), se enfriaron a 0 °C, se trataron con 3-cloro-4-hidroxibenzoato de metilo (6,00 g) seguido de la adición gota a gota de DIAD (9,44 ml) y se agitó a RT durante una noche. Después, la mezcla de reacción se evaporó y purificó sobre cartuchos de sílice (4 x 100 g), eluyendo con una mezcla del 0 al 40% de EtOAc en prentano para dar el producto bruto (7,00 g) en forma de un aceite incoloro. Este se disolvió en MeOH (30 ml) y NaOH acuoso 2 M (30 ml) y se agitó a RT durante un fin de semana. Después, la mezcla de reacción se evaporó y re-disolvió en  $H_2O$ . Esta solución se lavó con  $Et_2O$ , se aciduló hasta pH = 1 y se extrajo con  $Et_2O$ . Estos últimos extractos se secaron sobre  $MgSO_4$ , se filtraron y se evaporaron para dar el compuesto del título (4,16 g) en forma de un sólido blanco.  $\delta H$  (MeOD, 400MHz): 1,37 (6H, d), 4,77 (1H, septete), 7,12 (1H, d), 7,90 (1H, d), 7,98 (1H, s). MS (ES):  $C_{10}H_{11}ClO_3$  requiere 214; encontrado 215 ( $MH^+$ ).

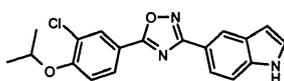
**35 Síntesis alternativa:****Ácido 3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]benzoico (D4)**

Metil-4-hidroxi-3-cloro benzoato de metilo (13,4 g) se disolvió en DMF (150 ml), se trató con  $K_2CO_3$  (19,9 g) seguido de bromuro de isopropilo (13,5 ml) y la mezcla resultante se calentó a 70 °C y se agitó durante una noche. Después, la mezcla de reacción se enfrió a RT, se evaporó hasta sequedad, re-disolvió en EtOH, filtró y evaporó una vez más para dar el éster intermedio (22,2 g) en forma de un sólido blanco. Este compuesto era una mezcla de los ésteres metílico y etílico y se usó en bruto en la siguiente reacción.

El producto intermedio bruto (22,2 g) se disolvió en MeOH (75 ml), se trató con NaOH acuoso 2M (75 ml), se calentó a 60 °C y se agitó durante 2 horas. Después, la mezcla de reacción se enfrió a RT, el MeOH se evaporó y la solución acuosa residual se aciduló con HCl acuoso 5M (30 ml). El precipitado se separó por filtración y se secó para dar el compuesto del título (15,1 g) en forma de un sólido blanco.  $\delta H$  ( $CDCl_3$ , 400MHz): 1,42 (6H, d), 4,70 (1H, septet), 6,97 (1H, d), 7,97 (1H, d), 8,12 (1H, s). MS (ES):  $C_{10}H_{11}ClO_3$  requiere 214; encontrado 213 ( $M-H^+$ ).

#### Descripción para D5 MF105672-175A2

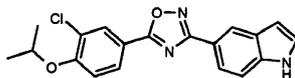
#### 5-(5-{3-Cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol (D5)



D1 (500 mg), D4 (611 mg) y PyBOP (1,66 g) se disolvieron en DMF y se agitó durante una noche. Después, la mezcla de reacción se evaporó y se repartió entre EtOAc y  $H_2O$ . La capa orgánica se lavó con  $H_2O$  (x 2) y después con salmuera, se secó sobre  $MgSO_4$ , se filtró y se evaporó para dar el producto bruto. Este se purificó sobre un cartucho de sílice, eluyendo con una mezcla del 0 al 50% de  $Et_2O$  en hexano para dar el compuesto del título (120 400mg) en forma de un sólido blanco.  $\delta H$  ( $CDCl_3$ , 400MHz): 1,43 (6H, d), 4,69 (1H, septet), 6,92 (1H, s), 7,04 (1H, d), 7,25 (1H, s), 7,48 (1H, d), 8,00 (1H, d), 8,07 (1H, d), 8,25 (1H, s), 8,39 (1H, s ancho), 8,50 (1H, s). MS (ES):  $C_{19}H_{16}ClN_3O_2$  requiere 353; encontrado 354 ( $MH^+$ ).

#### Descripción para D5 (Procedimiento alternativo)

#### 5-(5-{3-Cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol (D5)

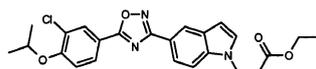


Una mezcla de 5-cianoindol (5,00 g),  $NH_2OH.HCl$  (6,11 g) y  $NaHCO_3$  (14,77 g) en EtOH (176 ml) se calentó a 70 °C en atmósfera de Ar durante una noche y después a 80 °C durante 2,5 horas. Después, la mezcla de reacción se filtró y evaporó para dar un sólido amarillo anaranjado (material bruto D1).

D4 (7,55 g), HOBT (5,23 g) y EDCI (7,42 g) se disolvieron en DMF (88 ml). Esta mezcla se agitó durante 10 minutos y después se añadió el sólido amarillo anaranjado de antes (6,16 g) disuelto en DMF (88 ml). La mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante una noche, después se evaporó y se repartió entre EtOAc y  $H_2O$ . Las fases se separaron y la solución acuosa se extrajo con dos porciones adicionales de EtOAc. Las soluciones orgánicas combinadas se secaron y se evaporaron. Parte del residuo bruto se purificó en un cartucho 40+M Biotage, eluyendo con una mezcla del 5 al 30 % de EtOAc en hexano. Esto dio el compuesto del título (1,45 g) en forma de un sólido blanquecino.  $\delta H$  ( $CDCl_3$ , 400MHz): 1,45 (6H, d), 4,72 (1H, septete), 6,66-6,69 (1H, m), 7,06 (1H, d), 7,29 (1H, triplete o dd aparente), 7,50 (1H, d), 8,01 (1H, dd), 8,08 (1H, dd), 8,27 (1H, d), 8,49-8,52 (1H, m). MS (ES):  $C_{19}H_{16}ClN_3O_2$  requiere 353; encontrado 354 ( $MH^+$ ). El residuo bruto remanente se trituró con MeOH frío para dar el compuesto del título (3,54 g) en forma de un sólido blanquecino. Datos MS como los de antes.

#### Descripción para D6

#### 3-[5-(5-{3-Cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de etilo (D6)

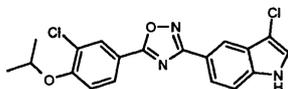


D5 (100 mg) se disolvió en DMF (1,5 ml). A esta solución, se añadió  $K_2CO_3$  (58 mg) seguido de 3-bromopropionato de etilo (72 ul) y la mezcla se agitó y se calentó a 100 °C. Después de 1 hora sólo se observó 5% de conversión por LCMS, así que se añadieron porciones adicionales de  $K_2CO_3$  (97 mg) y 3-bromopropionato de etilo (72 ul). Después de 3 horas la mezcla de reacción se evaporó y después se repartió entre DCM y  $H_2O$ . La capa acuosa se extrajo con DCM después las soluciones en DCM combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre  $MgSO_4$ , filtraron y evaporaron para dar el producto bruto. Este se purificó sobre un cartucho de sílice, eluyendo con una mezcla del 0 al 50% de  $Et_2O$  en éter de petróleo. Esto dio el compuesto del título (40 mg) en forma de un sólido blanquecino.  $\delta H$  ( $CDCl_3$ , 400MHz): 1,21 (3H, t), 1,45 (6H, d), 2,85 (2H, t), 4,13 (2H, q), 4,51 (2H, t), 4,71 (1H, septete), 6,60 (1H, d),

7,07 (1H, d), 7,21 (1H, d), 7,45 (1H, d), 8,02 (1H, d), 8,08 (1H, d), 8,27 (1H, s), 8,47 (1H, s). MS (ES): C<sub>24</sub>H<sub>24</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub> requiere 453; encontrado 454 (MH<sup>+</sup>).

#### Descripción para D7

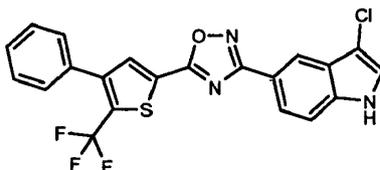
#### 3-Cloro-5-(5-(3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol (D7)



5  
 D5 (300 mg) y NCS (113 mg) se disolvieron en DCM (4,2 ml) y se agitaron durante una noche a temperatura ambiente. Después, la mezcla de reacción se diluyó con DCM y se lavó con H<sub>2</sub>O. La solución acuosa se extrajo con dos porciones adicionales de DCM y las disoluciones orgánicas combinadas se evaporaron hasta sequedad. El producto bruto se trituró con metanol para dar el compuesto del título (42 mg) en forma de un sólido pardo. Después se evaporó el metanol y el sólido pardo resultante se trituró con DCM para dar un segundo lote del compuesto del título (205 400mg) en forma de un sólido pardo. δH (d<sub>6</sub>-DMSO, 400MHz): 1,37 (6H, d), 4,89 (1H, septete), 7,45 (1H, d), 7,62 (1H, d), 7,70 (1H, s), 7,93 (1H, d), 8,15 (1H, d), 8,24 (1H, s), 8,25 (1H, s), 11,77 (1H, s). MS (ES): C<sub>19</sub>H<sub>15</sub><sup>35</sup>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> requiere 387; encontrado 388 (MH<sup>+</sup>).

#### Descripción para D8

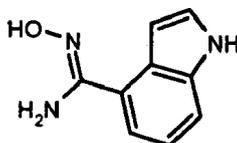
#### 15 3-Cloro-5-(5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol (D8)



D2 (200 mg) y NCS (65 mg) se disolvieron en DCM (5 ml) y se agitaron durante una noche a temperatura ambiente. Después, la mezcla de reacción se repartió entre DCM y H<sub>2</sub>O. La solución en DCM se evaporó hasta sequedad y se purificó sobre un cartucho de sílice Biotage, eluyendo con una mezcla del 25 al 75% de dietil éter en hexano. Esto dio el compuesto del título (36 mg) en forma de un sólido pardo. A second batch of the title compound was also obtained from this purification (86 mg). También se obtuvo un segundo lote del compuesto del título a partir de esta purificación (86 mg) en forma de un sólido pardo (as a brown solid). δH (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): 7,28 (1H, m), 7,45-7,54 (6H, m), 7,93 (1H, s), 8,05 (1H, d), 8,28 (1H, s ancho), 8,49 (1H, s). MS (ES): C<sub>21</sub>H<sub>11</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>3</sub>OS requiere 445; encontrado 444 (M-H<sup>+</sup>).

#### 25 Descripción 9

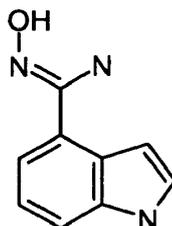
#### N-Hidroxi-1H-indol-4-carboximidamida (D9)



30 4-Cianoindol (850 mg) se disolvió en EtOH (25 ml). A esta solución, se añadió NaHCO<sub>3</sub> (2,51 g) y NH<sub>2</sub>OH.HCl (831 mg). La mezcla se calentó a 70 °C y se agitó durante una noche. La reacción era incompleta, así que se calentó a 80 °C durante otras 4 horas. La mezcla de reacción se filtró y evaporó para dar el compuesto del título (980 mg) en forma de un semisólido amarillo. No se intentó purificar.

#### Descripción para D9 (Procedimiento alternativo)

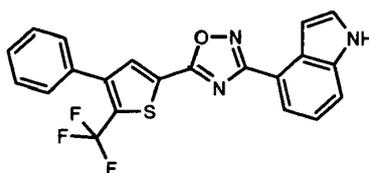
#### N-Hidroxi-1H-indol-4-carboximidamida (D9)



Una mezcla de 4-cianoindol (5,0g, 35,2 mmol), hidrógeno-carbonato de sodio (8,9g, 105,6 mmol) e hidrocloreto de hidroxilamina (4,9g, 70,4 mmol) en etanol (200ml) se calentó a 55 °C durante una noche. Se añadieron hidrógeno-carbonato de sodio (5,9g, 70 mmol) e hidrocloreto de hidroxilamina (4,9g, 70,4 mmol). La mezcla se calentó durante 4 días hasta que sólo una pequeña cantidad de material de partida estaba presente. Los materiales inorgánicos se separaron por filtración, lavando bien el sólido con etanol y el disolvente se separó por evaporación. El residuo se trituró con éter dietílico para dar 5,8g de un sólido blanquecino.  $\delta$ H (400 MHz, methanol- $d_4$ ) 6,76-6,78 (1H, m), 7,12 (1H, t), 7,24 (1H, dd), 7,29-7,33 (1H, m) 7,46 (1H, dd).

#### Descripción para D10

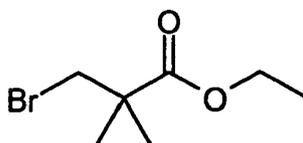
10 **4-{5-[4-Fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol (D10)**



Ácido 4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tiofenocarboxílico (310 mg), HOBT (170 mg) y EDCI.HCl (242 mg) se disolvieron en DMF (3 ml) y agitaron a temperatura ambiente 20 min. **D9** (200 mg) se disolvió en DMF (3 ml) y se añadió a la solución anterior y se continuó agitando a temperatura ambiente durante dos horas. Después, la mezcla de reacción se calentó a 90 °C, se enfrió a RT, se dejó estar durante una noche, se volvió a calentar a 80 °C y se agitó durante 3 horas, se enfrió a temperatura ambiente y se evaporó hasta sequedad. El residuo se re-disolvió en H<sub>2</sub>O y extrajo con EtOAc (x 3) y los extractos orgánicos combinados se evaporaron hasta sequedad. El residuo se purificó por cromatografía instantánea sobre sílice, eluyendo con una mezcla del 25 al 75% de dietil éter en hexano para dar el compuesto del título (265 mg) en forma de un sólido pardo. Una muestra de este compuesto (100 mg) se purificó por MDAP para dar el compuesto del título (62 mg) en forma de un sólido blanquecino.  $\delta$ H (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz):7,33-7,36 (2H, m), 7,41-7,42 (1H, m), 7,46-7,52 (5H, m), 7,61 (1H, d), 7,94 (1H, s), 8,06 (1H, d), 8,46 (1H, s ancho). MS (ES): C<sub>21</sub>H<sub>12</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>OS requiere 411; encontrado 412 (MH<sup>+</sup>).

#### Descripción para D11

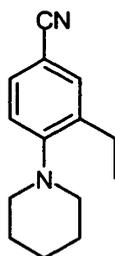
**3-Bromo-2,2-dimetilpropanoato de etilo (D11)**



25 Ácido 3-bromo-2,2-dimetilpropanoico (200 mg) se disolvió en EtOH (5 ml) y se trató con H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (0,4 ml). Esta mezcla se calentó a reflujo durante una noche y después se evaporó. El residuo se extrajo del H<sub>2</sub>O con EtOAc (x 2) y las disoluciones orgánicas combinadas se secaron y evaporaron para dar el compuesto del título (316 mg) como un aceite claro.  $\delta$ H (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz) 1.20 (3H, t), 1.32 (6H, s), 3.51 (2H, s), 4.18 (2H, q).

30 **Descripción para D12**

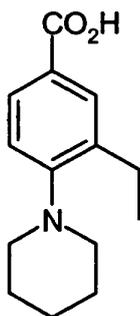
**3-Etil-4-(1-piperidinil)benzonitrilo (D12)**



5 4-Amino-3-etilbenzonitrilo (3,0 g, 20,5 mmol), 1,5-dibromopentano (11,1 mL, 82,1 mmol), carbonato de potasio (5,67 g, 41,0 mmol) y agua (39,6 mL) se repartieron todos por igual entre diez viales para microondas y cada uno de ellos se calentó a 160 °C durante 1 h. Todas las mezclas de reacción se combinaron y extrajeron dos veces con acetato de etilo (40 mL) y las fracciones orgánicas combinadas se secaron (separador de fases) y concentró a vacío. Se añadió diclorometano y después la mezcla se filtró antes de purificar el filtrado por cromatografía sobre sílice, eluyendo con acetato de etilo 2-5 % en hexano para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (823 mg, 3,85 mmol). El análisis indicó que el compuesto contenía una pequeña impureza de dibromopentano.  $\delta$ H (metanol- $d_4$ , 400 MHz) 7,52 (1H, dd), 7,47 (1H, dd), 7,13 (1H, d), 2,89 (4H, dd), 2,71 (2H, q), 1,76-1,71 (4H, m), 1,64-1,56 (2H, m), 1,25 (3H, t). MS (ES):  $C_{14}H_{18}N_2$  requiere 214; encontrado 215 ( $MH^+$ ).

#### Descripción para D13

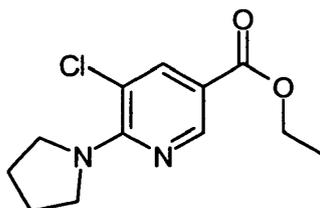
#### Ácido 3-etil-4-(1-piperidinil)benzoico (D13)



15 3-Etil-4-(1-piperidinil)benzonitrilo (**D12**) (817 mg, 3,82 mmol) e hidróxido de potasio (2,14 g, 38,2 mmol) en etanol (35 mL) y agua (8 mL) se calentaron a 90 °C (temperatura de bloqueo) durante 9 h. Se añadió más hidróxido de potasio (2,14 g, 38,2 mmol) y agua (8 mL) y la reacción se calentó durante otras 18 h. La reacción se dejó enfriar y se neutralizó con HCl acuoso. Por filtración, se recogió un sólido blanco y se intentó purificar el filtrado con un cartucho SCX, pero no se logró. Se combinaron el sólido y el producto de la SCX, se añadió metanol y después la mezcla se aciduló con ácido acético. La mezcla se filtró para obtener el filtrado, que después se atrapó en un cartucho SCX, se lavó con metanol y eluyó con amoníaco 2M en metanol. A escala de ensayo, esto dio el compuesto del título en forma de un sólido blanco (96 mg, 0,41 mmol) y el material residual dio un aceite incoloro (563 mg, 2,41 mmol).  $\delta$ H (metanol- $d_4$ , 400 MHz): 7,85 (1H, d), 7,74 (1H, dd), 7,03 (1H, d), 2,85 (4H, dd), 2,73 (2H, q), 1,72 (4H, m), 1,61 (2H, m), 1,25 (3H, t) ppm. MS (ES):  $C_{14}H_{19}NO_2$  requiere 233; encontrado 234 ( $MH^+$ ).

#### Descripción para D14

25 **5-Cloro-6-(1-pirrolidinil)-3-piridincarboxilato de etilo (D14)**

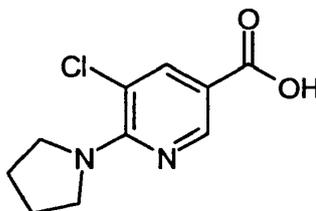


Una mezcla de éster etílico de ácido 5,6-dicloronicotínico (1,00 g, 4,57 mmol), pirrolidina (325 mg, 4,57 mmol), carbonato de potasio (632 mg, 4,57 mmol) y cobre en polvo (34 mg) en DMF (6,8 mL) se calentó a 130 °C en el microondas durante 20 min. Se añadió más pirrolidina (163 mg, 2,29 mmol) y la reacción se calentó a 130 °C

durante 20 min. Se añadió agua (7 mL) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (2 x 14 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (7 mL) y salmuera (7mL) antes de secarse (separador de fases) y concentrarse a *vacío* para dar el compuesto del título en forma de un aceite anaranjado (1,06 g, 4,17 mmol).  $\delta$ H (metanol- $d_4$ , 400 MHz): 8,45 (1H, d), 7,98 (1H, d), 4,31 (2H, q), 3,82-3,75 (4H, m), 2,0-1,93 (4H, m), 1,36 (3H, t) ppm. MS (ES):  $C_{12}H_{15}ClN_2O_2$  requiere 254, 256; encontrado 255, 257 ( $MH^+$ ).

#### Descripción para D15

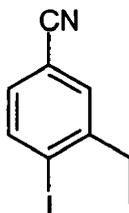
##### Ácido 5-cloro-6-(1-pirrolidinil)-3-piridincarboxílico (D15)



5-cloro-6-(1-pirrolidinil)-3-piridinacarboxilato de etilo (**D14**) (1,06 g, 4,16 mmol) en etanol (20 mL) e hidróxido de sodio acuoso (2M, 2,08 mL, 4,16 mmol) se calentó a 40 °C durante 18 h. La mezcla de reacción se dejó enfriar y se neutralizó con 2M HCl (aq.). El compuesto del título se obtuvo en forma de un sólido blanco y se separó por filtración y se lavó con metanol para dar el compuesto del título (243 mg, 1,08 mmol) SJ108923-113A3. El filtrado se atrapó en una columna SCX, eluyendo con amoniaco 2M en metanol para dar más compuesto del título como un sólido anaranjado (467 mg, 2,07 mmol).  $\delta$ H (metanol- $d_4$ , 400 MHz): 8,55 (1H, d), 8,03 (1H, d), 3,76-3,70 (4H, m), 1,96-1,90 (4H, m). MS (ES):  $C_{10}H_{11}ClN_2O_2$  requiere 226, 228; encontrado 227, 229 ( $MH^+$ ).

#### Descripción para D16

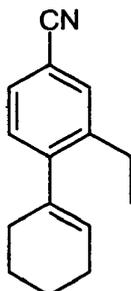
##### 3-Etil-4-yodobenzonitrilo (D16)



A 4-amino-3-etilbenzonitrilo (2,50 g, 17,1 mmol) agitado en agua (14 mL) a 0 °C se añadió ácido clorhídrico concentrado (7,80 mL, 257 mmol) gota a gota seguido de una disolución de nitrito de sodio (1,24 g, 18,0 mmol) en agua (3,43 mL) gota a gota. La mezcla resultante se agitó durante 15 minutos y después se añadió a lo largo de 15 minutos a una disolución de yoduro de potasio (2,98 g, 18,0 mmol) en agua (6,0 mL) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 mL) y las fracciones orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (100 mL), se secaron (separador de fases) y concentraron a *vacío* para dar el compuesto del título en forma de un sólido pardo (4,21 g, 16,4 mmol).  $\delta$ H (metanol- $d_4$ , 400 MHz): 8,02 (1H, d), 7,61 (1H, d), 7,24 (1H, dd), 2,80 (2H, q), 1,21 (3H, t). MS (ES): No se observaron iones de masas

#### Descripción para D17

##### 4-(1-Ciclohexen-1-il)-3-etilbenzonitrilo (D17)

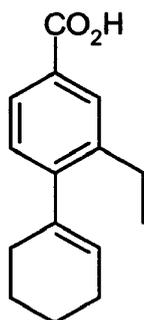


Una mezcla de 3-etil-4-yodobenzonitrilo (**D16**) (1,23 g, 4,80 mmol), ácido 1-ciclohexen-1-ilborónico (907 mg, 7,20

mmol), metóxido de sodio (778 mg, 14,4 mmol) y cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio (II) (337 mg, 0,48 mmol) en metanol anhidro (12 mL) se calentó a 80 °C durante 10 minutos en el microondas. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (40 mL) y agua (40 mL) antes de lavar adicionalmente la capa orgánica con agua (40 mL), se secó (separador de fases) y se concentró a vacío. El material bruto se purificó por cromatografía sobre sílice, eluyendo con 0-5 % de EtOAc en hexano a lo largo de 30 minutos para dar el compuesto del título en forma de un aceite amarillo (824 mg, 3,91 mmol).  $\delta$ H (metanol- $d_4$ , 400 MHz) 7,56 (1H, d), 7,46 (1H, dd), 7,19 (1H, d), 5,61-5,56 (1H, m), 2,68 (2H, quart), 2,23-2,16 (4H, m), 1,85-1,68 (4H, m), 1,20 (3H, t). MS (ES): No se observaron iones de masas

#### Descripción para D18

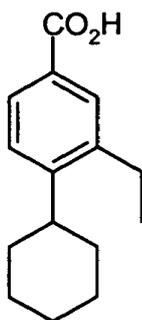
10 **4-(1-Ciclohexen-1-il)-3-etilbenzonitrilo (D18)**



15 4-(1-ciclohexen-1-il)-3-etilbenzonitrilo (D17) (824 mg, 3,91 mmol) e hidróxido de potasio (2,19 g, 39,1 mmol) en etanol (36 mL) y agua (8 mL) se calentaron a 90 °C (temperatura de bloqueo) durante 20 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se repartió entre acetato de etilo (120 mL) y ácido clorhídrico acuoso (2M, 50 mL) antes de lavar la fase orgánica con más ácido clorhídrico (2M, 50 mL), secar (separador de fases) y concentrar a vacío para dar el compuesto del título en forma de un aceite amarillo (808 mg, 3,51 mmol).  $\delta$ H (metanol- $d_4$ , 400 MHz) 7,87 (1H d), 7,76 (1H dd), 7,11 (1H, d) 5,59-5,54 (1H, m), 2,68 (2H, q), 2,25-2,15 (4H, m), 1,84-1,67 (4H, m), 1,20 (3H, t). LCMS (ES):  $C_{15}H_{18}O_2$  requiere 230; encontrado 229 (M- $H^+$ ).

