

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 395 083**

51 Int. Cl.:

C07C 59/68 (2006.01)

A61K 31/192 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **26.09.2008 E 08839835 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **11.08.2010 EP 2215044**

54 Título: **Ácidos bifenilcarboxílicos y sus derivados**

30 Prioridad:

17.10.2007 US 980587 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.02.2013

73 Titular/es:

JANSSEN PHARMACEUTICA, N.V. (50.0%)
Turnhoutseweg 30
2340 Beerse, BE y
CELLZOME LIMITED (50.0%)

72 Inventor/es:

HO, CHIH YUNG

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 395 083 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

Ácidos bifenílcarboxílicos y sus derivados

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a compuestos que tienen la Fórmula general I con las definiciones de R₁-R₄ que se proporcionan a continuación, y/o una de sus sales o ésteres.

Además, la invención se refiere al uso de dichos compuestos para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer y a su uso para la modulación de la actividad de la γ secretasa. La presente solicitud se dirige a un subconjunto de un género de compuestos aún por resolver, dado a conocer en la solicitud WO 2006/04555 A1.

Antecedente de la invención

10 La Enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurodegenerativo progresivo marcado por la pérdida de memoria, cognición y estabilidad de la conducta. La EA aqueja a un 6-10% de la población con una edad superior a 65 años y hasta a un 50% con una edad superior a 85 años. Es la causa principal de demencia y la tercera causa principal de muerte después de las cardiopatías y el cáncer. En la actualidad no existe tratamiento eficaz para la EA. El coste neto total relacionado con la EA en los EE.UU. excede de 100.000 millones de dólares anualmente.

15 Sin embargo, la EA no tiene una etiología sencilla. Se ha asociado con algunos factores que incluyen (1) la edad (2) los antecedentes familiares (3) y un traumatismo craneoencefálico; otros factores incluyen toxinas ambientales y un bajo nivel de educación. Las lesiones neuropatológicas específicas en las cortezas límbica y cerebral incluyen ovillos neurofibrilares intracelulares constituidos por proteína tau hiperfosforilada y la deposición extracelular de agregados fibrilares de péptidos beta amiloides (placas amiloides). El componente principal de las placas amiloides son los péptidos beta amiloides (A-beta, Abeta o A β) de diversas longitudes. Una de sus variantes, que es el péptido A β 1-42 (Abeta-42), se considera el agente causante principal de la formación amiloide. Otra variante es el péptido A β 1-40 (Abeta-40). El beta amiloide es el producto proteolítico de una proteína precursora, la proteína precursora beta amiloide (beta-APP o APP).

25 Se han relacionado las formas dominantes autosómicas familiares de aparición temprana de la EA con mutaciones sin sentido en la proteína precursora β amiloide (β -APP o APP) y en las proteínas presenilina 1 y 2. En algunos pacientes, se han correlacionado las formas de aparición tardía de la EA con un alelo específico del gen de la apolipoproteína E (ApoE), y, más recientemente, el hallazgo de una mutación en la alfa2-macroglobulina, que puede relacionarse con al menos un 30% de la población con EA. A pesar de esta heterogeneidad, todas las formas de la EA presentan similares hallazgos patológicos. El análisis genético ha proporcionado las mejores pistas para una solución terapéutica lógica de la EA. Todas las mutaciones encontradas hasta la fecha afectan a la producción cuantitativa o cualitativa de los péptidos amiloidogénicos conocidos como péptidos Abeta (A β), específicamente A β 42, y han proporcionado un fuerte respaldo a la "hipótesis de la cascada amiloide" de la EA (Tanzi y Bertram, 2005, Cell 120, 545). La probable conexión entre la generación del péptido A β y la patología de la EA refuerza la necesidad de una mejor comprensión de los mecanismos de producción de A β y garantiza vehementemente una solución terapéutica en los niveles moduladores del A β .

30 La liberación de los péptidos A β está modulada por al menos dos actividades proteolíticas denominadas secretasa β -secretasa y γ -secretasa que escinden el péptido A β en el extremo N (enlace Met-Asp) y el extremo C (restos 37-42), respectivamente. En la ruta secretora, existe evidencia de que la β -secretasa escinde en primer lugar, conduciendo a la secreción de s-APP β (s β) y a la retención de un fragmento carboxiterminal unido a membrana de 11 kDa (CTF). Se cree que este último da lugar a los péptidos A β tras la escisión mediante la γ -secretasa. La cantidad de la isoforma más larga, A β 42, aumenta selectivamente en pacientes que tienen algunas mutaciones en una proteína concreta (presenilina), y estas mutaciones se han correlacionado con la enfermedad de Alzheimer familiar de aparición temprana. Por tanto, muchos investigadores creen que A β 42 es el principal culpable de la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer.

45 Ahora es evidente que la actividad de la secretasa γ no se puede adscribir a una única proteína concreta, pero se asocia de hecho con un conjunto de diferentes proteínas.

50 La actividad de la secretasa gamma reside en un complejo multiproteína que contiene al menos cuatro componentes: el heterodímero presenilina (PS), la nicastrina, aph-1 y pen-2. El heterodímero PS consta de fragmentos de PS amino y carboxiterminales generados mediante endoproteólisis de la proteína precursora. Los dos aspartatos del centro catalítico se encuentran en la interfase de este heterodímero. Se ha sugerido recientemente que la nicastrina sirve como receptor del sustrato de la secretasa gamma. Las funciones del resto de miembros de la secretasa gamma son desconocidas, pero todas se requieren para la actividad (Steiner, 2004. Curr. Alzheimer Research 1(3): 175-181).

55 De esta manera, aunque el mecanismo molecular de la segunda etapa de escisión ha permanecido esquivo hasta la actualidad, el complejo de la γ -secretasa se ha convertido en uno de los objetivos principales en la investigación de compuestos para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

Se han propuesto diversas estrategias que toman la secretasa gamma como blanco terapéutico de la enfermedad

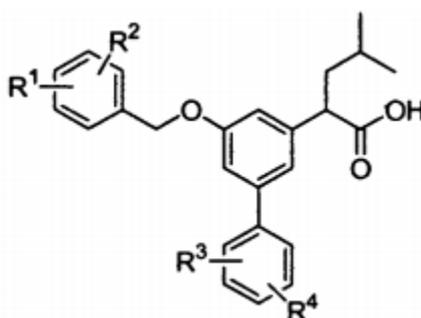
de Alzheimer, que varían desde tomar como blancodirectamente el centro catalítico, desarrollar inhibidores y moduladores específicos del sustrato de la actividad de la secretasa gamma. (Marjaux y col., 2004. Drug Discovery Today: Therapeutic Strategies, Volumen 1, 1-6). De acuerdo con esto, se han descrito una variedad de compuestos que tienen secretasas como dianas (Lamer, 2004. Secretases as therapeutics targets in Alzheimer's disease: patents 2000 - 2004. Expert Opin. Ther. Patents 14, 1403-1420).

