

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO			
RAD:	13-265458- -2	FECHA:	2014-12-22 17:55:57
DEP:	2020 DIRECCION DE NUEVAS CREACIONES	EVE:	378 FASE NACIONAL INCLUIDO CAPITULO I
TRA:	11 PCT-PATENTE DE INVENCION CAPITULOS I Y II	FOLIOS:	14
ACT:	519 PRESENTACION		

DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

2020
Bogotá, D.C.,

Abogado(a)/Señor(a)
LUZ CLEMENCIA DE PÁEZ

Asunto: Radicación: 13-265458- -2
 Trámite: 11
 Evento: 378
 Actuación: 519
 Oficio: 15690
 Folios: 14

Patente de Invención	X			Patente de Modelo de Utilidad	
Vía Nacional					
Vía PCT (Fase Nacional)	X	Capítulo I	X	Capítulo II	
No. Solicitud Internacional	PCT/EP2012/056470				
Fecha de Presentación Internacional	10/04/2012				

Como resultado del examen de fondo realizado, con fundamento en el Artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se comunica:

1. Documentos estudiados

Descripción:	Radicado N° 13-265458-00000-0000	12/Noviembre/2013
Reivindicaciones:	Radicado N° 13-265458-00000-0000	12/Noviembre/2013
Prioridad:	EP 11305433.2	12/Abril/2011

2. Análisis de la Prioridad

Se acepta la reivindicación de prioridad porque ésta solicitud fue presentada dentro del plazo establecido (Art. 9 D 486) y su contenido técnico corresponde con el de la prioridad reivindicada.

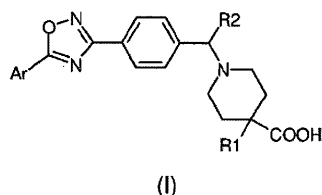
3. Objeto de la invención

De acuerdo con lo establecido en el numeral 1.2.2.2 del capítulo primero del Título 10 de la Circular Única para efectos del examen de patentabilidad, se tendrá en cuenta la tasa pagada por la solicitante al momento de comenzar el examen para las reivindicaciones adicionales; esto es que cuando la solicitud contenga más de diez (10) reivindicaciones y no se haya pagado la tasa complementaria, sólo se estudiarán las cubiertas por la tasa pagada. En el presente caso se estudiarán las reivindicaciones 1 a 17 del capítulo reivindicatorio (Radicado N°. 13-265458-00000-0000).

Título de la solicitud: “Nuevos ácidos piperidinil-monocarboxílicos como agonistas del receptor de esfingosina-1-fosfato 1 (S1P1)”

El problema planteado en esta solicitud consiste en la necesidad de desarrollar compuestos útiles como agonistas de los receptores S1P selectivos para el receptor EDG1.

Para resolver este problema técnico la solicitud en estudio proporciona un compuesto de la fórmula (I), métodos para la preparación del mismo y composiciones que lo contienen.



El objeto de la presente solicitud se relaciona con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP): A61K31/454; A61K31/5377; A61P29/00; A61P35/00; A61P37/06; A61P9/10; C07D413/10; C07D413/14.

4. Reivindicaciones relativas a un uso (Art 14 y 21 D 486)

El uso de las reivindicación 17 no es patentable, de acuerdo con el Art 14.

5. De la solicitud de patente

Reivindicaciones (Art 30 D 486, Art 22 PCT)

La reivindicación 1 no es clara porque

1. el término “opcionalmente sustituido” no es preciso por lo que permite comprender los alcances de la materia reclamada.
2. el término “isómeros” no es preciso, ya que se entiende como cualquier compuesto que comprenda la misma proporción de elementos por molécula, es decir que comparta la fórmula molecular con los compuestos solicitados, sin importar si comparten características estructurales o no.

Las reivindicaciones 1-3 no son claras ya que los términos “alquilo”, “arilo”, “alquenilo” y “heterociclo” usados para definir los sustituyentes R¹, R² y Ar, son demasiado generales, por lo que no permiten comprender los alcances de la materia reclamada, en particular porque no delimitan el número de átomos de carbono o de otros elementos presentes en la molécula.

La reivindicación 7 no es concisa, porque presenta una excesiva complejidad, lo cual dificulta determinar la extensión del objeto que se busca proteger.

La reivindicación 1 no es concisa en primer lugar porque los términos “ésteres” e “isómeros” son muy amplios, comprendiendo una gran variedad de compuestos no soportados por la descripción. Adicionalmente las definiciones de R¹, R², y Ar, corresponden a géneros funcionales, por lo que abarcan una gran extensión de compuestos no sustentados por la descripción. Se sugiere restringir la solicitud a una razonable generalización del tipo de compuestos que ha sido sintetizado ó probado, es decir, que se encuentran debidamente sustentados.

Sustituciones	Soporte de los ejemplos presentados
Ar	
R ¹	-CH₃, -CH₂-O-CH₃, -CH₂CH₃, -CH₂CH=CH₂, -CH₂CH₂CH₃, -CH₂-O-(CH₂)₂-O-CH₃, -CH₂-O-(CH₂)₂-O-CH₂CH₃, -CH₂-O-CH(CH₃)₂, -CH₂OH, -CH₂-O-CH₂C₆H₅, -C₆H₅, -CH₂OCH₃, - (CH₂)₄-O-CH₃, -CH₂CH(CH₃)₂, -CH(CH₃)₂,
R ²	-H

Las reivindicaciones 1 y 16 no están sustentadas en la descripción porque compuestos en los que R^2 es alquilo no se encuentran ejemplificados y tampoco existe evidencia de que su actividad farmacológica sea comparable a la de los compuestos que se han probado.

Las reivindicaciones 9-15 no son claras porque las etapas de los procesos reclamados no presentan las características técnicas esenciales necesarias para compararlas con el estado de la técnica, para las reivindicaciones de procedimiento estas incluyen: reactivos, cantidades, concentraciones, tiempos, temperaturas, medios de reacción, entre otras. Por otra parte, la solicitante utiliza términos no específicos o ambiguos para definir estos procesos, tales como “opcionalmente”, “acoplar”, “grupo saliente”, “oxidar”, “agentes activadores y/o acopladores”, “haluro de alquil magnesio”, los cuales no delimitan los alcances de la materia reclamada y no permiten verificar si existe o no una diferencia con el estado de la técnica.

Las reivindicaciones 10 y 11 hacen referencia a la reivindicación 9, sin embargo no comparten todas las características de la misma, por lo que se considera que son falsamente dependientes de la misma. Lo mismo es aplicable a las reivindicaciones 13 y 14 con respecto a la reivindicación 12.

La reivindicación 14 no es clara, ya que no es posible comprender la estructura del producto obtenido por el proceso reclamado, así como tampoco es clara la referencia a la reivindicación 11.

La reivindicación 15 no es clara porque el término “aislar el compuesto obtenido” no define las características técnicas que definen el proceso reclamado o las etapas del mismo. Se sugiere definir las etapas de los procesos reclamados en términos que permitan diferenciarlos del estado de la técnica.

Se sugiere realizar las aclaraciones correspondientes.

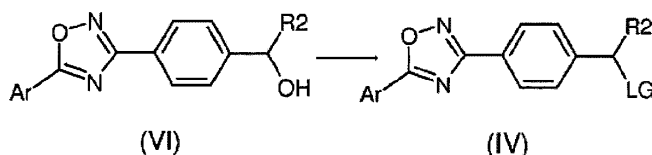
6. Unidad de invención (Art 25 D 486)

Se le recuerda a la solicitante que son permitidas las combinaciones de reivindicaciones independientes de producto y procedimiento, siempre y cuando se tenga una reivindicación independiente para producto y una reivindicación independiente para procedimiento, en donde la reivindicación de procedimiento se encuentre adaptada para fabricar dicho producto el cual debe ser nuevo e inventivo.

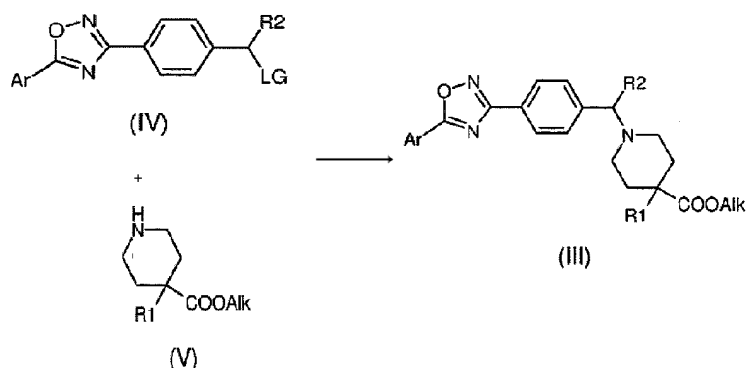
En este caso se considera que la solicitud no cumple con el requisito de unidad de invención porque las reivindicaciones de procedimiento 10, 11, 13 y 14 no están orientadas a definir características esenciales para obtener el producto objeto de las reivindicaciones de producto 1-8, es decir no están adaptadas para la síntesis de los compuestos de formula (I). Se sugiere a la solicitante definir los procedimientos relacionados con la obtención de los productos solicitados en reivindicaciones independientes de procedimiento que se encuentren debidamente descritos y que contenga las características técnicas necesarias para definir las etapas comprendidas de manera adecuada.