#### Descripción para D19

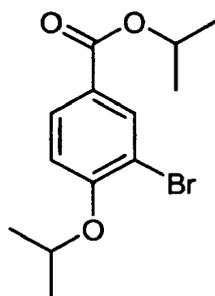
20 **Ácido 4-ciclohexil-3-etilbenzoico (D19)**



25 Ácido 4-(1-ciclohexen-1-il)-3-etilbenzoico (D18) (803 mg, 3,49 mmol) se disolvió en metanol (70 mL) y se hidrogenó en una H-Cuba usando un artucho de paladio sobre carbono. La disolución del producto se concentró a vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (792 mg, 3,41 mmol).  $\delta$ H (metanol- $d_4$ , 400 MHz): 7,82-7,68 (2H, m), 7,33 (1H, d), 2,83 (1H, m), 2,73 (2H, q), 1,87 (2H, m), 1,85-1,70 (3H, m), 1,58-1,30 (5H, m), 1,22 (3H, t). LCMS (ES): No se observaron iones de masas

#### Descripción para D20

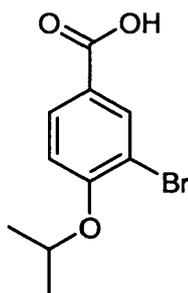
**3-bromo-4-[(1-metiletil)oxi]benzoato de 1-metiletilo (D20)**



5 Una mezcla de ácido 3-bromo-4-hidroxibenzoico (2,00 g, 9,22 mmol), 2-yodopropano (1,85 mL, 18,4 mmol) y carbonato de potasio (2,55 g, 18,4 mmol) en DMF (175 mL) se calentó a reflujo durante 5 h. La reacción se dejó enfriar y se filtró. El filtrado se concentró *a vacío* y el residuo se repartió entre acetato de etilo (150 mL) y agua (150 mL), que se alcalinizó con NaOH 2M. La fase orgánica se secó (separador de fases) y concentró *a vacío* para dar el compuesto del título en forma de un aceite amarillo (2,36 g, 7,84 mmol).  $\delta$ H (metanol- $d_4$ , 400 MHz): 8,05 (1H, d), 7,90 (1H, dd), 7,25 (1H, d), 5,10 (1H, septete), 4,81 (1H, septete), 1,32 (6H, d), 1,31 (6H, d) ppm. MS (ES): No se observaron iones de masas

#### Descripción para D21

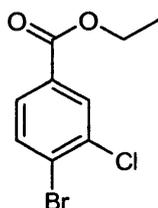
10 **Ácido 3-bromo-4-[(1-metiletil)oxi]benzoico (D21)**



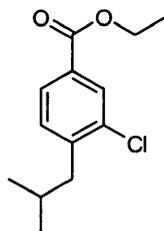
15 Una solución de 3-bromo-4-[(1-metiletil)oxi]benzoato de 1-metiletilo (D20) (2,36 g, 7,84 mmol) en etanol (100 mL) e hidróxido de sodio acuoso (2M, 39 mL) se calentó a reflujo durante 5 h. La mezcla de reacción se concentró *a vacío* y se repartió entre acetato de etilo (125 mL) y agua (125 mL), esta última se aciduló con 2M HCl (40 mL). La capa acuosa se extrajo con más acetato de etilo (70 mL) y los extractos orgánicos combinados se secaron (separador de fases) y concentraron *a vacío* para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanquecino (1,83 g, 7,06 mmol).  $\delta$ H (metanol- $d_4$ , 400 MHz): 8,05 (1H, d), 7,89 (1H, dd), 7,23 (1H, d), 4,79 (1H, septete), 1,32 (6H, d). MS (ES):  $C_{10}H_{11}BrO_3$  requiere 258, 260; encontrado 257, 259 (M-H<sup>+</sup>).

#### Descripción para D22

20 **4-Bromo-3-clorobenzoato de etilo (D22)**

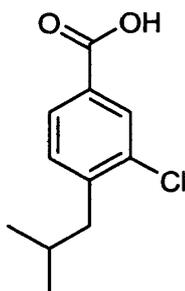


25 A una suspensión de ácido 4-bromo-3-clorobenzoico (5,00 g, 21,2 mmol) en etanol (50 mL) se añadió ácido sulfúrico (5 mL) y la mezcla resultante se calentó a reflujo durante 60 h. La reacción se repartió entre acetato de etilo (50 mL) y agua (50 mL). La capa acuosa se extrajo con más acetato de etilo (mL) y las fracciones orgánicas combinadas se secaron (separador de fases) y concentraron *a vacío* para dar el compuesto del título en forma de un aceite/sólido blanquecino (5,09 g, 19,3 mmol).  $\delta$ H ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz): 8,06 (1H, d), 7,96 (1H, d), 7,80 (1H, dd), 4,33 (2H, q), 1,33 (3H, t). MS (ES): No se observaron iones de masas

**Descripción para D23****3-Cloro-4-(2-metilpropil)benzoato de etilo (D23)**

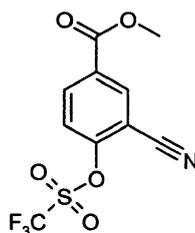
5 Una solución de bromuro de isobutil zinc en THF (0,5 M, 30 mL, 15,0 mmol) se añadió bajo argón a 4-bromo-3-clorobenzoato de etilo (**D22**) (2,00 g, 7,60 mmol) y después se añadió complejo de dicloruro de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno-paladio(II) con diclorometano (930 mg, 1,14 mmol). La reacción se calentó a reflujo durante 4,5 h. La mezcla se concentró a vacío y el residuo se repartió entre acetato de etilo (125 ml) y agua (125 ml). Se formó un sólido, que se separó por filtración y se descartó. La capa orgánica se lavó con agua (100 mL), se secó (separador de fases) y concentró a vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía sobre sílice, eluyendo con 0-5 % EtOAc en hexano a lo largo de 30 minutos para dar el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (1,76 g, 7,33 mmol).  $\delta$ H ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz): 7,91 (1H, d), 7,80 (1H, dd), 7,46 (1H, d), 4,30 (2H, q), 2,66 (2H, d), 1,88-2,01 (1H, m), 1,32 (3H, t), 0,89 (6H, d). MS (ES): No se observaron iones de masas

10

**Descripción para D24****Ácido 3-cloro-4-(2-metilpropil)benzoico(D24)**

15 Una solución de 3-cloro-4-(2-metilpropil)benzoato de etilo (D23) (1,76 g, 7,33 mmol), e hidróxido de sodio acuoso (2M, 3,70 mL, 7,4 mmol) en etanol (30 mL) se calentó a 40 °C durante 3 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se repartió entre acetato de etilo (100 mL) y agua (100 mL), esta última se aciduló con 2M HCl (4 mL). La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (100 mL) y los extractos orgánicos combinados se secaron (separador de fases) y concentraron a vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (1,35 g, 6,36 mmol).  $\delta$ H ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz): 13,20 (1H, s ancho), 7,89 (1H, d), 7,82 (1H, dd), 7,44 (1H, d), 2,64 (2H, d), 1,94 (1H, m), 0,89 (6H, d). MS (ES):  $C_{11}H_{13}^{35}ClO_2$  requiere 212; encontrado 211 ( $M-H^+$ ).

20

**Descripción para D25****3-Ciano-4-[(trifluorometil)sulfonyl]oxi}benzoato de metilo (D25)**

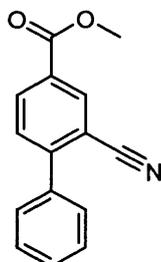
25 A una disolución de 3-ciano-4-hidroxibenzoato de metilo (3 g, 16,93 mmol) y trietilamina (3,54 ml, 25,4 mmol) en diclorometano seco (60 ml) a 0 °C bajo una corriente de argón se añadió anhídrido trifluorometanosulfónico (3,15 ml, 18,63 mmol) lentamente gota a gota. La reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. La mezcla de reacción se lavó con carbonato de potasio acuoso al 10% (2 x 50 mL) y después HCl acuoso (2M, 2 x 50 mL) antes de secar la fase orgánica (separador de fases) y separar el disolvente a vacío para dar el compuesto del

30

título en forma de un aceite pardo oscuro, (5,165 g, 16,70 mmol).  $\delta$ H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 8,44 (1H, d), 8,38 (1H, dd), 7,60 (1H, d), 3,99 (3H, s). MS (ES): No se observaron iones de masas

#### Descripción para D26

##### 2-Ciano-4-bifenilcarboxilato de metilo (D26)

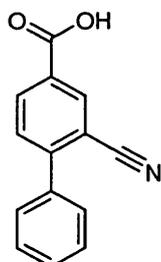


5

La siguiente reacción se repartió entre dos lotes con la mitad de las cantidades: 3-Ciano-4-  
 10 {{{(trifluorometil)sulfonyl}oxi}benzoato de metilo (D25) (1,5 g, 4,85 mmol), ácido fenilborónico (1,183 g, 9,70 mmol),  
 carbonato de potasio (2,011 g, 14,55 mmol) y tetrakis(trifenilfosfina) paladio(0) (0,561 g, 0,485 mmol) se recogieron en  
 DMF (24 ml) y la mezcla se calentó en el microondas durante 30 min a 150 °C. Las dos reacciones se combinaron y  
 diluyeron con acetato de etilo (50 mL) y la mezcla se filtró a través de tierra de diatomeas para separar las trazas de  
 paladio. El filtrado se concentró *a vacío* para disminuir la cantidad de DMF y después el residuo se repartió entre  
 bicarbonato de sodio acuoso saturado (50 mL) y acetato de etilo (50 mL). La fase orgánica se lavó con más  
 bicarbonato de sodio (50 mL) y después agua (50 mL) antes de secarla (MgSO<sub>4</sub>), filtrar y separar el disolvente *a*  
 15 *vacío*. El sólido pardo se purificó por cromatografía sobre sílice, eluyendo con 0-25 % de EtOAc en isohexano a lo  
 largo de 35 minutos para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (935 mg, 3,94 mmol).  $\delta$ H (d<sub>6</sub>-  
 DMSO, 400 MHz): 8,42 (1H, d), 8,29 (1H, dd), 7,81 (1H, d), 7,65 (2H, m), 7,60 -7,50 (3H, m), 3,92 (3H, s). MS (ES):  
 No se observaron iones de masas

#### Descripción para D27

##### Ácido 2-ciano-4-bifenilcarboxílico (D27)



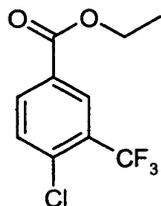
20

A 2-ciano-4-bifenilcarboxilato de metilo (D26) (935 mg, 3,94 mmol) se añadió etanol (18 ml) pero no se producía la  
 disolución, así que se añadió diclorometano (10 ml).

Después se añadió hidróxido de sodio (2 ml, 4,00 mmol) y la reacción se agitó durante 2 h. A la mezcla se añadió  
 diclorometano (20 mL) y HCl acuoso 2M 10 mL). Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con más  
 25 diclorometano (20 ml). La fase orgánica combinada se secó (separador de fases) y el disolvente se separó *a vacío*  
 para dar un sólido blanco, que se disolvió en metanol (30 mL) y se añadió hidróxido de sodio acuoso (2M, 3 mL). La  
 reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h antes de la adición de agua (20 mL). La mezcla de reacción se  
 agitó durante 1 h más. Se añadió diclorometano (60 mL) y la mezcla se sacudió y se separaron las capas. La fase  
 acuosa se extrajo con más diclorometano (50 mL) antes de secar la fase orgánica combinada (separador de fases) y  
 30 separar el disolvente *a vacío* para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (849 mg, 3,80 mmol).  $\delta$ H  
 (d<sub>6</sub>-DMSO, 400 MHz): 13,60 (1H, s ancho), 8,38 (1H, d), 8,28 (1H, dd), 7,78 (1H, d), 7,63 (2H, m), 7,60-7,50 (3H, m).  
 MS (ES): C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>NO<sub>2</sub> requiere 223; encontrado 222 (M-H<sup>+</sup>).

#### Descripción para D28

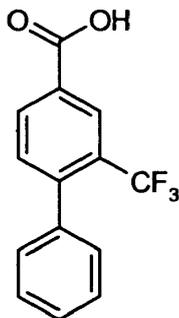
##### 4-Cloro-3-(trifluorometil)benzoato de etilo (D28)



- 5 Ácido 4-cloro-3-(trifluorometil)benzoico (1 g, 4,45 mmol) se disolvió en etanol (3 ml) y se añadió ácido sulfúrico concentrado (0,15 ml). La mezcla se calentó en el microondas at 100 °C durante 5 minutos y después 120 °C durante 15 minutos. El disolvente se separó a vacío y el residuo se repartió entre bicarbonato de sodio acuoso saturado (50 ml) y acetato de etilo (50 ml). La capa acuosa se extrajo con más EtOAc (50 ml) y las fases orgánicas se combinaron, se secaron con un separador de fases y concentraron a vacío para dar el compuesto del título (1,026 g) (DN108121-148A3) en forma de un aceite incoloro.  $\delta$ H (metanol-d<sub>4</sub>, 400 MHz) 1,40 (3H, t), 4,41 (2H, q), 7,76 (1H, d), 8,21 (1H, dd), 8,33 (1H, d). MS (ES) no se observaron iones de masas.

#### Descripción para D29

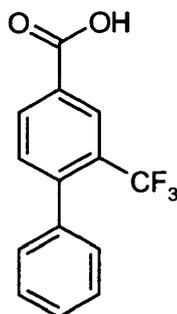
- 10 **Ácido 2-(trifluorometil)-4-bifenilcarboxílico (D29)**



- 15 La reacción dividió en 4, usando la cuarta parte de los reactivos en cada caso: a una mezcla de 4-bromo-3-(trifluorometil)benzonitrilo (4 g, 16,00 mmol), ácido fenilborónico (3,90 g, 32,0 mmol) y carbonato de potasio (6,63 g, 48,0 mmol) en N,N-dimetilformamida (DMF) (64 ml) se añadió tetrakis(trifluorometil)fosfina paladio(0) (1,849 g, 1,600 mmol). Cada reacción se calentó en el microondas a 150 °C durante 30 min. Las mezclas de reacción combinadas se filtraron a través de celite, se lavaron con acetato de etilo y se separó el disolvente a vacío. El residuo se repartió entre acetato de etilo (100 mL) y agua (100 mL) y la fase orgánica se lavó con disolución de bicarbonato de sodio (100 mL). La fase orgánica se secó (MgSO<sub>4</sub>), filtró y se separó el disolvente a vacío. El aceite pardo se trituró con diclorometano y filtró para dar un sólido amarillo pálido, 2-(trifluorometil)-4-bifenilcarboxamida (2,47 g) que se usó sin más purificación.
- 20 A 2-(trifluorometil)-4-bifenilcarboxamida (2 g, 7,54 mmol) en etanol (80 ml) se añadió hidróxido de potasio (4,23 g, 75 mmol) y agua y la mezcla se calentó a 90 °C durante 18 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se repartió entre diclorometano (100 mL) y 2M HCl (100 mL). La fase orgánica se aisló y se secó (separador de fases) y el disolvente se separó a vacío para dar el producto bruto. La purificación usando el cartucho en fase inversa Biotage Horizon, eluyendo con 5-100 % de MeCN en agua dio un sólido blanquecino, el compuesto del título (960 mg) (N2123-46-A5). MS (ES): C<sub>14</sub>H<sub>9</sub>F<sub>3</sub>O<sub>2</sub> requiere 266; encontrado 265 (M-H<sup>+</sup>).
- 25

#### Descripción para D29 (Procedimiento alternativo)

#### Ácido 2-(trifluorometil)-4-bifenilcarboxílico (D29)



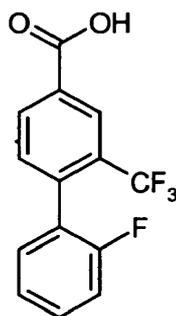
Lote A: Una mezcla de **D98** (1,0 g, 3,96 mmol), ácido fenilborónico (724 mg, 5,94 mmol), acetato de paladio (44 mg), (diciclohexilfosfino)bifenilo (140,2 mg) y fluoruro de potasio (689 mg, 11,9 mmol) en THF (8 ml) se calentó en el microondas a 120 °C durante un total de 40 minutos.

- 5 Lote B: Una mezcla de **D28** (500 mg, 1,98 mmol), ácido fenilborónico (290 mg, 2,38 mmol), acetato de paladio (2,2 mg), (diciclohexilfosfino)bifenilo (7 mg) y fluoruro de potasio (344 mg, 5,8 mmol) en THF (4 ml) se calentó en el microondas a 120 °C durante 20 minutos.

Las mezclas de reacción de los lotes A & B se combinaron, filtraron y el filtrado se concentró a vacío. El residuo se purificó por cromatografía instantánea (0 a 5% de EtOAc en hexano para dar una mezcla de material de partida y producto acoplado. Este material se disolvió en etanol (10 ml) y NaOH 2M (aq) (5ml) y después se calentó a reflujo durante 3 h. El disolvente se separó a vacío y el residuo se repartió entre DCM y 2M aq. HCl. La capa acuosa se extrajo con más DCM. Las fases orgánicas se combinaron y se concentraron al vacío. The material bruto se purificó por cromatografía en fase reversa sobre Horizon eluyendo con 5 a 100% MeCN en agua para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (367 mg).  $\delta$ H ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz) 7,31-7,40 (2H, m), 7,44-7,52 (3H, m), 7,57 (1H, d), 8,24 (1H, dd), 8,29 (1H, d), 13,57 (1H, s ancho). MS (ES):  $C_{14}H_9F_3O_2$  requiere 266; encontrado 265 (M-H<sup>+</sup>).

#### Descripción para D30

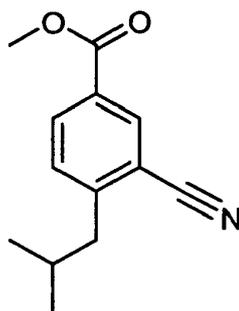
##### Ácido 2'-Fluoro-2-(trifluorometil)-4-bifenilcarboxílico (D30)



20 Este material se preparó usando un método similar al descrito para **D29** usando ácido (2-fluorofenil)borónico y **D98** excepto que sólo se realizó una reacción de acoplamiento, similar al lote A y la reacción de acoplamiento se calentó durante 20 minutos. MS (ES):  $C_{14}H_8F_4O_2$  requiere 284; encontrado 283 (M-H<sup>+</sup>).

#### Descripción para D31

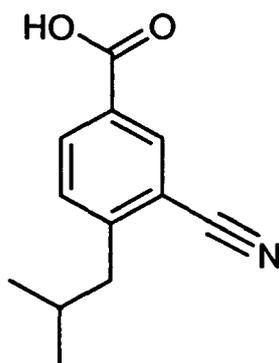
##### 3-Ciano-4-(2-metilpropil)benzoato de metilo (D31)



5 A 3-ciano-4-[[[(trifluorometil)sulfonil]oxi]benzoato de metilo (D25) (1,5 g, 4,85 mmol) se añadió bromo(2-metilpropil)zinc (48,5 ml, 24,25 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) bajo argón. A la disolución se añadió después  
 10 complejo de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocenodichloro paladio(II) con diclorometano (0,355 g, 0,485 mmol) y la reacción se calentó a reflujo durante 6 h. La mezcla se inactivó con agua (2 mL) y después se filtró a través de celite, lavando con acetato de etilo. El disolvente se separó a vacío. El residuo se repartió entre acetato de etilo (50 mL) y agua (50 mL) y la fase orgánica se secó (separador de fases) y se separó el disolvente a vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre sílice, eluyendo con 0-15 % de EtOAc en iso-hexano a lo largo de 40 min. Se recogieron dos lotes, uno de los cuales era el compuesto del título en forma de un aceite incoloro (233 mg, 1,072 mmol).  $\delta$ H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 8,28 (1H, d), 8,15 (1H, dd), 7,38 (1H, d), 3,94, 3H, s), 2,78 (2H, d), 2,02 (1H, m), 0,96 (6H, d).

#### Descripción para D32

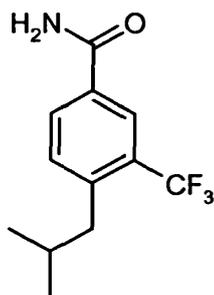
#### Ácido 3-Ciano-4-(2-metilpropil)benzoico(D32)



15 3-ciano-4-(2-metilpropil)benzoato de metilo (D31) (233 mg, 1,072 mmol) se disolvió en etanol (4 ml) y se añadió hidróxido de sodio acuoso 2M (1 ml, 2 mmol). La reacción se agitó durante 1 h. Se añadió HCl acuoso 2M (10 mL) y la mezcla extrajo con diclorometano (20 mL + 10 mL). Las fases orgánicas se aislaron y se secaron con el separador de fases y se combinaron antes de separar el disolvente a vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (203 mg, 0,999 mmol).  $\delta$ H (d<sub>6</sub>-DMSO, 400 MHz) 13,43 (1H, s ancho), 8,29 (1H, d), 8,14 (1H, dd), 7,59 (1H, d), 2,74 (2H, d), 1,96 (1H, m), 0,91 (6H, d). MS (ES): C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub> requiere 203; encontrado 202 (M-H<sup>+</sup>).

#### 20 Descripción para D33

#### 4-(2-Metilpropil)-3-(trifluorometil)benzamida (D33)

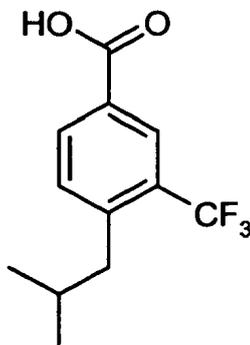


25 A una disolución de 4-bromo-3-trifluorometilbenzonitrilo (1,25 g, 5,0 mmol) y bromuro de isobutil zinc (25 mmol) en THF (50 mL, 25 mmol) bajo argón se añadió el complejo de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocenedichloro paladio(II) con diclorometano (612 mg, 0,75 mmol) y la reacción se calentó a reflujo durante 5 h. La mezcla se concentró a vacío y

el residuo se repartió entre acetato de etilo (80 mL) y agua (80 mL). Se formó un sólido y se separó por filtración y se descartó. La capa orgánica se lavó con agua (80 mL) antes de secarla (separador de fases) y concentrarla a vacío para dar el compuesto del título bruto como un aceite negro. Este se usó directamente en la siguiente etapa (1,35 g).

