



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 352 859**

51 Int. Cl.:

C07D 413/10 (2006.01)

C07D 413/14 (2006.01)

A61K 31/4245 (2006.01)

A61P 37/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07857804 .4**

96 Fecha de presentación : **19.12.2007**

97 Número de publicación de la solicitud: **2091950**

97 Fecha de publicación de la solicitud: **26.08.2009**

54 Título: **Derivados de oxadiazol como agonistas del receptor S1P1.**

30 Prioridad: **21.12.2006 GB 0625648**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
23.02.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
23.02.2011

73 Titular/es: **GLAXO GROUP LIMITED**
Glaxo Wellcome House Berkeley Avenue
Greenford Middlesex UB6 0NN, GB

72 Inventor/es: **Myatt, James;**
Rivers, Dean Andrew;
Norton, David y
Ahmed, Mahmood

74 Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 352 859 T3

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

DESCRIPCIÓN

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

La esfingosina-1-fosfato (S1P) es un mediador lipídico bioactivo formado por la fosforilación de la esfingosina mediante las esfingosina-cinasas y se encuentra en altos niveles en la sangre. Se produce y se secreta por una serie de tipos de células, incluyendo las de origen hematopoyético tales como las plaquetas y los mastocitos (Okamoto *et al* 1998 *J Biol Chem* **273**(42):27104; Sanchez y Hla 2004, *J Cell Biochem* **92**:913). Tiene un amplio campo de acciones biológicas, incluyendo la regulación de la proliferación celular, diferenciación, motilidad, vascularización y activación de las células inflamatorias y las plaquetas (Pyne y Pyne 2000, *Biochem J.* **349**: 385). Se han descrito cinco subtipos de receptores sensibles a S1 P, S1P1 (Edg-1), S1P2 (Edg-5), S1P3 (Edg-3), S1P4 (Edg-6) y S1 P5 (Edg-8), que forman parte de la familia de genes de diferenciación endotelial acoplado a la proteína G de receptores (Chun *et al* 2002 *Pharmacological Reviews* **54**:265, Sanchez y Hla 2004 *J Cellular Biochemistry*, **92**:913). Estos 5 receptores presentan una expresión diferencial de ARNm, siendo el S1P1-3 ampliamente expresado, el S1 P4 expresado en los tejidos linfoides y hematopoyético y el S1 P5 principalmente en el cerebro y en menor grado en el bazo. Emiten señales por medio de diferentes subconjuntos de proteínas G para promover una diversidad de respuestas biológicas (Kluk y Hla 2002 *Biochem et Biophysica Acta* **1582**:72, Sanchez y Hla 2004, *J Cellular Biochem* **92**:913).

Los papeles propuestos para el receptor S1P1 incluyen el tráfico de linfocitos, la inducción/inhibición de las citocinas y los efectos sobre las células endoteliales (Rosen y Goetzl 2005 *Nat Rev Immunol.* **5**:560). Los agonistas del receptor S1 P1 han sido utilizados en varios modelos animales autoinmunes y de trasplantes, incluyendo los modelos de Encefalomiелitis Autoimmune Experimental (EAE) de MS, para reducir la gravedad de la enfermedad inducida (Brinkman *et al* 2003 *JBC* **277**:21453; Fujino *et al* 2003 *J Pharmacol Exp Ther* **305**:70; Webb *et al* 2004 *J Neuroimmunol* **153**:108; Rausch *et al* 2004 *J Magn Reson Imaging* **20**:16). Se describe que esta actividad está mediada por el efecto de los agonistas del S1 P1 en la circulación de los linfocitos a través del sistema linfático. El tratamiento con los agonistas del S1 P1 da como resultado el secuestro de los linfocitos dentro de los órganos linfoides secundarios tales como los nódulos linfáticos, induciendo una linfopenia periférica reversible en modelos animales (Chiba *et al* 1998, *J Immunology* **160**:5037, Forrest *et al* 2004 *J Pharmacol Exp Ther* **309**:758; Sanna *et al* 2004 *JBC* **279**:13839). Los datos publicados

sobre los agonistas dan a entender que el tratamiento con el compuesto induce la pérdida del receptor S1P1 desde la superficie de la célula a través de la internalización (Graler y Goetzl 2004 *FASEB J* **18**:551; Matloubian *et al* 2004 *Nature* **427**:355; Jo *et al* 2005 *Chem Biol* **12**:703) y es esta reducción del receptor S1P1 sobre las células inmunitarias la que contribuye a la reducción del movimiento de las células T desde los ganglios linfáticos de vuelta al torrente sanguíneo.

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

También se ha atribuido al S1P1 un papel en la modulación de la unión de las células endoteliales (Allende *et al* 2003 *Blood* **102**:3665, Singelton *et al* 2005 *FASEB J* **19**:1646). Con respecto a esta acción endotelial, se ha indicado que los agonistas de S1P1 tienen un efecto sobre los ganglios linfáticos aislados que puede ser el contribuir a un papel en la modulación de los trastornos inmunitarios. Los agonistas de S1P1 produjeron un cierre de las puertasestromales endoteliales de los senos linfáticos que drenan los nódulos linfáticos y evitan la salida de los linfocitos (Wei *et al* 2005, *Nat. Immunology* **6**:1228).

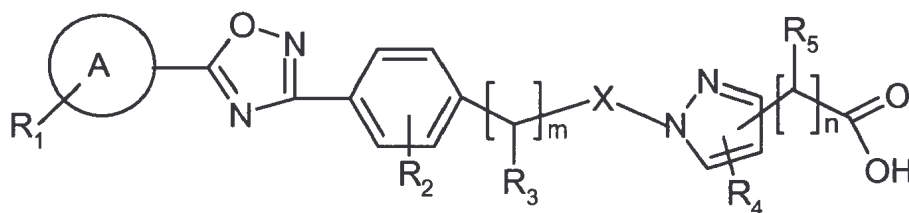
Se ha demostrado que el compuesto inmunodepresor FTY720 (documento JP11080026-A) reduce los linfocitos circulantes en los animales y en el hombre, tiene actividad moduladora de la enfermedad en modelos animales de trastornos inmunitarios y reduce las tasas de remisión en la esclerosis múltiple recurrente remitente (Brinkman *et al* 2002 *JBC* **277**:21453, Mandala *et al* 2002 *Science* **296**:346, Fujino *et al* 2003 *J Pharmacology and Experimental Therapeutics* **305**:45658, Brinkman *et al* 2004 *American J Transplantation* **4**:1019, Webb *et al* 2004 *J Neuroimmunology* **153**:108, Morris *et al* 2005 *Eur J Immunol* **35**:3570, Chiba 2005 *Pharmacology and Therapeutics* **108**:308, Kahan *et al* 2003, *Transplantation* **76**:1079, Kappos *et al* 2006 *New Eng J Medicine* **335**:1124). Este compuesto es un profármaco que se fosforila *in vivo* por la esfingosina cinasas para dar una molécula que tiene actividad agonista en los receptores de S1P1, S1P3, S1 P4 y S1 P5. Los estudios clínicos han demostrado que el tratamiento con FTY720 produce bradicardia en las primeras 24 horas de tratamiento (Kappos *et al* 2006 *New Eng J Medicine* **335**:1124). Se cree que la bradicardia es debida al agonismo en el receptor S1 P3, basándose en una serie de experimentos basados en células y animales. Éstos incluyen el uso de

animales carentes de S1P3, que a diferencia de los ratones de tipo silvestre, no presentan bradicardia después de la administración de FTY720 y el uso de compuestos selectivos de S1P1. (Hale *et al* 2004 *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* **14**:3501, Sanna *et al* 2004 *JBC* **279**:13839, Koyrakh *et al* 2005 *American J Transplantation* **5**:529).

Por lo tanto, existe una necesidad de compuestos agonistas del receptor S1 P1 con selectividad sobre S1 P3 que pueda esperarse que muestren una tendencia reducida a inducir bradicardia.

Las siguientes solicitudes de patente describen derivados de oxadiazol como agonistas de S1 P1: WO03/105771, WO05/058848, WO06/047195, WO06/100633, WO06/115188 WO06/131336, W02007/024922 y WO07/116866. Los documentos WO 05/032465 y WO 04/103279 también describen derivados de oxadiazol como agonistas de S1P1. Se ha encontrado ahora una clase de compuestos estructuralmente nuevos que proporcionan agonistas del receptor S1P1.

Por lo tanto, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables o solvatos de los mismos:



(I)

en donde:

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

R₁ es hidrógeno o representa hasta tres sustituyentes seleccionados entre halógeno, alquilo C₍₁₋₄₎, cicloalquilo C₍₅₋₆₎, cicloalquenilo C₍₃₋₆₎, alcoxi C₍₁₋₄₎, trifluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometilo, ciano, fenilo opcionalmente sustituido o anillos heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituidos;

R₂ es hidrógeno o representa hasta tres sustituyentes seleccionados entre halógeno, alquilo C₍₁₋₄₎, alcoxi C₍₁₋₄₎, trifluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometilo o ciano;

R₃, R₄ y R₅ se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, fluoro y metilo;

X es un CH₂ opcionalmente sustituido o un enlace sencillo;

m es de 0 a 1; y

n es de 0 a 2.

5 Cuando R_1 es fenilo o un anillo heteroarilo de 5 o 6 miembros puede estar sustituido con hasta tres sustituyentes seleccionados entre halógeno, alquilo $C_{(1-4)}$, alcoxi $C_{(1-4)}$, trifluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometilo y ciano.

Cuando X es CH_2 puede sustituirse por fluoro o metilo.

10 El término "alquilo" en forma de un grupo o parte de un grupo, por ejemplo alcoxi o hidroxialquilo, se refiere a un grupo alquilo lineal o ramificado en todas las formas isoméricas. El término "alquilo $C_{(1-4)}$ " se refiere a un grupo alquilo, según se define anteriormente, que contiene al menos 1, y como mucho 4 átomos de carbono. Los ejemplos de dichos grupos alquilo incluyen metilo, etilo, propilo, *iso*-propilo, *n*-butilo, *isobutilo*, *sec*-butilo o *terc*-butilo. Los ejemplos de dichos grupos alcoxi incluyen metoxi, etoxi, propoxi, *iso*-propoxi, butoxi, *iso*-butoxi, *sec*-butoxi y *terc*-butoxi.

15 Los grupos cicloalquilo $C_{(3-6)}$ adecuados incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

Los grupos cicloalquenilo $C_{(5-6)}$ incluyen ciclopentenilo y ciclohexenilo.

20 Según se usa en este documento, el término "halógeno" se refiere a flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br) o yodo (I) y el término "halo" se refiere al halógeno: fluoro (-F), cloro (-Cl), bromo (-Br) y yodo (-I).

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

30 En una realización de la invención,

A es piridilo, fenilo o tiofeno opcionalmente sustituido; y/o

R_1 es fenilo, trifluorometilo, trifluorometoxi, cloro, isopropoxi, isobutilo, metoxi, ciano, ciclohexilo, ciclohexenilo o etilo opcionalmente sustituido; y/o

R_2 es hidrógeno, cloro o bromo; y/o

35 R_3 , R_4 y R_5 son cada uno hidrógeno; y/o

X es CH₂; y/o

m es 0; y/o

n es 0.

5

En una realización de la invención,

A es tiofeno opcionalmente sustituido; y/o

R₁ es hidrógeno o trifluorometilo; y/o

R₂, R₃, R₄ y R₅ son cada uno hidrógeno; y/o

X es CH₂; y/o

10

m es 0; y/o

n es 0.

En otra realización de la invención,

A es tiofeno sustituido con fenilo; y/o

15

R₁ es hidrógeno o trifluorometilo; y/o

R₂, R₃, R₄ y R₅ son cada uno hidrógeno; y/o

X es CH₂; y/o

m es 0; y/o

n es 0.

20

En algunos de los compuestos de fórmula (I), dependiendo de la naturaleza del sustituyente, existen átomos de carbono quirales y, por lo tanto, los compuestos de fórmula (I) pueden existir en forma de estereoisómeros. La invención se extiende a todos los isómeros ópticos tales como las formas estereoisómeras de los compuestos de fórmula (I) incluyendo enantiómeros, diastereómeros y sus mezclas, tales como los racematos. Las diferentes formas estereoisómeras se pueden separar o resolver unas de otras por métodos convencionales, o cualquier isómero dado se puede obtener por síntesis convencionales estereoselectivas o asimétricas.

25

Algunos de los compuestos de la presente memoria pueden existir en diversas formas tautómeras y se entenderá que la invención incluye todas estas formas tautómeras.

30

Son compuestos adecuados de la invención:

Ácido 1-[(4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-4-carboxílico

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

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

5 Ácido 1-[(4-{5-[4-(4-fluorofenil)-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-
il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxílico

Ácido 1-[(4-{5-[5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil]-1,2,4-oxadiazol-3-
il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxílico

10 Ácido 1-[(4-{5-[4-(metiloxi)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-
1*H*-pirazol-3-carboxílico

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

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

15 Ácido 1-[(4-{5-[3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-
1*H*-pirazol-3-carboxílico

Ácido 1-[(4-{5-[2'-fluoro-2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-
il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxílico

20 Ácido 1-[(4-{5-[2'-fluoro-2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-
il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxílico

Ácido 1-[(4-{5-[4-ciclohexil-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-
1*H*-pirazol-3-carboxílico

Ácido 1-[(4-{5-[4-(1-ciclohexen-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-
il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxílico

25 Ácido 1-[(4-{5-[4-(2-metilpropil)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-
il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxílico

Ácido 1-[(4-{5-[2-etil-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-
carboxílico

30 Ácido 1-[(4-{5-[4-[(1-metiletil)oxi]-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxa-diazol-3-
il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxílico

Ácido 1-[(4-{5-[2-etil-2'-fluoro-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1*H*-
pirazol-3-carboxílico

Ácido 1-[(4-{5-[2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1*H*-
pirazol-3-carboxílico

Ácido 1-[(3-cloro-4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxílico

Ácido 1-[(2-cloro-4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxílico

5 Ácido 1-[(3-bromo-4-(5-{3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxílico

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen las descritas por Berge,
 10 Bighley y Monkhouso, *J. Pharm. Sci.*, 1977, **66**, 1-19. La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales preparadas a partir de bases farmacéuticamente aceptables incluyendo bases inorgánicas y bases orgánicas. Las sales derivadas de bases inorgánicas incluyen sales de aluminio, amonio, calcio, cobre, férricas, ferrosas, de litio, magnesio, sales mangánicas, manganosas, de
 15 potasio, sodio, cinc y similares. Las sales derivadas de bases orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias, y terciarias; aminas sustituidas incluyendo las aminas sustituidas naturales; y las aminas cíclicas. Las bases orgánicas farmacéuticamente aceptables particulares incluyen arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, dietilamina, 2-
 20 dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etil-morfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, procaína, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, tris(hidroximetil)aminometano (TRIS, trometamol) y similares. Las sales se pueden formar también a partir de resinas
 25 básicas de intercambio iónico, por ejemplo resinas de poliamina. Cuando el compuesto de la presente invención es básico, se pueden preparar sales a partir de ácidos farmacéuticamente aceptables, incluyendo ácidos inorgánicos y orgánicos. Tales ácidos incluyen ácido acético, bencenosulfónico, benzoico, canforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, etanodisulfónico, fumárico, glucónico, glutámico, hidrobromico, hidroclórico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, mícico,
 30 pamoico, pantoténico, fosfórico, propiónico, succínico, sulfúrico, tartárico, *p*-toluenosulfónico y similares.

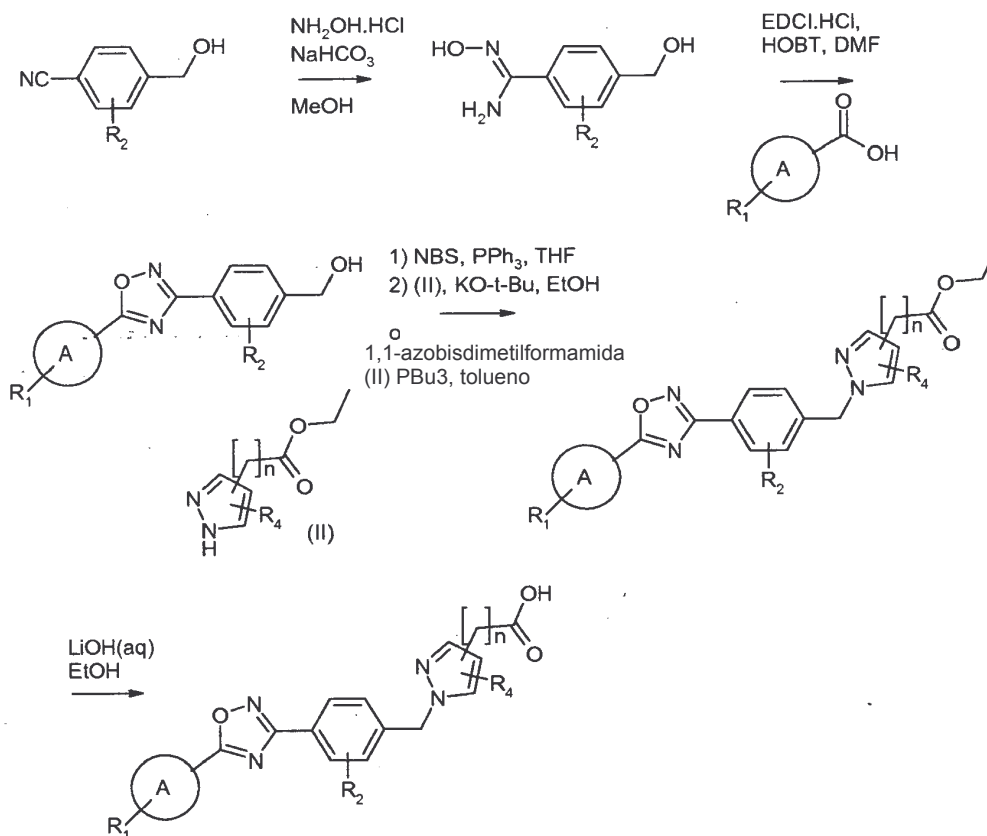
Los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar en forma cristalina o no cristalina y, si se obtienen en forma cristalina, pueden estar opcionalmente hidratados
 35 o solvatados. Esta invención incluye dentro de su alcance hidratos o solvatos

estequiométricos así como compuestos que contienen cantidades variables de agua y/o de disolvente.