De hecho, este hallazgo fue respaldado recientemente por estudios bioquímicos en los que se mostró el efecto de algunos AINE sobre la γ -secretasa (Weggen y col (2001) Nature 414, 6860, 212 y documentos WO 01/78721 y US 2002/0128319; Morihara y col (2002) J. Neurochem. 83, 1009; Eriksen (2003) J. Clin. Invest. 112, 440). Las potenciales limitaciones de utilizar los AINE para evitar o tratar la EA son su actividad inhibidora de las enzimas Cox, que puede conducir a efectos secundarios no deseados, y su baja penetración en el SNC (Peretto y col., 2005, J. Med. Chem. 48, 5705-5720).

De esta manera, existe una fuerte necesidad de compuestos novedosos que modulen la actividad de la γ -secretasa que abran nuevas posibilidades para el tratamiento de la enfermedad d Alzheimer. El objeto de la presente invención es proporcionar dichos compuestos.

Resumen de la invención

La invención se refiere a los compuestos que se muestran en la Fórmula I.



(Fórmula I)

en la que

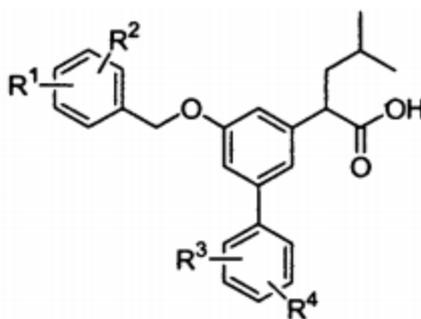
- R¹ es F, Cl, o CF₃;
- R² es F, Cl, o CF₃;
- R³ es F, Cl, o CF₃
- R⁴ es H, F, Cl, o CF₃;

y sus solvatos, hidratos, ésteres, y sales farmacéuticamente aceptables.

El presente subgénero de compuestos muestra un aumento inesperado en la potencia y la eficacia in vivo. Específicamente, el aumento en la potencia y la eficacia se produce cuando R¹ y R² son grupos electroatrayentes, tales como F, Cl o CF₃, y cuando el carbono α del carboxilato está sustituido con sec-butilo.

Descripción detallada de la invención

La invención se refiere a los compuestos que se muestran en la Fórmula I.



(Fórmula I)

en la que:

R¹ es F, Cl, o CF₃;
 R² es F, Cl, o CF₃;
 R³ es F, Cl, o CF₃
 R⁴ es H, F, Cl, o CF₃;

5 y sus solvatos, hidratos, ésteres, y sales farmacéuticamente aceptables.

En una realización de la invención:

10 R¹ es F;
 R² es F, Cl, o CF₃;
 R³ es CF₃;
 R⁴ es H, F, Cl, o CF₃;

y sus solvatos, hidratos, ésteres, y sales farmacéuticamente aceptables.

Otra realización de la invención es un compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en:

15 Ácido (R)-2-[5-(3,5-difluoro-benciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoico
 Ácido (S)-2-[5-(3,5-difluoro-benciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoico,
 Ácido 2-[5-(4-fluoro-2-trifluorometil-benciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoico,
 Ácido 2-[4'-cloro-5-(3,5-difluoro-benciloxi)-3'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoico,

y sus solvatos, hidratos, ésteres, y sales farmacéuticamente aceptables.

20 Un experto en la técnica reconocerá que los compuestos de Fórmula I pueden tener uno o más átomos de carbono asimétrico en su estructura. Se pretende que la presente invención incluya en su alcance formas enantioméricas simples de los compuestos, mezclas racémicas, y mezclas de enantiómeros en las que está presente un exceso enantiomérico.

Algunos de los compuestos de las invenciones y/o sus sales o ésteres existirán en diferentes formas estereoisoméricas. Todas estas formas son sujetos de la invención.

25 Se describen a continuación sales a modo de ejemplo de los compuestos de acuerdo con la invención que se incluyen en el presente documento. No se pretende que la lista de diferentes sales indicada a continuación sea completa y limitante.

30 Los compuestos de acuerdo con la invención que contienen uno o más grupos ácidos se pueden usar de acuerdo con la invención, por ejemplo, en forma de sus sales de metales alcalinos, sales de metales alcalinotérreos o sales de amonio. Los ejemplos más precisos de dichas sales incluyen sales de sodio, sales de potasio, sales de calcio, sales de magnesio o sales con amonio o aminas orgánicas tales como, por ejemplo, etilamina, etanolamina, trietanolamina o aminoácidos.

El término "farmacéuticamente aceptable" significa aprobado por una agencia reguladora tal como la EMEA (Europa) y/o la FDA (EE.UU.) y/o cualquier otra agencia reguladora nacional para uso en animales, preferiblemente en seres humanos.

35 Las respectivas sales de los compuestos de acuerdo con la invención se pueden obtener mediante procedimientos a medida que conocen las personas expertas en la técnica, por ejemplo, poniendo en contacto estas con una base orgánica o inorgánica en un disolvente o dispersante, o mediante intercambio catiónico con otras sales.

40 Además la invención incluye todas las sales de los compuestos de acuerdo con la invención que, debido a la baja compatibilidad fisiológica, no sean directamente adecuadas para el uso en sustancias farmacéuticas pero que se pueden usar, por ejemplo, como intermedios de reacciones químicas o en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables o que podrían ser adecuadas para estudiar la actividad moduladora de la γ -secretasa de un compuesto de acuerdo con la invención en cualquier manera adecuada, tal como cualquier ensayo in vitro adecuado.

La presente invención incluye además todos los solvatos de los compuestos de acuerdo con la invención.

45 La presente invención incluye además los derivados/profármacos (incluyendo sus sales) de los compuestos de acuerdo con la invención que contienen grupos fisiológicamente tolerables y escindibles y que se metabolizan en un compuesto de acuerdo con la invención en animales, preferiblemente mamíferos, lo más preferible seres humanos.

La presente invención incluye además los metabolitos de los compuestos de acuerdo con la invención.

50 El término "metabolitos" se refiere a todas las moléculas derivadas de cualquiera de los compuestos de acuerdo con la invención dentro una célula u organismo, preferiblemente de mamífero.