#### Descripción para D34

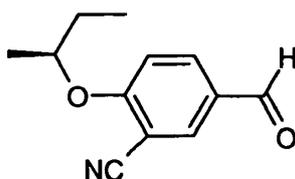
##### 5 Ácido 4-(2-metilpropil)-3-(trifluorometil)benzoico (D34)



4-(2-metilpropil)-3-(trifluorometil)benzamida (**D33**) (1,35 g, 5,50 mmol) se disolvió junto con hidróxido de potasio (3,09 g, 55,0 mmol) en etanol (40 ml) y agua (10,0 ml) y la disolución se calentó a reflujo durante 18 h. La mezcla de reacción se concentró a vacío y la mezcla se separó entre EtOAc (150 mL) e hidróxido de sodio acuoso (2M, 150 mL). Las capas se separaron y la fase orgánica se extrajo con más disolución de hidróxido de sodio (200 ml). La LCMS de ambas fases indicó que había producto en ambas. Por lo tanto, la fase acuosa se aciduló a pH1 con HCl (5M) y se extrajo de nuevo en EtOAc (2 x 150 mL) y estas fases orgánicas se combinaron con la fase orgánica original. El disolvente se separó a vacío y el residuo se purificó por cromatografía en fase inversa eluyendo con 5-100 % de MeCN en H<sub>2</sub>O a lo largo de 2000 mL y se separó el disolvente a vacío para dar un sólido pardo (690 mg, 2,410 mmol). Este sólido se trituró con hexano para dar el compuesto del título como un sólido de color canela (135 mg, 0,548 mmol) y el filtrado se purificó por MDAP para dar más compuesto del título en forma de un sólido blanco (102 mg, 0,414 mmol). δH (d<sub>6</sub>-DMSO, 400 MHz): 13,39 (1H, s ancho), 8,16 (1H, s), 8,13 (1H, d), 7,62 (1H, d), 2,69 (2H, d), 1,97 (1H, m), 0,90 (6H, d). MS (ES): C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>F<sub>3</sub>O<sub>2</sub> requiere 246; encontrado 245 (M-H<sup>+</sup>).

#### Descripción para D35

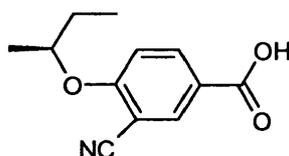
##### 20 5-Formil-2-(((1S)-1-metilpropil]oxi)benzonitrilo (D35)



(2S)-2-Butanol (0,99 g, 0,013 mol) se disolvió en DMF (50 ml) y la disolución se enfrió a 0 °C. A esto se añadió hidruro de sodio, (dispersion al 60% en aceite mineral, 1,54g, 0,036 mol) en porciones, la mezcla se agitó a 0 °C durante 10 minutos una vez terminada la adición. Después se añadió 2-fluoro-5-formylbenzonitrilo (2,0 g, 0,013 mol) y la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente (lentamente dentro del baño de hielo) y la mezcla de reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Después, la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, se inactivó con salmuera y diluyó con EtOAc (~25ml). La mezcla se repartió y la fracción orgánica se extrajo con agua (~30ml), las fases orgánicas combinadas se secaron haciéndolas pasar a través de un cartucho separador de fases y después se evaporó hasta sequedad a presión reducida para dar el producto bruto. El residuo bruto se purificó en un cartucho 40+M Biotage, eluyendo con una mezcla del 20 al 50 % de EtOAc en hexano. Esto dio el compuesto del título (220 mg) en forma de un sólido blanquecino. δH (d<sub>6</sub>-DMSO, 400MHz): 9,88 (1H, s), 8,30 (1H, s), 8,15 (1H, d), 7,49 (1H, d), 4,73-4,81 (1H, m), 1,63-1,79 (2H, m), 1,33 (3H, d), 0,95 (3H, t). MS (ES): C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub> requiere 203; encontrado 204 (MH<sup>+</sup>).

#### Descripción para D36

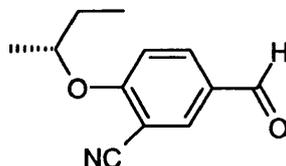
##### 35 Ácido 3-ciano-4-(((1S)-1-metilpropil]oxi)benzoico (D36)



5 A una disolución de 5-formil-2-[[*(1S)*-1-metilpropil]oxi]benzonitrilo (D35) (220mg, 1,08 mmol) en ácido acético (20ml) se añadió perborato de sodio tetrahidratado (334mg, 2,17 mmol), la mezcla de reacción se calentó a 50 °C a lo largo del fin de semana. La mezcla de reacción se enfrió y se concentró al vacío. Se añadió agua (~50ml), se añadió EtOAc (~30ml) y se repartieron las capas, la capa acuosa se extrajo dos veces más con EtOAc (~30ml) y las fases orgánicas combinadas se evaporaron hasta sequedad a presión reducida para dar el compuesto del título (245400 mg) en forma de un sólido blanquecino.  $\delta$ H ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz): 8,17 (2H, apparent d), 7,39 (1H, s), 4,68-4,74 (1H, m), 1,55-1,76 (2H, m), 1,31 (3H, d), 0,95 (3H, t). MS (ES):  $C_{12}H_{13}NO_2$  requiere 219; encontrado 220 (MH<sup>+</sup>).

#### Descripción para D37

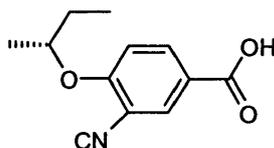
10 **5-Formil-2-[[*(1R)*-1-metilpropil]oxi]benzonitrilo (D37).**



15 (2R)-2-Butanol (0,99 g, 0,013 mol) se disolvió en DMF (50 ml) y la disolución se enfrió a 0 °C. A esto se añadió hidruro de sodio, dispersion al 60% en aceite mineral, (1,54g, 0,036 mol) en porciones, la mezcla se agitó a 0 °C durante 10 minutos una vez terminada la adición. Después se añadió 2-fluoro-5-formylbenzonitrilo (2,0 g, 0,013 mol) y la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente (lentamente dentro del baño de hielo) y la mezcla de reacción se agitó durante una noche a temperatura ambiente. Después, la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C, se inactivó con salmuera y diluyó con EtOAc (~25ml). La mezcla se repartió y la fracción orgánica se extrajo con agua (~30ml), las fases orgánicas combinadas se secaron haciéndolas pasar a través de un cartucho separador de fases y se evaporó hasta sequedad a presión reducida para dar el producto bruto. El residuo bruto se purificó en un cartucho 40+M Biotage, eluyendo con una mezcla del 20 al 50 % de EtOAc en hexano. Esto dio el compuesto del título (310 mg) en forma de un aceite amarillo.  $\delta$ H ( $d_6$ -DMSO, 400MHz): 9,88 (1H, s), 8,30 (1H, s), 8,15 (1H, d), 7,49 (1H, d), 4,73-4,81 (1H, m), 1,63-1,79 (2H, m), 1,33 (3H, d), 0,95 (3H, t) ppm.

#### Descripción para D38

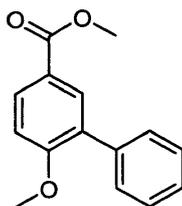
**Ácido 3-ciano-4-[[*(1R)*-1-metilpropil]oxi]benzoico (D38)**



25 A una disolución de 5-formil-2-[[*(1R)*-1-metilpropil]oxi]benzonitrilo (D37) (310mg, 1,53 mmol) en ácido acético (30ml) se añadió perborato de sodio tetrahidratado (471mg, 3,05 mmol), la mezcla de reacción se calentó a 50 °C a lo largo del fin de semana. La mezcla de reacción se concentró a vacío y se añadió agua (~50ml), se añadió EtOAc (~30ml) y se repartieron las capas, la capa acuosa se extrajo dos veces más con EtOAc (~30ml) y las fases orgánicas combinadas se evaporaron hasta sequedad a presión reducida para dar el compuesto del título (315 400 mg) en forma de un sólido blanquecino.  $\delta$ H ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz): 8,07-8,24 (2H, m), 7,38 (1H, d), 4,63-4,77 (1H, m), 1,55-1,83 (2H, m), 1,31 (3H, d), 0,95 (3H, t). EM (ES+):  $C_{12}H_{13}NO_2$  requiere 219; encontrado 220 (MH<sup>+</sup>).

#### Descripción para D39

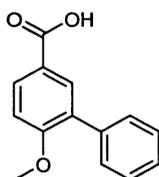
**6-(Metiloxi)-3-bifenilcarboxilato de metilo (D39)**



5 3-bromo-4-(metiloxi)benzoato de metilo (245 mg, 1 mmol, obtenibles en el mercado) se disolvió en DME : Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2N (2:1, 18 ml) y después se añadieron ácido fenilborónico (244 mg) y tetrakis(trifenil)fosfina paladio(0) (58 mg). La reacción se calentó a 80 °C y después se dejó enfriar a lo largo de un fin de semana. Se añadieron EtOAc y agua, las fases orgánicas se separaron, secaron y evaporaron para dar un chicle negro. La purificación por cromatografía instantánea proporcionó el compuesto del título (194 mg) en forma de chicle. δH (d<sub>6</sub>-DMSO, 400MHz) 3,83 (3H, s), 3,85 (3H, s), 7,24 (1H, d), 7,33-7,50 (5H, m), 7,83 (1H, d), 7,97 (1H, dd). MS (ES): C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub> requiere 242; encontrado 243 (MH<sup>+</sup>).

#### Descripción para D40

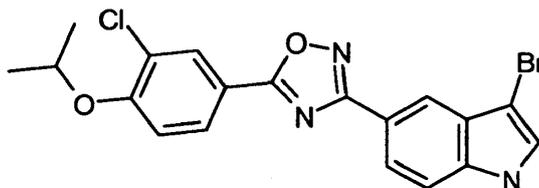
10 **Ácido 6-(metiloxi)-3-bifenilcarboxílico (D40)**



15 6-(Metiloxi)-3-bifenilcarboxilato de metilo (D39) (194 mg, 0,8 mmol) se disolvió en NaOH 2N aq. (3 ml) y metanol (3 ml). Se agitó a temperatura ambiente durante una noche y después el disolvente orgánico se evaporó a vacío. Se añadieron EtOAc y agua, las fases orgánicas se separaron y después se aciduló la capa acuosa y se volvió a extraer. Los extractos orgánicos se secaron y evaporaron para dar 202 mg del compuesto del título en forma de un sólido blanco. δH (d<sub>6</sub>-DMSO, 400MHz) 3,84 (3H, s), 7,22 (1H, d), 7,33-7,49 (5H, m), 7,82 (1H, d), 7,95 (1H, dd), MS (ES<sup>+</sup>): C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub> requiere 228; encontrado 229 (M+H<sup>+</sup>).

#### Descripción para D41

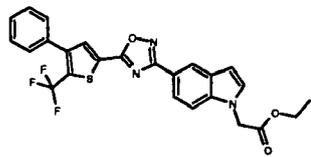
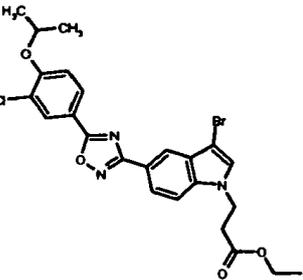
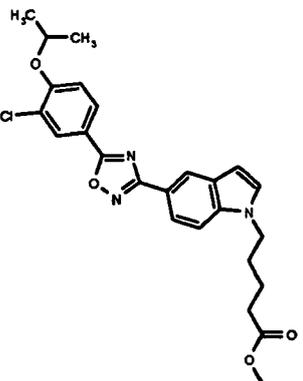
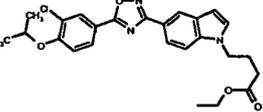
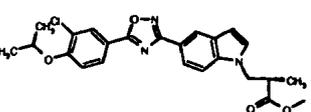
**3-Bromo-5-(5-(3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol (D41)**

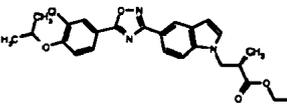
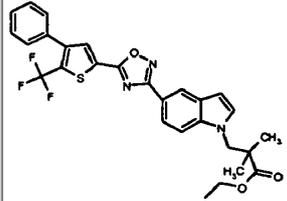


20 A 5-(5-(3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol (D5) (450mg, 1,27 mmol) disuelto en DMF (12ml) se añadió bromo (213mg, 1,35 mmol) gota a gota. Se agitó durante 15 minutos, se separó la DMF por evaporación, se añadió dietil éter (70ml) y se lavó con agua (2x70ml). Se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y el disolvente se separó por evaporación. El residuo se cristalizó con dietil éter/hexano para dar el 160 mg del compuesto del título en forma de un sólido blanco. δH (400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 1,37 (6H, d), 4,88 (1H, sept), 7,44 (1H, d), 7,59 (1H, dd), 7,72 (1H, d), 7,91 (1H, dd), 8,13-8,32 (3H, m). MS (ES) C<sub>19</sub>H<sub>15</sub><sup>79</sup>BrClN<sub>3</sub>O<sub>2</sub> requiere 431; encontrado 432 (MH<sup>+</sup>).

30 Los siguientes ésteres se prepararon de manera similar a la de los ejemplos previamente descritos (tal como **D6**) usando el indol y el agente alquilante apropiados. Los haluros de alquilo eran obtenibles en el mercado aparte de **D11** que se usó para preparar **D48**. Salvo indicación en contrario, las reacciones se realizaron en DMF. En algunas ocasiones las reacciones se trataron por un procedimiento acuoso mientras que en otras el material bruto se usó directamente en la etapa de hidrólisis tras la evaporación del disolvente de reacción.

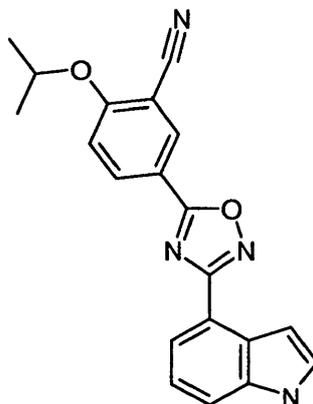
	Estructura	Nombre	Indol precursor	Comentarios	MH+
D42		(5-(5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-	D2	disolvente DMPU en vez de DMF. Reacción a 100-120	-

	Estructura	Nombre	Indol precursor	Comentarios	MH+
		indol-1-il)acetato de etilo		°C en microondas.	
D43		3-[3-bromo-5-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de etilo	D41	La reacción se calentó convencionalmente a 80 °C	534 para <sup>81</sup> Br <sup>35</sup> Cl
D44		5-[5-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]pentanoato de metilo	D5	La reacción se calentó convencionalmente a 80 °C	468
D45		4-[5-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoato de etilo	D5	Reacción se calentó a 130°C en microondas. El material bruto se usó en la siguiente etapa después de la evaporación.	-
D46		(2R)-3-[5-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]-2-metilpropanoato de metilo	D5	Reacción se calentó a 140°C en microondas. El material bruto se usó en la siguiente etapa después de la evaporación.	-
D47		(2S)-3-[5-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-	D5	Reacción se calentó a 130°C en	-

	Estructura	Nombre	Indol precursor	Comentarios	MH+
		oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]-2-metilpropanoato de etilo		microondas. El material bruto se usó en la siguiente etapa después de la evaporación.	
D48		2,2-dimetil-3-(5-(5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)propanoato de etilo	D2	Reacción se calentó a 131-150 °C en microondas. El material bruto se usó en la siguiente etapa después de la evaporación.	540

#### Descripción para D49

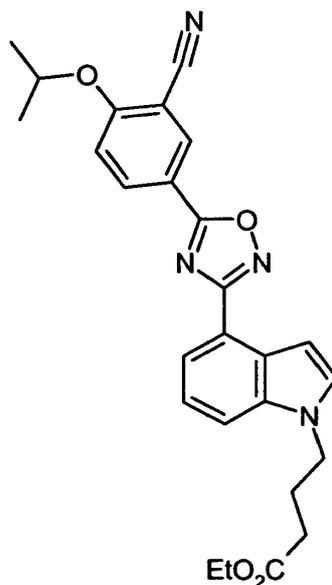
#### 5-[3-(1H-indol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-[(1-metiletil)oxi]benzonitrilo (D49)



- 5 A ácido 3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]benzoico (se puede preparar como se describe en WO2005/58848) (500mg, 2,44 mmol) en DMF (15ml) se añadió EDAC (514mg, 2,67 mmol) y HOBt (367 mg, 2,67 mmol) y la disolución se dejó estar durante 30 minutos. Se añadió *N*-hidroxi-1H-indol-4-carboximidamida (D9) (427 mg, 2,44 mmol) y se dejó estar durante 1 hora. A la disolución se añadieron EDAC (117mg, 0,61 mmol) y HOBt (84mg, 0,61 mmol) y se dejó estar durante 2 horas. A la disolución se añadieron EDAC (234,9mg, 1,22 mmol) y HOBt (167,7mg, 1,22 mmol) y se dejó estar durante una noche. Se calentó a 80 °C durante una noche, se enfrió y se añadió EtOAc (30ml). Se lavó con agua (30ml), hidrógeno-carbonato de sodio sat. (30ml) y agua (30ml). Se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y el disolvente se separó por evaporación. El residuo se trituroó con dietil éter para dar 353 mg del compuesto del título en forma de un sólido de color marrón claro. δH (400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 1,39 (6H, d), 4,94-5,03 (1H, m), 7,09-7,10 (1H, m), 7,30 (1H, t), 7,56-7,59 (2H, m), 7,67 (1H, d), 7,92 (1H, dd), 8,45 (1H, dd), 8,55 (1H, d), 11,52 (1H, s ancho). MS (ES) C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> requiere 344; encontrado 345 (MH<sup>+</sup>).
- 10
- 15

#### Descripción para D50

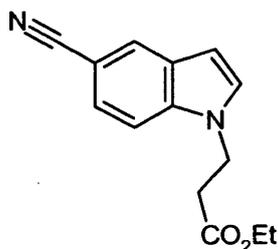
#### 4-[4-(5-[3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoato de etilo (D50)



Una mezcla de 5-[3-(1*H*-indol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-[(1-metiletil)oxi]benzonitrilo (D49) (100mg, 0,29 mmol), 4-bromobutirato de etilo (85 mg, 0,44mmol) y carbonato de cesio (189mg, 0,58 mmol) en DMF (2ml) se calentó a 80 °C durante 1 hora. Se añadió 4-bromobutirato de etilo (85mg, 0,44 mmol) y se calentó durante una noche a 80 °C. Se añadieron 4-bromobutirato de etilo (85mg, 0,44 mmol) y carbonato de cesio (189 mg, 0,58 mmol) y se calentó durante 24 horas. Se añadió 4-bromobutirato de etilo (85mg, 0,44 mmol) y se calentó durante 24 horas. Se añadió 4-bromobutirato de etilo (85mg, 0,44 mmol) y se calentó durante 6 horas. Se añadió EtOAc (20ml) y se lavó con agua (20ml). Se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y el disolvente se separó por evaporación. El residuo se cristalizó en etanol para dar el compuesto del título (55 mg) en forma de un sólido blanco. MS (ES) C<sub>26</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> requiere 458; encontrado 459 (MH<sup>+</sup>).

### Descripción 51

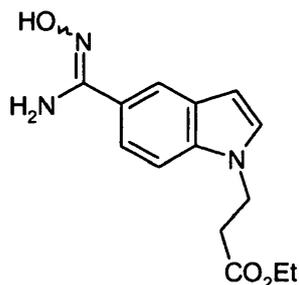
#### 3-(5-ciano-1*H*-indol-1-il)propanoato de etilo (D51)



Una mezcla de 1*H*-indol-5-carbonitrilo (1,42g, 10 mmol), 3-bromopropanoato de etilo (1,92ml, 15 mmol) y carbonato de cesio (6,5g, 20 mmol) en DMF (50ml) se calentó a 80 °C durante 4 horas. Se enfrió la disolución, se añadió dietil éter (300ml) y se lavó con agua (3X 300ml). Se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y el disolvente se separó por evaporación para dar 2,4g de aceite anaranjado pálido. Este producto bruto se usó en la siguiente etapa (preparación de D52).

### Descripción para D52

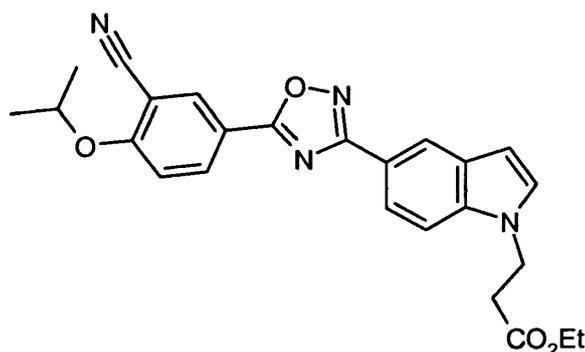
#### 3-{5-[(Hidroxiimino)(imino)metil]-1*H*-indol-1-il}propanoato de etilo



5 3-(5-ciano-1*H*-indol-1-il)propanoato de etilo (D51) (1,7g, 7,2 mmol), hidrocloreuro de hidroxilamina (1,0g, 14,4 mmol) e hidrógeno-carbonato de sodio (2,42g, 28,9 mmol) se suspendieron en etanol (100ml) y se agitó a 50 °C durante 3 días. Se formó un solo producto pero quedó 15% de material de partida. Se enfrió, el material inorgánico se separó por filtración y el disolvente se separó por evaporación. El producto cristalizó en una mezcla de EtOAc, dietil éter y hexano para dar 1,9g del compuesto del título en forma de un sólido blanco. MS (ES) C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> requiere 275; encontrado 276. (MH<sup>+</sup>).

#### Descripción para D53

#### 3-[5-(5-{3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1*H*-indol-1-il]propanoato de etilo (D53)

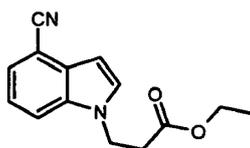


10 Ácido 3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]benzoico (se puede preparar como se describe en WO2005/58848) (215mg, 1,05 mmol), EDAC (219mg, 1,14 mmol) y HOBt (156mg, 1,14 mmol) en DMF seca (10ml) se agitaron a RT durante 10 minutos. Se añadió 3-{5-[(hidroxiamino)(imino)metil]-1*H*-indol-1-il}propanoato de etilo (D52) (288mg, 1,05 mmol) y se agitó durante 1 hora a RT. Se calentó a 80 °C durante 7 horas. La disolución se enfrió y se añadió EtOAc (50ml). Se lavó con agua (50ml), hidrógeno-carbonato de sodio sat. (50ml) y agua (50ml). Se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y el disolvente se separó por evaporación. El residuo se cristalizó en éter para dar 200 mg del compuesto del título en forma de un sólido de color rosa muy pálido. MS (ES) C<sub>25</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> requiere 444; encontrado 445 (MH<sup>+</sup>)

15

#### Descripción para D54

#### 3-(4-ciano-1*H*-indol-1-il)propanoato de etilo (D54)



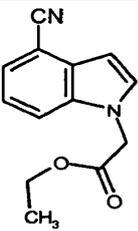
20 4-Cianoindol (2,5 g) se disolvió en DMF (7,5 ml). Se añadió Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (11,46 g) seguido de 3-bromopropionato de etilo (3,38 ml). Esta mezcla se calentó a 80 °C durante 40 minutos. Se añadió una porción adicional de DMF (5 ml) y se continuó calentando a 80 °C durante 1 hora. La mezcla de reacción se evaporó y después se disolvió en H<sub>2</sub>O (200 ml) y extrajo con EtOAc (200 ml). Esto se evaporó para dar un aceite amarillo (3,5 g) que se purificó en un cartucho 40+M Biotage, eluyendo con una mezcla del 25 al 75% de Et<sub>2</sub>O en hexano. Esto dio el compuesto del título (3,44 g) en forma de un aceite amarillo pálido. δH (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): 1,19 (3H, t), 2,82 (2H, t), 4,12 (2H, q), 4,50 (2H, t), 6,71 (1H, d), 7,23-7,28 (1H, m), 7,33 (1H, d), 7,47 (1H, d), 7,60 (1H, dd). MS (ES): C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> requiere 242; encontrado 243 (MH<sup>+</sup>).