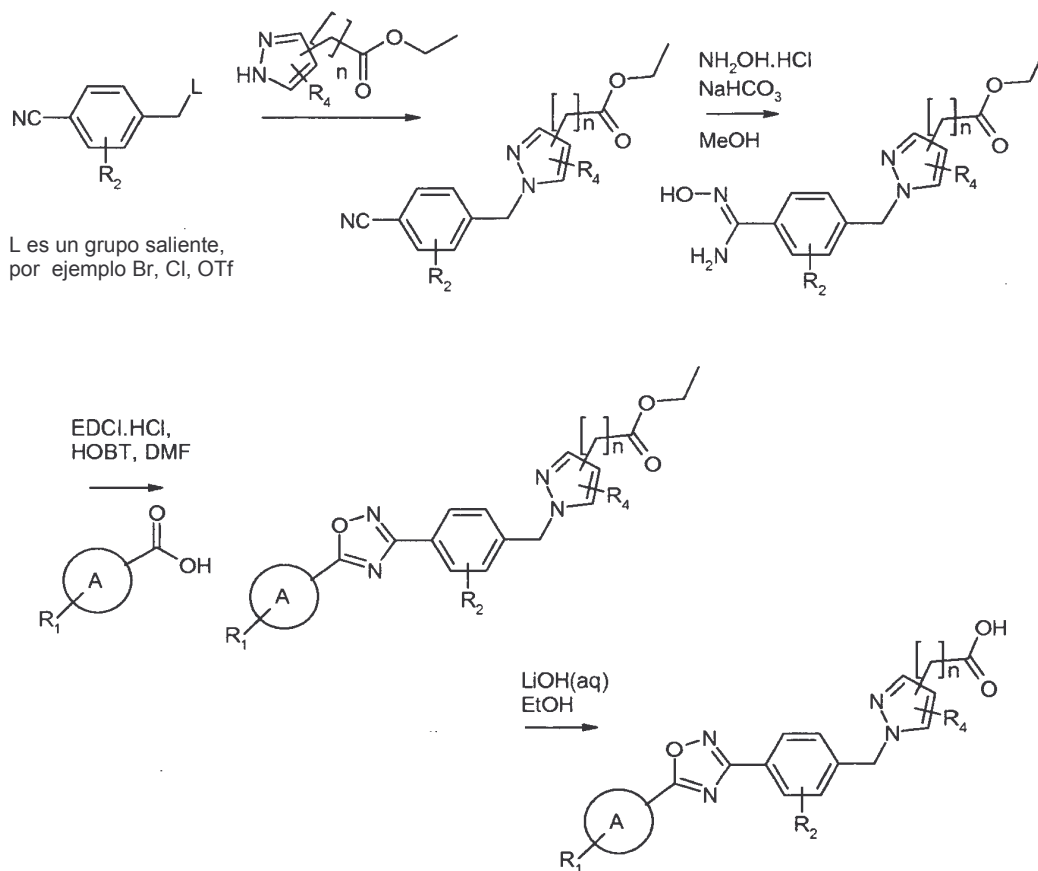
En un aspecto más, esta invención proporciona los procedimientos representados en los Esquemas 1 y 2 para la preparación de un compuesto de fórmula

5 (I):

Esquema 1



Esquema 2



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

Las potencias y eficacias de los compuestos de esta invención para el receptor de S1 P1 se puede determinar mediante el ensayo de GTPγS realizado sobre el receptor humano clonado según se describe en este documento o mediante el ensayo de unión de levadura, también descrito en este documento. Se ha demostrado que los compuestos de fórmula (I) tienen actividad agonista en el receptor S1P1, usando ensayos funcionales descritos en la presente memoria.

Por lo tanto, los compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables son útiles en el tratamiento de enfermedades o trastornos que están mediados por el receptor S1 P1. En particular, los compuestos de la fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables son útiles en el tratamiento de esclerosis múltiple, enfermedades autoinmunes, trastornos inflamatorios crónicos, asma, neuropatías inflamatorias, artritis, trasplantes, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, lupus eritematoso, psoriasis, lesiones por isquemia-reperfusión, tumores sólidos, y

metástasis tumoral, enfermedades asociadas con angiogénesis, enfermedades vasculares, condiciones dolorosas, enfermedades virales agudas, trastornos inflamatorios del intestino, diabetes dependiente de insulina y no dependiente de insulina (de aquí en adelante denominados como los "trastornos de la invención").

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

De esta manera, la invención proporciona también un compuesto de la fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para uso como una sustancia terapéutica, en particular en el tratamiento de las enfermedades o trastornos mediados por el receptor S1P1. En particular, la invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable para uso en forma de una sustancia terapéutica en el tratamiento de la esclerosis múltiple, enfermedades autoinmunes, trastornos inflamatorios crónicos, asma, neuropatías inflamatorias, artritis, trasplantes, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, lupus eritematoso, psoriasis, lesión por isquemia-reperfusión, tumores sólidos, y metástasis tumoral, enfermedades asociadas con angiogénesis, enfermedades vasculares, afecciones dolorosas, enfermedades víricas agudas, trastornos inflamatorios del intestino, diabetes dependiente de insulina y no dependiente de insulina. La invención proporciona además un método de tratamiento de enfermedades o trastornos en mamíferos, incluidos los seres humanos, que pueden estar mediados por el receptor S1 P1, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente segura y eficaz de un compuesto de fórmula (I) o de una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

10
15
20

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de la fórmula (I) o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de las enfermedades o trastornos mediados por el receptor S1P1.

25

Para utilizar los compuestos de la fórmula (I) en terapia, normalmente se formularán en una composición farmacéutica de acuerdo con las prácticas farmacéuticas clásicas. La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

30

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un proceso para preparar una composición farmacéutica, comprendiendo el proceso mezclar un

compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

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

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

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

Para administración parenteral se preparan formas de dosificación unitaria líquidas utilizando un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y un vehículo estéril. Las formulaciones para inyección se pueden presentar en forma de farmacéutica unitaria, p.ej. en ampollas o multi-dosis, utilizando

un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y un vehículo estéril, opcionalmente con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar formas tales como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Como alternativa, el principio activo puede estar en forma de polvo para reconstitución con un vehículo adecuado, p. ej. agua estéril libre de pirógenos, antes de su uso. El compuesto, dependiendo del vehículo y de la concentración usados, puede estar suspendido o disuelto en el vehículo. En la preparación de soluciones, el compuesto se puede disolver para inyección y esterilizar por filtración antes de cargarlo en un vial o ampolla adecuado y sellarlo. De manera ventajosa, se disuelven en el vehículo coadyuvantes tales como anestésicos locales, conservantes y agentes tamponantes. Para mejorar la estabilidad, se puede congelar la composición después de introducida en el vial, y se puede eliminar el agua bajo vacío. Las suspensiones parenterales se preparan esencialmente de la misma manera, con la excepción de que el compuesto se suspende en el vehículo en lugar de disolverse, y la esterilización no puede efectuarse por filtración. El compuesto se puede esterilizar por exposición a óxido de etileno antes de la suspensión en un vehículo estéril. Ventajosamente, se incluye un tensioactivo o agente humectante en la composición para facilitar la distribución uniforme del compuesto.

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

Los compuestos de fórmula (I) también pueden formularse en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, por ejemplo que contienen bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.

Los compuestos de fórmula (I) también se pueden formular como preparaciones de depósito. Estas formulaciones de actuación prolongada pueden administrarse por implantación (por ejemplo, por vía subcutánea o por vía intramuscular) o por inyección intramuscular. De esta manera, por ejemplo, los compuestos de la invención se pueden formular con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o

resinas de intercambio iónico o como derivados poco solubles, por ejemplo, como una sal poco soluble.

Para la administración intranasal, los compuestos de fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden formularse en forma de soluciones para administración por un dispositivo de dosis medida o unitaria adecuado o, como alternativa, en forma de una mezcla en polvo con un vehículo adecuado para la administración usando un dispositivo de liberación adecuado. Por lo tanto, los compuestos de fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden formularse para administración oral, bucal, parenteral, tópica (incluyendo oftálmica y nasal), de depósito o rectal o en una forma adecuada para la administración por inhalación o insuflación (ya sea a través de la boca o de la nariz).

Los compuestos de fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden formularse para administración tópica en forma de pomadas, cremas, geles, lociones, supositorios vaginales, aerosoles o gotas (por ejemplo, gotas para los ojos, oídos o nariz). Las pomadas y las cremas pueden formularse, por ejemplo, con una base acuosa u oleosa con la adición de agentes espesantes y/o gelificantes adecuados. Las pomadas para administración en el ojo pueden fabricarse de una manera estéril usando componentes esterilizados.

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

Los compuestos de la presente invención pueden usarse en preparaciones de combinación. Por ejemplo, los compuestos de la invención pueden usarse junto con ciclosporina A, metotrexato, esteroides, rapamicina, inhibidores de citocina proinflamatorios, otros inmunomoduladores que incluyen anticuerpos u otros compuestos terapéuticamente activos.

La presente invención también incluye compuestos marcados con isótopos, que son idénticos a los citados en las fórmulas I y siguientes, salvo por el hecho de que uno o más átomos se han reemplazado por un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico encontrado

habitualmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que se pueden incorporar en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor, yodo y cloro, tales como ^3H , ^{11}C , ^{14}C , ^{18}F , ^{123}I y ^{125}I .

Los compuestos de la presente invención y sales farmacéuticamente
 5 aceptables de dichos compuestos que contienen los isótopos mencionados anteriormente y/u otros isótopos de otros átomos están dentro del alcance de la presente invención. Los compuestos marcados con isótopos de la presente invención, por ejemplo aquellos en los que se incorporan isótopos radiactivos tales como ^3H , ^{14}C , son útiles en los ensayos de distribución de fármacos y/o sustratos en tejidos. Se
 10 prefieren particularmente los isótopos tritio, es decir ^3H , y carbono-14, es decir, ^{14}C , por su facilidad de preparación y de detección. Los isótopos ^{11}C y ^8F son particularmente útiles en PET (tomografía de emisión de positrones), y los isótopos ^{125}I son particularmente útiles en SPECT (tomografía computerizada de emisión de fotón único), todas ellas útiles en la formación de imágenes del cerebro. Además, la
 15 sustitución con isótopos más pesados, tales como deuterio, es decir ^2H , puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo una mayor semivida *in vivo* o menores requisitos de dosificación y, por lo tanto, puede preferirse en algunas circunstancias. Los compuestos de fórmula (I) marcados con isótopos y siguientes de esta invención
 20 pueden prepararse, en general, llevando a cabo los procedimientos descritos en los esquemas y/o en los ejemplos que se muestran a continuación, sustituyendo un reactivo no marcado con isótopos por un reactivo marcado con isótopos fácilmente adquirible.

Las siguientes Descripciones y Ejemplos ilustran la preparación de compuestos
 25 de la invención.

Condiciones, hardware y software para sistemas analíticos de LCMS

Hardware

30 Bomba de gradiente Agilent 1100
 Autoinyector Agilent 1100
 Detector Agilent 1100 DAD
 Desgasificador Agilent 1100
 Estufa Agilent 1100
 35 Controlador Agilent 1100

Conductor de disolventes Waters Acquity Binary

Conductor de muestras Waters Acquity

PDA Waters Acquity

Espectrómetro de Masas Waters ZQ

5 Sedere Sedex 55, Sedere Sedex 85, Sedere Sedex 75 o Polymer Labs PL-ELS-2100

Software

Waters MassLynx version 4.0 SP2 o version 4.1

10

Para el método de 5 minutos

Columna

La columna usada es una Waters Atlantis, cuyas dimensiones son 4,6 mm x 50 mm. El tamaño de partícula de la fase estacionaria es 3µm.

15

Disolventes

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

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

Método

20

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

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

Caudal

El método anterior tiene un caudal de 3 ml/min

25

Para el método de 2 minutos

Software

Waters MassLynx versión 4,1

Columna:

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

Disolventes

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

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

10 Lavado débil = Metanol : agua 1:1

Lavado fuerte = Agua

Método

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

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

15

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

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

La temperatura de la columna es de 40 grados.

El intervalo de detección UV es de 220 a 330 nm.

20

Sistema Open Access Mass Directed Auto Prep (MDAP)

Hardware

Los instrumentos Open Access Mass Directed Prep consisten en lo siguiente:

25

1 Bomba de gradiente Waters 600

1 Inyector/colector Waters 2767

1 Conductor de reactivos Waters

- 1 Espectrómetro MicroMass ZQ Mass
- 1 Gilson Aspec - colector de desechos
- 1 Detector UV post-fracción Gilson 115
- 1 Sistema de ordenador.

5

Software

MicroMass MassLynx v4.0

Columna

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

10

Disolventes

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

B.: disolvente orgánico = MeCN: agua 95:5 + 0,05% de ácido fórmico

15

disolvente de preparación = MeOH: agua 80:20 + acetato amónico 50 mM

disolvente de aclarado de la aguja = MeOH: agua: DMSO 80:10:10

Métodos

Uno de los cinco métodos que se pueden usar dependiendo del tiempo de retención analítico del compuesto de interés.

20

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

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

25

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

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

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

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

Caudal

30

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

Sistema alternativo:**Hardware**

35

Módulo de Gradiente Binario Waters 2525

Bomba de Preparación Waters 515

Módulo de Control de Bomba Waters

Colector de Inyección Waters 2767

5 Conductor de Fluidos de la Columna Waters

Detector de Serie de Fotodiodos Waters 2996

Espectrómetro de Masas Waters ZQ

Colector de fracciones Gilson 202

Colector de residuos Gilson Aspec

10 **Software**

Waters Masslynx versión 4 SP2

Columna

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

15

Disolventes

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

B: disolvente orgánico = acetonitrilo + ácido fórmico al 0,1 %

20 Disolvente de preparación = Metanol : agua 80:20

Disolvente de aclarado de agujas = Metanol

Métodos

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

25

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

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

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

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

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

Caudal

Todos los métodos anteriores tienen un caudal de 20 ml/min (escala pequeña) o 40 ml/min (escala grande)

35

Gradientes débiles

- 5 Escala grande 1,5 a 2,3 min = 13-29 % de B
Escala grande 1,9 a 2,3 min = 25-41 % de B
Escala grande 2,3 a 2,6 min = 37-53 % de B
Escala grande 2,6 a 3,1 min = 49-65 % de B
Escala grande 3,1 a 3,6 min = 61-77 % de B

Condiciones usadas para la RMN

10

Hardware

- 15 Bruker 400 MHz Ultrashield
Automuestreador Bruker B-ACS60
Consola Bruker Advance 400
Bruker DPX250
Bruker AVANCE 500
Bruker DRX600

20

Software

- Interfase del usuario - N MR Kiosk
Programa informático de control - XWin NMR versión 3.0

25

Cromatografía

A menos que se indique otra cosa, toda la cromatografía se llevó a cabo usando columnas de sílice

Abreviaturas:

30

- g – gramos
mg – miligramos
ml – mililitros
µl – microlitros
35 MeCN – acetonitrilo

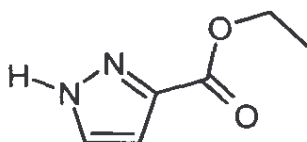
	MeOH –	metanol
	EtOH –	etanol
	Et ₂ O –	éter dietílico
	EtOAc –	acetato de etilo
5	DCM –	diclorometano
	DIAD –	azodicarboxilato de diisopropilo
	DME –	1,2-bis(metiloxi)etano
	DMF –	<i>N,N</i> -dimetilformamida
	DMSO –	dimetilsulfóxido
10	EDAC -	hidrocloruro de <i>N</i> -(3-dimetilaminopropil)- <i>N'</i> -etilcarbodiimida
	EDC -	hidrocloruro de <i>N</i> -(3-dimetilaminopropil)- <i>N'</i> -etilcarbodiimida
	EDCI -	hidrocloruro de <i>N</i> -(3-dimetilaminopropil)- <i>N'</i> -etilcarbodiimida
	HOBT/HOBt –	Hidroxibenzotriazol
	IPA –	alcohol isopropílico
15	NCS –	<i>N</i> -clorosuccinimida
	PyBOP –	hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxitripirrolidinofosfonio
	THF -	tetrahidrofurano
	dba –	dibenciliden-acetona
	RT –	temperatura ambiente
20	°C -	grados Celsius
	M –	Molar
	H –	protón
	s –	singlete
	d –	doblete
25	t –	triplete
	c –	cuadruplete
	MHz –	megahertzios
	MeOD –	metanol deuterado
	LCMS –	cromatografía de líquidos/espectrometría de masas
30	LC/MS –	cromatografía de líquidos/espectrometría de masas
	MS –	espectrometría de masas
	ES –	electronebulización
	MH ⁺ –	masa del ion + H ⁺
	MDAP –	cromatografía líquida preparativa automatizada dirigida a masas.
35	sat. –	saturado

Sección química general

- 5 Los intermedios para la preparación de los ejemplos no han sido necesariamente preparados a partir del lote específico descrito.

Descripción 1

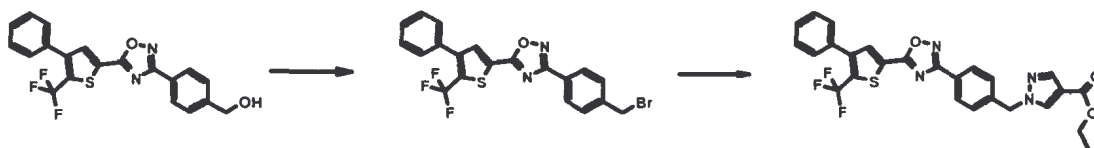
10 **1H-Pirazol-3-carboxilato de etilo (D1)**



- El ácido 1H-pirazol-3-carboxílico (1,0 g, 8,9 mmol) se disolvió en etanol (~12 ml) y se añadió ácido sulfúrico (1,5 ml). La disolución se calentó a reflujo durante una noche. La mezcla de reacción se concentró *in vacuo* y se añadió agua (~20 ml), la disolución se neutralizó con bicarbonato sódico. Se añadió acetato de etilo (~70 ml) y las capas se dividieron, la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (~70 ml) y los extractos orgánicos combinados se secaron (MgSO₄) y se concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (1,21g, 8,64 mmol). δ H (CDCl₃, 400 MHz): 7,77 (1H, d), 6,86 (1H, d), 4,43 (2H, cuarteto), 1,42 (3H, t).
- 15
- 20

Descripción 2

- 25 **1-[(4-{5-[4-Fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (D2)**



Una mezcla de (4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metanol (documento WO 2003061567 A2) (103 mg, 0,256mmol, 1,00 equivalentes), trifenilfosfina (81 mg, 0,307 mmol, 1,20 equivalentes) en tetrahidrofurano (1,2 ml) se agitó a 0°C. Se añadió en porciones N-bromosuccinimida (55 mg, 0,307 mmol, 1,05 equivalentes). Se continuó la agitación y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. La reacción se controló por LCMS. Después de 45 minutos, la mezcla de reacción se dividió entre agua (20 ml) y acetato de etilo (45 ml). La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera (20ml x 2), se secó con sulfato de magnesio, se filtró y evaporó hasta secarla. Esto produjo 200 mg de un aceite incoloro (3-[4-(bromometil)fenil]-5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol aproximadamente al 57%), que se llevó a cabo a través de la siguiente etapa sin más purificación.

MS: m/z (M+H)⁺ 465, C₂₀H₁₂BrF₃N₂OS requiere 464 & 466.