Preferiblemente, el término “metabolitos” se refiere a moléculas que difieren de cualquier molécula que está presente en cualquiera de dicha célula u organismo en condiciones fisiológicas.

La estructura de los metabolitos de los compuestos de acuerdo con la invención será evidente para cualquier persona experta en la técnica, usando los diversos procedimientos apropiados.

- 5 Los compuestos de acuerdo con la fórmula general (I) se pueden preparar de acuerdo con los procedimientos publicados en la bibliografía o mediante procedimientos análogos.

Dependiendo de las circunstancias del caso individual, para evitar reacciones secundarias durante la síntesis de un compuesto de la Fórmula general (I), puede ser necesario o ventajoso bloquear temporalmente los grupos funcionales introduciendo grupos protectores y desprotegerlos en una etapa posterior de la síntesis, o introducir grupos funcionales en la forma de grupos precursores y en una etapa posterior convertirlos en los grupos funcionales deseados. La persona experta en la técnica conoce las estrategias sintéticas, los grupos protectores y los grupos precursores adecuados.

10 Si se desea, los compuestos de fórmula (I) se pueden purificar mediante procedimientos de purificación a medida, por ejemplo, mediante recristalización o cromatografía. Los materiales de partida para la preparación de los compuestos de fórmula (I) están comercialmente disponibles o se pueden preparar de acuerdo a o de manera análoga a los procedimientos de la bibliografía.

15 Estos pueden servir como base para la preparación del resto de compuestos de acuerdo con la invención mediante varios procedimientos bien conocidos por la persona experta en la técnica.

20 La invención también se refiere a un compuesto de la invención para uso como un medicamento. Los compuestos son como se han definido anteriormente, además con respecto al medicamento, las realizaciones que se describen a continuación, por ejemplo, la formulación, aplicación y combinación, se aplican también a este aspecto de la invención.

En particular, los compuestos de acuerdo con la invención son adecuados para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

- 25 Se describen adicionalmente a continuación los detalles que se refieren a dicho uso.

Los compuestos se pueden usar para la modulación de la actividad de la γ -secretasa.

Tal como se usa en el presente documento, el término “modulación de la actividad de la γ -secretasa” se refiere a un efecto sobre el procesamiento de APP por el complejo de la γ -secretasa. Preferiblemente, esto se refiere a un efecto en el que la tasa global de procesamiento de APP permanece esencialmente análoga a la existente sin la aplicación de dichos compuestos, pero en el que se han variado las cantidades relativas de los productos procesados; más preferiblemente, de tal manera que la cantidad de péptido A β 42 producida se reduce. Se puede producir, por ejemplo, una especie diferente de Abeta (por ejemplo, Abeta-38 u otra especie de péptido Abeta o una secuencia de aminoácido más corta en vez de Abeta-42) o las cantidades relativas de los productos son diferentes (por ejemplo, la relación de Abeta-40 a Abeta-42 está cambiada, preferiblemente aumentada).

35 Se puede medir, por ejemplo, la actividad de la secretasa gamma determinando el procesamiento de APP, por ejemplo determinando los niveles producidos de las especies del péptido Abeta, lo más importante, los niveles de Abeta-42 (véase sección de Ejemplos, más abajo).

40 Se ha demostrado anteriormente que el complejo de la γ -secretasatambién está implicado en el procesamiento de la proteína Notch. Notch es una proteína de señalización que tiene un papel crucial en los procesos de desarrollo (revisado por ejemplo en Schweisguth F (2004) Curr. Biol. 14, R129).

Con respecto al uso de dichos compuestos para la modulación de la actividad de la γ -secretasa en terapia, parece particularmente ventajoso no interferir con la actividad de procesamiento de Notch de la actividad de la γ -secretasa a fin de evitar posibles efectos secundarios indeseados.

45 De esta manera, se prefieren compuestos que no muestren un efecto sobre la actividad de procesamiento de Notch del complejo de la γ -secretasa.

Comprendido en el significado de la invención, “efecto sobre la actividad de procesamiento de Notch” incluye una inhibición o una activación de la actividad de procesamiento de Notch por algún factor.

50 Se define un compuesto como que no tiene un efecto sobre la actividad de procesamiento de Notch, si dicho factor es más pequeño que 20, preferiblemente más pequeño que 10, más preferiblemente, más pequeño que 5, lo más preferible, más pequeño que 2, en el respectivo ensayo que se describe en Shimizu y col (2000) Mol. Cell. Biol, 20: 6913 a una concentración de 30 μ M.