De acuerdo a lo anterior se plantean los siguientes grupos inventivos de procedimiento:

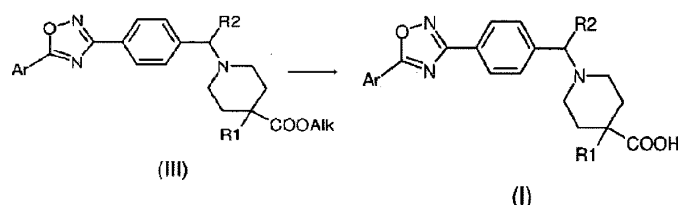
1. Reivindicaciones 9-11: Proceso para la obtención de los compuestos de formula (I), a partir de un compuesto de formula (VI), definido por las siguientes etapas:



Formación de un haluro o mesilato de formula (IV) por medio de la conversión de un compuesto de un alcohol bencílico de formula (VI). Reivindicación 11
(Divulgado en el documento D1)

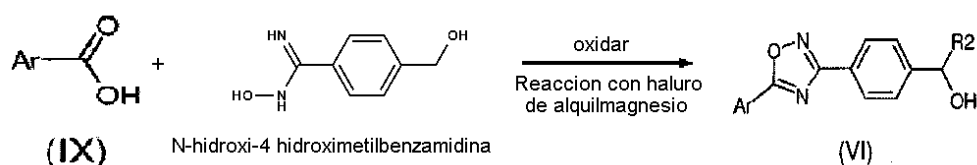


Acople de un haluro o mesilato de formula (IV) con un compuesto de formula (V) para obtener un amina terciaria de formula (III). Reivindicación 10.



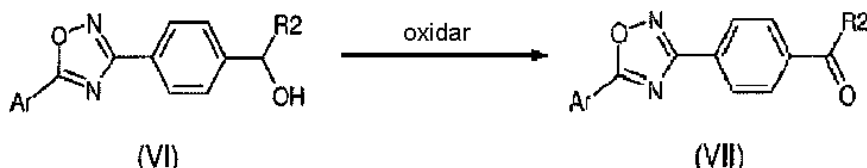
Saponificación de un compuesto de formula (III) para obtener un compuesto de formula (I). Reivindicación 9.

2. Reivindicaciones 12-14: Proceso para la obtención del compuesto de formula (I), definido por las siguientes etapas:

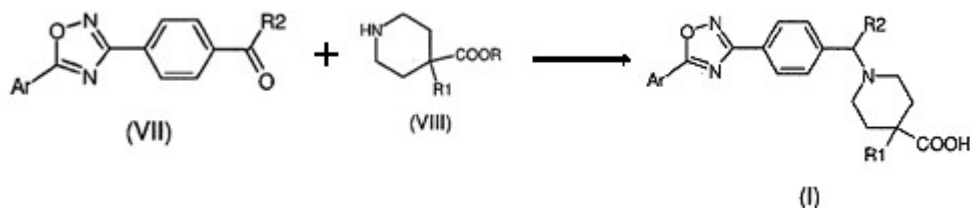


Formación del compuesto de formula (VI) por medio de: (a) reacción de un compuesto de formula (IX) con N-hidroxi-4 hidroximetilbenzamidina para

formar un compuesto de fórmula VI donde R2 es H, opcionalmente seguido por (b) oxidación y reacción con haluro de alquilmagnesio del producto de formula VI obtenido en la etapa (a). Reivindicación 14 (Divulgada en el documento D2).



Formación del compuesto de formula (VII) por medio de la oxidación del compuesto de fórmula VI. Reivindicación 13 (Divulgada en el documento D2).



Formación del compuesto de formula (I) por medio de la reacción del compuesto de fórmula VII con una amina secundaria de formula VIII. Reivindicación 12.

Al examinar los dos grupos de procesos reclamados es evidente que comparten el compuesto de formula (VI) como intermediario, sin embargo este se encuentra previamente divulgado en el documento D1, por lo que no puede ser considerado como el concepto común **inventivo** a los dos grupos. Por otra parte, estos procesos no cuentan con ningún otro compuesto o etapa común, y su producto final no se considera inventivo de acuerdo a lo divulgado en el documento D1, por lo que se concluye que esta solicitud no cumple con el requisito de unidad de invención.

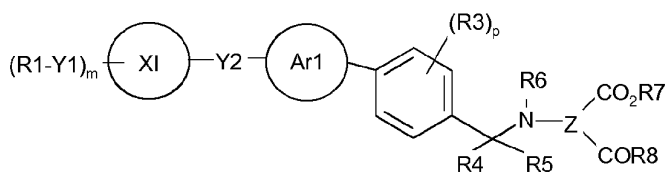
7. Determinación del Estado de la Técnica

El estado de la técnica se determinó con base en la fecha de presentación de la solicitud de prioridad: abril 12 de 2011 y se encontraron los siguientes documentos que anticipan el objeto de esta solicitud:

Ítem	Documento	Título	Fecha de Publicación
D1	WO 2008152149	Novel dicarboxylic acid derivatives as S1P1 receptor agonists	18/Diciembre/2008
D2	WO 2003105771	1-((5-aryl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)benzyl)azetidine-3-carboxylates and 1-((5-aryl-1,2,4-oxadiazol-3-yl)benzyl)pyrrolidine-3-carboxylates as EDG receptor agonists	24/Diciembre/2003
D3	L. Yan et al. Bioorg. Med. Chem. Lett. 16 (2006) 3679–3683	Discovery of 3-arylpropionic acids as potent agonists of sphingosine-1-phosphate receptor-1 (S1P1) with high selectivity against all other known S1P receptor subtypes	15/Julio/2006
D4	WO 2009043890	Oxadiazole diaryl compounds	09/Abril/2009

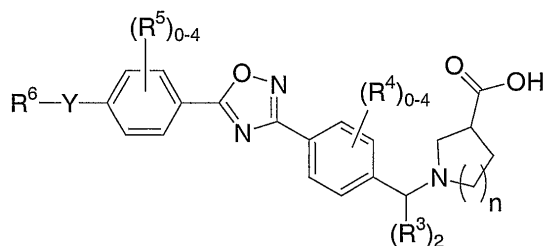
El documento D1¹ divulga compuestos di carboxílicos derivados de 1,2,4 oxadiazol de fórmula (I) que poseen actividad como agonistas de los receptores de esfingosina 1-fosfato (S1P), así como procesos para prepararlos. (Pág. 2, líneas 19-23).

¹ http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/originalDocument?CC=WO&NR=2008152149A1&KC=A1&FT=D&ND=&date=20081218&DB=&&locale=en_EP



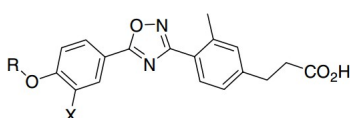
(I)

El documento D2² divulga compuestos agonistas de los receptores S1P1/Edg1 de fórmula (I) que presentan actividad inmunosupresiva (Pág. 5, líneas 1-10).



I

El documento D3³ divulga un estudio de relación estructura actividad de compuestos 3- aril propiónico que presentan actividad como agonistas de los receptores S1P₁, estos compuestos corresponden a la fórmula: (Pág. 3681, tabla 2)



8. Examen de Patentabilidad (Art 14 D486)

Novedad con respecto a D1 (Art 16 D486)

La reivindicación 1 consiste en: “Un compuesto de fórmula (I)...” (Radicado N°. 13-265458-00000-00000).

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del Estado de la Técnica:

Características esenciales	D1
Un compuesto de formula (I) (I) o uno de sus isómeros, sales o ésteres, en donde:	(Pág.52, ejemplo 4) Donde R⁵ es OH Formula molecular C₂₉H₂₆FN₃O₅
Ar:: (X) (Reivindicación 3) Donde Hal es un átomo de flúor	Fenilo sustituido con: R: fenilo R¹: -F

²<http://worldwide.espacenet.com/publicationDetails/biblio?CC=WO&NR=03105771A2&KC=A2&FT=D>

³<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960894X06005038>

R ³ fenilo	R: Fenilo
R ¹ representa -X-(Y) _n donde -X- Es -etenil- -Y: Es -H ; n es 1	COR ⁶ : -CO ₂ CH ₃
R ² es H	-H

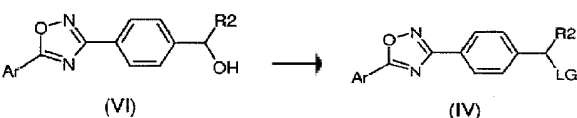
Compuestos con las características esenciales de los compuestos reclamados en la reivindicación 1 habían sido divulgados previamente en el documento D1 el cual divulga compuestos di carboxílicos derivados de 1,2,4 oxadiazol de formula (I) que poseen actividad como agonistas de los receptores de esfingosina 1-fosfato (S1P), particularmente el documento D1 divulga el compuesto ejemplo 4 (Pág. 52) el cual corresponde a un isómero del compuesto de formula (I) de acuerdo con la solicitud que corresponde a la fórmula molecular C₂₉H₂₆FN₃O.

En consecuencia, la reivindicación 1 no es nueva o carece de novedad, según lo divulgado en el documento D1.

