

(11) Número de Publicação: **PT 2091949 E**

(51) Classificação Internacional:

**C07D 413/04** (2011.01) **C07D 413/14** (2011.01)  
**A61K 31/405** (2011.01) **A61P 37/00** (2011.01)

**(12) FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO**

(22) Data de pedido: **2007.12.19**

(30) Prioridade(s): **2006.12.21 GB 0625647**  
**2007.04.19 GB 0707615**

(43) Data de publicação do pedido: **2009.08.26**

(45) Data e BPI da concessão: **2011.05.18**  
**132/2011**

(73) Titular(es):

**GLAXO GROUP LIMITED**  
**GLAXO WELLCOME HOUSE BERKELEY**  
**AVENUE GREENFORD MIDDLESEX UB6 0NNGB**

(72) Inventor(es):

**MAHMOOD AHMED** SG  
**JAMES MYATT** GB  
**DAVID NORTON** GB  
**DEAN ANDREW RIVERS** SG

(74) Mandatário:

**ALBERTO HERMÍNIO MANIQUE CANELAS**  
**RUA VÍCTOR CORDON, 14 1249-103 LISBOA** PT

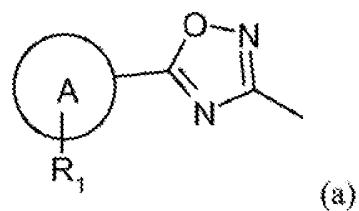
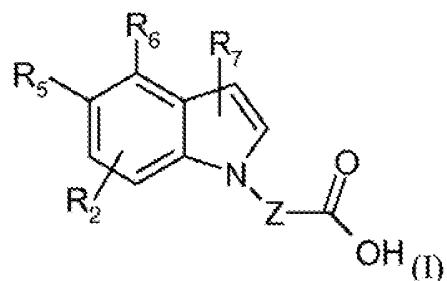
(54) Epígrafe: **DERIVADOS DE INDOLE COMO AGONISTAS DO RECETOR S1P1**

(57) Resumo:

A INVENÇÃO DIZ RESPEITO A COMPOSTOS DE FÓRMULA (I) EM QUE UM DE R5 E R6 É HIDROGÉNIO OU R2 E O OUTRO É (A) PROCESSOS PARA A SUA PREPARAÇÃO, COMPOSIÇÕES FARMACÊUTICAS QUE OS CONTÊM E SEU USO NO TRATAMENTO DE CONDIÇÕES OU DESORDENS QUE SÃO MEDIADAS VIA RECETOR S1P1.

**RESUMO****"DERIVADOS DE INDOLE COMO AGONISTAS DO RECETOR S1P1"**

A invenção diz respeito a compostos de fórmula (I) em que um de R<sub>5</sub> e R<sub>6</sub> é hidrogénio ou R<sub>2</sub> e o outro é (a) processos para a sua preparação, composições farmacêuticas que os contêm e seu uso no tratamento de condições ou desordens que são mediadas via recetor S1P1.



DESCRIÇÃO**"DERIVADOS DE INDOLE COMO AGONISTAS DO RECETOR S1P1"**

A presente invenção diz respeito a novos derivados de oxadiazole tendo atividade farmacológica, processos para a sua preparação, composições farmacêuticas que os contêm e seu uso no tratamento de várias desordens.

Esfingosina-1-fosfato (S1P) é um mediador de lípido bioativo formado pela fosforilação de esfingosina por esfingosina-cinases e é encontrada em níveis altos no sangue. É produzida e segregada por numerosos tipos de células, incluindo as de origem hematopoiética tais como plaquetas e mastócitos (Okamoto *et al.*, *J Biol Chem*, **273(42)** 27104; Sanchez e Hla, *J Cell Biochem*, **92** (2004) 913). Tem uma larga gama de ações biológicas, incluindo regulação da proliferação, diferenciação, motilidade, vascularização e ativação celular de células inflamatórias e plaquetas (Pyne e Pyne, *Biochem J.*, **349** (2000) 385). Cinco subtipos de receptores responsivos a S1P foram descritos, S1P1 (Edg-1), S1P2 (Edg-5), S1P3 (Edg-3), S1P4 (Edg-6) e S1P5 (Edg-8), formando parte da família de receptores do gene de diferenciação endotelial acoplado à proteína G (Chun *et al.*, *Pharmacological Reviews*, **54** (2002) 265, Sanchez e Hla, *J Cellular Biochemistry*, **92** (2004) 913). Estes 5 receptores mostram expressão de mRNA

diferencial, com S1P1-3 sendo largamente expresso, S1P4 expresso em tecidos linfoide e hematopoiético e S1P5 principalmente no cérebro e num grau mais baixo no baço. Eles sinalizam via subconjuntos diferentes de proteínas G para promoverem uma variedade de respostas biológicas (Kluk e Hla, *Biochem et Biophysica Acta*, **1582** (2002) 72, Sanchez e Hla, *J Cellular Biochem*, **92** (2004) 913).

Os papéis propostos para o recetor S1P1 incluem o tráfico de linfócitos, indução/supressão de citocinas e efeitos sobre células endoteliais (Rosen e Goetzl *Nat Rev Immunol.*, **5** (2005) 560). Os agonistas do recetor S1P1 têm sido usados em numerosos modelos de animais autoimunes e de transplantação, incluindo modelos de Encefalomielite Autoimune Experimental (EAE) de EM, para reduzir a severidade da doença induzida (Brinkman *et al.*, *JBC*, **277** (2003) 21453; Fujino *et al.*, *J Pharmacol Exp Ther*, **305** (2003) 70; Webb *et al.*, *J Neuroimmunol*, **153** (2004) 108; Rausch *et al.*, *J Magn Reson Imaging*, **20** (2004) 16). Esta atividade é relatada como sendo mediada pelo efeito de agonistas de S1P1 sobre a circulação de linfócitos através do sistema linfático. O tratamento com agonistas de S1P1 resulta no sequestro de linfócitos no interior de órgãos linfoides secundários tais como nodos de linfa, induzindo uma linfopenia periférica reversível em modelos de animal (Chiba *et al.*, *J Immunology*, **160** (1998) 5037, Forrest *et al.*, *J Pharmacol Exp Ther*, **309** (2004) 758; Sanna *et al.*, *JBC*, **279** (2004) 13839). Os dados publicados sobre agonistas sugerem que o tratamento com composto induz a perda do recetor S1P1 a partir da superfície celular via

internalização (Graler e Goetzl, *FASEB J*, **18** (2004) 551; Matloubian *et al.*, *Nature*, **427** (2004) 355; Jo *et al.*, *Chem Biol*, **12** (2005) 703) e é esta redução do receptor S1P1 sobre células imunes que contribui para a redução do movimento de células T dos nodos de linfa de volta à corrente sanguínea.

A deleção do gene S1P1 é causa de letalidade embriónica. Os experimentos para examinar o papel do receptor S1P1 na migração e tráfico de linfócito têm incluído a transferência de células T deficientes de S1P1 rotuladas para ratos do tipo selvagem irradiados. Estas células mostraram um egresso reduzido a partir de órgãos linfoideos secundários (Matloubian *et al.*, *Nature*, **427** (2004) 355).

A S1P1 foi também atribuído um papel na modulação da junção da célula endotelial (Allende *et al.*, **102** (2003) 3665, Blood Singelton *et al.*, *FASEB J*, **19** (2005) 1646). Com respeito a esta ação endotelial, os agonistas de S1P1 foram relatados como tendo um efeito sobre nodos de linfa isolados que podem estar a contribuir para um papel na modulação de desordens imunes. Agonistas de S1P1 causaram um fecho das "portas" estromáticas endoteliais de seios linfáticos que drenam os nodos de linfa e previnem o egresso de linfócito (Wei *et al.*, *Nat. Immunology*, **6** (2005) 1228).

O composto imunossupressivo FTY720 (JP 11080026-A) foi mostrado a reduzir os linfócitos circulantes em animais e no homem, tem atividade de modulação de doença em modelos de animal de desordens imunes e reduzem as taxas de

remissão em Esclerose Múltipla remitente relapsa (Brinkman *et al.*, *JBS*, **277** (2002) 21453, Mandala *et al.*, *Science*, **296** (2002) 346, Fujino *et al.*, *J Pharmacology and Experimental Therapeutics*, **305** (2003) 45658, Brinkman *et al.*, *American J Transplantation*, **4** (2004) 1019, Webb *et al.*, *J Neuroimmunology*, **153** (2004) 108, Morris *et al.*, *Eur J Immunol*, **35** (2005) 3570, Chiba, *Pharmacology and Therapeutics*, **108** (2005) 308, Kahan *et al.*, *Transplantation*, **76** (2003) 1079, Kappos *et al.*, *New Eng J Medicine*, **335** (2006) 1124). Este composto é um pró-fármaco que é fosforilado *in vivo* por esfingosina-cinases para dar uma molécula que tem atividade agonista nos receptores S1P1, S1P3, S1P4 e S1P5. Estudos clínicos têm demonstrado que o tratamento com FTY720 resulta em bradicardia nas primeiras 24 horas de tratamento (Kappos *et al.*, *New Eng J Medicine*, **335** (2006) 1124). A bradicardia é pensada como sendo devida a agonismo no receptor S1P3, baseada em numerosas células e experimentos em animais. Estes incluem o uso de animais no caute S1P3 que, ao contrários dos ratos de tipo selvagem, não demonstram bradicardia a seguir a administração de FTY720 e ao uso de compostos seletivos de S1P1. (Hale *et al.*, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **14** (2004) 3501, Sanna *et al.*, *JBC*, **279** (2004) 13839, Koyrakh *et al.*, *American J Transplantation*, **5** (2005) 529).

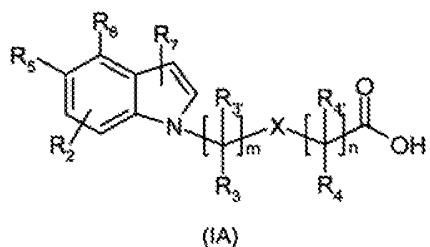
Por isso, existe uma necessidade de compostos agonistas do receptor S1P1 com selectividade relativamente a S1P3 que possam ser esperados a mostrarem uma tendência reduzida para induzir bradicardia.

Os seguintes pedidos de patente descrevem derivados de oxadiazole como agonistas de S1P1: WO 03/105771, WO 05/058848, WO 06/047195, WO 06/100633, WO 06/115188, WO 06/131336, WO 07/024922 e WO 07/116866.

O seguinte pedido de patente descreve derivados de indole-oxadiazole como agentes antipicornavirais: WO 96/009822. Os seguintes pedidos de patente descrevem derivados de ácido indole-carboxílicos como antagonistas do recetor de leucotrieno, pesticidas e fungicidas agroquímicos respetivamente: WO 06/090817, EP 0 439 785 e DE 39 39 238. Os pedidos de patente WO 04/103279 e WO 05/032465 revelam derivados de oxadiazole como agonistas do recetor de S1P

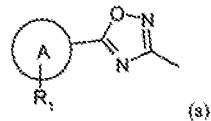
Uma classe de compostos estruturalmente nova foi agora encontrada, a qual proporciona agonistas do recetor S1P1.

A presente invenção por conseguinte proporciona compostos de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável:



em que:

um de R<sub>5</sub> e R<sub>6</sub> é hidrogénio ou R<sub>2</sub> e o outro é (a)



A é um anel fenilo ou um anel heteroarilo de 5 ou 6 membros;

$R_1$  é hidrogénio ou até três substituintes independentemente selecionados de entre halogéneo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, trifluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometilo, ciano, anéis fenilo facultativamente substituído e heteroarilo de 5 ou 6 membros facultativamente substituído;

$R_2$  é hidrogénio ou até três substituintes independentemente selecionados de entre halogéneo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, trifluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometilo e ciano;

$R_3$ ,  $R_{3'}$ ,  $R_4$  e  $R_{4'}$  são cada um independentemente selecionados de entre hidrogénio, halogéneo e metilo;

$R_7$  é hidrogénio ou halogéneo;

X é uma ligação direta;

m é 0-2; e

n é 0-4.

Quando  $R_1$  é fenilo ou um anel heteroarilo de 5 ou 6 membros ele pode ser substituído por até três substituintes selecionados de entre halogéneo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, trifluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometilo e ciano.

Quando X é NH ele pode ser substituído por metilo.

Quando X é CH<sub>2</sub> ele pode ser substituído por fluoro ou metilo.

Numa incorporação da invenção,

A é tiofeno ou fenilo facultativamente substituídos;

R<sub>1</sub> é hidrogénio, halogéneo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> ou trifluorometilo;

R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> e R<sub>4</sub> são cada um hidrogénio;

X é uma ligação direta;

m é 2; e

n é 0.

Numa incorporação da invenção,

A é tiofeno substituído por fenilo;

R<sub>1</sub> é hidrogénio, halogéneo, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, ou trifluorometilo;

R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> e R<sub>4</sub> são cada um hidrogénio;

X é uma ligação direta;

m é 2; e

n é 0.

O termo "alquilo" como um grupo ou parte de um

grupo e.g. alcoxi ou hidroxialquilo refere-se a um grupo alquilo linear ou ramificado em todas as formas isoméricas. O termo "alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>" refere-se a um grupo alquilo, conforme acima definido, contendo pelo menos 1, e no máximo 6 átomos de carbono. Exemplos de tais grupos alquilo incluem metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo ou terc-butilo. Exemplos de tais grupos alcoxi incluem metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, isobutoxi, sec-butoxi e terc-butoxi.

Grupos cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> incluem ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo e ciclo-hexilo.

Grupos cicloalquiloxi C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> adequados incluem ciclopropoxi, ciclobutoxi, ciclopentoxi e ciclo-hexiloxi.

Conforme aqui usado, o termo "halogéneo" refere-se a flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br) ou iodo (I) e o termo "halo" refere-se ao halogeno: fluoro (-F), cloro (-Cl), bromo (-Br) e iodo (-I).

O termo "heteroarilo" representa um anel insaturado que comprehende um ou mais heteroátomos. Quando o termo heteroarilo representa um grupo de 5 membros ele contém um heteroátomo selecionado de entre O, N ou S e pode facultativamente conter ainda 1 a 3 átomos de azoto. Quando heteroarilo representa um grupo de 6 membros, ele contém desde 1 a 3 átomos de azoto. Exemplos de tais anéis heteroarilo de 5 ou 6 membros incluem pirrolilo,

triazolilo, tiadiazolilo, tetrazolilo, imidazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, tiazolilo, isoxazolilo, oxazolilo, oxadiazolilo, furazanilo, furanilo, tienilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridazinilo e triazinilo.

Em certos compostos de fórmula (IA), dependendo da natureza do substituinte existem átomos de carbono quirais e por conseguinte os compostos de fórmula (IA) podem existir como estereoisómeros. A invenção estende-se a todos os isómeros óticos tais como as formas estereoisomericas dos compostos de fórmula (IA) incluindo enantiómeros, diastereoisómeros e suas misturas, tais como racematos. As diferentes formas estereoisomericas podem ser separadas ou resolvidas uma da outra por métodos convencionais ou qualquer isómero dado pode ser obtido por sínteses estereoselectivas ou assimétricas convencionais.

Certos compostos presentes podem existir em várias formas tautoméricas e deve ser entendido que a invenção abrange todas tais formas tautoméricas.

Os compostos da invenção adequados são:

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

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

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

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

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

ou seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

Os derivados farmaceuticamente aceitáveis de compostos de fórmula (IA) incluem qualquer sal, éster ou sal de tal éster farmaceuticamente aceitável de um composto de fórmula (IA) que, na administração ao recipiente é capaz de proporcionar (diretamente ou indiretamente) um composto de fórmula (IA) ou um seu metabólico ativo ou resíduo.

Os compostos de fórmula (IA) podem formar sais. Será evidente que para uso em medicina os sais dos compostos de fórmula (IA) deverão ser farmaceuticamente aceitáveis. Os sais farmaceuticamente aceitáveis adequados serão evidentes para os peritos na técnica e incluem aqueles descritos em *J. Pharm. Sci.*, **66** (1977) 1-19, tais como os sais de adição de ácido formados com ácidos inorgânicos e.g. ácido clorídrico, bromídrico, sulfúrico, nítrico ou fosfórico; e ácidos orgânicos e.g. ácido succínico, maleico, acético, fumárico, cítrico, tartárico, benzóico, *p*-toluenossulfónico, metanossulfónico ou naftalenossulfónico. Certos compostos de fórmula (IA) podem

formar sais de adição de ácido com um ou mais equivalentes do ácido. A presente invenção inclui dentro do seu âmbito e alcance todas as possíveis formas estequiométricas e não estequiométricas. Os sais também podem ser preparados a partir de bases farmaceuticamente aceitáveis incluindo bases inorgânicas e bases orgânicas. Os sais derivados de bases inorgânicas incluem de alumínio, amónio, cálcio, cobre, sais férrico, ferroso, de lítio, magnésio, mangânico, manganoso, de potássio, sódio, zinco e semelhantes. Os sais derivados de bases inorgânicas farmaceuticamente aceitáveis incluem sais de aminas primárias, secundárias e terciárias, aminas substituídas incluindo aminas substituídas de ocorrência natural, e aminas cíclicas. As bases orgânicas farmaceuticamente aceitáveis particulares incluem arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenziletlenodiamina, dietilamina, 2-dietil-aminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilenodiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, procaina, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, tris(hidroximetil)aminometano (TRIS, trometamol) e semelhantes. Os sais também podem ser formados a partir de resinas de permuta iônica básicas, por exemplo resinas de poliamina. Quando o composto da presente invenção é básico, os sais podem ser preparados a partir de ácidos farmaceuticamente aceitáveis, incluindo ácidos

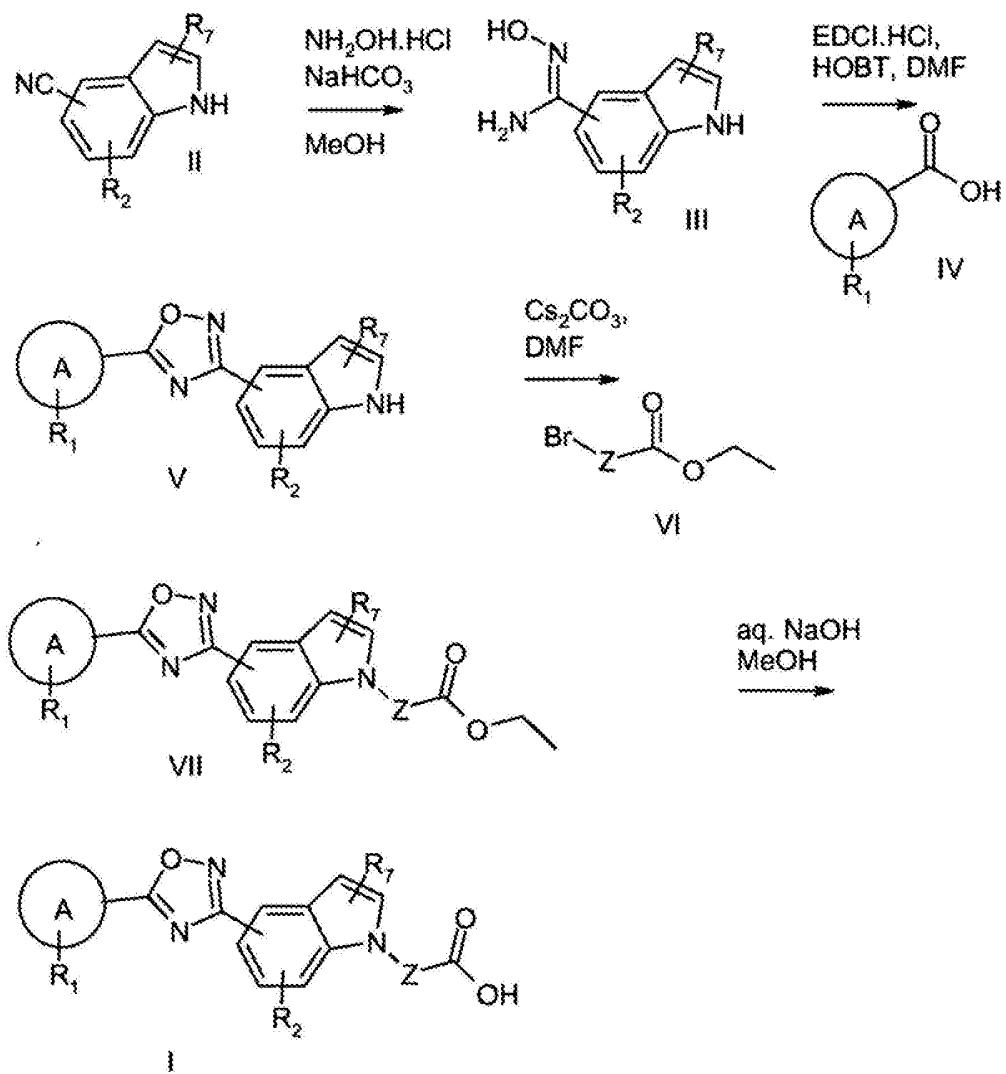
inorgânicos e orgânicos. Tais ácidos incluem ácido acético, benzenossulfônico, benzóico, canforossulfônico, cítrico, etanossulfônico, etanodissulfônico, fumárico, glucónico, glutâmico, bromídrico, clorídrico, isetiónico, lático, maleico, málico, mandélico, metanossulfônico, mágico, pámico, pantoténico, fosfórico, propiónico, succínico, sulfúrico, tartárico, *p*-toluenossulfônico e semelhantes.

Os compostos de fórmula (IA) podem ser preparados em forma cristalina ou não cristalina e, se cristalina, podem facultativamente ser hidratados ou solvatados. Esta invenção inclui dentro do seu âmbito e alcance hidratos ou solvatos estequiométricos bem como compostos contendo quantidades variáveis de água e/ou solvente.

Incluídos dentro do âmbito e alcance da invenção estão todos os sais, solvatos, hidratos, complexos, polimorfos, pró-fármacos, derivados radiomarcados, estereoisómeros e isómeros óticos dos compostos de fórmula (IA).

Num aspeto adicional, esta invenção proporciona processos para a preparação de um composto de fórmula (IA). Num aspeto, o composto de fórmula (IA) pode ser preparado pelo processo do Esquema I onde A, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>7</sub> são conforme definidos para a fórmula (IA) e Z representa X e R<sub>3</sub>, R<sub>3'</sub>, R<sub>4</sub> e R<sub>4'</sub> são conforme definidos na fórmula (IA):

ESQUEMA I



O primeiro passo do processo (II a III) é realizado num solvente adequado, tal como metanol ou etanol e é aquecido até uma temperatura no intervalo 50-80 °C. No segundo passo do processo (III a V) reagentes adequados incluem EDCHCl e HOt em um solvente tal como DMF a uma temperatura entre a temperatura ambiente e 90 °C ou alternativamente PyBOP em DMF. Alternativamente (III) pode ser convertido a (V) por tratamento com o éster carboxílico

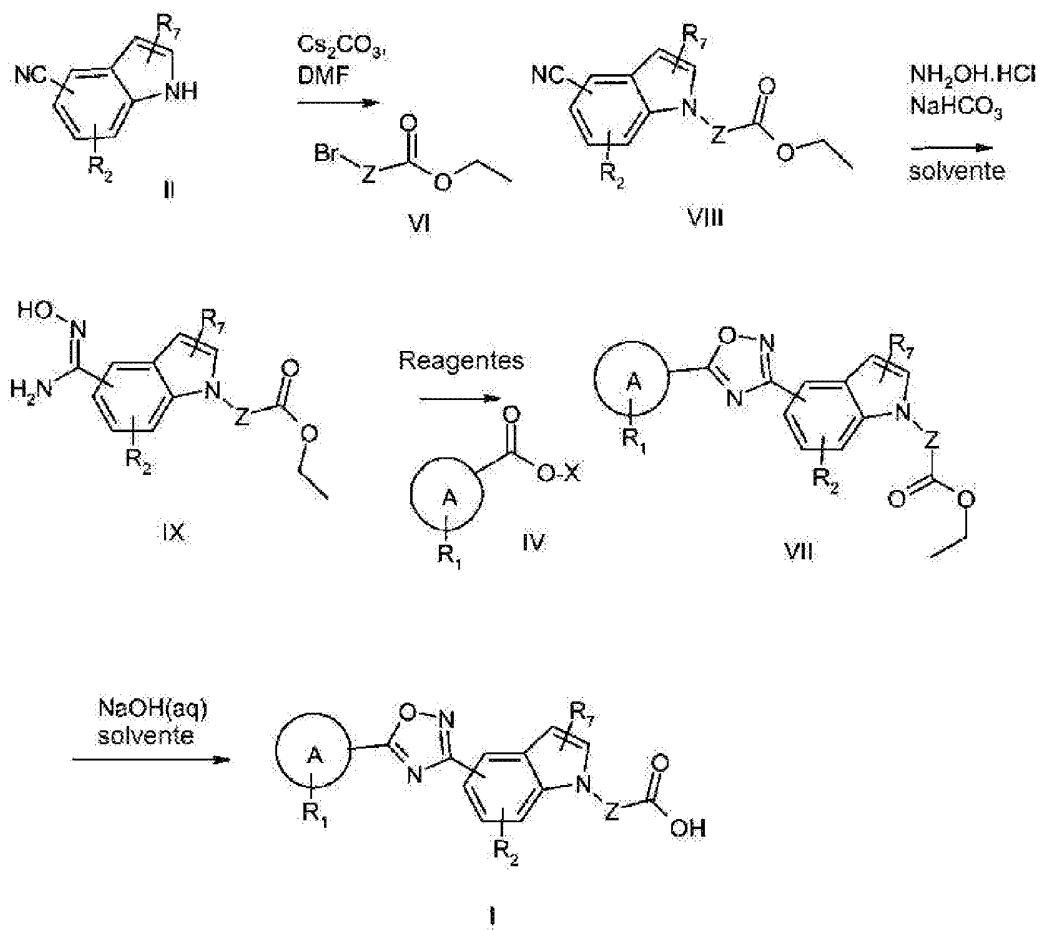
de (IV) e etóxido de sódio em etanol numa reação de micro-ondas a uma temperatura tal como 120 °C. No terceiro passo (V a VII) uma base tal como carbonato de césio ou alternativamente carbonato de potássio é usada e a reação pode ser aquecida quer convencionalmente quer usando um reator de micro-ondas a uma temperatura tal como 140 °C. O quarto passo do processo (VII a I) é realizado num solvente adequado tal como metanol ou alternativamente etanol e pode ser realizado a quer temperatura ambiente quer temperatura elevada tal como 40 ou 50 °C.

Os compostos de fórmula (IV) ou estão comercialmente disponíveis, ou podem ser preparados usando métodos descritos na literatura ou podem ser preparados conforme descrito na secção experimental. Os brometos de fórmula (VI) ou estão comercialmente disponíveis ou estão comercialmente disponíveis, ou podem ser preparados usando métodos descritos na literatura ou usando os métodos revelados.

Num outro aspetto a preparação de um composto de fórmula (IA) pode ser preparado pelo processo no Esquema II onde A, R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>7</sub> são conforme definidos para a fórmula (IA). No primeiro passo a reação (II a VIII) pode ser aquecida a 80 °C. O segundo passo do processo (VIII a IX) é realizado num solvente adequado tal como etanol ou metanol. O terceiro passo deste processo (IX a VII) requer reagentes de acoplamento de amida tais como EDC·HCl e HOBT num solvente tal como DMF a uma temperatura entre a temperatura ambiente e 120 °C. O quarto passo do processo é realizado

num solvente adequado tal como etanol ou metanol. Os compostos de fórmula (IV) ou estão comercialmente disponíveis, ou podem ser preparados usando métodos descritos na literatura ou podem ser preparados conforme descrito na secção experimental. Os brometos de fórmula VI ou estão comercialmente disponíveis, ou podem ser preparados usando métodos descritos na literatura ou pelos métodos revelados.

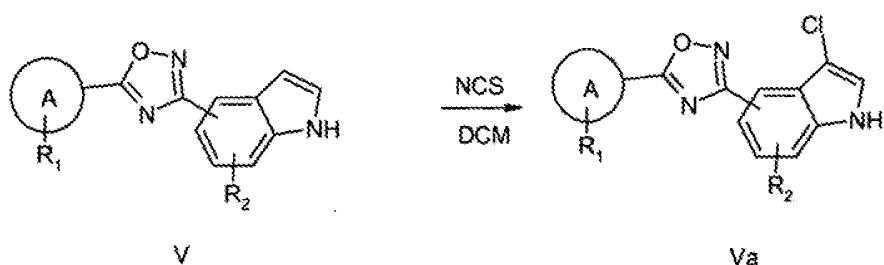
### ESQUEMA II



Nos casos onde o substituinte R<sub>7</sub> na fórmula IA é um átomo de cloro ligado a C-3 do anel indole este pode ser introduzido de várias maneiras. O intermediário (V) no

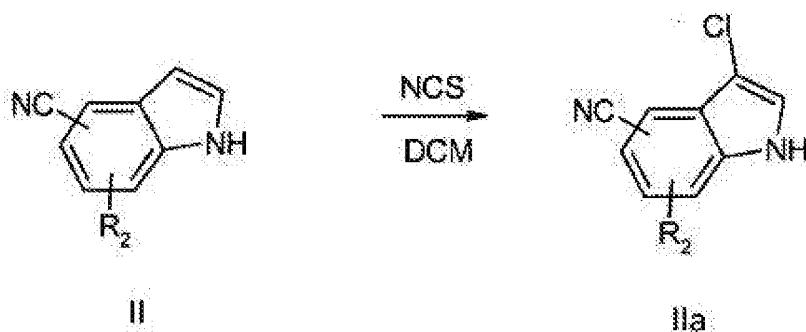
Esquema I onde  $R_7 = H$  e  $R_1, R_2$  e A são conforme definidos na fórmula (I) pode ser tratado com *N*-clorossuccinimida em diclorometano para originar o composto 3-cloro- (Va) o qual pode em seguida ser convertido a (I) conforme descrito no Esquema I (Esquema III).

### ESQUEMA III



Alternativamente, o intermediário (II) onde  $R_7 = H$  pode ser clorado por tratamento com *N*-clorossuccinimida em DMF para originar um 3-cloro-indole (IIa) o qual pode ser convertido a um composto de estrutura (I) conforme descrito no Esquema II (Esquema IV).