- 5 Dicha modulación de la γ -secretasa se puede llevar a cabo, por ejemplo, en animales tales como mamíferos. Los mamíferos a modo de ejemplo son ratones, ratas, cobayas, monos, perros, gatos. La modulación también se puede llevar a cabo en seres humanos. En una realización particular de la invención, dicha modulación se lleva a cabo in vitro o en cultivo celular. Como sabe la persona experta en la técnica, están disponibles algunos ensayos in vitro y de cultivo celular.
- Los ensayos a modo de ejemplo para medir la producción de fragmentos de APP del extremo C en líneas celulares o animales transgénicos mediante análisis de transferencia Western incluyen, pero no se limitan a, los descritos en Yan y col., 1999, Nature 402, 533-537.
- 10 Se describe en el documento WO-03/008635 un ejemplo de un ensayo de γ -secretasa in vitro. En este ensayo, un sustrato peptídico adecuado se pone en contacto con una preparación de γ -secretasa y se mide la capacidad de escindir el sustrato.
- Se pueden determinar las concentraciones de los diversos productos de escisión de la γ -secretasa (los péptidos A β) mediante diversos procedimientos conocidos por una persona experta en la técnica. Los ejemplos de dichos procedimientos incluyen la determinación de los péptidos mediante espectrometría de masas o la detección mediante anticuerpos.
- 15 Los ensayos a modo de ejemplo útiles para la caracterización del perfil de los péptidos A β solubles en medios celulares y fluidos biológicos cultivados incluyen, pero no se limitan a, los descritos en Wang y col., 1996, J. Biol. Chem. 271, 31894-31902. En este ensayo, se usa una combinación de inmunoprecipitación de péptidos Abeta con anticuerpos específicos y la detección y cuantificación de las especies de péptidos mediante espectrometría de masas de tiempo de vuelo mediante desorción/ionización por láser asistida por matriz).
- 20 Los ensayos a modo de ejemplo útiles para medir la producción de los péptidos Abeta-40 y Abeta-42 mediante ELISA incluyen, pero no se limitan a, los descritos en Vassar y col, 1999, Science 286, 735-741. Se da a conocer información adicional por ejemplo en N. Ida y col. (1996) J. Biol. Chem. 271, 22908, y M. Jensen y col. (2000) Mol. Med. 6, 291. Por ejemplo, están disponibles anticuerpos adecuados en The Genetics Company, Inc., Suiza. Los kits basados en anticuerpos están también disponibles en Innogenetics, Bélgica.
- 25 Las células que se pueden emplear en dichos ensayos incluyen células que expresan endógenamente el complejo de la γ -secretasa y células transfectadas que expresan de forma transitoria o estable algunos o todos los interactores del complejo de la γ -secretasa. La persona experta conoce numerosas líneas celulares adecuadas para dichos ensayos. Son particularmente adecuadas las células y líneas celulares de origen neuronal o glial. Además, se pueden usar células y tejidos del cerebro, así como homogenizados y preparaciones de membrana de los anteriores (Xia y col., 1998, Biochemistry 37, 16465-16471).
- Por ejemplo, se pueden llevar a cabo dichos ensayos para estudiar el efecto de los compuestos de acuerdo con la invención en diferentes condiciones y configuraciones experimentales.
- 35 Además, se pueden llevar a cabo dichos ensayos como parte de estudios funcionales sobre el complejo de la γ -secretasa.
- Por ejemplo, tanto uno como más interactores (ya sea en su forma natural o conteniendo algunas mutaciones y/o modificaciones) del complejo de la γ -secretasa de un animal, preferiblemente un mamífero, más preferiblemente seres humanos, pueden expresarse en algunas líneas celulares y se puede estudiar el efecto de los compuestos de acuerdo con la invención.
- 40 Las formas mutadas del(de los) interactor(es) usado(s) pueden ser tanto formas mutadas que se han descrito en algunos animales, preferiblemente mamíferos, más preferiblemente seres humanos, como formas mutadas que no se han descrito anteriormente en dichos animales.
- Las modificaciones de los interactores del complejo de la secretasa γ incluyen tanto cualquier modificación fisiológica de dichos interactores como otras modificaciones que se han descrito como modificaciones de proteínas en un sistema biológico.
- 45 Los ejemplos de dichas modificaciones incluyen, pero no se limitan a, glicosilación, fosforilación, prenilación, miristilación y farnesilación.
- Además, los compuestos de acuerdo con la invención se pueden usar para la preparación de un medicamento para la modulación de la actividad de la γ -secretasa.
- 50 La invención se refiere además al uso de dichos compuestos para la preparación de un medicamento para la modulación de la actividad de la γ -secretasa.
- La actividad de la γ -secretasa se puede modular de diferentes maneras, es decir, dando como resultado diferentes perfiles de los diversos péptidos A β .

Se prefieren los usos de un compuesto para la modulación de la actividad de la γ -secretasa que dan como resultado una disminución en la cantidad relativa de péptidos A β 42 producida.

Las respectivas dosificaciones, rutas de administración, formulaciones, etc, se dan a conocer adicionalmente a continuación.

5 La invención se refiere además al uso de los compuestos de acuerdo con la invención para el tratamiento de una enfermedad asociada con un nivel de producción elevado de A β 42. La enfermedad con elevados niveles de producción y deposición de péptido Abeta en el cerebro es de forma típica la enfermedad de Alzheimer (EA), angiopatía mieloide cerebral, demencia multi-infarto, demencia pugilística o síndrome de Down, preferiblemente EA.

10 Tal como se usa en el presente documento, se pretende que el término "tratamiento" se refiera a todos los procesos, en los que puede haber un retraso, interrupción, detención, o parada de la evolución de una enfermedad, pero no indica necesariamente una eliminación total de los síntomas.

15 Tal como se usa en el presente documento, el término "elevado nivel de producción de A β 42" se refiere a una dolencia en la que la tasa de producción del péptido A β 42 está aumentada debido a un aumento global en el procesamiento de APP o, preferiblemente, se refiere a una dolencia en la que la producción del péptido A β 42 está aumentada debido a una modificación del perfil de procesamiento de APP en comparación con la APP natural y una situación no patológica.

Como se ha reseñado anteriormente, dicho nivel elevado de A β 42 es un hito para los pacientes que desarrollan o padecen la enfermedad de Alzheimer.

20 Una ventaja de los compuestos o una parte de los compuestos de la presente invención puede basarse en su penetración potenciada en el SNC.

Además, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la invención en una mezcla con un vehículo inerte.

25 En una realización preferida, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la invención en una mezcla con un vehículo inerte, en el que dicho vehículo inerte es un vehículo farmacéutico.

30 El término "vehículo" se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente, o vehículo con el que se administra el compuesto. Dichos vehículos farmacéuticos pueden ser líquidos estériles, tal como agua y aceites, incluyendo los derivados del petróleo, o de origen animal, vegetal o sintético, incluyendo pero sin limitarse a aceite de cacahuete, aceite de soja, aceite mineral, aceite de sésamo y similares. El agua es un vehículo preferido cuando la composición farmacéutica se administra oralmente. Se prefieren como vehículos solución salina y dextrosa acuosa cuando la composición farmacéutica se administra por vía intravenosa. Se emplean preferiblemente soluciones salinas y dextrosa acuosa y soluciones de glicerol como vehículos líquidos para soluciones inyectables. Los excipientes farmacéuticos adecuados incluyen almidón, glucosa, lactosa, sacarosa, gelatina, malta, arroz, harina, creta, gel de sílice, estearato de sodio, monoestearato de glicerol, talco, cloruro de sodio, leche desnatada desecada, glicerol, propileno, glicol, agua, etanol y similares. La composición, si se desea, puede contener también cantidades menores de agentes humectantes o emulsificantes, o agentes tamponantes del pH. Estas composiciones pueden tomar la forma de soluciones, suspensiones, emulsiones, comprimidos, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación continua y similares. La composición se puede formular como un supositorio, con aglutinantes y vehículos tradicionales tales como triglicéridos. La formulación oral puede incluir vehículos normalizados tales como calidades farmacéuticas de manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, sacarina sódica, celulosa, carbonato de magnesio, etc. Se describen ejemplos de vehículos farmacéuticos adecuados en "Remington's Pharmaceutical Sciences" de E.W. Martin. Dichas composiciones contendrán una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto, preferiblemente en forma purificada, junto con una cantidad adecuada de vehículo con el fin de proporcionar la forma para la administración adecuada al paciente. La formulación debe adaptarse al modo de administración.