Las reivindicaciones dependientes 2 – 6 no mencionan alguna característica que haga nuevos a los compuestos de la reivindicación 1, por lo cual se considera que no son nuevas.

La reivindicación 11 consiste en: *“El proceso de conformidad con la reivindicación 10, caracterizado porque comprende el paso de preparar el compuesto de la formula (IV) en donde LG es un haluro o mesilato, al convertir un compuesto de formula (VI) en el haluro o mesilato deseado...”* (Radicado N°. 13-265458-00000-00000).

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del Estado de la Técnica:

Características esenciales	D1
Método para preparar un compuesto de formula (III) Que comprende preparar el compuesto de formula (IV)  (VI) → (IV) Donde Ar es arilo opcionalmente sustituido por halógeno y arilo. R² es -H	Preparación de ácidos di carboxílicos:  Paso I (Pág. 55)

Las características esenciales del proceso reclamado en la reivindicación 11 habían sido divulgadas previamente en el documento D1 el cual enseña la preparación de compuestos de oxadiazol di-aril sustituidos. Dentro de los procesos usados para la producción de dichos compuestos, se encuentra la etapa de sustitución de un grupo -OH bencílico por un grupo saliente, específicamente un átomo de cloro (Pág. 55).

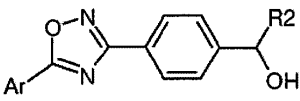
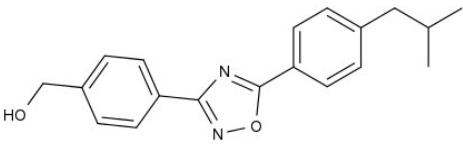
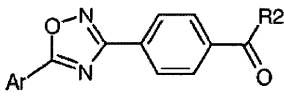
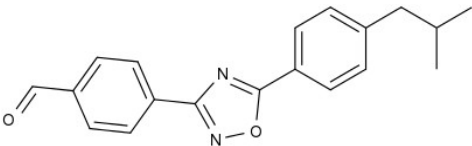
En consecuencia, la reivindicación 11 no es nueva o carece de novedad, según lo divulgado en el documento D1.

Novedad con respecto a D2 (Art 16 D486)

La reivindicación 13 consiste en: *“El proceso de conformidad la reivindicación 12, caracterizado porque comprende además el paso de preparar el compuesto de formula*

(VII) al oxidar el compuesto de formula (VI)..."

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del Estado de la Técnica:

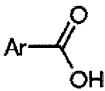
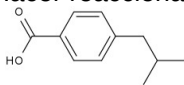
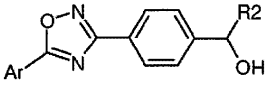
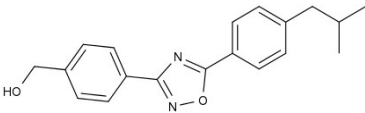
Características esenciales	D2
(a) Oxidar  (VI)	Hacer reaccionar 
Para formar  (VII)	Para formar  Aldehído 1 (Pág. 39, paso C)

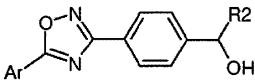
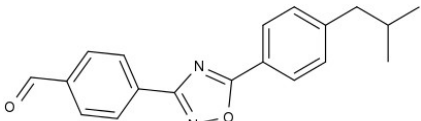
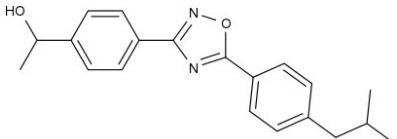
Las características esenciales del proceso reclamado en la reivindicación 13 habían sido divulgadas previamente en el documento D2 el cual enseña la preparación de compuestos de oxadiazol di aril sustituidos. Dentro de los procesos usados para la producción de dichos compuestos se encuentra la etapa de oxidar un alcohol bencílico intermediario para la formación de un aldehído bencílico, el cual es usado como precursor en procesos de síntesis para la obtención de diversos compuestos (Pág. 39, pasos B y C).

En consecuencia, la reivindicación 13 no es nueva o carece de novedad, según lo divulgado en el documento D1.

La reivindicación 14 consiste en: *“El proceso de conformidad la reivindicación 11 o 13, caracterizado porque comprende además (a) preparar el compuesto de formula (VI) al hacer reaccionar un compuesto de formula (IX) con N-hidroxi-4hidroximetilbenzamidina, seguido por (b) oxidar el compuesto obtenido de la formula (VI) seguido por su reacción con haluro de alquilmagnesio...”*

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del Estado de la Técnica:

Características esenciales	D2
(a) Hacer reaccionar: 	Hacer reaccionar 
Con N-hidroxi-4 hidroximetilbenzamidina	Con N-hidroxi-4 hidroximetilbenzamidina
Para formar  (VI)	Para preparar  (Pág. 39, paso B)
(b) Oxidar el compuesto de formula VI	Hacer reaccionar el producto del paso B, para formar

 (VI) Donde R2 es -H	 Aldehído 1 (Pág. 39, paso C)
Y acoplar con haluro de alquilmagnesio	Hacer reaccionar el aldehído 1 (producido en el paso C) con yoduro de metil magnesio, para formar  (Paso A Pág. 54, Ejemplo 30)

Las características esenciales del proceso reclamado en la reivindicación 14 habían sido divulgadas previamente en el documento D2 el cual enseña la preparación de compuestos de oxadiazol di aril sustituidos. Dentro de los procesos usados para la producción de dichos compuestos, se la formación del anillo de 1,2,4 oxadiazol a partir de un acido aril carboxílico y N-hidroxi-4 hidroximetilbenzamidina, seguido por la oxidación del producto obtenido para la formación de un aldehído usado como precursor de diversos compuestos (Pág. 39, pasos B y C). Este documento también muestra la adición de un grupo alquilo sobre el grupo carbonilo del aldehído usado como intermediario, al adicionar un haluro de alquil magnesio adecuado (Pág. 54. ejemplo 30).

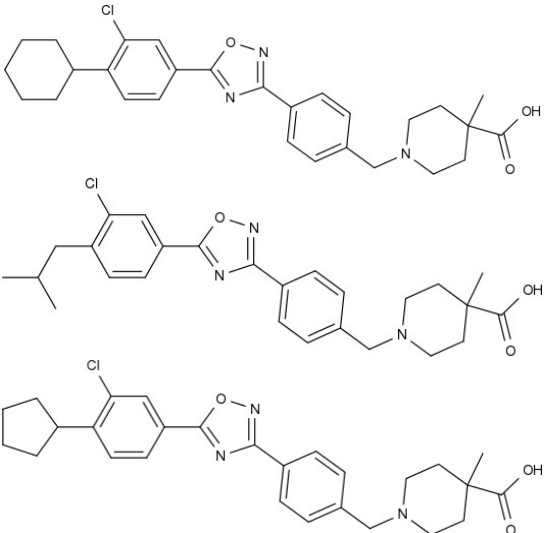
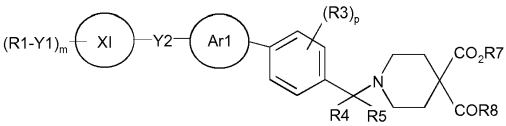
En consecuencia, la reivindicación 14 no es nueva o carece de novedad, según lo divulgado en el documento D2.

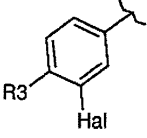
Nivel inventivo (Art 18 D486)

La reivindicación 7 consiste en: “El compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque se selecciona de: (...)” (Radicado N°. 13-265458-00000-00000).

Para fines del examen de patentabilidad se tomaran los primeros tres compuestos de la lista como representativos del grupo.

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características esenciales	D1
Un compuesto seleccionado de: 	Compuestos de formula I-A  (I-A) Donde Ar1 es 1,2,4 oxazol y X1 es fenilo, (Pág. 12, líneas 6-15)

(...)	
Ar:  (X) Donde Hal es un átomo de halógeno	Fenilo sustituido con R ¹
R³ es halógeno, arilo, cicloalquilo, alquilo, -O-alquilo	R¹: -H, halo, perhaloalquilo, perhaloalcoxi, arilo, arilalquilo, arilarilo, alquilo, alquenilo, alquinilo, -N(R ₂) ₂ , y cicloalquilo que opcionalmente comprende una o mas insaturaciones R ¹ puede estar sustituido con -halogeno, alquil, oalquilo, cicloalquilo, -CO(O)alquilo, -CO(O)cicloalquilo, -O-COalquilo, -O-COCicloalquilo.
R¹: -X-(Y) _n -X- se selecciona de: alquil, alquenil, alquinil, aril, alquilaril. -Y se selecciona de H, OH, halógeno, -Oalquilo, -Oalquilarilo, -OalquilOalquilo, heteroarilo, -Oarilo(Oalquilo), -Ocicloalquilo, -cicloalquilo, heterocicloalquilo	-H, -CO ₂ R ⁷ o -COR ⁸ Donde -CO ₂ R ⁷ o -COR ⁸ , pueden ser esteres o amidas de los mismos
R² es -H, alquilo	R⁴-R⁵: -H, metilo, cicloalquilo

El documento D1 se considera el estado de la técnica cercano a la solicitud definida en la reivindicación 7 porque divulga compuestos di carboxílicos derivados de 1,2,4 oxadiazol de formula (I) que poseen actividad como agonistas de los receptores de esfingosina 1-fosfato (S1P), particularmente el documento D1 divulga compuestos representados por la formula I-A, donde Ar 1 corresponde a un anillo de 1,2,4 oxazol y X1 es fenilo (Pág. 12, líneas 6-15). El documento D1 también enseña derivados mono carboxílicos de estos compuestos (Pág. 121, Ej. XXVIII-XLIII).