25

El siguiente ejemplo se preparó por un método similar a los descritos anteriormente. La reacción no fue completa después del tratamiento, así que el material se volvió a someter a las condiciones de reacción con 0,2 equivalentes más de base y agente alquilante y el producto se purificó por trituración con éter.

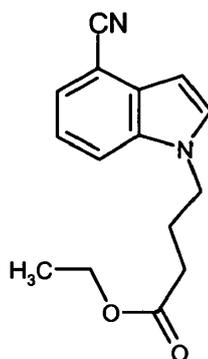
30

de Ejemplo	Estructura	Nombre	MH <sup>+</sup>
D55		(4-ciano-1 <i>H</i> -indol-1-il)acetato de etilo	229

de Ejemplo	Estructura	Nombre	MH <sup>+</sup>
			

### Descripción para D56

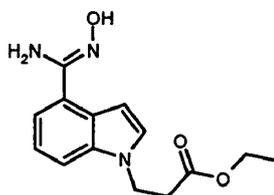
#### 4-(4-Ciano-1H-indol-1-il)butanoato de etilo (D56)



- 5 Se combinaron 4-cianoindol (5 g, 35,2 mmol), 4-bromobutanoato de etilo (10,29 g, 52,8 mmol) y carbonato de cesio (22,92 g, 70,3 mmol) y se calentó a 80 °C bajo argón durante 1 hora. La reacción se dejó enfriar y después se añadieron 150ml de dietil éter y la disolución orgánica se lavó con 3 x 150ml de H<sub>2</sub>O. La fase orgánica se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se evaporó el disolvente. Se secó a alto vacío durante un fin de semana para dar el compuesto del título (8,25 g) en forma de un aceite anaranjado. δ<sub>H</sub> (400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO). 1,13 (3H, t), 1,96-2,05 (2H, m), 2,26 (2H, t), 3,99 (2H, q), 4,29 (2H, t), 6,60 (1H, dd), 7,29 (1H, t aparente), 7,55 (1H, dd), 7,68 (1H, d), 7,90 (1H, d). MS (ES): C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub> requiere 256; encontrado 257 (MH<sup>+</sup>).
- 10

### Descripción para D57

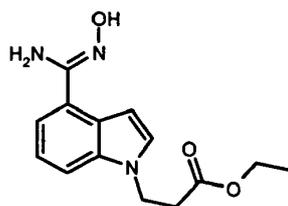
#### 3-{4-[(Hidroxiamino)(imino)metil]-1H-indol-1-il}propanoato de etilo (D57)



- 15 3-(4-ciano-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (D54) (3,44 g), NH<sub>2</sub>OH.HCl (1,97 g) y Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5,96 g) se disolvieron en EtOH (75 ml). Esta mezcla se calentó a 50 °C durante una noche. Se añadió una porción adicional de NH<sub>2</sub>OH.HCl (985 mg) y la mezcla se agitó a 70 °C durante una noche. Después, la mezcla de reacción se filtró y evaporó para dar el compuesto del título (4,06 g). MS (ES): C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> requiere 275; encontrado 276 (MH<sup>+</sup>)

### Descripción para D57 (Procedimiento alternativo)

- 20 3-{4-[(Hidroxiamino)(imino)metil]-1H-indol-1-il}propanoato de etilo (D57)



5 Una mezcla de 1H-indol-4-carbonitrilo (3,4 g, 23,92 mmol), 3-bromopropanoato de etilo (4,57 ml, 35,9 mmol) y carbonato de cesio (15,59 g, 47,8 mmol) se calentó a 80 °C durante 2 horas y se dejó estar durante una noche. Se añadió éter (400ml) y la mezcla resultante se lavó con agua (3X400ml), se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y evaporó para dar 6,6 g de aceite claro de color amarillo pálido.

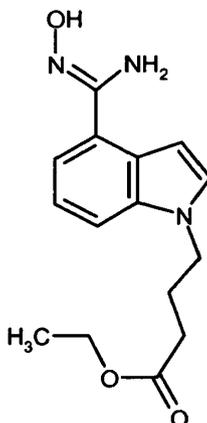
10 El aceite N4111-30-A2 (6,6 g, 27,2 mmol), hidrocloreto de hidroxilamina (3,79 g, 54,5 mmol) y bicarbonato de sodio (9,15 g, 109 mmol) en etanol se agitaron a 50 °C durante una noche. Se añadió más hidrocloreto de hidroxilamina (2,3g) y se calentó a 50 °C durante 24 horas. La reacción se filtró y el residuo se lavó con DCM (50ml). El disolvente se separó por evaporación y el residuo se trituró con hexano para obtener el compuesto del título (4,2g) en forma de un sólido blanco. Se obtuvo más compuesto del título (1,0 g) en forma de un sólido blanco por trituración de los residuos. Los datos espectrales de masas fueron concordantes con la síntesis previa.

El siguiente se preparó de manera similar a primer procedimiento **D57** descrito, se usó bicarbonato de sodio como base y la reacción se llevó a cabo a 55 °C.

de Ejemplo	Estructura	número del precursor	Nombre	MH <sup>+</sup>
D58		D55	{4-[(hidroxiamino)(imino)metil]-1H-indol-1-il}acetato de etilo	262

#### 15 Descripción para D59

##### 4-{4-[(hidroxiamino)(imino)metil]-1H-indol-1-il}butanoato de etilo (D59)

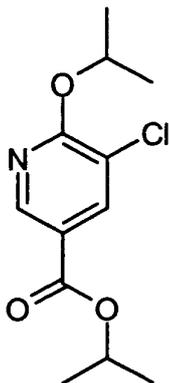


4-(4-ciano-1H-indol-1-il)butanoato de etilo (**D56**) (8,25 g, 32,2 mmol) se disolvió en EtOH y se trató con NH<sub>2</sub>OH.HCl

(4,47 g, 64,4 mmol) y  $\text{NaHCO}_3$  (8,11 g, 97 mmol) y se calentó a  $55^\circ\text{C}$  durante 1 día y dos noches. Se añadieron cantidades adicionales de  $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$  (500 mg) y  $\text{NaHCO}_3$  (500 mg) y la reacción se calentó durante otras 3 horas y después se separó la materia inorgánica por filtración, lavando bien con EtOH. El disolvente se evaporó y el residuo se secó a alto vacío. La trituración con éter y dcm proporcionó dos lotes del compuesto del título N2668-20-A8 (5,14 g) y N2668-20-A9 (976 mg).  $\delta\text{H}$ (400 MHz,  $d_6$ -DMSO) 1,15 (3H, t), 1,98 (2H, quintete aparente), 2,25 (2H, t), 4,03 (2H, q), 4,21 (2H, t), 5,73 (2H, s ancho), 6,82 (1H, dd), 7,15 (1H, t aparente), 7,27 (1H, dd), 7,35 (1H, d), 7,51 (1H, d), 9,58 (1H, s ancho). MS (ES):  $\text{C}_{15}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3$  requiere 289; encontrado 290 ( $\text{MH}^+$ ).

#### Descripción para D60

##### 5-Cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinacarboxilato de 1-metiletilo (D60)



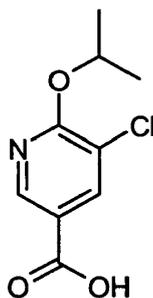
10

El ácido 5-cloro-6-hidroxi-3-piridinacarboxílico (1g, 5,76 mmol) se suspendió en tolueno (200ml) y se trató con carbonato de plata (3,97 g, 14,40 mmol) y 2-yodopropano (3,46 ml, 34,6 mmol) y se agitó a RT en la oscuridad durante 3 días. LC/MS indicó 2/3 de producto. Se añadió 2-yodopropano (3ml) y se agitó durante 24 horas. LC/MS indicó 80% de producto. Se añadió EtOAc (200ml) y se lavó con agua (200ml) +  $\text{NaHCO}_3$  sat. (50ml) seguido de agua (200ml). Se secó sobre  $\text{MgSO}_4$  y el disolvente se separó por evaporación para dar 1,0g del compuesto del título en forma de un aceite incoloro claro. MS (ES<sup>+</sup>)  $\text{C}_{12}\text{H}_{16}^{35}\text{ClNO}_3$  requiere 257; encontrado 257.

15

#### Descripción para D61

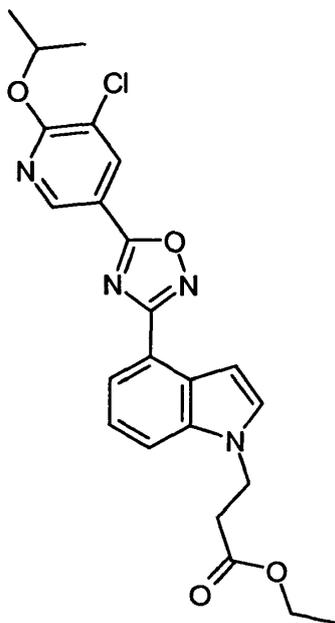
##### 5-Cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinacarboxílico (D61)



5-Cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinacarboxilato de 1-metiletilo (D60) (1,6 g, 6,21 mmol) en isopropanol (70 ml) y agua (35,0 ml) se trataron con hidróxido de sodio 2N (6,21 ml, 12,42 mmol) y se agitaron durante 3 horas para dar un solo producto. Se separó el IPA por evaporación, se aciduló con ácido acético glacial y el producto se extrajo en EtOAc (100ml). Se secó sobre  $\text{MgSO}_4$  y el disolvente se separó por evaporación para dar 1,30 g del compuesto del título en forma de un sólido blanco. MS (ES)  $\text{C}_9\text{H}_{10}^{35}\text{ClNO}_3$  requiere 215; encontrado 214 ( $\text{M-H}^+$ ).

#### Descripción para D62

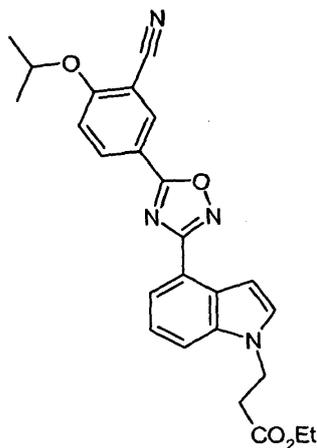
##### 3-[4-(5-{5-Cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de etilo (D62)



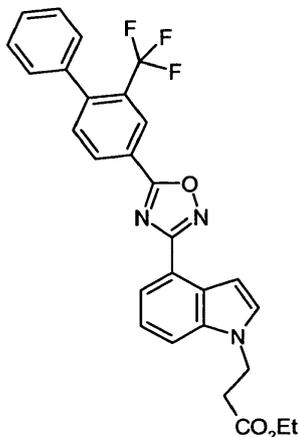
5 A 5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinacarboxílico (D61) (1,504 g, 6,97 mmol) en DMF seca (30ml) se añadió EDC (1,604 g, 8,37 mmol) y HOBT (1,282 g, 8,37 mmol). Se agitó la disolución a RT durante 10 minutos y después se añadió 3-{4-[(hidroxiamino)(imino)metil]-1H-indol-1-il}propanoato de etilo (N4111-31-A4) (D57) (1,92 g, 6,97 mmol). La mezcla se agitó durante 30 minutos. LC/MS indicó un producto (Intermedio). La disolución se calentó a 80 °C durante 2 horas. Se dejó estar durante una noche a RT y después se calentó 80 °C durante 2 horas más para dar reacción completa. Se enfrió y se añadió EtOAc (250ml). El EtOAc se lavó con NaHCO<sub>3</sub> sat. (150ml) seguido de agua (2X 200ml). Se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y el disolvente se separó por evaporación. El residuo se sometió a cromatografía sobre Biotage (EtOAc/hexano 1:2). Al evaporar la mayor parte del disolvente de las fracciones limpias y añadir hexano se formó un precipitado blanco. El sólido se separó por filtración para obtener 1,1 mg del producto del título. MS (ES) C<sub>23</sub>H<sub>23</sub><sup>35</sup>ClN<sub>4</sub>O<sub>4</sub> requiere 454; encontrado 455 (MH<sup>+</sup>).

#### Descripción para D63

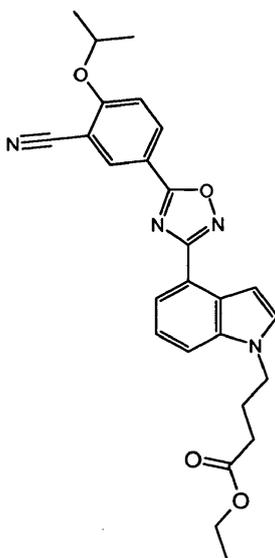
#### 3-[4-(5-{3-Ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de etilo (D63)



15 El ácido 3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]benzoico (se puede preparar como se describe en WO2005/58848) (113mg, 0,55mmol), EDAC (115mg, 0,60 mmol) y HOBT (82mg, 0,60 mmol) se disolvieron en DMF (5ml) y se dejó estar durante 15 minutos. Se añadió 3-{4-[(hidroxiamino)(imino)metil]-1H-indol-1-il}propanoato de etilo (D52) (150mg, 0,55 mmol) y se dejó estar durante una noche a RT. Se calentó la disolución a 80 oC durante 2 horas. LC/MS indicó producto mayoritariamente. Después de calentar durante unas pocas horas más no hubo ningún cambio. Se añadió EtOAc (20ml) y se lavó con agua (30ml). Se lavó con hidrógeno-carbonato de sodio saturado (30ml) y agua (2x30ml). Se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y el disolvente se separó por evaporación para dar 81 g del compuesto del título en forma de un sólido marrón pálido. MS (ES) C<sub>25</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> requiere 444; encontrado 445 (MH<sup>+</sup>).

**Descripción para D64****3-(4-{5-[2-(Trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il})propanoato de etilo (D64)**

5 A 2-(trifluorometil)-4-bifenilcarboxílico (D29) (146mg, 0,55mmol) en DMF (5ml) se añadió EDC (115mg, 0,60 mmol) y HOBt (82mg, 0,60 mmol) y la disolución se dejó estar durante 15 minutos. Se añadió 3-{4-  
 10 [(hidroxiamino)(imino)metil]-1H-indol-1-il}propanoato de etilo (D57) (150mg, 0,55 mmol) y se agitó a RT durante 1 hora. La mezcla se calentó a 80°C durante 1 hora y después se calentó durante una noche. Se enfrió y después se añadió EtOAc (20ml). Se lavó con agua (20ml), hidrógeno-carbonato de sodio acuoso sat. (20ml) y agua (20ml). Se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y después se evaporó el disolvente. El residuo se trituró con etanol para dar 157 mg del compuesto del título en forma de un sólido blanco. δH (400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 1,11 (3H, t), 2,90 (2H, t), 4,02 (2H, q), 4,55 (2H, t), 7,10 (1H, d), 7,32-7,48 (3H, m), 7,49-7,61 (3H, m), 7,61 (1H, d), 7,73-7,84 (2H, m), 8,00 (1H, d), 8,53-8,56 (2H, m). MS (ES) C<sub>28</sub>H<sub>22</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> requiere 505; encontrado 506 (MH<sup>+</sup>).

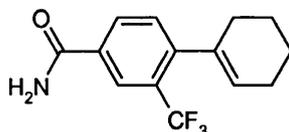
**Descripción para D65 (alternativa a la Descripción para D50)****4-[4-(5-{3-Ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoato de etilo (D65)**

15 Una mezcla de ácido 3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]benzoico (se puede preparar como se describe en WO2005/58848) (1,21g, 5,88 mmol), EDC (1,35g, 7,05 mmol) y HOBt (1,08g, 7,05 mmol) en DMF seca (85 ml) se agitó durante 20 minutos a RT. Se añadió 4-{4-[(hidroxiamino)(imino)metil]-1H-indol-1-il}butanoato de etilo (D59) (1,70g, 5,88 mmol) y se agitó a RT durante 1 hora. La mezcla se calentó a 80 °C durante 5 horas y se dejó estar durante una noche a RT.  
 20 Se calentó a 80 °C durante 6 horas, después se separó por evaporación la DMF. Se añadió EtOAc (200ml) y se lavó con NaHCO<sub>3</sub> sat. (200ml) y agua (200ml). Se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y el disolvente se separó por evaporación. El residuo se sometió a cromatografía usando el Biotage (EtOAc/hexano 1:2) y se evaporaron las fracciones más limpias para dar 1,42g el compuesto del título en forma de un sólido blanco. δH (400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 1,15 (3H, t), 1,39 (6H, d), 2,04 (2H, quintete aparente), 2,24 (2H, t), 4,00 (2H, q), 4,31 (2H, t), 4,94-5,04 (1H, m), 7,10 (1H, dd),

7,31 (1H, t), 7,56-7,60 (2H, m), 7,77 (1H, d), 7,95 (1H, d), 8,45 (1H, dd), 8,56 (1H, d). MS (ES)  $C_{26}H_{26}N_4O_4$  requiere 458; encontrado 459 ( $MH^+$ ).

#### Descripción para D66

##### 4-(1-Ciclohexen-1-il)-3-(trifluorometil)benzamida (D66)

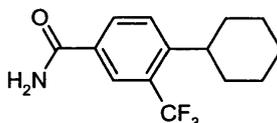


5  
 4-Bromo-3-(trifluorometil)benzonitrilo (comercial) (1,2 g, 4,80 mmol), ácido 1-ciclohexen-1-ilborónico (0,907 g, 7,20 mmol), metóxido de sodio (0,778 g, 14,40 mmol) y cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II) (0,337 g, 0,480 mmol) se añadieron a metanol seco (12 mL) y la mezcla se calentó en el microondas a 80 °C durante 10 minutos. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (40 mL) y agua (40 mL) y después la fase orgánica se lavó con más agua (40 mL). La fase orgánica se secó ( $MgSO_4$ ), filtró y se separó el disolvente a vacío. El producto bruto se purificó por cromatografía instantánea sobre sílice, eluyendo con 0-75 % de acetato de etilo en hexano para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (1,02 g).  $\delta H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz): 8,09 (1H, m), 7,90 (1H, dd), 7,32 (1H, d), 6,3-5,8 (2H, m) 5,61 (1H, s), 2,25-2,13 (4H, m), 1,80-1,60 (4H, m). MS (ES):  $C_{14}H_{14}F_3NO$  requiere 269; encontrado 270 ( $MH^+$ ).

#### 15 Descripción para D67

##### GSK1929583A, N2123-11-A2

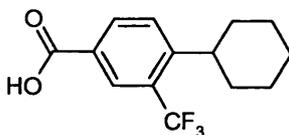
##### 4-Ciclohexil-3-(trifluorometil)benzamida (D67)



20 4-(1-Ciclohexen-1-il)-3-(trifluorometil)benzamida (D66) (850 mg, 3,16 mmol) se disolvió en metanol (63 ml) y se hidrogenó usando un H-Cube, usando paladio sobre carbono a 40 °C con un caudal de 2 mL/min. El disolvente se separó a vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (822 mg).  $\delta H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz): 8,08 (1H, d), 7,94 (1H, dd), 7,52 (1H, d), 6,54 (2H, brs), 2,97 (1H, m), 1,90-1,75 (5H, m), 1,50-1,22 (5H, m). MS (ES):  $C_{14}H_{16}F_3NO$  requiere 271; encontrado 272 ( $MH^+$ ).

#### Descripción para D68

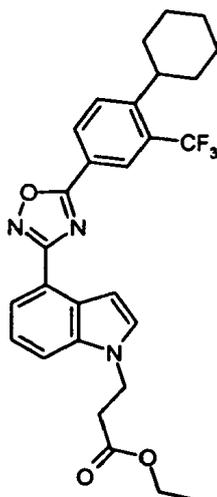
##### 25 Ácido 4-ciclohexil-3-(trifluorometil)benzoico (D68)



30 A una disolución de 4-ciclohexil-3-(trifluorometil)benzamida (D67) (822 mg, 3,03 mmol) en etanol (40 ml) se añadió hidróxido de potasio (1,700 g, 30,3 mmol) y agua (5 ml) y la reacción se calentó a 90 °C, temperatura de bloqueo, durante 3 h y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Se añadió más hidróxido de potasio (1,700 g, 30,3 mmol) y la reacción se calentó a reflujo durante 27 h. Se añadieron 5 mL más de agua y la reacción se calentó durante 66 horas (fin de semana). La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se repartió entre acetato de etilo (25 mL) y ácido clorhídrico acuoso (2M, 25 mL). La capa acuosa se extrajo además con acetato de etilo (25 mL) y las fases orgánicas combinadas se secaron ( $MgSO_4$ ), filtraron y se separó el disolvente a vacío para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (737 mg).  $\delta H$  (metanol- $d_4$ , 400 MHz): 8,24 (1H, d), 8,18 (1H, dd), 7,68 (1H, d), 2,98 (1H, t), 1,72-1,95 (5H, m), 1,30-1,58 (5H, m). MS (ES):  $C_{14}H_{15}F_3O_2$  requiere 272; encontrado 271 ( $M-H^+$ ).

#### Descripción para D69

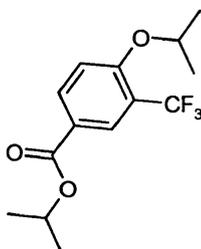
##### 3-(4-{5-[4-Ciclohexil-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (D69)



Una solución de ácido 4-ciclohexil-3-(trifluorometil)benzoico (D68) (148 mg, 0,545 mmol), EDC (115 mg, 0,599 mmol) y HOBt (92 mg, 0,599 mmol) en DMF (5 ml) se agitó durante 10 min antes de la adición de 3-{4-  
 5 [((hidroxiamino)(imino)metil]-1H-indol-1-il}propanoato de etilo (D57) (150 mg, 0,545 mmol). La reacción se agitó durante 30 min a temperatura ambiente seguido de 16 h a 80 °C. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (25 mL) y agua (25 mL) y la fase orgánica se lavó con bicarbonato de sodio acuoso (25 mL) y después agua (25 mL). La fase orgánica se aisló y se secó (separador de fases) y el disolvente se separó a vacío. El producto bruto se purificó por MDAP. Algo de la mezcla sometida a MDAP había precipitado y se trituró con etanol y filtró. Los sólidos blancos se combinaron para dar el compuesto del título (63 mg). MS (ES): C<sub>28</sub>H<sub>28</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> requiere 511; encontrado 512 (MH<sup>+</sup>).

#### Descripción para D70

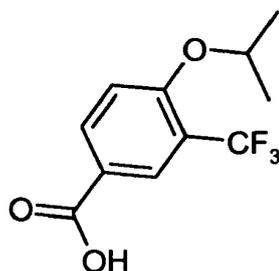
#### 4-[(1-Metiletil)oxi]-3-(trifluorometil)benzoato de 1-metiletilo (D70)



Una mezcla de ácido 4-hidroxi-3-(trifluorometil)benzoico (comercial) (450 mg, 2,18 mmol), 2-yodopropano (435 μL, 4,36 mmol) y carbonato de potasio (603 mg, 4,36 mmol) en N,N'-dimetilformamida (40 mL) se calentó a 70 °C durante 4 h antes de añadir más 2-yodopropano (218 μL, 2,18 mmol) y se continuó calentando durante 18 h. El sólido inorgánico se separó por filtración y se lavó con acetato de etilo. El filtrado se concentró a vacío y se repartió entre acetato de etilo (150 mL) y agua (150 mL) que contenía algo de hidróxido de sodio acuoso. La capa orgánica se secó (separador de fases) y concentró a vacío para dar el compuesto del título bruto en forma de un aceite amarillo (704 mg). MS (ES): C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>F<sub>3</sub>O<sub>3</sub> requiere 290; encontrado 291 (MH<sup>+</sup>).