45 Los compuestos de acuerdo con la invención y sus sales farmacéuticamente aceptables, opcionalmente en combinación con otros compuestos farmacéuticamente activos, son adecuados para tratar o evitar la enfermedad de Alzheimer o sus síntomas. Dichos compuestos adicionales incluyen fármacos potenciadores de la cognición tales como inhibidores de la acetilcolinesterasa (por ejemplo, Donepezil, Tacrina, Galantamina, Rivastigmina), antagonistas de NMDA (por ejemplo, Memantina), inhibidores de PDE4 (por ejemplo, Ariflo) o cualquier otro fármaco conocido por una persona experta en la técnica adecuado para tratar o evitar la enfermedad de Alzheimer. Dichos compuestos incluyen también fármacos disminuidores del colesterol tales como estatinas (por ejemplo, simvastatina). Estos compuestos se pueden administrar a animales, preferiblemente a mamíferos, y en particular a seres humanos, como sustancias farmacéuticas por sí mismas, en mezclas entre sí o en la forma de preparaciones farmacéuticas.

55 Se conocen y se pueden usar diversos sistemas de administración para administrar un compuesto de la invención para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer o para la modulación de la actividad de la γ -secretasa, por ejemplo, encapsulación en liposomas, micropartículas, y microcápsulas:

Si no se administra directamente en el sistema nervioso central, preferiblemente el cerebro, es ventajoso seleccionar y/o modificar los procedimientos de administración de tal manera que permitan al compuesto farmacéutico cruzar la barrera hematoencefálica.

5 Los procedimientos de introducción incluyen, pero no se limitan a, las rutas intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, epidural, y oral.

Los compuestos se pueden administrar mediante cualquier ruta conveniente, por ejemplo mediante infusión, mediante inyección en bolo, mediante absorción a través de los revestimientos epitelial o mucocutáneo, y se pueden administrar junto con otras sustancias biológicamente activas.

10 La administración puede ser sistémica o local. Además, puede ser deseable introducir las composiciones farmacéuticas de la invención en el sistema nervioso central mediante cualquier ruta adecuada, incluyendo la inyección intraventricular e intratecal; se puede facilitar la inyección intraventricular mediante un catéter intraventricular, por ejemplo, conectado a un depósito, tal como un depósito de Ommaya. Se puede emplear también la administración pulmonar, por ejemplo, mediante el uso de un inhalador o nebulizador, y formulación con un agente formador de aerosoles.

15 En otra realización, el compuesto se puede administrar en una vesícula, en particular un liposoma (Langer (1990) Science 249, 1527).

20 En otra realización más, el compuesto se puede administrar mediante un sistema de liberación controlada. En una realización, se puede usar una bomba (Sefton (1987) CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14, 201; Buchwald y col. (1980) Surgery 88, 507; Saudek y col. (1989) N. Engl. J. Med. 321, 574). En otra realización, se pueden usar materiales poliméricos (Ranger y Peppas (1983) Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23, 61; Levy y col. (1985) Science 228, 190; During y col. (1989) Ann. Neurol. 25, 351; Howard y col. (1989) J. Neurosurg. 71, 858). En otra realización más, se puede colocar un sistema de liberación controlada en proximidad de la diana terapéutica, es decir, el cerebro, requiriéndose de esta manera sólo una fracción de la dosis sistémica (por ejemplo, Goodson, 1984, En: Medical Applications of Controlled Release, más arriba, Vol. 2, 115). Se describen otros sistemas de liberación controlada en la revisión de Langer (1990, Science 249, 1527).

A fin de seleccionar una forma de administración adecuada, la persona experta en la técnica considerará también las rutas de administración que se han seleccionado para otros fármacos contra el alzhéimer conocidos.

30 Por ejemplo, Aricept/Donepezil y Cognex/Tacrina (todos inhibidores de la acetilcolinesterasa) se están tomando por vía oral, Axura/Memantina (un antagonista del receptor de NMDA) se han presentado como comprimidos/líquido y como una solución i.v.

Además, la persona experta en la técnica tendrá en cuenta los datos disponibles con respecto a las rutas de administración de los miembros de la familia AINE en ensayos clínicos y otros estudios que investigan su efecto sobre la enfermedad de Alzheimer.

35 A fin de seleccionar la dosificación adecuada, la persona experta en la técnica escogerá una dosificación que se haya demostrado que no sea tóxica en estudios preclínicos y/o clínicos y que pueda estar de acuerdo con los valores proporcionados de antemano, o que pueda desviarse de estos.

40 La dosis precisa que se va a emplear en la formulación dependerá también de la ruta de administración, y de la gravedad de la enfermedad o del trastorno, y deberá decidirse de acuerdo con la opinión del especialista y las circunstancias de cada paciente. Sin embargo, los intervalos de dosificación adecuados para la administración intravenosa son generalmente de aproximadamente 20-500 microgramos de compuesto activo por kilogramo de peso corporal. Los intervalos de dosificación adecuados para la administración intranasal son generalmente de aproximadamente 0,01 mg/kg de peso corporal a 1 mg/kg de peso corporal. Se pueden extrapolar las dosis eficaces a partir de las curvas de dosis-respuesta derivadas en sistemas de ensayo de modelos in vitro o animales.

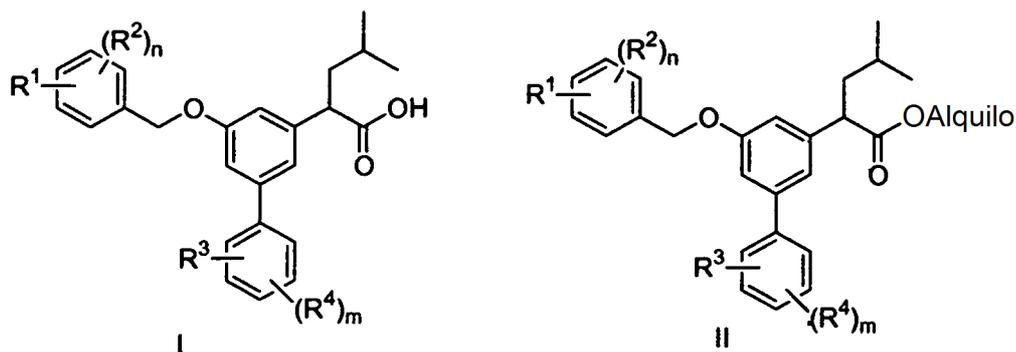
45 Un modelo animal a modo de ejemplo es la cepa "Tg2576" de ratón transgénico que contiene una forma APP695 con la doble mutación KM670/ct1NL. Como referencia, véanse por ejemplo la patente US5877399 y Hsiao y col. (1996) Science 274, 99 y también Kawarabayahi T (2001) J. Neurosci. 21, 372; Frautschy y col. (1998) Am. J. Pathol. 152, 307; Irizarry y col. (1997) J. Neuropathol. Exp. Neurol. 56, 965; Lehman y col. (2003) Neurobiol. Aging 24, 645. La persona experta en la técnica tiene disponibles datos sustanciales de diversos estudios, que enseñan a la persona experta a escoger la dosificación adecuada para la pauta terapéutica seleccionada.