Una mezcla de 3-[4-(bromometil)fenil]-5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol (200 mg, sin purificar), 4-pirazolcarboxilato de etilo (35 mg, 0,25 mmol), *tert*-butóxido de potasio (31 mg, 0,275 mmol) en etanol (2,5 ml) se agitó a 60°C. La reacción se controló por LCMS. Después de 16 horas, la mezcla de reacción se evaporó hasta su secado, los residuos se dividieron entre acetato de etilo (45 ml) y agua (20 ml). La fase orgánica se separó, se lavó con agua (20 ml) después con salmuera (20 ml), se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se evaporó hasta su secado. Esto produjo 287 mg de un aceite amarillo, que se purificó en sílice, eluyendo con pentano y acetato de etilo (gradiente de 0 a 90%). Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron hasta su secado, produciendo 186 mg de un sólido blanco. El sólido blanco se purificó en sílice, eluyendo con hexano y acetato de etilo (gradiente de 0 a 50%). Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron hasta su secado, produciendo 85 mg de un sólido blanco (aproximadamente 80%), que se llevó a cabo a través de la siguiente etapa sin más purificación.

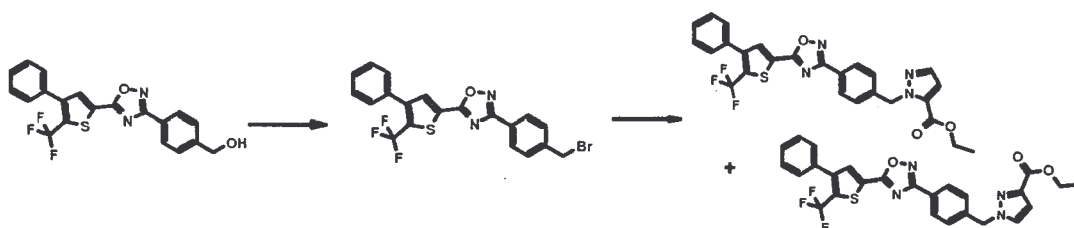
MS: m/z (M+H)⁺ 525, C₂₆H₁₉F₃N₄O₃S requiere 524.

30

35

Descripción 3

1-[(4-{5-[4-Fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo (D3a) & 1-[(4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxilato de etilo (D3b)



Una mezcla de (4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metanol (documento WO 2003061567 A2) (134 mg, 0,333 mmol, 1,00 equivalentes), trifenilfosfina (105 mg, 0,400 mmol, 1,20 equivalentes) en tetrahidrofurano (1,7ml) se agitó a 0°C. Se añadió en porciones N-bromosuccinimida (62 mg, 0,350 mmol, 1,05 equivalentes). Se continuó la agitación y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. La reacción se controló por LCMS. Después de 1 hora se añadieron 31 mg más de N-bromosuccinimida y se continuó agitando. Después de 2 horas se añadieron 52 mg más de trifenilfosfina y se continuó agitando. Después de 2,5 horas, la mezcla de reacción se dividió entre agua (20 ml) y acetato de etilo (45 ml). La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera (20ml x 2), se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se evaporó hasta secarlo. Esto produjo 338 mg de un sólido blanco (3-[4-(bromometil)fenil]-5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol aproximadamente al 55%), que se llevó a cabo a través de la siguiente etapa sin más purificación.

MS: m/z (M+H)⁺ 465 & 467, C₂₀H₁₂BrF₃N₂OS requiere 464 & 466.

Una mezcla de 3-[4-(bromometil)fenil]-5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol (338 mg, sin purificar), 1*H*-pirazol-3-carboxilato de etilo (47 mg, 0,333 mmol) y *tert*-butóxido de potasio (41 mg, 0,366 mmol) se agitó en etanol (3,3ml) a 60°C. La reacción se controló por LCMS. Después de 5 horas, la mezcla de reacción se evaporó hasta su secado, los residuos se dividieron entre acetato de etilo (45 ml) y

agua (20 ml). La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera (20 ml), se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se evaporó hasta su secado. Esto produjo 300 mg de un aceite naranja, que se purificó en sílice, eluyendo con pentano y acetato de etilo (gradiente de 0 a 90%). Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron hasta su secado. Se aislaron dos isómeros. Se obtuvo **D3a** como un sólido blanco (30 mg, 17% en las 2 etapas).

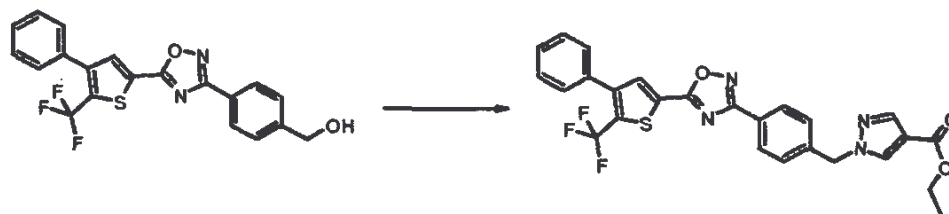
RMN de ^1H (CDCl_3): δ 1,34 (3H, t), 4,31 (2H, q), 5,85 (2H, s), 6,91 (1H, s), 7,36 (2H, d), 7,46 (5H, m), 7,58 (1H, s), 7,89 (1H, s), 8,08 (2H, d). MS: m/z ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 525, $\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ requiere 524.

Se obtuvieron además 63 mg de un aceite amarillo, que se purificaron en un MDAP. Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron hasta su secado, produciendo **D3b** como un sólido blanco (48 mg, 27% en las 2 etapas).

^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz): δ 1,41 (3H, t), 4,43 (2H, q), 5,49 (2H, s), 6,87 (1H, s), 7,36 (2H, d), 7,41 (1H, s), 7,46 (5H, m), 7,90 (1H, s), 8,13 (2H, d). MS: m/z ($\text{M}+\text{H}$) $^+$ 525, $\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ requiere 524.

Descripción 4

1-[(4-{5-[4-Fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo (D4)



Se suspendieron en tolueno seco (4,0 ml) (4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metanol (documento WO 2003061567) (201 mg, 0,500 mmol, 1,00 equivalentes), tributilfosfina (0,13 ml, 0,525 mmol, 1,05 equivalentes) y 4-pirazolcarboxilato de etilo (74 mg, 0,525mmol, 1,05 equivalentes), se añadió 1,1-azobisdimetilformamida (90 mg, 0,525 mmol, 1,05 equivalentes) y la mezcla de reacción se agitó en argón. La reacción se controló por LCMS. La mezcla de reacción inicialmente forma una suspensión, bajo la adición de 1,1-azobisdimetilformamida la mezcla se disuelve lentamente, seguido de la lenta formación de un precipitado. Después de 16 horas, la mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo, se filtró y

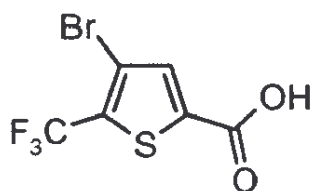
se evaporó hasta su secado, produciendo 467 mg de un sólido crema. El sólido crema se purificó en sílice, eluyendo con pentano y acetato de etilo (de 0 a 90%). Las fracciones apropiadas se combinaron y se evaporaron hasta su secado, produciendo el compuesto del título como un sólido blanco (210 mg, 80%).

5 ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz): δ 1,34 (3H, t), 4,29 (2H, q), 5,39 (2H, s), 7,38 (2H, d), 7,47 (5H, m), 7,91 (1H, s), 7,93 (1H, s), 7,98 (1H, s), 8,15 (2H, d). MS: m/z ($\text{M}+\text{H}$)⁺ 525, $\text{C}_{26}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ requiere 524.

Descripción 5

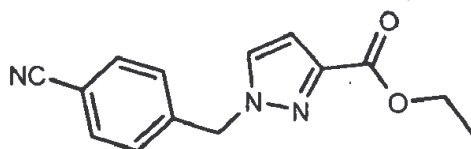
10

Ácido 4-bromo-5-(trifluorometil)-2-tiofencarboxílico (D5)

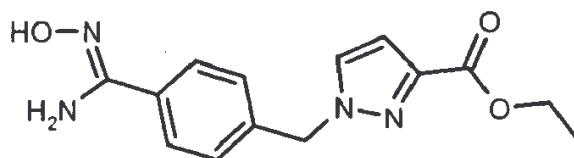


Se enfrió di-isopropilamina (2,1 ml, 14,9 mmol, 1,1 equivalentes) en tetrahydrofurano seco (60 ml) bajo argón a -65°C (temperatura interna) y se añadió con cuidado *n*-butil-litio 2,5M en hexanos (5,95 ml, 14,9 mmol, 1,1 equivalentes). La disolución se dejó calentarse a 0°C, después de 20 minutos se enfrió a -40°C y se trató lentamente con 3-bromo-2-trifluorometiltiofeno (3,13 g, 13,5 mmol, 1 equivalente) en tetrahydrofurano (10 ml). Después de agitar a -40°C durante 20 minutos, la disolución se dejó calentar a -10°C durante 5 minutos y luego se volvió a enfriar a -40°C. Se burbujó dióxido de carbono a través de la mezcla de reacción y la reacción se dejó calentar a +5°C. Se separó el disolvente *in vacuo*, el residuo se trató con agua (20 ml), luego se acidificó a pH1 por la adición de ácido clorhídrico 2M acuoso. La mezcla se extrajo 4 veces con acetato de etilo (70 ml), y luego se combinaron, se secaron en sulfato de sodio y se concentraron *in vacuo* para dar el ácido 4-bromo-5-(trifluorometil)-2-tiofencarboxílico (2,69g) como un sólido negro. ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz): δ 7,80 (1H, q). MS: m/z ($\text{M}+\text{H}$)⁺ 275, $\text{C}_6\text{H}_2\text{BrF}_3\text{O}_2\text{S}$ requiere 275.

30

Descripción 6**5 1-[(4-Cianofenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxilato de etilo (D6)**

Se disolvieron bromuro de bencilo (12,46 g), 1*H*-pirazol-3-carboxilato de etilo (D1) (8,89 g) y *tert*-butóxido de potasio (8,75 g) en EtOH (600 ml) y se calentó a 60 °C durante 5 horas. La mezcla de reacción se evaporó entonces hasta su secado, se disolvió de nuevo en H₂O y se extrajo con EtOAc (x 3). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron en MgSO₄ y se evaporaron hasta su secado. El residuo crudo se purificó en un cartucho grande de Flash 75, eluyendo con una mezcla al 50 % de EtOAc en hexano para dar el isómero deseado y luego EtOAc al 75 % en hexano para dar el isómero indeseado. El primero se recrystalizó a partir de EtOAc/hexano para dar el compuesto del título (5,24 g) como cristales blancos. δ H (MeOD, 400MHz): 1,41 (3H, t), 4,42 (2H, q), 5,47 (2H, s), 6,68 (1H, d), 7,28 (2H, d), 7,43 (1H, d), 7,64 (2H, d). MS (ES): C₁₄H₁₃N₃O₂ requiere 255,28; encontrado 256 (M+H).

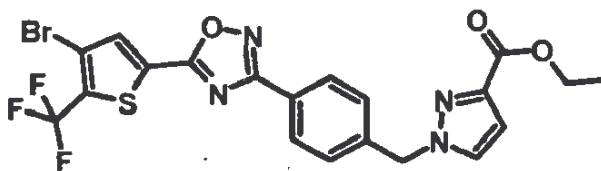
Descripción 7**25 1-({4-[(Hidroxiamino)(imino)metil]fenil}metil)-1*H*-pirazol-3-carboxilato de etilo (D7)**

1-[(4-Cianofenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxilato de etilo (D6) (5,24 g), NH₂OH. Se disolvieron HCl (2,85 g) y NaHCO₃ (8,62 g) en EtOH (102,5 ml) y se agitó a 50 °C

toda la noche. La mezcla de reacción se filtró entonces, lavando con EtOH, luego EtOAc. El filtrado se evaporó para dar algún producto (0,5 g). El residuo se lavó después con MeOH para dar el compuesto del título (4,71 g) como un sólido blanquecino. δ H (MeOD, 400MHz): 1,36 (3H, t), 4,35 (2H, q), 5,45 (2H, s), 6,81 (1H, d), 7,30 (2H, d), 7,63 (2H, d), 7,79 (1H, d). MS (ES): $C_{14}H_{16}N_4O_3$ requiere 288,31; encontrado 289 (M+H).

Descripción 8

10 **1-[(4-{5-[4-Bromo-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D8)**



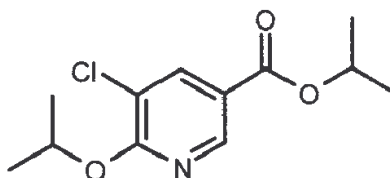
Se agitaron a temperatura ambiente durante 10 minutos ácido 4-bromo-5-(trifluorometil)-2-tiofencarboxílico (D5) (200 mg, 0,73 mmol, 1 equivalente), hexafluorofosfato de *o*-benzotriazol-1-il-N,N,N',N'-tetrametiluronio (276 mg, 0,73 mmol, 1 equivalente), polímero unido a 2-terc-butilimino-2-dietilamino-1,3-dimetil-perhidro-1,3,2-diazafosforina (324 mg, 0,73 mmol, 1 equivalente) y acetonitrilo (5 ml). Se añadieron 1-[(4-{(hidroxiamino)(imino)metil}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D7) (230 mg, 0,8 mmol, 1,1 equivalentes) y acetonitrilo (1ml) y la reacción se agitó durante 1 hora más. La reacción se irradió después a 160°C durante 15 minutos usando microondas en un recipiente sellado. La mezcla de reacción se filtró, lavando con metanol, luego diclorometano, y el filtrado se concentró *in vacuo*. El residuo se llevó a acetato de etilo y agua y se lavó con salmuera. La capa acuosa se extrajo 3 veces con acetato de etilo y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron en sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron *in vacuo* para proporcionar un aceite oscuro (439 mg). Esto se trituró primero con acetonitrilo, en segundo lugar con diclorometano y luego en tercer lugar con dietiléter, seguido de un lavado con diclorometano. Cada trituración proporcionó una pequeña cantidad de sólido que se combinó para dar un sólido blanquecino (116 mg, 1-[(4-{5-[4-bromo-5-

(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxilato de etilo aproximadamente al 96%). Las aguas madre se concentraron *in vacuo* y el residuo (-300 mg) se purificó por cromatografía de columna en sílice (50 g, 60 ml) eluyendo con acetato de etilo/n-hexano 0-50% en 15 volúmenes de columna. Esto proporcionó un sólido marrón (66 mg) (1-[(4-{5-[4-bromo-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxilato de etilo aproximadamente al 74%. Ambos lotes de 1-[(4-{5-[4-bromo-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil) metil]-1*H*-pirazol-3-carboxilato de etilo se disolvieron en metanol/diclorometano 1:1 y se concentraron *in vacuo* para dar un sólido blanquecino (170 mg) (1-[(4-{5-[4-bromo-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil) metil]-1*H*-pirazol-3-carboxilato) de etilo aproximadamente al 91%.

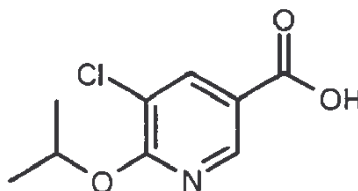
¹H-NMR (DMSO, 400MHz): δ 5,56 (2H, s), 6,81 (1H, d), 7,44 (2H, d), 8,04-8,09 (3H, m), 8,39 (1H, d). MS: m/z (M+H)⁺ 527, C₂₀H₁₄⁷⁹BrF₃N₄O₃S requiere 527.

15 **Descripción 9**

5-Cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridincarboxilato de 1-metiletilo (D9)

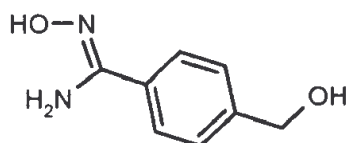


20 Se suspendió el ácido 5-cloro-6-hidroxi-3-piridincarboxílico (documento WO1997/02244) (1 g, 5,76 mmol) en tolueno (200 ml) y se trató con carbonato de plata (3,97 g, 14,40 mmol) y 2-yodopropano (3,46 ml, 34,6 mmol) y se agitó a temperatura ambiente en la oscuridad durante 3 días. LC/MS mostró 2/3 del producto. Se añadió 2-yodopropano (3 ml) y se agitó durante 24 horas. LC/MS mostró 80% del producto. Se
25 añadió EtOAc (200 ml) y se lavó con agua (200 ml) + NaHCO₃ sat. (50 ml) seguido de agua (200 ml). Se secó sobre MgSO₄ y se separó el disolvente para proporcionar 1,0 g del compuesto del título como un aceite incoloro claro. MS (ES⁺) C₁₂H₁₆³⁵ClNO₃ requiere 257; Encontrado 257,0.

Descripción 10**5 Ácido 5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridincarboxílico (D10)**

Se trató con hidróxido de sodio 2 N 5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridincarboxilato de 1-metiletilo (D9) (1,6 g, 6,21 mmol) en isopropanol (70 ml) y agua (35,0 ml) (6,21 ml, 12,42 mmol) y se agitó durante 3 horas para dar un único producto. Se separó el IPA por evaporación, se acidificó con ácido acético glacial y se extrajo el producto con EtOAc (100 ml). Se secó sobre MgSO₄ y se separó el disolvente por evaporación para dar 1,30 g del compuesto del epígrafe como un sólido blanco. MS (ES) C₉H₁₀³⁵ClNO₃ requiere 215; encontrado 214 (M-H⁺).

15

Descripción 11**N-Hidroxi-4-(hidroximetil)benzenocarboximidamida (D11)**

20

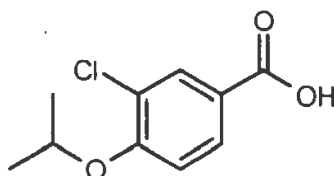
Una mezcla de 4-(hidroximetil)benzonitrilo (998 mg), NH₂OH.HCl (1,07 g) y NaHCO₃ (3,15 g) en MeOH (15 ml) se agitó a 50 °C durante 4,5 horas. La mezcla de reacción se enfrió después a temperatura ambiente, se neutralizó con HCl 1 M acuoso y luego se extrajo con EtOAc (2 x 30 ml). Las soluciones de EtOAc se lavaron después con salmuera (20 ml), se secaron en MgSO₄, se filtraron y se evaporaron hasta su secado. Esto dio el compuesto del título (875 mg) como un sólido blanco. δH (DMSO, 400MHz): 4,50 (2H, d), 5,19 (1H, t), 5,76 (2H, s ancho), 7,30 (2H, d), 7,62 (2H, d), 9,55 (1H, s). MS (ES): C₈H₁₀N₂O₂ requiere 166,18; encontrado 167 (M+H).

25

Procedimiento alternativo: Una mezcla de 4-(hidroximetil)benzonitrilo (5,0 g), $\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$ (5,3 g) y NaHCO_3 (12,6 g) en MeOH (100 ml) se sometió a reflujo durante 6 horas. Después de enfriar, la mezcla se filtró y el filtrado se evaporó para proporcionar el compuesto del título (7,0 g) como un sólido blanco. δH (MeOH, 400MHz): 4,62 (2H, s), 7,39 (2H, d), 7,60 (2H, d).