La diferencia entre la solicitud definida en la reivindicación 7 y los compuestos divulgados en el documento D1 consiste en la identidad del sustituyente R¹ de la posición 4 de la piperidina. En la solicitud este es un grupo alquilo, alquenilo, arilo, -O alquilo, entre otros (ver tabla comparativa), mientras que en los compuestos divulgados en el documento D1 este sustituyente se encuentra ausente (compuestos XXVIII-XLIII) o es un grupo carboxilo o un derivado tipo amida o éster del mismo.

No hay evidencia de que exista un efecto técnico inesperado asociado a incluir la sustitución en la posición 4 de la piperidina, ya que de acuerdo a lo mostrado en la tabla 1b de la página 159, los compuestos reclamados presentan valores de EC₅₀ menores a 10nM; mientras que los compuestos no monocarboxílicos de la anterioridad D1, es decir aquellos en donde el sustituyente corresponde a un ácido carboxílico, una amida o un éster, relacionados estructuralmente con los de la presente solicitud, presentan valores en un rango entre 0.7-6.3nM para EDG-1 (Pág. 126, tabla 1, compuestos 15, 22, 25, 62). Si bien los compuestos monocarboxilicos del documento D1 (ejemplos XXVIII-XLIII), son usados como compuestos comparativos por la solicitante, y presentan valores de EC₅₀ para EDG-1 superiores de acuerdo a lo mostrado en la tabla de la página 162, no es posible generalizar la existencia de una mejora en la potencia de los compuestos reclamados sobre los divulgados en el documento D1 que se encuentran sustituidos con grupos acido carboxílico (dicarcoxilicos) o derivados (esteres o amidas).

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta invención se

puede considerar como la necesidad de proporcionar compuestos alternativos a los divulgados en D1, capaces de inhibir de EDG-1.

Sin embargo, la sustitución de un grupo –C(=O)- (carbonilo) o de un átomo de H, por un grupo –O-alquilo o arilo puede considerarse como una estrategia conocida para la modificación y el diseño de compuestos con actividad farmacológica. Ejemplos de este tipo de modificaciones se pueden encontrar en documentos como el de Moreira et al⁴ donde se evidencia la relación de bioisosterismo no clásico que motivaría el reemplazo de un grupo carboxilo, amida o éster por un grupo éter, fenilo o haluro. (Pág. 26, tabla 2).

En consecuencia, el la persona del oficio normalmente versada en la materia, sustituiría uno de los grupos carboxílicos en posición 4 de la piperidina de los compuestos del documento D1, por los grupos ahora solicitados, llegando así a la materia ahora reclamada en la reivindicación 7, por lo que se considera obvia.

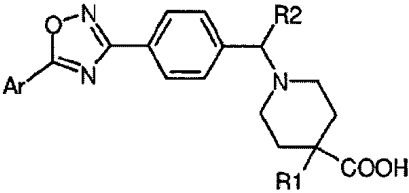
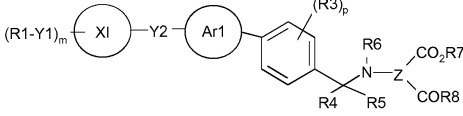
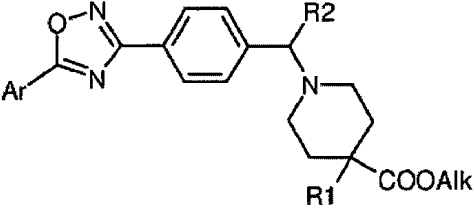
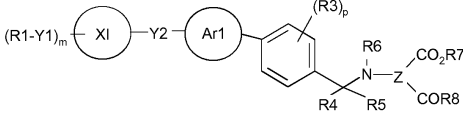
Puesto que la reivindicación 8 no menciona características inventivas adicionales tampoco se puede considerar inventiva.

Conclusión:

Las reivindicaciones 7 y 8 cumplen el requisito de novedad (Art. 16), pero no cumplen con el requisito de nivel inventivo (Art. 18).

La reivindicación 9 consiste en: *“Un proceso para la preparación de un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, caracterizado porque comprende saponificar un compuesto de formula (III)…”*

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del Estado de la Técnica

Características esenciales	D1
Un proceso para la preparación de un compuesto de formula (I)  (I)	Un proceso para la preparación de un compuesto:  (I) Donde R⁷ es H y R⁸ es OH
Que comprende saponificar un compuesto de formula III  (III)	Que comprende el paso de saponificar el compuesto correspondiente donde R⁷ y/o R⁸ representan un grupo éster:  (I) (Reivindicación 22)

El documento D1 se considera el estado de la técnica cercano al proceso solicitado en

4<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15638729>

la reivindicación 9 porque divulga la preparación de compuestos de oxadiazol di-arilsustituídos. Uno de los procesos usados para la producción de dichos compuestos, implica la saponificación del éster de ácido piperidinildicarboxílico (Pág. 145, Reivindicación 22).

La diferencia entre el proceso reclamado por la presente solicitud, definido en la reivindicación 9 y el proceso divulgado en el documento D2, se encuentra en la estructura de los precursores usados. En la solicitud la reacción de saponificación ocurre sobre un grupo piperidil monocarboxílico, mientras que en el proceso divulgado por D2 se da sobre un grupo piperidil di-carboxílico (sustituyentes $-\text{CO}_2\text{R}^7$ y $-\text{COR}^8$).

No se evidencia un efecto técnico inesperado en el proceso reclamado.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo a resolver consiste en cómo adaptar el proceso divulgado en D1 para obtener los ácidos piperidil monocarboxílicos de la presente solicitud.

Sin embargo, el número de grupos carboxílicos sobre determinado grupo no es un impedimento para el uso del proceso de saponificación divulgado en el documento D1.

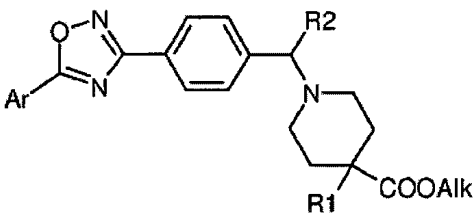
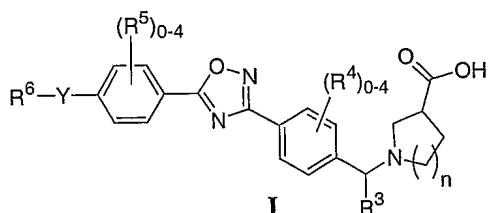
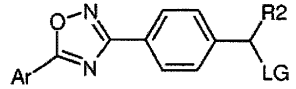
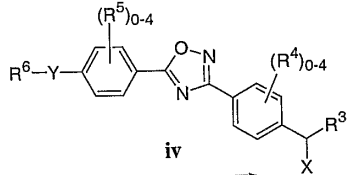
De manera que la persona del oficio normalmente versada en la materia usaría el proceso divulgado en D1 para obtener ácidos piperidin monocarboxílicos a partir de grupos éster, llegando al proceso en la reivindicación 9 por lo cual se considera obvia.

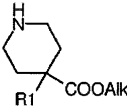
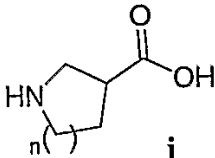
Conclusión:

La reivindicación 9 cumple el requisito de novedad (Art. 16), pero no cumple con el requisito de nivel inventivo (Art. 18).

La reivindicación 10 consiste en: “El proceso de conformidad con la reivindicación 9, caracterizado porque comprende el paso de preparar el compuesto de la fórmula (II) al acoplar un compuesto de fórmula (IV) con un compuesto de fórmula (V)...” (Radicado N°. 13-265458-00000-00000).

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del Estado de la Técnica

Características esenciales	D2
Proceso para preparar un compuesto de fórmula:  (III)	Preparación del compuesto de fórmula I, (Pág. 34, esquema 1).  I n = 0,1
Que comprende el paso de preparar el compuesto de fórmula (III), al acoplar un compuesto de la fórmula IV  (IV) Donde LG es un grupo haluro o mesilato.	A partir del intermediario iv  iv Base, solvent X = -Cl, -Br, -I, or -OSO₂R

Con un compuesto correspondiente de la formula (V)  (V) Donde Alk es un grupo alquilo	Por acoplamiento con  i
--	--

El documento D2 se considera el estado de la técnica cercano al proceso solicitado en la reivindicación 10 porque divulga compuestos derivados de 1,2,4oxadiazol diaril sustituidos, útiles como inhibidores del receptor Edg1, así como métodos para la preparación de los mismos. Una de las alternativas usadas en este documento, para la preparación de estos compuestos, implica el acople de una amina cíclica con un intermediario tipo haluro, por medio de una reacción de sustitución (Pág. 34, esquema 1).

La diferencia entre el proceso reclamado por la presente solicitud, definido en la reivindicación 10 y el proceso divulgado en el documento D2, se encuentra en la estructura de la amina cíclica usada como precursor, ya que en la solicitud esta es una amina cíclica de 6 miembros, mientras que en el documento D2 es de 5 miembros.