#### Descripción para D71

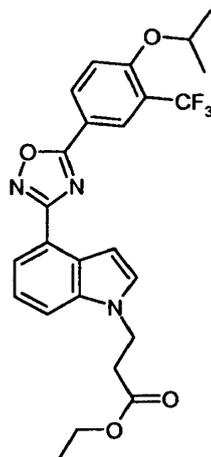
#### Ácido 4-[(1-metiletil)oxi]-3-(trifluorometil)benzoico (D71)



5 A una mezcla de 4-[(1-metiletil)oxi]-3-(trifluorometil)benzoato de 1-metiletilo (D70) (704 mg, 2,43 mmol) en etanol (110 mL) se añadió hidróxido de sodio acuoso (2M, 12,2 mL, 24,3 mmol) y la reacción se calentó a reflujo durante 1 h. La mezcla se concentró *a vacío* y el residuo se repartió entre acetato de etilo (100 mL) y agua (100 mL) y se aciduló con ácido clorhídrico acuoso (2M, 13 mL). La capa acuosa se extrajo además con acetato de etilo (100 mL) y las capas orgánicas combinadas se secaron y concentraron *a vacío* para dar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo (563 mg).  $\delta$ H (metanol- $d_4$ , 400 MHz): 8,21-8,17 (2H, m), 7,26 (1H, d), 4,84 (1H, septete), 1,38 (6H, d). MS (ES):  $C_{11}H_{11}F_3O_3$  requiere 248; encontrado 247 (M-H<sup>+</sup>).

#### Descripción para D72

10 **3-(4-{5-[4-[(1-Metiletil)oxi]-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il})propanoato de etilo (D72)**

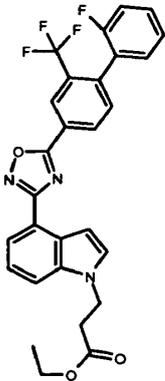
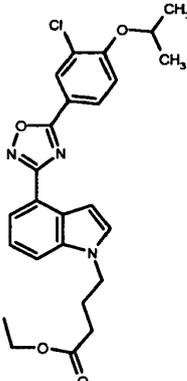
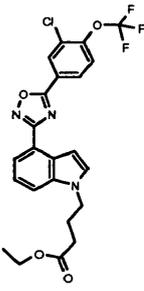


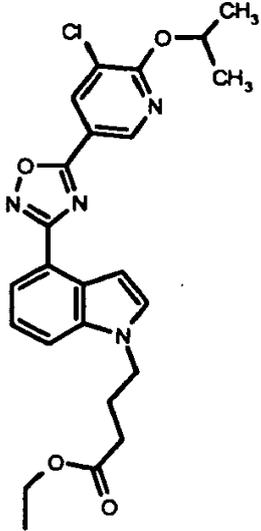
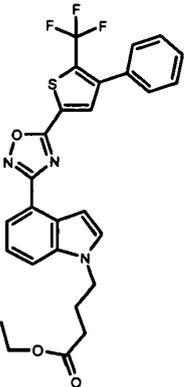
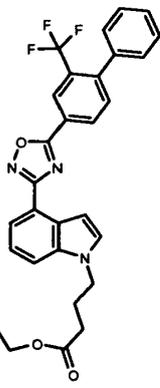
15 Ácido 4-[(1-metiletil)oxi]-3-(trifluorometil)benzoico (D71) (136 mg, 0,55 mmol), EDC (116 mg, 0,61 mmol) y HOBt (82 mg, 0,61 mmol) se agitaron en N,N-dimetilformamida (5 mL) durante 20 min. Se añadió 3-(4-[(hidroxiamino)(imino)metil]-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (D57) (150 mg, 0,55 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h y después a 80 °C durante 18 h. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (25 mL) y agua (25 mL). La capa orgánica se lavó con bicarbonato de sodio acuoso (25 mL) y agua (25 mL) antes de secarla (separador de fases), se filtró y concentró *a vacío*. El residuo se trituró con etanol para dar el compuesto del título (85 mg).  $\delta$ H ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz): 8,44 (1H, dd), 8,35 (1H, d), 7,95 (1H, d), 7,81 (1H, d), 7,62-7,58 (2H, m), 7,36 (1H, t aparente), 7,07 (1H, d), 4,99 (1H, septete), 4,54 (2H, t), 4,02 (2H, q), 2,89 (2H, t), 1,36 (6H, d), 1,11 (3H, t). EM (ES+):  $C_{25}H_{24}F_3N_3O_4$  requiere 487; encontrado 488 (MH<sup>+</sup>).

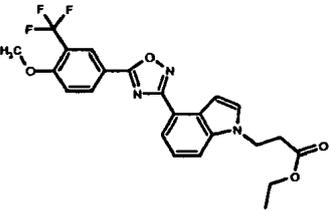
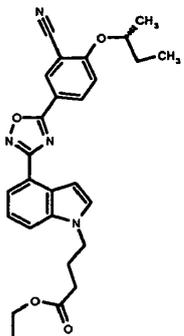
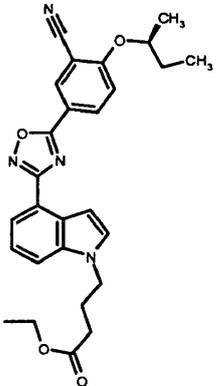
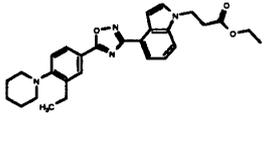
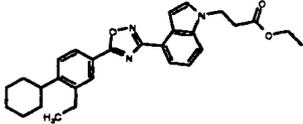
25 Los siguientes ejemplos se prepararon por un método similar a los descritos anteriormente. En ocasiones fue necesario añadir más EDAC (hasta 2,6 equiv) y en el caso de **D80** fue necesario elevar la temperatura a 120 °C. El tratamiento era acuoso o alternativamente el disolvente se separó a vacío. En el caso de **D92** se añadió etanol a la mezcla de reacción y el precipitado resultante se filtró. Los compuestos se purificaron o bien por trituración, MDAP, normal o cromatografía en fase reversa.

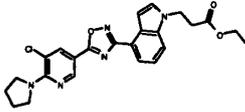
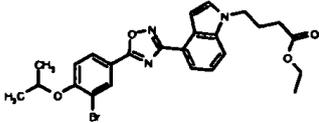
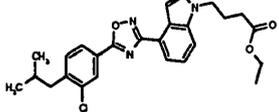
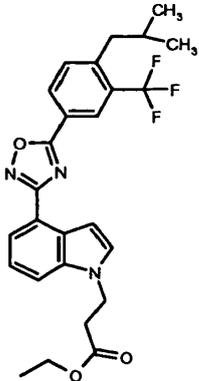
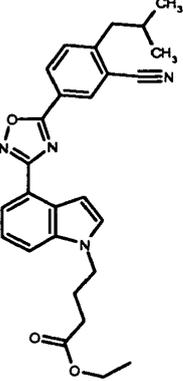
	Estructura	Precusores	Nombre	MH <sup>+</sup>
<b>D73</b>		<b>D58 &amp; D4</b>	[4-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]acetato de etilo	440/442

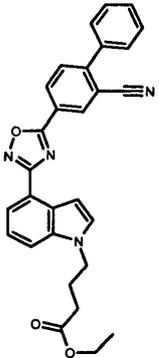
	Estructura	Precusores	Nombre	MH <sup>+</sup>
D74		D58	[4-(5-(3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]acetato de etilo	431
D75		D59	4-[4-(5-(3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoato de etilo	459
D76		D57 & D30	3-(4-(5-[2'-fluoro-2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)propanoato de etilo	524

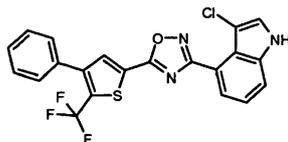
	Estructura	Precusores	Nombre	MH <sup>+</sup>
				
D77		D59 & D4	4-[4-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoato de etilo	468
D78		D59	4-[4-(5-{3-cloro-4-[(trifluorometil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoato de etilo	494
D79		D59 & D61	4-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoato de etilo	469

	Estructura	Precusores	Nombre	MH <sup>+</sup>
				
D80		D59	4-(4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)butanoato de etilo	526
D81		D59 & D29	4-(4-{5-[2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)butanoato de etilo	520
D82		D57	3-(4-{5-[4-(metiloxi)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de etilo	460

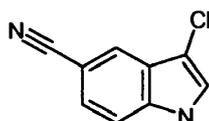
	Estructura	Precusores	Nombre	MH <sup>+</sup>
				
D83		D59 & D38	4-(4-[5-(3-ciano-4-[[1(R)-1-metilpropil]oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il)butanoato de etilo	473
D84		D59 & D36	4-(4-[5-(3-ciano-4-[[1(S)-1-metilpropil]oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il)butanoato de etilo	473
D85		D57 & D13	3-(4-(5-[3-etil-4-(1-piperidinil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)propanoato de etilo	473
D86		D57 & D19	3-(4-(5-(4-ciclohexil-3-etilfenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)propanoato de etilo	472

	Estructura	Precusores	Nombre	MH <sup>+</sup>
D87		D57 & D15	3-(4-(5-(5-cloro-6-(1-pirrolidinil)-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)propanoato de etilo	466
D88		D59 & D21	4-[4-(5-(3-bromo-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoato de etilo	512
D89		D59 & D24	4-(4-(5-(3-cloro-4-(2-metilpropil)fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)butanoato de etilo	466
D90		D57 & D34	3-(4-(5-(4-(2-metilpropil)-3-(trifluorometil)fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)propanoato de etilo	486
D91		D59 & D32	4-(4-(5-(3-ciano-4-(2-metilpropil)fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)butanoato de etilo	457

	Estructura	Precusores	Nombre	MH <sup>+</sup>
D92		D59 & D27	4-(4-[5-(2-ciano-4-bifenilil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il)butanoato de etilo	477

**Descripción para D93****3-Cloro-4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol (D93)**

- 5 Este material se preparó de una manera similar a **D7** (CQ107723-108A2) a partir de **D10** excepto que la reacción se agitó durante cuatro horas en vez de durante una noche. MS (ES): C<sub>21</sub>H<sub>11</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>3</sub>OS requiere 445; encontrado 446 (MH<sup>+</sup>).

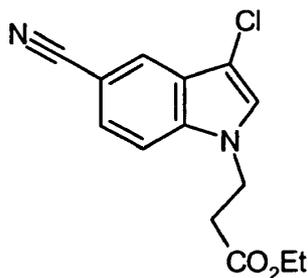
**Descripción para D94****3-Cloro-1H-indol-5-carbonitrilo (D94)**

10

A una disolución de 5-cianoindol (3,0g, 21mmol) en DMF seca (50ml) se añadió N-clorosuccinimida (2,94g, 22 mmol) y la disolución se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La disolución se dejó estar a lo largo del fin de semana. LC/MS indicó un solo producto. Se añadió acetato de etilo (150ml) y dietil éter (50ml) y se lavó con agua (3X 300ml). Se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y el disolvente se separó por evaporación para dar 3,9 g del compuesto del título en forma de un sólido amarillo pálido. δH (400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 7,54 (1H, dd), 7,61 (1H, dd), 7,78 (1H, d), 8,01-8,02 (1H, m), 12,2 (1H, s ancho). MS (a partir de LCMS de la mezcla de reacción) (ES):C<sub>9</sub>H<sub>5</sub>ClN<sub>2</sub> requiere 176; encontrado 177 (MH<sup>+</sup>).

15

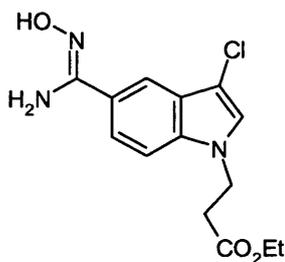
**Descripción para D95****3-(3-Cloro-5-ciano-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (D95)**



5 Una mezcla de 3-cloro-1*H*-indol-5-carbonitrilo (**D94**) (1,8g, 10mmol), 3-bromopropionato de etilo (1,92ml, 15mmol), carbonato de cesio (6,5g, 20mmol) y DMF (50ml) se calentó a 80 °C durante 4 horas para dar reacción completa. Después de dejar enfriar la mezcla a temperatura ambiente se añadió dietil éter (300ml) y la disolución se lavó con agua (3X300ml). Se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y el disolvente se separó por evaporación para dar un sólido marrón. El sólido se trituroó con una mezcla de dietil éter y hexano para obtener 2,5g del compuesto del título como un sólido de color canela. El producto bruto se usó en la siguiente etapa (síntesis de **D96**).

#### Descripción para D96

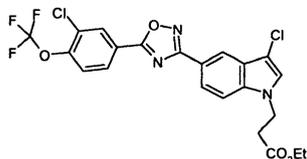
#### 3-{3-cloro-5-(hidroxiamino)(imino)metil]-1*H*-indol-1-il]propanoato de etilo (D96)



10 Una mezcla de 3-(3-cloro-5-ciano-1*H*-indol-1-il)propanoato de etilo (D95) (2,0g, 7,2 mmol), hidrocloreuro de hidroxilamina (1,0g, 14,4 mmol), hidrógeno-carbonato de sodio (2,42g, 28,9 mmol) y etanol (100ml) se calentó a 50 °C a lo largo del fin de semana. Todavía quedaba 25% de material de partida presente, según LC/MS. Se añadió hidrocloreuro de hidroxilamina (0,5g, 7,2 mmol) e hidrógeno-carbonato de sodio (1,2g, 14,3 mmol) y se calentó a 50 °C durante 24 horas. Sólo quedó una pequeña cantidad de material de partida presente, así que se decidió tratar la reacción. El material inorgánico se retiró por filtración. El disolvente se evaporó y el residuo se trituroó usando acetato de etilo y dietil éter para dar 1,9 g del compuesto del título en forma de un sólido amarillo pálido. MS (ES) C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>3</sub> requiere 309; encontrado 310 (MH<sup>+</sup>).

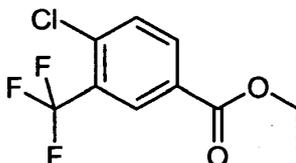
#### Descripción para D97

#### 20 3-[3-Cloro-5-(5-{3-cloro-4-[(trifluorometil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1*H*-indol-1-il]propanoato de etilo (D97)

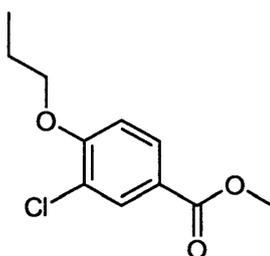


25 Ácido 3-cloro-4-[(trifluorometil)oxi]benzoico (comercial: ABCR) (168mg, 0,70 mmol) agitando en DMF (6ml) se trató con EDC (146mg, 0,76 mmol) seguido de HOBt (104mg, 0,76 mmol). La disolución resultante se agitó durante 15 minutos. Se añadió 3-{3-cloro-5-[(hidroxiamino)(imino)metil]-1*H*-indol-1-il]propanoato de etilo (D96) (216mg, 0,70 mmol) y se agitó a TA durante 45 minutos. La disolución se calentó a 80 °C durante 6 horas y después se dejó estar a temperatura ambiente durante una noche. LC/MS indicó un solo producto. Se añadió EtOAc (50ml) y se lavó con agua (50ml), hidrógeno-carbonato de sodio acuoso saturado (50ml) y agua (50ml). Se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y el disolvente se separó por evaporación. El residuo se cristalizó en etanol para dar 200mg de sólido blanco. δH (400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 1,11 (3H, t), 2,92 (2H, t), 4,00 (2H, q), 4,49 (2H, t), 7,75 (1H, s), 7,80 (1H, d), 7,85 (1H, dd), 7,95 (1H, dd) 8,23 (1H, d) 8,30 (1H, dd), 8,47 (1H, d). MS (ES) C<sub>22</sub>H<sub>16</sub><sup>35</sup>Cl<sup>37</sup>ClF<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> requiere 515; encontrado 516 (MH<sup>+</sup>).

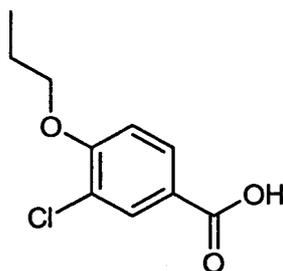
#### Descripción para D98 (alternativa a la Descripción para D28)

**4-Cloro-3-(trifluorometil)benzoato de etilo (D98)**

- Una solución de ácido 4-cloro-3-trifluorometil benzoico (10 g, 44,5 mmol) en etanol (10 ml) se repartió en partes iguales entre dos viales de microondas. Se añadió ácido sulfúrico concentrado (0,75 ml) a cada vial (1,5 ml en total). Las reacciones se calentaron en el microondas a 120°C durante 30 minutos en total. Las mezclas de reacción se combinaron y se concentraron al vacío. El residuo se repartió entre EtOAc (100 ml) y bicarbonato de sodio aq. (100 ml), la fase orgánica se separó, se lavó con bicarbonato de sodio aq. (100 ml) y agua (2 x 100 ml) y después se secó (separador de fases) y se separó el disolvente a vacío para dar el compuesto del título (4,126 g) en forma de un aceite incoloro.  $\delta$ H (400 MHz, metanol- $d_4$ ) 1,40 (3H, t), 4,41 (2H, cuartete), 7,76 (1H, d), 8,22 (1H, dd), 8,34 (1H, d).

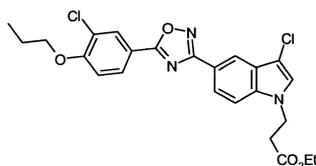
**10 Descripción para D99****3-Cloro-4-(propiloxi)benzoato de metilo (D99)**

- 4-Hidroxi-3-clorobenzoato de metilo (10 g, 53,6 mmol) se disolvió en DMF (110 ml) y después se añadió carbonato de potasio (14,8 g, 107,2 mmol) seguido de yoduro de n-propilo (10,4 ml, 107,2 mmol). La reacción se calentó a 70 °C durante una noche, filtró y después el filtrado se repartió entre EtOAc y agua. La capa orgánica se separó, se secó y evaporó para dar el compuesto del título en forma de un aceite amarillo (12,37 g).  $\delta$ H (400 MHz,  $d_6$ -DMSO) 1,00 (3H, t), 1,72-1,92 (2H, m), 3,82 (3H, s), 4,10 (2H, t), 7,24 (1H, d), 7,85-8,10 (2H, m). MS (ES)  $C_{11}H_{13}^{35}ClO_3$  requiere 228; encontrado 229 ( $MH^+$ ).

**Descripción para D100****20 Ácido 3-cloro-4-(propiloxi)benzoico (D100)**

- Una solución de 3-cloro-4-(propiloxi)benzoato de metilo (D99) (12,22 g, 0,053 mol) en etanol (40 ml) y NaOH 2M aq. (40 ml) se calentó a 60 °C durante 3 horas. La reacción se dejó enfriar y después se dejó a temperatura ambiente a lo largo del fin de semana. La mezcla de reacción se vertió en una mezcla de HCl aq. diluido y EtOAc. La capa orgánica se separó, se secó y evaporó para dar un sólido que se trituró con éter para dar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (7,7 g).  $\delta$ H (400 MHz,  $d_6$ -DMSO) 1,00 (3H, t), 1,67-1,87 (2H, m), 4,10 (2H, t), 7,24 (1H, d), 7,84-8,06 (2H, m), 12,97 (1H, s ancho). MS (ES)  $C_{10}H_{11}^{35}ClO_3$  requiere 214; encontrado 213 ( $M-H^+$ ).

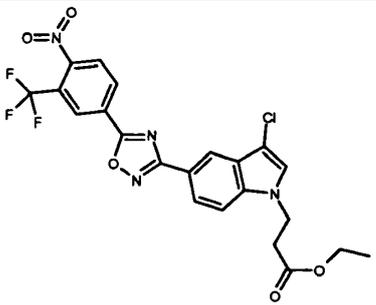
**Descripción para D101****3-(3-Cloro-5-(5-[3-cloro-4-(propiloxi)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (D101)**



5 Ácido 3-cloro-4-(propiloxi)benzoico (**D100**) (150mg, 0,70 mmol) agitado en DMF se trató con EDC (146mg, 0,76 mmol) seguido de HOBt (104mg, 0,76 mmol). La disolución resultante se agitó y se añadió 3-(3-cloro-5-[(hidroxiamino)(imino)metil]-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (**D96**) (216mg, 0,70 mmol). La mezcla se calentó a 80 °C hasta que la reacción fue completa. El tratamiento posterior proporcionó el compuesto del título en forma de 160 mg de sólido de color crema pálido.  $\delta$ H (400 MHz,  $d_6$ -DMSO) 1,03 (3H, t), 1,10 (3H, t), 1,77-1,86 (2H, m), 2,90 (2H, t), 4,05 (2H, q), 4,18 (2H, t), 4,49 (2H, t), 7,40 (1H, d), 7,74 (1H, s), 7,81 (1H, d), 7,91 (1H, dd), 8,15 (1H, dd), 8,22-8,23 (2H, m). MS (ES)  $C_{24}H_{23}^{35}Cl_2N_3O_4$  requiere 487; encontrado 488 ( $MH^+$ ).

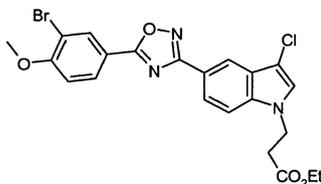
10 Los siguientes compuestos se prepararon por métodos similares a los descritos anteriormente. La reacciones trataron posteriormente repartiendo el material bruto entre acetato de etilo y bicarbonato de sodio aq., separando la capa orgánica, secándola y evaporando hasta sequedad. Los compuestos se purificaron por trituración o cromatografía en una fase normal.

	Estructura	precursor	Nombre	MH <sup>+</sup>
<b>D102</b>		<b>D96</b>	3-(3-cloro-5-{5-[3-cloro-4-(metiloxi)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de etilo	460
<b>D103</b>		<b>D96</b>	3-(3-cloro-5-{5-[4-(metiloxi)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de etilo	494
<b>D104</b>		<b>D96</b>	3-[3-cloro-5-(5-{3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de etilo	479
<b>D105</b>		<b>D96</b>	3-(3-cloro-5-{5-[4-nitro-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de etilo	-

	Estructura	precursor	Nombre	MH <sup>+</sup>
				

#### Descripción para D106

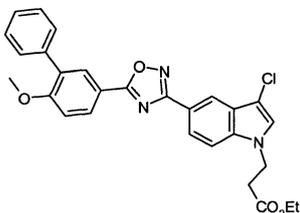
##### 3-(5-(3-Bromo-4-(metiloxi)fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-3-cloro-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (D106)



- 5 El ácido 3-bromo-4-(metiloxi)benzoico (comercial: ICN) (243mg, 1,05 mmol) agitando en DMF (10ml) se trató con EDC (219mg, 0.1.14 mmol) seguido de HOBt (156mg, 0.1.14 mmol). La disolución resultante se agitó durante 10 minutos. Se añadió 3-(3-cloro-5-[(hidroxiamino)(imino)metil]-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (**D96**) (324mg, 1,05 mmol) y se agitó a TA durante 45 minutos. La disolución se calentó a 80 °C durante 4 horas y después se dejó estar durante una noche. La disolución se calentó a 80 °C durante otras 4 horas para dar un producto mayoritario. Se separó la DMF por evaporación, se añadió EtOAc (50ml) y se lavó con agua (50ml). El EtOAc se lavó con una disolución acuosa sat. de hidrogenocarbonato sódico (50 ml) y agua (50 x ml) y después se secó sobre MgSO<sub>4</sub>. Se separó el disolvente por evaporación y se recrystalizó en etanol para dar el compuesto del título como 280mg de sólido de color crema. δH (400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 1,10 (3H, t), 2,90 (2H, t), 3,99-4,05 (5H, m), 4,49 (2H, t), 7,38 (1H, d), 7,74 (1H, s), 7,80 (1H, d), 7,97 (1H, d), 8,21-8,23 (2H, m), 8,36 (1H,d). MS (ES) C<sub>22</sub>H<sub>19</sub><sup>81</sup>Br<sup>35</sup>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub> requiere 505; encontrado 506 (MH<sup>+</sup>).