Descripción 12

Ácido 3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]benzoico (D12)



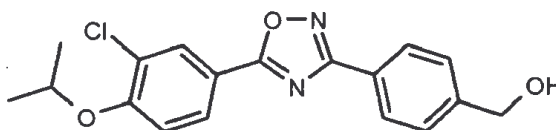
Se disolvió benzoato de metil-4-hidroxi-3-cloro (13,4 g) en DMF (150 ml), se trató con K_2CO_3 (19,9 g) seguido de bromuro de isopropilo (13,5 ml) y la mezcla resultante se calentó a 70 °C y se agitó toda la noche. La mezcla de reacción se enfrió después a temperatura ambiente, se evaporó hasta su secado, se disolvió de nuevo en EtOH, se filtró y evaporó una vez más para dar el éster intermedio (15,1 g) como un sólido blanco. Este compuesto era una mezcla de ésteres etílico y metílico y se usó crudo en la siguiente reacción.

Se disolvió el intermedio crudo (22,2 g) en MeOH (75 ml), se trató con NaOH 2M acuoso (75 ml), se calentó a 60 °C y se agitó durante 2 horas. Se enfrió entonces la mezcla de reacción a temperatura ambiente, se evaporó el MeOH y la disolución acuosa remanente se acidificó con HCl 5 M acuoso (30 ml). El precipitado se filtró y se secó para dar el compuesto del título (15,1 g) como un sólido blanco. δH (CDCl_3 , 400MHz): 1,42 (6H, d), 4,70 (1H, septete), 6,97 (1H, d), 7,97 (1H, d), 8,12 (1H, s). MS (ES): $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{ClO}_3$ requiere 214; encontrado 213 ($\text{M}-\text{H}^+$).

Descripción 13

5

**[4-(5-{3-Cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]metanol
(D13)**



10

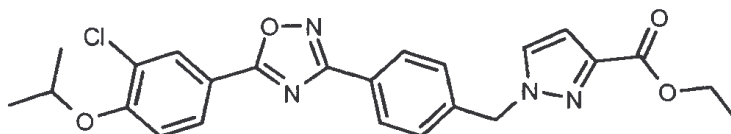
Una mezcla de ácido 3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]benzoico (D12) (558 mg), EDCI (498 mg), HOBT (352 mg) en DMF (3,3 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos. Después se añadió N-hidroxi-4-(hidroximetil)bencenocarboximidamida (D11) (308 mg) y la mezcla resultante se agitó a 100 °C durante 4 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se evaporó hasta su secado. El residuo se dividió entre EtOAc (75 ml) y H₂O (40 ml). La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera (40 ml), se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó hasta su secado. El residuo se purificó en sílice, eluyendo con una mezcla de EtOAc al 10-100 % en hexano. Esto dio el compuesto del título (595 mg) como un aceite amarillo. δ H (CDCl₃, 400MHz): 1,45 (6H, d), 4,72 (1H, quinteto), 4,79 (2H, s), 7,06 (1H, d), 7,51 (2H, d), 8,06 (1H, dd), 8,15 (2H, d), 8,24 (1H, d). MS (ES): C₁₈H₁₇ClN₂O₃ requiere 344,80; encontrado 345 (M+H).

20

Descripción 14

25

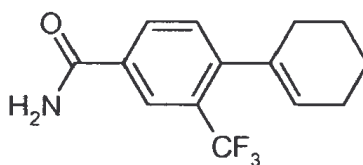
1-[[4-(5-{3-Cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D14)



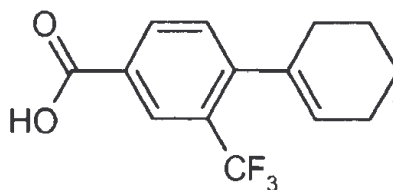
Se disolvieron [4-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]metanol (D13) (200 mg) y 1*H*-pirazol-3-carboxilato de etilo (D1) (85 mg) en tolueno (4,6 ml) bajo una atmósfera de Ar y se trató con tributilfosfina (152 μ l). Después de agitar durante 5 minutos, se añadió 1,1'-azobis(N,N-dimetilformamida) (105 mg) y se continuó agitando toda la noche. La mezcla de reacción se filtró entonces, lavando con tolueno, y se evaporó hasta su secado. El residuo se purificó por cromatografía súbita en sílice, eluyendo con EtOAc 0-100 % en pentano para dar el isómero indeseado (86 mg) y el compuesto del título (108 mg) con una baja pureza. δ H (CDCl₃, 400MHz): 1,42 (3H, t), 1,45 (6H, d), 4,43 (2H, q), 4,72 (1H, quinteto), 5,48 (2H, s), 6,87 (1H, d), 7,06 (1H, d), 7,36 (2H, d), 7,41 (1H, d), 8,05 (1H, dd), 8,14 (2H, d), 8,23 (1H, d). MS (ES): C₂₄H₂₃ClN₄O₄ requiere 466,92; encontrado 467 (M+H).

Descripción 15

4-(1-Ciclohexen-1-il)-3-(trifluorometil)benzamida (D15)



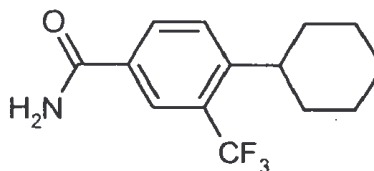
Se añadieron a metanol seco (12 ml) 4-bromo-3-(trifluorometil)benzonitrilo (1,2 g, 4,80 mmol), ácido 1-ciclohexen-1-ilborónico (0,907 g, 7,20 mmol), metóxido de sodio (0,778 g, 14,40 mmol) y cloruro de bis(trifenilfosfina)paladio(II) (0,337 g, 0,480 mmol) y la mezcla se calentó en el microondas a 80 °C durante 10 minutos. Se sometió la mezcla de reacción a reparto entre acetato de etilo (40 ml) y agua (40 ml) y después se lavó la fase orgánica con más agua (40 ml). La fase orgánica se secó (MgSO₄), se filtró y el disolvente se separó al vacío. Se purificó el producto crudo por cromatografía rápida sobre sílice, eluyendo con acetato de etilo al 0-75 % en hexano para dar el compuesto del epígrafe como un sólido blanco (1,02 g). δ H (CDCl₃, 400 MHz): 8,08 (1H, s), 7,90 (1H, d), 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) ppm. EM (ES⁺): C₁₄H₁₄F₃NO requiere 269; Encontrado 270 (M+H⁺).

5 **Descripción 16****Ácido 4-(1-ciclohexen-1-il)-3-(trifluorometil)benzoico (D16)**

10 A una disolución de 4-(1-ciclohexen-1-il)-3-(trifluorometil)benzamida (D15) (100 mg, 0,371 mmol) en etanol (3 ml) se añadió hidróxido de potasio (208 mg, 3,71 mmol) y agua (0,5 ml) y la reacción se calentó a 90 °C (temperatura de bloque) durante 24 h. La mezcla de reacción se dividió entre acetato de etilo (20 mL) y HCl acuoso (2M, 15 mL) y luego la fase acuosa se extrajo con más acetato de etilo (20 mL). Las fracciones
15 orgánicas se combinaron, se secaron (separador de fase) y se concentraron *in vacuo* para dar el compuesto del título como un sólido blanco (96 mg, 0,36 mmol). MS (ES-): C₁₄H₁₃F₃O₂ requiere 270; encontrado 269 (M-H⁺).

Descripción 17

20

4-Ciclohexil-3-(trifluorometil)benzamida (D17)

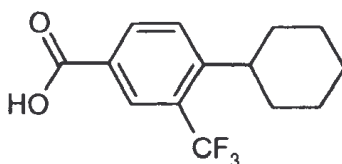
25 Se disolvió en metanol (63 ml) 4-(1-ciclohexen-1-il)-3-(trifluorometil)benzamida (D16) (850 mg, 3,16 mmol) y se hidrogenó usando una cubeta de H, usando paladio sobre carbono a 40 °C con un caudal de 2 mL/min. Se separó el disolvente *in vacuo* para dar el compuesto del título como un sólido blanco (822 mg). δH (CDCl₃, 400 MHz): 8,07 (1H, s), 7,94 (1H, d), 7,53 (1H, d), 6,54 (2H, s ancho), 2,97 (1H, m), 1,90-

1,75 (5H, m), 1,50-1,22 (5H, m) ppm. EM (ES^+): $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{NO}$ requiere 271; Encontrado 272 ($\text{M}+\text{H}^+$).

5

Descripción 18

Ácido 4-ciclohexil-3-(trifluorometil)benzoico (D18)



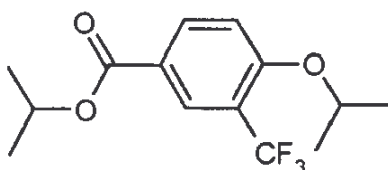
10

A una disolución de 4-ciclohexil-3-(trifluorometil)benzamida (D17) (822 mg, 3,03 mmol) en etanol (40 ml) se añadió hidróxido de potasio (1,700 g, 30,3 mmol) y agua (5 ml) y la reacción se calentó a 90 °C, temperatura de bloque durante 3 h y se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Se añadió más hidróxido de potasio (1,700 g, 30,3 mmol) y la reacción se calentó a reflujo durante 27 h. Se añadieron 5 ml más de agua y se calentó la reacción durante 66 horas (fin de semana). Se concentró en vacío la mezcla de reacción y se sometió el residuo a reparto entre acetato de etilo (25 ml) y ácido clorhídrico acuoso (2 M, 25 ml). Se extrajo después la capa acuosa con acetato de etilo (25 ml) y las fases orgánicas reunidas se secaron (MgSO_4), se filtraron y se separó el disolvente en vacío para dar el compuesto del epígrafe como un sólido blanco (737 mg). δH (MeOD, 400 MHz): 8,24 (1H, s), 8,18 (1H, d), 7,68 (1H, d), 2,98 (1H, t), 1,89 (2H, m), 1,85-1,75 (3H, m), 1,58 (2H, dd), 1,50-1,30 (3H, m) ppm. MS (ES^-): $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{O}_2$ requiere 272; encontrado 271 ($\text{M}-\text{H}^+$).

25

Descripción 19

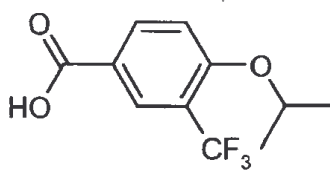
4-[(1-Metiletil)oxi]-3-(trifluorometil)benzoato de 1-metiletilo (D19)



Una mezcla de ácido 4-hidroxi-3-(trifluorometil)benzoico (450 mg, 2,18 mmol), 2-yodopropano (435 μ L, 4,36 mmol) y carbonato de potasio (603 mg, 4,36 mmol) en N,N'-dimetilformamida (40 mL) se calentó a 70 °C durante 4 h antes de que se añadiera más 2-yodopropano (218 μ L, 2,18 mmol) y se continuó calentando durante 18 h. Se separó el sólido inorgánico por filtración y se lavó con acetato de etilo. Se concentró el filtrado *in vacuo* y el residuo se dividió entre acetato de etilo (150 mL) y agua (150 mL) que contenía algo de hidróxido de sodio acuoso. Se secó la capa orgánica (separador de fase) y se concentró *in vacuo* para dar el compuesto del título como un aceite amarillo. EM (ES⁺): C₁₄H₁₇F₃O₃ requiere 290; Encontrado 291 (M+H⁺).

Descripción 20

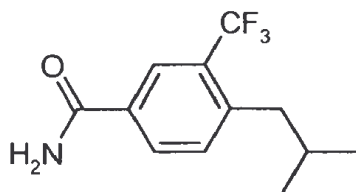
Ácido 4-[(1-metiletil)oxi]-3-(trifluorometil)benzoico (D20)



A una mezcla de 4-[(1-metiletil)oxi]-3-(trifluorometil)benzoato de 1-metiletilo (D19) (704 mg, 2,43 mmol) en etanol (110 mL) se añadió hidróxido de sodio acuoso (2M, 12,2 mL, 24,3 mmol) y la reacción se calentó a reflujo durante 1 h. La mezcla se concentró *in vacuo* y el residuo se dividió entre acetato de etilo (100 mL) y agua (100 mL) y se acidificó con ácido clorhídrico acuoso (2M, 13 mL). Se extrajo la capa acuosa con más acetato de etilo (100 mL) y las capas orgánicas reunidas se secaron y se concentraron en vacío para dar el compuesto del epígrafe como un sólido amarillo (563 mg). δ H (MeOD, 400 MHz): 8,21-8,17 (2H, m), 7,26 (1H, d), 4,84 (1H, septete), 1,38 (6H, d) ppm. MS (ES⁻): C₁₁H₁₁F₃O₃ requiere 248; encontrado 247 (M-H⁺).

Descripción 21

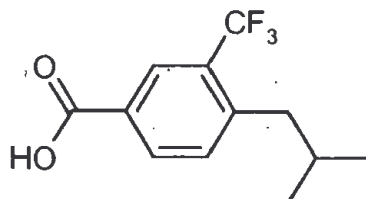
4-(2-Metilpropil)-3-(trifluorometil)benzamida (D21)



A una disolución de 4-bromo-3-trifluorometilbenzonitrilo (1,25 g, 5,0 mmol) y bromuro de isobutilcinc (25 mmol) en THF (50 mL, 25 mmol) bajo argón se añadió el complejo de diclorometano de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocenodicloro paladio(II) (612 mg, 0,75 mmol) y la reacción se calentó a reflujo durante 5 h. La mezcla se concentró *in vacuo* y el residuo se dividió entre acetato de etilo (80 mL) y agua (80 mL). Se formó un sólido y se separó por filtración y se desechó. La capa orgánica se lavó con agua (80 mL) antes de secarse (separador de fase) y se concentró *in vacuo* para dar el compuesto del título crudo como un aceite negro. Esto se usó directamente en la siguiente etapa (1,35 g).

Descripción 22

15 **Ácido 4-(2-metilpropil)-3-(trifluorometil)benzoico (D22)**



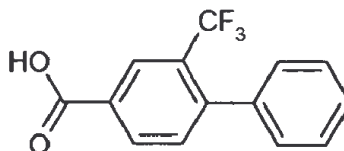
Se disolvió 4-(2-metilpropil)-3-(trifluorometil)benzamida (D21) (1,35 g, 5,50 mmol) junto con hidróxido de potasio (3,09 g, 55,0 mmol) en etanol (40 ml) y agua (10,0 ml) y la disolución se calentó a reflujo durante 18 h. La mezcla de reacción se concentró *in vacuo* y la mezcla se separó entre EtOAc (150 mL) e hidróxido de sodio acuoso (2M, 150 mL). Las capas se separaron y la fase orgánica se extrajo con más disolución de hidróxido de sodio (200 mL). La LCMS de ambas fases mostró producto en ambos. Por lo tanto, la fase acuosa se acidificó a pH1 con HCl (5M) y se extrajo de nuevo en EtOAc (2 x 150 mL) y estas fases orgánicas se combinaron con la fase orgánica original. Se separó el disolvente *in vacuo* y el residuo se purificó por cromatografía de fase inversa, eluyendo con MeCN 5-100 % en H₂O sobre 2000 mL y

el disolvente se eliminó *in vacuo* para dar un sólido marrón (690 mg, 2,410 mmol). Este sólido se trituro con hexano para dar el compuesto del título como un sólido crema (135 mg, 0,548 mmol) y el filtrado se purificó por MDAP para dar más compuesto del título como un sólido blanco (102 mg, 0,414 mmol). δ H (DMSO, 400 MHz): 13,39 (1H, s ancho), 8,16 (1H, s), 8,13 (1H, d), 7,62 (1H, d), 2,69 (2H, d), 1,97 (1H, m), 0,90 (6H, d) ppm. LCMS (ES⁻): C₁₂H₁₃F₃O₂ requiere 246; Encontrado 245 (M-H⁺); r.t. = 3,32 min (método 5 min).

Descripción 23

10

Ácido 2-(trifluorometil)-4-bifenilcarboxílico (D23)



Lote A: Una mezcla de 4-cloro-3-trifluorometilbenzoato de etilo (1,0 g, 3,96 mmol), ácido fenil-borónico (724 mg, 5,94 mmol), acetato de paladio (44 mg), (diciclohexilfosfino)bifenilo (140,2 mg) y fluoruro de potasio (689 mg, 11,9 mmol) en THF (8 ml) se calentó en el microondas a 120 °C durante un total de 40 minutos. Lote B: Una mezcla de 4-cloro-3-trifluorometilbenzoato de etilo (500 mg, 1,98 mmol), ácido fenil-borónico (290 mg, 2,38 mmol), acetato de paladio (2,2 mg), (diciclohexilfosfino)bifenilo (7 mg) y fluoruro de potasio (344 mg, 5,8 mmol) en THF (4 ml) se calentó en el microondas a 120 °C durante 20 minutos.

Las mezclas de reacción de los lotes A & B se combinaron, se filtraron y el filtrado se concentró *in vacuo*. Se purificó el residuo por cromatografía rápida (SiO₂, EtOAc de 0 a 5 % en hexano) para dar una mezcla de material de partida y producto acoplado. Se disolvió este material en etanol (10 ml) y NaOH 2 M (acuoso) (5 ml) y después se calentó a reflujo durante 3 h. Se separó el disolvente en vacío y se sometió el residuo a reparto entre DCM y HCl 2 M acuoso. La capa acuosa se extrajo con más DCM. Las fases orgánicas se reunieron y se concentraron en vacío. El material crudo se purificó por cromatografía de fase inversa eluyendo con MeCN de 5 a 100% en agua para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (367 mg, 1,38 mmol). δ H (DMSO, 400 MHz) 7,31-7,40 (2H, m), 7,44-7,52 (3H, m), 7,57 (1H,

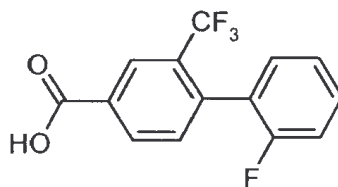
d), 8,24 (1H, dd), 8,29 (1H, d), 13,57 (1H, s ancho). LCMS (ES⁻): C₁₄H₉F₃O₂ requiere 266; Encontrado 265 (M-H⁺);

5

Descripción 24

10

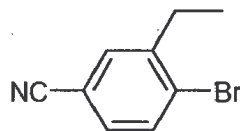
Ácido 2'-fluoro-2-(trifluorometil)-4-bifenilcarboxílico (D24)



A 4-bromo-3-trifluorometilbenzonitrilo (1,5 g, 6,0 mmol) y al ácido 2-
15 fluorofenilbenzoico (1,0 g, 7,2 mmol) bajo un flujo de argón se añadió tolueno (30 mL),
carbonato sódico acuoso saturado (10 mL) y etanol (10 mL) antes de la adición de
tetraquistrifenilfosfina de paladio (345 mg, 0,3 mmol). La mezcla se calentó a 90 °C
(temperatura de bloque) durante 19 h. La mezcla de reacción se dividió entre acetato
de etilo (100 ml) y agua (80 mL). La fase orgánica se lavó con salmuera (80 mL) antes
20 de secarla (separador de fase) y se concentró *in vacuo*. El residuo se purificó por
cromatografía de sílice, eluyendo con EtOAc al 0-75 % en hexano. El producto
resultante se disolvió después en etanol (40 mL) y agua (10 mL) y se añadió hidróxido
de potasio (2,5 g, 44 mmol). La disolución se calentó toda la noche a 90 °C
(temperatura de bloque). La mezcla de reacción se concentró y se dividió entre acetato
25 de etilo (70 mL) y HCl 2M (30 mL). La fase orgánica se lavó con más HCl 2M (30 mL)
antes de secarla (separador de fase) y se eliminó el disolvente *in vacuo*. El material
crudo se purificó por cromatografía de fase inversa, eluyendo con acetonitrilo al 5-100
% en agua para dar el compuesto del título como un sólido (551 mg, 1,94 mmol). MS
(ES⁻): C₁₄H₈F₄O₂ requiere 284; encontrado 283 (M-H⁺).