No se evidencia un efecto técnico inesperado en el proceso de acoplamiento reclamado, asociado al cambio en la amina cíclica usada como precursora.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo a resolver consiste en cómo adaptar el proceso divulgado en D2 para obtener los productos de la presente solicitud.

Sin embargo, el número de átomos de carbono de la amina cíclica no interfiere con el proceso de sustitución planteado en el documento D2.

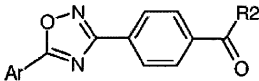
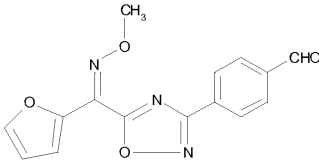
De manera que la persona del oficio normalmente versada en la materia usaría el proceso divulgado en D2 para obtener los compuestos de la presente solicitud, llegando al proceso en la reivindicación 10, por lo cual se considera obvia.

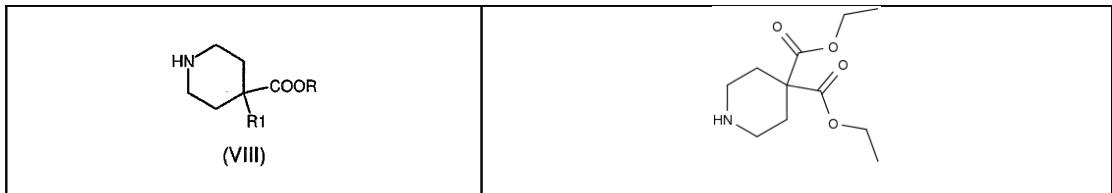
Conclusión:

La reivindicación 10 cumple el requisito de novedad (Art. 16), pero no cumple con el requisito de nivel inventivo (Art. 18).

La reivindicación 12 consiste en: *“El proceso de preparación de un compuesto de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, caracterizado porque comprende hacer reaccionar un compuesto de formula (VII) con un compuesto de formula (VIII)...*

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del Estado de la Técnica:

Características esenciales	D1
Hacer reaccionar el producto del paso B, para formar  (VII)	Hacer reaccionar:  Método B (Pág. 51, paso 1)
Con un compuesto de formula (VIII)	Con



El documento D1 se considera el estado de la técnica cercano al proceso solicitado en la reivindicación 12 porque divulga la preparación de compuestos de oxadiazol diaril sustituidos. Uno de los procesos usados para la producción de dichos compuestos implica el acople entre una amina cíclica (piperidin 4,4 dietilcarboxilato) y un benzaldehído sustituido (Método B, Pág. 51, paso 1).

La diferencia entre el proceso reclamado en la presente solicitud, definido por la reivindicación 12 y el proceso divulgado por el documento D1, se encuentra en la estructura del sustituyente del oxadiazol, ya que en la solicitud este corresponde a un grupo fenilo opcionalmente sustituido, mientras que en el documento D1, es un grupo 5 (Furan 2-il)metoxiimidometil.

No se evidencia un efecto técnico inesperado en el proceso de acoplamiento reclamado, asociado al cambio en el sustituyente en el anillo de oxadiazol del precursor.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo a resolver consiste en cómo adaptar el proceso divulgado en D1, usando un precursor distinto para obtener los compuestos reclamados por la presente solicitud.

Sin embargo, este cambio no la sustitución en la posición 4 del benzaldehído no interfiere con el proceso de sustitución planteado en el documento D1.

De manera que la persona del oficio normalmente versada en la materia usaría el proceso divulgado en D1 usando diferentes precursores, llegando al proceso en la reivindicación 12 por lo cual se considera obvia.

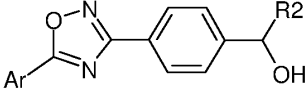
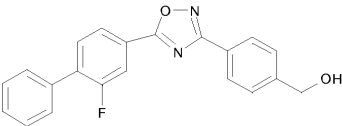
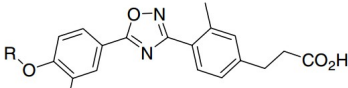
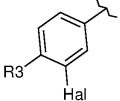
Puesto que la reivindicación dependiente 15 no menciona características inventivas adicionales tampoco se puede considerar inventiva.

Conclusión:

La reivindicación 12 cumple el requisito de novedad (Art. 16), pero no cumple con el requisito de nivel inventivo (Art. 18).

La reivindicación 16 consiste en: “Un compuesto de fórmula (VI):” (Radicado N°. 13-265458-00000-00000).

Comparación de las características técnicas esenciales, con las del estado de la técnica:

Características esenciales		D1	D3
Un compuesto de formula general (VI)  Donde :		 (Pág. 55, línea 10)	 (Pág. 3681, tabla 2)
R ² : -H, Alquilo		-H	-H
Ar: 	R ³ : Halógeno, arilo, cicloalquilo, alquilo	fenilo	-O-R
	Hal: -Cl	Fluor	-Cl (Compuesto 13e)

El documento D1 se considera el estado de la técnica cercano a la solicitud definida en la reivindicación 1 porque divulga compuestos di carboxílicos derivados de 1,2,4 oxadiazol de formula (I) que poseen actividad como agonistas de los receptores de esfingosina 1-fosfato (S1P) este documento también divulga métodos de preparación de dichos compuestos e intermediarios de estos procesos de síntesis, particularmente el intermediario 4-[5-(2-fluorobifenil-4-il)-1,2,4-oxadiazol-3-il]fenil metanol en el paso I (Pág. 55, línea 10).

La diferencia entre la solicitud definida en la reivindicación 16 y los compuestos divulgados en D1 consiste en el sustituyente “Hal” del anillo “Ar” el cual en los compuestos reclamados es un átomo de cloro, mientras que en los compuestos divulgados en D1 este sustituyente es un átomo de flúor.

No hay evidencia de un efecto técnico asociado al reemplazo del átomo de cloro por un átomo de flúor.

Por lo tanto, el problema técnico objetivo que pretende resolver esta solicitud se puede considerar como la necesidad de proporcionar intermediarios alternativos a los divulgados en D1 que permitan la síntesis de los compuestos de la presente solicitud.

Sin embargo, la sustitución de átomo de flúor en posición 3 por un átomo de cloro y otros grupos (CF₃, CN, Br, entre otros) ya está divulgada en el documento D3 (Pág. 3681, tabla 2) que se refiere a un estudio de relación estructura actividad de compuestos de acido 3 aril propiónico que actúan como inhibidores de S1P₁. En esta tabla es evidente el aumento en la potencia asociado al cambio del átomo de flúor por cloro.

En consecuencia, la persona del oficio normalmente versada en la materia, sustituiría el átomo de flúor por cloro de acuerdo a lo divulgado en D3 para llegar así al objeto de la reivindicación 16 de la solicitud. Por lo cual se considera obvia.

Conclusión:

Las reivindicación 16 cumple el requisito de novedad (Art. 16), pero no cumple con el requisito de nivel inventivo (Art. 18).

9. Conclusión

Los requisitos de Patentabilidad de la presente solicitud están afectados así:

Ítem	Documento	Reivindicaciones afectadas	Requisito que afecta
D1	WO 2008152149	1-6, 11	Novedad
		7, 8, 12, 15, 16	Nivel inventivo
D2	WO 2003105771	13, 14	Novedad
		10	Nivel inventivo
D3	L. Yan et al. / Bioorg. Med. Chem. Lett. 16 (2006) 3679–3683	16	Nivel inventivo

En cumplimiento del artículo 45 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le indica que debe dar respuesta dentro del término de sesenta (60) días contados a partir del día siguiente de la fecha de notificación de la presente comunicación. En caso de no dar respuesta al presente requerimiento, o si a pesar de la respuesta subsistieran los impedimentos para la concesión, se denegará la patente.

Se invita al solicitante se sirva indicar, si así lo considera, su renuncia al término faltante de sesenta (60) días para dar respuesta a este requerimiento y presentarla por escrito.

Finalmente, se le recuerda al solicitante que si como respuesta a este requerimiento llegara a modificar el capítulo reivindicatorio y éste contenga más de diez (10) reivindicaciones, no pagará la tasa de modificación voluntaria pero sí la correspondiente al pago por reivindicación adicional.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No. 10 de 2001.



JOSÉ LUIS SALAZAR LÓPEZ
Director de Nuevas Creaciones (c)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista, de fecha 2014-12-30

Elaboró: Ruth Andrea Rodriguez

Revisó: Consuelo Leguizamon Leguizamon

Discovery of 3-arylpropionic acids as potent agonists of sphingosine-1-phosphate receptor-1 (S1P₁) with high selectivity against all other known S1P receptor subtypes

Lin Yan,^{a,*} Pei Huo,^a George Doherty,^{a,†} Lesile Toth,^a Jeffrey J. Hale,^a Sander G. Mills,^a Richard Hajdu,^b Carol A. Keohane,^b Mark J. Rosenbach,^b James A. Milligan,^b Gan-Ju Shei,^b Gary Chrebet,^b James Bergstrom,^b Deborah Card,^b Elizabeth Quackenbush,^c Alexandra Wickham^c and Suzanne M. Mandala^b

^aDepartment of Medicinal Chemistry, Merck Research Laboratories, PO Box 2000, Rahway, NJ 07065, USA

^bDepartment of Immunology and Rheumatology, Merck Research Laboratories, PO Box 2000, Rahway, NJ 07065, USA

^cDepartment of Pharmacology, Merck Research Laboratories, PO Box 2000, Rahway, NJ 07065, USA

Received 8 March 2006; accepted 21 April 2006

Available online 11 May 2006

Abstract—A series of 3-arylpropionic acids were synthesized as S1P₁ receptor agonists. Structure–activity relationship studies on the pendant phenyl ring revealed several structural features offering selectivity of S1P₁ binding against S1P_{2–5}. These highly selective S1P₁ agonists induced peripheral blood lymphocyte lowering in mice and one of them was found to be efficacious in a rat skin transplantation model, supporting that S1P₁ agonism is primarily responsible for the immunosuppressive efficacy observed in preclinical animal models.