#### Descripción para D107

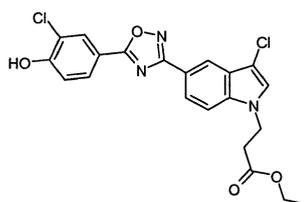
##### 3-(3-Cloro-5-[5-(6-(metiloxi)-3-bifenilil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (D107)



- 20 3-(5-(5-[3-bromo-4-(metiloxi)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-3-cloro-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (D106) (212mg, 0,42 mmol), ácido fenilborónico (104mg, 0,84 mmol), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (20mg) y disolución aq. 2N de carbonato de sodio (3ml, 6mmol) se suspendieron in DME (6ml) y se calentó a 90 °C durante 2 horas. Se añadió ácido fenilborónico (30mg, 0,24 mmol) y Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (20mg) y se calentó a 90 °C durante otras 2 horas. Se añadió EtOAc (70ml) y se lavó con agua (100ml). Se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y el disolvente se separó por evaporación. El residuo se cristalizó en etanol para dar 90 mg del compuesto del título en forma de un sólido de color canela claro. MS (ES) C<sub>28</sub>H<sub>24</sub><sup>35</sup>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub> requiere 501; encontrado 502 (MH<sup>+</sup>).

#### Descripción para D108

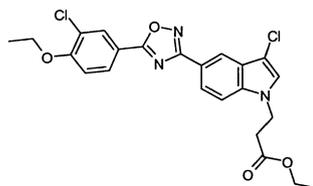
##### 3-(3-Cloro-5-[5-(3-cloro-4-hidroxifenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (D108)



5 Ácido 3-cloro-4-hidroxibenzoico (comercial) (240mg, 1,40 mmol) en DMF seca (8ml) se trató con EDC (292mg, 1,52 mmol) y HOBt (208mg, 1,52 mmol) y se agitó durante 5 minutos. Se añadió 3-(3-cloro-5-[(hidroxiamino)(imino)metil]-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (D96) (432mg, 1,40 mmol) y se agitó a TA durante 30 minutos. La mezcla de reacción se calentó a 80°C durante 7 horas. Se añadió EtOAc (70ml) y se lavó con agua (70ml), hidrógeno-carbonato de sodio acuoso saturado (70ml) y agua (70ml). Se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y el disolvente se separó por evaporación. El residuo se sometió a cromatografía usando un Biotage (EtOAc/hexano 1:2) para obtener el compuesto del título como 200mg de sólido blanco. δH (400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 1,10 (3H, t), 2,91 (2H, t), 4,04 (2H, q), 4,50 (2H, t), 7,67-7,70 (2H, m), 7,75 (1H, s), 7,80-7,81 (2H, m), 7,94 (1H, dd), 8,22-8,25 (1H, m), 10,95 (1H, s ancho). MS (ES) C<sub>21</sub>H<sub>17</sub><sup>35</sup>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> requiere 445; encontrado 446 (MH<sup>+</sup>).

#### Descripción para D109

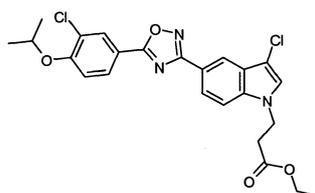
#### 3-(3-Cloro-5-{5-[3-cloro-4-(etiloxi)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (D109)



15 A 3-(3-cloro-5-[5-(3-cloro-4-hidroxifenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (D108) (180mg, 0,40 mmol) y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (138mg, 1,0 mmol) en DMF seca (3ml) se añadió yoduro de etilo (78mg, 0,50 mmol) y la mezcla se calentó a 80 °C con agitación durante 30 minutos. Se enfrió la mezcla y se añadió EtOAc (50ml). Se lavó con agua (3x40ml) y se secó sobre MgSO<sub>4</sub>. Se separó el disolvente por evaporación y se recrystalizó en etanol para dar el compuesto del título como 110mg de sólido de color blanco. δH (400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 1,10 (3H, t), 1,42 (3H, t), 2,90 (2H, t), 4,02 (2H, q), 4,27 (2H, q), 4,49 (2H, t), 7,40 (1H, d), 7,74 (1H, s), 7,80 (1H, d), 7,95 (1H, dd), 8,16 (1H, dd), 8,21-8,22 (2H, m). MS (ES) C<sub>23</sub>H<sub>21</sub><sup>35</sup>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> requiere 473; encontrado 474 (MH<sup>+</sup>).

#### Descripción para D110

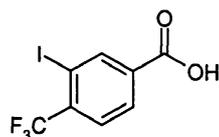
#### 3-[3-Cloro-5-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de etilo (D110)



25 A 3-(3-cloro-5-[5-(3-cloro-4-hidroxifenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (D108) (180mg, 0,40 mmol) y K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (138mg, 1,0 mmol) en DMF seca (5ml) se añadió yoduro de isopropilo (85mg, 0,50 mmol) y la mezcla se agitó a 80 °C durante 30 minutos. Se enfrió la mezcla y se añadió EtOAc (50ml). Se lavó con agua (2X50ml) y se secó sobre MgSO<sub>4</sub>. Se separó el disolvente por evaporación y se recrystalizó en etanol para dar el compuesto del título como 120mg de sólido de color blanco. δH (400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 1,12 (3H, t), 1,37 (6H, d), 2,91 (2H, t), 4,02 (2H, q), 4,50 (2H, t), 4,89-4,98 (1H, m), 7,72-7,85 (5H, m), 7,95-8,00 (1H, m), 8,24 (1H, d). MS (ES) C<sub>24</sub>H<sub>23</sub><sup>35</sup>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> requiere 487; encontrado 488 (MH<sup>+</sup>).

#### Descripción para D111

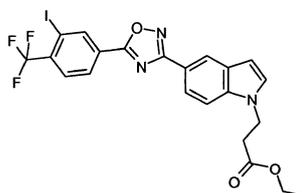
#### Ácido 3-yodo-4-(trifluorometil)benzoico (D111)



5 Ácido 3-amino-4-(trifluorometil)benzoico (disponible en el mercado) (6,5 g, 31,7 mmol) y triyodometano (37,4 g, 95,1 mmol) se disolvieron en THF (300 ml). La mezcla de reacción se calentó a 80 °C y después se añadió lentamente (5,56 ml, 47,6 mmol) a esta temperatura. Se continuó calentando a esta temperatura durante 4 horas y después la reacción se concentró *a vacío* para dar el producto bruto. Se purificó por cromatografía en columna (de hexano a 30% de EtOAc en hexano). Este material se combinó con otro lote de una reacción similar realizada con 2 g de ácido 3-amino-4-(trifluorometil)benzoico. El material combinado se purificó por HPLC preparativa para dar el compuesto del título (6,1 g). MS  $C_8H_4F_3IO_2$  requiere 316; encontrado 315 ( $M-H^+$ ).

#### Descripción para D112

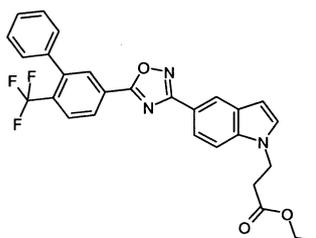
10 **3-(5-{5-[3-Yodo-4-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il})propanoato de etilo (D112)**



15 **D111** (1,0 g, 3,16 mmol) se disolvió en DMF (25 ml) en atmósfera de nitrógeno. Se añadieron EDC (0,7 g, 3,7 mmol) y HOBt (0,5 g). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos y después se añadió trietilamina (0,87 ml, 6,32 mmol) y la reacción se agitó durante otros 5 minutos. Se añadió **D52** (0,87 g, 3,16 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La reacción se concentró *a vacío* y el aceite resultante se diluyó con acetato de etilo (100 ml). La capa orgánica se lavó con agua (2 x 30 ml), se secó ( $Na_2SO_4$ ) y concentró *a vacío* para dar el producto bruto que se purificó por cromatografía en columna. El producto se eluyó con 7% de EtOAc en hexano y la evaporación proporcionó el compuesto del título (0,45 g). MS  $C_{22}H_{17}F_3IN_3O_3$  requiere 555; encontrado 556 ( $MH^+$ ).

20 **Descripción para D113**

**3-(5-{5-[6-(Trifluorometil)-3-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il})propanoato de etilo (D113)**

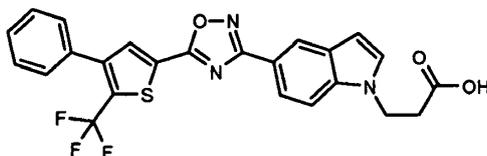


Este material se preparó por un método similar al usado para **D107** a partir de **D112**. MS (ES)  $C_{28}H_{22}F_3N_3O_2$  requiere 505; encontrado 506 ( $MH^+$ ).

25 **Ejemplos**

#### Ejemplo de referencia 1

**Ácido 3-(5-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il})propanoico (E1)**

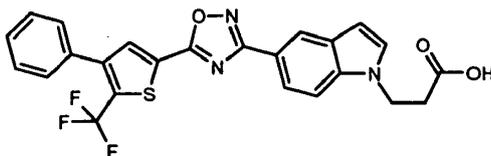


30 **D3** (38 mg) se disolvió en NaOH acuoso 2M (0,5 ml) y MeOH (0,5 ml) después se agitó a TA durante una noche. El análisis LCMS indicó 41% de producto, así que la mezcla de reacción se calentó a 50 °C y se agitó a lo largo del fin de semana. La LCMS mostró que la reacción era completa. La mezcla de reacción se evaporó y después se

repartió entre H<sub>2</sub>O y DCM. La capa orgánica se extrajo con H<sub>2</sub>O. Los extractos acuosos combinados se acidularon hasta pH = 1 y se extrajeron con DCM. Estos extractos en DCM se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se evaporaron para dar el producto deseado (30 mg). El producto bruto se purificó sobre un cartucho de sílice (12+S), eluyendo con una mezcla de 0 a 10 % de MeOH en DCM para dar el producto purificado. Este se disolvió en CHCl<sub>3</sub> y evaporó para dar el compuesto del título (3 mg) en forma de un sólido blanco. δH (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): 2,92 (2H, t), 4,50 (2H, t), 6,51 (1H, d), 7,24 (1H, d), 7,40-7,53 (6H, m), 7,90 (1H, s), 8,00 (1H, d), 8,45 (1H, s). EM (ES+): C<sub>24</sub>H<sub>16</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S requiere 483; encontrado 484 (MH<sup>+</sup>).

#### Ejemplo de referencia 1 (procedimiento alternativo)

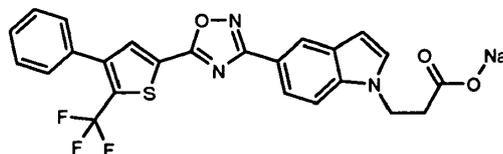
##### Ácido 3-(5-(5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)propanoico (E1)



**D3** (600 mg) se trató con NaOH 2 M aq. (25 ml) y MeOH (25 ml). Esta mezcla se agitó durante una noche y después se calentó a 50 °C durante 6 horas. El MeOH después se evaporó y la solución restante se aciduló y extrajo con EtOAc (x 3). Las disoluciones orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y evaporaron para dar el residuo bruto C(302 mg) en forma de un sólido blanquecino. Este se trituroó con MeOH frío para dar el compuesto del título (162 mg) en forma de un sólido gris. δH (d<sub>6</sub>-DMSO, 400MHz): 2,80 (2H, t), 4,46 (2H, t), 6,64 (1H, d), 7,49-7,59 (6H, m), 7,72 (1H, d), 7,85 (1H, dd), 8,22-8,25 (1H, m), 8,31-8,34 (1H, m). MS (ES): C<sub>24</sub>H<sub>16</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S requiere 483; encontrado 484 (MH<sup>+</sup>).

#### Ejemplo de referencia 2

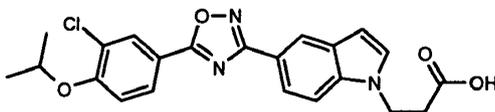
##### 3-(5-(5-[4-Fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)propanoato de sodio (E2)



**E1** (30 mg) se disolvió en EtOAc (1 ml), se trató con NaOH acuoso 2M (40 ul), se diluyó con H<sub>2</sub>O (1 ml) y se extrajo con EtOAc (3 x 5 ml), usando un pequeño volumen de salmuera durante la tercera extracción para facilitar la separación de fases. Los extractos orgánicos combinados se evaporaron para dar el compuesto del título (37 mg) como un sólido verde. δH (methanol-d<sub>4</sub>, 400MHz): 2,68 (2H, t), 4,48 (2H, t), 6,55 (1H, d), 7,49 (1H, d), 7,45-7,56 (5H, m), 7,62 (1H, d), 7,92 (1H, d), 8,03 (1H, s), 8,35 (1H, s). EM (ES+): C<sub>24</sub>H<sub>16</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S requiere 483; encontrado 484 (MH<sup>+</sup>).

#### Ejemplo de referencia 3

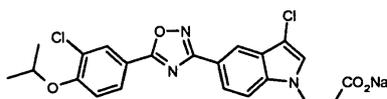
##### Ácido 3-(5-(5-(3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)propanoico (E3)



**D6** MF105672-178A2 (38 mg) se disolvió en EtOH, se trató con solución acuosa de NaOH 12,5 M (2 ml) y se agitó a TA durante 4 horas. La mezcla de reacción se evaporó, re-disolvió en H<sub>2</sub>O y se lavó con dietil éter. La solución acuosa se aciduló y se extrajo con DCM. Las soluciones en DCM se combinaron, se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, filtraron y evaporaron para dar el compuesto del título MF105672-181A1 (5 mg) como un sólido amarillo pálido. δH (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): 1,44 (6H, d), 2,94 (2H, t), 4,51 (2H, t), 4,73 (1H, septete), 6,61 (1H, d), 7,07 (1H, d), 7,22 (1H, d), 7,45 (1H, d), 7,94 (1H, d), 8,07 (1H, d), 8,27 (1H, s), 8,47 (1H, s). MS (ES): C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub> requiere 425; encontrado 426 (MH<sup>+</sup>).

#### Ejemplo de referencia 4

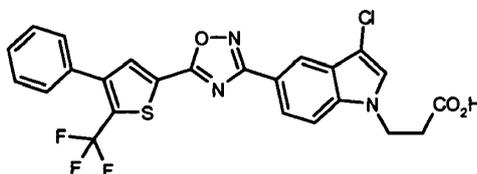
##### 3-[3-Cloro-5-(5-(3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de sodio (E4)



5 **D7** (200 mg) y  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (336 mg) se pusieron en un vial de microondas, se trataron con DMF (2,8 ml) y 3-bromopropionato de etilo (99 ul) y sonicaron durante 10 minutos. La mezcla después se se calentó a 120 °C en un reactor de microondas durante 25 mins. Después, la mezcla de reacción se evaporó, re-disolvió en MeOH (10 ml) y se trató con NaOH aq. 2 M (10 ml). Esta mezcla se se sonicó brevemente y después se se calentó a 50 °C durante una noche. Después, la mezcla de reacción se evaporó, se diluyó con  $\text{H}_2\text{O}$  (70 ml) y extrajo con EtOAc, añadiendo NaCl y acetona para mejorar la extracción. Los extractos orgánicos se evaporaron para dar el producto bruto que se aciduló con HCl para dar el ácido libre. Este era insuficientemente soluble para purificarlo por cromatografía, así que se trituró con MeOH, se trató con NaOH ac. 2M (1,5 eq.), se evaporó, disolvió en EtOAc, filtró y evaporó para dar el compuesto del título (56 mg) en forma de un sólido pardo.  $\delta\text{H}$  (methanol- $d_4$ , 400MHz): 1,42 (6H, d), 2,66 (2H, t), 4,47 (2H, t), 4,82 (1H, m), 7,29 (1H, d), 7,44 (1H, s), 7,65 (1H, d), 7,98 (1H, d), 8,12 (1H, d), 8,20 (1H, s), 8,30 (1H, s). MS (ES):  $\text{C}_{22}\text{H}_{19}^{35}\text{Cl}_2\text{N}_3\text{O}_4$  requiere 459; encontrado 460 ( $\text{MH}^+$ ).

#### Ejemplo de referencia 5

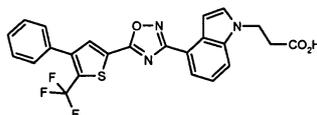
#### Ácido 3-(3-cloro-5-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico (E5)



15 **D8** (86 mg), 3-bromopropionato (52 mg),  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (126 mg) y DMF (1 ml) se pusieron en un vial de microondas y se agitó a 131 °C en el reactor de microondas durante 1,5 horas. Después, la mezcla de creación se evaporó hasta sequedad y se trató con NaOH ac. 2M y EtOH (20 ml). Esta disolución se agitó a 50 °C durante 4 horas y después se neutralizó con HCl y evaporó para separar el EtOH. Después la solución acuosa se extrajo dos veces con EtOAc y los extractos orgánicos combinados se evaporaron. El residuo se disolvió en DMSO, filtró, se trató con MeCN causando precipitación del producto que se filtró y se lavó con MeCN para dar el compuesto del título (23 mg) en forma de un sólido blanquecino.  $\delta\text{H}$  ( $d_6$ -DMSO, 400MHz): 2,47-2,57 (disolvente + 2H) 4,37 (2H, t), 7,51-7,59 (5H, m), 7,72 (1H, s), 7,76 (1H, d), 7,89 (1H, d), 8,17 (1H, s), 8,25 (1H, s). MS (ES):  $\text{C}_{24}\text{H}_{15}\text{ClF}_3\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$  requiere 517; encontrado 516 ( $\text{M-H}^+$ ).

#### 25 Ejemplo de referencia 6

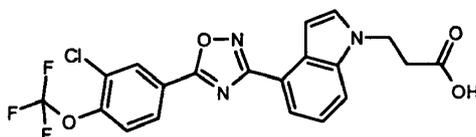
#### Ácido 3-(4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico (E6)



30 **D10** (85 mg, 0,207 mmol) se puso en un vial de microondas con  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (135 mg) y DMF (1 ml). Este se agitó brevemente y se añadió bromopropionato de etilo (40 ul). La mezcla se calentó a 130 °C durante 1,5 horas en el reactor de microondas. La mezcla de reacción se transfirió a un matraz que contenía NaOH acuoso 2 M (5 ml) y EtOH (5 ml), y después se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Después la mezcla se evaporó y el residuo se aciduló a pH = 2,5 con HCl acuoso 2 M. Esta disolución se extrajo con EtOAc dos veces y los extractos combinados se evaporaron para dar un residuo amarillo que se purificó por MDAP para dar el compuesto del título (50 mg) en forma de un sólido blanco.  $\delta\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400MHz): 2,93 (2H, t), 4,50 (2H, t), 7,26 (1H, s), 7,33 (1H, d), 7,37 (1H, ap t), 7,45-7,52 (5H, m), 7,55 (1H, d), 7,93 (1H, s), 8,04 (1H, d). MS (ES):  $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$  requiere 483; encontrado 482 ( $\text{M-H}^+$ ).

#### Ejemplo de referencia 7

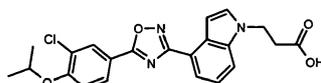
#### Ácido 3-[4-(5-{3-cloro-4-[(trifluorometil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoico (E7)



Ácido 3-cloro-4-[(trifluorometil)oxi]benzoico (fuente comercial) (131 mg), EDCI (114 mg) y HOBT (81 mg) se disolvieron en DMF (2,5 ml) y se agitaron a TA durante 10 minutos. Se añadió 3-{5-[(hidroxiamino)(imino)metil]-1*H*-indol-1-il}propanoato de etilo (D57) (150 mg) en DMF (2,5 ml) y se continuó agitando a TA durante 2 horas. Después se calentó la mezcla a 80 °C durante la noche. La mezcla de reacción se evaporó hasta sequedad y después se extrajo con EtOAc (2 x 25 ml) de H<sub>2</sub>O (25 ml). Las disoluciones orgánicas combinadas se evaporaron hasta sequedad y el residuo se trató con EtOH y NaOH aq. 2 M (mezcla 1:1, 20 ml). Esta mezcla se agitó a 50 °C durante 2 horas, después se evaporó para separar el EtOH. El precipitado resultante se separó por filtración y se lavó con una mezcla de H<sub>2</sub>O y EtOH y después con HCl 2 M. El residuo se recrystalizó en EtOH para dar el compuesto del título (62 mg) en forma de un sólido blanco. δH (d<sub>6</sub>-DMSO, 400MHz): 2,81 (2H, t), 4,50 (2H, t), 7,08 (1H, d), 7,36 (1H, t aparente), 7,61 (1H, d), 7,83 (1H, d), 7,89 (1H, d), 7,96 (1H, d), 8,32 (1H, dd), 8,50 (1H, d). MS (ES<sup>-</sup>): C<sub>20</sub>H<sub>13</sub><sup>35</sup>ClF<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> requiere 451; encontrado 450 (M-H<sup>+</sup>).

#### Ejemplo de referencia 8

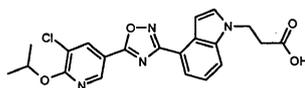
#### Ácido 3-[4-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1*H*-indol-1-il]propanoico (E8)



Ácido 3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]benzoico (D4) (117 mg) se añadió a EDCI (114 mg) y HOBT (81 mg) se disolvió en DMF (2,5 ml). Este se agitó a TA durante 10 minutos y después se añadió 3-{4-[(hidroxiamino)(imino)metil]-1*H*-indol-1-il}propanoato de etilo (D57) (150 mg) en DMF (2,5 ml) y se continuó agitando a TA durante 2 horas y después a 80 °C durante una noche. La mezcla de reacción se evaporó hasta sequedad y después se extrajo del agua con EtOAc (2 x 25 ml) de H<sub>2</sub>O (25 ml). Los extractos orgánicos combinados se evaporaron y se trataron con NaOH aq. 2 M (10 ml) y EtOH (10 ml), se agitó a 50 °C durante 2 horas, y después se evaporó para separar el EtOH. La solución residual se aciduló, filtró y el precipitado se lavó con EtO/H<sub>2</sub>O y después se recrystalizó en EtOH/H<sub>2</sub>O en caliente y después en DMSO. El lavado con Et<sub>2</sub>O y MeOH dio el compuesto del título (46 mg) en forma de un sólido blanco. δH (d<sub>6</sub>-DMSO, 400MHz): 1,37 (6H, d), 2,81 (2H, t), 4,50 (2H, t), 4,89 (1H, septete), 7,08 (1H, d), 7,35 (1H, t aparente), 7,46 (1H, d), 7,60 (1H, d), 7,81 (1H, d), 7,94 (1H, d), 8,15 (1H, dd), 8,23 (1H, d). MS (ES<sup>-</sup>): C<sub>22</sub>H<sub>20</sub><sup>35</sup>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub> requiere 425; encontrado 424 (M-H<sup>+</sup>).