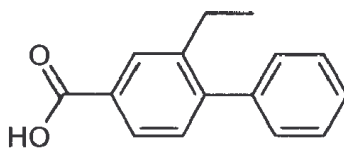
30

Descripción 25

4-Bromo-3-etilbenzonitrilo (D25)

Una mezcla de 4-amino-3-etilbenzonitrilo (3,00 g, 20,5 mmol) y bromuro de
5 cobre (II) (6,88 g, 30,8 mmol) en acetonitrilo (115 mL) se agitó en argón antes de la
adición de isoamilnitrito (3,60 g, 30,8 mmol) gota a gota a través de un condensador y
la mezcla se calentó a 60 °C durante 2,5 h. La mezcla se dejó a temperatura ambiente
toda la noche en argón antes de que se concentrara. Se añadió éter dietílico y la
mezcla se lavó con cloruro de amonio saturado acuoso seguido de hidróxido de sodio
10 2M. La capa acuosa se extrajo con más dietiléter antes de que se secaran las
fracciones orgánicas combinadas (separador de fase) y se evaporó. La purificación del
material en tres lotes fue por cromatografía de fase inversa, eluyendo con acetonitrilo
al 5-100 % en agua para dar el compuesto del título (787 mg, 3,74 mmol). δ H (MeOD,
400 MHz): 7,74 (1H, d), 7,67 (1H, d), 7,45 (1H, dd), 2,82 (2H, q), 1,24 (3H, t) ppm

15

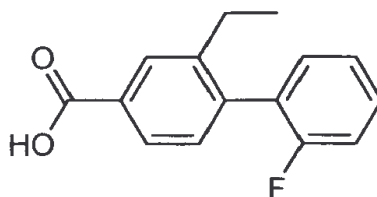
Descripción 26**Ácido 2-etil-4-bifenilcarboxílico (D26)**

20

Una mezcla de 4-bromo-3-etilbenzonitrilo (D25) (270 mg, 1,30 mmol), ácido
fenilborónico (302 mg, 2,48 mmol), paladiotetraquistrifenilfosfina (144 mg, 0,12 mmol)
y carbonato de potasio (514 mg, 3,72 mmol) en dimetilformamida (4 mL) se calentó a
170 °C en el microondas durante 30 minutos. La mezcla se dejó reposar a temperatura
25 ambiente toda la noche antes de que se vertiera en una mezcla de hielo y cloruro de
amonio saturado acuoso. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL) y los
extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron (separador de
fase) y se evaporaron. El residuo se purificó por cromatografía de sílice, eluyendo con
EtOAc al 0-8 % en hexano para dar un aceite incoloro (272 mg). Este material se
30 añadió a etanol (12 mL) y agua (3 mL) seguido de hidróxido de potasio (730 mg, 13,0)

mmol y la mezcla se calentó a 90 °C toda la noche. El disolvente se evaporó y el residuo se dividió entre acetato de etilo (40 mL) y HCl 2M (15 mL). La capa orgánica se lavó con más HCl (15 mL) antes de secarla (separador de fase) y se concentró *in vacuo*. El sólido resultante se purificó por MDAP y las fracciones que contenían el producto se concentraron *in vacuo*. El residuo se dividió entre acetato de etilo y HCl 2M. La fase orgánica se lavó con más HCl 2M, se secó (separador de fase) y se evaporó para dar el compuesto del título como un sólido blanco (166 mg, 0,73 mmol). MS (ES⁻): C₁₅H₁₄O₂ requiere 226; encontrado 225 (M-H⁺).

10

Descripción 27**Ácido 2-etil-2'-fluoro-4-bifenilcarboxílico (D27)**

15

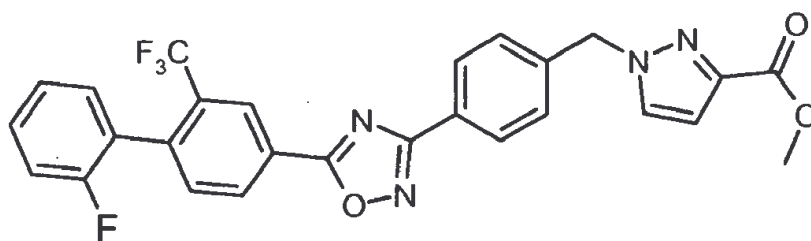
Una mezcla de 4-bromo-3-etilbenzonitrilo (D25) (651 mg, 3,10 mmol), ácido 2-fluorofenilborónico (867 mg, 6,20 mmol), paladiotetraquistrifenilfosfina (359 mg, 0,31 mmol) y carbonato de potasio (1,29 g, 9,30 mmol) en dimetilformamida (10 mL) se calentó a 170 °C en el microondas durante 30 minutos. La mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente en un fin de semana antes de que se vertiera en una mezcla de hielo y cloruro de amonio saturado acuoso. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 20 mL) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron (separador de fase) y se evaporaron. El residuo se purificó por cromatografía de sílice, eluyendo con EtOAc al 0-5 % en hexano para dar un aceite incoloro (655 mg). Este material se añadió a etanol (26 mL) y agua (6 mL) seguido de hidróxido de potasio (1,62 g, 28,9 mmol) y la mezcla se calentó a 90 °C durante 17 h. El disolvente se evaporó y el residuo se dividió entre acetato de etilo y HCl 2M. La capa orgánica se lavó con más HCl antes de secarla (separador de fase) y se concentró *in vacuo* para dar el compuesto del título como un sólido blanco (648 mg, 2,66 mmol). MS (ES⁻): C₁₅H₁₃FO₂ requiere 244; encontrado 243 (M-H⁺).

30

5

Descripción 28

10 **1-[(4-{5-[2'-fluoro-2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de metilo (D28)**



Se disolvieron el ácido 2'-fluoro-2-(trifluorometil)-4-bifenilcarboxílico (104 mg, 0,365 mmol), EDC (77 mg, 0,401 mmol) y HOBT (61,4 mg, 0,401 mmol) en N,N-dimetilformamida (5 ml) y se agitó a r.t. durante 15 minutos. Después se añadió 1-[(4-{5-[2'-fluoro-2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de metilo (D7) (100 mg, 0,365 mmol) y la reacción se agitó a r.t. durante 1 h. La reacción luego se calentó a 80 °C durante 18 h. La mezcla de reacción se dividió entre EtOAc (25 mL) y agua (25 mL) y la fase orgánica se lavó con bicarbonato sódico acuoso (25 mL) y agua (25 mL) antes de secarla (separador de fase) y se concentró *in vacuo*. El residuo se trituró con etanol para dar un sólido blanco, 1-[(4-{5-[2'-fluoro-2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil) metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de metilo (77 mg, 0,147 mmol). EM (ES⁺): C₂₇H₁₈F₄N₄O₃ requiere 522; Encontrado 523 (M+H⁺).

25

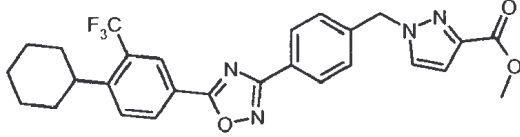
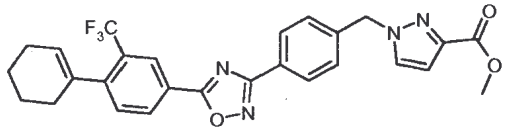
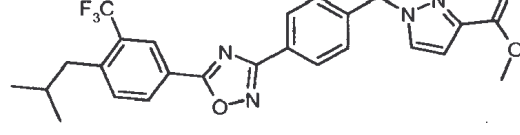
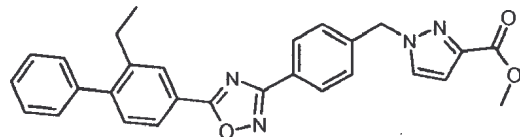
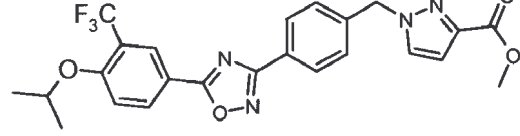
Descripciones 29-35

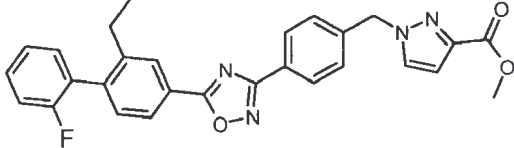
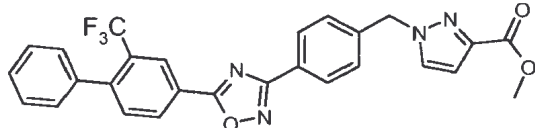
Los siguientes compuestos se prepararon por un método similar: Las variaciones corresponden al tiempo de reacción y al método de purificación. La etapa de trituración puede haberse realizado con MeOH:DMSO 1:1. Para algunos ejemplos, después de la trituración el filtrado se purificó por cromatografía de fase inversa para

30

dar más material, o se combinaron ambos, el sólido y el filtrado, y se purificaron por cromatografía de fase inversa.

5

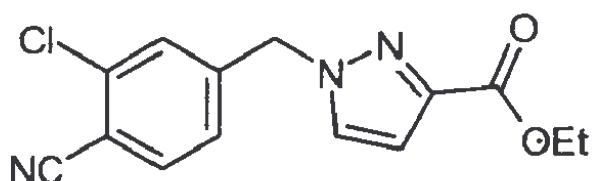
	Estructura	Nombre	MS (ES+)
D29		1-[(4-{5-[4-ciclohexil-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1 <i>H</i> -pirazol-3-carboxilato de metilo	511
D30		1-[(4-{5-[4-(1-ciclohexen-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1 <i>H</i> -pirazol-3-carboxilato de metilo	509
D31		1-[(4-{5-[4-(2-metilpropil)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1 <i>H</i> -pirazol-3-carboxilato de metilo	485
D32		1-[(4-{5-[2-etil-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1 <i>H</i> -pirazol-3-carboxilato de metilo	465
D33		1-[(4-{5-[4-[(1-metiletil)oxi]-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1 <i>H</i> -pirazol-3-carboxilato de metilo	487

	Estructura	Nombre	MS (ES+)
D34		1-({4-[5-(2-etil-2'-fluoro-4-bifenilil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]fenil}metil)-1H-pirazol-3-carboxilato de metilo	483
D35		1-[(4-{5-[2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de metilo	505

Descripción 36

1-[(3-Cloro-4-cianofenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D36)

5



Una suspensión de 1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D1) (280 mg, 2,0 mmol), 4-(bromometil)-2-clorobenzonitrilo [documento WO 2007/039177] (460 mg, 2 mmol) y t-butoxido de potasio (246 mg, 2,2 mmol), en etanol (15 ml) se calentó a 60°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se concentró in vacuo y se disolvió en agua (~25 ml) y acetato de etilo (~25 ml), las capas se dividieron y la capa acuosa se lavó dos veces con acetato de etilo (2x 15 ml). Los extractos orgánicos combinados se pasaron a través de un cartucho separador de fases hasta secarlo y se concentraron in vacuo. El material crudo se purificó mediante un SP4 de Biotage con un cartucho 25S y acetato de etilo/hexano al 10-70% como eluyente. Las fracciones que contenían el producto se combinaron para generar dos productos, uno de los cuales era el compuesto del título como un sólido blanco (211 mg, 0,73 mmol). EM (ES⁺): C₁₄H₁₂³⁵ClN₃O₂ requiere 289; Encontrado 290 (M+H⁺).

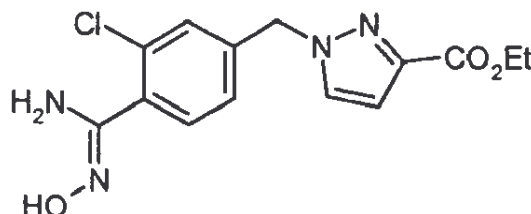
20

5

Descripción 37

1-({3-Cloro-4-[(Z)-(hidroxiamino)(imino)metil]fenil}metil)-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D37)

10



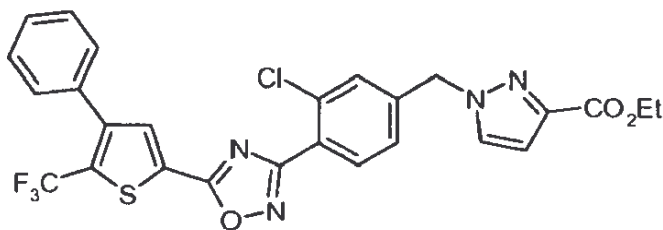
Una suspensión de 1-[(3-cloro-4-cianofenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D36) (211 mg, 0,73 mmol), en etanol (5 ml), con hidrocloreuro de hidrocilamina (101 mg, 1,45 mmol), y bicarbonato sódico (306 mg, 3,64 mmol), se calentó durante el fin de semana a 50°C. La mezcla de reacción se dejó enfriar y se añadió etanol (~15 ml) a la mezcla, esto se agitó durante ~5 minutos y la mezcla se filtró. Se concentró la solución resultante in vacuo para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (256 mg, 0,80 mmol). EM (ES⁺): C₁₄H₁₅³⁵ClN₄O₃ requiere 322; Encontrado 323 (M+H⁺).

20

Descripción 38

1-[(3-Cloro-4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D38)

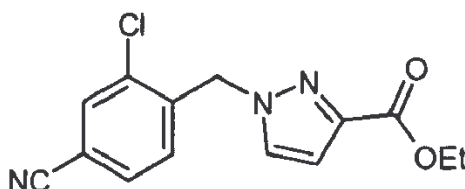
25



Se calentaron 1-((3-cloro-4-[(Z)-(hidroxiamino)(imino)metil]fenil)metil)-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D37) (256 mg, 0,80 mmol), ácido 4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tiofencarboxílico (432 mg, 1,58 mmol), HOBt (118 mg, 0,87 mmol), y EDAC (167 mg, 0,87 mmol) en DMF (10 ml) a 80°C toda la noche. La mezcla de reacción se dejó enfriar, se añadió a la mezcla de reacción más HOBt (118 mg, 0,87 mmol), EDAC (167 mg, 0,874 mmol), y ácido 4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tiofencarboxílico (432 mg, 1,58 mmol), y la mezcla se calentó a 80°C toda la noche. La mezcla de reacción se concentró *in vacuo* y se disolvió en acetato de etilo (~50 ml) y agua (~50 ml). Las capas se dividieron y se separaron, la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2x ~30 ml). Los extractos orgánicos combinados se concentraron *in vacuo* y se disolvieron en metanol (volumen mínimo). La disolución se purificó mediante un cartucho C₁₈ 25S de fase inversa de Biotage Horizon con acetonitrilo/agua al 5-100% como eluyente. Las fracciones que contenían el producto se concentraron *in vacuo* para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (54 mg, 0,01 mmol). EM (ES⁺): C₂₆H₁₈-³⁵ClF₃N₄O₃S requiere 558; Encontrado 559 (M+H⁺).

Descripción 39

20 **1-[(2-Cloro-4-cianofenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D39)**



El compuesto del título se preparó por un método similar al de D36, usando 4-(bromometil)-3-clorobenzonitrilo en lugar de 4-(bromometil)-2-clorobenzonitrilo, para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (120 mg, 0,415 mmol). EM (ES⁺): C₁₄H₁₂-³⁵ClN₃O₂ requiere 289; Encontrado 290 (M+H⁺).

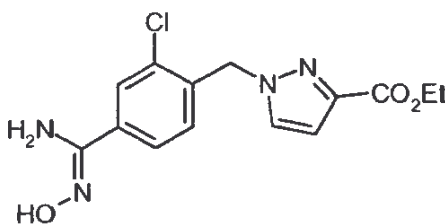
5

10

Descripción 40

1-({2-Cloro-4-[(Z)-(hidroxiamino)(imino)metil]fenil}metil)-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D40)

15



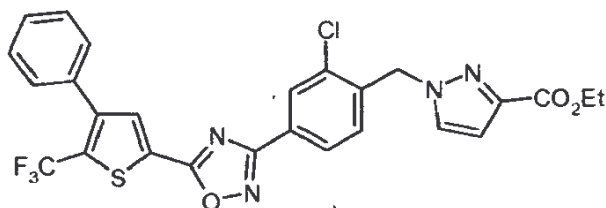
El compuesto del título se preparó por un método similar al de D37, usando 1-[(2-cloro-4-cianofenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D39) en lugar de 1-[(3-cloro-4-cianofenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D36), para proporcionar un sólido blanco (200 mg, 0,62 mmol). EM (ES⁺): C₁₄H₁₅³⁵ClN₄O₃ requiere 322; Encontrado 323 (M+H⁺).

20

Descripción 41

25

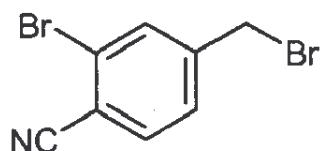
1-[(2-Cloro-4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D41)



Se agitaron 1-({2-cloro-4-[(Z)-(hidroxiamino)(imino)metil]fenil}metil)-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D40) (200 mg, 0,62 mmol), ácido 4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tiofencarboxílico (186 mg, 0,68 mmol), HOBt (92 mg, 0,68 mmol), y EDAC (131 mg, 0,69 mmol), en DMF (5 ml) a temperatura ambiente durante 40 horas. La mezcla de reacción se calentó a 80°C durante 4 horas, el calentamiento fue continuado a 80°C toda la noche. La mezcla de reacción se dejó enfriar y se dejó reposar durante 2 días. La mezcla de reacción se concentró in vacuo y se disolvió en acetato de etilo (~50 ml) y agua (~50 ml). Las capas se dividieron y se separaron, la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3x ~20 ml). Los extractos orgánicos combinados se concentraron in vacuo y se disolvieron en metanol (volumen mínimo). La disolución se purificó mediante un cartucho C₁₈ 25S de fase inversa de Biotage Horizon con acetonitrilo/agua al 5-100% como eluyente. Las fracciones que contenían el producto se concentraron in vacuo para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (85 mg, 0,15 mmol). EM (ES⁺): C₂₆H₁₈-³⁵ClF₃N₄O₃S requiere 558; Encontrado 559 (M+H⁺).