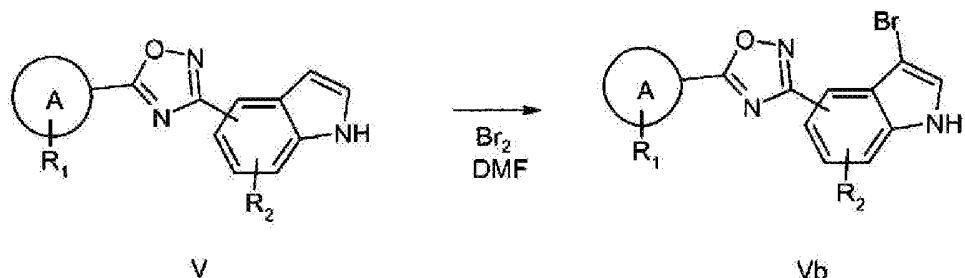
### ESQUEMA IV



Onde  $R_7 = Br$ , o intermediário (V) onde  $R_7 = H$  e A,  $R_1$  e  $R_2$  são conforme definidos na fórmula (I) pode ser

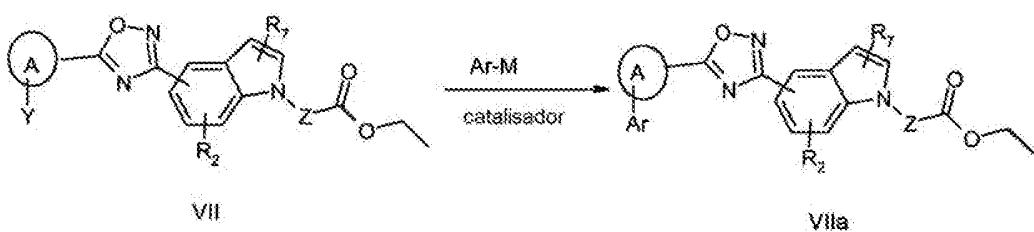
bromado por tratamento com Br<sub>2</sub> em DMF para originar (Vb) onde R<sub>7</sub> = Br (Esquema V).

ESQUEMA V



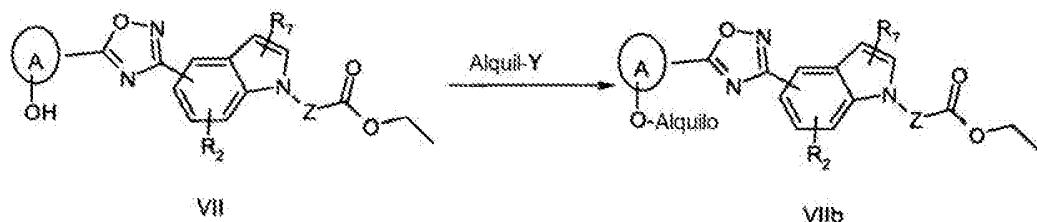
Nos casos onde R<sub>1</sub> é um grupo fenilo, é possível introduzir este grupo por uma reação de acoplamento cruzado num composto de estrutura VII para originar VIIa (Esquema VI) onde A, R<sub>2</sub> e R<sub>7</sub> são conforme definidos na fórmula (IA) e Z representa X e R<sub>3</sub>, R<sub>3'</sub>, R<sub>4</sub> e R<sub>4'</sub> são conforme definidos na fórmula (IA) e Ar é fenilo facultativamente substituído, seguido por hidrólise até ao composto I. Nesta transformação, M é um grupo tal como B(OH)<sub>2</sub> que permite à reação de acoplamento cruzado ocorrer, Y é um grupo tal como bromo, iodo ou trifluorometanossulfonato e o catalisador uma espécie de paládio tal como tetraquis(trifenilfosfina)-paládio (0). Tais reacções são tipicamente realizadas a temperatura elevada.

ESQUEMA VI



Nos casos onde  $R_1$  é um grupo alcoxi tal como O-etilo ou O-isopropilo o substituinte alquilo pode ser introduzido num composto de fórmula VII onde  $R_1 = OH$  e A,  $R_7$  e  $R_2$  são conforme definidos na fórmula (IA) e Z representa X e  $R_3$ ,  $R_3'$ ,  $R_4$  e  $R_4'$  são conforme definidos na fórmula (IA) para originar um composto de fórmula VIIb onde  $R_1 = O\text{-alquilo}$  (Esquema VII). Neste caso Y é um halogéneo tal como iodo. A reação pode ser realizada num solvente polar tal como DMF na presença de uma base tal como carbonato de potássio.

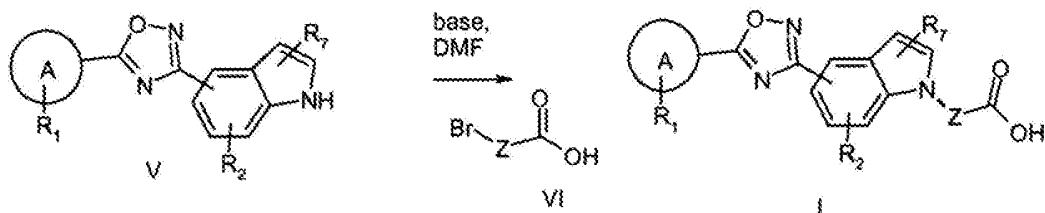
ESQUEMA VII



Em certos casos é possível alquilar o intermediário indole (V) onde  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_7$  e A são conforme definidos na fórmula (IA) diretamente com brometo de alquilo substituído por ácido carboxílico para originar o composto final (IA) sem a necessidade de um passo de hidrólise

(Esquema VIII, onde Z representa X e  $R_3$ ,  $R_3'$ ,  $R_4$  e  $R_4'$  são conforme definidos na fórmula (IA)): Uma base adequada para esta transformação é carbonato de césio.

ESQUEMA VIII



Os sais farmaceuticamente aceitáveis podem ser preparados convencionalmente por reação com o ácido ou derivado de ácido apropriado.

As potências e eficácia dos compostos desta invenção para o recetor S1P1 podem ser determinadas por ensaio GTP $\gamma$ S realizado no recetor clonado humano conforme aqui descrito ou pelo ensaio de ligação de levedura, também aqui descrito. Os compostos de fórmula (IA) têm demonstrado actividade agonista no recetor S1P1, usando os ensaios funcionais aqui descritos.

Os compostos de fórmula (IA) e seus sais farmaceuticamente aceitáveis são por conseguinte úteis no tratamento de condições ou desordens que são mediadas via recetor S1P1. Em particular os compostos de fórmula (IA) e seus sais farmaceuticamente aceitáveis são úteis no tratamento de esclerose múltipla, doenças autoimunes, desordens inflamatórias crónicas, asma, neuropatias inflamatórias, artrite, transplante, doença de Crohn, colite ulcerativa, lúpus eritematoso, psoriase, lesão de isquemia-reperfusão, tumores sólidos e metástase de tumor, doenças associadas com angiogéneses, doenças vasculares,

condições de dor, doenças virais agudas, condições inflamatórias do intestino, diabetes dependente de insulina e não dependente de insulina (daqui em diante referidas como "Desordens da Invenção").

Deve ser compreendido que "tratamento" conforme aqui usado inclui profilaxia bem como alívio dos sintomas estabelecidos.

Por conseguinte, a invenção também proporciona um composto de fórmula (IA) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, para uso como substância terapêutica, em particular no tratamento de condições ou desordens mediadas via recetor S1P1. Em particular, a invenção proporciona compostos de fórmula (IA) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável para uso como substância terapêutica no tratamento de esclerose múltipla, doenças autoimunes, desordens inflamatórias crónicas, asma, neuropatias inflamatórias, artrite, transplante, doença de Crohn, colite ulcerativa, lúpus eritematoso, psoriase, lesão de isquemia-reperfusão, tumores sólidos e metástase de tumor, doenças associadas com angiogéneses, doenças vasculares, condições de dor, doenças virais agudas, condições inflamatórias do intestino, diabetes dependente de insulina e não dependente de insulina. A invenção proporciona ainda um método de tratamento de condições ou desordens em mamíferos incluindo humanos as quais podem ser mediadas via recetor S1P1, o qual compreende a administração ao sofredor de uma quantidade terapeuticamente segura e eficaz de um

composto de fórmula (IA) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável.

Num outro aspecto, a invenção proporciona o uso de compostos de fórmula (IA) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável no fabrico de um medicamento para uso no tratamento das condições ou desordens mediadas via recetor S1P1.

De modo a usar os compostos de fórmula (IA) e seus sais farmaceuticamente aceitáveis em terapia, eles serão normalmente formulados numa composição farmacêutica de acordo com a prática farmacêutica padrão. A presente invenção também proporciona uma composição farmacêutica, a qual compreende um composto de Fórmula (IA), ou um seu sal farmaceuticamente aceitável, e um agente de suporte ou excipiente farmaceuticamente aceitável.

Num outro aspecto, a presente invenção proporciona um processo para a preparação de uma composição farmacêutica, compreendendo o processo a mistura de um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável e um agente de suporte ou excipiente farmaceuticamente aceitável.

Uma composição farmacêutica da invenção, a qual pode ser preparada por mistura por adição, adequadamente à temperatura ambiente e pressão atmosférica, está usualmente adaptada para administração oral, parentérica ou retal e,

como tal, pode estar na forma de comprimidos, cápsulas, preparações líquidas orais, pós, grânulos, pastilhas, pós reconstituíveis, soluções ou suspensões injectáveis ou para infusão ou supositórios. As composições administráveis oralmente são geralmente preferidas.

Os comprimidos e cápsulas para administração oral podem estar em forma de dose unitária e podem conter excipientes convencionais, tais como agentes de ligação (e.g., amido de milho pré-gelatinizado, polivinilpirrolidona ou hidroxipropilmetylcelulose); agentes de enchimento (e.g., lactose, celulose microcristalina ou hidrogenofosfato de cálcio); lubrificantes para fazer comprimidos (e.g., estearato de magnésio, talco ou sílica); desintegrantes (e.g., amido de batata ou glicolato de amido sódico); e agentes molhantes aceitáveis (e.g., sulfato de laurilo e sódio). Os comprimidos podem ser revestidos de acordo com métodos bem conhecidos na prática farmacêutica normal.

As preparações líquidas normais podem estar na forma de, por exemplo, suspensão aquosa ou oleosa, soluções, emulsões, xaropes ou elixires, ou podem estar na forma de um produto seco para reconstituição com água ou outro veículo adequado antes do uso. Tais preparações líquidas podem conter aditivos convencionais tais como agentes de suspensão (e.g., xarope de sorbitol, derivados de celulose ou gorduras edíveis hidrogenadas), agentes de emulsificação (e.g., lecitina ou acácia), veículos não

aquosos (os quais podem incluir óleos edíveis e.g. óleo de amêndoas, ésteres oleosos, álcool etílico ou óleos vegetais fraccionados), conservantes (e.g. *p*-hidroxibenzoatos de metilo ou propilo ou ácido sórbico) e, se desejado, aromatizantes ou corantes convencionais, sais tamponantes e agentes adoçantes conforme apropriado. As preparações para administração oral podem ser adequadamente formuladas para dar uma libertação controlada do composto ativo.

Para administração parentérica, as formas de dosagem unitária fluidas são preparadas utilizando um composto da invenção ou seus sais farmaceuticamente aceitáveis e um veículo estéril. As formulações para injecção podem ser apresentados em forma de dosagem unitária, e.g. em ampolas ou em multi-dose, utilizando um composto da invenção ou seus derivados farmaceuticamente aceitáveis e um veículo estéril, facultativamente com um conservante adicionado. As composições podem tomar formas tais como suspensões, soluções ou emulsões em veículos oleosos ou aquosos, e podem conter agentes de formulação tais como agentes de suspensão, estabilização e/ou dispersão. Alternativamente, o ingrediente ativo pode estar na forma de pó para constituição com um veículo adequado, e.g. água livre de pirogénio estéril, antes do uso. O composto, dependendo do veículo e concentração usados, pode ser ou suspenso ou dissolvido no veículo. Na preparação de soluções, o composto pode ser dissolvido para injecção e esterilizado por filtração antes do enchimento num frasco ou ampola adequados e selagem. Vantajosamente, adjuvantes

tais como um anestésico local, conservantes e agentes de tamponamento são dissolvidos no veículo. Para aumentar a estabilidade, a composição pode ser congelada após enchi-mento no frasco e a água removida sob vácuo. As suspensões parentéricas são preparadas substancialmente da mesma maneira, excepto que o composto é suspenso no veículo em vez de ser dissolvido, e a esterilização não pode ser conseguida por filtração. O composto pode ser esterilizado por exposição a óxido de etileno antes da suspensão num veículo estéril. Vantajosamente, um agente tensioativo ou molhante é incluído na composição para facilitar a distribuição uniforme do composto.

As loções podem ser formuladas com uma base aquosa ou oleosa e em geral conterão também um ou mais agentes de emulsificação, agentes de estabilização, agentes de dispersão, agentes de suspensão, agentes espessantes ou agentes de coloração. Os rebuçados podem ser formulados com uma base aquosa ou não aquosa compreendendo também um ou mais agentes de dispersão, agentes de estabilização, agentes de solubilização ou agentes de suspensão. Eles também podem conter um conservante.

Os compostos de fórmula (IA) ou seus sais farmaceuticamente aceitáveis também podem ser formulados em composições retais tais como supositórios ou clisteres de retenção, e.g. contendo bases para supositório convencio-nais tais como manteiga de cacau ou outros glicéridos.

Os compostos de fórmula (IA) ou seus sais farmaceuticamente aceitáveis também podem ser formulados como preparações para depósito. Tais formulações de longa atuação podem ser administradas por implantação (por exemplo subcutaneamente ou intramuscularmente) ou por injeção intramuscular. Por conseguinte, por exemplo, os compostos da invenção podem ser formulados com materiais poliméricos ou hidrofóbicos adequados (por exemplo na forma de uma emulsão num óleo aceitável) ou resinas de permuta iônica, ou na forma de derivados escassamente solúveis, por exemplo, na forma de um sal escassamente solúvel.

Para administração intranasal, os compostos de fórmula (IA), ou seus sais farmaceuticamente aceitáveis, podem ser formulados na forma de soluções para administração via um dispositivo adequado de dose medida ou unitária ou alternativamente na forma de uma mistura pulverulenta com um agente de suporte adequado para administração usando um dispositivo de entrega adequado. Por conseguinte, os compostos de fórmula (IA) ou seus sais farmaceuticamente aceitáveis podem ser formulados para administração oral, bucal, parentérica, tópica (incluindo oftálmica e nasal), por depósito ou retal ou numa forma adequada para administração por inalação ou insuflação (quer através da boca quer do nariz).

Os compostos de fórmula (IA) ou seus sais farmaceuticamente aceitáveis podem ser formulados para administração tópica na forma de pomadas, cremes, géis,

loções, pessários, aerossóis ou gotas (e.g. gotas para o olho, ouvido ou nariz). As pomadas e cremes podem, por exemplo, ser formuladas com uma base aquosa ou oleosa com a adição de agentes espessantes e/ou de gelificação adequados. As pomadas para administração ao olho podem ser fabricadas de um modo estéril usando componentes esterilizados.

A composição pode conter desde 0,1% a 99% numa base ponderal, preferivelmente desde 10 a 60% numa base ponderal, do material ativo, dependendo do método de administração. A dose do composto usado no tratamento das desordens acima mencionadas variará de uma maneira usual com a severidade das desordens, o peso do paciente e outros factores semelhantes. Contudo, como guia geral as doses unitárias adequadas podem ser de 0,05 a 1000 mg, mais adequadamente de 1,0 a 500 mg ou de 1,0 a 200 mg, e tais doses unitárias podem ser administradas mais do que uma vez num dia, por exemplo duas ou três vezes num dia.

Os compostos de fórmula (IA) ou seus sais farmaceuticamente aceitáveis podem ser usados em preparações de combinação. Por exemplo, os compostos da invenção podem ser usados em combinação com ciclosporina A, metotrexato, esteroides, rapamicina, inibidores de citocina pró-inflamatória, imunomoduladores incluindo produtos biológicos ou outros compostos terapeuticamente ativos.

A presente invenção também inclui compostos

marcados isotopicamente, os quais são idênticos aos descritos nas fórmula (IA) e seguintes, excepto para o facto de que um ou mais átomos são trocados por um átomo tendo uma massa atómica ou número de massa diferente da massa atómica ou número de massa usualmente encontrado na natureza. Exemplos de isótopos que podem ser incorporados nos compostos da invenção incluem isótopos de hidrogénio, carbono, azoto, oxigénio, fósforo, flúor, iodo e cloro, tal como  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{18}\text{F}$ ,  $^{123}\text{I}$  e  $^{125}\text{I}$ .

Os compostos da presente invenção e sais farmaceuticamente aceitáveis dos referidos compostos que contêm os isótopos acima mencionados e/ou outros isótopos de outros átomos estão dentro do âmbito e alcance da presente invenção. Os compostos marcados isotopicamente da presente invenção, por exemplo aqueles nos quais isótopos radioativos tais como  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$  são incorporados, são úteis em ensaios de distribuição de fármaco e/ou substrato no tecido. Isótopos tritiados, isto é  $^3\text{H}$ , e carbono-14, isto é  $^{14}\text{C}$ , são particularmente preferidos pela sua facilidade de preparação e detetabilidade. Os isótopos  $^{11}\text{F}$  e  $^{18}\text{F}$  são particularmente úteis em PET (tomografia de emissão de positrão), e os isótopos  $^{125}\text{I}$  são particularmente úteis em SPECT (tomografia computorizada de emissão de fotão único), todos úteis em imagiologia do cérebro. Além disso, a substituição com isótopos mais pesados tais como deutério, isto é  $^2\text{H}$ , pode produzir certas vantagens terapêuticas resultantes de maior estabilidade metabólica, por exemplo meia-vida *in vivo* aumentada ou necessidades de dosagem reduzidas e, por isso, podem ser preferidos em algumas

circunstâncias. Os compostos de fórmula (IA) e seguintes desta invenção marcados isotopicamente podem geralmente ser preparados realizando os procedimentos revelados nos Esquemas e/ou nos Exemplos abaixo, substituindo um reagente não marcado isotopicamente por um reagente marcado isotopicamente prontamente disponível.

As seguintes Descrições e Exemplos ilustram a preparação de compostos da invenção.

**CONDIÇÕES, HARDWARE E SOFTWARE PARA SISTEMAS LCMS ANALÍTICA****Hardware**

Bomba de Gradiente Agilent 1100  
Auto-amostrador Agilent 1100  
Detetor Agilent 1100 DAD  
Desgaseador Agilent 1100  
Forno Agilent 1100  
Controlador Agilent 1100  
Gestor de Solvente Binário Waters Acquity  
Gestor de Amostra Waters Acquity  
PDA Waters Acquity  
Especrómetro de Massa Waters ZQ  
Sedere Sedex 55, Sedere Sedex 85, Sedere Sedex 75 ou  
Polymer Labs PL-ELS-2100

**Software**

Waters MassLynx versão 4.0 SP2 ou versão 4.1

**Para método de 5 minutos****Coluna**

A coluna usada é a Waters Atlantis, as dimensões da qual são 4,6 mm × 50 mm. O tamanho de partícula da fase estacionária é 3 µm.

**Solventes**

A: Solvente aquoso = água + ácido fórmico 0,05%

B: Solvente orgânico = acetonitrilo + ácido fórmico 0,05%

**Método**

O método genérico usado tem um tempo de jato de 5 minutos.

Tempo/min	% B
0	3
0,1	3
4	97
4,8	97
4,9	3
5,0	3

**Caudal**

O método acima tem uma caudal de 3 mL/min

**Para método de 2 minutos****Software**

Waters MassLynx versão 4.1

**Coluna**

A coluna usada é a Waters Acquity BEH UPLC C18, cujas dimensões são 2,1 mm × 50 mm. O tamanho de partícula da fase estacionária é 1,7 µm.

**Solventes**

A: Solvente aquoso = água + ácido fórmico 0,05%

B: Solvente orgânico = acetonitrilo + ácido fórmico 0,05%

Lavagem Fraca = Metanol:Água 1:1

Lavagem Forte = Água

**Método**

O método genérico usado tem um tempo de jato de 2 minutos.

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

O método acima tem uma caudal de 1 mL/min

O volume de injecção para o método genérico é 0,5 µL

A temperatura da coluna é 40 °

O intervalo de detecção em UV é desde 220 a 330 nm

**CONDIÇÕES PARA SISTEMA AUTOPREP DIRIGIDO A MASSA DE ACESSO ABERTO****(MDAP)****Hardware**

Os instrumentos de Prep Dirigido a Massa de Acesso Aberto consistem do seguinte:

- 1 bomba Waters 600 Gradient
- 1 injetor/coletor Waters 2767
- 1 Waters Reagent Manager
- 1 Espectrómetro de Massa MicroMass ZQ
- 1 coletor de resíduos - Gilson Aspec
- 1 detetor de UV Gilson 115 pós-fração
- 1 Sistema Computador.

**Software**

MicroMass MassLynx v4.0

**Coluna**

A coluna usada é tipicamente uma coluna Supelco LCABZ++ cujas dimensões são 20 mm de diâmetro interno por 100 mm de comprimento. O tamanho de partícula da fase estacionária é 5 µm.

**Solventes**

A: Solvente aquoso = água + ácido fórmico 0,1%

B: Solvente orgânico = MeCN:água 95:5 + ácido fórmico 0,05%

Solvente de caraterização = MeOH:água 80:20 + acetato de amónio 50 mmol

Solvente de lavagem da agulha = MeOH:água:DMSO 80:10:10

**Métodos**

Um de cinco métodos pode ser usado dependendo do tempo de retenção analítico do composto de interesse.

Todos têm um tempo de jato de 15 minutos, o qual compreende um gradiente de 10 minutos seguido por um jorro na coluna de 5 minutos e passo de reequilibração.

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

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

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

MDAP 2,8-4,0 = 30-80% B

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

**Caudal**

Todos os cinco métodos têm uma caudal de 20 mL/min.

**Sistema alternativo:****Hardware**

Módulo de Gradiente Binário Waters 2525

Bomba de Caraterização Waters 515  
Módulo de Controlo de Bomba Waters  
Injetor Coletor Waters 2767  
Gestor Fluídico de Coluna Waters  
Detetor com Arranjo de Fotodíodo Waters 2996  
Espectrómetro de Massa Waters ZQ  
Coletor de fração Gilson 202  
Coletor de resíduo Gilson Aspec

**Software**

Waters MassLynx versão 4 SP2

**Coluna**

As colunas usadas são Waters Atlantis, cujas dimensões são 19 mm × 100 mm (pequena escala) e 30 mm × 100 mm (grande escala). O tamanho de partícula da fase estacionária é 5 mm.

**Solventes**

A: Solvente aquoso = água + ácido fórmico 0,1%

B: Solvente orgânico = Acetonitrilo + ácido fórmico 0,1%

Solvente de caraterização = metanol:água 80:20

Solvente de lavagem da agulha = metanol

**Métodos**

Há cinco métodos usados dependendo do tempo de retenção analítico do composto de interesse. Eles têm um

tempo de jato de 13,5 minutos, o qual compreende um gradiente de 10 minutos seguido por um jorro na coluna de 3,5 minutos e passo de reequilíbrio.

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

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

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

Grande/Pequena Escala 2,9-3,6 = 50-99% B

Grande/Pequena Escala 3,6-5,0 = 80-99% B (em 6 minutos seguido por 7,5 minutes de jorro e reequilíbrio)

### **Caudal**

Todos os métodos acima têm uma caudal de ou 20 mL/min (Pequena Escala) ou 40 mL/min (Grande Escala).

### **Gradientes rasos**

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

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

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

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

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

### **CONDIÇÕES USADAS PARA NMR**

### **Hardware**

Ultraescudo Bruker 400MHz

Autoamostrador Bruker B-ACS60

Consola Bruker Advance 400

Bruker DPX250

Bruker AVANCE 500

Bruker DRX600

**Software**

Interface do utilizador - NMR Kiosk

Software de controlo - XWin NMR versão 3.0

**CROMATOGRAFIA**

A menos que indicado de outra maneira, toda a cromatografia em coluna foi realizada usando colunas de sílica.

**Abreviaturas**

g - grama

mg - miligrama

mL - mililitro

µL - microlitro

MeCN - acetonitrilo

MeOH - metanol

EtOH - etanol

Et<sub>2</sub>O - éter dietílico

EtOAc - acetato de etilo

DCM - diclorometano

DIAD - azodicarboxilato de diisopropilo

DME - 1,2-bis(metiloxi)etano

DMF - *N,N*-dimetilformamida

DMSO - dimetilsulfóxido

EDAC - hidrocloreto de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida

EDC - hidrocloreto de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida

EDCI - hidrocloreto de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida

HOBT/HOBt - hidroxibenzotriazole

IPA - álcool isopropílico

NCS - *N*-clorossuccinimida

PyBOP - hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxitripirrolidinofosfônio

THF - tetra-hidrofurano

dba - dibenzildeno-acetona

RT - temperatura ambiente

°C - graus Celsius

M - molar

H - protão

s - singlet

d - duplet

t - triplet

q - quartet

MHz - mega-hertz

MeOD - metanol deuterado

LCMS - cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa

LC/MS - cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massa

MS - espectrometria de massa

ES - electrospray

MH<sup>+</sup> - ião molecular + H<sup>+</sup>

MDAP - (cromatografia líquida autopreparativa dirigida à massa) («mass directed automated preparative liquid chromatography»)

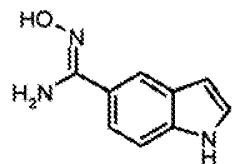
sat° - saturado

### **Secção de química geral**

Os intermediários para a preparação dos exemplos podem não ter sido necessariamente preparados a partir do lote específico descrito.

#### **DESCRIÇÃO PARA D1**

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

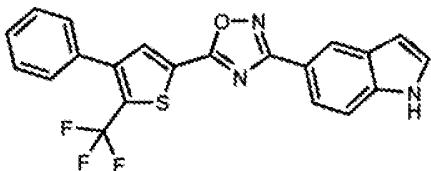


5-Cianoindole (1,00 g), hidroxilamina·HCl (978 mg) e NaHCO<sub>3</sub> (2,95 g) foram dissolvidos/suspensos em MeOH (14 mL), aquecidos até 50 °C e agitados durante a noite. A análise por LCMS mostrou que a reação estava incompleta depois deste tempo, de modo que uma outra porção de hidroxilamina·HCl (978 mg) foi adicionada e a temperatura de reação subiu até 80 °C. A reação ficou completa após 4 horas. A mistura reacional foi arrefecida até à

temperatura ambiente e evaporada até à secura sob pressão reduzida. O resíduo foi tratado com HCl aquoso 1 M (50 mL) e extraído com EtOAc (2 × 50 mL). Isto não resultou para extrair o produto da solução aquosa e por isso foi tratado com NaOH aquoso 2 M para ajustar o pH até aproximadamente 7 e em seguida reextraído com EtOAc (3 × 50 mL). Os extractos orgânicos combinados foram lavados com água salgada (30 mL), secos sobre MgSO<sub>4</sub>, filtrados e evaporados até à secura para dar o composto mencionado em título (1,36 g) na forma de um óleo castanho. δH (MeOD, 400 MHz) 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 requer 175; encontrado 176 (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D2

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

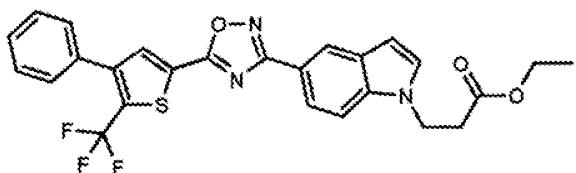


**D1** (174 mg) e 4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tiofenocarboxilato de metilo (286 mg) foram combinados, tratados com etóxido de sódio (21% *m/m* em EtOH, 411 μL) e aquecida a 120 °C num reator de micro-ondas durante 30 minutos. A análise por LCMS mostrou que a reação estava incompleta, por isso o aquecimento por micro-ondas foi continuado durante mais dois períodos de 30 minutos. A

mistura reacional foi em seguida arrefecida até à temperatura ambiente, extinta com H<sub>2</sub>O (2 mL) e evaporada até à secura sob pressão reduzida para dar o produto cru (411 mg) na forma de um sólido castanho. O resíduo cru foi purificado num cartucho 40+S Biotage, eluindo com uma mistura 0 a 50% de Et<sub>2</sub>O em éter de petróleo. Isto deu o composto mencionado em título (122 mg) na forma de um sólido esbranquiçado. δH (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 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, br. s), 8,50 (1H, s). MS (ES): C<sub>21</sub>H<sub>12</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>OS requer 411; encontrado 410 (M-H<sup>+</sup>).

#### DESCRÍÇÃO 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)**

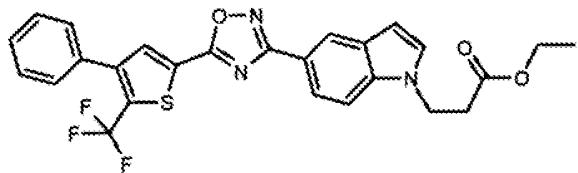


**D2** (100 mg) foi dissolvido em DMF (1,2 mL), tratado com K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (50 mg) em seguida 3-bromopropionato de etilo (90 mg) e aquecida a 130 °C durante a noite. Após este tempo, LCMS mostrou a reação revelou-se incompleta por isso mais 3-bromopropionato de etilo foi adicionado (45 mg) a agitação continuou a 130 °C durante 2 horas. LCMS não mostrou alteração por isso a mistura reacional foi evaporada e em seguida repartida entre DCM e H<sub>2</sub>O. A camada

orgânica foi removida e a solução aquosa extraída com DCM. Os extractos orgânicos combinados foram secos sobre MgSO<sub>4</sub>, filtrados e evaporados para dar o produto cru (148 mg). Este foi purificado sobre um cartucho de sílica (25+S), eluindo com uma mistura de 0 a 25% de EtOAc em éter de petróleo e em seguida outra vez sobre um cartucho 25+M com uma mistura de 0 a 30% de EtOAc em éter de petróleo para dar o composto mencionado em título MF105672-144A3 (38 mg) na forma de um sólido branco. δH (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 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). MS (ES<sup>+</sup>): C<sub>26</sub>H<sub>20</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S requer 511; encontrado 512 (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D3 (PROCEDIMENTO ALTERNATIVO)

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

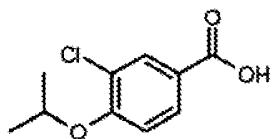


5-{5-[4-Fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indole (**D2**) (600 mg), 3-bromopropanoato de etilo (374 μL), carbonato de césio (950 mg) e DMF foram aquecidos a 140 °C durante 1 hora num reator de micro-ondas. 1 eq adicional de 3-bromopropanoato de etilo (187 μL) foi adicionado e a mistura foi aquecida durante 30

minutos. A mistura reacional foi em seguida evaporada, dissolvida em DCM e filtrada para dar o composto mencionado em título (650 mg) na forma de um sólido castanho.  $\delta\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz): 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):  $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$  requer 511; encontrado 512 ( $\text{MH}^+$ ).