#### Ejemplo de referencia 9

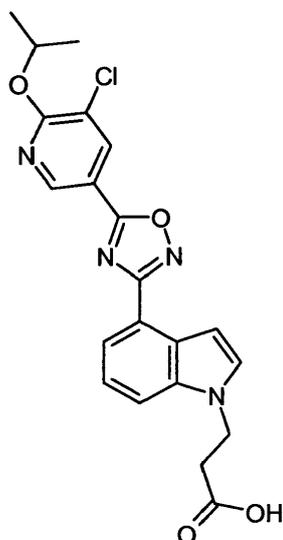
#### Ácido 3-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1*H*-indol-1-il]propanoico (E9)



3-{4-[(hidroxiamino)(imino)metil]-1*H*-indol-1-il}propanoato de etilo (D57) (150 mg) en DMF (2,5 ml) se añadió a una disolución de ácido 5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinacarboxílico (D61) (118 mg), HOBT (81 mg) y EDCI (114 mg) que se había estado agitando a TA durante 10 minutos en DMF (2,5 ml). La mezcla resultante se agitó a TA durante 2 horas y después se calentó a 80 °C durante tres días. La mezcla de reacción se evaporó hasta sequedad y después se extrajo del agua con EtOAc (2 x 25 ml) de H<sub>2</sub>O (25 ml). Los extractos orgánicos combinados se evaporaron y el residuo se agitó en EtOH/NaOH aq. 2 M (mezcla 1:1, 20 ml) a 50 °C durante 2 horas. El EtOH se evaporó y el precipitado se separó por filtración. Este se aciduló y después se purificó por MDAP para dar el compuesto del título (48 mg) en forma de un sólido blanquecino. δH (d<sub>6</sub>-DMSO, 400MHz): 1,40 (6H, d), 2,80 (2H, t), 4,50 (2H, t), 5,46 (1H, septete), 7,08 (1H, d), 7,36 (1H, t aparente), 7,60 (1H, d), 7,82 (1H, d), 7,95 (1H, d), 8,60 (1H, d), 8,97 (1H, d). MS (ES<sup>-</sup>): C<sub>21</sub>H<sub>19</sub><sup>35</sup>ClN<sub>4</sub>O<sub>4</sub> requiere 426; encontrado 425 (M-H<sup>+</sup>).

#### Ejemplo de referencia 9 (procedimiento alternativo)

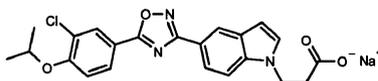
Ácido 3-[4-(5-{5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1*H*-indol-1-il]propanoico (E9)



3-[4-(5-(5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de etilo (D62) (1,1 g, 2,418 mmol) se disolvió en una mezcla de 1,4-dioxano (100 ml) y etanol (100 ml). Se añadió agua (50,0 ml) seguida de hidróxido de sodio 2N (2,418 ml, 4,84 mmol). La mezcla se agitó a TA durante una hora y media para dar un solo producto. Se evaporó la mayor parte del disolvente, se aciduló con ácido acético glacial, se añadió agua (50ml) y el producto se extrajo en EtOAc (200ml). Se lavó con agua (30ml) y se secó sobre MgSO<sub>4</sub>. El disolvente se separó por evaporación hasta que se formó un precipitado blanco. El sólido se separó por filtración y se lavó con éter. La masa de compuesto del título obtenida fue de 780mg. δH (400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 1,38 (6H, d), 2,81 (2H, t), 4,50 (2H, t), 5,41-5,51 (1H, m), 7,07 (1H, dd), 7,36 (1H, t), 7,59 (1H, d), 7,81 (1H, d), 7,94 (1H, dd), 8,58 (1H, d), 8,96 (1H, d), 12,40 (1H, s ancho). MS (ES) C<sub>21</sub>H<sub>19</sub><sup>35</sup>ClN<sub>4</sub>O<sub>4</sub> requiere 426; encontrado 427 (MH<sup>+</sup>).

#### Ejemplo de referencia 10

#### 3-[5-(5-{3-Cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de sodio (E10)

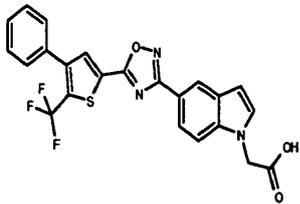
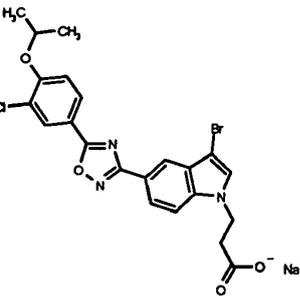
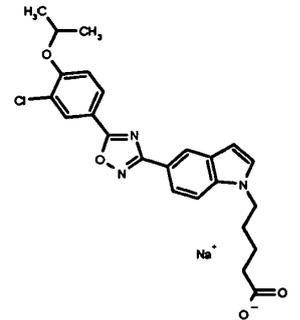
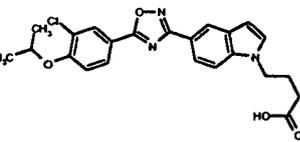
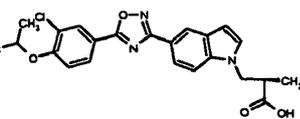


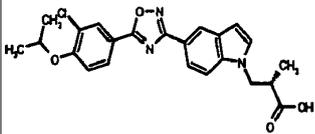
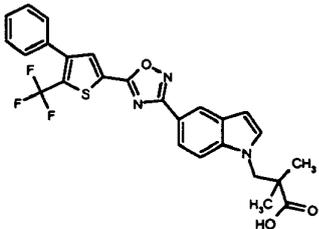
(D5) (200 mg) se disolvió en DMF (4 ml), se trató con Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (368 mg) y después con bromopropionato de etilo (109 μl). La mezcla resultante se calentó a 120 °C en un reactor de microondas durante 2 horas. La mezcla de reacción se decantó del residuo insoluble y se evaporó hasta sequedad para dar un aceite anaranjado pálido.

Este aceite se disolvió en EtOH (2 ml) y se trató con NaOH acuoso 2 M (2 ml). Esto produjo un precipitado blanco, así que se añadió otra porción de EtOH (2 ml) para producir una disolución homogénea. La mezcla resultante se calentó a 60 °C durante 1 hora y después se dejó estar a TA durante una noche. La mezcla de reacción se evaporó hasta sequedad, re-disolvió en H<sub>2</sub>O (10 ml), se trató con salmuera (2 ml) y extrajo con una mezcla de EtOAc y MeCN (2 x 20 ml). La evaporación dio el producto bruto (313 mg) como un sólido verde pálido. Este se disolvió en MeOH (5 ml), filtró y evaporó y después se trituroó con Et<sub>2</sub>O para dar el compuesto del título (247 400mg) como un sólido verde pálido. δH (metanol-d<sub>4</sub>, 400MHz):1,42 (6H, d), 2,68 (2H, t), 4,48 (2H, t), 4,83 (1H, septete), 6,55 (1H, dd), 7,30 (1H, d), 7,38 (1H, d), 7,61 (1H, d), 7,91 (1H, dd), 8,12 (1H, dd), 8,21 (1H, d), 8,34 (1H, dd). MS (ES-): C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub> requiere 425 encontrado 424 (M-H<sup>+</sup>).

Los siguientes compuestos se prepararon de una manera similar a la del Ejemplo 1: El disolvente para la etapa de hidrólisis fue o bien metanol o etanol y la temperatura de reacción entre temperatura ambiente y 60 °C. En algunos casos, las reacciones se trataron extrayendo el producto o el producto acidulado en un disolvente orgánico y en otros casos el compuesto final precipitó de la capa acuosa y se aisló por filtración. La purificación se hizo por MDAP, trituration o recristalización.

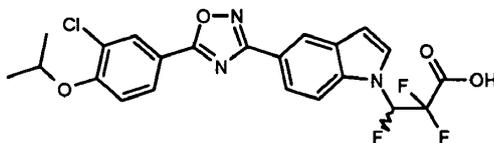
Ejemplo	Estructura	Nombre	Comentarios	MS
Referencia E11		Ácido (5-(5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)acético	Hidrólisis de D42	470 (MH <sup>+</sup> )

Ejemplo	Estructura	Nombre	Comentarios	MS
				
Referencia E12		3-[3-bromo-5-(5-(3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de sodio	Hidrólisis de <b>D43</b>	504 (M-H <sup>+</sup> para <sup>35</sup> Cl & <sup>81</sup> Br)
Referencia E13		5-[5-(5-(3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]pentanoato de sodio	Hidrólisis de <b>D44</b>	454 (MH <sup>+</sup> para <sup>35</sup> Cl)
Referencia E14		Ácido 4-[5-(5-(3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico	Hidrólisis 440 de <b>D45</b>	(MH <sup>+</sup> para <sup>35</sup> Cl)
Referencia E15		Ácido (2R)-3-[5-(5-(3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]-2-metilpropanoico	Hidrólisis de <b>D46</b>	440 (MH <sup>+</sup> para <sup>35</sup> Cl)
Referencia E16		Ácido (2S)-3-[5-(5-(3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]-2-metilpropanoico	Hidrólisis de <b>D47</b>	440 (MH <sup>+</sup> para <sup>35</sup> Cl)

Ejemplo	Estructura	Nombre	Comentarios	MS
				
Referencia E17		Ácido 2,2-dimetil-3-(5-(5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)propanoico	Hidrólisis de <b>D48</b> .	512 (MH <sup>+</sup> )

## Ejemplo de referencia 18

Ácido 3-[5-(5-(3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]-2,2,3-trifluoropropanoico (E18)



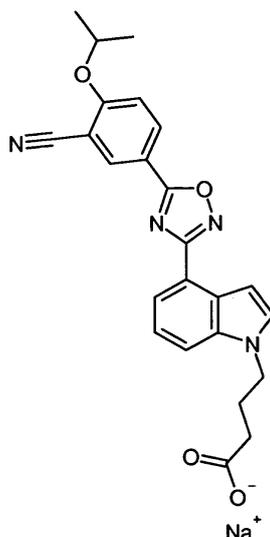
5

10

D5 (200 mg), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (552 mg) y DMF (2,8 ml) se agitaron a RT y se trataron con ácido 3-bromo-2,2,3-trifluoropropanoico (175 mg). Esta mezcla se calentó a 140 °C durante 1 hora en un reactor de microondas. Se añadieron 2 equivalentes más de Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (368 mg) y se continuó calentando a 140 °C durante 10 horas. Después, la mezcla de reacción se evaporó, se trató con H<sub>2</sub>O, se sacudió y filtró para dar un residuo sólido marrón. Éste se purificó por MDAP para producir el compuesto del título en forma de un sólido blanco (12 mg). δH (metanol-d<sub>4</sub>, 400MHz): 1,42 (6H, d), 4,83 (1H, septete), 6,87 (1H, d), 7,29 (1H, d), 7,45 (1H, d), 7,54 (1H, d), 7,61 (1H, d), 7,80 (1H, d), 8,06 (1H, d), 8,11 (1H, d), 8,19-8,22 (1H, m), 8,44 (1H, s).

## Ejemplo de referencia 19

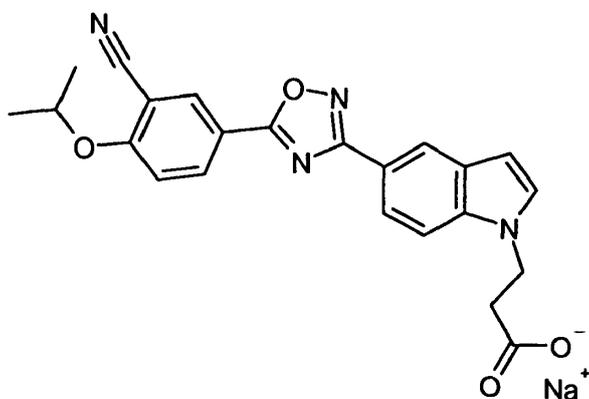
4-[4-(5-(3-Ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoato de sodio (E19)



5 A una disolución de 4-[4-(5-(3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoato de etilo (**D65**) (1,42g, 3,09 mmol) en una mezcla de dioxano (70ml) y etanol (70ml) se trató con hidróxido de sodio 2N (1,86ml, 3,71 mmol) seguido de agua (35ml). La disolución se agitó a TA durante 4 horas. Se evaporó la mayor parte del disolvente y se separó por filtración el sólido blanco del disolvente restante. El sólido se lavó con agua seguida de éter y se secó para dar 580mg del compuesto del título.  $\delta$ H (400 MHz, metanol- $d_4$ ) 1,45 (6H, d), 2,09-2,22 (4H, m), 4,30 (2H, t), 4,92-4,98 (1H, m), 7,15 (1H, d), 7,31 (1H, t), 7,38-7,43 (2H, m), 7,69 (1H, d), 7,95 (1H, d), 8,43-8,46 (2H, m). MS (ES)  $C_{24}H_{22}N_4O$  requiere 430; encontrado 431 ( $MH^+$ ).

#### Ejemplo de referencia 20

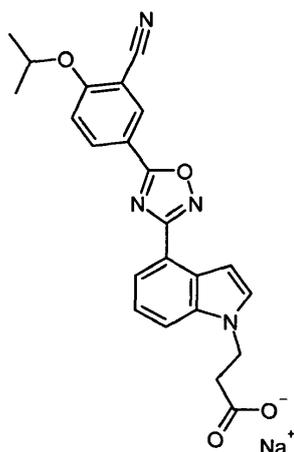
10 **3-[5-(5-(3-Ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de sodio**



15 3-[5-(5-(3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de etilo (**D53**) (150mg, 0,38 mmol) se disolvió en etanol (25ml) calentando a 60 °C. La solución se dejó enfriar a TA y después se añadió hidróxido de sodio 2N (3ml, 6 mmol). La disolución se agitó a TA durante 30 minutos. LC/MS indicó un solo producto. El etanol se separó por evaporación y el sólido que precipitó en la disolución se separó por filtración. La masa de compuesto del título obtenida como un sólido canela claro al secar fue de 50mg.  $\delta$ H (400 MHz,  $d_6$ -DMSO) 1,45 (6H, d), 2,67 (2H, t), 4,48 (2H, t), 4,92-4,98 (1H, m), 6,54-6,55 (1H, m), 7,34 (1H, d), 7,38 (1H, d), 7,60 (1H, d), 7,91 (1H, dd), 8,35 (1H, d), 8,41-8,46 (2H, m). MS (ES)  $C_{23}H_{20}N_4O_4$  requiere 416; encontrado 417 ( $MH^+$ ).

#### Ejemplo de referencia 21

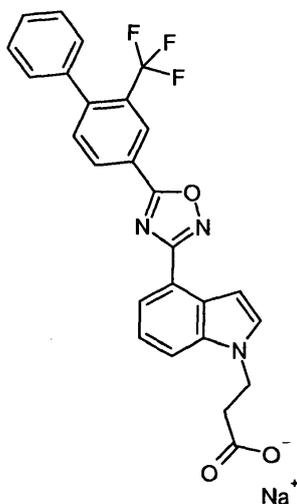
20 **3-[4-(5-(3-Ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de sodio (E21)**



- 5 3-[4-(5-(3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de etilo (**D63**) (81mg, 0,18 mmol) se disolvió en etanol calentando a 50 °C. Se añadió hidróxido de sodio 2N (0,25ml, 0,5 mmol) seguido de agua (2ml), se calentó a 50 °C para dar una solución clara y después se dejó estar a RT durante 30 minutos. LC/MS indicó un solo producto. El etanol se separó por evaporación para obtener un precipitado que se separó por filtración y se secó. La masa de compuesto del título en forma de sólido marrón pálido obtenida fue 60 mg  $\delta$ H (400 MHz,  $d_6$ -DMSO) 1,39 (6H, d), 2,32 (2H, t), 4,39 (2H, t), 4,96-5,00 (1H, m), 7,01 (1H, d), 7,31 (1H, t), 7,56-7,61 (2H, m), 7,74 (1H, d), 7,91 (1H, d), 8,45 (1H, dd), 8,55 (1H, d). MS (ES)  $C_{23}H_{20}N_4O_4$  requiere 416; encontrado 417 ( $MH^+$ ).

#### Ejemplo de referencia 22

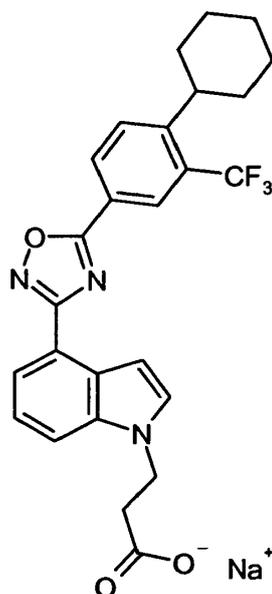
- 10 3-(4-{5-[2-(Trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de sodio (**E22**)



- 15 3-(4-{5-[2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (**D64**) (15mg, 0,31 mmol) se disolvió en etanol (50ml) calentando a 40 °C durante 10 minutos y después se añadió hidróxido de sodio 2N (4ml, 8 mmol) seguido de agua (8ml). La disolución se dejó estar durante 1 hora. El etanol se separó por evaporación y se separó por filtración el sólido blanquecino. La masa de compuesto del título obtenida como un sólido beige al secar fue de 42mg.  $\delta$ H (400 MHz, metanol- $d_4$ ) 2,69 (2H, t), 4,53 (2H, t), 7,17-7,18 (1H, m), 7,32-7,40 (3H, m), 7,46-4,49 (4H, m), 7,66 (1H, d), 7,75 (1H, d), 8,02 (1H, d), 8,53 (1H, dd), 8,63 (1H, d). MS (ES)  $C_{26}H_{18}F_3N_3O_3$  requiere 477; encontrado 478 ( $MH^+$ ).

#### Ejemplo de referencia 23

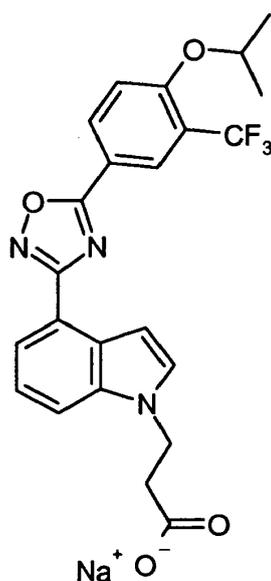
- 20 3-(4-{5-[4-Ciclohexil-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de sodio (**E23**)



3-(4-{5-[4-Ciclohexil-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (**D69**) (63 mg, 0,123 mmol) se disolvió en etanol (8 ml) y se añadió hidróxido de sodio (2M, 0,5 ml, 1,000 mmol). La reacción se calentó a 40 °C durante 18 h. LCMS indicó conversión completa al producto. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el sólido blanco se separó por filtración y se lavó con agua. Al filtrar, se redisolvió mucho compuesto y pasó al filtrado, así que el sólido y el filtrado se combinaron y separaron entre diclorometano (10 mL) y HCl 2M (3 mL). La fase acuosa se extrajo con DCM adicional (10 ml). La fase orgánicas se aislaron con un separador de fases, se combinaron y el disolvente se separó a vacío. Después el sólido se disolvió en acetonitrilo y agua con adición de una cantidad equimolar de hidróxido de sodio (2M, 53 µL) antes de que la disolución se liofilizara para dar el compuesto del título (42 mg) en forma de un sólido blanco.  $\delta$ H (metanol- $d_4$ , 400 MHz): 8,48 (1H, d), 8,43 (1H, dd), 7,98 (1H, dd), 7,86 (1H, d), 7,73 (1H, d), 7,46 (1H, d), 7,32 (1H, t aparente), 7,15 (1H, dd), 4,52 (2H, t), 3,04 (1H, t), 2,69 (2H, t), 2,0-1,8 (5H, m), 1,63 (2H, dd), 1,53-1,37 (3H, m). MS (ES)  $C_{26}H_{24}F_3N_3O_3$  requiere 483; encontrado 482 ( $M-H^+$ ).

#### Ejemplo de referencia 24

#### 3-(4-{5-[4-[(1-Metiletil)oxi]-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il)propanoato de sodio (E24)

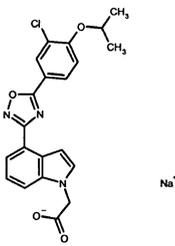
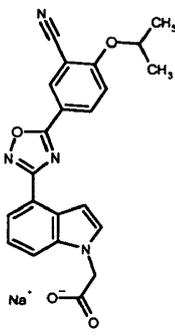
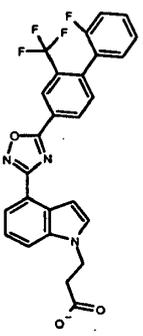


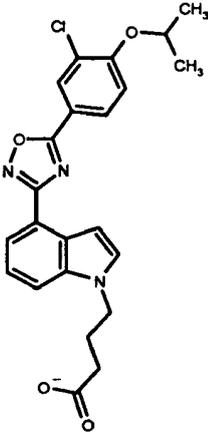
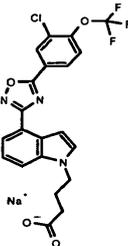
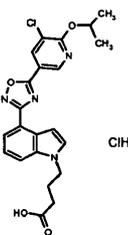
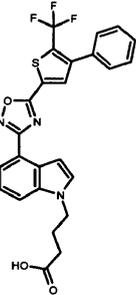
15

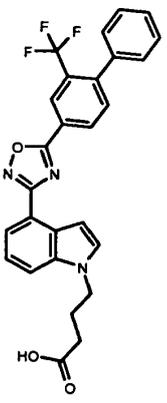
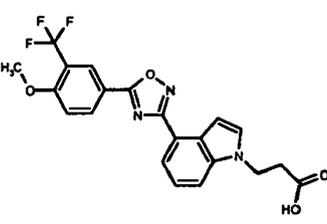
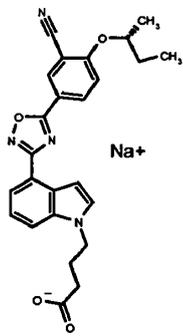
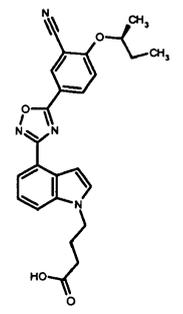
A una suspensión de 3-(4-{5-[4-[(1-metiletil)oxi]-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (**D72**) (81 mg, 0,17 mmol) en etanol (8mL) se añadió hidróxido de sodio acuoso (2M, 0,8 mL, 1,6 mmol) y la

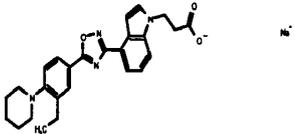
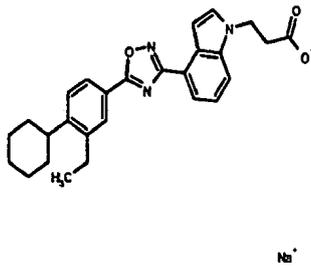
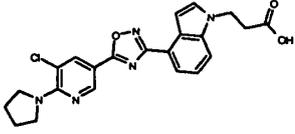
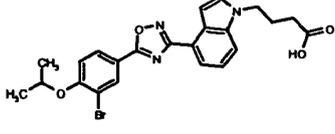
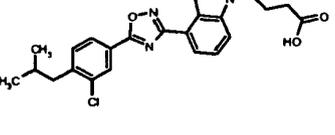
reacción se calentó a 50 °C para disolver los reactivos antes de calentar a 40 °C durante 1 h. El disolvente se separó *a vacío* y el residuo se repartió entre acetato de etilo (20 mL) y agua (20 mL) y se aciduló con ácido clorhídrico acuoso (2M). La fase acuosa se extrajo con más acetato de etilo (2 x 20 mL) y los extractos orgánicos combinados se secaron (separador de fases) y concentraron *a vacío*. Después el sólido se disolvió en acetonitrilo y agua con adición de una cantidad equimolar de hidróxido de sodio (2M) antes de que la disolución se liofilizara para dar el compuesto del título (57 mg).  $\delta$ H ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz): 8,44 (1H, dd), 8,35 (1H, d), 7,93 (1H, dd), 7,74 (1H, d), 7,65-7,54 (2H, m), 7,31 (1H, t aparente), 7,00 (1H, dd) 4,99 (1H, septete), 4,38 (2H, t), 2,34 (2H, t), 1,36 (6H, d). MS (ES):  $C_{23}H_{20}F_3N_3O_4$  requiere 459; encontrado 460 ( $MH^+$ ).