Descripción 42

20 **2-Bromo-4-(bromometil)benzonitrilo (D42)**

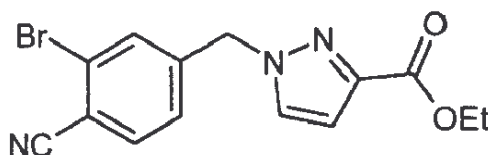


Se añadieron NBS (9,57g, 0,054mol), y peróxido de benzoílo (130 mg, 0,54mmol), a una disolución de 4-metil-2-bromo benzonitrilo (9,0 g, 0,046 mol), en benceno (300 ml). La mezcla de reacción se calentó a 80°C durante 2 horas. La mezcla de reacción se dejó reposar toda la noche, calentando después a 80°C durante 8 horas. La mezcla de reacción se diluyó con acetato de etilo (~200 ml) y agua (~200 ml), las capas se dividieron y la capa orgánica se pasó a través de un cartucho

separador de fases y se concentró in vacuo. El residuo se trituró con éter y el sólido se filtró para proporcionar el compuesto del título (6,48 g, 0,024 mol). δ H (DMSO, 400 MHz): 8,00 (1H, d), 7,96 (1H, d), 7,67, (1H, dd), 4,75, (2H, s).

5 **Descripción 43**

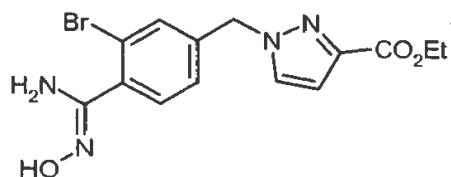
1-[(3-Bromo-4-cianofenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D43)



- 10 Una suspensión de 1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D1) (3,298 g, 0,024 mol), 4-(bromometil)-2-bromobenzonitrilo (D42) (6,48 g, 0,024 mol) y t-butoxido de potasio (2,903g, 0,026 mol), en etanol (250 ml) se calentó a 60°C toda la noche. La mezcla de reacción se concentró in vacuo y se disolvió en agua (~250 ml) y acetato de etilo (~250 ml), las capas se dividieron y la capa acuosa se lavó dos veces con acetato de etilo
- 15 (2x 100 ml). Los extractos orgánicos combinados se pasaron a través de un cartucho separador de fases hasta el secado y se concentraron in vacuo. El residuo se raspó y se agitó en acetato de etilo (~50 ml) y el sólido resultante se separó por filtración. Las aguas madres se concentraron in vacuo y se purificaron mediante un SP4 de Biotage con un cartucho 40M y acetato de etilo/hexano al 30-70% como eluyente. Las
- 20 fracciones que contenían el producto se combinaron y se concentraron. Este producto se combinó con la primera producción para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (1,55 g, 4,6 mmol). EM (ES⁺): C₁₄H₁₂⁷⁹BrN₃O₂ requiere 333; Encontrado 334 (M+H⁺).

25 **Descripción 44**

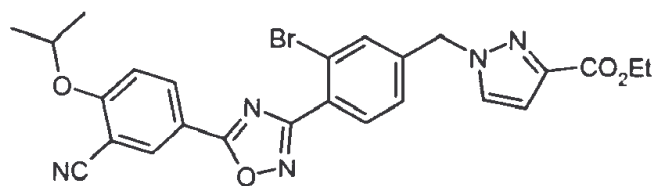
1-({3-Bromo-4-[(Z)-(hidroxiamino)(imino)metil]fenil}metil)-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D44)



Una suspensión de 1-[(3-bromo-4-((Z)-hidroxiamino)(imino)metil]fenil}metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D43) (1,55 g, 4,6 mmol), en etanol (50 ml), con hidrocloreuro de hidroxilamina (645 mg, 9,2 mmol), y bicarbonato sódico (1,95 g, 0,023 mol), se calentó toda la noche a 50°C. La mezcla de reacción se diluyó con etanol (300 ml) y la disolución se calentó a 50°C durante 3 horas. Se añadió hidrocloreuro de hidroxilamina (1,29 g, 18,4 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a 50°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se dejó enfriar y la mezcla se filtró. Se concentró la disolución resultante in vacuo para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (1,2 g, 3,26 mmol). EM (ES⁺): C₁₄H₁₅⁷⁹BrN₄O₃ requiere 366; Encontrado 367 (M+H⁺).

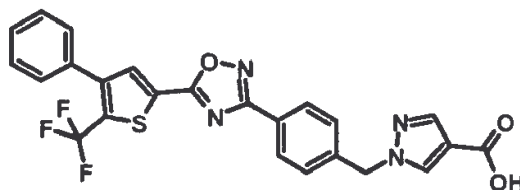
15 Descripción 45

1-[(3-Bromo-4-(5-{3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil}metil)-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D45)



20

El compuesto del título se preparó por un método similar al de D38, usando 1-[(3-bromo-4-[(Z)-(hidroxiamino)(imino)metil]fenil}metil)-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D44) y ácido 3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]benzoico (documento WO2005/58848) en lugar de 1-[(3-cloro-4-[(hidroxiamino)(imino)metil]fenil}metil)-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D37) y ácido 4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tiofeno-carboxílico, para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (506 mg, 0,94 mmol). EM (ES⁺): C₂₅H₂₂⁷⁹BrN₅O₄ requiere 535; Encontrado 536 (M+H⁺).

Ejemplo 1**Ácido 1-[(4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-4-carboxílico (E1)**

Una mezcla de 1-[(4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-4-carboxilato de etilo (D2) (85 mg), etanol (3,0 ml) y LiOH_(aq) 0,5M (1,6ml) se agitó a 40°C. La reacción se controló por LCMS. Después de 3,5 horas la temperatura se elevó a 45°C y se continuó agitando. Después de un total de 7 horas, la mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente. Luego se añadieron agua (6 ml) y HCl_(aq) 2M (0,45 ml), seguido de diclorometano (6 ml). La mezcla se agitó fuertemente y luego la capa de diclorometano se separó y se evaporó hasta su secado. Esto produjo un sólido blanco, 120 mg. El sólido blanco era insoluble en metanol y dimetilsulfóxido 1:1. El sólido blanco se suspendió en metanol y agua 1:1, se sonicó y filtró, produciendo un sólido blanco (pureza inalterada). La disolución y el sólido se combinaron, se evaporaron hasta su secado y se disolvieron en metanol (100 ml). La disolución resultante se pasó en un cartucho PE-AX. El cartucho se lavó con metanol y luego con ácido acético al 10% en metanol. Se combinaron las fracciones apropiadas y se evaporaron hasta su secado, produciendo 59 mg de un sólido blanco. El sólido blanco se pasó sobre un cartucho SAX, que luego se eluyó con metanol y luego con ácido acético al 10% en metanol. La fracción apropiada se evaporó hasta su secado, produciendo 4 mg de un sólido blanco. El SAX no pudo recuperar una cantidad significativa del producto deseado. El desecho del SAX se evaporó hasta su secado, produciendo 59 mg de un sólido blanco. El sólido blanco (59 mg) se disolvió en metanol y se pasó sobre un cartucho PE-AX, que se eluyó con metanol y luego con ácido acético al 10% en metanol. La fracción apropiada se evaporó hasta su secado, co-evaporando con acetato de etilo, produciendo un sólido blanco (50 mg).

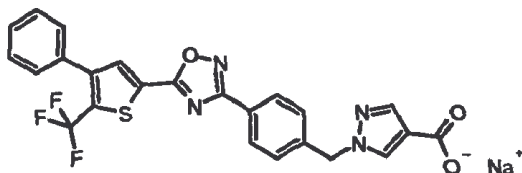
MS: m/z (M+H)⁺ 525, requiere C₂₆H₁₉F₃N₄O₃S 524. Impureza presente en ¹H-NMR.

El sólido blanco se trituró con dietiléter y se secó produciendo **E1** como un sólido blanco (50 mg, 62%).

- 5 ¹H-NMR (MeOD, 400MHz): δ 5,47 (2H, s), 7,44 (2H, d), 7,49 (5H, m), 7,91 (1H, s), 8,04 (1H, s), 8,14 (2H, d), 8,26 (1H, s).

Ejemplo 2:

- 10 **1-[(4-{5-[4-Fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-4-carboxilato sódico (E2)**

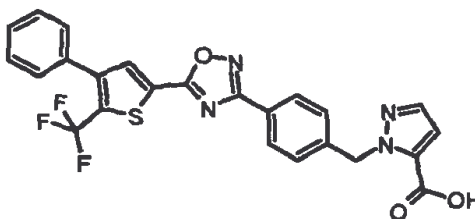


- Una muestra de 30 mg del ácido 1-[(4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-4-carboxílico (E1) se trató con un exceso de NaOH_(aq) 2M, se diluyó con agua (1 ml), se extrajo con acetato de etilo (3x5 ml), usando un pequeño volumen de salmuera durante la tercera extracción para ayudar a la separación de fases. Los extractos orgánicos combinados se evaporaron para dar 1-[(4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-4-carboxilato sódico como un sólido blanco (11 mg, 35%).

¹H-NMR (MeOD, 400MHz): δ 5,46 (2H, s), 7,42 (2H, d), 7,48 (5H, m), 7,89 (1H, s), 8,03 (1H, s), 8,11 (2H, d), 8,18 (1H, s). MS: m/z (M+H)⁺ 497, C₂₄H₁₄F₃N₄O₃S requiere 496.

- 25 **Ejemplo 3**

Ácido 1-[(4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-5-carboxílico (E3)



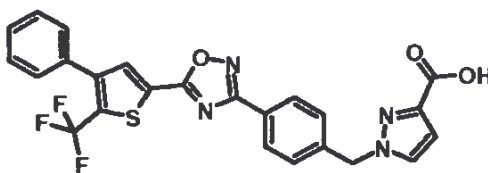
Una mezcla de 1-[(4-{5-[4-phenyl-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-5-carboxilato de etilo (D3a) (30 mg), etanol (1,1 ml) y LiOH_(aq) 0,5M (0,57ml) se agitó a 40°C. La reacción se controló por LCMS. Después de 16 horas, la mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente. Luego se añadieron agua (2,1 ml) y HCl 2M_(aq) (0,16 ml), seguido de diclorometano (6,0 ml). La mezcla se agitó fuertemente. La capa de diclorometano se separó y se evaporó hasta su secado, produciendo 30 mg de un sólido blanco. El sólido blanco se disolvió en metanol y diclorometano -7:1 y se pasó sobre un cartucho SPE-AX. El cartucho se eluyó con metanol y ácido acético al 10% en metanol. La fracción apropiada se evaporó hasta su secado. No se eluyó ningún producto significativo. El aclarado del cartucho con metanol y diclorometano 1:1, seguido de la evaporación del disolvente produjo un sólido blanco (15 mg).

MS: m/z (M+H)⁺ 497, C₂₄H₁₄F₃N₄O₃S requiere 496. Impureza presente en ¹H-NMR.

El sólido blanco se trituró con dietiléter y se secó produciendo un sólido blanquecino. El sólido blanquecino se disolvió en diclorometano y se lavó con HCl_(aq) 1 M, y se evaporó hasta su secado, produciendo **E3** como un sólido blanco (8 mg, 28%). ¹H-NMR (MeOD, 400MHz): δ 5,88 (2H, s), 6,95 (1H, s), 7,34 (2H, d), 7,49 (5H, m), 7,62 (1H, s), 8,04 (1H, s), 8,07 (2H, d).

Ejemplo 4

Ácido 1-[(4-{5-[4-phenyl-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxílico (E4)

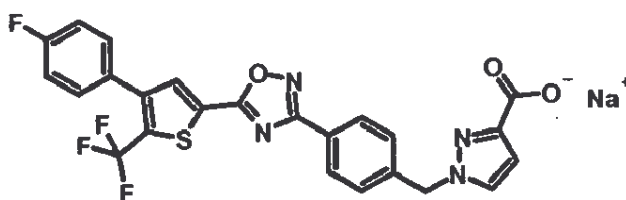


Una mezcla de 1-[(4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D3b) (85 mg), etanol (3,0 ml) y LiOH_(aq) 0,5M (1,6 ml) se agitó a 40°C. La reacción se controló por LCMS. Después de 16 horas la mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente. Luego se añadieron agua (3,4 ml) y HCl 2M_(aq) (0,26 ml), seguido de diclorometano (6,0 ml). La mezcla se agitó fuertemente. La capa de diclorometano se separó y se evaporó hasta su secado, produciendo 45 mg de un sólido blanco, que se identificó como E4 (99%).

¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ 5,50 (2H, s), 6,94 (1H, s), 7,39 (2H, d), 7,47 (6H, m), 7,91 (1H, s), 8,15 (2H, d). MS: m/z (M+H)⁺ 497, C₂₄H₁₄F₃N₄O₃S requiere 496.

Ejemplo 5

1-[(4-{5-[4-(4-Fluorofenil)-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato sódico (E5)



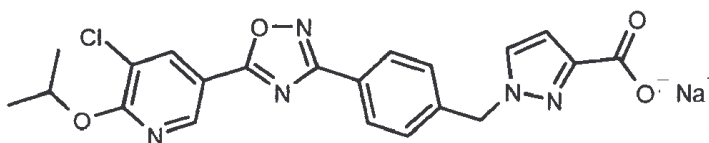
Se irradiaron a 130°C durante 20 minutos 1-[(4-{5-[4-bromo-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil) metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D8) (120 mg, 0,228 mmol, 1 equivalente), ácido 4-fluorofenil-borónico (32 mg, 0,228 mmol, 1 equivalente), (tetraquistrifenilfosfina) fosfina paladio (13 mg, 0,011 mmol, 0,05 equivalentes), disolución de carbonato sódico acuoso 0,5M (2,5 ml) y acetonitrilo (2,5 ml). Se separó el disolvente *in vacuo* y el residuo se llevó a agua y se acidificó a pH1 con HCl 5N (270μl). Esta mezcla se extrajo 3 veces con acetato de etilo (la mezcla bifásica requirió el filtrado para la separación). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron en sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron *in vacuo* para proporcionar un sólido marrón (117 mg). Esto se purificó por cromatografía de columna en sílice (40 g, 48 ml) eluyendo en acetato de etilo/*n*-hexano al 80% más ácido acético al 1% para dar un sólido blanquecino (66 mg). Esto se suspendió en metanol (1ml) y se añadió NaOH 2N (1 ml). Se formó un precipitado blanco. Se añadió agua (2 ml) y la suspensión se filtró. El precipitado se recogió y se secó para dar 1-[(4-{5-[4-(4-fluorofenil)-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato sódico como un sólido blanquecino (30 mg).

$^1\text{H-NMR}$ (MeOD, 400MHz): δ 5,46 (2H, s), 6,69 (1H, d), 7,24 (2H, t), 7,43 (2H, d), 7,53-7,58 (2H, m), 7,63 (1H, d), 8,05 (1H, d), 8,09 (2H, d). MS: m/z (M+H) $^+$ 515, $\text{C}_{24}\text{H}_{14}\text{F}_4\text{N}_4\text{O}_3\text{S}$ requiere 515.

5

Ejemplo 6

1-[(4-{5-{5-Cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil}-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de sodio (E6)



10

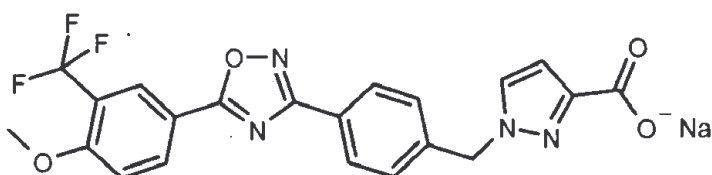
Se disolvieron en DMF (3,5 ml) el ácido 5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridincarboxílico (D10) (75 mg), EDCI (73 mg) y HOBT (52 mg) y se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se añadió 1-[(4-{(hidroxiamino)(imino)metil}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D7) (100 mg) y se continuó agitando a temperatura ambiente durante 1 hora luego a 80 °C toda la noche. La mezcla de reacción se evaporó entonces hasta su secado, se trató con EtOH (10 ml) y NaOH 2 M acuoso (10 ml) y se agitó a 50 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se evaporó para eliminar el EtOH y el precipitado se eliminó por filtración, luego se lavó con H₂O para dar el compuesto del título (10 mg) como un sólido blanquecino. δH (MeOD, 400MHz): 1,42 (6H, d), 5,45 (2H, s), 5,51 (1H, quinteto), 6,69 (1H, d), 7,41 (2H, d), 7,63 (1H, d), 8,09 (2H, d), 8,46 (1H, d), 8,88 (1H, d). MS (ES): $\text{C}_{21}\text{H}_{18}\text{ClN}_5\text{O}_4$ requiere 439,86; encontrado 440 (M+H).

20

Ejemplo 7

25

1-[(4-{5-[4-(Metiloxi)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato sódico (E7)



Se disolvieron en DMF el ácido (3,5 ml) 4-(metiloxi)-3-(trifluorometil)benzoico (76 mg), EDCI (73 mg) y HOBT (52 mg) y se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se añadió 1-({4-[(hidroxiamino)(imino)metil]fenil}metil)-1*H*-pirazol-3-carboxilato de etilo (D7) (100 mg) y se continuó agitando a temperatura ambiente durante 1 hora luego a 80 °C toda la noche. La mezcla de reacción se evaporó entonces hasta su secado, se disolvió de nuevo en H₂O, se extrajo con EtOAc (x 2) y las soluciones de EtOAc combinadas se evaporaron hasta su secado. El residuo se trató con EtOH (10 ml) y NaOH 2 M acuoso (10 ml), luego se agitaron a 50 °C durante 2 horas. La mezcla de reacción se evaporó entonces para eliminar el EtOH y el precipitado se eliminó por filtración, luego se lavó con H₂O para dar el compuesto del título CQ107723-114A1 (47 mg) como un sólido blanquecino. δH (MeOD, 400MHz): 4,04 (3H, s), 5,46 (2H, s), 6,69 (1H, d), 7,40-7,46 (3H, m), 7,64 (1H, d), 8,10 (2H, d), 8,38 (1H, s), 8,42 (1H, dd). MS (ES): C₂₁H₁₅F₃N₄O₄ requiere 444,37; encontrado 445 (M+H).

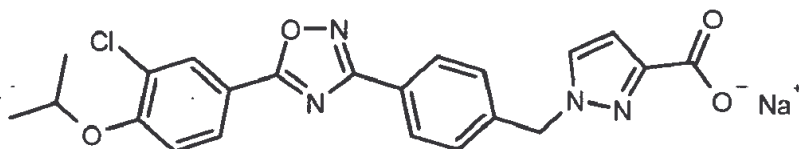
15

20

Ejemplo 8

1-[[4-(5-{3-Cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]metil]-1*H*-pirazol-3-carboxilato sódico (E8)

25



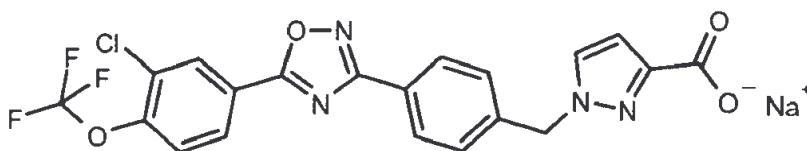
Se trató 1-[[4-(5-{3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil] metil]-1*H*-pirazol-3-carboxilato de etilo (D14) con EtOH (10 ml) y NaOH 2 M acuoso (10 ml) y se agitó toda la noche a 50 °C. La mezcla de reacción se evaporó entonces hasta su secado, se acidificó a pH = 2 con HCl 2 M acuoso y se extrajo con EtOAc (x 3). Las

30

soluciones orgánicas combinadas se evaporaron hasta su secado y el residuo se purificó por MDAP para dar el compuesto del título (23 mg) como un sólido blanco. δ H (MeOD, 400MHz): 1,44 (6H, s), 4,72 (1H, quinteto), 5,47 (2H, s), 6,93 (1H, d), 7,06 (1H, d), 7,37 (2H, d), 7,47 (1H, d), 8,05 (1H, dd), 8,16 (2H, d), 8,23 (1H, d). MS (ES): $C_{22}H_{19}ClN_4O_4$ requiere 438,87; encontrado 439 (M+H).