#### DESCRIÇÃO PARA D4

#### Ácido 3-cloro-4-[ (1-metiletílio)oxi]benzóico (D4)

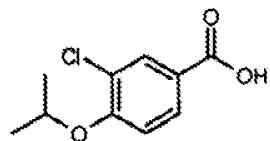


Propan-2-ol (2,45 mL) e  $\text{PPh}_3$  (1,18 g) foram dissolvidos em THF (30 mL), arrefecidos até 0 °C, tratados com 3-cloro-4-hidroxibenzoato de metilo (6,00 g) seguido pela adição gota a gota de DIAD (9,44 mL) e agitados à temperatura ambiente durante a noite. A mistura reacional foi em seguida evaporada e purificada sobre cartuchos de silica (4 × 100 g), eluindo com uma mistura 0 a 40% de EtOAc em pentano para dar o produto cru (7,00 g) na forma de um óleo incolor. Este foi dissolvido em MeOH (30 mL) e NaOH aquoso 2 M (30 mL) e agitado à temperatura ambiente durante um fim-de-semana. A mistura reacional foi em seguida evaporada e redissolvida em  $\text{H}_2\text{O}$ . Esta solução foi lavada com  $\text{Et}_2\text{O}$ , acidificada até pH = 1 e extraída com

$\text{Et}_2\text{O}$ . Estes últimos extractos foram secos sobre  $\text{MgSO}_4$ , filtrados e evaporados para darem o composto mencionado em título (4,16 g) na forma de um sólido branco.  $\delta\text{H}$  ( $\text{MeOD}$ , 400 MHz): 1,37 (6H, d), 4,77 (1H, septeto), 7,12 (1H, d), 7,90 (1H, d), 7,98 (1H, s). MS (ES):  $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{ClO}_3$  requer 214; encontrado 215 ( $\text{MH}^+$ ).

#### Síntese alternativa:

##### Ácido 3-cloro-4-[*(1-metiletílo)oxi*]benzóico (D4)



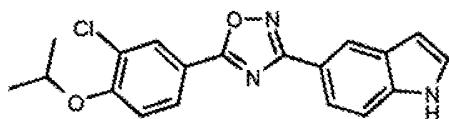
4-Hidroxi-3-clorobenzoato de metilo (13,4 g) foi dissolvido em DMF (150 mL), tratado com  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (19,9 g) seguido por brometo de isopropilo (13,5 mL) e a mistura resultante aquecida a 70 °C e agitada durante a noite. A mistura reacional foi em seguida arrefecida até à temperatura ambiente, evaporada até à secura, redissolvida em  $\text{EtOH}$ , filtrada e evaporada uma vez mais para dar o éster intermediário (22,2 g) na forma de um sólido branco. Este composto era uma mistura de ésteres de etilo e metilo e foi usado cru na reação seguinte.

O intermediário cru (22,2 g) foi dissolvido em  $\text{MeOH}$  (75 mL), tratado com  $\text{NaOH}$  aquoso 2 M (75 mL), aquecido a 60 °C e agitado durante 2 horas. A mistura reacional foi em seguida arrefecida até à temperatura ambiente, o  $\text{MeOH}$

evaporado e a solução aquosa restante acidificada com HCl aquoso 5 M (30 mL). O precipitado foi separado por filtração e seco para dar o composto mencionado em título (15,1 g) na forma de um sólido branco.  $\delta$ H ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz): 1,42 (6H, d), 4,70 (1H, septeto), 6,97 (1H, d), 7,97 (1H, d), 8,12 (1H, s). MS (ES):  $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{ClO}_3$  requer 214; encontrado 213 ( $\text{M}-\text{H}^+$ ).

**Descrição para D5** MF105672-175A2

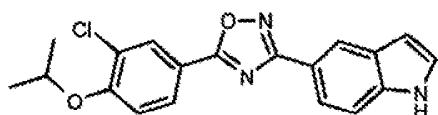
**5-(5-{3-Cloro-4-[ (1-metiletílio)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indole (D5)**



**D1** (500 mg), **D4** (611 mg) e PyBOP (1,66 g) foram dissolvidos em DMF e agitados durante a noite. A mistura reacional foi em seguida evaporada e repartida entre EtOAc e  $\text{H}_2\text{O}$ . A camada orgânica foi lavada com  $\text{H}_2\text{O}$  ( $\times 2$ ) em seguida água salgada, seca sobre  $\text{MgSO}_4$ , filtrada e evaporada para dar o produto cru. Este foi purificado sobre um cartucho de sílica, eluindo com uma mistura 0 a 50% de  $\text{Et}_2\text{O}$  em hexano para dar o composto mencionado em título (120 mg) na forma de um sólido branco.  $\delta$ H ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz): 1,43 (6H, d), 4,69 (1H, septeto), 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, br. s), 8,50 (1H, s). MS (ES):  $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{ClN}_3\text{O}_2$  requer 353; encontrado 354 ( $\text{MH}^+$ ).

**DESCRIÇÃO PARA D5 (PROCEDIMENTO ALTERNATIVO)**

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



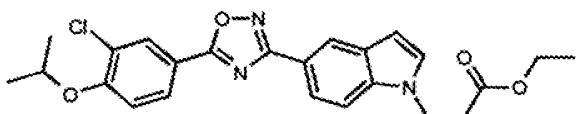
Uma mistura de 5-cianoindo (5,00 g), NH<sub>2</sub>OH-HCl (6,11 g) e NaHCO<sub>3</sub> (14,77 g) em EtOH (176 mL) foi aquecida a 70 °C sob uma atmosfera de Ar durante a noite e em seguida a 80 °C durante 2,5 horas. A mistura reacional foi em seguida filtrada e evaporada para dar um sólido amarelo-laranja (material cru **D1**).

**D4** (7,55 g), HOBT (5,23 g) e EDCI (7,42 g) foram dissolvidos em DMF (88 mL). Esta mistura foi agitada durante 10 minutos e em seguida o sólido amarelo-laranja de cima (6,16 g) dissolvido em DMF (88 mL) foi adicionado. A mistura reacional foi aquecida a 80 °C durante a noite em seguida evaporada e repartida entre EtOAc e H<sub>2</sub>O. As fases foram separadas e a solução aquosa extraída com duas outras porções de EtOAc. as soluções orgânicas combinadas foram secas e evaporadas. Parte do resíduo cru foi purificado sobre um cartucho 40+M Biotage, eluindo com uma mistura 5-30% de EtOAc em hexano. Isto deu o composto mencionado em título (1,45 g) na forma de um sólido esbranquiçado. δH (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 1,45 (6H, d), 4,72 (1H, septeto),

6,66-6,69 (1H, m), 7,06 (1H, d), 7,29 (1H, triploto aparente ou dd), 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<sub>19</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>2</sub> requer 353; encontrado 354 (MH<sup>+</sup>). O resíduo cru restante foi triturado com MeOH frio para dar o composto mencionado em título (3,54 g) na forma de um sólido esbranquiçado. Dados de MS como acima.

#### DESCRIÇÃO 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)**

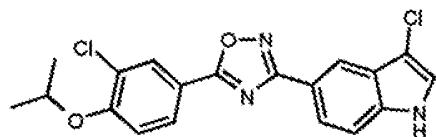


**D5** (100 mg) foi dissolvido em DMF (1,5 mL). A esta solução foi adicionado K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (58 mg) seguido por 3-bromopropionato de etilo (72 µL) e a mistura agitada e aquecida a 100 °C. Após 1 hora apenas 5% da conversão foi observada por LCMS, por isso mais porções de K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (97 mg) e 3-bromopropionato de etilo (72 µL) foram adicionados. Depois de 3 horas, a mistura reacional foi evaporada e em seguida repartida entre DCM e H<sub>2</sub>O. A camada aquosa foi extraída com DCM e em seguida as soluções de DCM combinadas foram lavadas com água salgada, secas sobre MgSO<sub>4</sub>, filtradas e evaporadas para dar o produto cru. Este foi purificado sobre um cartucho de sílica, eluindo com uma mistura 0 a 50% de Et<sub>2</sub>O em éter de petróleo. Isto deu o

composto mencionado em título (40 mg) na forma de um sólido branco.  $\delta\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz): 1,21 (3H, t), 1,45 (6H, d), 2,85 (2H, t), 4,13 (2H, q), 4,51 (2H, t), 4,71 (1H, septeto), 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):  $\text{C}_{24}\text{H}_{24}\text{ClN}_3\text{O}_4$  requer 453; encontrado 454 ( $\text{MH}^+$ ).

#### DESCRIÇÃO PARA D7

**3-Cloro-5-(5-{3-cloro-4-[{(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indole (D7)}**

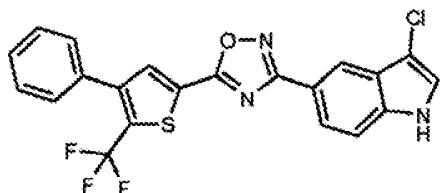


**D5** (300 mg) e NCS (113 mg) foram dissolvidos em DCM (4,2 mL) e agitados durante a noite à temperatura ambiente. A mistura reacional foi em seguida diluída com DCM e lavada com  $\text{H}_2\text{O}$ . A solução aquosa foi extraída com duas outras porções de DCM e as soluções orgânicas combinadas foram evaporadas até à secura. O produto cru foi triturado com metanol para dar o composto mencionado em título (42 mg) na forma de um sólido castanho. O metanol foi em seguida evaporado e o sólido castanho resultante triturado com DCM para dar um segundo lote do composto mencionado em título (205 mg) na forma de um sólido castanho.  $\delta\text{H}$  ( $d_6\text{-DMSO}$ , 400 MHz): 1,37 (6H, d), 4,89 (1H,

septeto), 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):  $C_{19}H_{15}^{35}ClN_3O_2$  requer 387; encontrado 388 ( $MH^+$ ) .

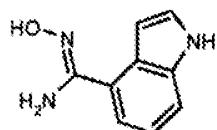
#### DESCRIÇÃO PARA D8

**3-Cloro-5-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1*H*-indole (D8)**



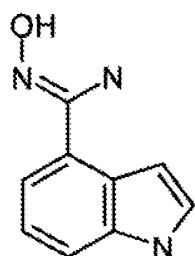
**D2** (200 mg) e NCS (65 mg) foram dissolvidos em DCM (5 mL) e agitados durante a noite à temperatura ambiente. A mistura reacional foi em seguida repartida entre DCM e H<sub>2</sub>O. A solução de DCM foi evaporada até à secura e purificada num cartucho de sílica Biotage, eluindo com uma mistura 25-75% de éter dietílico em hexano. Isto deu o composto mencionado em título (36 mg) na forma de um sólido castanho. Um segundo lote do composto mencionado em título foi também obtido a partir desta purificação (86 mg) na forma de um sólido castanho.  $\delta$ H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 7,28 (1H, m), 7,45-7,54 (6H, m), 7,93 (1H, s), 8,05 (1H, d), 8,28 (1H, br s), 8,49 (1H, s). MS (ES):  $C_{21}H_{11}ClF_3N_3OS$  requer 445; encontrado 444 ( $M-H^+$ ) .

## DESCRIÇÃO 9

**N-Hidroxi-1H-indole-4-carboximidamida (D9)**

4-Cianoindole (850 mg) foi dissolvido em EtoH (25 mL). A esta solução foi adicionado NaHCO<sub>3</sub> (2,51 g) e NH<sub>2</sub>OH-HCl (831 mg). A mistura foi aquecida a 70 °C e agitada durante a noite. A reação estava incompleta e por isso foi aquecida a 80 °C durante mais 4 horas. A mistura reacional foi filtrada e evaporada para dar o composto mencionado em título (980 mg) na forma de um semissólido amarelo. Nenhuma purificação tentada.

## DESCRIÇÃO PARA D9 (PROCEDIMENTO ALTERNATIVO)

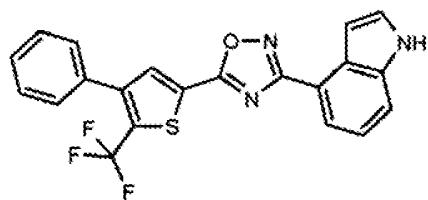
**N-Hidroxi-1H-indole-4-carboximidamida (D9)**

Uma mistura de 4-cianoindole (5,0 g, 35,2 mmol), hidrogenocarbonato de sódio (8,9 g, 105,6 mmol) e

hidrocloreto de hidroxilamina (4,9 g, 70,4 mmol) em etanol (200 mL) foi aquecida a 55 °C durante a noite. Hidrogenocarbonato de sódio (5,9 g, 70 mmol) e hidrocloreto de hidroxilamina (4,9 g, 70,4 mmol) foram adicionados. A mistura foi aquecida durante 4 dias até apenas uma pequena quantidade de material de partida estar presente. Os materiais inorgânicos foram separados por filtração, lavando bem o sólido com etanol e separando por evaporação o solvente. O resíduo foi triturado com éter dietílico para dar 5,8 g de sólido esbranquiçado. δH (400 MHz, metanol-d<sub>4</sub>) 6,76-6,78 (1H, m), 7,12 (1H, t), 7,24 (1H, dd), 7,29-7,33 (1H, m) 7,46 (1H, dd).

#### DESCRIÇÃO PARA D10

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

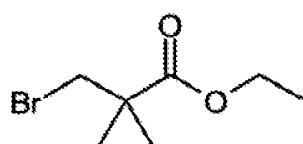


Ácido 4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tiofenocarboxílico (310 mg), HOBT (170 mg) e EDCI·HCl (242 mg) foram dissolvidos em DMF (3 mL) e agitados à temperatura ambiente durante 20 min. **D9** (200 mg) foi dissolvido em DMF (3 mL) e adicionado à solução acima e a agitação continuou à temperatura ambiente durante duas horas. A mistura

reacional foi em seguida aquecida a 90 °C, arrefecida até à temperatura ambiente, repousou durante a noite, foi reaquecida a 80 °C e agitada durante 3 horas, arrefecida até à temperatura ambiente e evaporada até à secura. O resíduo foi redissolvido em H<sub>2</sub>O e extraído com EtOAc (x 3) e os extratos orgânicos combinados evaporados até à secura. O resíduo foi purificado por cromatografia flash sobre sílica, eluindo com uma mistura 25-75% de éter dietílico em hexano para dar o composto mencionado em título (265 mg) na forma de um sólido castanho. Uma amostra deste composto (100 mg) foi purificada por MDAP para dar o composto mencionado em título (62 mg) na forma de um sólido esbranquiçado. δH (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 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, br s). MS (ES): C<sub>21</sub>H<sub>12</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>OS requer 411; encontrado 412 (MH<sup>+</sup>).

#### Descrição para D11

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

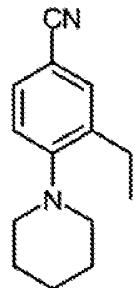


Ácido 3-bromo-2,2-dimetilpropanóico (200 mg) foi dissolvido em EtOH (5 mL) e tratado com H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado (0,4 mL). Esta mistura foi aquecida em refluxo durante a noite e em seguida evaporada. O resíduo foi extraído a partir de H<sub>2</sub>O com EtOAc (x 2) e as soluções orgânicas

combinadas foram secas e evaporadas para darem o composto mencionado em título (316 mg) na forma de um óleo límpido.  $\delta\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz) 1,20 (3H, t), 1,32 (6H, s), 3,51 (2H, s), 4,18 (2H, q).

#### **DESCRIÇÃO PARA D12**

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

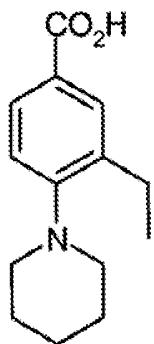


4-Amino-3-etilbenzonitrilo (3,0 g, 20,5 mmol), 1,5-dibromopentano (11,1 mL, 82,1 mmol), carbonato de potássio (5,67 g, 41,0 mmol) e água (39,6 mL) foram todos divididos igualmente entre dez frascos de micro-ondas e cada um aquecido a 160 °C durante 1 h. Todas as misturas reacionais foram combinadas e extraídas duas vezes com acetato de etilo (40 mL) e as frações orgânicas combinadas secas (separador de fase) e concentradas em vácuo. Diclorometano foi adicionado e em seguida a mistura filtrada antes o filtrado foi purificado por cromatografia sobre sílica, eluindo acetato de etilo 2-5% em hexano para dar o composto mencionado em título na forma de um óleo incolor (823 mg, 3,85 mmol). A análise indicou que o

composto continha uma pequena impureza de dibromopentano.  $\delta$ H (metanol-d<sub>4</sub>, 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<sub>14</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub> requer 214; encontrado 215 (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D13

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

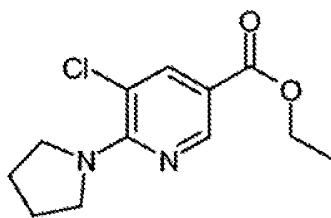


3-Etil-4-(1-piperidinil)benzonitrilo (D12) (817 mg, 3,82 mmol) e hidróxido de potássio (2,14 g, 38,2 mmol) em etanol (35 mL) e água (8 mL) foram aquecidos a 90 °C (temperatura de bloco) durante 9 h. Mais hidróxido de potássio (2,14 g, 38,2 mmol) e água (8 mL) foram adicionados e a reação aquecida durante mais 18 h. A reação foi deixada arrefecer e foi neutralizada com HCl aquoso. Um sólido branco foi recolhido por filtração e foi feita uma tentativa para purificar o filtrado por cartucho SCX, mas isto falhou. Não só o sólido mas também o produto da SCX foram combinados, metanol foi adicionado e em seguida a mistura foi acidificada com ácido acético. A mistura foi

filtrada para se obter o filtrado, o qual foi em seguida aprisionado no cartucho SCX, lavado com metanol e eluído com amónia 2 M em metanol. À escala de teste, isto deu o composto mencionado em título na forma de um sólido branco (96 mg, 0,41 mmol) e no restante material deu um óleo incolor (563 mg, 2,41 mmol).  $\delta_{\text{H}}$  (metanol-d<sub>4</sub>, 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<sub>14</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub> requer 233; encontrado 234 (MH<sup>+</sup>).

#### Descrição para D14

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

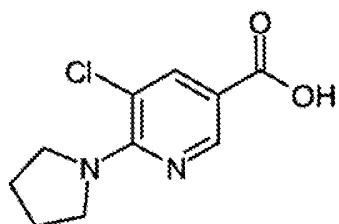


Uma mistura de éster de etilo do ácido 5,6-dicloronicotínico (1,00 g, 4,57 mmol), pirrolidina (325 mg, 4,57 mmol), carbonato de potássio (632 mg, 4,57 mmol) e pó de cobre (34 mg) em DMF (6,8 mL) foi aquecida a 130 °C no micro-ondas durante 20 min. Mais pirrolidina (163 mg, 2,29 mmol) foi adicionada e a reação aquecida a 130 °C durante 20 min. Água (7 mL) foi adicionada e a mistura extraída com acetato de etilo (2 × 14 mL). Os extractos orgânicos combinados foram lavados com água (7 mL) e água

salgada (7 mL) antes de serem secos (separador de fase) e concentrados em vácuo para dar o composto mencionado em título na forma de um óleo laranja (1,06 g, 4,17 mmol).  $\delta\text{H}$  (metanol-d<sub>4</sub>, 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<sub>12</sub>H<sub>15</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub> requer 254, 256; encontrado 255, 257 (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D15

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

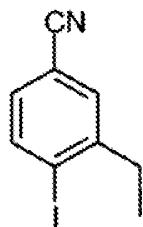


5-Cloro-6-(1-pirrolidinil)-3-piridinocarboxilato de etilo (**D14**) (1,06 g, 4,16 mmol) em etanol (20 mL) e hidróxido de sódio aquoso (2 M, 2,08 mL, 4,16 mmol) foram aquecidos a 40 °C durante 18 h. A mistura reacional foi deixada arrefecer e foi neutralizada com HCl 2 M (aq). O composto mencionado em título formou-se na forma de um sólido branco e foi separado por filtração e lavado com metanol para dar o composto mencionado em título (243 mg, 1,08 mmol) SJ108923-113A3. O filtrado foi aprisionado numa coluna de SCX, eluindo com amónia 2 M em metanol para dar mais composto mencionado em título na forma de um sólido

laranja (467 mg, 2,07 mmol).  $\delta\text{H}$  (metanol-d<sub>4</sub>, 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<sub>10</sub>H<sub>11</sub>ClN<sub>2</sub>O<sub>2</sub> requer 226, 228; encontrado 227, 229 (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D16

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

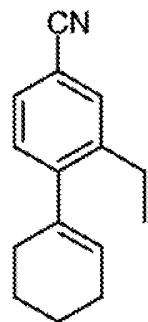


A 4-amino-3-etilbenzonitrilo (2,50 g, 17,1 mmol) agitado em água (14 mL) a 0 °C foi adicionado ácido clorídrico concentrado (7,80 mL, 257 mmol) gota a gota seguido por uma solução de nitrito de sódio (1,24 g, 18,0 mmol) em água (3,43 mL) gota a gota. A mistura resultante foi agitada durante 15 minutos e em seguida adicionada ao longo de 15 minutos a uma solução de iodeto de potássio (2,98 g, 18,0 mmol) em água (6,0 mL) a 0 °C. A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante 2 h. A mistura foi extraída com acetato de etilo (3 × 100 mL) e as frações orgânicas combinadas lavadas com água salgada (100 mL), secas (separador de fase) e concentradas em vácuo para dar o composto mencionado em título na forma de um sólido castanho (4,21 g, 16,4 mmol).  $\delta\text{H}$  (metanol-d<sub>4</sub>, 400 MHz): 8,02 (1H, d), 7,61 (1H, d), 7,24 (1H, dd), 2,80

(2H, q), 1,21 (3H, t). MS (ES): Nenhum ião mássico observado.

#### DESCRIÇÃO PARA D17

#### 4-(1-Ciclo-hexen-1-il)-3-etilbenzonitrilo (D17)

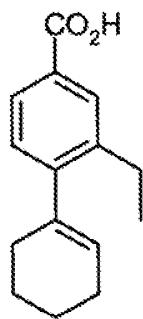


Uma mistura de 3-etil-4-iodobenzonitrilo (**D16**) (1,23 g, 4,80 mmol), ácido 1-ciclo-hexen-1-ilborónico (907 mg, 7,20 mmol), metóxido de sódio (778 mg, 14,4 mmol) e cloreto de bis(trifenilfosfina)paládio (II) (337 mg, 0,48 mmol) em metanol anidro (12 mL) foi aquecida a 80 °C durante 10 minutos no micro-ondas. A mistura reacional foi repartida entre acetato de etilo (40 mL) e água (40 mL) antes da camada orgânica ser ainda lavada com água (40 mL), seca (separador de fase) e concentrada em vácuo. O material cru foi purificado por cromatografia sobre sílica, eluindo com EtOAc 0-5% em hexano ao longo de 30 minutos para dar o composto mencionado em título na forma de um óleo (824 mg, 3,91 mmol).  $\delta$ H (metanol-d<sub>4</sub>, 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): Nenhum ião mássico observado.

#### DESCRIÇÃO PARA D18

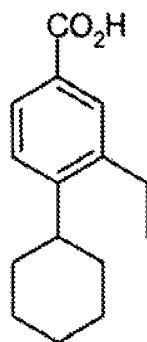
#### Ácido 4-(1-ciclo-hexen-1-il)-3-etilbenzóico (D18)



#### 4-(1-Ciclo-hexen-1-il)-3-etilbenzonitrilo (D17)

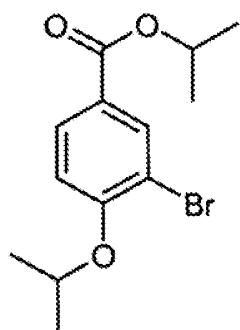
(824 mg, 3,91 mmol) e hidróxido de potássio (2,19 g, 39,1 mmol) em etanol (36 mL) e água (8 mL) foram aquecidos a 90 °C (temperatura de bloco) durante 20 h. A mistura reacional foi concentrada em vácuo e o resíduo repartido entre acetato de etilo (120 mL) e ácido clorídrico aquoso (2 M, 50 mL) antes da fase orgânica foi lavada com mais ácido clorídrico (2 M, 50 mL), seca (separador de fase) e concentrada em vácuo para dar o composto mencionado em título na forma de um óleo (808 mg, 3,51 mmol).  $\delta$ H (metanol-d<sub>4</sub>), 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<sub>15</sub>H<sub>18</sub>O<sub>2</sub> requer 230; encontrado 229 (M-H<sup>+</sup>).

## DESCRIÇÃO PARA D19

**Ácido 4-ciclo-hexil-3-etilbenzóico (D19)****Ácido 4-(1-ciclo-hexen-1-il)-3-etilbenzóico (D18)**

(803 mg, 3,49 mmol) foi dissolvido em metanol (70 mL) e hidrogenado num H-Cube usando um cartucho de paládio sobre carbono. A solução produto foi concentrada em vácuo para dar o composto mencionado em título na forma de um sólido branco (792 mg, 3,41 mmol).  $\delta$ H (metanol-d<sub>4</sub>, 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): nenhum ião mássico observado.

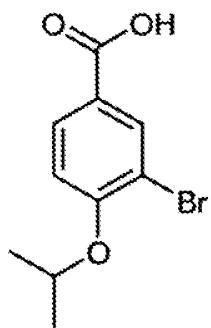
## DESCRIÇÃO PARA D20

**3-Bromo-4-[ (1-metiletíl)oxi]benzoato de metiletílo (D20)**

Uma mistura de ácido 3-bromo-4-hidroxibenzóico (2,00 g, 9,22 mmol), 2-iodopropano (1,85 mL, 18,4 mmol) e carbonato de potássio (2,55 g, 18,4 mmol) em DMF (175 mL) foi aquecida em refluxo durante 5 h. A reação foi deixada arrefecer e foi filtrada. O filtrado foi concentrado em vácuo e o resíduo repartido entre acetato de etilo (150 mL) e água (150 mL), que foi basificada com NaOH 2M. A fase orgânica foi seca (separador de fase) e concentrada em vácuo para dar o composto mencionado em título na forma de um óleo (2,36 g, 7,84 mmol).  $\delta$ H (metanol-d<sub>4</sub>, 400 MHz): 8,05 (1H, d), 7,90 (1H, dd), 7,25 (1H, d), 5,10 (1H, septeto), 4,81 (1H, septeto), 1,32 (6H, d), 1,31 (6H, d) ppm. MS (ES): nenhum ião mássico observado.

#### DESCRIÇÃO PARA D21

#### Ácido 3-bromo-4-[(1-metiletíl)oxi]benzóico (D21)

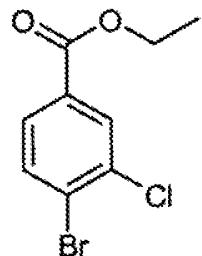


Uma solução de 3-bromo-4-[(1-metiletíl)oxi]-benzoato de 1-metiletílo (D20) (2,36 g, 7,84 mmol) em etanol (100 mL) e hidróxido de sódio aquoso (2 M, 39 mL)

foi aquecida em refluxo durante 5 h. A mistura reacional foi concentrada em vácuo e repartida entre acetato de etilo (125 mL) e água (125 mL), a última acidificada com HCl 2 M (40 mL). A camada aquosa foi extraída com mais acetato de etilo (70 mL) e os extractos orgânicos combinados secos (separador de fase) e concentrados em vácuo para darem o composto mencionado em título na forma de um sólido esbranquiçado (1,83 g, 7,06 mmol).  $\delta$ H (metanol-d<sub>4</sub>, 400 MHz): 8,05 (1H, d), 7,89 (1H, dd), 7,23 (1H, d), 4,79 (1H, septeto), 1,32 (6H, d). MS (ES): C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>BrO<sub>3</sub> requer 258, 260; encontrado 257, 259 (M-H<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D22

##### 4-Bromo-3-clorobenzoato de etilo (D22)

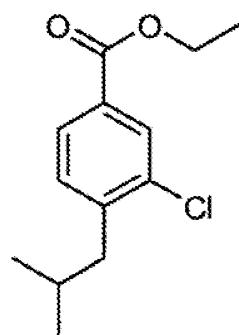


A uma suspensão de ácido 4-bromo-3-clorobenzóico (5,00 g, 21,2 mmol) em etanol (50 mL) foi adicionado ácido sulfúrico (5 mL) e a mistura resultante aquecida em refluxo durante 60 h. A reação foi repartida entre acetato de etilo (50 mL) e água (50 mL). A camada aquosa foi extraída com mais acetato de etilo e as frações orgânicas combinadas secas (separador de fase) e concentradas em vácuo para dar

o composto mencionado em título na forma de um óleo/sólido castanho (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): nenhum ião mássico observado.

#### DESCRIÇÃO PARA D23

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

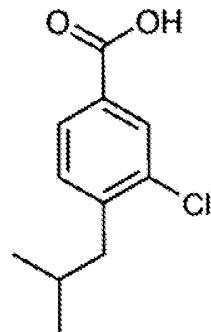


Uma solução de brometo de isobutilzincio em THF (0,5 M, 30 mL, 15,0 mmol) foi adicionada sob argon a 4-bromo-3-clorobenzoato de etilo (**D22**) (2,00 g, 7,60 mmol) e em seguida complexo dicloreto de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno-paládio (II)/diclorometano (930 mg, 1,14 mmol) foi adicionado. A reação foi aquecida em refluxo durante 4,5 h. A mistura foi concentrada em vácuo e o resíduo repartido entre acetato de etilo (125 mL) e água (125 mL). Formou-se um sólido, o qual foi separado por filtração e desprezado. A camada orgânica foi lavada com água (100 mL), seca (separador de fase) e concentrada em vácuo. O produto cru foi purificado por cromatografia sobre sílica, eluindo com EtOAc 0-5% em hexano ao longo de 30 minutos para dar o

composto mencionado em título na forma de um óleo incolor (1,76 g, 7,33 mmol).  $\delta\text{H}$  ( $d_6$ -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): nenhum ião mássico observado.