© 2006 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Modulation of biological actions of sphingosine-1-phosphate receptors (S1Ps)—members of the G protein-coupled receptor superfamily—has emerged as a new paradigm for the discovery of therapeutic agents.¹ FTY720 (**1**, Fig. 1) is a synthetic analog of myriocin, an antifungal antibiotic isolated from entomopathogenic fungus *Isaria sinclairii*.² As a novel immunosuppressant, FTY720 has progressed to phase III clinical trials in the prevention of allograft rejection after renal transplantation and phase II for the treatment of multiple sclerosis.³ The mechanism of its action has been proposed to be that **1** is phosphorylated in vivo to monophosphate **2**⁴ which is an agonist of S1P_{1,3,4,5} receptors but not S1P₂,⁵ and that S1P₁ agonism redirects the trafficking of peripheral naïve and activated CD4 and

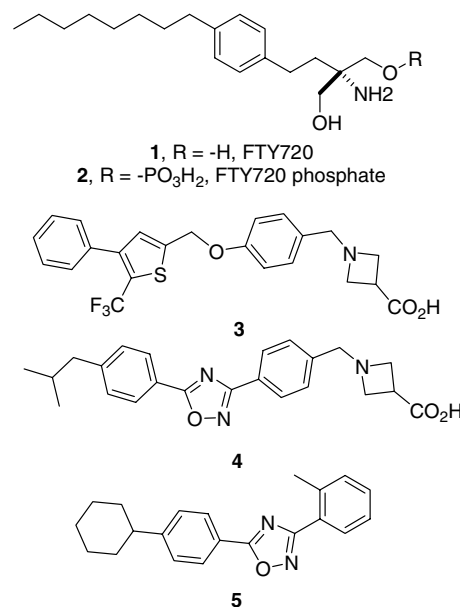


Figure 1. Structures of FTY720 (**1**), its metabolite FTY720-phosphate (**2**), two azetidine-3-carboxylic acids (**3** and **4**), and lead S1P₁ receptor agonist **5**.

Keywords: Sphingosine-1-phosphate (S1P) receptors; Agonists; Lymphocyte lowering; Immunosuppression; Transplantation; 3-Arylpropionic acids.

* Corresponding author. Tel.: +1 732 594 5419; fax: +1 732 594 2210; e-mail: lin_yan@merck.com

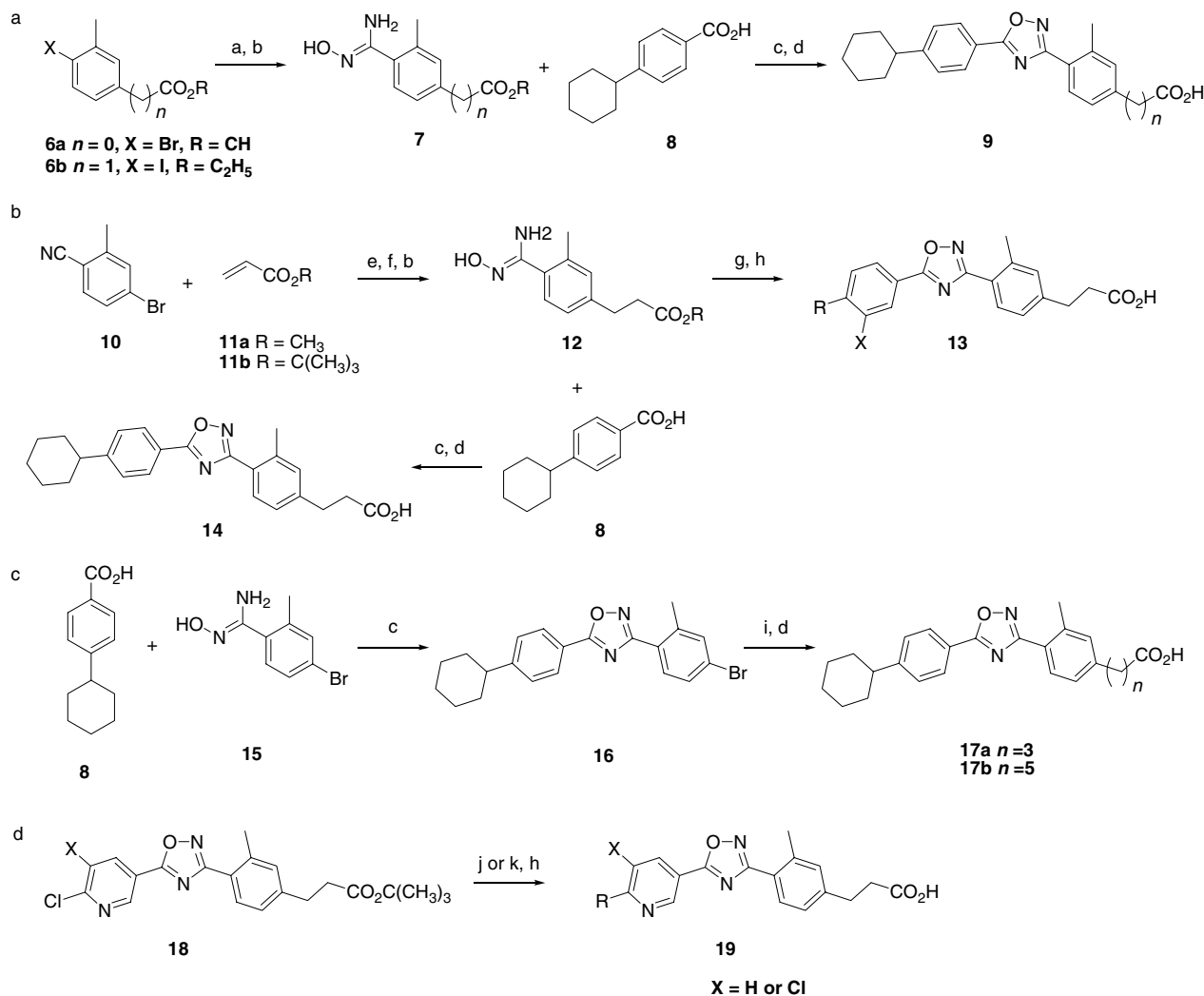
† Present address: Array BioPharma, 2620 Trade Center Avenue, Longmont, CO 80503, USA.

CD8 T cells and B cells from systemic circulation into secondary lymphoid organs, resulting in the observed immunosuppressive efficacy in preclinical animal models.⁶ The primary adverse effect observed in clinical trials of FTY720 is transient and asymptomatic bradycardia; S1P₃ agonism has been shown to be responsible for the acute cardiovascular toxicity observed in rodents.⁷

We have recently disclosed several series of amino acids as potent and orally bioavailable S1P₁ agonists selective against S1P₃ (exemplified by **3** and **4**, Fig. 1).^{8–11} Compound **3** is a potent S1P₁ agonist (IC₅₀ = 1.2 nM) with good to moderate selectivity over other S1P subtypes (440-fold over S1P₃, 1350-fold against S1P₄, and 20-fold over S1P₅). In comparison, compound **4** is a more potent S1P₁ agonist (IC₅₀ = 0.6 nM) with excellent selectivity against S1P₃ (20,000-fold), but its selectivity over other subtypes is low (120-fold over S1P₄ as a weak antagonist and non-selective against S1P₅). While physiological actions of other S1P subtypes remain to be

further elucidated,^{12–14} investigation that establishes the connection of S1P₁ and alterations in lymphocyte trafficking makes it desirable to have an S1P₁-specific agonist as an immunosuppressant. Here we describe the discovery of a series of 3-arylpropionic acids as potent S1P₁ agonists derived from lead compound **5**.¹⁵ Structure–activity relationship studies of the left-hand side pendant phenyl ring identify several structural motifs offering S1P₁ agonists selective against all other known S1P subtypes.