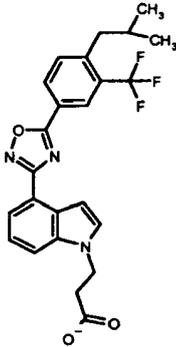
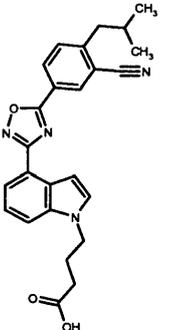
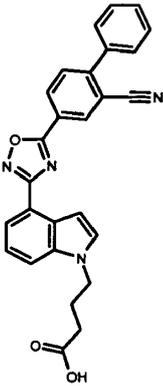
Los siguientes ejemplos se prepararon por reacciones de hidrólisis similares a las descritas anteriormente. Se usaron al menos dos equivalentes de hidróxido de sodio. El disolvente fue o bien etanol o metanol. En algunos casos se utilizó un codisolvente (diclorometano o dioxano) para facilitar la disolución del material de partida. La reacciones se realizaron a una temperatura entre temperatura ambiente y 50 °C. En algunos casos se separó parte o la totalidad del disolvente cuando la reacción fue completa. La reacciones o bien se trataron repartiéndolas entre una capa orgánica y una capa acuosa o filtrando el producto sólido del disolvente acuoso. En algunos casos los productos brutos se purificaron por trituración. Los productos se aislaron, bien en forma del ácido o de la sal sódica.

	Estructura	precursor	Nombre	MS
Referencia E25		D73	[4-(5-(3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]acetato de sodio	412 ( $MH^+$ para $^{35}Cl$ )
Referencia E26		D74	[4-(5-(3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]acetato de sodio	403 ( $MH^+$ )
Referencia E27		D76	3-(4-(5-[2'-fluoro-2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)propanoato de sodio	496 ( $MH^+$ )

	Estructura	precursor	Nombre	MS
Referencia E28		D77	4-[4-(5-(3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoato de sodio	440 (MH+ para <sup>35</sup> Cl)
Referencia E29		D78	4-[4-(5-(3-cloro-4-[(trifluorometil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoato de sodio	466 (MH+ para <sup>35</sup> Cl)
Ejem plo 1		D79	Hidrocloruro de ácido 4-[4-(5-(5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico	441 (MH+ para <sup>35</sup> Cl)
Referencia E31		D80	Ácido 4-(4-(5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)butanoico	498 (MH <sup>+</sup> )
Referencia E32		D81	Ácido 4-(4-(5-[2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)butanoico	492 (MH <sup>+</sup> )

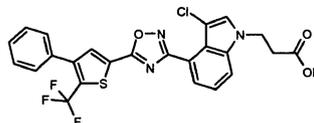
	Estructura	precursor	Nombre	MS
				
Referencia E33		D82	Ácido 3-(4-(5-[4-metiloxi-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)propanoico	432 (MH <sup>+</sup> )
Referencia E34		D83	4-(4-[5-(3-ciano-4-[[1R]-1-metilpropil]oxi)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)butanoato de sodio	445 (MH <sup>+</sup> )
Referencia E35		D84	Ácido 4-(4-[5-(3-ciano-4-[[1S]-1-metilpropil]oxi)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)butanoico	445 (MH <sup>+</sup> )
Referencia E36		D85	3-(4-(5-[3-etil-4-(1-piperidinil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)propanoato de	445 (MH <sup>+</sup> )

	Estructura	precursor	Nombre	MS
			sodio	
Referencia E37		D86	3-(4-[5-(4-ciclohexil-3-etilfenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il)propanoato de sodio	444 (MH <sup>+</sup> )
Referencia E38		D87	Ácido 3-(4-{5-[5-cloro-6-(1-pirrolidinil)-3-piridinil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico	438 (MH+ para <sup>35</sup> Cl)
Referencia E39		D88	Ácido 4-[4-(5-{3-bromo-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico	484 (MH+ para <sup>79</sup> Br)
Referencia E40		D89	Ácido 4-(4-(5-{3-cloro-4-(2-metilpropil)fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)butanoico	438 (MH+ para <sup>35</sup> Cl)
Referencia E41		D90	3-(4-[5-[4-(2-metilpropil)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il)propanoato de sodio	456 (M-H <sup>+</sup> )

	Estructura	precursor	Nombre	MS
		Na <sup>+</sup>		
Referencia E42		D91	Ácido 4-(4-{5-[3-ciano-4-(2-metilpropil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)butanoico	429 (MH <sup>+</sup> )
Referencia E43		D92	Ácido 4-(4-[5-(2-ciano-4-bifenilil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il)butanoico	447 (M-H <sup>+</sup> )

**Ejemplo de referencia 44**

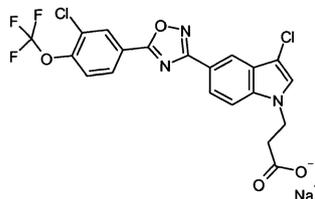
**Ácido 3-(3-cloro-4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoico**



Este material se preparó de manera similar a **E5** (a partir de **D93**) excepto que la etapa de alquilación llevó 4,5 h en el microondas y la etapa de hidrólisis se llevó a cabo a temperatura ambiente durante una noche. MS (ES):  $C_{24}H_{15}ClF_3N_3O_3S$  requiere 517; encontrado 516 ( $M-H^+$ ).

#### Ejemplo de referencia 45

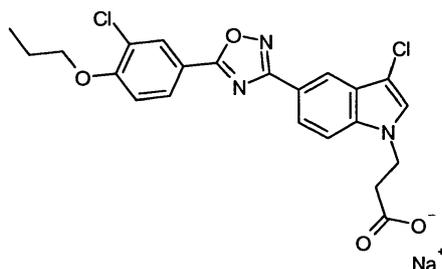
#### 5 3-[3-cloro-5-(5-[3-cloro-4-[(trifluorometil)oxi]fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de sodio(E45)



10 A 3-[3-cloro-5-(5-[3-cloro-4-[(trifluorometil)oxi]fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de etilo (**D97**) (150mg, 2,9 mmol) en etanol (10ml) se añadió NaOH 2N (2ml, 4 mmol) y la mezcla se calentó a 50 °C durante 30 minutos. El etanol se separó por evaporación y el sólido de color crema pálido que había precipitado en la disolución residual se separó por filtración. La masa de compuesto del título obtenida al secar fue de 100mg.  $\delta H$  (400 MHz,  $d_6$ -DMSO) 2,35 (2H, t), 4,35 (2H, t), 7,73-7,75 (2H, m), 7,86 (1H, d), 7,92 (1H, d), 8,22 (1H, s), 8,30-8,32 (1H, m), 8,49 (1H, d). MS (ES)  $C_{20}H_{12}^{35}Cl_2F_3N_3O_4$  requiere 485; encontrado 486 ( $MH^+$ )

#### Ejemplo de referencia 46

#### 3-(3-cloro-5-{5-[3-cloro-4-(propiloxi)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de sodio (E46)



15 A 3-(3-cloro-5-{5-[3-cloro-4-(propiloxi)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (**D101**) (120mg, 2,5 mmol) en etanol (10ml) se añadió NaOH 2N (2ml) y la mezcla se calentó a 50 °C durante 30 minutos. El etanol se separó por evaporación y el sólido de color blanco que había precipitado en la disolución residual se separó por filtración. La masa de compuesto del título obtenida al secar fue de 85mg.  $\delta H$  (400 MHz,  $d_6$ -DMSO) 1,03 (3H, t), 1,77-1,86 (2H, m), 2,34 (2H, t), 4,17 (2H, t), 4,35 (2H,t), 7,40 (1H,d), 7,71-7,74 (2H,m), 7,91 (1H, d), 8,15 (1H,dd), 8,20-8,21 (2H,m). MS (ES)  $C_{22}H_{19}^{35}Cl_2N_3O_4$  requiere 459; encontrado 460 ( $MH^+$ ).

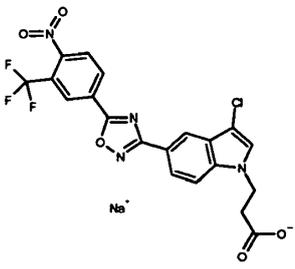
20

Los siguientes ejemplos se prepararon por un método similar a los descritos anteriormente, usando 2-60 equivalentes de hidróxido de sodio (Tabla 8). Las reacciones se trataron eliminando el etanol y filtrando el sólido resultante o extrayendo el producto en acetato de etilo. Si era necesario los productos se purificaban por trituración con éter.

25

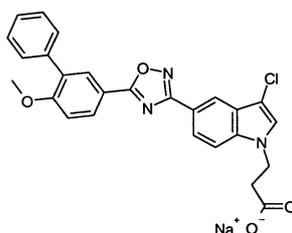
	Estructura	precursor	Nombre	MS
Referencia E47		D102	3-(3-cloro-5-{5-[3-cloro-4-(metiloxi)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de sodio	430, 432 ( $M-H^+$ para $^{35}Cl_2$ , $^{35}Cl^{37}Cl$ )

	Estructura	precursor	Nombre	MS
Referencia E48		D103	3-(3-cloro-5-{5-[4-(metiloxi)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de sodio	466 (MH+ para <sup>35</sup> Cl)
Referencia E49		D109	3-(3-cloro-5-{5-[3-cloro-4-(etiloxi)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de sodio	444, 446 (M-H <sup>+</sup> para <sup>35</sup> Cl <sub>2</sub> , <sup>35</sup> Cl <sup>37</sup> Cl)
Referencia E50		D104	3-[3-cloro-5-(5-{3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de sodio	451 (MH+ para <sup>35</sup> Cl)
Referencia E51		D105	3-(3-cloro-5-{5-[4-nitro-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de sodio	478, 480 en ES <sup>-</sup>

	Estructura	precursor	Nombre	MS
				

### Ejemplo de referencia 53

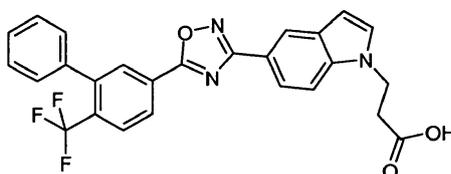
#### 3-(3-cloro-5-(5-[6-(metiloxi)-3-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)propanoato de sodio (E53)



- 5 3-(3-cloro-5-(5-[6-(metiloxi)-3-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (D107) (90mg, 0,18 mmol) se calentó en etanol (10ml) para dar una solución clara. Esta disolución se trató con hidróxido de sodio 2N (3ml, 6 mmol) y se agitó a 50 °C durante 30 minutos. El etanol se separó por evaporación y el sólido blanco que precipitó en la disolución se separó por filtración, lavando el sólido con una pequeña cantidad de agua y éter. El sólido se agitó en una pequeña cantidad de acetona durante 1 hora, se filtró, se lavó con una pequeña cantidad de éter y se secó para dar el compuesto del título como 45mg de sólido blanco.  $\delta$ H (400 MHz,  $d_6$ -DMSO) 2,34 (2H, t), 3,91 (3H, s), 4,34 (2H, t), 7,41-7,46 (2H, m), 7,48-7,50 (2H, m), 7,57-7,59 (2H, m), 7,63-7,66 (2H, m), 7,80 (1H, d), 8,10 (1H, d), 8,10-8,25 (2H, m). MS (ES)  $C_{26}H_{20}^{35}ClN_3O_4$  requiere 473; encontrado 474 (MH<sup>+</sup>).

### Ejemplo de referencia 54

#### Ácido 3-(5-(5-[6-(trifluorometil)-3-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)propanoico (E54)



- 15 Este material se preparó por un método similar para preparar **E53**. El disolvente era una mezcla de etanol y 1,4-dioxano y se usaron 0,071 ml de NaOH ac. 2M para hidrolizar 51 mg de **D113**. MS (ES)  $C_{26}H_{18}F_3N_3O_3$  requiere 477; encontrado 476 (M-H<sup>+</sup>).

### Ensayo de unión a GTPyS

- 20 Células leucémicas basófilas de rata (RBL) que expresaban establemente el receptor de S1P1 se hicieron crecer hasta 80% de confluencia antes de recogerlas en 10ml de solución salina fosfo-tamponada (PBS) y centrifugaron a 1200rpm durante 5 minutos. Después de separar el sobrenadante, el sedimento se resuspendió y homogeneizó en 20 volúmenes de tampón de ensayo (HEPES 20mM pH 7,4, NaCl 100mM, MgCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O 10mM, GDP 10μM Saponina 10μg/ml). La suspensión de las membranas se centrifugó adicionalmente durante 20 minutos a 20000rpm, se rehomogeneizó y se hiló de nuevo. Tras la segunda centrifugación, el sedimento se resuspendió en un volumen apropiado (1ml para cada matraz de células) y se analizó para determinar la concentración de proteínas.

La disolución madre concentrada de S1P se sonicó antes de preparar diluciones seriadas a partir de una concentración inicial de  $10^{-5}$  M. Las membranas diluidas (10µg/pocillo) se incubaron con varias concentraciones de S1P y 0,3nM  $^{35}$ S-GTPγS (NEN; actividad específica 1250 Ci/mmol) en placas de 96 pocillos profundos. La unión se hizo a 30°C durante 45 minutos y se terminó recogiendo las membranas sobre placas filtrantes GF/B usando un Colector Universal Packard. Después de secar las placas durante 45 minutos, se añadieron 50µl de Microscint 0 a cada pocillo y se midió la unión en un Topcount NXT (Perkin Elmer). Los datos se analizaron utilizando Graphpad Prism 4 y se expresaron como estimulación porcentual respecto del valor basal. Los valores EC50 se definieron como la concentración de agonista requerida para dar 50% de la estimulación máxima.

#### Preparación de membranas (método alternativo)

10 Para preparación de membranas todas las etapas se realizaron a 4°C. Células de hepatoma de rata que expresan establemente el receptor S1P1 humano o Células leucémicas basófilas de rata (RBL) que expresaban establemente el receptor de S1P3 se hicieron crecer hasta 80% de confluencia antes de recogerlas en 10ml de solución salina fosfo-tamponada (PBS) y centrifugaron a 1200rpm durante 5 minutos. Después de separar el sobrenadante, el sedimento se resuspendió y las células se homogeneizaron dentro de un mezclador Waring de vidrio durante 2

15 ráfagas de 15 s en 200ml de tampón (HEPES 50mM, leupeptin 1mM, 25µg/ml de bacitracin, EDTA 1mM, PMSF, pepstatina A 2µM). El mezclador se sumergió en h8ielo durante 5 min después de la primera ráfaga y 10-40 mins después de la última ráfaga para que se disipara la espuma. Después el material se centrifugó a 500g durante 20 min y el sobrenadante se centrifugó durante 36 min a 48.000g. El sedimento se resuspendió en el mismo tampón que antes pero sin PMSF y pepstatina A. Después el material se hizo pasar a través de una aguja de 0,6mm, se llevó al volumen requerido, (habitualmente 4 veces el volumen del sedimento original de células), se dividió en

20 alícuotas y se guardaron congeladas a -80°C.

#### S1P1 ensayo GTPγS (método alternativo)

Membranas de hepatoma de rata que expresan S1P1 humano (1,5µg/pocillo) se adhirieron a perlas de ensayo de proximidad por centelleo revestidas con Aglutinina de germen de trigo (0,125mg/pocillo) en tampón de ensayo (HEPES 20mM, MgCl<sub>2</sub> 10mM, NaCl 100mM y el pH se ajustó a 7,4 usando KOH 5M), GDP 10µM FAC (concentración final de ensayo) y también se añadió saponina 90g/ml FAC).

Después de 30 minutos de pre-acoplamiento sobre hielo, la suspensión de perlas y membranas se dispensó en una placa de pocillos LV384 de polipropileno Greiner blancos (5µl/pocillo), que contenía 0,1µl del compuesto. Después se añadieron a las placas de agonista 5µl de [ $^{35}$ S]-GTPγS/pocillo (concentración final de radioligandos 0,5nM) preparada en tampón de ensayo. El licor final de ensayo (10,1µl) se centrifugó después a 1000rpm durante 5 minutos y después se leyó inmediatamente en un lector Viewlux.

Todos los compuestos de ensayo se disolvieron en DMSO a una concentración de 10mM y se prepararon en DMSO al 100% usando una etpa de dilución 1 en 4 para proporcionar curvas de respuesta a la dosis con 11 puntos. Las diluciones se transfirieron a las placas de ensauo asegurando que la concentración de DMSO era constante a través de la placa para todos los ensayos.

Todos los datos se normalizaron a la media de diez pocillos control 16 alto y 16 bajo en cada placa. Después se aplicó un ajuste de curva de cuatro parámetros.

Los compuestos ejemplificados de la invención que se ensayaron en este análisis tenían un pEC50 > 5.

#### S1P3

40 Membranas S1 P3 de células leucémicas basofílicas (RBL-2H3) se adhirieron a perlas de ensayo de proximidad por centelleo revestidas con Aglutinina de germen de trigo (0,125mg/pocillo) en tampón de ensayo (HEPES 20mM, MgCl<sub>2</sub> 3mM, NaCl 100mM y el pH se ajustó a 7,4 usando KOH 5M), GDP 10µM FAC y también se añadió saponina 90µg/ml FAC).

45 Después de 30 minutos de pre-acoplamiento sobre hielo, la suspensión de perlas y membranas se dispensó en una placa de pocillos LV384 de polipropileno Greiner blancos (5µl/pocillo), que contenía 0,1µl del compuesto. Después se añadieron a las placas de agonista 5µl de [ $^{35}$ S]-GTPγS/pocillo (concentración final de radioligandos 0,5nM) preparada en tampón de ensayo. El licor final de ensayo (10,1µl) se centrifugó a 1000rpm durante 5 minutos y después se leyó inmediatamente en un lector Viewlux.

50 Todos los compuestos de ensayo se disolvieron en DMSO a una concentración de 10mM y se prepararon en DMSO al 100% usando una etpa de dilución 1 en 4 para proporcionar curvas de respuesta a la dosis con 11 puntos. Las diluciones se transfirieron a las placas de ensauo asegurando que la concentración de DMSO era constante a través de la placa para todos los ensayos.

Todos los datos se normalizaron a la media de diez pocillos control 16 alto y 16 bajo en cada placa. Después se aplicó un ajuste de curva de cuatro parámetros.

Los compuestos ejemplificados ensayados en este análisis tenían un pEC50 < 6, y muchos tenían un pEC50 <5.

### Ensayo en levadura

5 Se generaron células de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) que expresan el receptor de S1P1 humano por integración de una cassette de expresión en el locus cromosómico *ura3* de la cepa de levaduras MMY23. Este casete consistía en una secuencia de ADN que codificaba el receptor de S1P1 humano flanqueada por el promotor de levadura GPD hacia el extremo 5' de S1P1 y una secuencia terminadora de la transcripción de levadura hacia el extremo 3' de S1P1. La cepa MMY23 expresa una subunidad alfa de la proteína G quimérica de levaduras/mamíferos en la que los 5 aminoácidos C-terminales de Gpa1 están reemplazados por los 5 2 aminoácidos C-terminales de Gai1/2 humana (como se describe en Brown et al. (2000), Yeast 16:11-22). Las células se cultivaron a 30°C en medio de levaduras Synthetic Complete (SC) líquido (Guthrie y Fink (1991), Métodos en Enzymology, Vol. 194) que carecía de uracilo, triptófano, adenina y leucina hasta una fase logarítmica tardía (aproximadamente 6 DO<sub>600</sub>/ml).

15 Los agonistas se prepararon como soluciones madre 10 mM en DMSO. Los valores de CE<sub>50</sub> (la concentración requerida para producir 50% de la respuesta máxima) se calcularon usando diluciones 4x (BiomekFX, Beckman) en DMSO. Las soluciones de agonista en DMSO (volumen de ensayo final 1%) se transfirieron a placas de microtitulación de fondo negro transparente de Greiner (384 pocillos). Las células se suspendieron a una densidad de 0,2 DO<sub>600</sub>/ml en medio SC que carecía de histidina, uracilo, triptófano, adenina y leucina y se suplementaron con 3-aminotriazol 0,1 mM, fosfato sódico 0,1M, pH 7,0, y fluoresceína di-β-D-glucopiranosido (FDGlu) 10 μM. Esta mezcla (50 μl por pocillo) se añadió al agonista en las placas de ensayo (Multidrop 384, Labsystems). Después de la incubación a 30°C durante 24 horas, se determinó la fluorescencia resultante de la degradación de FDGlu a fluoresceína debido a la exoglucanasa, una enzima de levaduras endógena producida durante el crecimiento celular estimulado por agonistas, se determinó usando un lector de placas de microtitulación de fluorescencia (Tecan Spectrofluor o LJL Analyst longitud de onda de excitación: 485 nm; longitud de onda de emisión: 535 nm). Se representó la fluorescencia frente a la concentración de compuesto y se ajustó la curva iterativamente usando un ajuste de cuatro parámetros para generar un valor de efecto frente a concentración. La eficacia (E<sub>max</sub>) se calculó a partir de la ecuación

$$E_{\max} = \frac{\text{Max}_{[\text{compound X}]} - \text{Min}_{[\text{compound X}]}}{\text{Max}_{[\text{S1P1}]} - \text{Min}_{[\text{S1P1}]} } \times 100\%$$

30 donde Max<sub>[compuesto X]</sub> y Min<sub>[compuesto X]</sub> son el máximo y mínimo ajustado respectivamente a partir de la curva de concentración frente al efecto para el compuesto X, y Max<sub>[S1P1]</sub> y Min<sub>[S1P1]</sub> son el máximo y el mínimo ajustados respectivamente a partir de la curva de concentración frente al efecto para 1-fosfato de esfingosina (obtenible a partir de Sigma). Los valores de la relación molar equieficaz (EMR) se calcularon a partir de la ecuación

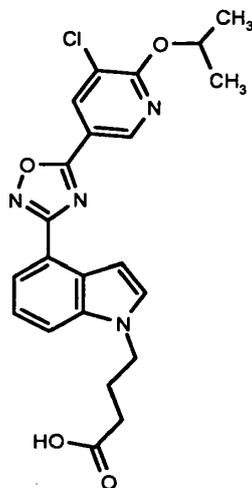
$$\text{EMR} = \frac{\text{EC}_{50} [\text{compound X}]}{\text{EC}_{50} [\text{S1P1}]}$$

donde CE<sub>50 [compuesto X]</sub> es la CE<sub>50</sub> del compuesto X y CE<sub>50 [S1P1]</sub> es la CE<sub>50</sub> de S1P.

35 Cuando se ensayaron, los compuestos ejemplificados de la invención tenían un pEC50 > 4,5 en el ensayo de levaduras.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula:



Ácido 4-[4-(5-(5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico

5 y sus sales farmacéuticamente aceptables.

2. Un compuesto según la reivindicación 1 para uso en el tratamiento de afecciones o trastornos mediados por receptores S1P1, en donde la afección o el trastorno es esclerosis múltiple, enfermedades autoinmunitarias, trastornos inflamatorios crónicos, asma, neuropatías inflamatorias, artritis, trasplantes, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, lupus eritematoso, psoriasis, lesión por isquemia-reperfusión, tumores sólidos, y metástasis tumoral, enfermedades asociadas con angiogénesis, enfermedades vasculares, afecciones dolorosas, enfermedades víricas agudas, afecciones inflamatorias intestinales, diabetes insulín y no-insulín-dependientes.

3. Un compuesto para uso según la reivindicación 2, en donde la afección es esclerosis múltiple.

4. Uso de un compuesto según la reivindicación 1 para fabricar un medicamento para uso en el tratamiento de afecciones o trastornos mediados por receptores S1P1, en donde la afección o el trastorno es esclerosis múltiple, enfermedades autoinmunitarias, trastornos inflamatorios crónicos, asma, neuropatías inflamatorias, artritis, trasplantes, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, lupus eritematoso, psoriasis, lesión por isquemia-reperfusión, tumores sólidos, y metástasis tumoral, enfermedades asociadas con angiogénesis, enfermedades vasculares, afecciones dolorosas, enfermedades víricas agudas, afecciones inflamatorias intestinales, diabetes insulín y no-insulín-dependientes.

5. Uso según la reivindicación 4, donde la afección es esclerosis múltiple.

6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la reivindicación 1.