#### DESCRIÇÃO PARA D24

#### Ácido 3-cloro-4-(2-metilpropil)benzóico (D24)

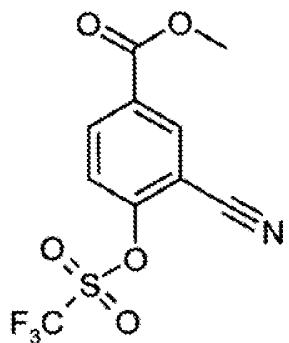


Uma solução de 3-cloro-4-(2-metilpropil)benzoato de etilo (**D23**) (1,76 g, 7,33 mmol), e hidróxido de sódio aquoso (2 M, 3,70 mL, 7,4 mmol) em etanol (30 mL) foi aquecida a 40 °C durante 3 h. A mistura reacional foi concentrada em vácuo e o resíduo repartido entre acetato de etilo (100 mL) e água (100 mL), a última acidificada com HCl 2 M (4 mL). A camada aquosa foi extraída com acetato de etilo (100 mL) e os extractos orgânicos combinados secos (separador de fase) e concentrados em vácuo para dar o composto mencionado em título na forma de um sólido branco (1,35 g, 6,36 mmol).  $\delta\text{H}$  ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz): 13,20 (1H, br

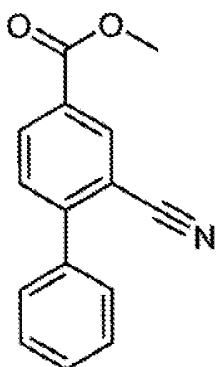
s), 7,89 (1H, d), 7,82 (1H, dd), 7,44 (1H, d), 2,64 (2H, d), 1,94 (1H, m), 0,89 (6H, d). MS (ES):  $C_{11}H_{13}^{35}ClO_2$  requer 212; encontrado 211 ( $M-H^+$ ).

#### DESCRIÇÃO PARA D25

#### 3-Ciano-4-{{[(trifluorometil)sulfonil]oxi}benzoato de metilo (D25)}



A uma solução de 3-ciano-4-hidroxibenzoato de metilo (3 g, 16,93 mmol) e trietilamina (3,54 mL, 25,4 mmol) em diclorometano seco (60 mL) a 0 °C sob um fluxo de argon foi adicionado anidrido trifluorometanossulfônico (3,15 mL, 18,63 mmol) lentamentegota a gota. A reação foi deixada aquecer até à temperatura ambiente e agitada durante 1 h. A mistura reacional foi lavada com carbonato de potássio aquoso 10% (2 × 50 mL) e em seguida HCl aquoso (2 M, 2 × 50 mL) antes da fase orgânica ser seca (separador de fase) e o solvente removido em vácuo para dar o composto mencionado em título na forma de um óleo castanho escuro, (5,165 g, 16,70 mmol).  $\delta H$  ( $CDCl_3$ , 400 MHz): 8,44 (1H, d), 8,38 (1H, dd), 7,60 (1H, d), 3,99 (3H, s). MS (ES): nenhum ião mássico observado.

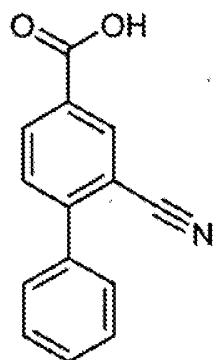
**DESCRIÇÃO PARA D26****2-Ciano-4-bifenilcarboxilato de metilo (D26)**

A reação seguinte foi dividida em dois lotes com metade das quantidades: 3-ciano-4-{{(trifluorometil)sulfonyl}oxi}benzoato de metilo (**D25**) (1,5 g, 4,85 mmol), ácido fenilborónico (1,183 g, 9,70 mmol), carbonato de potássio (2,011 g, 14,55 mmol) e tetraquistrifenilfosfinapaládio (0) (0,561 g, 0,485 mmol) foram recebidos em DMF (24 mL) e a mistura aquecida no micro-ondas durante 30 min a 150 °C. As duas reações foram combinadas e diluídas com acetato de etilo (50 mL) e a mistura filtrada através de Kieselguhr para remover resíduos de paládio. O filtrado foi concentrado em vácuo para reduzir a quantidade de DMF e em seguida o resíduo foi repartido entre bicarbonato de sódio aquoso saturado (50 mL) e acetato de etilo (50 mL). A fase orgânica foi lavada com mais bicarbonato de sódio (50 mL) e em seguida água (50 mL) antes de ter sido seca ( $MgSO_4$ ), filtrada e o solvente removido em vácuo. O sólido castanho foi purificado por cromatografia sobre sílica, eluindo com

EtOAc 0-25% em iso-hexano ao longo de 35 minutos para dar o composto mencionado em título na forma de um sólido branco (935 mg, 3,94 mmol).  $\delta\text{H}$  ( $d_6$ -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): nenhum ião mássico observado.

#### DESCRIÇÃO PARA D27

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

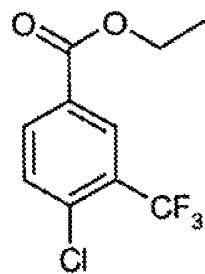


A 2-ciano-4-bifenilcarboxilato de metilo (D26) (935 mg, 3,94 mmol) foi adicionado etanol (18 mL) mas a dissolução não ocorreu e por isso foi adicionado diclorometano (10 mL). Hidróxido de sódio (2 mL, 4,00 mmol) foi em seguida adicionado e a reação agitada durante 2 h. À mistura foi adicionado diclorometano (20 mL) e HCl 2 M aquoso (10 mL). As camadas foram separadas e a aquosa extraída com mais diclorometano (20 mL). A fase orgânica combinada foi seca (separador de fase) e o solvente removido em vácuo para dar um sólido branco, o qual foi dissolvido em metanol (30 mL) e foi adicionado hidróxido de

sódio aquoso (2 M, 3 mL). A reação foi agitada à temperatura ambiente durante 1 h antes da adição de água (20 mL). A reação foi agitada durante mais 1 h. Diclorometano (60 mL) foi adicionado e a mistura agitada e as camadas separadas. A fase aquosa foi extraída com mais diclorometano (50 mL) antes da fase orgânica combinada ter sido seca (separador de fase) e o solvente removido em vácuo para dar o composto mencionado em título na forma de um sólido branco (849 mg, 3,80 mmol).  $\delta$ H ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz): 13,60 (1H, br s), 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> requer 223; encontrado 222 (M-H<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D28

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

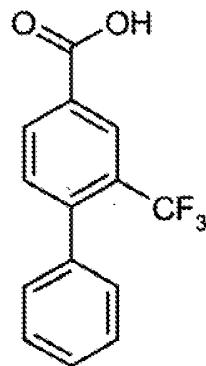


Ácido 4-cloro-3-(trifluorometil)benzóico (1 g, 4,45 mmol) foi dissolvido em etanol (3 mL) e ácido sulfúrico concentrado (0,15 mL) foi adicionado. A mistura foi aquecida no micro-ondas a 100 °C durante 5 minutos e em seguida a 120 °C durante 15 minutos. O solvente foi removido em vácuo e o resíduo repartido entre bicarbonato

de sódio aq° saturado (50 mL) e acetato de etilo (50 mL). A camada aquosa foi extraída com mais EtOAc (50 mL) e as fases orgânicas foram combinadas, secas com a separador de fase e concentradas em vácuo para dar o composto mencionado em título (1,026 g) (DN108121-148A3) na forma de um óleo incolor.  $\delta$ 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) nenhum ião mássico observado.

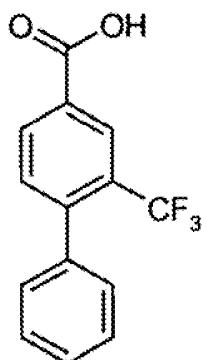
#### DESCRIÇÃO PARA D29

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



A reação foi dividida em 4, usando um quarto dos reagentes em cada uma: a uma mistura de 4-bromo-3-(trifluorometil)benzonitrilo (4 g, 16,00 mmol), ácido fenilborónico (3,90 g, 32,0 mmol) e carbonato de potássio (6,63 g, 48,0 mmol) em N,N-dimetilformamida (DMF) (64 mL) foi adicionado tetraquistrifenilfosfinapaládio (0) (1,849 g, 1,600 mmol). Cada reação foi aquecida no micro-ondas a 150 °C durante 30 min. As misturas reacionais combinadas foram filtradas através de Celite, lavadas com acetato de etilo e o solvente removido em vácuo. O resíduo foi

repartido entre acetato de etilo (100 mL) e água (100 mL) e a fase orgânica lavada com solução de bicarbonato de sódio (100 mL). A fase orgânica foi seca ( $\text{MgSO}_4$ ), filtrada e o solvente removido em vácuo. O óleo castanho foi triturado com diclorometano e filtrado para dar um sólido amarelo pálido, 2-(trifluorometil)-4-bifenilcarboxamida (2,47 g), o qual foi usado sem outra purificação. A 2-(trifluorometil)-4-difenilcarboxamida (2 g, 7,54 mmol) em etanol (80 mL) foi adicionado hidróxido de potássio (4,23 g, 75 mmol) e água e a mistura aquecida a 90 °C durante 18 h. A mistura reacional foi concentrada em vácuo e o resíduo repartido entre diclorometano (100 mL) e HCl 2 M (100 mL). A fase orgânica foi isolada e seca (separador de fase) e o solvente removido em vácuo para dar o produto cru. A purificação usando o Biotage Horizon, cartucho de inversão de fases, eluindo com MeCN 5-100% em água para dar um sólido esbranquiçado o composto mencionado em título (960 mg) (N2123-46-A5). MS (ES):  $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{F}_3\text{O}_2$  requer 266; encontrado 265 ( $\text{M}-\text{H}^+$ ).

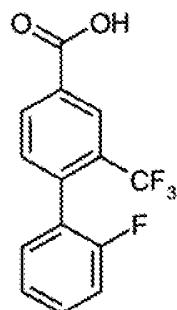
**DESCRIÇÃO PARA D29 (PROCEDIMENTO ALTERNATIVO)****Ácido 2-(trifluorometil)-4-bifenilcarboxílico (D29)**

Lote A: Uma mistura de **D98** (1,0 g, 3,96 mmol), ácido fenilborónico (724 mg, 5,94 mmol), acetato de paládio (44 mg), (diciclo-hexilfosfino)bifenilo (140,2 mg) e fluoreto de potássio (689 mg, 11,9 mmol) em THF (8 mL) foi aquecida no micro-ondas a 120 °C durante um total de 40 minutos.

Lote B: Uma mistura de **D28** (500 mg, 1,98 mmol), ácido fenilborónico (290 mg, 2,38 mmol), acetato de paládio (2,2 mg), (diciclo-hexilfosfino)bifenilo (7 mg) e fluoreto de potássio (344 mg, 5,8 mmol) em THF (4 mL) foi aquecida no micro-ondas a 120 °C durante 20 minutos. As misturas reacionais dos lotes A e B foram combinadas, filtradas e o filtrado concentrado em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia flash (0 a 5% de EtOAc em hexano para dar a mistura de material de partida e produto acoplado. Este material foi dissolvido em etanol (10 mL) e NaOH 2 M (aq) (5 mL) e em seguida aquecido em refluxo durante 3 h. O solvente foi removido em vácuo e o resíduo repartido entre DCM e HCl aq 2 M. A fase aquosa foi extraída com mais DCM. As fases orgânicas foram combinadas e concentradas em vácuo. O material cru foi purificado por cromatografia de inversão de fases no Horizon eluindo com 5 a 100% de MeCN em água para produzir o composto mencionado em título na forma de um sólido branco (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, br s). MS (ES):  $C_{14}H_9F_3O_2$  requer 266; encontrado 265 ( $M-H^+$ ).

## DESCRIÇÃO PARA D30

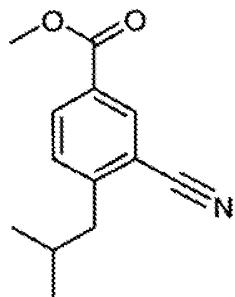
**Ácido 2'-fluoro-2-(trifluorometil)-4-bifenilcarboxílico  
(D30)**



Este material foi preparado usando um método semelhante ao descrito para **D29** usando ácido (2-fluorofenil)borónico e **D98** exceto que apenas uma única reação de acoplamento foi realizada, semelhante ao lote A e a reação de acoplamento foi aquecida durante 20 minutos. MS (ES): C<sub>14</sub>H<sub>8</sub>F<sub>4</sub>O<sub>2</sub> requer 284; encontrado 283 (M-H<sup>+</sup>) .

## DESCRIÇÃO PARA D31

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

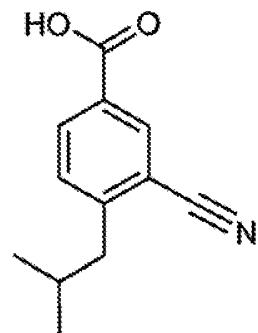


A 3-ciano-4-{[(trifluorometil)sulfonil]oxi}benzo-

ato de metilo (**D25**) (1,5 g, 4,85 mmol) foi adicionado bromo(2-metilpropil)zinco (48,5 mL, 24,25 mmol) em tetra-hidrofuranô (50 mL) sob árgon. À solução foi em seguida adicionado complexo 1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocenodicloro-paládio (II)/diclorometano (0,355 g, 0,485 mmol) e a reação aquecida em refluxo durante 6 h. A mistura foi extinta com água (2 mL) e em seguida filtrada através de Celite, lavando com acetato de etilo. O solvente foi removido em vácuo. O resíduo foi repartido entre acetato de etilo (50 mL) e água (50 mL) e a fase orgânica seca (separador de fase) e o solvente removido em vácuo. O resíduo foi purificado por cromatografia sobre sílica, eluindo com EtOAc 0-15% em iso-hexano ao longo de 40 min. Dois lotes foram recolhidos, um dos quais foi o composto mencionado em título na forma de um óleo incolor (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).

#### DESCRIÇÃO PARA D32

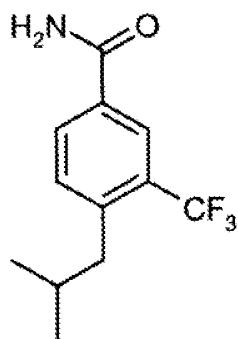
#### **Ácido 3-ciano-4-(2-metilpropil)benzóico (D32)**



3-Ciano-4-(2-metilpropil)benzoato de metilo (**D31**) (233 mg, 1,072 mmol) foi dissolvido em etanol (4 mL) e hidróxido de sódio aquoso 2 M (1 mL, 2 mmol) foi adicionado. A reação foi agitada durante 1 h. HCl 2 M aquoso (10 mL) foi adicionado e a mistura extraída com diclorometano (20 mL+10 mL). As fases orgânicas foram isoladas e secas por separador de fase e combinados antes do solvente ser removido em vácuo para dar o composto mencionado em título na forma de um sólido branco (203 mg, 0,999 mmol).  $\delta$ H ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz) 13,43 (1H, br s), 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> requer 203; encontrado 202 (M-H<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D33

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

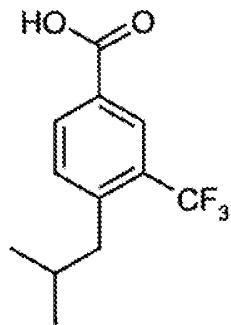


A uma solução de 4-bromo-3-trifluorometilbenzonitrilo (1,25 g, 5,0 mmol) e brometo de isobutilzincô (25 mmol) em THF (50 mL, 25 mmol) sob árgon foi adicionado complexo 1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocenodicloro-paládio

(II)/diclorometano (612 mg, 0,75 mmol) e a reação aquecida em refluxo durante 5 h. A mistura foi concentrada em vácuo e o resíduo repartido entre acetato de etilo (80 mL) e água (80 mL). Formou-se um sólido e foi separado por filtração e desprezado. A camada orgânica foi lavada com água (80 mL) antes de ter sido seca (separador de fase) e concentrada em vácuo para dar o composto mencionado em título cru na forma de um óleo negro. Este foi usado diretamente no passo seguinte (1,35 g).

#### Descrição para D34

#### Ácido 4-(2-metilpropil)-3-(trifluorometil)benzóico (D34)



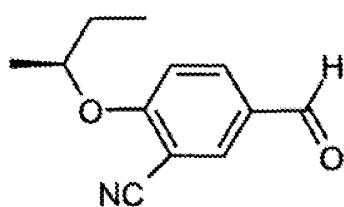
#### 4-(2-Metilpropil)-3-(trifluorometil)benzamida

(D33) (1,35 g, 5,50 mmol) foi dissolvida junto com hidróxido de potássio (3,09 g, 55,0 mmol) em etanol (40 mL) e água (10,0 mL) e a solução aquecida em refluxo durante 18 h. A mistura reacional foi concentrada em vácuo e a mistura separada entre EtOAc (150 mL) e hidróxido de sódio aquoso (2 M, 150 mL). As camadas foram separadas e a fase orgânica extraída com mais solução de hidróxido de sódio

(200 mL). LCMS de ambas as fases mostrou o produto em ambas. Por conseguinte a fase aquosa foi acidificada até pH 1 com HCl (5 M) e contraextraída em EtOAc ( $2 \times 150$  mL) e estas fases orgânicas combinados com a fase orgânica original. O solvente foi removido em vácuo e o resíduo purificado por cromatografia de inversão de fases, eluindo com MeCN 5-100% em H<sub>2</sub>O ao longo de 2000 mL e o solvente removido em vácuo para dar um sólido castanho (690 mg, 2,410 mmol). Este sólido foi triturado com hexano para dar o composto mencionado em título na forma de um sólido cor-de-búfalo (135 mg, 0,548 mmol) e o filtrado purificado por MDAP para dar mais composto mencionado em título na forma de um sólido branco (102 mg, 0,414 mmol).  $\delta$ H (d<sub>6</sub>-DMSO, 400 MHz): 13,39 (1H, br s), 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> requer 246; encontrado 245 (M-H<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D35

##### 5-Formil-2-{{(1*S*)-1-metilpropil}oxi}benzonitrilo (D35)

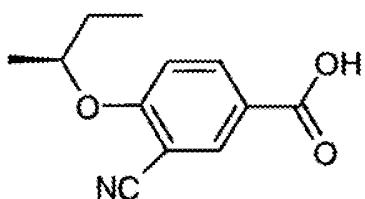


(2*S*)-2-Butanol (0,99 g, 0,013 mol) foi dissolvido em DMF (50 mL) e a solução arrefecida até 0 °C. A isto foi adicionado hidreto de sódio, (dispersão 60% em óleo

mineral, 1,54 g, 0,036 mol) em porções, a mistura foi agitada a 0 °C durante 10 minutos depois da adição estar completa. 2-Fluoro-5-formilbenzonitrilo (2,0 g, 0,013 mol) foi em seguida adicionado e a mistura reacional deixada aquecer até à temperatura ambiente (lentamente sem banho de gelo) e a mistura reacional foi agitada durante a noite à temperatura ambiente. A mistura reacional foi em seguida arrefecida até 0 °C, extinta com água salgada e diluída com EtOAc (~25 mL). A mistura foi repartida e a fração orgânica extraída com água (~30 mL), os extractos orgânicos combinados foram secos por passagem através de um cartucho de separação de fases e em seguida evaporados até à secura sob pressão reduzida para dar o produto cru. O resíduo cru foi purificado sobre um cartucho 40+M Biotage, eluindo com uma mistura de EtOAc 20 a 50% em hexano. Isto deu o composto mencionado em título (220 mg) na forma de um sólido branco.  $\delta$ H ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz): 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> requer 203; encontrado 204 (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D36

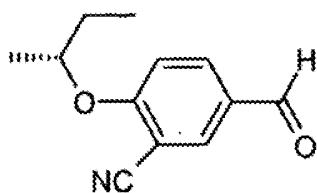
#### Ácido 3-ciano-4-{[(1*S*)-1-metilpropil]oxi}benzóico (D36)



A uma solução de 5-formil-2-{{(1*S*)-1-metilpropil}oxi}benzonitrilo (**D35**) (220 mg, 1,08 mmol) em ácido acético (20 mL) foi adicionado tetra-hidrato de perborato de sódio (334 mg, 2,17 mmol), a mistura reacional foi aquecida a 50 °C ao longo do fim-de-semana. A mistura reacional foi concentrada em vácuo. Água (~50 mL) foi adicionada, EtOAc (~30 mL) foi adicionado e as camadas repartidas, a camada aquosa foi extraída duas vezes mais com EtOAc (~30 mL) e os extratos orgânicos combinados foram evaporados até à secura sob pressão reduzida para dar o composto mencionado em título (245 mg) na forma de um sólido esbranquiçado.  $\delta$ H ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz): 8,17 (2H, d aparente), 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<sub>12</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub> requer 219; encontrado 220 (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D37

##### **5-Formil-2-{{(1*R*)-1-metilpropil}oxi}benzonitrilo (D37)**

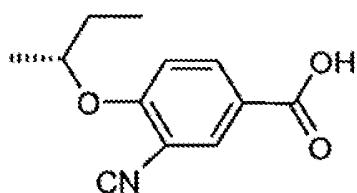


(2*R*)-2-Butanol (0,99 g, 0,013 mol) foi dissolvido em DMF (50 mL) e a solução arrefecida até 0 °C. A isto foi adicionado hidreto de sódio, dispersão 60% em óleo mineral (1,54 g, 0,036 mol) em porções, a mistura foi agitada a

0 °C durante 10 minutos depois da adição estar completa. 2-Fluoro-5-formilbenzonitrilo (2,0 g, 0,013 mol) foi em seguida adicionado e a mistura reacional deixada aquecer até à temperatura ambiente (lentamente sem banho de gelo) e a mistura reacional foi agitada durante a noite à temperatura ambiente. A mistura reacional foi em seguida arrefecida até 0 °C, extinta com água salgada e diluída com EtOAc (~25 mL). A mistura foi repartida e a fração orgânica extraída com água (~30 mL), os extractos orgânicos combinados foram secos por passagem através de um cartucho de separação de fases e evaporados até à secura sob pressão reduzida para dar o produto cru. O resíduo cru foi purificado sobre um cartucho 40+M Biotage, eluindo com uma mistura 20 a 50% de EtOAc em hexano. Isto deu o composto mencionado em título (310 mg) na forma de um óleo.  $\delta$ H ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz): 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.

#### DESCRIÇÃO PARA D38

##### **Ácido 3-Ciano-4-{[(R)-1-metilpropil]oxi}benzóico (D38)**

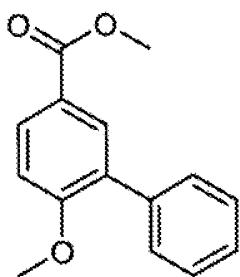


A uma solução de 5-formil-2-{[(1R)-1-metilpropil]oxi}benzonitrilo (D37) (310 mg, 1,53 mmol) em ácido

acético (30 mL) foi adicionado tetra-hidrato de perborato de sódio (471 mg, 3,05 mmol) e a mistura reacional foi aquecida a 50 °C ao longo do fim-de-semana. A mistura reacional foi concentrada em vácuo e foi adicionada água (~50 mL), EtOAc (~30 mL) foi adicionado e as camadas repartidas, a camada aquosa foi extraída duas vezes mais com EtOAc (~30 mL) e os extratos orgânicos combinados evaporados até à secura sob pressão reduzida para dar o composto mencionado em título (315 mg) na forma de um sólido esbranquiçado.  $\delta$ 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). MS (ES $^+$ ): C<sub>12</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub> requer 219; encontrado 220 (MH $^+$ ).

#### DESCRIÇÃO PARA D39

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

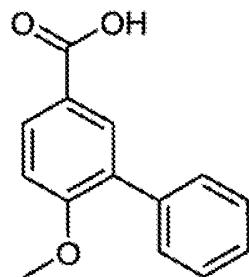


3-Bromo-4-(metiloxi)benzoato de metilo (245 mg, 1 mmol, comercialmente disponível) foi dissolvido em DME:Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 2 N (2:1, 18 mL) e em seguida ácido fenil-borónico (244 mg) e tetraquistrifenilfosfinapaládio (0) (58 mg) foram adicionados. A reação foi aquecida a 80 °C e

em seguida deixada arrefecer ao longo do fim-de-semana. EtOAc e água foram adicionados, as fases orgânicas foram separadas, secas e evaporadas para dar uma goma preta. A purificação por cromatografia flash produziu o composto mencionado em título (194 mg) na forma de uma goma.  $\delta$ H ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz) 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> requer 242; encontrado 243 (M $H^+$ ).

#### Descrição para D40

##### Ácido 6-(metiloxi)-3-bifenilcarboxílico (D40)

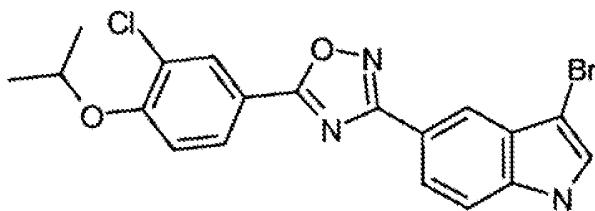


##### 6-(Metiloxi)-3-bifenilcarboxilato de metilo (D39)

(194 mg, 0,8 mmol) dissolvido em NaOH aq 2 N (3 mL) e metanol (3 mL). Agitou-se à temperatura ambiente durante a noite e em seguida o solvente orgânico foi evaporado em vácuo. EtOAc/água foi adicionado, fez-se a separação e em seguida acidificou-se o aquoso e reextraído. Os extratos orgânicos foram secos e evaporados para produzirem 202 mg do composto mencionado em título na forma de um sólido branco.  $\delta$ H ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz) 3,84 (3H, s), 7,22 (1H, d), 7,33-7,49 (5H, m), 7,82 (1H, d), 7,95 (1H, dd). MS (ES $^+$ ): C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub> requer 228; encontrado 229 (M $+H^+$ ).

## DESCRIÇÃO PARA D41

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



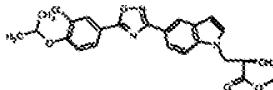
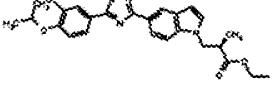
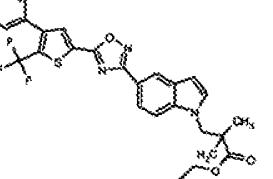
A 5-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indole (**D5**) (450 mg, 1,27 mmol) dissolvidos em DMF (12 mL) foi adicionado bromo (213 mg, 1,35 mmol) gota a gota. Agitou-se durante 15 minutos, DMF foi separada por evaporação, éter dietílico (70 mL) foi adicionado e lavou-se com água (2×70 mL). A mistura foi seca sobre MgSO<sub>4</sub> e o solvente foi separado por evaporação. O resíduo foi cristalizado em éter dietílico/hexano para dar 160 mg do composto mencionado em título na forma de um sólido branco. 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> requer 431; encontrado 432 (MH<sup>+</sup>).

Os seguintes ésteres foram preparados de uma maneira semelhante aos exemplos previamente descritos (tal como **D6**) usando o indole e agente de alquilação apropriado. Os halotos de alquilo estavam comercialmente disponíveis

fora o **D11** usado para preparar **D48**. A menos que indicado de outra maneira, as reações foram realizadas em DMF. Nalgumas ocasiões, as reações foram manipuladas por um procedimento de manipulação aquosa ao passo que noutras o material cru tenha sido usado diretamente no passo de hidrólise a seguir à evaporação do solvente da reação.

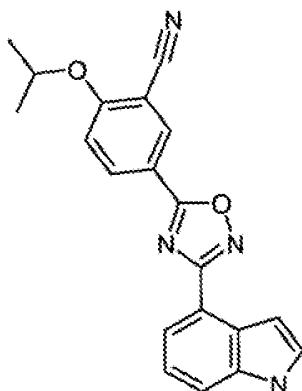
	Estrutura	Name	Indole precursor	Comentários	MH <sup>+</sup>
D42		(5-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)acetato de etilo	D2	solvante DMP em vez de DMF. Reação a 100–120 °C em micro-ondas.	-
D43		3-[3-bromo-5-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il]propanoato de etilo	D41	Reação convencionalmente aquecida 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	Reação convencionalmente aquecida 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	Reação aquecida no micro-ondas a 130 °C. Material cru usado no passo que segue à evaporação	-

(continuação)

	Estrutura	Nome	Indole precursor	Comentários	MH <sup>+</sup>
D46		(2R)-3-[5-(5-{3-chloro-4-[(1-methylethyl)oxy]phenyl}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]-2-methylpropanoate de metilo	D5	Reação aquecida no micro-ondas a 140 °C. Material cru usado no passo que segue à evaporação	-
D47		(2S)-3-[5-(5-{3-chloro-4-[(1-methylethyl)oxy]phenyl}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]-2-methylpropanoate de etilo	D5	Reação aquecida no micro-ondas a 130 °C. Material cru usado no passo que segue à evaporação	-
D48		2,2-dimethyl-3-(5-{4-phenyl-5-(trifluoromethyl)-2-pyridinyl}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il)propanoato de etilo	D2	Reação aquecida no micro-ondas a 131-150 °C. Material cru usado no passo que segue à evaporação	540

**DESCRIÇÃO PARA D49**

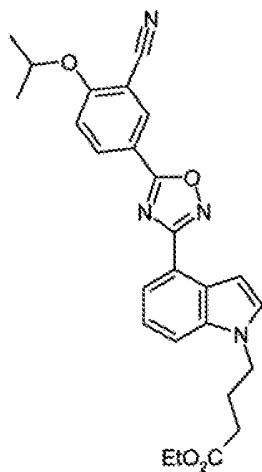
**5-[3-(1*H*-indol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-[ (1-metiletil)oxi]benzonitrilo**



A ácido 3-ciano-4-[ (1-metiletil)oxi]benzóico (pode ser preparado conforme descrito em WO2005/58848) (500 mg, 2,44 mmol) em DMF (15 mL) foi adicionada EDAC (514 mg, 2,67 mmol) e HOBr (367 mg, 2,67 mmol) e a solução foi deixada em repouso durante 30 minutos. N-hidroxi-1*H*-indole-4-carboximidamida (**D9**) (427 mg, 2,44 mmol) e deixada em repouso durante 1 hora. À solução foram adicionados EDAC (117 mg, 0,61 mmol) e HOBr (84 mg, 0,61 mmol) e deixada em repouso durante 2 horas. À solução foram adicionados EDAC (234,9 mg, 1,22 mmol) e HOBr (167,7 mg, 1,22 mmol) e deixada em repouso durante a noite. Foi aquecida a 80 °C durante a noite, arrefecida e adicionado EtOAc (30 mL). Foi lavada com água (30 mL), hidrogenocarbonato de sódio satº (30 mL) e água (30 mL). Foi seca sobre MgSO<sub>4</sub> e o solvente separado por evaporação. O resíduo foi triturado com éter dietílico para dar 353 mg do composto mencionado em título na forma de um sólido castanho pálido. 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 largo). MS (ES) C<sub>20</sub>H<sub>16</sub>N<sub>4</sub>O<sub>2</sub> requer 344; encontrado 345 (MH<sup>+</sup>).