Ejemplo 9

1-**[4-(5-{3-Cloro-4-[(trifluorometil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]metil}-**
1H-pirazol-3-carboxilato sódico (E9)

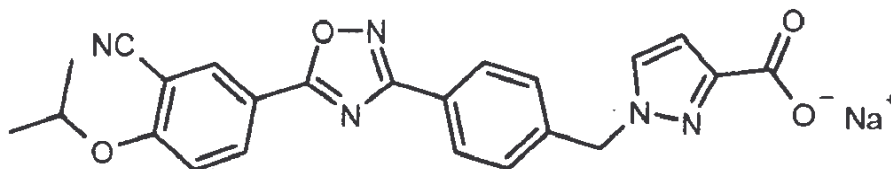


Se usó el ácido 3-cloro-4-[(trifluorometil)oxi]benzoico (83 mg) en un procedimiento similar al descrito anteriormente para E7, para dar el compuesto del título (75 mg) como un sólido blanco. δ H (MeOD, 400MHz): 5,46 (2H, s), 6,69 (1H, d), 7,43 (2H, d), 7,63 (1H, d), 7,71 (1H, dq), 8,11 (2H, d), 8,27 (1H, dd), 8,43 (1H, d). MS (ES): $C_{20}H_{12}ClF_3N_4O_4$ requiere 464,79; encontrado 465 (M+H).

Ejemplo 10

20

1-**[4-(5-{3-Ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]metil}-**
1H-pirazol-3-carboxilato sódico (E10)



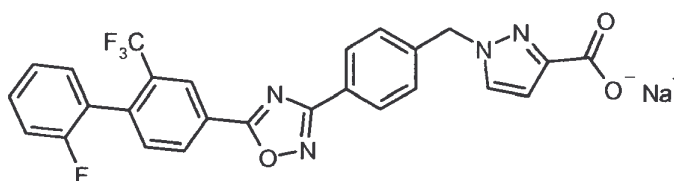
25

Se usó el ácido 3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]benzoico (puede prepararse como se describe en el documento WO2005/58848) (124 mg) en un procedimiento similar al descrito anteriormente para E7 para dar el compuesto del título (100 mg) como un sólido blanco. δ H (MeOD, 400MHz): 1,45 (6H, d), 4,94 (1H, quinteto), 5,45 (2H, s),

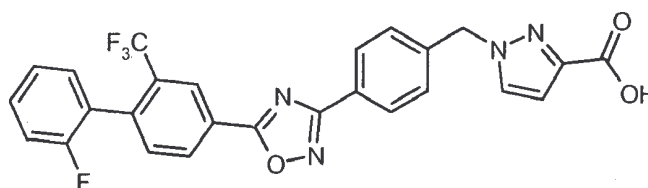
6,69 (1H, d), 7,40-7,45 (3H, m), 7,63 (1H, d), 8,09 (2H, d), 8,41 (1H, dd), 8,44 (1H, d).
MS (ES): $C_{23}H_{19}N_5O_4$ requiere 429,43; encontrado 430 (M+H).

Ejemplos 11 y 12

- 5 **Sal sódica del ácido 1-[(4-{5-[2'-fluoro-2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxílico (E11) y ácido 1-[(4-{5-[2'-fluoro-2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxílico (E12)**



10



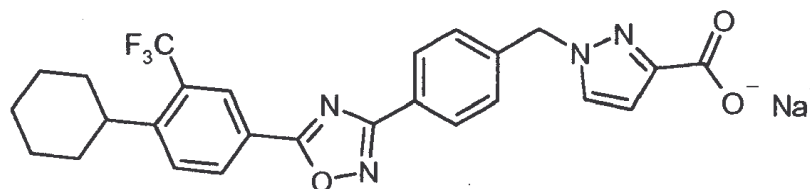
- 15 Se disolvió en etanol (10 ml) a 40 °C 1-[(4-{5-[2'-fluoro-2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil) metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de metilo (D28) (73 mg, 0,140 mmol) y se añadió hidróxido de sodio acuoso (2M, 1 ml, 2,000 mmol). La reacción se calentó a 40 °C durante 3 horas y luego se dejó reposar a temperatura ambiente durante 18 h. La mezcla se concentró *in vacuo* para dar una suspensión blanca en agua. El sólido se separó por filtración, aunque se disolvió de nuevo aclarando con una pequeña cantidad de agua. Se concentró el filtrado y la mezcla se
- 20 filtró de nuevo, lavando con una cantidad muy pequeña de agua. El gel resultante se trituró con etanol, se filtró y se secó en un horno de vacío para dar la sal sódica del ácido 1-[(4-{5-[2'-fluoro-2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxílico (5 mg, 9,41 μmol) como un sólido blanco. EM (ES⁺): $C_{26}H_{16}F_4N_4O_3$ requiere 508; Encontrado 509 (M+H⁺).

- 25 Los filtrados de este experimento se combinaron y se concentraron *in vacuo* y se separaron entre HCl 2M (acuoso, 20 mL) y diclorometano (30 mL). La capa acuosa se extrajo con más diclorometano (30 mL) antes de que se secase la fase orgánica

combinada (separador de fase) y se concentró *in vacuo* y se secó en un horno de vacío para dar el ácido 1-[(4-{5-[2'-fluoro-2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxílico (15 mg, 0,030 mmol) como un sólido blanco. δ H (CDCl₃, 400 MHz): 8,63 (1H, d), 8,41 (1H, dd), 8,20 (2H, d), 7,57 (1H, d), 7,48 (1H, d), 7,45 (1H, m), 7,41 (2H, d), 7,29 (1H, t), 7,24 (1H, qd), 7,18 (1H, t), 6,95 (1H, d), 5,51 (2H, s) ppm. EM (ES⁺): C₂₆H₁₆F₄N₄O₃ requiere 508; Encontrado 509 (M+H⁺).

Ejemplo 13 sal sódica del ácido 1-[(4-{5-[4-ciclohexil-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxílico (E13)

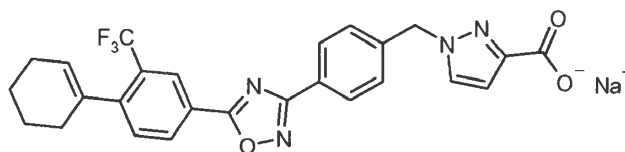
10



A una disolución de 1-[(4-{5-[4-ciclohexil-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de metilo (D29) (162 mg, 0,317 mmol) en etanol (15 ml) a 40 °C se añadió hidróxido sódico (2M, 1 ml, 2,000 mmol) y la disolución se calentó a 40 °C durante 18 h. La mezcla de reacción se concentró a aproximadamente 5 mL *in vacuo* y el sólido resultante se separó por filtración, se lavó con agua y se secó en un horno de vacío durante un fin de semana para dar el compuesto del título como un sólido blanco (142 mg, 0,273 mmol). δ H (MeOD, 400 MHz): 8,43 (1H, d), 8,39 (1H, dd), 8,12 (2H, d), 7,84 (1H, d), 7,64 (1H, d), 7,43 (2H, d), 6,70 (1H, d), 5,46 (2H, s), 3,02 (1H, t), 1,91 (2H, m), 1,87-1,78 (3H, m), 1,62 (2H, q), 1,51-1,37 (3H, m) ppm. EM (ES⁺): C₂₆H₂₃F₃N₄O₃ requiere 496; Encontrado 497 (M+H⁺).

Ejemplo 14
Sal sódica del ácido 1-[(4-{5-[4-(1-ciclohexen-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxílico (E14)

25



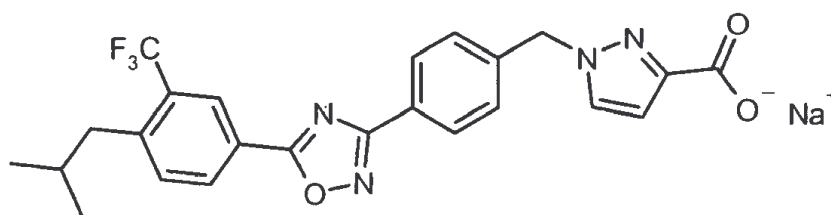
Se disolvió en etanol (5 ml) a 40 °C 1-[(4-{5-[4-(1-ciclohexen-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il} fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de metilo (D30) (67 mg, 0,132 mmol) y se añadió hidróxido sódico (2M, 0,5 ml, 1,000 mmol). La reacción se calentó a 40 °C durante 18 h. La mezcla de reacción se concentró *in vacuo* y el sólido blanco se separó por filtración y se lavó con agua. Bajo la filtración, la mayor parte del compuesto se disolvió de nuevo y se pasó a través de modo que el sólido y el filtrado se combinaron y separaron entre diclorometano (10 mL) y HCl 2M (3 mL). La fase acuosa se extrajo con más diclorometano (10 mL). Las fases orgánicas se aislaron por un separador de fase, se combinaron y se eliminó el disolvente *in vacuo*. El sólido se disolvió después en acetonitrilo y agua con la adición de una cantidad equimolar de hidróxido sódico antes de que se liofilizara la disolución para dar el compuesto del título como un sólido blanco (26 mg, 0,050 mmol). δ H (MeOD, 400 MHz): 8,46 (1H, d), 8,36 (1H, dd), 8,12 (2H, d), 7,64 (1H, d), 7,54 (1H, d), 7,43 (2H, d), 6,70 (1H, d), 5,66 (1H, s ancho), 5,46 (2H, s), 2,31-2,25 (2H, m), 2,23-2,17 (2H, m), 1,84-1,77 (2H, m), 1,76-1,69 (2H, m) ppm. EM (ES⁺): C₂₆H₂₁F₃N₄O₃ requiere 494; Encontrado 495 (M+H⁺).

20

25

Ejemplo 15

Sal sódica del ácido 1-[(4-{5-[4-(2-metilpropil)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxílico (E15)



30

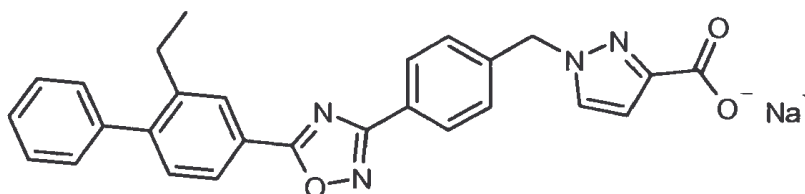
Se disolvió en etanol (8 ml) 1-[(4-{5-(4-(2-metilpropil)-3-(trifluorometil)fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il} fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxilato de metilo (D31) (38 mg, 0,078 mmol) y se añadió hidróxido sódico (2M, 0,5 ml, 1,000 mmol). La reacción se calentó a 40 °C durante 18 h. La mezcla de reacción se concentró *in vacuo* y el sólido blanco se separó por filtración y se lavó con agua. Bajo la filtración, la mayor parte del compuesto se disolvió de nuevo y se pasó a través de modo que el sólido y el filtrado se combinaron y separaron entre diclorometano (10 mL) y HCl 2M (3 mL). La fase acuosa se extrajo con más diclorometano (10 mL). Las fases orgánicas se aislaron por un separador de fase, se combinaron y se eliminó el disolvente *in vacuo*. El sólido se disolvió después en acetonitrilo y agua con adición de una cantidad equimolar de hidróxido sódico antes de que se liofilizara la disolución para dar el compuesto del título como un sólido marrón palo (18 mg, 0,036 mmol). δ H (MeOD, 400 MHz): 8,46 (1H, d), 8,37 (1H, dd), 8,12 (2H, d), 7,71 (1H, d), 7,63 (1H, d), 7,45 (2H, d), 6,70 (1H, d), 5,46 (2H, s), 2,79 (2H, d), 2,06 (1H, m), 0,98 (6H, d) ppm. EM (ES⁺): C₂₄H₂₁F₃N₄O₃ requiere 470; Encontrado 471 (M+H⁺).

20

25

Ejemplo 16

1-({4-[5-(2-Etil-4-bifenilil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]fenil}metil)-1H-pirazol-3-carboxilato sódico (E16)

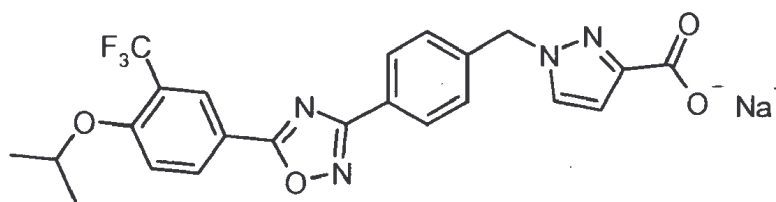


30

A una suspensión de 1-({4-[5-(2-etil-4-bifenilil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]fenil} metil)-1*H*-pirazol-3-carboxilato de metilo (D32) (131 mg, 0,28 mmol) en etanol (12,7 mL) se añadió hidróxido sódico (2M, 1,27 mL, 2,8 mmol) y la mezcla se calentó a 55 °C para disolver y luego la reacción se calentó a 40 °C durante 1 h. El disolvente se evaporó parcialmente y el precipitado resultante se separó por filtración, se lavó con agua y se secó para dar el compuesto del título como un sólido blanco (9 mg, 0,02 mmol). δ H (DMSO, 400 MHz): 8,14 (1H, s), 8,10-8,04 (3H, m), 7,69 (1H, d), 7,53-7,48 (2H, m), 7,47-7,42 (4H, m), 7,39 (2H, d), 6,37 (1H, d), 5,41 (2H, s), 2,69 (2H, q), 1,10 (3H, t) ppm. EM (ES⁺): C₂₇H₂₂N₄O₃ requiere 450; Encontrado 451 (M+H⁺).

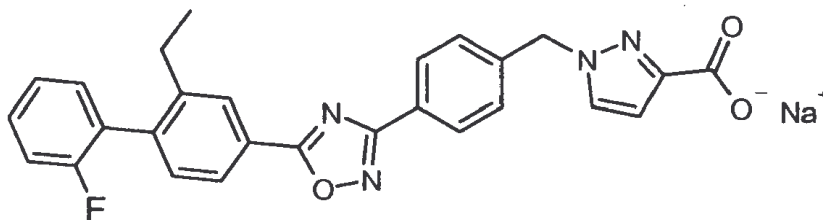
Ejemplo 17

1-[(4-{5-[4-[(1-Metiletil)oxi]-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxilato sódico (E17)



A una suspensión de 1-[(4-{5-[4-[(1-metiletil)oxi]-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxilato de metilo (E33) (124 mg, 0,26 mmol) en etanol (12 mL) se añadió hidróxido sódico (2M, 1,2 mL, 2,4 mmol) y la mezcla se calentó a 50 °C para disolver. La reacción luego se calentó a 40 °C durante 1 h. El disolvente se evaporó y el residuo se dividió entre acetato de etilo (25 mL) y agua (25 mL) y el último se acidificó con HCl 2M. La capa acuosa se extrajo con más acetato de etilo (2 x 25 mL) y los extractos orgánicos combinados se secaron (separador de fase) y se evaporaron. El sólido resultante se disolvió en acetonitrilo y agua con una cantidad equimolar de hidróxido sódico 2M y la disolución se liofilizó para dar el compuesto del título como un sólido blanco (109 mg, 0,22 mmol). δ H (DMSO, 400 MHz): 8,39 (1H, dd), 8,29 (1H, d), 8,05 (2H, d), 7,68 (1H, d), 7,59 (1H, d), 7,42 (2H, d), 6,37 (1H, d), 5,41 (2H, s), 4,97 (1H, septete), 1,35 (6H, d) ppm. EM (ES⁺): C₂₃H₁₉F₃N₄O₄ requiere 472; Encontrado 473 (M+H⁺).

Ejemplo 18 1-({4-[5-(2-etil-2'-fluoro-4-bifenilil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]fenil}metil)-1H-pirazol-3-carboxilato sódico (E18)

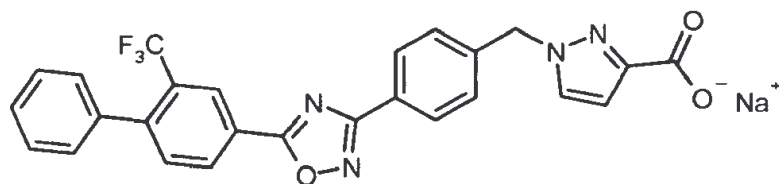


5 A una suspensión de 1-({4-[5-(2-etil-2'-fluoro-4-bifenilil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]fenil}methy)-1H-pirazol-3-carboxilato de metilo (E34) (48 mg, 0,10 mmol) en etanol (4,6 mL) se añadió hidróxido sódico (2M, 0,46 mL, 0,92 mmol) y la mezcla se calentó a 50 °C para disolver. La reacción luego se calentó a 40 °C durante 1 h antes de concentrarse y el residuo se dividió entre acetato de etilo (10 mL) y agua (10 mL) con
10 el último acidificado con HCl 2M. La capa acuosa se extrajo luego con más acetato de etilo (2 x 10 mL) antes de que se secaran los extractos orgánicos combinados (separador de fase) y se evaporaron. El residuo se disolvió en acetonitrilo y agua con una cantidad equimolar de hidróxido sódico 2M y la disolución se liofilizó para dar el compuesto del título (44 mg, 0,09 mmol). δ H (DMSO, 400 MHz): 8,17 (1H, d), 8,10-8,07 (3H, m), 7,69(1H, d), 7,52 (1H, m), 7,47 (1H, d), 7,44 (2H, d), 7,42-7,32 (3H, m),
15 6,37 (1H, d), 5,42 (2H, s), 2,58 (2H, q), 1,07 (3H, t) ppm. EM (ES⁺): C₂₇H₂₁FN₄O₃ requiere 468; Encontrado 469 (M+H⁺).

20

Ejemplo 19

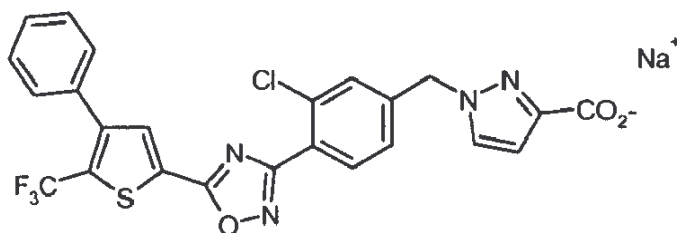
25 **1-[(4-{5-[2-(Trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil) metil]-1H-pirazol-3-carboxilato sódico (E19)**



A una suspensión de 1-[(4-{5-[2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxilato de metilo (D35) (164 mg, 0,33 mmol) en etanol (20 mL) y la mezcla se calentó a 60 °C para disolver. Se añadió hidróxido sódico (2M, 2,0 mL, 4,0 mol) y la reacción se calentó a 40 °C durante 1 h. La reacción se dejó reposar a temperatura ambiente durante 18 h antes de que la mezcla se concentrara parcialmente y el precipitado resultante se separó por filtración y se lavó con agua para dar el compuesto del título como un sólido blanco (105 mg, 0,21 mmol). δ H (DMSO, 400 MHz): 8,52-8,48 (2H, m), 8,10 (2H, d), 7,75-7,71 (2H, m), 7,54-7,50 (3H, m), 7,46 (2H, d), 7,42-7,39 (2H, m), 6,43 (1H, d), 5,43 (2H, s) ppm. EM (ES⁺): C₂₆H₁₇F₃N₄O₃ requiere 490; Encontrado 491 (M+H⁺).