50 Se han publicado numerosos estudios en los que se describen los efectos de las moléculas sobre la actividad de la secretasa γ . Los estudios a modo de ejemplo son Lim y col. (2001) Neurobiol. Aging 22, 983; Lim y col. (2000) J Neurosci. 20, 5709; Weggen y col. (2001) Nature 414, 212; Eriksen y col. (2003) J Clin Invest. 112, 440; Yan y col. (2003) J Neurosci. 23, 7504.

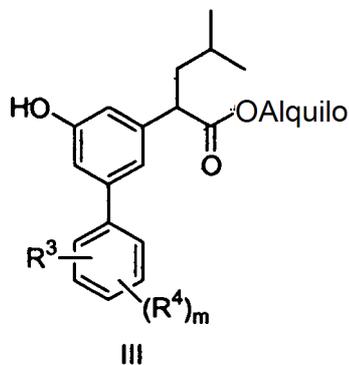
Descripción de la síntesis general

La siguiente descripción general es únicamente a título ilustrativo y de ninguna forma quiere significar que limite la invención.

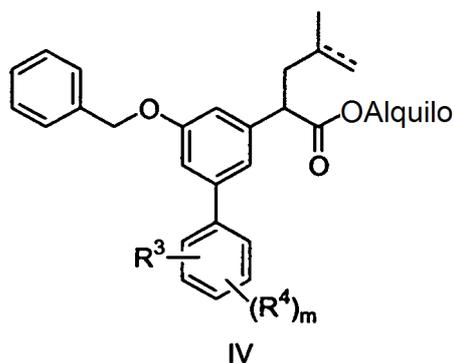
- 5 El compuesto de Fórmula I en la que R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 se han definido como en la Fórmula I, se puede obtener mediante hidrólisis del éster II en condiciones normalizadas de hidrólisis ácida o básica, que incluyen la reacción con NaOH, a temperatura ambiente, durante algunas horas, en una mezcla disolvente adecuada, tal como agua, tetrahidrofurano (THF), y metanol.



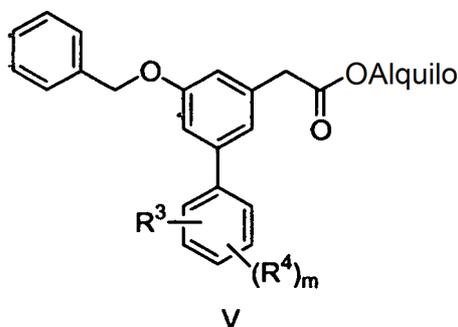
- 10 Se puede obtener el compuesto II, en el que alquilo incluye metilo y etilo, mediante alquilación del compuesto III con bromuros de bencilo, cloruros de bencilo, tosilatos de bencilo, o mesilatos de bencilo en condiciones de bencilación típicas, por ejemplo, en DMF o THF en presencia de base, tal como carbonato de potasio o carbonato de cesio con intervalos de temperatura entre 25-120 grados C. Se puede obtener también el compuesto II mediante reacción del compuesto III con un cloruro de bencilo en condiciones de Mitsunobu, por ejemplo, en THF o tolueno en presencia
- 15 de azodicarboxilato de dietilo y trifenilfosfina.



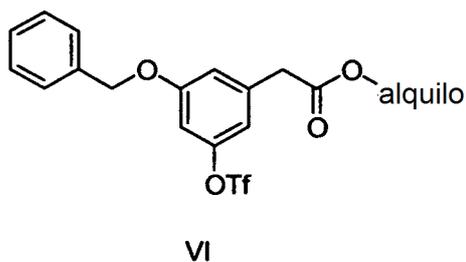
- 20 El compuesto III se puede preparar por desbencilación del compuesto IV mediante hidrogenación en alcohol, por ejemplo, MeOH o EtOH en presencia de Pd-C. La desbencilación se puede conseguir también con otros procedimientos, tales como BBr_3 en DCM, NaCN en DMSO/ 120-200° C o LiCN en DMF/ 120-200° C.



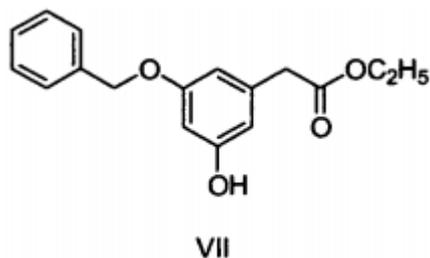
5 El compuesto IV se puede preparar a partir de la alquilación del compuesto V tanto con bromuro de sec-butilo como con bromuro de sec-butenilo. El tratamiento del compuesto V en THF u otro disolvente aprótico con una base, por ejemplo, bis(trimetilsilil) amida de litio, bis(trimetilsilil) amida de sodio, o diisopropilamida de litio a -78°C , seguido por la adición de bromuro de sec-butilo o bromuro de sec-butenilo, da como resultado el compuesto alquilado IV.



El compuesto V se puede preparar a partir del compuesto VI mediante una reacción de acoplamiento con un ácido arilborónico en condiciones de Suzuki de una solución acuosa de carbonato de sodio en DME en presencia de $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$.

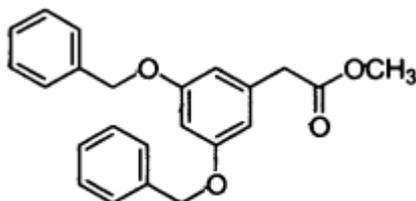


10 El compuesto intermedio VI se puede preparar a partir del compuesto VII con anhídrido trifluorometanosulfónico en DCM en presencia de un equivalente de piridina a 0°C .



15 El éster fenólico intermedio VII se puede preparar a partir de la monodesbencilación del compuesto VII. Se puede conseguir la mono-desbencilación selectiva del compuesto VII mediante el tratamiento con 1,1 equivalentes de base, por ejemplo, hidróxido de sodio o hidróxido de potasio, en una solución de etanol o metanol en presencia de Pd-C

como catalizador en atmósfera de hidrógeno (< 60 psi; 413,7 kPa) en un agitador Parr. Se deja proseguir la reacción hasta que se consume un equivalente de hidrógeno.