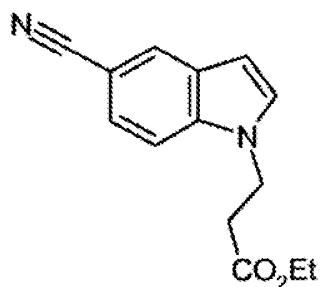
#### DESCRIÇÃO PARA D50

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



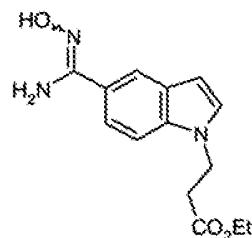
Uma mistura de 5-[3-(1H-indol-4-il)-1,2,4-oxadiazol-5-il]-2-[(1-metiletil)oxi]benzonitrilo (**D49**) (100 mg, 0,29 mmol), 4-bromobutirato de etilo (85 mg, 0,44 mmol) e carbonato de césio (189 mg, 0,58 mmol) em DMF (2 mL) foi aquecida a 80 °C durante 1 hora. Foi adicionado 4-bromobutirato de etilo (85 mg, 0,44 mmol) e aqueceu-se durante a noite a 80 °C. Foi adicionado 4-bromobutirato de etilo (85 mg, 0,44 mmol) e carbonato de césio (189 mg, 0,58 mmol) e aqueceu-se durante 24 horas. Foi adicionado 4-bromobutirato de etilo (85 mg, 0,44 mmol) e aqueceu-se durante 24 horas. Foi adicionado 4-bromobutirato de etilo (85 mg, 0,44 mmol) e aqueceu-se durante 6 horas. Foi adicionado EtOAc (20 mL) e lavou-se com água (20 mL). Foi seca sobre MgSO<sub>4</sub> e o solvente separado por evaporação. O resíduo foi cristalizado em etanol para dar o composto mencionado em título (55 mg) na forma de um sólido branco. MS (ES) C<sub>26</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> requer 458; encontrado 459 (MH<sup>+</sup>).

## DESCRIÇÃO 51

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

Uma mistura de 1*H*-indole-5-carbonitrilo (1,42 g, 10 mmol), 3-bromopropanoato de etilo (1,92ml, 15 mmol) e carbonato de césio (6,5 g, 20 mmol) em DMF (50 mL) foi aquecida a 80 °C durante 4 horas. A solução foi arrefecida, foi adicionado éter dietílico (300 mL) e lavada com água (3 × 300 mL). Foi seca sobre MgSO<sub>4</sub> e o solvente separado por evaporação para produzir 2,4 g de óleo laranja pálido. Este produto cru foi usado no passo seguinte (preparação de D52).

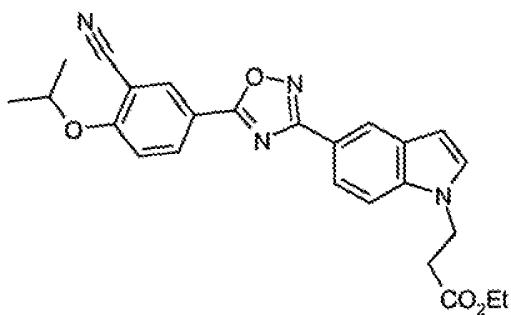
## DESCRIÇÃO PARA D52

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

3-(5-Ciano-1*H*-indol-1-il)propanoato de etilo (**D51**) (1,7 g, 7,2 mmol), hidrocloreto de hidroxilamina (1,0 g, 14,4 mmol) e hidrogenocarbonato de sódio (2,42 g, 28,9 mmol) foram suspensos em etanol (100 mL) e agitados a 50 °C durante 3 dias. Formou-se um único produto mas restou 15% do material de partida. Arrefeceu-se, separou-se por filtração o material inorgânico e o solvente foi separado por evaporação. O produto foi cristalizado numa mistura de EtOAc, éter dietílico e hexano para produzir 1,9 g do composto mencionado em título na forma de um sólido branco. MS (ES) C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> requer 275; encontrado 276, (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D53

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

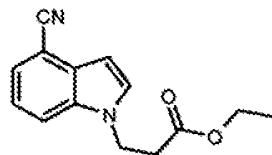


Ácido 3-ciano-4-[(1-metiletílio)oxi]benzóico (pode ser preparado conforme descrito em WO2005/58848) (215 mg, 1,05 mmol), EDAC (219 mg, 1,14 mmol) e HOBr (156 mg, 1,14 mmol) em DMF seca (10 mL) foram agitados à temperatura ambiente durante 10 minutos. Foi adicionado 3-{5-[(hidroxiamino)(imino)métil]-1*H*-indol-1-il}propanoato de etilo (**D52**)

(288 mg, 1,05 mmol) e agitou-se durante 1 hora à temperatura ambiente. A mistura foi aquecida a 80 °C durante 7 horas. A solução foi arrefecida e EtOAc (50 mL) adicionado. Foi lavada com água (50 mL), hidrogenocarbonato de sódio satº (50 mL) e água (50 mL). Foi seca sobre MgSO<sub>4</sub> e o solvente separado por evaporação. O resíduo foi cristalizado em éter para produzir 200 mg do composto mencionado em título na forma de um sólido cor-de-rosa muito pálido. MS (ES) C<sub>2</sub>SH<sub>24</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> requer 444; encontrado 445 (MH<sup>+</sup>).

#### Descrição para D54

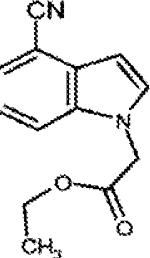
##### 3-(4-Ciano-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (D54)



4-Cianoindole (2,5 g) foi dissolvido em DMF (7,5 mL). Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (11,46 g) foi adicionado seguido por 3-bromopropionato de etilo (3,38 mL). Esta mistura foi aquecida a 80 °C durante 40 minutos. Uma outra porção de DMF (5 mL) foi adicionada e o aquecimento a 80 °C continuou durante 1 hora. A mistura reacional foi evaporada, em seguida dissolvida em H<sub>2</sub>O (200 mL) e extraída com EtOAc (200 mL). Isto foi evaporado para dar um óleo amarelo (3,5 g) que foi purificado sobre um cartucho 40+M Biotage, eluindo com uma mistura 25-75% de Et<sub>2</sub>O em hexano. Isto deu o composto mencionado em título (3,44 g) na forma de um

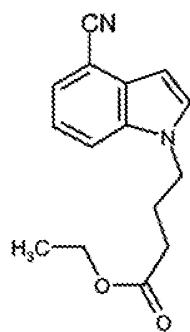
óleo amarelo pálido.  $\delta\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 400 MHz): 1,19 (3H, t), 2,82 (2H, t), 4,12 (2H, q), 4,50 (2H, t), 6,71 (1H, d), 7,23-7,28 (1H, m), 7,33 (1H, d), 7,47 (1H, d), 7,60 (1H, dd). MS (ES):  $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2$  requer 242; encontrado 243 ( $\text{MH}^+$ ).

O exemplo seguinte foi preparado por um método semelhante ao descrito acima. A reação não ficou completa depois da manipulação e por isso o material foi ressubmetido às condições de reação com 0,2 equivalentes extra de base e agente de alquilação e o produto foi purificado por trituração com éter.

Número	Estrutura	Nome	$\text{MH}^+$
D55		(4-ciano-1H-indol-1-il)acetato de etilo	229

#### DESCRIÇÃO PARA D56

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

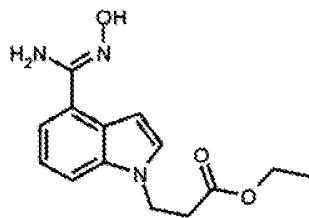


Combinaram-se 4-cianoindole (5 g, 35,2 mmol),

4 bromobutanoato de etilo (10,29 g, 52,8 mmol) e carbonato de césio (22,92 g, 70,3 mmol) e aqueceu-se a 80 °C sob argon durante 1 hora. A reação foi deixada arrefecer e em seguida 150 mL de éter dietílico foram adicionados e a solução orgânica foi lavada com 3 × 150 mL de H<sub>2</sub>O. A solução orgânica foi seca sobre MgSO<sub>4</sub> e o solvente evaporado. Foi seca em alto vácuo ao longo do fim-de-semana para produzir o composto mencionado em título (8,25 g) na forma de um óleo laranja. δH (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> requer 256; encontrado 257 (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D57

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

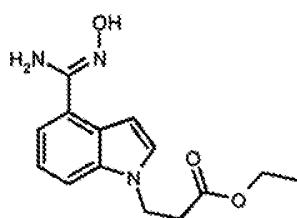


3-(4-Ciano-1*H*-indol-1-il)propanoato de etilo (**D54**) (3,44 g), NH<sub>2</sub>OH·HCl (1,97 g) e Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (5,96 g) foram dissolvidos em EtoH (75 mL). Esta mistura foi aquecida a 50 °C durante a noite. Uma outra porção de NH<sub>2</sub>OH·HCl (985 mg) foi adicionada e a mistura foi agitada a 70 °C

durante a noite. A mistura reacional foi em seguida filtrada e evaporada para dar o composto mencionado em título (4,06 g). MS (ES): C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> requer 275; encontrado 276 (MH<sup>+</sup>).

**DESCRÍÇÃO PARA D57 (PROCEDIMENTO ALTERNATIVO)**

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

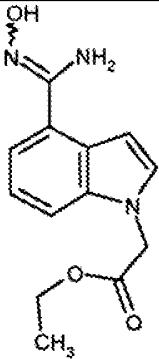


Uma mistura de 1*H*-indole-4-carbonitrilo (3,4 g, 23,92 mmol), 3-bromopropanoato de etilo (4,57 mL, 35,9 mmol) e carbonato de césio (15,59 g, 47,8 mmol) foi aquecida a 80 °C durante 2 horas e deixada em repouso durante a noite. Éter (400 mL) foi adicionado e a mistura resultante foi lavada com água (3 × 400 mL), seca sobre MgSO<sub>4</sub> e evaporada para produzir 6,6 g de óleo límpido amarelo pálido.

O óleo N4111-30-A2 (6,6 g, 27,2 mmol), hidrocloreto de hidroxilamina (3,79 g, 54,5 mmol) e bicarbonato de sódio (9,15 g, 109 mmol) em etanol foram agitados a 50 °C durante a noite. Foi adicionado mais hidrocloreto de hidroxilamina (2,3 g) e aqueceu-se a 50 °C durante 24

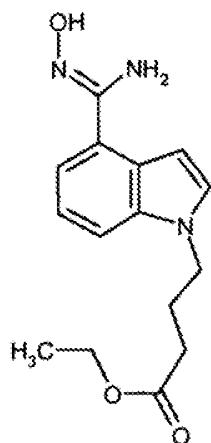
horas. A reação foi filtrada e o resíduo lavado com DCM (50 mL). O solvente foi removido por evaporação e o resíduo triturado com hexano para se obter o composto mencionado em título (4,2 g) na forma de um sólido branco. Mais composto mencionado em título (1,0 g) na forma de um sólido branco foi obtido da trituração de resíduos. Dados de espectro de massa consistentes com a síntese prévia.

O seguinte foi feito de uma maneira semelhante ao primeiro procedimento listado para **D57**: bicarbonato de sódio foi a base usada e a reação foi realizada a 55 °C.

Número	Estrutura	Número do precursor	Nome	$\text{MH}^+$
D58		D55	{4-[ (hidroxiamino) (imino)metil]-1H-indol-1-yl}acetato de etilo	262

#### DESCRIÇÃO PARA D59

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

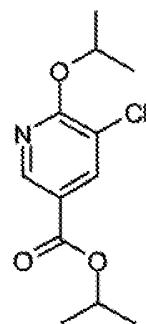


4-(4-Ciano-1*H*-indol-1-il)butanoato de etilo (**D56**)

(8,25 g, 32,2 mmol) foi dissolvido em EtOH e tratado com NH<sub>2</sub>OH·HCl (4,47 g, 64,4 mmol) e NaHCO<sub>3</sub> (8,11 g, 97 mmol) e aquecido a 55 °C durante 1 dia e duas noites. Mais NH<sub>2</sub>OH·HCl (500 mg) e NaHCO<sub>3</sub> (500 mg) foram adicionados e a reação foi aquecida durante outras 3 horas e em seguida os materiais inorgânicos foram separados por filtração, lavando bem com EtOH. O solvente foi evaporado e o resíduo seco sob alto vácuo. A trituração com éter e dcm produziu dois lotes do composto mencionado em título N2668-20-A8 (5,14 g) e N2668-20-A9 (976 mg). δH (400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 1,15 (3H, t), 1,98 (2H, quint aparente), 2,25 (2H, t), 4,03 (2H, q), 4,21 (2H, t), 5,73 (2H, br s), 6,82 (1H, dd), 7,15 (1H, t aparente), 7,27 (1H, dd), 7,35 (1H, d), 7,51 (1H, d), 9,58 (1H, br s). MS (ES): C<sub>15</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> requer 289; encontrado 290 (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D60

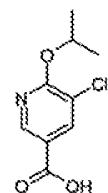
**5-Cloro-6-[ (1-metiletil)oxi]-3-piridinocarboxilato de 1-metiletilo (D60)**



O ácido 5-cloro-6-hidroxi-3-piridinocarboxílico (1 g, 5,76 mmol) foi suspenso em tolueno (200 mL) e tratado com carbonato de prata (3,97 g, 14,40 mmol) e 2-iodopropano (3,46 mL, 34,6 mmol) e agitou-se à temperatura ambiente no escuro durante 3 dias. LC/MS mostrou 2/3 de produto. Foi adicionado 2-iodopropano (3 mL) e agitou-se durante 24 horas. LC/MS mostrou 80% de produto. Foi adicionado EtOAc (200 mL) e lavou-se com água (200 mL) + NaHCO<sub>3</sub> sat° (50 mL) seguido por água (200 mL). A mistura foi seca sobre MgSO<sub>4</sub> e o solvente separado por evaporação para produzir 1,0 g do composto mencionado em título na forma de um óleo incolor límpido. MS (ES<sup>+</sup>) C<sub>12</sub>H<sub>16</sub><sup>35</sup>ClNO<sub>3</sub> requer 257; encontrado 257.

#### DESCRIÇÃO PARA D61

#### Ácido 5-cloro-6-[ (1-metiletil)oxi]-3-piridinocarboxílico (D61)

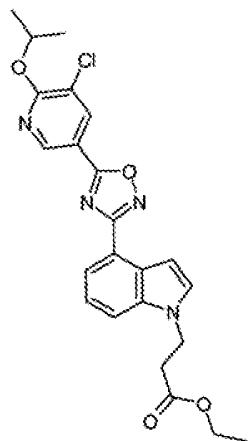


5-Cloro-6-[ (1-metiletil)oxi]-3-piridinocarboxilato de 1-metiletilo (**D60**) (1,6 g, 6,21 mmol) em isopropanol (70 mL) e água (35,0 mL) foi tratado com hidróxido de sódio

2 N (6,21 mL, 12,42 mmol) e agitada durante 3 horas para dar 2N hidróxido de sódio um produto único. Separou-se por evaporação o IPA, acidificou-se com ácido acético glacial e extraiu-se produto para EtOAc (100 mL). Secou-se sobre MgSO<sub>4</sub> e o solvente foi separado por evaporação para produzir 1,30 g do composto mencionado em título na forma de um sólido branco. MS (ES) C<sub>9</sub>H<sub>10</sub><sup>35</sup>ClNO<sub>3</sub> requer 215; encontrado 214 (M-H<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO 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)**

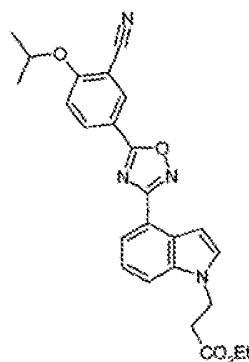


A ácido 5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinocarboxílico (**D61**) (1,504 g, 6,97 mmol) em DMF seca (30 mL) foram adicionados EDC (1,604 g, 8,37 mmol) e HOBT (1,282 g, 8,37 mmol). A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 10 minutos em seguida foi adicionado 3-[4-(hidroxiamino)(imino)metil]-1H-indol-1-il}propanoato de etilo (N4111-31-A4) (**D57**) (1,92 g, 6,97 mmol). A mistura foi agitada durante 30 minutos. LC/MS mostrou um produto (intermediário). A solução foi aquecida a 80 °C durante 2

horas. Deixou-se em repouso durante a noite à temperatura ambiente, em seguida foi aquecida a 80 °C durante mais 2 horas para dar por completa a reação. Arrefeceu-se e adicionou-se EtOAc (250 mL). O EtOAc foi lavado com NaHCO<sub>3</sub> sat° (150 mL) seguido por água (2 × 200 mL). A mistura foi seca sobre MgSO<sub>4</sub> e o solvente separado por evaporação. O resíduo foi sujeito a cromatografia na Biotage (EtOAc/-hexano 1:2). Na evaporação da maior parte do solvente das frações limpidas e adição de hexano formou-se um precipitado branco. O sólido foi separado por filtração para se obter 1,1 g do produto mencionado em título. MS (ES) C<sub>23</sub>H<sub>23</sub><sup>35</sup>ClN<sub>4</sub>O<sub>4</sub> requer 454; encontrado 455 (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D63

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

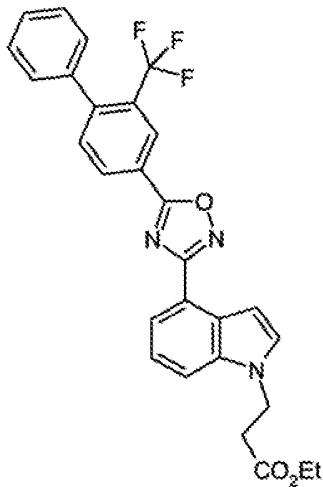


O ácido 3-ciano-4-[(1-metiletílo)oxi]benzóico (pode ser preparado conforme descrito em WO2005/58848) (113 mg, 0,55 mmol), EDAC (115 mg, 0,60 mmol) e HOBT (82 mg, 0,60 mmol) foram dissolvidos em DMF (5 mL) e deixou-se em repouso durante 15 minutos. Foi adicionado 3-{4-[(hidroxiamino)(imino)metyl]-1*H*-indol-1-il}propanoato de

etilo (**D57**) (150 mg, 0,55 mmol) e deixou-se repousar durante a noite à temperatura ambiente. A solução foi aquecida a 80 °C durante 2 horas. LC/MS mostrou principalmente o produto. Após aquecimento durante mais umas poucas horas não houve alteração. Foi adicionado EtOAc (20 mL) e lavou-se com água (30 mL). Foi lavado com hidrogenocarbonato de sódio saturado (30 mL) e água (2 × 30 mL). Foi seco sobre MgSO<sub>4</sub> e o solvente separado por evaporação para se obter 81 mg do composto mencionado em título na forma de um sólido castanho pálido. MS (ES) C<sub>25</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> requer 444; encontrado 445 (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D64

**Etilo 3-(4-{5-[2-(trifluorometil)-4-bifenilyl]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il}propanoato de (D64)**

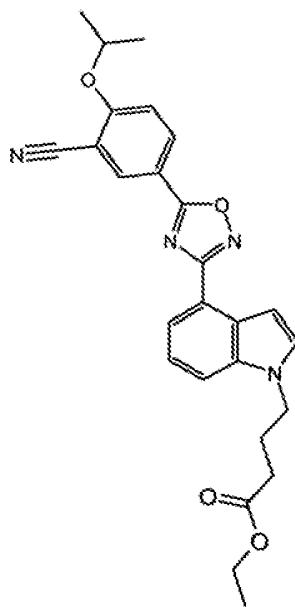


Ao ácido 2-(trifluorometil)-4-bifenilcarboxílico (**D29**) (146 mg, 0,55 mmol) em DMF (5 mL) foi adicionada EDC (115 mg, 0,60 mmol) e HOBT (82 mg, 0,60 mmol) e a solução foi deixada em repouso durante 15 minutos. Foi adicionado 3-{4-[(hidroxiamino)(imino)métil]-1H-indol-1-il}propanoato

de etilo (**D57**) (150 mg, 0,55 mmol) e agitou-se à temperatura ambiente durante 1 hora. Aqueceu-se a 80 °C durante 1 hora em seguida aqueceu-se durante a noite. Arrefeceu-se e em seguida adicionou-se EtOAc (20 mL). A mistura foi lavada com água (20 mL), hidrogenocarbonato de sódio aquoso satº (20 mL) e água (20 mL). Foi seca sobre MgSO<sub>4</sub> em seguida evaporou-se o solvente. O resíduo foi triturado com etanol para dar 157 mg do composto mencionado em título na forma de um sólido branco. 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> requer 505; encontrado 506 (MH<sup>+</sup>).

**Descrição para D65 (Alternativa à descrição para D50)**

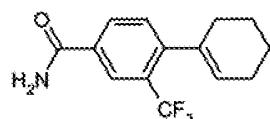
**4-[4-(5-{3-Ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoato de etilo (D65)**



Uma mistura de ácido 3-ciano-4-[ (1-metiletíl)oxi]benzóico (pode ser preparado conforme descrito em WO2005/58848) (1,21 g, 5,88 mmol), EDC (1,35 g, 7,05 mmol) e HOBr (1,08 g, 7,05 mmol) em DMF seca (85 mL) foi agitada durante 20 minutos à temperatura ambiente. Foi adicionado 4-{4-[(hidroxiamino)(imino)metyl]-1H-indol-1-il}butanoato de etilo (**D59**) (1,70 g, 5,88 mmol) e agitou-se à temperatura ambiente durante 1 hora. A mistura foi aquecida a 80 °C durante 5 horas e deixada durante a noite à temperatura ambiente. Foi aquecida a 80 °C durante 6 horas em seguida a DMF foi separada por evaporação. Foi adicionado EtOAc (200 mL) e lavou-se com NaHCO<sub>3</sub> satº (200 mL) e água (200 mL). Secou-se sobre MgSO<sub>4</sub> e o solvente foi separado por evaporação. Sujeitou-se o resíduo a cromatografia usando o Biotage (EtOAc/hexano 1:2) e evaporaram-se as frações mais límpidas para produzir 1,42 g do composto mencionado em título na forma de um sólido branco. δH (400 MHz, d<sub>6</sub>-DMSO) 1,15 (3H, t), 1,39 (6H, d), 2,04 (2H, quinteto 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<sub>26</sub>H<sub>26</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> requer 458; encontrado 459 (MH<sup>+</sup>).

#### Descrição para **D66**

#### **4-(1-Ciclo-hexen-1-il)-3-(trifluorometil)benzamida (D66)**

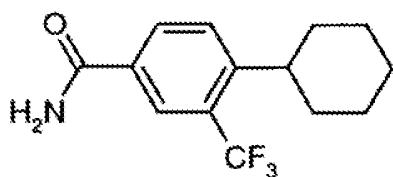


4-bromo-3-(trifluorometil)benzonitrilo (comercial) (1,2 g, 4,80 mmol), ácido 1-ciclo-hexen-1-ilborónico (0,907 g, 7,20 mmol), metóxido de sódio (0,778 g, 14,40 mmol) e cloreto de bis(trifenilfosfina)paládio (II) (0,337 g, 0,480 mmol) foram adicionados a metanol seco (12 mL) e a mistura foi aquecida no micro-ondas a 80 °C durante 10 minutos. A mistura reacional foi repartida entre acetato de etilo (40 mL) e água (40 mL) e em seguida a fase orgânica lavada com mais água (40 mL). A fase orgânica foi seca ( $\text{MgSO}_4$ ), filtrada e o solvente removido em vácuo. O produto cru foi purificado por cromatografia flash sobre sílica, eluindo com acetato de etilo 0-75% em hexano para dar o composto mencionado em título na forma de um sólido branco (1,02 g).  $\delta\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 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):  $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{F}_3\text{NO}$  requer 269; encontrado 270 ( $\text{MH}^+$ ) .

#### DESCRIÇÃO PARA D67

**GSK1929583A, N2123-11-A2**

**4-Ciclo-hexil-3-(trifluorometil)benzamida (D67)**

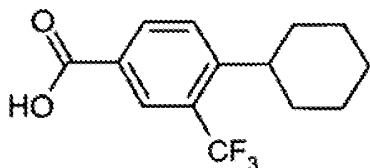


4-(1-cyclohexen-1-yl)-3-(trifluoromethyl)benzami-

da (**D66**) (850 mg, 3,16 mmol) foi dissolvida em metanol (63 mL) e hidrogenada usando H-Cube, usando paládio sobre carbono a 40 °C com uma caudal de 2 mL/min. O solvente foi removido em vácuo para dar o composto mencionado em título na forma de um sólido branco (822 mg).  $\delta$ H (CDCl<sub>3</sub>, 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<sub>14</sub>H<sub>16</sub>F<sub>3</sub>NO requer 271; encontrado 272 (MH<sup>+</sup>).

#### Descrição para **D68**

#### Ácido 4-ciclo-hexil-3-(trifluorometil)benzóico (**D68**)

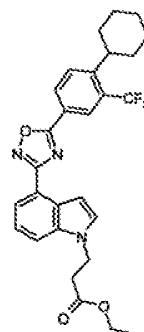


A uma solução de 4-ciclo-hexil-3-(trifluorometil)benzamida (**D67**) (822 mg, 3,03 mmol) em etanol (40 mL) foi adicionado hidróxido de potássio (1,700 g, 30,3 mmol) e água (5 mL) e a reação aquecida à temperatura de bloco de 90 °C durante 3 h e agitada à temperatura ambiente durante 16 h. Mais hidróxido de potássio (1,700 g, 30,3 mmol) foi adicionado e a reação aquecida em refluxo durante 27 h. Outros 5 mL de água foram adicionados e a reação aquecida durante 66 horas (fim-de-semana). A mistura reacional foi concentrada em vácuo e o resíduo repartido entre acetato de etilo (25 mL) e ácido clorídrico aquoso (2 M, 25 mL). A camada aquosa foi ainda extraída com acetato de etilo

(25 mL) e as fases orgânicas combinadas foram secas ( $\text{MgSO}_4$ ), filtradas e o solvente removido em vácuo para dar o composto mencionado em título na forma de um sólido branco (737 mg).  $\delta\text{H}$  (metanol-d<sub>4</sub>, 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):  $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{O}_2$  requer 272; encontrado 271 ( $\text{M}-\text{H}^+$ ).

#### DESCRIÇÃO PARA D69

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

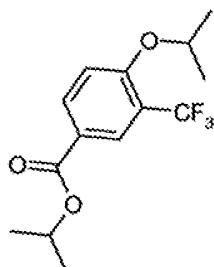


Uma solução de ácido 4-ciclo-hexil-3-(trifluorometil)benzóico (**D68**) (148 mg, 0,545 mmol), EDC (115 mg, 0,599 mmol) e HOBT (92 mg, 0,599 mmol) em DMF (5 mL) foi agitada durante 10 min antes da adição de 3-{4-[(hidroxi-amino)(imino)methyl]-1H-indol-1-il}propanoato de etilo (**D57**) (150 mg, 0,545 mmol). A reação foi agitada durante 30 min à temperatura ambiente seguido por 16 h a 80 °C. A mistura reacional foi repartida entre acetato de etilo (25 mL) e água (25 mL) e a fase orgânica lavada com bicarbonato de

sódio aquoso (25 mL) e em seguida água (25 mL). A fase orgânica foi seca (separador de fase) e o solvente removido em vácuo. O produto cru foi purificado por MDAP. Alguma da mistura submetida a MDAP tinha precipitado e foi triturada com etanol e filtrada. Os sólidos brancos foram combinados para dar o composto mencionado em 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> requer 511; encontrado 512 (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D70

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

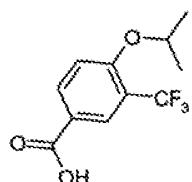


Uma mistura de ácido 4-hidroxi-3-(trifluorometil)benzóico (comercial) (450 mg, 2,18 mmol), 2-iodopropano (435 µL, 4,36 mmol) e carbonato de potássio (603 mg, 4,36 mmol) em *N,N'*-dimetilformamida (40 mL) foi aquecida a 70 °C durante 4 h antes de mais 2-iodopropano (218 µL, 2,18 mmol) ser adicionado e o aquecimento continuar durante 18 h. O sólido inorgânico foi separado por filtração e lavado com acetato de etilo. O filtrado foi concentrado em vácuo e repartido entre acetato de etilo (150 mL) e água (150 mL) contendo algum hidróxido de sódio

áquoso. A camada orgânica foi seca (separador de fase) e concentrada em vácuo para dar o composto mencionado em título cru (704 mg) na forma de um óleo. MS (ES): C<sub>14</sub>H<sub>17</sub>F<sub>3</sub>O<sub>3</sub> requer 290; encontrado 291 (M<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D71

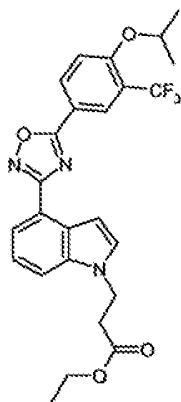
#### Ácido 4-[(1-metiletil)oxi]-3-(trifluorometil)benzóico (D71)



A uma mistura de 4-[(1-metiletil)oxi]-3-(trifluorometil)benzoato de 1-metiletilo (**D70**) (704 mg, 2,43 mmol) em etanol (110 mL) foi adicionado hidróxido de sódio aquoso (2 M, 12,2 mL, 24,3 mmol) e a reação aquecida em refluxo durante 1 h. A mistura foi concentrado em vácuo e o resíduo repartido entre acetato de etilo (100 mL) e água (100 mL) e acidificado com ácido clorídrico aquoso (2 M, 13 mL). A camada aquosa foi extraída ainda com acetato de etilo (100 mL) e as camadas orgânicas combinadas secas e concentradas em vácuo para dar o composto mencionado em título na forma de um sólido amarelo (563 mg). δH (metanol-d<sub>4</sub>, 400 MHz): 8,21-8,17 (2H, m), 7,26 (1H, d), 4,84 (1H, septeto), 1,38 (6H, d). MS (ES): C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>F<sub>3</sub>O<sub>3</sub> requer 248; encontrado 247 (M-H<sup>+</sup>).

## DESCRIÇÃO PARA D72

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



Ácido 4-[ (1-metiletil)oxi]-3-(trifluorometil)benzóico (**D71**) (136 mg, 0,55 mmol), EDC (116 mg, 0,61 mmol) e HOBT (82 mg, 0,61 mmol) foram agitados em *N,N*- dimetil-formamida (5 mL) durante 20 min. 3-{4-[ (Hidroxiamino)-(imino)metil]-1H-indol-1-il}propanoato de etilo (**D57**) (150 mg, 0,55 mmol) foi adicionado e a reação agitada à temperatura ambiente durante 3 h e em seguida 80 °C durante 18 h. A mistura reacional foi repartida entre acetato de etilo (25 mL) e água (25 mL). A camada orgânica foi lavada com bicarbonato de sódio aquoso (25 mL) e água (25 mL) antes de ter sido seca (separador de fase), filtrada e concentrada em vácuo. O resíduo foi triturado com etanol para dar o composto mencionado em 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 apar.), 7,07 (1H, d), 4,99 (1H, septeto), 4,54 (2H, t), 4,02 (2H, q), 2,89 (2H, t), 1,36 (6H, d), 1,11 (3H, t). MS (ES $^+$ ): C<sub>25</sub>H<sub>24</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> requer 487; encontrado 488 (MH $^+$ ).