Based on the structural similarity between azetidine-3-carboxylic acid **4** and lead compound **5**, we decided to introduce a carboxylic acid group to the right-hand side phenyl ring of **5** at the position *para* to the oxadiazole ring, where it may interact potentially with negatively charged residues of S1P₁ receptor (e.g., Arg120 and Arg292).¹⁶ The distance—defined by the number (*n*) of methylene groups—between the carboxylic acid group and the phenyl ring was varied incrementally to optimize



Scheme 1. (a) Zn(CN)₂, Pd₂(dba)₃, dppf, H₂O, DMF, 120 °C; (b) NH₂OH·HCl, NaHCO₃, CH₃OH, 60 °C (10–90%); (c) EDC, ClCH₂CH₂Cl, rt (4 h)—100 °C (14 h) (14–60%); (d) NaOH, CH₃OH, rt (63–100%); (e) methyl acrylate or *tert*-butyl acrylate, Pd[P(*t*Bu)₃]₂, Cy₂NCH₃, 1,4-dioxane, 70 °C; (f) 10% Pd/C, H₂ (15 Psi), CH₃OH, rt, (49% over two steps); (g) derivatized benzoic acids, EDC, ClCH₂CH₂Cl, rt (4 h)—100 °C (14 h); (h) 20% TFA, CH₂Cl₂, rt (81%); (i) BrZn(CH₂)_nCO₂Et, *n* = 3 and 5, Pd[P(*t*Bu)₃]₂, 1,4-dioxane, 75 °C; (j) ROH, NaH, DMF, 120 °C; (k) RZnBr, Pd[P(*t*Bu)₃]₂, NMP, THF, 80 °C.

S1P₁ binding potency. These analogs can be readily prepared from commercial materials using known synthetic methods. Synthesis of analogs having $n = 0$ and 1 featured palladium catalyzed cyanation (Scheme 1a). Synthesis of analogs having $n = 2$ utilized Heck coupling reaction (Scheme 1b). The low yielding ($\sim 10\%$) for the formation of amidoxine **12** from methyl 3-phenylpropionate was circumvented by using corresponding *tert*-butyl ester instead. Synthesis of analogs having $n = 3$ and 5 exploited Negishi coupling (Scheme 1c).¹⁷ Finally, preparation of pyridine analogs was achieved using either properly derivatized pyridine carboxylic acids or chemical modification of intermediate **19** (Scheme 1d).

S1P binding affinities (IC₅₀) of the new compounds were determined in competitive binding assays of [³³P]-labeled S1P ligand on Chinese hamster ovary (CHO) cell membranes stably expressing S1P receptors.^{5a} Their respective functional binding affinities (EC₅₀) were determined by measuring the ligand-induced uptake of [³⁵S]GTPγS by CHO cell membranes stably expressing S1P receptors.^{5a} All tested compounds were found to be full agonists of S1P_{1,3,5} and inactive (IC₅₀ > 10 μM) against both S1P₂ and S1P₄. This class of carboxylic acids appeared significantly more potent when evaluated for functional activity as compared to receptor binding. While reasons for such shift are not fully understood at present, they are not unprecedented and with these compounds we found EC₅₀ values a better guide for interpreting in vivo activity. Compound-induced peripheral blood lymphocyte (PBL) lowering in mice was measured by the reduction percentage of the absolute PBL counts determined at a three-hour time point after the oral administration of the test compound in comparison to those from vehicle controls.^{5a} The murine PBL lowering has been previously shown to correlate with immunosuppressive efficacy in rodents.¹⁸

Among all carboxylic acids with varying distance between the phenyl ring and the carboxylic acid group, 3-phenylpropionic acid **14** was the most potent S1P₁ agonist (Table 1). Its S1P₁ binding affinity was improved about sixfold in comparison to **5**; whereas, its selectivity

against S1P₃ was significantly decreased and selectivity against S1P₅ was enhanced just about twofold. Compound **14** was also found to lower murine PBL modestly versus vehicle after a 1 mpk po dose. In contrast, compounds having distance other than $n = 2$ showed greater than fivefold S1P₁ binding potency loss. Based on these data, 3-arylpropionic acids were selected for further investigation.

3-Arylpropionic acids having a pendant 3,4-disubstituted phenyl group demonstrated significant potency enhancement (Table 2). Analog **13a** is a 90 pM S1P₁

Table 2. S1P functional binding affinities (EC₅₀, nM) for compounds having 3,4-disubstituted pendant phenyl ring^a

Compound	R	X	S1P ₁	S1P ₃	S1P ₅
13a		CF ₃	0.09	110	40
13b		CF ₃	0.4	460	260
13c	H ₃ C-	CF ₃	3.2	>10,000	2600
13d		F	1.9	4070	530
13e		Cl	0.2	1500	140
13f		CH ₃	0.2	460	210
13g		Br	<0.08	230	43
13h		OCH ₃	1.1	620	270
13i		CN	<0.08	1100	6.5
13j		CN	0.07	470	15
13k		CN	0.03	500	3.1
13l		CN	0.1	340	0.7
13m		CN	0.11	1600	44

Table 1. S1P functional binding affinities (EC₅₀, nM) for compounds with varying distance between the carboxylic acid and the right-hand side phenyl group^{a,b}

Compound	n	S1P ₁	S1P ₃	S1P ₅
5	—	2.4	>10,000	266
9a	0	467	>10,000	>10,000
9b	1	830	>10,000	4000
14	2	0.4	160	591
17a	3	14	1100	840
17b	5	12	1220	1080

^a Ligand-induced uptake of [³⁵S]GTPγS on CHO cell membranes expressing S1P receptors. Data are reported as means for $n = 3$ measurements. SD were generally within $\pm 20\%$ of the average.

^b The EC₅₀ values of S1P₂ and S1P₄ are generally greater than 10 μM.

^a Ligand-induced uptake of [³⁵S]GTPγS on CHO cell membranes expressing S1P receptors. Data are reported as means for $n = 3$ measurements. SD were generally within $\pm 20\%$ of the average.

agonist, and its selectivity against S1P₃ and S1P₅ was about 1200- and 450-fold, respectively. It was also able to lower murine PBL maximally versus vehicle after a 0.1 mpk po dose. Changing isopropyl group into ethyl and methyl groups led to the incremental loss of S1P₁ binding affinity. Replacement of 3-trifluoromethyl group of **13a** yielded a series of potent S1P₁ agonists. Among them, bromide **13g** and nitrile **13i** were found to be full agonists even at the lowest testing concentration (80 pM) in S1P₁ functional binding assay. Compound **13i** showed greater than 14,000-fold of selectivity against S1P₃ and 80-fold over S1P₅ and lowered PBL maximally versus vehicle after a 0.1 mpk po dose. Chloride **13e** is a potent S1P₁ agonist with good selectivity against both S1P₃ (7500-fold) and S1P₅ (700-fold). One methyl group extension of isopropyl group in **13i** led to **13j** having almost threefold decrease in selectivity against S1P₃. Fluorination on the isopropyl group of **13i** resulted in equipotent S1P₁ agonists but loss of selectivity against S1P₃. The latter, but not the former, was observed previously with 2-aryl(pyrrolidin-4-yl)acetic acids.¹¹ Analog **13m** is a potent S1P₁ agonist and has good selectivity against S1P₃ (16,000-fold) and S1P₅ (400-fold). Both **13e** and **13m** were able to lower murine PBL modestly and maximally versus vehicle after a 0.3 mpk po dose, respectively (Table 3).

Another lead structure we have pursued in the hope of identifying S1P₁ specific agonists was pyridine analog **19a**—a modest potent S1P₁ agonist with excellent selectivity against both S1P₃ and S1P₅. Replacement of

n-butyl group with isobutyl resulted in about fivefold potency enhancement. Fluorination of isobutyl group led to further enhancement (fourfold); however, selectivity of S1P₁ against S1P₃ and S1P₅ was again attenuated; an instance was observed previously with 2-aryl(pyrrolidin-4-yl)acetic acids.¹¹ Translocation of the nitrogen on the pyridine ring of **19b** away from the oxadiazole ring gave **19d**, which was found to be 25-fold less potent. Conversion of isobutyl group of **19d** to isopropoxy furnished **19e** with significant potency loss. Remarkably, introduction of chlorine *ortho* to isopropoxy of **19e** exhibited almost 300-fold potency gain, with 1400-fold of selectivity against both S1P₃ and S1P₅ receptors. Again, fluorination of isobutyl group of **19f** led to further sevenfold potency increase, but its selectivity against both S1P₃ and S1P₅ was substantially decreased. Compounds **19f** and **19g** showed modest ability to lower murine PBL modestly versus vehicle after a 3 mpk po dose and modestly after a 0.3 mpk po dose, respectively.

Rat pharmacokinetics for selected 3-arylpropionic acids generally showed low clearance (except for pyridine analog **19f**), low volume distribution, and good oral bioavailability (Table 4). But regardless of structural variations on the pendant phenyl ring, 3-arylpropionic acids all exhibited relatively short halflives in rat.

To demonstrate that an S1P₁ agonist selective against all other S1P subtypes could maintain the immunosuppressive efficacy of **1**, compound **13m**, which has the shortest half life in rat and good selectivity against S1P_{3,5}, was selected to test in a skin allograft model, using the MHC-disparate combination of DA (donor) and Lewis (recipient) rats.¹⁹ Compound **13m** (1.5 mpk/day or 4.5 mpk/day, *n* = 6 rats, delivered via Alzet mini-osmotic pumps placed in the peritoneal cavity) and **1** (1 mpk/day, po, *n* = 6 rats) were administered one day prior to graft transplantation, until graft death. The median graft survival times were 11 days (vehicle, *n* = 8 rats), 13 days (**13m** at 1.5 mpk/day), 14 days (**13m** at 4.5 mpk/day), and 12 days (**1**). Graft survival was statistically significantly enhanced by treatment with either **1** or **13m** (at either dose), but there was no statistically significant difference between treatment with either **1** or **13m**. Treatment of **13m** at higher dose, however, prolonged graft survival significantly better than with lower one. The degree of PBL lowering achieved at day 7 in rat, post-transplantation, was found to be maximal for **1** and **13m** at both doses, respectively.