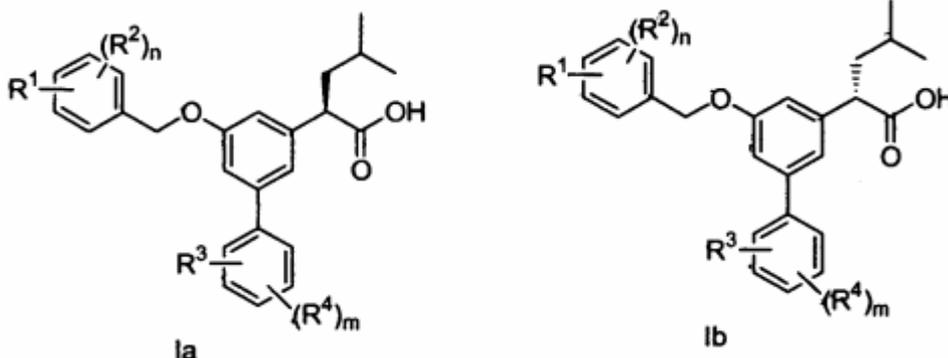


VIII

5 El intermedio VII se puede preparar fácilmente a partir de la reacción del éster metílico del ácido 3,5-dihidroxifenil acético (comercialmente disponible) con bromuro de bencilo y carbonato de potasio en DMF a temperatura ambiente.

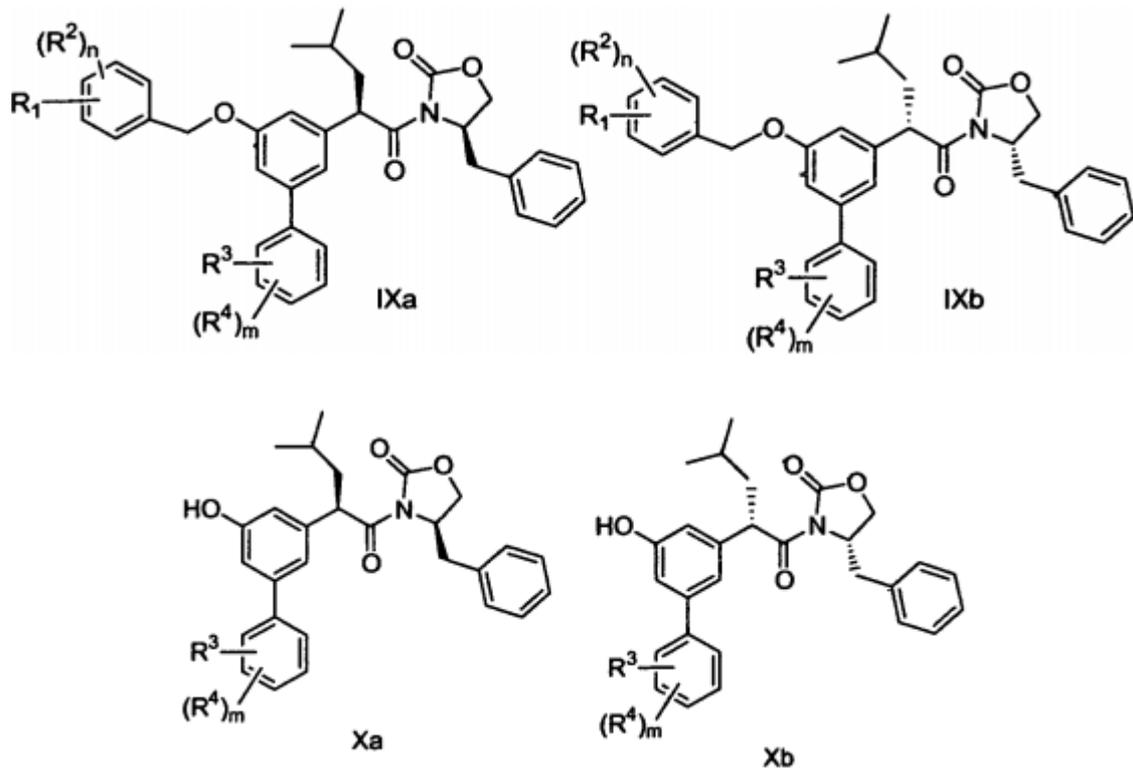
10 El compuesto I tiene un centro quiral (respecto del grupo carboxílico), y puede existir como uno de dos enantiómeros (o una de sus mezclas, en las que puede estar presente o no un exceso enantiomérico). Se muestran los enantiómeros Ia (enantiómero R) e Ib (enantiómero S). Los enantiómeros puros Ia e Ib se obtienen mediante separación quiral usando una columna quiral. Los enantiómeros Ia y Ib también se pueden separar mediante resoluciones a través de la formación de sales de amina quirales usando recristalizaciones fraccionadas. Los enantiómeros Ia y Ib también se pueden obtener a partir de la resolución cinética del racemato de los correspondientes ésteres utilizando enzimas lipasas, por ejemplo AmanoAk, Amano lipasa PS, Amano lipasa A, Amano lipasa M, Amano lipasa F-15 Amano lipasa G (de Biocatalytics Inc) en disolventes orgánicos acuosos, por ejemplo, DMF acuoso, DMSO, soluciones acuosas de t-butil-etil éter o triton X-100.

15 Se pueden preparar ambos enantiómeros del compuesto I a partir de síntesis quiral. Los compuestos Ia e Ib se pueden obtener a partir de la eliminación de los grupos auxiliares quirales procedentes de los compuestos IXa e IXb respectivamente con hidróxido de litio en THF acuoso en presencia de peróxido de hidrógeno.