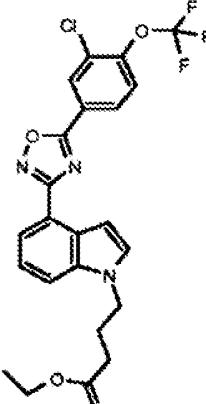
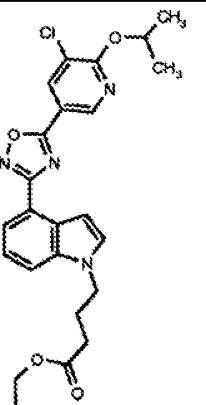
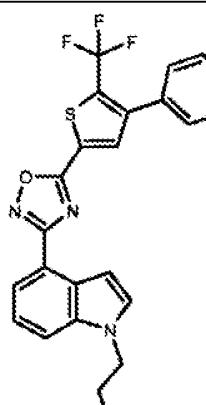
Os seguintes exemplos foram preparados de uma maneira semelhante à descrita acima. Na ocasião foi requerido EDAC adicional (até 2,6 eq) e no caso de **D80** foi necessário elevar a temperatura até 120 °C. A manipulação foi ou aquosa ou alternativamente o solvente foi removido em vácuo. No caso de **D92** etanol, foi adicionado à mistura reacional e o precipitado resultante foi filtrado. Os compostos foram purificados ou por trituração, MDAP, cromatografia normal ou de inversão de fases.

	Estrutura	Precursors	Name	MH <sup>+</sup>
D73		D58 e D4	[4-(5-{3-chloro-4-[[(1-methylethyl)oxy]methyl]phenyl}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]acetato de etilo	440/442
D74		D58	[4-(5-{3-cyano-4-[[(1-methylethyl)oxy]methyl]phenyl}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]acetato de etilo	431

(continuação)

	Estrutura	Precursors	Name	$MH^+$
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 e D30	3-(4-{5-[2'-fluoro-2-(trifluoromethyl)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de etilo	524
D77		D59 e D4	4-[4-(5-{3-chloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoato de etilo	468

(continuação)

	Estrutura	Precursors	Name	$MH^+$
D78		D59	4-[4-(5-{3-cloro-4-[ (trifluorometil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1 <i>H</i> -indol-1-il]butanoato de etilo	494
D79		D59 e D61	4-[4-(5-{5-cloro-6-[ (1-metil-ethyl)oxi]}-3-piridinil)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1 <i>H</i> -indol-1-il]butanoato de etilo	469
D80		D59	4-(4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1 <i>H</i> -indol-1-il]butanoato de etilo	526

(continuação)

	Estrutura	Precursors	Name	$MH^+$
D81		D59 e D29	4-(4-{5-[2-(trifluoromethyl)-4-bifenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)butanoato de etilo	520
D82		D57	3-(4-{5-[4-(metiloxi)-3-(trifluoromethyl)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)-propanoato de etilo	460
D83		D59 e D38	4-{4-[5-(3-ciano-4-{[(1R)-1-metilpropil]oxi}fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il}butanoato de etilo	473

(continuação)

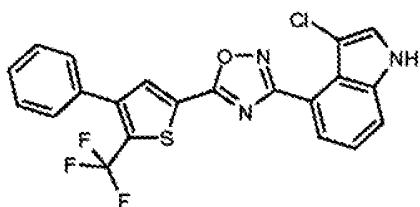
	Estrutura	Precursors	Name	$MH^+$
D84		D59 e D36	4-(4-[5-(3-ciano-4-{[(1S)-1-metilpropil]oxi}fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il)butanoato de etilo	473
D85		D57 e D13	3-(4-{5-[3-etil-4-(1-piperidinil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de etilo	473
D86		D57 e D19	3-{4-[5-(4-ciclo-hexil-3-etilfenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il}propanoato de etilo	472
D87		D57 e 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 e 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 e D24	4-(4-{5-[3-cloro-4-(2-metilpropil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)butanoato de etilo	466

(continuação)

	Estrutura	Precursors	Nome	$MH^+$
D90		D57 e D34	3-(4-{5-[4-(2-metilpropil)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1 <i>H</i> -indol-1-il)-propanoato de etilo	486
D91		D59 e D32	4-(4-{5-[3-ciano-4-(2-metilpropil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-yl}-1 <i>H</i> -indol-1-il)-butanoato de etilo	457
D92		D59 e D27	4-{4-[5-(2-ciano-4-bifenilil)-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-1 <i>H</i> -indol-1-il}butanoato de etilo	477

## DESCRIÇÃO PARA D93

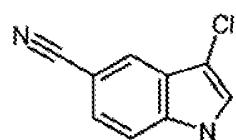
**3-Cloro-4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1*H*-indole (D93)**



Este material foi preparado de uma maneira semelhante a **D7** (CQ107723-108A2) a partir de **D10** exceto que a reação foi agitada durante quatro horas em vez de durante a noite. MS (ES): C<sub>21</sub>H<sub>11</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>3</sub>OS requer 445; encontrado 446 (MH<sup>+</sup>).

## DESCRIÇÃO PARA D94

**3-Cloro-1*H*-indole-5-carbonitrilo (D94)**

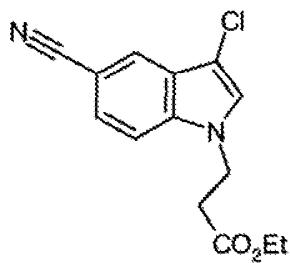


A uma solução de 5-cianoindole (3,0 g, 21 mmol) em DMF seca (50 mL) foi adicionada *N*-clorossuccinimida (2,94 g, 22 mmol) e a solução foi agitada à temperatura ambiente durante 1 hora. A solução foi deixada em repouso ao longo do fim-de-semana. LC/MS mostrou um produto único. Foi adicionado acetato de etilo (150 mL) e éter dietílico

(50 mL) e lavou-se com água ( $3 \times 300$  mL). A mistura foi seca sobre  $\text{MgSO}_4$  e o solvente separado por evaporação para produzir 3,9 g do composto mencionado em título na forma de um sólido amarelo pálido.  $\delta\text{H}$  (400 MHz,  $d_6\text{-DMSO}$ ) 7,54 (1H, dd), 7,61 (1H, dd), 7,78 (1H, d), 8,01-8,02 (1H, m), 12,2 (1H, s largo). MS (a partir de LCMS da mistura reacional) (ES) :  $\text{C}_9\text{H}_5\text{ClN}_2$  requer 176; encontrado 177 ( $\text{MH}^+$ ).

#### DESCRIÇÃO PARA D95

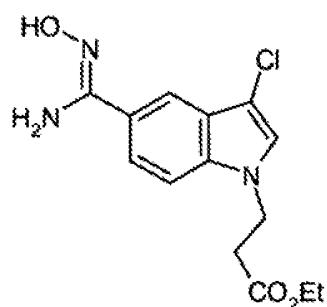
##### 3-(3-Cloro-5-ciano-1*H*-indol-1-il)propanoato de etilo (D95)



Uma mistura de 3-cloro-1*H*-indole-5-carbonitrilo (D94) (1,8 g, 10 mmol), 3-bromopropionato de etilo (1,92 mL, 15 mmol), carbonato de césio (6,5 g, 20 mmol) e DMF (50 mL) foi aquecida a 80 °C durante 4 horas para dar reação completa. Depois de se deixar arrefecer a mistura até à temperatura ambiente, foi adicionado éter dietílico (300 mL) e a solução foi lavada com água ( $3 \times 300$  mL). Foi seca sobre  $\text{MgSO}_4$  e o solvente separado por evaporação para dar um sólido castanho. O sólido foi triturado com a mistura de éter dietílico e hexano para se obter 2,5 g do composto mencionado em título na forma de um sólido acastanhado. Produto cru usado no passo seguinte (síntese de D96).

## DESCRIÇÃO PARA D96

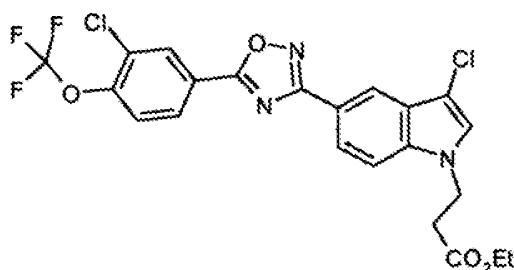
**3-{3-Cloro-5-(hidroxiamino) (imino)metil]-1*H*-indol-1-il}propanoato de etilo (D96)**



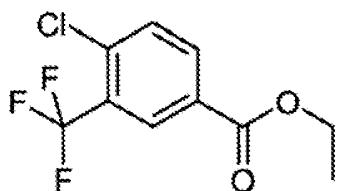
Uma mistura de 3-(3-cloro-5-ciano-1*H*-indol-1-il)-propanoato de etilo (**D95**) (2,0 g, 7,2 mmol), hidrocloreto de hidroxilamina (1,0 g, 14,4 mmol), hidrogenocarbonato de sódio (2,42 g, 28,9 mmol) e etanol (100 mL) foi aquecida a 50 °C ao longo do fim-de-semana. Presentes ainda 25% do material de partida por LC/MS. Foi adicionado hidrocloreto de hidroxilamina (0,5 g, 7,2 mmol) e hidrogenocarbonato de sódio (1,2 g, 14,3 mmol) e a mistura foi aquecida a 50 °C durante 24 horas. Existia apenas uma pequena quantidade de material de partida presente de modo que foi decidido manipular a reação. O material inorgânico foi separado por filtração. O solvente foi evaporado e o resíduo triturado usando acetato de etilo e éter dietílico para produzir 1,9 g do composto mencionado em título na forma de um sólido amarelo pálido. MS (ES) C<sub>14</sub>H<sub>16</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>3</sub> requer 309; encontrado 310 (MH<sup>+</sup>).

## DESCRIÇÃO PARA D97

**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)**

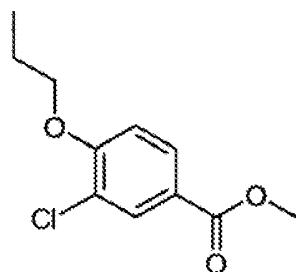


Ácido 3-cloro-4-[ (trifluorometil)oxi]benzóico (comercial: ABCR) (168 mg, 0,70 mmol) em agitação em DMF (6 mL) foi tratado com EDC (146 mg, 0,76 mmol) seguido por HOBr (104 mg, 0,76 mmol). A solução resultante foi agitada durante 15 minutos. Foi adicionado 3-{3-cloro-5-[ (hidroxi-amino) (imino)metil]-1H-indol-1-il}propanoato de etilo (**D96**) (216 mg, 0,70 mmol) e agitou-se à temperatura ambiente durante 45 minutos. A solução foi aquecida a 80 °C durante 6 horas e em seguida deixada em repouso à temperatura ambiente durante a noite. Produto único formado, por LC/MS. Foi adicionado EtOAc (50 mL) e lavou-se com água (50 mL), hidrogenocarbonato de sódio aquoso saturado (50 mL) e água (50 mL). Foi seco sobre MgSO<sub>4</sub> e o solvente separado por evaporação. O resíduo foi cristalizado em etanol para produzir 200 mg de sólido branco. 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> requer 515; encontrado 516 (MH<sup>+</sup>).

**DESCRIÇÃO PARA D98 (ALTERNATIVA À DESCRIÇÃO PARA D28)****4-Cloro-3-(trifluorometil)benzoato de etilo (D98)**

Uma solução de ácido 4-cloro-3-trifluorometil-benzóico (10 g, 44,5 mmol) em etanol (10 mL) foi dividida igualmente entre dois frascos de micro-ondas. Ácido sulfúrico concentrado (0,75 mL) foi adicionado a cada frasco (1,5 mL no total). As reações foram aquecidas no micro-ondas a 120 °C durante 30 minutos no total. As misturas reacionais foram combinadas e concentradas em vácuo. O resíduo foi repartido entre EtOAc (100 mL) e bicarbonato de sódio aq° (100 mL), a fase orgânica foi separada, lavada com bicarbonato de sódio aq° (100 mL) e água (2 × 100 mL) e em seguida seca (separador de fase) e o solvente removido em vácuo para dar o composto mencionado em título (4,126 g) na forma de um óleo incolor. δH (400 MHz, metanol-d<sub>4</sub>) 1,40 (3H, t), 4,41 (2H, quart), 7,76 (1H, d), 8,22 (1H, dd), 8,34 (1H, d).

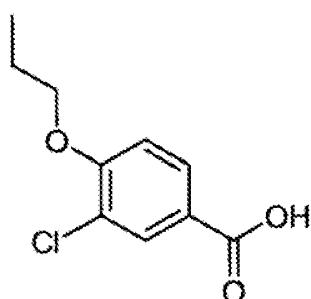
**DESCRIÇÃO PARA D99****3-Cloro-4-(propiloxi)benzoato de metilo (D99)**



4-Hidroxi-3-clorobenzoato de metilo (10 g, 53,6 mmol) foi dissolvido em DMF (110 mL) e em seguida carbonato de potássio (14,8 g, 107,2 mmol) foi adicionado seguido por iodeto de *n*-propilo (10,4 mL, 107,2 mmol). A reação foi aquecida a 70 °C durante a noite, filtrada e em seguida o filtrado foi repartido entre EtOAc e água. A camada orgânica foi separada, seca e evaporada para dar o composto mencionado em título na forma de um óleo (12,37 g).  $\delta$ H (400 MHz, d<sub>6</sub>-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<sub>11</sub>H<sub>13</sub><sup>35</sup>ClO<sub>3</sub> requer 228; encontrado 229 (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D100

#### Ácido 3-cloro-4-(propiloxi)benzóico (D100)

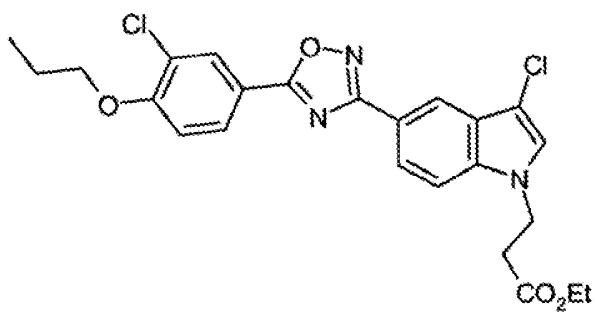


Uma solução de 3-cloro-4-(propiloxi)benzoato de

metilo (**D99**) (12,22 g, 0,053 mol) em etanol (40 mL) e NaOH aq° 2 M (40 mL) foi aquecida a 60 °C durante 3 horas. A reação foi deixada arrefecer e em seguida deixada à temperatura ambiente ao longo do fim-de-semana. A mistura reacional foi vertida numa mistura de HCl aq° diluído e EtOAc. A camada orgânica foi separada, seca e evaporada para dar um sólido que foi triturado com éter para dar o composto mencionado em título na forma de um sólido branco (7,7 g).  $\delta$ H (400 MHz, d<sub>6</sub>-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, br s). MS (ES) C<sub>10</sub>H<sub>11</sub><sup>35</sup>ClO<sub>3</sub> requer 214; encontrado 213 (M-H<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO 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)**

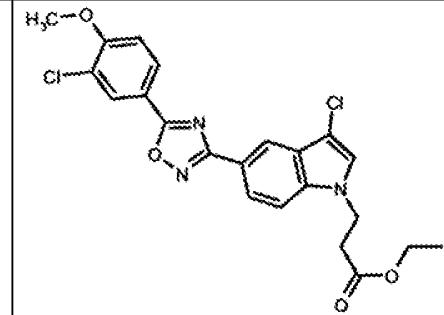
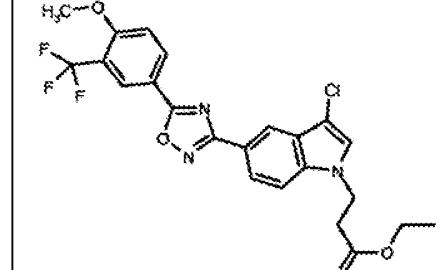


Ácido 3-cloro-4-(propiloxi)benzóico (**D100**)

(150 mg, 0,70 mmol) em agitação em DMF foi tratado com EDC (146 mg, 0,76 mmol) seguido por HOBr (104 mg, 0,76 mmol). A solução resultante foi agitada e 3-{3-cloro-5-[ (hidroxi-amino) (imino)metil]-1H-indol-1-il}propanoato de etilo (**D96**) (216 mg, 0,70 mmol) adicionado. Aqueceu-se a mistura a

80 °C até a reação estar completa. Da manipulação obteve-se o composto mencionado em título na forma de 160 mg de sólido creme pálido.  $\delta$ H (400 MHz, d<sub>6</sub>-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<sub>24</sub>H<sub>23</sub><sup>35</sup>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> requer 487; encontrado 488 (MH<sup>+</sup>).

Os seguintes compostos foram preparados por métodos semelhantes aos descritos acima. As reações foram manipuladas por repartição do material cru entre acetato de etilo e bicarbonato de sódio aq°, separação da camada orgânica, secagem e evaporação até à secura. Os compostos foram purificados por trituração ou cromatografia de fase normal.

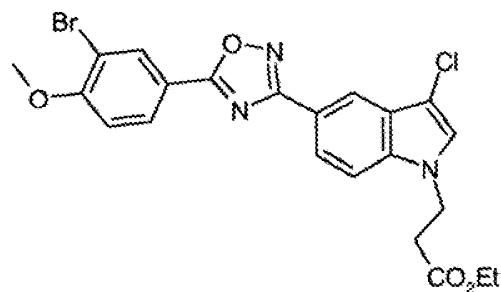
	Estrutura	Precursor	Name	MH <sup>+</sup>
D102		D96	3-(3-chloro-5-{5-[3-chloro-4-(methylsilyloxy)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de etilo	460
D103		D96	3-(3-chloro-5-{5-[4-(methylsilyloxy)-3-(trifluoromethyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de etilo	494

(continuação)

	Estrutura	Precursor	Name	MH <sup>+</sup>
D104		D96	3-[3-chloro-5-(5-(3-cyano-4-[(1-methyl-ethyl)oxy]phenyl)-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]-propanoate de etilo	479
D105		D96	3-(3-chloro-5-{5-[4-nitro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoate de etilo	-

## DESCRÍÇÃO PARA D106

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

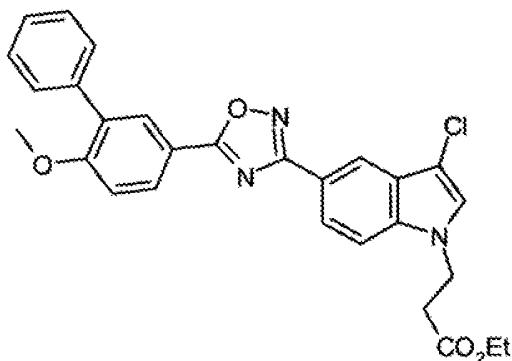


O ácido 3-bromo-4-(metiloxi)benzóico (comercial: ICN) (243 mg, 1,05 mmol) em agitação em DMF (10 mL) foi tratado com EDC (219 mg, 1,14 mmol) seguido por HOBT

(156 mg, 1,14 mmol). A solução resultante foi agitada durante 10 minutos. Foi adicionado 3-{3-cloro-5-[ (hidroxi-amino) (imino)metil]-1*H*-indol-1-il}propanoato de etilo (**D96**) (324 mg, 1,05 mmol) e a mistura agitada à temperatura ambiente durante 45 minutos. A solução foi aquecida a 80 °C durante 4 horas em seguida deixada em repouso durante a noite. A solução foi aquecida a 80 °C durante mais 4 horas para dar um produto principal. DMF foi separada por evaporação, EtOAc foi adicionado (50 mL) e lavou-se com água (50 mL). O EtOAc foi lavado com hidrogenocarbonato de sódio aquoso satº (50 mL) e água (50 mL) em seguida seco sobre MgSO<sub>4</sub>. O solvente foi separado por evaporação e cristalizado em etanol para produzir o composto mencionado em título como 280 mg de sólido creme. 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> requer 505; encontrado 506 (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D107

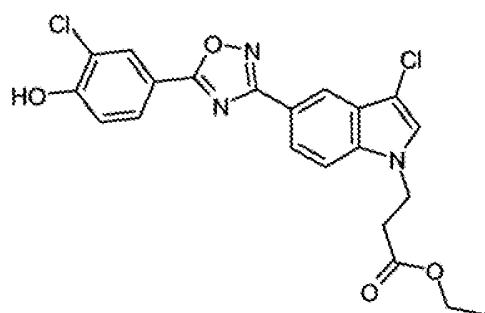
**3-(3-Cloro-5-{5-[6-(metiloxi)-3-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1*H*-indol-1-il}propanoato de etilo (D107)**



3-(5-{5-[3-Bromo-4-(metiloxi)fenil]-1,2,4-oxadi-azol-3-il}-3-cloro-1*H*-indol-1-il)propanoato de etilo (**D106**) (212 mg, 0,42 mmol), ácido fenilborónico (104 mg, 0,84 mmol), Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (20 mg) e solução aquosa 2 N de carbonato de sódio (3 mL, 6 mmol) foram suspensos em DME (6 mL) e aquecidos a 90 °C durante 2 horas. Foi adicionado ácido fenilborónico (30 mg, 0,24 mmol) e Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> (20 mg) e aqueceu-se a 90 °C durante mais 2 horas. Foi adicionado EtOAc (70 mL) e lavou-se com água (100 mL). A mistura foi seca sobre MgSO<sub>4</sub> e o solvente separado por evaporação. O resíduo foi cristalizado em etanol para produzir o composto mencionado em título na forma de 90 mg de sólido acastanhado claro. MS (ES) C<sub>28</sub>H<sub>24</sub><sup>35</sup>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub> requer 501; encontrado 502 (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D108

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

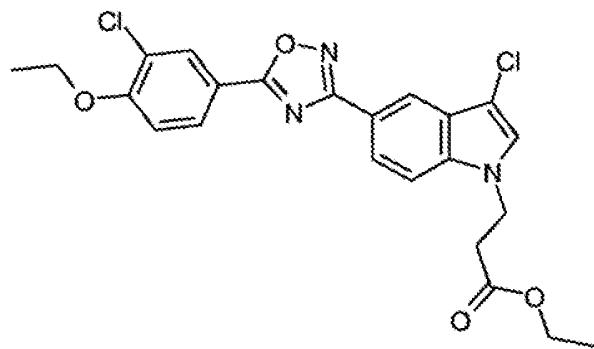


Ácido 3-cloro-4-hidroxibenzóico (comercial) (240 mg, 1,40 mmol) em DMF seca (8 mL) foi tratado com EDC

(292 mg, 1,52 mmol) e HOBT (208 mg, 1,52 mmol) e agitado durante 5 minutos. Foi adicionado 3-{3-cloro-5-[(hidroxi-amino) (imino)metil]-1*H*-indol-1-il}propanoato de etilo (**D96**) (432 mg, 1,40 mmol) e agitou-se à temperatura ambiente durante 30 minutos. A mistura reacional foi aquecida a 80 °C durante 7 horas. Foi adicionado EtOAc (70 mL) e lavou-se com água (70 mL), hidrogenocarbonato de sódio aq° sat° (70 mL) e água (70 mL). A mistura foi seca sobre MgSO<sub>4</sub> e o solvente separado por evaporação. O resíduo foi sujeito a cromatografia usando um Biotage (EtOAc/hexano 1:2) para se obter o composto mencionado em título como 200 mg de sólido branco. 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 largo). 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> requer 445; encontrado 446 (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D109

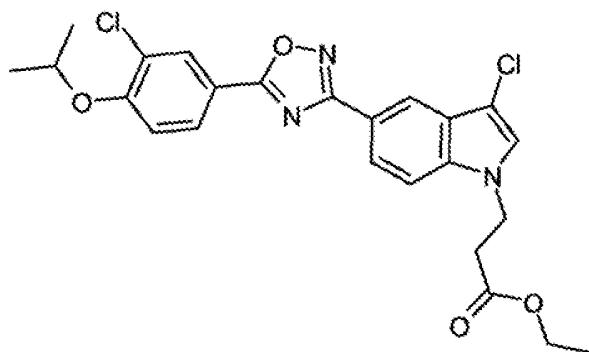
**3-(3-Cloro-5-{5-[3-cloro-4-(etiloxi)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1*H*-indol-1-il)propanoato de etilo (D109)**



A 3-{3-cloro-5-[5-(3-cloro-4-hidroxifenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1*H*-indol-1-il}propanoato de etilo (**D108**) (180 mg, 0,40 mmol) e K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (138 mg, 1,0 mmol) em DMF seca (3 mL) foi adicionada iodeto de etilo (78 mg, 0,50 mmol) e a mistura aquecida a 80 °C com agitação durante 30 minutos. A mistura foi arrefecida e foi adicionado EtOAc (50 mL). Foi lavada com água (3 × 40 mL) e seca sobre MgSO<sub>4</sub>. O solvente foi separado por evaporação e cristalizou-se em etanol para produzir o composto mencionado em título na forma de 110 mg de sólido branco. 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> requer 473; encontrado 474 (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D110

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

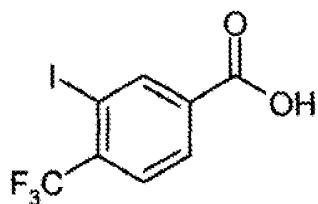


A 3-{3-cloro-5-[5-(3-cloro-4-hidroxifenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1*H*-indol-1-il}propanoato de etilo (**D108**)

(180 mg, 0,40 mmol) e K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (138 mg, 1,0 mmol) em DMF seca (5 mL) foi adicionado iodeto de isopropilo (85 mg, 0,50 mmol) e a mistura foi agitada a 80 °C durante 30 minutos. A mistura foi arrefecida e adicionou-se EtOAc (50 mL). Foi lavada com água (2 × 50 mL) e seca sobre MgSO<sub>4</sub>. Separou-se por evaporação o solvente e cristalizou-se em etanol para produzir o composto mencionado em título na forma de 120 mg de sólido branco. 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> requer 487; encontrado 488 (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D111

#### Ácido 3-iodo-4-(trifluorometil)benzóico (D111)

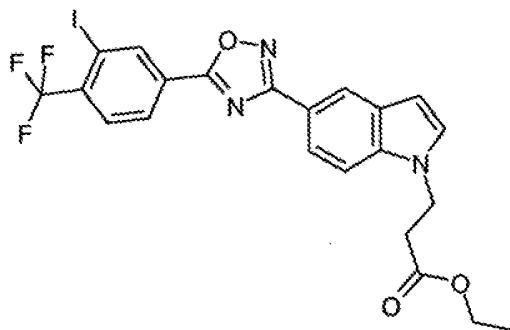


Ácido 3-Amino-4-(trifluorometil)benzóico (comercialmente disponível) (6,5 g, 31,7 mmol) e triiodometano (37,4 g, 95,1 mmol) foram dissolvidos em THF (300 mL). A mistura reacional foi aquecida a 80 °C e em seguida nitrito de butilo (5,56 mL, 47,6 mmol) foi adicionado lentamente a esta temperatura. O aquecimento foi continuado a esta temperatura durante 4 horas e em seguida a reação foi concentrada em vácuo para dar o produto cru. A purificação

por cromatografia em coluna (hexano até 30% de EtOAc em hexano). Este material foi combinado com um outro lote de uma reação semelhante realizada sobre 2 g de ácido 3-amino-4-(trifluorometil)benzóico. O material combinado foi purificado por HPLC preparativa para dar o composto mencionado em título (6,1 g). MS C<sub>8</sub>H<sub>4</sub>F<sub>3</sub>IO<sub>2</sub> requer 316; encontrado 315 (M-H<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D112

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

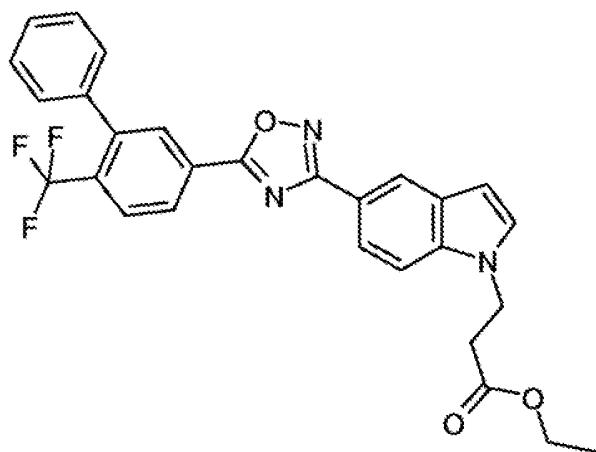


**D111** (1,0 g, 3,16 mmol) foi dissolvido em DMF (25 mL) sob azoto. EDC (0,7 g, 3,7 mmol) e HOBT (0,5 g) foram adicionados. A reação foi agitada à temperatura ambiente durante 15 minutos e em seguida trietilamina (0,87 mL, 6,32 mmol) foi adicionada e a reação foi agitada durante mais 5 minutos. **D52** (0,87 g, 3,16 mmol) foi adicionado e a reação foi agitada à temperatura ambiente durante a noite. A reação foi concentrada em vácuo e o óleo resultante diluído com acetato de etilo (100 mL). A camada orgânica foi lavada com água (2 × 30 mL), seca (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e

concentrada em vácuo para dar o produto cru que foi purificado por cromatografia em coluna. O produto foi eluído em 7% de EtOAc em hexano e a evaporação produziu o composto mencionado em título (0,45 g). MS C<sub>22</sub>H<sub>17</sub>F<sub>3</sub>IN<sub>3</sub>O<sub>3</sub> requer 555; encontrado 556 (MH<sup>+</sup>).

#### DESCRIÇÃO PARA D113

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

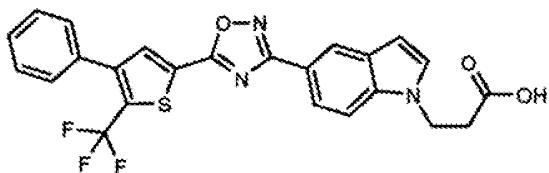


Este material foi preparado por um método semelhante ao usado para **D107** a partir de **D112**. MS (ES) C<sub>28</sub>H<sub>22</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> requer 505; encontrado 506 (MH<sup>+</sup>).