Ejemplo 20:

15 **Sal sódica del ácido 1-[(3-cloro-4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxílico (E20)**



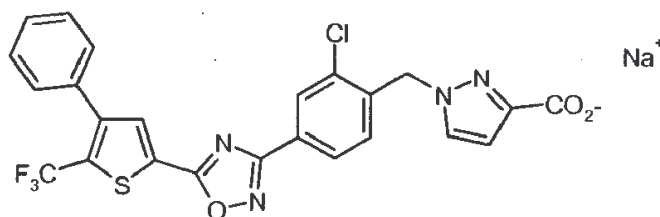
20 1-[(3-Cloro-4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il} fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxilato de etilo (D38) (54 mg, 0,01 mmol), en metanol (40 ml) y disolución de hidróxido sódico 2M (4ml) se calentó a 30°C toda la noche. La mezcla de reacción luego se calentó a 60°C durante 5 horas, el disolvente se retiró in vacuo y se añadió agua (~10 ml), la mezcla se raspó y se dejó reposar durante 2 horas, la suspensión resultante se filtró y el sólido se secó toda la noche bajo el vacío a 60°C para proporcionar el compuesto del título como un sólido amarillo (33 mg, 0,006 mmol). δ H (DMSO, 400 MHz): 8,26 (1H, s), 7,98, (1H, d), 7,72, (1H, s), 7,49-7,60 (6H,

m), 7,39-7,47, (2H, m), 6,36, (1H, s), 5,42, (2H, s). EM (ES⁺): C₂₄H₁₄³⁵ClF₃N₄O₃S requiere 530; Encontrado 531 (M+H⁺).

Ejemplo 21

5

Sal sódica del ácido 1-[(2-cloro-4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxílico (E21)



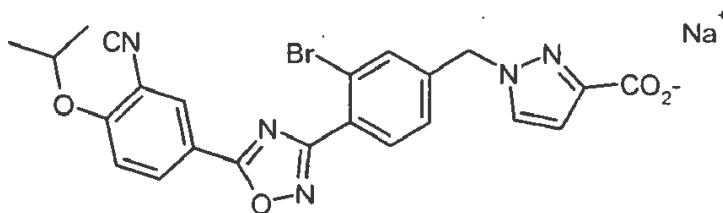
10 1-[(2-Cloro-4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il} fenil)metil]-
1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (D41) (85 mg, 0,15 mmol), en metanol (10 ml) y una
disolución hidróxido sódico 2M (2 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 4
horas. Se añadieron 40 ml más de metanol y 10 ml de hidróxido sódico y la mezcla se
calentó a 40°C toda la noche. Se separó el disolvente in vacuo y se añadió agua (~15
15 ml), la mezcla se raspó y se dejó reposar durante 2 horas, la suspensión resultante se
filtró y el sólido se secó toda la noche bajo el vacío a 50°C. El compuesto del título fue
un sólido blanco (65 mg, 0,12 mmol). δH (DMSO, 400 MHz): 8,27 (1H, s), 8,11 (1H, s),
7,99, (1H, d), 7,70, (1H, s), 7,50-7,61 (5H, m), 6,98, (1H, d), 6,39, (1H, s), 5,51, (2H, s).
EM (ES⁺): C₂₄H₁₄³⁵ClF₃N₄O₃S requiere 530; Encontrado 531 (M+H⁺).

20

25

Ejemplo 22

**Sal sódica del ácido 1-[[3-bromo-4-(5-{3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-
30 1,2,4-oxadiazol-3-il)fenil]metil]-1H-pirazol-3-carboxílico (E22)**



1-[[3-Bromo-4-(5-{3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil}-1,2,4-oxadiazol-3-il)

fenil]metil]-1H-pirazol-3-carboxilato (D45) (15 mg, 0,03 mmol) de etilo se agitó en una mezcla de metanol (1,5 ml) y una disolución de hidróxido sódico 2M ac. (0,5 ml) a 30°C durante 3 horas. Se añadió agua (~7ml) y la mezcla se raspó, esto se dejó reposar durante el fin de semana y el sólido se filtró y se secó bajo el vacío a 60°C. Para proporcionar el compuesto del título como un sólido amarillo (9 mg, 0,018 mmol).

δ H (DMSO, 400 MHz): 8,50 (1H, d), 8,39 (1H, dd), 7,89 (1H, d), 7,69 (1H, s), 7,66 (1H, s), 7,56 (1H, d), 7,40 (1H, d), 6,34 (1H, s), 5,40 (2H, s), 4,98 (1H, sept), 1,38 (6H, d).

EM (ES⁺): C₂₃H₁₈⁷⁹BrN₅O₄ requiere 507; Encontrado 508 (M+H⁺).

Ensayo de unión de GTPyS

Se cultivaron células de leucemia basófila de rata (RBL) que expresan de forma estable el receptor S1P1 hasta el 80 % de confluencia antes de ser recolectadas en 10 ml de disolución salina fosfo-tamponada (PBS) y centrifugadas a 1200 rpm durante 5 minutos. Después de la separación del sobrenadante, se re-suspendió el sedimento y se homogenizó en 20 volúmenes de tampón de ensayo (HEPES 20 mM pH 7,4, NaCl 100 mM, MgCl₂·6H₂O 10mM, GDP 10μM, saponina a 10 μg/ml). La suspensión de la membrana se centrifugó adicionalmente durante 20 minutos a 20.000 rpm se re-homogenizó y se centrifugó de nuevo. Después de la segunda centrifugación se re-suspendió el sedimento en un volumen apropiado (1 ml para cada frasco de células) y se valoró en cuanto a la concentración de proteínas.

Se sonicó el stock concentrado de S1 P antes de que fueran preparadas diluciones seriadas a partir de una concentración de partida 10⁻⁵ M. Se incubaron las membranas diluidas (10 μg/pocillo) con diferentes concentraciones de S1P y ³⁵S-GTPyS 0,3 nM (NEN; actividad específica 1250 Ci/mmol) en placas de 96 pocillos profundos. Se realizó la unión a 30 °C durante 45 minutos y se terminó recogiendo las membranas sobre placas filtrantes GF/B usando un Packard Universal Harvester. Después de secar las placas durante 45 minutos, se añadieron a cada pocillo 50 μl de Microscint 0 y se midió la unión sobre un Topcount NXT

(Perkin Elmer). Se analizaron los datos usando Graphpad Prism 4 y se expresaron como porcentaje de estimulación por encima de la basal. Los valores EC50 se definieron como la concentración de agonista requerida para dar el 50 % de la estimulación máxima.

5

Preparación de membrana (método alternativo)

Para las preparaciones de las membranas todas las etapas se realizaron a 4°C. Se cultivaron células de hepatoma de rata que expresan de manera estable el receptor humano S1P1 o células de leucemia basófila de rata (RBL) que expresan de manera estable el receptor humano S1P3 hasta el 80 % de confluencia antes de ser recolectadas en 10 ml de solución salina fosfo-tamponada (PBS) y centrifugadas a 1200 rpm durante 5 minutos. Después de la separación del sobrenadante, se re-suspendió el sedimento y se homogenizaron las células en un mezclador Waring de vidrio durante 2 ráfagas de 15 segundos en 200 ml de tampón (HEPES 50 mM, leupeptina 1 mM, bacitracina 25µg/ml, EDTA 1 mM, PMSF 1 mM, pepstatina A 2µM). Se sumergió el mezclador en hielo durante 5 minutos después de la primera ráfaga y 10-40 minutos después de la ráfaga final para permitir que se disipe la espuma. Después se centrifugó el material a 500g durante 20 minutos y el sobrenadante se centrifugó durante 36 minutos a 48,000 g. El sedimento se suspendió de nuevo en el mismo tampón que se ha indicado anteriormente pero sin PMSF ni pepstatina A. Se hizo pasar entonces el material a través de una aguja de 0,6 mm, se llevó al volumen requerido (normalmente 4 veces el volumen del sedimento celular original), se prepararon alícuotas y se almacenaron congeladas a -80°C.

25

Ensayo GTPγS de S1P1 (método alternativo)

Las membranas del hepatoma de rata con S1P1 humano (1,5µg/pocillo) se adhirieron a perlas del ensayo de proximidad de centelleo (SPA) recubiertas con aglutinina de germen de trigo (WGA) (0,125 mg/pocillo) en tampón de ensayo (HEPES 20 mM, MgCl₂ 10 mM, NaCl 100 mM y pH ajustado a 7,4 usando KOH 5 M, y también se añadieron GDP 10µM FAC (concentración final de ensayo) y saponina a 90g/ml FAC).

Después de 30 minutos de pre-acoplamiento en hielo, la suspensión de perlas y membranas se dispensó en una placa Greiner blanca de 384 pocillos LV de polipropileno (5µl/pocillo), que contenía 0,1µl del compuesto. Se añadieron entonces a las placas del agonista 5µl/pocillo de [³⁵S]-GTPγS (concentración final del radioligando

35

0,5 nM) preparado en tampón de ensayo. Se centrifugó entonces el cóctel del ensayo final (10,1 µl) a 1000 rpm durante 5 minutos y después se leyó inmediatamente en un lector Viewlux.

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

10 Todos los datos se normalizaron a la media de 16 pocillos control altos y 16 pocillos control bajos en cada placa. Se aplicó después un ajuste de la curva de cuatro parámetros.

Los compuestos ilustrados de la invención tienen un $pEC_{50} > 5$ en el ensayo de unión de GTPyS.

15 **Ensayo GTPyS de S1P3**

Las membranas de S1P3 procedentes de células de leucemia basófila de rata (RBL-2H3) (1,5 µg/pocillo) se adhirieron a perlas SPA recubiertas con WGA (0,125 mg/pocillo) en tampón de ensayo (HEPES 20 mM, $MgCl_2$ 3 mM, NaCl 100 mM y pH ajustado a 7,4 usando KOH 5 M), y también se añadieron GDP 10µM, FAC y saponina a 90µg/ml FAC).

20 Después de 30 minutos de pre-acoplamiento en hielo, la suspensión de perlas y membranas se dispensó en una placa Greiner blanca de 384 pocillos LV de polipropileno (5µl/pocillo), que contenía 0,1µl del compuesto. Se añadieron entonces a las placas del agonista 5µl/pocillo de [^{35}S]-GTPyS (concentración final del radioligando 25 0,5 nM) preparado en tampón de ensayo. Se centrifugó entonces el cóctel del ensayo final (10,1µl) a 1000 rpm durante 5 minutos y después se leyó inmediatamente en un lector Viewlux.

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

35 Todos los datos se normalizaron a la media de 16 pocillos control altos y 16 pocillos control bajos en cada placa. Se aplicó después un ajuste de la curva de cuatro parámetros.

Los compuestos ilustrados analizados en este ensayo tuvieron un $pEC_{50} < 6$, algunos tuvieron un $pEC_{50} < 5$.

Ensayo de levadura

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

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

$$E_{\max} = \frac{\text{Max}_{[\text{compuesto X}]} - \text{Min}_{[\text{compuesto X}]}}{\text{Max}_{[\text{S1P}]} - \text{Min}_{[\text{S1P}]}} \times 100\%$$

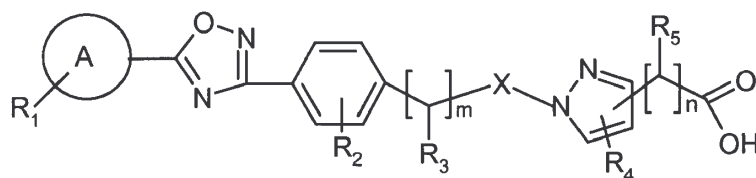
- donde $\text{Max}_{[\text{compuesto X}]}$ y $\text{Min}_{[\text{compuesto X}]}$ son los máximos y mínimos fijados respectivamente a partir de la curva efecto-concentración para el compuesto X, y
- 5 $\text{Max}_{[\text{S1P}]}$ y $\text{Min}_{[\text{S1P}]}$ son los máximos y mínimos fijados respectivamente a partir de la curva efecto-concentración para la esfingosina-1-fosfato (disponible de Sigma). Los valores de la relación molar equiefectiva (RME) se calcularon a partir de la ecuación

$$\text{EMR} = \frac{\text{EC}_{50[\text{compuesto X}]}}{\text{EC}_{50[\text{S1P}]}}$$

- donde $\text{EC}_{50[\text{compuesto X}]}$ es la EC_{50} del compuesto X y $\text{EC}_{50[\text{S1P}]}$ es la EC_{50} de S1P.
- 10 Los compuestos ilustrados analizados en este ensayo tienen un $\text{pEC}_{50} > 5$.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



(I)

en donde:

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

R₁ es hidrógeno o representa hasta tres sustituyentes seleccionados entre halógeno, alquilo C₍₁₋₄₎, cicloalquilo C₍₅₋₆₎, cicloalqueno C₍₃₋₆₎, alcoxi C₍₁₋₄₎, trifluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometilo, ciano, fenilo opcionalmente sustituido o anillos heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituidos;

R₂ es hidrógeno o representa hasta tres sustituyentes seleccionados entre halógeno, alquilo C₍₁₋₄₎, alcoxi C₍₁₋₄₎, trifluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometilo o ciano;

R₃, R₄ y R₅ se seleccionan cada uno independientemente entre hidrógeno, fluoro y metilo;

X es un CH₂ opcionalmente sustituido o un enlace sencillo;

m es de 0 a 1; y

n es de 0 a 2.

en el que, cuando R₁ comprende un fenilo sustituido o un anillo heteroarilo de 5 o 6 miembros, se sustituye con hasta tres sustituyentes independientemente seleccionados entre halógeno, alquilo C₍₁₋₄₎, alcoxi C₍₁₋₄₎, trifluorometoxi, difluorometoxi, trifluorometilo y ciano.

2. Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

A es piridilo, fenilo o tiofeno opcionalmente sustituido; y/o

R₁ es fenilo, trifluorometilo, trifluorometoxi, cloro, isopropoxi, isobutilo, metoxi, ciano, ciclohexilo, ciclohexenilo o etilo opcionalmente sustituido; y/o

R₂ es hidrógeno, cloro o bromo; y/o

R₃, R₄ y R₅ son cada uno hidrógeno; y/o

X es CH₂; y/o

m es 0; y/o

5 n es 0.

3. Un compuesto seleccionado de:

Ácido 1-[(4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-
1H-pirazol-4-carboxílico

10 Ácido 1-[(4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-
1H-pirazol-5-carboxílico

Ácido 1-[(4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-
1H-pirazol-3-carboxílico

15 Ácido 1-[(4-{5-[4-(4-fluorofenil)-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-
il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxílico

Ácido 1-[(4-{5-[5-cloro-6-[(1-metiletil)oxi]-3-piridinil]-1,2,4-oxadiazol-3-
il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxílico

Ácido 1-[(4-{5-[4-(metiloxi)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-
1H-pirazol-3-carboxílico

20 Ácido 1-[(4-{5-[3-cloro-4-[(1-metiletil)oxi]fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-
1H-pirazol-3-carboxílico

Ácido 1-[(4-{5-[3-cloro-4-[(trifluorometil)oxi]fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-
1H-pirazol-3-carboxílico

25 Ácido 1-[(4-{5-[3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-
1H-pirazol-3-carboxílico

Ácido 1-[(4-{5-[2'-fluoro-2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-
il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxílico

Ácido 1-[(4-{5-[2'-fluoro-2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-
il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxílico

30 Ácido 1-[(4-{5-[4-ciclohexil-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-
1H-pirazol-3-carboxílico

Ácido 1-[(4-{5-[4-(1-ciclohexen-1-il)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-
il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxílico

35 Ácido 1-[(4-{5-[4-(2-metilpropil)-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxadiazol-3-
il}fenil)metil]-1H-pirazol-3-carboxílico

Ácido 1-({4-[5-(2-etil-4-bifenilil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]fenil}metil)-1*H*-pirazol-3-carboxílico

Ácido 1-[(4-{5-[4-[(1-metiletil)oxi]-3-(trifluorometil)fenil]-1,2,4-oxa-diazol-3-il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxílico

5 Ácido 1-({4-[5-(2-etil-2'-fluoro-4-bifenilil)-1,2,4-oxadiazol-3-il]fenil} metil)-1*H*-pirazol-3-carboxílico

Ácido 1-[(4-{5-[2-(trifluorometil)-4-bifenilil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil) metil]-1*H*-pirazol-3-carboxílico

10 Ácido 1-[(3-cloro-4-{5-[4-fenil-5-(trifluorometil)-2-tienil]-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxílico

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

Ácido 1-[(3-bromo-4-(5-{3-ciano-4-[(1-metiletil)oxi]fenil)-1,2,4-oxadiazol-3-il}fenil)metil]-1*H*-pirazol-3-carboxílico

15 y sus sales farmacéuticamente aceptables.

4. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para uso en el tratamiento de enfermedades o trastornos mediados por los receptores S1P1, en el que la enfermedad o el trastorno es esclerosis múltiple, enfermedades autoinmunes, trastornos inflamatorios crónicos, asma, neuropatías inflamatorias, artritis, trasplante, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, lupus eritematoso, psoriasis, lesión por isquemia-reperfusión, tumores sólidos y metástasis tumoral, enfermedades asociadas con angiogénesis, enfermedades vasculares, afecciones dolorosas, enfermedades víricas agudas, afecciones inflamatorias del intestino, diabetes dependiente de insulina y no dependiente de insulina.

20

25

5. Un compuesto para uso en el tratamiento de enfermedades o trastornos mediados por receptores S1P1 de acuerdo con la reivindicación 4, en el que la enfermedad es la esclerosis múltiple.

30

6. El uso de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para fabricar un medicamento para uso en el tratamiento de enfermedades o trastornos mediados por receptores S1P1, en el que la enfermedad o el trastorno es esclerosis múltiple, enfermedades autoinmunes, trastornos inflamatorios crónicos, asma, neuropatías inflamatorias, artritis, trasplante, enfermedad

35

de Crohn, colitis ulcerosa, lupus eritematoso, psoriasis, daño por isquemia-reperfusión, tumores sólidos y metástasis de tumores, enfermedades asociadas con la angiogénesis, enfermedades vasculares, condiciones dolorosas, enfermedades virales agudas, trastornos inflamatorios del intestino, diabetes dependiente de insulina y no dependiente de insulina.

7. El uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que la enfermedad es la esclerosis múltiple.

10 8. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.