In conclusion, a series of 3-arylpropionic acids—structurally complementary to the other series of S1P₁ agonists discovered in these laboratories—have been identified as potent and selective S1P₁ receptor agonists. Structure–activity relationship studies on the pendant phenyl ring allowed for the identification of several S1P₁ potent agonists with high selectivity against other S1P subtypes. These highly selective S1P₁ agonists can effectively lower peripheral blood lymphocytes in mice. Compound **13m** was tested in a rat skin transplantation experiment and found to be immunosuppressive comparable to **1**. 3-Arylpropionic acids exhibit overall good pharmacokinetic properties except that they have

Table 3. S1P functional binding affinities (EC₅₀, nM) for test compounds having substituted pyridyl ring^a

Compound	R	S1P ₁	S1P ₃	S1P ₅
19a		16.0	>10,000	>10,000
19b		3.4	1200	>1000
19c		0.9	470	820
19d		88	>1000	>1000
19e		208	>10,000	>10,000
19f		0.7	950	950
19g		0.1	160	24

^a Ligand-induced uptake of [³⁵S]GTPγS on CHO cell membranes expressing S1P receptors. Data are reported as means for *n* = 3 measurements. SD were generally within ±20% of the average.

Table 4. Rat pharmacokinetic parameters of selected 3-arylpropionic acids^a

Compound	Rat PK
13a	Cl _p = 8.7 mL/min/kg, V _{dss} = 1.1 L/kg, t _{1/2} = 1.1 h, %F = 88.0
13e	Cl _p = 5.7 mL/min/kg, V _{dss} = 0.4 L/kg, t _{1/2} = 0.8 h, %F = 80.0
13i	Cl _p = 2.3 mL/min/kg, V _{dss} = 0.2 L/kg, t _{1/2} = 0.7 h, %F = 53.0
13m	Cl _p = 1.2 mL/min/kg, V _{dss} = 0.1 L/kg, t _{1/2} = 0.6 h, %F = 59.0
19f	Cl _p = 13.5 mL/min/kg, V _{dss} = 0.9 L/kg, t _{1/2} = 1.0 h, %F = 78.3

^a Plasma compound concentrations used to calculate pharmacokinetic parameters were obtained after iv administration (1.0 mpk) and po administration (2.0 mpk) of test compounds to male Sprague–Dawley rats (*n* = 2), respectively.

relatively short half life in rat. Together, these results suggest that 3-arylpropionic acids are suitable for further investigation with the aim of identifying highly selective S1P₁ agonists with good overall physical properties and biological activities.

Acknowledgments

We thank Ms. Susan Li and Dr. Larry Colwell for coordinating the rat pharmacokinetics studies.

References and notes

- Hla, T. *Pharmacol. Res.* **2003**, *47*, 401.
- Kiuchi, M.; Adachi, K.; Kohara, T.; Minoguchi, M.; Hanano, T.; Aoki, Y.; Mishina, T.; Arita, M.; Nakao, N.; Ohtsuki, M.; Hoshino, Y.; Teshima, K.; Chiba, K.; Sasaki, S.; Fujita, T. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 2946.
- Dragun, D.; Fritsche, L.; Boehler, T.; Peters, H.; Budde, K.; Neumayer, H. H. *Transplant. Proc.* **2004**, *36*(Suppl. 2S), 544S.
- (a) Hale, J. J.; Yan, L.; Neway, W. E.; Hajdu, R.; Bergstrom, J. D.; Milligan, J. A.; Shei, G.-J.; Chrebet, G. L.; Thornton, R. A.; Card, D.; Rosenbach, M.; Rosen, H.; Mandala, S. *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 4803; (b) Albert, R.; Hinterding, K.; Brinkmann, V.; Guerini, D.; Müller-Hartwig, C.; Knecht, H.; Simeon, C.; Streiff, M.; Wagner, T.; Welzenbach, K.; Zécri, F.; Zollinger, M.; Cooke, N.; Francotte, E. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 5373.
- (a) Mandala, S.; Hajdu, R.; Bergstrom, J.; Quackenbush, E.; Xie, J.; Milligan, J.; Thornton, R.; Shei, G. J.; Card, D.; Keohane, C.; Rosenbach, M.; Hale, J.; Lynch, C. L.; Rupprecht, K.; Parson, W.; Rosen, H. *Science* **2002**, *296*, 346; (b) Brinkmann, V.; Davis, M. D.; Heise, C. E.; Albert, R.; Cottens, S.; Hof, R.; Bruns, C.; Prieschl, E.; Baumruker, T.; Hiestand, P.; Foster, C. A.; Zollinger, M.; Lynch, K. R. *J. Biol. Chem.* **2002**, *277*, 21453.
- (a) Matloubian, M.; Lo, C. G.; Cinamon, G.; Lesneski, M. J.; Xu, Y.; Brinkmann, V.; Allende, M. L.; Proia, R. L.; Cyster, J. G. *Nature* **2004**, *427*, 355; (b) Allende, M. L.; Dreier, J. L.; Mandala, S.; Proia, R. L. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 15396.
- (a) Forrest, M.; Sun, S.-Y.; Hajdu, R.; Bergstrom, J.; Card, D.; Doherty, G.; Hale, J.; Keohane, C.; Meyers, C.; Milligan, J.; Mills, S.; Nomura, N.; Rosen, H.; Rosenbach, M.; Shei, G.-J.; Singer, I. I.; Tian, M.; West, S.; White, V.; Xie, J.; Proia, R. L.; Mandala, S. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2004**, *309*, 758; (b) Sanna, M. G.; Liao, J.; Jo, E.; Alfonso, C.; Ahn, M.-Y.; Peterson, M. S.; Webb, B.; Lefebvre, S.; Chun, J.; Gray, N.; Rosen, H. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 13839.
- Hale, J. J.; Lynch, C. L.; Neway, W.; Mills, S. G.; Hajdu, R.; Keohane, C. A.; Rosenbach, M. J.; Milligan, J. A.; Shei, G.-J.; Parent, S. A.; Chrebet, G.; Bergstrom, J.; Card, D.; Ferrer, M.; Hodder, P.; Strulovici, B.; Rosen, H.; Mandala, S. *J. Med. Chem.* **2004**, *47*, 6662.
- Li, Z.; Chen, W.; Hale, J. J.; Lynch, C. L.; Mills, S. G.; Hajdu, R.; Keohane, C. A.; Rosenbach, M. J.; Milligan, J. A.; Shei, G.-J.; Parent, S. A.; Chrebet, G.; Parent, S. A.; Bergstrom, J.; Card, D.; Forrest, M.; Quackenbush, E. J.; Wickman, L. A.; Vargas, H.; Evans, R. M.; Rosen, H.; Mandala, S. *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 6169.
- Colandrea, V. J.; Legiec, I. E.; Huo, P.; Yan, L.; Hale, J. J.; Mills, S. G.; Bergstrom, J.; Card, D.; Chrebet, G.; Hajdu, R.; Keohane, C. A.; Milligan, J. A.; Rosenbach, M. J.; Shei, G.-J.; Mandala, S. M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, *16*, 2905.
- Yan, L.; Budhu, R.; Huo, P.; Lynch, C.; Hale, J. J.; Mills, S. G.; Hajdu, R.; Keohane, C. A.; Rosenbach, M. J.; Milligan, J. A.; Shei, G.-J.; Chrebet, G.; Bergstrom, J.; Card, D.; Rosen, H.; Mandala, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2006**, submitted.
- Sanchez, T.; Thangada, S.; Wu, M.-T.; Kontos, C. D.; Wu, D.; Wu, H.; Hla, T. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2005**, *102*, 4312.
- Wang, W.; Graeler, M. H.; Goetzl, E. J. *FASEB J.* **2005**, *19*, 1731.
- Kothapalli, R.; Kusmartseva, I.; Loughran, T. P., Jr. *Biochim. Biophys. Acta* **2002**, *1579*, 117.
- Hale, J. J.; Doherty, G.; Toth, L.; Lynch, C. L.; unpublished results.
- Perrill, A. L.; Wang, D.; Bautista, D. L.; Van Brocklyn, J. R.; Lorincz, Z.; Fisher, D. J.; Baker, D. L.; Liliom, K.; Spiegel, S.; Tigyi, G. *J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 39379.
- The coupling of 5-ethoxy-5-oxopentylzinc bromide and phenyl bromide **16** led exclusively to the reduction product under Neigishi's conditions.
- Hale, J. J.; Neway, W.; Mills, S. G.; Hajdu, R.; Keohane, C. A.; Rosenbach, M.; Milligan, J.; Shei, G.-J.; Chrebet, G.; Bergstrom, J.; Card, D.; Koo, G. C.; Koprak, S. L.; Jackson, J. J.; Rosen, H.; Mandala, S. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2004**, *14*, 3351.
- Nikolova, Z.; Hof, A.; Baumlín, Y.; Hof, R. P. *Transplant. Immunol.* **2001**, *8*, 267.