#### EXEMPLOS

##### EXEMPLO 1

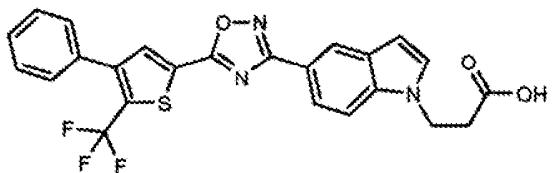
**Ácido 3-(5-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanóico (E1)**



**D3** (38 mg) foi dissolvido em NaOH aquoso 2 M (0,5 mL) e MeOH (0,5 mL) e em seguida foi agitado à temperatura ambiente durante a noite. A análise por LCMS mostrou 41% do produto por isso a mistura reacional foi aquecida a 50 °C e agitada ao longo do fim-de-semana. LCMS mostrou a reação completa. A mistura reacional foi evaporada e em seguida repartida entre H<sub>2</sub>O e DCM. A camada orgânica foi extraída com H<sub>2</sub>O. Os extratos aquoso combinados foram acidificados até pH = 1 e extraídos com DCM. Estes extratos de DCM foram secos sobre MgSO<sub>4</sub>, filtrados e evaporados para darem o produto cru MF105672-149A1 (30 mg). O produto cru foi purificado sobre um cartucho de sílica (12+S), eluindo com uma mistura 0 a 10% de MeOH em DCM para dar o produto purificado. Este foi dissolvido em CHCl<sub>3</sub> e evaporado para dar o composto mencionado em título (3 mg) na forma de um sólido branco. δH (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 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). MS (ES<sup>+</sup>): C<sub>24</sub>H<sub>16</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S requer 483; encontrado 484 (MH<sup>+</sup>).

#### EXEMPLO 1 (PROCEDIMENTO ALTERNATIVO)

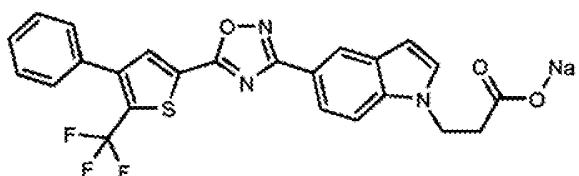
**Ácido 3-(5-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanóico (E1)**



**D3** (600 mg) foi tratado com NaOH aq° 2 M (25 mL) e MeOH (25 mL). Esta mistura foi agitada durante a noite e em seguida aquecida a 50 °C durante 6 horas. O MeOH foi em seguida evaporado e a solução restante acidificada e extraída com EtOAc ( $\times 3$ ). As soluções orgânicas combinadas foram lavadas com água salgada e evaporadas para dar o resíduo cru C (302 mg) na forma de um sólido esbranquiçado. Este foi triturado com MeOH frio para dar o composto mencionado em título (162 mg) na forma de um sólido cinzento.  $\delta\text{H}$  ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz): 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):  $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_3\text{S}$  requer 483; encontrado 484 ( $\text{MH}^+$ ).

#### EXEMPLO 2

**3-(5-{5-[4-Fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propionato de sódio (E2)**

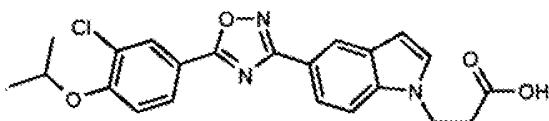


**E1** (30 mg) foi dissolvido em EtOAc (1 mL),

tratado com NaOH aquoso 2 M (40 µL), diluído com H<sub>2</sub>O (1 mL) e extraído com EtOAc (3 × 5 mL), usando um pequeno volume de água salgada durante a terceira extração para ajudar a separação de fases. Os extratos orgânicos combinados foram evaporados para darem o composto mencionado em título (37 mg) na forma de um sólido verde. δH (metanol-d<sub>4</sub>, 400 MHz): 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). MS (ES<sup>+</sup>): C<sub>24</sub>H<sub>16</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S requer 483; encontrado 484 (MH<sup>+</sup>).

### EXEMPLO 3

**Ácido 3-[5-(5-{3-cloro-4-[1-metiletíl]oxi}fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il]propanóico (E3)**

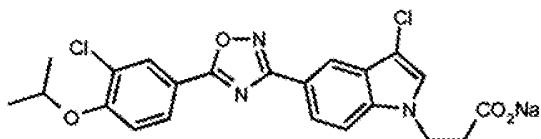


**D6** MF105672-178A2 (38 mg) foi dissolvido em EtOH, tratado com NaOH aquoso 12,5 M (2 mL) e agitado à temperatura ambiente durante 4 horas. A mistura reacional foi evaporada, redissolvida em H<sub>2</sub>O e lavada com éter dietílico. A solução aquosa foi acidificada e em seguida extraída com DCM. As soluções de DCM foram combinadas, secas sobre MgSO<sub>4</sub>, filtradas e evaporadas para dar o composto mencionado em título MF105672-181A1 (5 mg) na forma de um sólido amarelo pálido. δH (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 1,44 (6H, d), 2,94 (2H, t), 4,51 (2H, t), 4,73 (1H, septeto), 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> requer 425; encontrado 426 (MH<sup>+</sup>).

#### EXEMPLO 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 sódio (E4)**

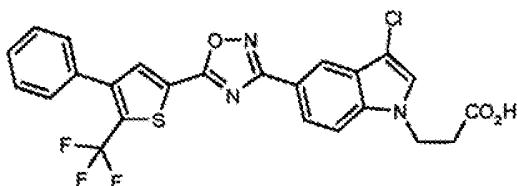


**D7** (200 mg) e Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (336 mg) foram colocados num frasco de micro-ondas, tratados com DMF (2,8 mL) e 3-bromo-propionato de etilo (99 µL) e sujeitos a ultrassons durante 10 minutos. A mistura foi em seguida aquecida a 120 °C num reator de micro-ondas durante 25 min. A mistura reacional foi em seguida evaporada, redissolvida em MeOH (10 mL) e tratada com NaOH aq° 2 M (10 mL). Esta mistura foi sujeita a ultrassons brevemente e em seguida aquecida a 50 °C durante a noite. A mistura reacional foi em seguida evaporada, diluída com H<sub>2</sub>O (70 mL) e extraída com EtOAc, adicionando NaCl e acetona para melhorar a extração. Os extratos orgânicos foram evaporados para darem o produto cru que foi acidificado com HCl para dar o ácido livre. Este foi insuficientemente solúvel para purificação por cromatografia e por isso foi triturado com MeOH, tratado com NaOH aq° 2 M (1,5 eq), evaporado, dissolvido em EtOAc,

filtrado e evaporado para dar o composto mencionado em título (56 mg) na forma de um sólido castanho.  $\delta\text{H}$  (metanol-d<sub>4</sub>, 400 MHz): 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): C<sub>22</sub>H<sub>19</sub><sup>35</sup>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub> requer 459; encontrado 460 (MH<sup>+</sup>).

#### EXEMPLO 5

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

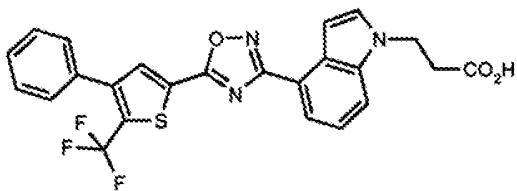


**D8** (86 mg), 3-bromopropionato de (52 mg), Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (126 mg) e DMF (1 mL) foram colocados num frasco de micro-ondas e agitados a 131 °C no reator de micro-ondas durante 1,5 horas. A mistura reacional foi em seguida evaporada até à secura e tratada com NaOH aq° 2 M e EtOH (20 mL). Esta solução foi agitada a 50 °C durante 4 horas e em seguida neutralizada com HCl e evaporada para remover o EtOH. A solução aquosa foi em seguida extraída duas vezes com EtOAc e os extractos combinados evaporados. O resíduo foi dissolvido em DMSO, filtrado, tratado com MeCN causando a precipitação do produto que foi filtrado e lavado com MeCN para dar o composto mencionado em título (23 mg) na forma de um sólido esbranquiçado.  $\delta\text{H}$  (d<sub>6</sub>-DMSO, 400 MHz): 2,47-

2,57 (solvente + 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): C<sub>24</sub>H<sub>15</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>S requer 517; encontrado 516 (M-H<sup>+</sup>).

#### EXEMPLO 6

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

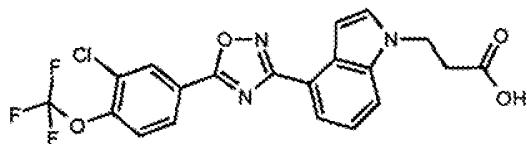


**D10** (85 mg, 0,207 mmol) foi colocado num frasco de micro-ondas com Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (135 mg) e DMF (1 mL). Este foi agitado brevemente e bromopropionato de etilo (40 µL) foi adicionado. A mistura foi aquecida a 130 °C durante 1,5 horas no reator de micro-ondas. A mistura reacional foi transferida para um recipiente contendo NaOH aquoso 2 M (5 mL) e EtOH (5 mL), em seguida agitada à temperatura ambiente durante a noite. A mistura foi em seguida evaporada e o resíduo acidificado até pH = 2,5 com HCl aquoso 2 M. Esta solução foi extraída com EtOAc duas vezes e os extratos combinados evaporados para darem um resíduo amarelo que foi purificado por MDAP para dar o composto mencionado em título (50 mg) na forma de um sólido branco. δH (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): 2,93 (2H, t), 4,50 (2H, t), 7,26 (1H, s), 7,33 (1H, d), 7,37 (1H, t ap), 7,45-7,52 (5H, m), 7,55

(1H, d), 7,93 (1H, s), 8,04 (1H, d). MS (ES) : C<sub>24</sub>H<sub>16</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S requer 483; encontrado 482 (M-H<sup>+</sup>).

#### **EXEMPLO DE REFERÊNCIA 7**

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

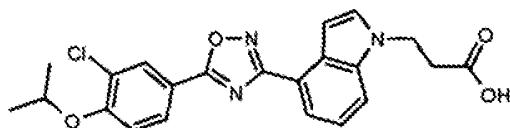


Ácido 3-cloro-4-[ (trifluorometil)oxi]benzóico (fonte comercial) (131 mg), EDCI (1 14 mg) e HOBT (81 mg) foram dissolvidos em DMF (2,5 mL) e agitados à temperatura ambiente durante 10 minutos. 3-{5-[ (Hidroxiamino) (imino)-metil]-1H-indol-1-il}propanoato de etilo (**D57**) (150 mg) em DMF (2,5 mL) foi adicionado e a agitação continuou à temperatura ambiente durante 2 horas. A mistura foi em seguida aquecida a 80 °C durante a noite. A mistura reacional foi evaporada até à secura e em seguida extraída com EtOAc (2 × 25 mL) a partir de H<sub>2</sub>O (25 mL). As soluções orgânicas combinadas foram evaporadas até à secura e o resíduo tratado com EtOH e NaOH aq° 2 M (mistura 1:1, 20 mL). Esta mistura foi agitada a 50 °C durante 2 horas, em seguida evaporada para remover o EtOH. O precipitado resultante foi separado por filtração e lavado com uma mistura de H<sub>2</sub>O e EtOH e em seguida HCl 2 M. O resíduo foi recristalizado em EtOH quente para dar o composto

mencionado em título (62 mg) na forma de um sólido branco.  $\delta\text{H}$  ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz): 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 ( $\text{ES}^-$ ):  $\text{C}_{20}\text{H}_{13}^{35}\text{ClF}_3\text{N}_3\text{O}_4$  requer 451; encontrado 450 ( $\text{M}-\text{H}^+$ ).

#### **EXEMPLO DE REFERÊNCIA 8**

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

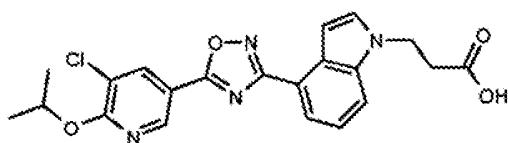


Ácido 3-cloro-4-[(1-metiletílio)oxi]benzóico (**D4**) (117 mg) foi adicionado a EDCI (114 mg) e HOBT (81 mg) dissolvidos em DMF (2,5 mL). Isto foi agitado à temperatura ambiente durante 10 minutos e em seguida 3-{4-[(hidroxi-amino)(imino)métil]-1*H*-indol-1-il}propanoato de etilo (**D57**) (150 mg) em DMF (2,5 mL) foi adicionado e a agitação continuou à temperatura ambiente durante 2 horas e em seguida a 80 °C durante a noite. A mistura reacional foi evaporada até à secura e extraída a partir de  $\text{H}_2\text{O}$  (25 mL) com EtOAc ( $2 \times 25$  mL). Os extractos orgânicos combinados foram evaporados e tratados com NaOH aq° 2 M (10 mL) e EtOH (10 mL), agitados a 50 °C durante 2 horas e em seguida evaporados para remover o EtOH. A solução restante foi acidificada, filtrada e o precipitado lavado com EtO/H<sub>2</sub>O em seguida recristalizado em EtOH quente/H<sub>2</sub>O em seguida em

DMSO. Lavando com Et<sub>2</sub>O e MeOH deu o composto mencionado em título (46 mg) na forma de um sólido branco. δH (d<sub>6</sub>-DMSO, 400 MHz): 1,37 (6H, d), 2,81 (2H, t), 4,50 (2H, t), 4,89 (1H, septeto), 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> requer 425; encontrado 424 (M-H<sup>+</sup>).

#### EXEMPLO DE REFERÊNCIA 9

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

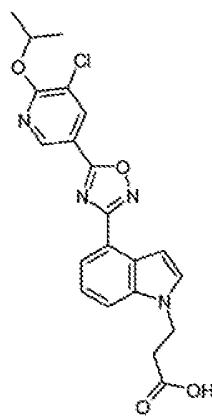


3-[4-[(Hidroxiamino)(imino)methyl]-1*H*-indol-1-yl]-propanoato de etilo (**D57**) (150 mg) em DMF (2,5 mL) foi adicionado a uma solução de ácido 5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinocarboxílico (**D61**) (118 mg), HOBT (81 mg) e EDCI (114 mg) que tinham estado em agitação à temperatura ambiente durante 10 minutos em DMF (2,5 mL). A mistura resultante foi agitada à temperatura ambiente durante 2 horas, em seguida aquecida a 80 °C durante três dias. A mistura reacional foi evaporada até à secura e extraída a partir de H<sub>2</sub>O (25 mL) com EtOAc (2 × 25 mL). Os extractos orgânicos combinados foram evaporados e o resíduo agitado em EtOH/NaOH aq° 2 M (mistura 1:1, 20 mL) a 50 °C durante 2

horas. O EtOH foi evaporado e o precipitado removido por filtração. Este foi acidificado e em seguida purificado por MDAP para dar o composto mencionado em título (48 mg) na forma de um sólido esbranquiçado.  $\delta$ H ( $d_6$ -DMSO, 400 MHz): 1,40 (6H, d), 2,80 (2H, t), 4,50 (2H, t), 5,46 (1H, septeto), 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 $^-$ ): C<sub>21</sub>H<sub>19</sub><sup>35</sup>ClN<sub>4</sub>O<sub>4</sub> requer 426; encontrado 425 (M-H $^+$ ).

**EXEMPLO DE REFERÊNCIA 9 (PROCEDIMENTO ALTERNATIVO)**

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

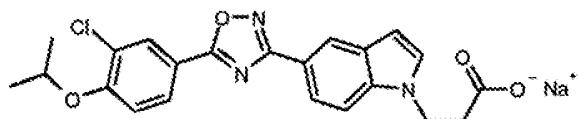


3-[4-(5-{5-Cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1*H*-indol-1-il]propanoato de etilo (**D62**) (1,1 g, 2,418 mmol) foi dissolvido numa mistura de 1,4-dioxano (100 mL) e etanol (100 mL). Água (50,0 mL) foi adicionada seguido por hidróxido de sódio 2 N (2,418 mL, 4,84 mmol). A mistura foi agitada à temperatura ambiente durante uma hora e meia para dar um produto único.

Separou-se por evaporação a maior parte do solvente, acidificou-se com ácido acético glacial, adicionou-se água (50 mL) e extraiu-se o produto em EtOAc (200 mL). Foi lavado com água (30 mL) e seco sobre MgSO<sub>4</sub>. O solvente foi separado por evaporação até um precipitado branco se ter formado. O sólido foi separado por filtração e lavado com éter. A massa de composto mencionado em título obtido foi 780 mg. 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 largo). MS (ES) C<sub>21</sub>H<sub>19</sub><sup>35</sup>ClN<sub>4</sub>O<sub>4</sub> requer 426; encontrado 427 (MH<sup>+</sup>).

#### EXEMPLO DE REFERÊNCIA 10

**3-[5-(5-{3-Cloro-4-[(1-metiletílo)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de sódio (E10)**



(D5) (200 mg) foi dissolvido em DMF (4 mL), tratado com Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (368 mg) e em seguida bromopropionato de etilo (109 μL). A mistura resultante foi aquecida a 120 °C num reator de micro-ondas durante 2 horas. A mistura reacional foi decantada do resíduo insolúvel e evaporada até à secura para dar um óleo laranja pálido. Este óleo foi

dissolvido em EtOH (2 mL) e tratado com NaOH aquoso 2 M (2 mL). Isto produziu um precipitado branco de modo que uma outra porção de EtOH (2 mL) foi adicionada para produzir uma solução homogénea. A mistura resultante foi aquecida a 60 °C durante 1 hora em seguida repousou à temperatura ambiente durante a noite. A mistura reacional foi evaporada até à secura, redissolvida em H<sub>2</sub>O (10 mL), tratada com água salgada (2 mL) e extraída com uma mistura de EtOAc e MeCN (2 × 20 mL). A evaporação deu o produto cru (313 mg) na forma de um sólido verde pálido. Este foi dissolvido em MeOH (5 mL), filtrado e evaporado e em seguida triturado com Et<sub>2</sub>O para dar o composto mencionado em título (247 mg) na forma de um sólido verde pálido. δH (metanol-d<sub>4</sub>, 400 MHz): 1,42 (6H, d), 2,68 (2H, t), 4,48 (2H, t), 4,83 (1H, septeto), 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<sup>-</sup>): C<sub>22</sub>H<sub>20</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub> requer 425 encontrado 424 (M-H<sup>+</sup>).

Os seguintes compostos foram preparados de uma maneira semelhante à do Exemplo 1. O solvente para o passo de hidrólise foi ou metanol ou etanol e a temperatura de reação entre a temperatura ambiente e 60 °C. Nalguns casos, as reações foram manipuladas por extração do produto ou acidificando o produto num solvente orgânico e outros casos o composto final precipitou na camada aquosa e foi isolado por filtração. A purificação foi por MDAP, trituração ou recristalização.

Exemplo	Estrutura	Nome	Comentários	MS
de Referência E11		Ácido (5-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tie-til]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)acético	Hidrólise de <b>D42</b>	470 ( $\text{MH}^+$ )
de Referência E12		3-[3-Bromo-5-(5-{3-chloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]-propanoato de sódio	Hidrólise de <b>D43</b>	504 ( $\text{M-H}^+$ para $^{35}\text{Cl}$ e $^{81}\text{Br}$ )
de Referência E13		5-[5-(5-{3-chloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]-pentanoato de sódio	Hidrólise de <b>D44</b>	454 ( $\text{MH}^+$ para $^{35}\text{Cl}$ )
de Referência E14		Ácido 4-[5-(5-{3-chloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanóico	Hidrólise de <b>D45</b>	( $\text{MH}^+$ para $^{35}\text{Cl}$ )
de Referência E15		Ácido (2R)-3-[5-(5-{3-chloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]-2-metilpropanoico	Hidrólise de <b>D46</b>	440 ( $\text{MH}^+$ para $^{35}\text{Cl}$ )

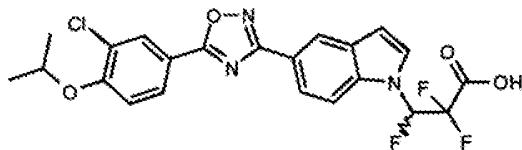
(continuação)

Exemplo	Estrutura	Name	Comentários	MS
de Referência E16		Ácido (2S)-3-[5-(5-{3-chloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadi-azol-3-il)-1H-indol-1-il]-2-metilpropanóico	Hidrólise de <b>D47</b>	440 ( $\text{MH}^+$ para $^{35}\text{Cl}$ )
de Referência E17		Ácido 2,2-dimetyl-3-(5-{5-[4-fenil-5-(trifluoromethyl)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanóico	Hidrólise de <b>D48</b>	512 ( $\text{MH}^+$ )

## EXEMPLO DE REFERÊNCIA 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-trifluoropropanóico**

(E18)

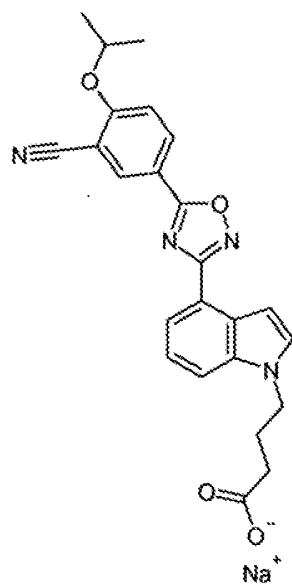


**D5** (200 mg),  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (552 mg) e DMF (2,8 mL) foram agitados à temperatura ambiente e tratados com ácido 3-bromo-2,2,3-trifluoropropanóico (175 mg). Esta mistura foi aquecida a 140 °C durante 1 hora num reator de micro-ondas. 2 outros equivalentes de  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  (368 mg) foram adicionados e o aquecimento continuou a 140 °C durante 10

horas. A mistura reacional foi em seguida evaporada, tratada com H<sub>2</sub>O, agitada e filtrada para dar um resíduo sólido castanho. Este foi purificado por MDAP para dar o composto mencionado em título (12 mg) na forma de um sólido branco. δH (metanol-d<sub>4</sub>, 400 MHz): 1,42 (6H, d), 4,83 (1H, septeto), 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).

#### EXEMPLO DE REFERÊNCIA 19

**4-[4-(5-{3-Ciano-4-[(1-metiletílio)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoato de sódio (E19)**

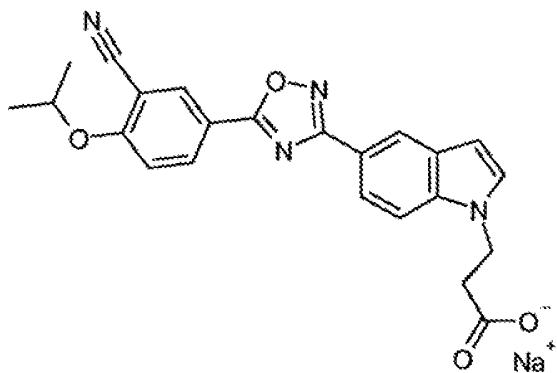


Uma solução de 4-[4-(5-{3-ciano-4-[(1-metiletílio)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoato de etilo (**D65**) (1,42 g, 3,09 mmol) numa mistura de dioxano (70 mL) e etanol (70 mL) foi tratada com hidróxido de sódio

2 N (1,86 mL, 3,71 mmol) seguido por água (35 mL). A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 4 horas. Separou-se por evaporação a maior parte do solvente e separou-se por filtração o sólido branco do solvente restante. Lavou-se o sólido com água seguido por éter e foi seco para dar 580 mg do composto mencionado em título.  $\delta$ H (400 MHz, metanol-d<sub>4</sub>) 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<sub>24</sub>H<sub>22</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> requer 430; encontrado 431 (MH<sup>+</sup>).

#### EXEMPLO DE REFERÊNCIA 20

**3-[5-(5-{3-Ciano-4-[(1-metiletílio)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de sódio**

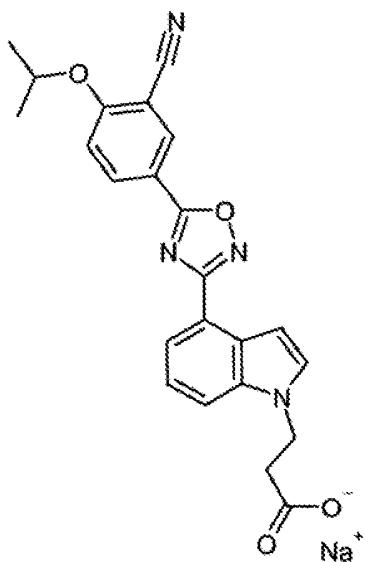


3-[5-(5-{3-Ciano-4-[(1-metiletílio)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de etilo (**D53**) (150 mg, 0,38 mmol) foi dissolvido em etanol (25 mL) por aquecimento a 60 °C. Deixou-se a solução arrefecer até à temperatura ambiente em seguida hidróxido de sódio 2 N (3

mL, 6 mmol) foi adicionado. A solução foi agitada à temperatura ambiente durante 30 minutos. LC/MS mostrou um produto único. Separou-se por evaporação o etanol e separou-se por filtração o sólido que precipitou da solução. A massa do composto mencionado em título na forma de um sólido castanho claro obtida na secagem foi de 50 mg.  $\delta$ H (400 MHz, d<sub>6</sub>-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<sub>23</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> requer 416; encontrado 417 (MH<sup>+</sup>).

#### EXEMPLO DE REFERÊNCIA 21

**3-[4-(5-{3-Ciano-4-[(1-metiletílio)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1*H*-indol-1-il]propanoato de sódio (E21)**

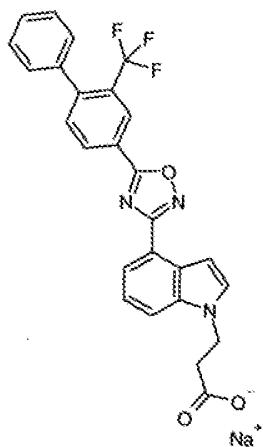


3-[4-(5-{3-Ciano-4-[(1-metiletílio)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1*H*-indol-1-il]propanoato de etilo

(D63) (81 mg, 0,18 mmol) foi dissolvido em etanol por aquecimento a 50 °C. Foi adicionado hidróxido de sódio 2 N (0,25 mL, 0,5 mmol) seguido por água (2 mL), aqueceu-se a 50 °C para dar uma solução límpida, em seguida deixada em repouso à temperatura ambiente durante 30 minutos. LC/MS mostrou um produto único. O etanol foi separado por evaporação para se obter um precipitado que foi separado por filtração e seco. A massa do composto mencionado em título na forma de um sólido castanho pálido obtida foi 60 mg. δH (400 MHz, d<sub>6</sub>-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<sub>23</sub>H<sub>20</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub> requer 416; encontrado 417 (MH<sup>+</sup>).

#### EXEMPLO DE REFERÊNCIA 22

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

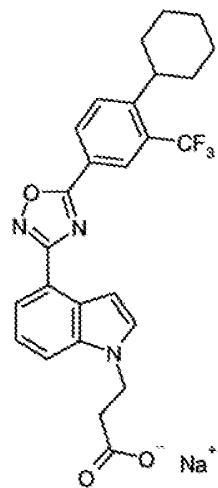


3-(4-{5-[2-(Trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-

-oxadiazol-3-il}-1*H*-indol-1-il)propanoato de etilo (**D64**) (15 mg, 0,31 mmol) foi dissolvido em etanol (50 mL) por aquecimento a 40 °C durante 10 minutos e em seguida hidróxido de sódio 2 N (4 mL, 8 mmol) foi adicionado seguido por água (8 mL). A solução foi deixada em repouso durante 1 hora. Separou-se por evaporação o etanol e separou-se por filtração o sólido esbranquiçado. A massa do composto mencionado em título na forma de um bege obtida na secagem foi 42 mg. δH (400 MHz, metanol-d<sub>4</sub>) 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<sub>26</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> requer 477; encontrado 478 (MH<sup>+</sup>).

#### EXEMPLO DE REFERÊNCIA 23

**3-(4-{5-[4-Ciclo-hexil-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1*H*-indol-1-il)propanoato de sódio (E23)**

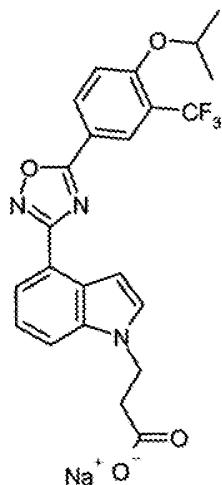


3-(4-{5-[4-Ciclo-hexil-3-(trifluorometil)fenil]-

1,2,4-oxadiazol-3-il}-1*H*-indol-1-il)propanoato de etilo (**D69**) (63 mg, 0,123 mmol) foi dissolvido em etanol (8 mL) e hidróxido de sódio (2 M, 0,5 mL, 1,000 mmol) foi adicionado. A reação foi aquecida a 40 °C durante 18 h. LCMS mostrou conversão completa ao produto. A mistura reacional foi concentrada em vácuo e o sólido branco separou-se por filtração e foi lavado com água. Na filtração, muito do composto foi redissolvido e passou através do filtro, por isso o sólido e filtrado foram combinados e separados entre diclorometano (10 mL) e HCl 2 M (3 mL). A fase aquosa foi extraída com mais diclorometano (10 mL). As fases orgânicas foram isoladas por separador de fase, combinadas e o solvente removido em vácuo. O sólido foi em seguida dissolvido em acetonitrilo e água com adição de uma quantidade equimolar de hidróxido de sódio (2 M, 53 µL) antes da solução ser seca por congelação para dar o composto mencionado em título (42 mg) na forma de um sólido branco. δH (metanol-d<sub>4</sub>, 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 apar.), 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<sub>26</sub>H<sub>24</sub>F<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub> requer 483; encontrado 482 (M-H<sup>+</sup>).

**EXEMPLO DE REFERÊNCIA 24**

**3-(4-{5-[4-[(1-Metiletílo)oxi]-3-(trifluorometil)fenil]-1,-2,4-oxadiazol-3-il}-1*H*-indol-1-il)propanoato de sódio (E24)**



A uma suspensão 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) em etanol (8 mL) foi adicionado hidróxido de sódio aquoso (2 M, 0,8 mL, 1,6 mmol) e a reação aquecida a 50 °C para dissolver os reagentes antes de aquecimento a 40 °C durante 1H. O solvente foi removido em vácuo e o resíduo repartido entre acetato de etilo (20 mL) e água (20 mL) e acidificado com ácido clorídrico aquoso (2M). A fase aquosa foi extraída com mais acetato de etilo (2 × 20 mL) e os extractos orgânicos combinados secos (separador de fase) e concentrados em vácuo. O sólido foi em seguida dissolvido em acetonitrilo e água com adição de uma quantidade equimolar de hidróxido de sódio (2 M) antes da solução ser seca por congelação para dar o composto mencionado em 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 apar.), 7,00 (1H, dd) 4,99 (1H, septeto), 4,38 (2H, t), 2,34 (2H, t), 1,36 (6H, d). MS (ES):  $C_{23}H_{20}F_3N_3O_4$  requer 459; encontrado 460 ( $MH^+$ ).

Os seguintes exemplos foram preparados por reações de hidrólise semelhantes às descritas acima. Pelo menos dois equivalentes de hidróxido de sódio foram usados. O solvente foi ou etanol ou metanol. Nalguns casos, foi usado um cossolvente (diclorometano ou dioxano) para ajudar a dissolução do material de partida. As reações foram realizadas a uma temperatura entre a temperatura ambiente e 50 °C. Nalguns casos, algum ou todo o solvente foi removido depois da reação estar completa. As reações foram quer manipuladas por partição entre uma camada orgânica e uma aquosa que por filtração do produto sólido do solvente aquoso. Nalguns casos os produtos crus foram purificados por trituração. Os produtos foram ou isolados na forma do ácido ou de sal de sódio.

Exemplo	Estrutura	Precursor	Name	MS
de Referência E25		D73	[4-(5-{3-cloro-4-[ (1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]acetato de sódio	412 ( $\text{MH}^+$ para $^{35}\text{Cl}$ )
de Referência E26		D74	[4-(5-{3-ciano-4-[ (1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]acetato de sódio	403 ( $\text{MH}^+$ )

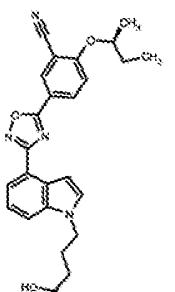
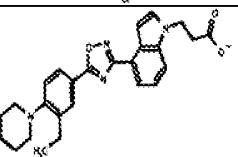
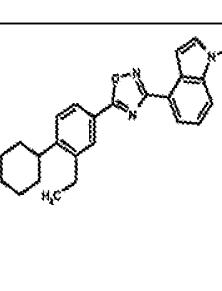
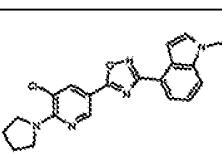
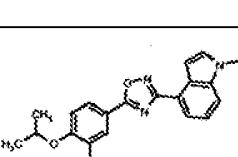
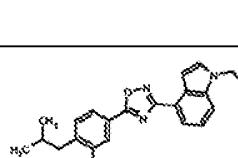
(continuação)

Exemplo	Estrutura	Precursor	Name	MS
de Referência E27		D76	3-(4-{5-[2'-fluoro-2-(trifluoromethyl)-4-bifenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de sódio	496 ( $\text{MH}^+$ )
de Referência E28		D77	4-[4-(5-{3-chloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoato de sódio	440 ( $\text{MH}^+$ para $^{35}\text{Cl}$ )
de Referência E29		D78	4-[4-(5-{3-chloro-4-[(trifluoromethyl)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoato de sódio	466 ( $\text{MH}^+$ para $^{35}\text{Cl}$ )
de Referência E30		D79	hidrocloreto do ácido 4-[4-(5-{5-chloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3- $^{35}\text{Cl}$ -piridinil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]butanoico	441 ( $\text{MH}^+$ para

(continuação)

Exemplo	Estrutura	Precursor	Name	MS
de Referência E31		D80	ácido 4-(4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1 <i>H</i> -indol-1-il]butanóico	498 ( $\text{MH}^+$ )
de Referência E32		D81	ácido 4-(4-{5-[2-(trifluorometil)-4-bifenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1 <i>H</i> -indol-1-il]butanóico	492 ( $\text{MH}^+$ )
de Referência E33		D82	ácido 3-(4-{5-[4-(metiloxi)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1 <i>H</i> -indol-1-il)propanóico	432 ( $\text{MH}^+$ )
de Referência E34		D83	4-{4-[5-(3-ciano-4-[(1 <i>R</i> )-1-metilpropiloxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1 <i>H</i> -indol-1-il}butanoato de sódio	445 ( $\text{MH}^+$ )

(continuação)

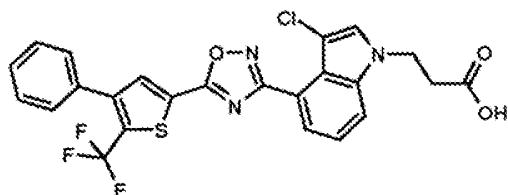
Exemplo	Estrutura	Precursor	Name	MS
de Referência E35		D84	Ácido 4-{4-[5-(3-ciano-4-[(1S)-1-metilpropil]oxi)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il}butanóico	445 ( $\text{MH}^+$ )
de Referência E36		D85	3-(4-{5-[3-etil-4-(1-piperidinil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)-propanoato de sódio	445 ( $\text{MH}^+$ )
de Referência E37		D86	3-{4-[5-(4-ciclohexil-3-etyl)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il}propanoato de sódio	444 ( $\text{MH}^+$ )
de Referência E38		D87	ácido 3-(4-{5-[5-cloro-6-(1-pirrolidinil)-3-piridinil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanóico	438 ( $\text{MH}^+$ para $^{35}\text{Cl}$ )
de Referência E39		D88	ácido 4-[4-(5-{3-bromo-4-[(1-metil-etyl)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanóico	484 ( $\text{MH}^+$ para $^{79}\text{Br}$ )
de Referência E40		D89	ácido 4-(4-{5-[3-cloro-4-(2-metil-propil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)butanóico	438 ( $\text{MH}^+$ para $^{35}\text{Cl}$ )

(continuação)

Exemplo	Estrutura	Precursor	Name	MS
de Referência E41		D90	3-(4-{5-[4-(2-metilpropil)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de sódio	456 (M-H <sup>+</sup> )
de Referência E42		D91	ácido 4-(4-{5-[3-ciano-4-(2-metil-propil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)butanóico	429 (MH <sup>+</sup> para <sup>35</sup> Cl)
de Referência E43		D92	ácido 4-{4-[5-(2-ciano-4-bifenilil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]-1H-indol-1-il}butanóico	447 (M-H <sup>+</sup> )

## EXEMPLO DE REFERÊNCIA 44

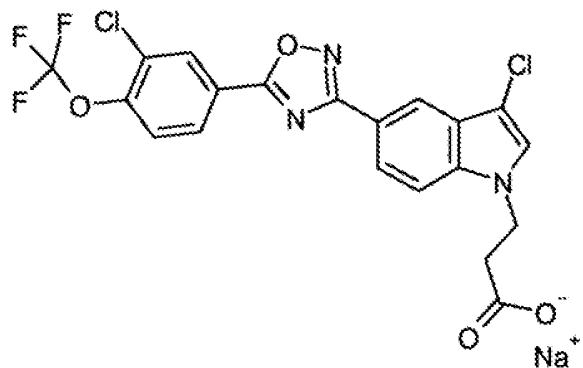
Ácido 3-(3-cloro-4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanóico (E44)



Este material foi preparado de uma maneira semelhante a **E5** (a partir de **D93**) exceto que o passo de alquilação levou 4,5 h no micro-ondas e o passo de hidrólise foi realizado à temperatura ambiente durante a noite. MS (ES): C<sub>24</sub>H<sub>15</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>S requer 517; encontrado 516 (M-H<sup>+</sup>).

#### EXEMPLO DE REFERÊNCIA 45

**3-[3-Cloro-5-(5-{3-cloro-4-[ (trifluorometil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de sódio (E45)**

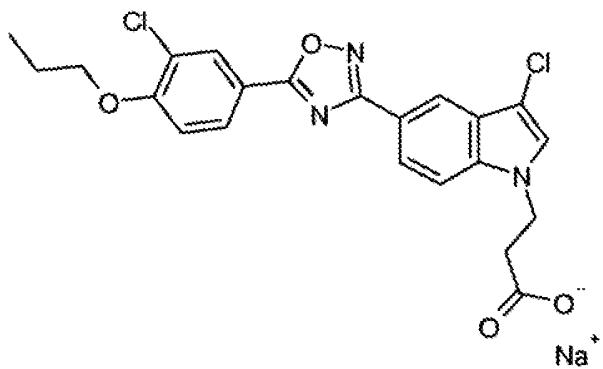


A 3-[3-cloro-5-(5-{3-cloro-4-[ (trifluorometil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de etilo (**D97**) (150 mg, 2,9 mmol) em etanol (10 mL) foi adicionado NaOH 2 N (2 mL, 4 mmol) e a mistura foi aquecida

a 50 °C durante 30 minutos. Separou-se por evaporação o etanol e separou-se por filtração o sólido creme pálido que tinha precipitado da solução restante. A massa do composto mencionado em título obtida na secagem foi 100 mg.  $\delta\text{H}$  (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)  $C_{20}\text{H}_{12}^{35}\text{Cl}_2\text{F}_3\text{N}_3\text{O}_4$  requer 485; encontrado 486 ( $\text{MH}^+$ ).

#### EXEMPLO 46

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



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**) (120 mg, 2,5 mmol) em etanol (10 mL) foi adicionado NaOH 2 N (2 mL) e a mistura foi aquecida a 50 °C durante 30 minutos. Separou-se por evaporação o etanol e separou-se por filtração o sólido branco que tinha precipitado da solução restante. A massa do composto mencionado em título obtida na secagem foi de 85 mg.  $\delta\text{H}$  (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)  $C_{22}H_{19}^{35}Cl_2N_3O_4$  requer 459; encontrado 460 ( $MH^+$ ).

Os seguintes exemplos foram preparados por um método semelhante ao descrito acima, usando 2-60 equivalentes de hidróxido de sódio (Quadro 8). As reações foram manipuladas por remoção do etanol e filtração do sólido resultante ou extração do produto em acetato de etilo. Se requerido, os produtos foram purificados por trituração com éter.

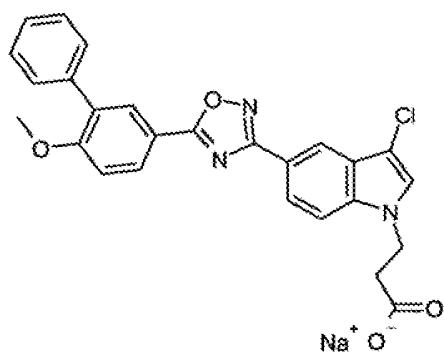
Exemplo	Estrutura	Precursor	Nome	MS
de Referência E47		D102	3-(3-chloro-5-{5-[3-chloro-4-(methyloxy)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-3-yl}-1H-indol-1-yl)propanoato de sódio	430, 432 ( $MH^+$ para $^{35}Cl_2$ , $^{35}Cl^{37}Cl$ )
de Referência E48		D103	3-(3-chloro-5-{5-[4-(methyloxy)-3-(trifluoromethyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-3-yl}-1H-indol-1-yl)propanoato de sódio	466 ( $MH^+$ para $^{35}Cl$ )
de Referência E49		D109	3-(3-chloro-5-{5-[3-chloro-4-(ethoxy)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-3-yl}-1H-indol-1-yl)propanoato de sódio	444, 446 ( $MH^+$ para $^{35}Cl_2$ , $^{35}Cl^{37}Cl$ )

(continuação)

Exemplo	Estrutura	Precursor	Name	MS
de Referência E50		D104	3-[3-chloro-5-(5-{3-ciano-4-[(1-methyl-ethyl)oxy]phenyl}-1,2,4-oxadiazol-3-il)-1H-indol-1-il]propanoato de sódio	451 ( $\text{MH}^+$ para $^{35}\text{Cl}$ )
de Referência E51		D105	3-(3-chloro-5-{5-[4-nitro-3-(trifluoromethyl)phenyl]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de sódio	478, 480 em ES <sup>-</sup>

## EXEMPLO DE REFERÊNCIA 53

**3-(3-Cloro-5-{5-[6-(metiloxi)-3-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de sódio (E53)**

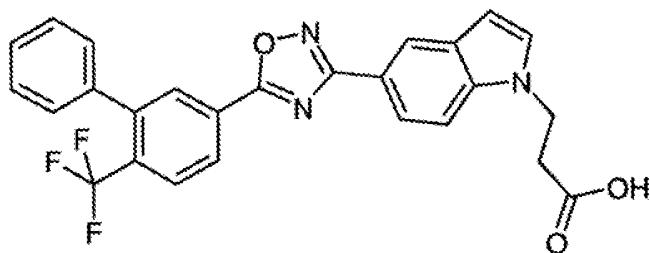


3-(3-Cloro-5-{5-[6-(metiloxi)-3-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1H-indol-1-il)propanoato de etilo (**D107**) (90 mg, 0,18 mmol) foi aquecido em etanol (10 mL) para dar uma solução límpida. Esta solução foi tratada com hidróxido de sódio 2 N (3 mL, 6 mmol) e agitada a 50 °C durante 30

minutos. Separou-se por evaporação o etanol e separou-se por filtração o sólido branco que precipitou da solução, lavando bem o sólido com uma pequena quantidade de água e éter. Agitou-se o sólido numa pequena quantidade de acetona durante 1 hora, foi filtrado, lavado com uma pequena quantidade de éter e seco para produzir o composto mencionado em título na forma de 45 mg de sólido branco.  $\delta\text{H}$  (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)  $C_{26}H_{20}^{35}\text{ClN}_3\text{O}_4$  requer 473; encontrado 474 ( $M\text{H}^+$ ).

#### EXEMPLO 54

**Ácido 3-(5-{5-[6-(trifluorometil)-3-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}-1*H*-indol-1-il)propanóico (E54)**



Este material foi preparado por um método semelhante para preparar **E53**. O solvente foi uma mistura de etanol e 1,4-dioxano e foram usados 0,071 mL de NaOH aq° 2 M para hidrolisar 51 mg de **D113**. MS (ES)  $C_{26}H_{18}F_3N_3O_3$  requer 477; encontrado 476 ( $M\text{-H}^+$ ).

**ENSAIO DE LIGAÇÃO DE GTP $\gamma$ S**

Células de leucemia basofílica de ratazana (RBL ou LBR) expressando estavelmente o recetor S1P1 foram postas a crescer até 80% de confluência antes de serem colhidas em 10 mL de salina tamponada por fosfato (PBS) e centrifugadas a 1200 rpm durante 5 minutos. Após remoção do sobrenadante, o pelete foi ressuspenso e homogeneizado em 20 volumes de tampão de ensaio (HEPES 20 mM pH 7,4, NaCl 100 mM, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 10 mM, GDP 10  $\mu$ M, saponina 10  $\mu$ g/mL). A suspensão de membrana foi ainda centrifugada durante 20 minutos a 20 000 rpm, re-homogeneizada e turbilhonada outra vez. A seguir à segunda centrifugação, o pelete foi ressuspenso num volume apropriado (1 mL para cada frasco de células) e ensaiado à concentração de proteína.

Estoque concentrado de S1P foi sujeito a ultrassons antes de diluições em série serem preparadas a partir de uma concentração de partida de 10<sup>-5</sup> M. Membranas diluídas (10  $\mu$ g/cavidade) foram incubadas com várias concentrações de S1P e <sup>35</sup>S-GTP $\gamma$ S 0,3 nM (NEN; atividade específica 1250 Ci/ mmol) em 96 placas de cavidade profunda. A ligação foi realizada a 30 °C durante 45 minutos e terminada pela colheita das membranas sobre placas de filtro GF/B usando um colhedor Packard Universal. Após secagem das placas durante 45 minutos, 50  $\mu$ L de Microscint 0 foram adicionados a cada cavidade e a ligação medida num Topcount NXT (Perkin Elmer). Os dados foram analisados usando Graphpad Prism 4 e expressos como

percentagem de estimulação acima da basal. Os Valores  $CE_{50}$  foram definidos como a concentração de agonista requerida para dar 50% da estimulação máxima.

**Preparação da membrana (método alternativo)**

Para as preparações de membrana todos os passos foram realizadas a 4 °C. Células de hepatoma de ratazana estavelmente expressando o recetor S1P1 humano ou células de leucemia basofílica de ratazana (RBL) estavelmente expressando o recetor S1P3 humano foram postas a crescer até 80% de confluência antes de serem colhidas em 10 mL de salina tamponada por fosfato (PBS) e centrifugadas a 1200 rpm durante 5 minutos. Após remoção do sobrenadante, o pelete foi ressuspenso e as células foram homogeneizadas dentro de um misturador Waring de vidro durante 2 tempos de funcionamento de 15 s em 200 mL de tampão (HEPES 50 mM, leupeptina 1 mM, bacitracina 25 µg/ mL, EDTA 1 mM, PMSF 1 mM, pepstatina A 2 µM). O recipiente misturador foi mergulhado em gelo durante 5 min após o primeiro tempo de funcionamento e 10-40 min após o tempo de funcionamento final para permitir à espuma dissipar. O material foi em seguida turbilhonado a 500 g durante 20 min e o sobrenadante turbilhonado durante 36 min a 48 000 g. O pelete foi ressuspenso no mesmo tampão que acima mas sem PMSF e pepstatina A. O material foi em seguida forçado através de uma agulha de 0,6 mm, até fazer o volume requerido (usualmente ×4 o volume do pelete celular original), aliquotado e armazenado congelado a -80 °C.

**ENSAIO DE S1P1—GTP $\gamma$ S (método alternativo)**

Membranas de hepatoma de ratazana de S1P1 humano ( $1,5 \mu\text{g}/\text{cavidade}$ ) foram aderidas a pérolas de ensaio de proximidade de cintilação (SPA) revestidas de aglutinina de germe de trigo (WGA) ( $0,125 \text{ mg}/\text{cavidade}$ ) em tampão de ensaio (HEPES 20 mM,  $\text{MgCl}_2$  10 mM, NaCl 100 mM e pH ajustado a 7,4 usando KOH 5 M, GDP 10  $\mu\text{M}$  FAC (ou CFE -concentração final no ensaio) e saponina 90  $\mu\text{g}/\text{mL}$  FAC foi também adicionado).

Após 30 minutos de pré-acoplamento em gelo a suspensão de pérola e membrana foi dispensada numa placa LV de 384 cavidades de polipropileno Greiner ( $5 \mu\text{l}/\text{cavidade}$ ), contendo  $0,1 \mu\text{l}$  do composto.  $5 \mu\text{l}/\text{cavidade}$  de [ $^{35}\text{S}$ ]-GTP $\gamma$ S (conc. de radioligando final 0,5 nM) feito em tampão de ensaio foi em seguida adicionado a placas de agonista. O coquetel de ensaio final ( $10,1 \mu\text{l}$ ) foi em seguida centrifugado a 1000 rpm durante 5 minutos e em seguida lido imediatamente num leitor Viewlux.

Todos os compostos de teste foram dissolvidos em DMSO numa concentração de 10 mM e foram preparados em DMSO 100% usando um passo de diluição 1 em 4 para proporcionar curvas de resposta a dose de 11 pontos. As diluições foram transferidas para as placas de ensaio assegurando que a concentração de DMSO estava constante ao longo da placa para todos os ensaios.

Todos os dados foram normalizados para a média de 16 de alto e 16 de baixo controlo cavidades em cada placa. Um ajustamento de curva de quatro parâmetros foi em seguida aplicado.

Os compostos da invenção exemplificados que foram testados neste ensaio tinham  $pCE_{50} > 5$ .

### **S1P3**

Membranas S1P3 de células de leucemia basofílica de ratazana (RBL-2H3) (1,5  $\mu\text{g}/\text{cavidade}$ ) foram aderidas a pérolas SPA revestidas de WGA (0,125 mg/cavidade) em tampão de ensaio (HEPES 20 mM, MgCl<sub>2</sub> 3 mM, NaCl 100 mM e pH ajustado a 7,4 usando KOH 5 M), GDP 10  $\mu\text{M}$  FAC e saponina 90  $\mu\text{g}/\text{mL}$  FAC foram também adicionados).

Após 30 minutos de pré-acoplamento em gelo a suspensão de pérola e membrana foi dispensada numa placa LV de 384 cavidades de polipropileno Greiner (5  $\mu\text{l}/\text{cavidade}$ ), contendo 0,1  $\mu\text{l}$  do composto. 5  $\mu\text{l}/\text{cavidade}$  de [<sup>35</sup>S]-GTPyS (conc. de radioligando final 0,5 nM) feito em tampão de ensaio foi em seguida adicionado a placas de agonista. O coquetel de ensaio final (10,1  $\mu\text{l}$ ) foi em seguida centrifugado a 1000 rpm durante 5 minutos e em seguida lido imediatamente num leitor Viewlux.

Todos os compostos de teste foram dissolvidos em

DMSO numa concentração de 10 mM e foram preparados em DMSO 100% usando um passo de diluição 1 em 4 para proporcionar curvas de resposta a dose de 11 pontos. As diluições foram transferidas para as placas de ensaio assegurando que a concentração de DMSO estava constante ao longo da placa para todos os ensaios.

Todos os dados foram normalizados para a média de 16 de alto e 16 de baixo controlo cavidades em cada placa. Um ajustamento de curva de quatro parâmetros foi em seguida aplicado.

Os compostos exemplificados testados neste ensaio tinham  $pCE_{50} < 6$ , muitos tinham  $pCE_{50} < 5$ .

#### **ENSAIO DE LEVEDURA**

Células de levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) expressando o recetor S1P1 humano foram geradas por integração de uma cassette de expressão no sitio cromossómico *ura3* de estirpe de levedura MMY23. Esta cassette consistiu de sequência de DNA codificando o recetor S1P1 humano flanqueado pelo promotor GPD de levedura à extremidade 5' de S1P1 e uma sequência terminadora transcricional de levedura à extremidade 3' de S1P1. MMY23 expressa uma subunidade alfa de proteína G quimérica de levedura/mamífero em que os 5 aminoácidos C-terminal de Gpa1 são trocados com os 5 aminoácidos C-terminal de Gai1/2 humano (conforme descrito em Brown et al., Yeast,

**16** (2000) 11-22). As células foram postas a crescer a 30 °C em meio de levedura Sintético Completo (SC) líquido (Guthrie e Fink, *Methods in Enzymology*, **194** (1991)) faltando uracilo, triptofana, adenina e leucina à última fase logarítmica (aproximadamente 6 OD<sub>600</sub>/mL).

Os agonistas foram preparados como soluções 10 mM em DMSO. Os valores CE<sub>50</sub> (a concentração requerida para produzir 50% de resposta máxima) foram estimados usando diluições 4 vezes (BiomekFX, Beckman) em DMSO. As soluções de agonista em DMSO (volume de ensaio final 1%) foram transferidas para placas de microtitulação pretas de Greiner (384 cavidades). As células foram suspensas a uma densidade de 0,2 OD<sub>600</sub>/mL em meio SC com falta de histidina, uracilo, triptofana, adenina e leucina e suplementado com 3-aminotriazole 0,1 mM, fosfato de sódio 0,1 M pH 7,0, e fluoresceína di-β-D-glucopiranósido (FDGIu) 10 µM. Esta mistura (50µL por cavidade) foi adicionada a agonista nas placas de ensaio (Multidrop 384, Labsystems). Após incubação a 30 °C durante 24 horas, a fluorescência resultante da degradação de FDGIu a fluoresceína devida a exoglucanase, uma enzima de levedura endógena produzida durante o crescimento celular estimulado por agonista, foi determinada usando um leitor de placa de microtitulação de fluorescência (Tecan Spectrofluor ou L JL Analyst, comprimento de onda de excitação: 485 nm; comprimento de onda de emissão: 535 nm). A fluorescência foi representada em gráfico contra a concentração do composto e a curva interativamente ajustada usando um ajustamento de quatro

parâmetros para originar o valor do efeito da concentração. A Eficácia ( $E_{máx}$ ) foi calculada a partir da equação

$$E_{máx} = \frac{\text{Máx}_{[\text{composto X}]} - \text{Mín}_{[\text{composto X}]}}{\text{Máx}_{[S1P]} - \text{Mín}_{[S1P]}} \times 100\%$$

onde  $\text{Máx}_{[\text{composto X}]}$  e  $\text{Mín}_{[\text{composto X}]}$  são o máximo e mínimo ajustados respetivamente da curva do efeito da concentração para o composto X, e  $\text{Máx}_{[S1P]}$  e  $\text{Mín}_{[S1P]}$  são o máximo e mínimo ajustados respetivamente da curva do efeito da concentração para esfingosina-1-fosfato (disponível em Sigma). Os valores da Razão Molar Equieficaz (EMR) foram calculados a partir da equação

$$\text{EMR} = \frac{\text{CE}_{50} [\text{composto X}]}{\text{CE}_{50} [S1P]}$$

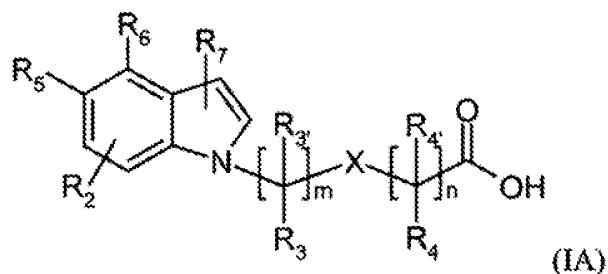
Onde  $\text{CE}_{50} [\text{composto X}]$  é a  $\text{CE}_{50}$  do composto X e  $\text{CE}_{50} [S1P]$  é a  $\text{CE}_{50}$  de S1P.

Onde testados, os compostos da invenção exemplificados tinham um  $p\text{CE}_{50} > 4,5$  no ensaio de levedura.

Lisboa, 6 de Julho de 2011

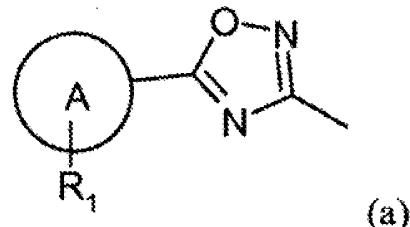
REIVINDICAÇÕES

1. Um composto de fórmula (I) ou um seu sal farmaceuticamente aceitável:



em que:

um de  $R_5$  e  $R_6$  é hidrogénio ou  $R_2$  e o outro é (a)



A é um anel fenilo ou um anel heteroarílico de 5 ou 6 membros;

$R_1$  é hidrogénio ou até três substituintes independentemente selecionados de entre halogéneo, alquilo  $C_1-C_4$ , alcoxi  $C_1-C_4$ , trifluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometilo, ciano e anéis fenilo facultativamente substituído e heteroarílico de 5 ou 6 membros facultativamente substituído;

$R_2$  é hidrogénio ou até três substituintes independentemente selecionados de entre halogéneo, alquilo  $C_1-C_4$ , alcoxi  $C_1-C_4$ , trifluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometilo e ciano;

$R_3$ ,  $R_{3'}$ ,  $R_4$  e  $R_{4'}$  são cada um independentemente selecionados de entre hidrogénio, halogéneo e metilo;

$R_7$  é hidrogénio ou halogéneo;

X é uma ligação direta;

m é 0-2;

n é 0-4; e

quando  $R_1$  comprehende um fenilo substituído ou um anel heteroarilo de 5 ou 6 membros, ele é substituído por até três substituintes independentemente selecionados de entre halogéneo, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, trifluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometilo e ciano.

2. Um composto selecionado de entre:

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

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

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

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

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

ou seus sais farmaceuticamente aceitáveis.

3. Uso de um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 2 para o fabrico de um

medicamento para uso no tratamento de condições ou desordens mediadas por receptores S1P1, em que a condição ou desordem é esclerose múltipla, doenças autoimunes, desordens inflamatórias crónicas, asma, neuropatias inflamatórias, artrite, transplante, doença de Crohn, colite ulcerativa, lúpus eritematoso, psoriase, lesão de isquemia-reperfusão, tumores sólidos e metástase de tumor, doenças associadas com angiogéneses, doenças vasculares, condições de dor, doenças virais agudas, condições inflamatórias do intestino, diabetes dependente de insulina e não dependente de insulina.

4. Uma composição farmacêutica compreendendo um composto de acordo com qualquer uma das reivindicações 1 a 2.

5. Um processo para a preparação de uma composição farmacêutica de acordo com a reivindicação 4.

Lisboa, 6 de Julho de 2011

**REFERÊNCIAS CITADAS NA DESCRIÇÃO**

Esta lista de referências citadas pelo requerente é apenas para conveniência do leitor. A mesma não faz parte do documento da patente Europeia. Ainda que tenha sido tomado o devido cuidado ao compilar as referências, podem não estar excluídos erros ou omissões e o IEP declina quaisquer responsabilidades a esse respeito.

**Documentos de patentes citadas na Descrição**

- JP 11080026 A
- WO 03105771 A
- WO 05058848 A
- WO 06047195 A
- WO 06100633 A
- WO 08115188 A
- WO 08131338 A
- WO 07024922 A
- WO 07116666 A
- WO 96008822 A
- WO 08098817 A
- EP 0439785 A
- DE 2939238
- JP 2007262008 A
- WO 04103278 A
- WO 05032485 A
- WO 200558846 A

**Literatura que não é de patentes citada na Descrição**

- Okamoto et al. *J Biol Chem*, 1996, vol. 273 (42), 27104
- Sanchez ; Hla. *J Cell Biochem*, 2004, vol. 92, 813
- Pyne ; Pyne. *Biochem J*, 2000, vol. 343, 385
- Chun et al. *Pharmacological Reviews*, 2002, vol. 54, 285
- Sanchez ; Hla. *J Cellular Biochemistry*, 2004, vol. 92, 913
- Kukk ; Hla. *Biochem et Biophysica Acta*, 2002, vol. 1582, 72
- Sanchez ; Hla. *J Cellular Biochem*, 2004, vol. 92, 913
- Rosen ; Goetzl. *Nat Rev Immunol*, 2005, vol. 5, 580
- Brinkman et al. *JBC*, 2003, vol. 277, 21453
- Fujino et al. *J Pharmacol Exp Ther*, 2003, vol. 305, 78
- Webb et al. *J Neuroimmunol*, 2004, vol. 153, 108
- Rausch et al. *J Magn Reson Imaging*, 2004, vol. 20, 18
- Chiba et al. *J Immunology*, 1998, vol. 160, 5037
- Forrest et al. *J Pharmacol Exp Ther*, 2004, vol. 302, 758
- Sanna et al. *JBC*, 2004, vol. 279, 13838
- Gralier ; Goetzl. *FASEB J*, 2004, vol. 18, 551
- Matoubian et al. *Nature*, 2004, vol. 427, 355
- Jo et al. *Chem Biol*, 2005, vol. 12, 705
- Allende et al. *Blood*, 2003, vol. 102, 3685
- Singelton et al. *FASEB J*, 2005, vol. 19, 1646
- Wei wt. *Nat. Immunology*, 2005, vol. 6, 1228
- Brinkman et al. *JBC*, 2002, vol. 277, 21453
- Mandala et al. *Science*, 2002, vol. 298, 346
- Fujino et al. *J Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2003, vol. 305, 45850
- Brinkman et al. *American J Transplantation*, 2004, vol. 4, 1619
- Webb et al. *J Neuroimmunology*, 2004, vol. 153, 108
- Morris et al. *Eur J Immunol*, 2005, vol. 35, 3570
- Chiba. *Pharmacology and Therapeutics*, 2005, vol. 108, 308
- Kahan et al. *Transplantation*, 2003, vol. 76, 1079
- Kappos et al. *New Eng J Medicine*, 2006, vol. 355, 1124
- Hale et al. *Inorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2004, vol. 14, 3501
- Koynakh et al. *American J Transplantation*, 2005, vol. 5, 529
- J. Pharm. Sci., 1977, vol. 66, 1-19
- Guthrie ; Fink. *Methods in Enzymology*, 1991, vol. 194