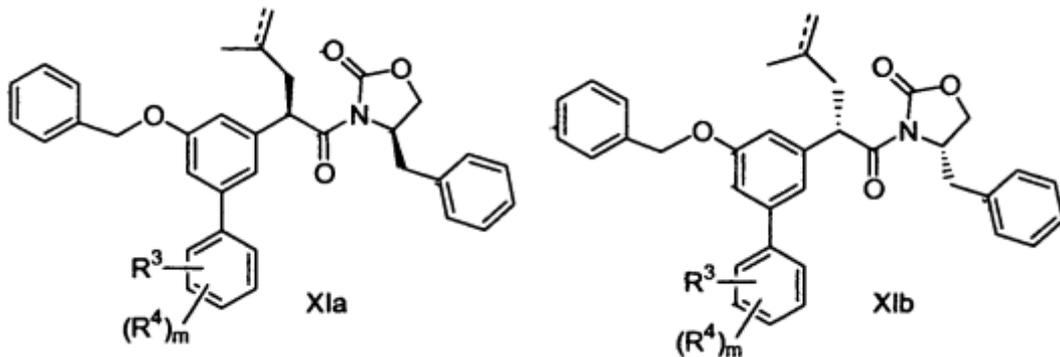


20 Los compuestos IXa e IXb se pueden obtener mediante el acoplamiento de los compuestos Xa y Xb con bromuros, cloruros o tosilatos o mesilatos de bencilo en condiciones básicas típicas, por ejemplo, en DMF o THF en presencia de una base, por ejemplo, carbonato de potasio o carbonato de cesio a intervalos de temperatura entre 25-120 grados C. Los compuestos IXa y IXb se pueden obtener también mediante la reacción de acoplamiento de los compuestos Xa y Xb con alcoholes bencílicos en condiciones de Mitsunobu, por ejemplo, en THF o tolueno en presencia de azodicarboxilato de dietilo y trifenilfosfina.

25



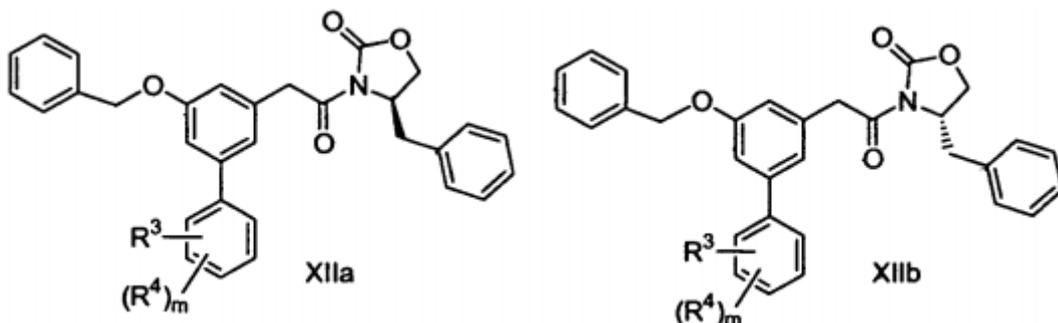
Los compuestos Xa y Xb se pueden preparar a partir de las desbencilación de los compuestos Xia y XIb respectivamente mediante hidrogenación en un disolvente alcohólico, por ejemplo, MeOH o EtOH, en presencia de Pd-C.



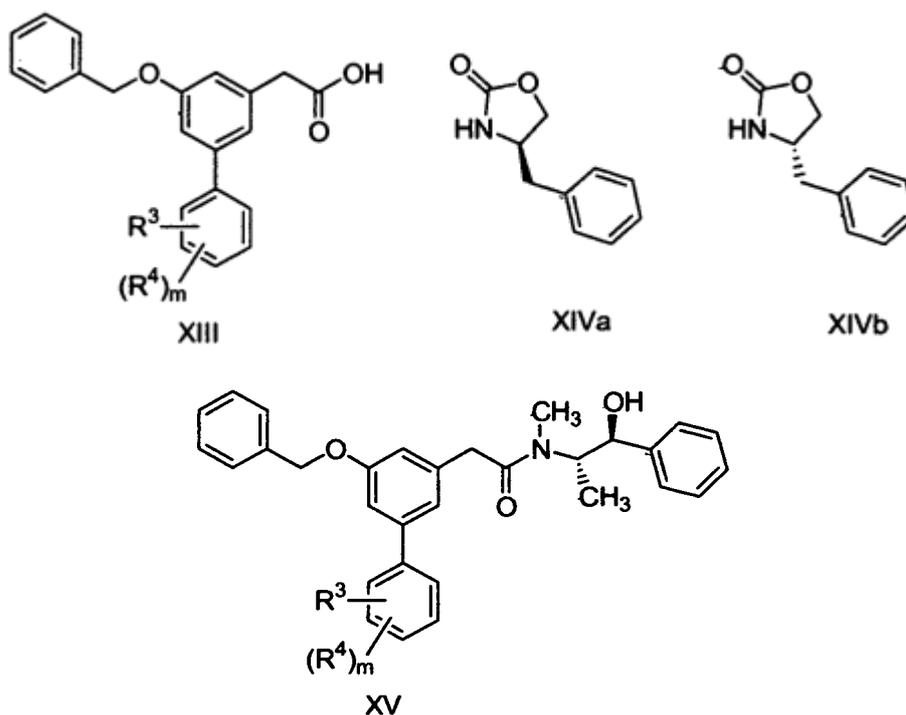
5

Los compuestos Xia y XIb se pueden preparar a partir de la alquilación de los compuestos XIIa y XIIb respectivamente con bromuro de sec-butilo o bromuro de sec-butenilo. El tratamiento de los compuestos XIIa y XIIb en THF u otros disolventes apróticos con bases, por ejemplo, bis(trimetilsilil) amida de litio, bis(trimetilsilil) amida de sodio, o diisopropilamida de litio a -78°C , seguido por la adición de los electrófilos, bromuro de sec-butilo o bromuro de sec-butenilo proporciona los compuestos alquilados Xia y XIb respectivamente.

10



Los compuestos XIIa y XIIb se pueden preparar a partir del intermedio común XIII mediante acoplamiento tanto con el isómero R de la 4-bencil-oxazolidin-ona XIVa como con el isómero S de la 4-bencil-oxazolidin-ona XIVb mediante los procedimientos de Evans. El intermedio XIII se puede hacer reaccionar con cloruro de pivaloilo, cloruro de oxalilo o cloroformiato de isopropilo en THF en presencia de una base, por ejemplo, trietilamina o N-metilmorfolina, para dar anhídridos mixtos o cloruros de ácido que a continuación se hacen reaccionar con la sal de litio de XIVa o XIVb en THF. En la síntesis quiral se pueden usar también otros grupos auxiliares quirales, por ejemplo pseudoefedrina mediante las condiciones de A. G. Myers (J. Am. Chem. Soc. 1994, 116, 9361-9362). El tratamiento de cualquiera de los enantiómeros de la pseudoefedrina con cloruros o anhídridos de ácidos carboxílicos conduce al derivado de amida XV. Las amidas se tratan con una base fuerte, por ejemplo, diisopropil amida de litio en presencia de cloruro de litio, seguido por la adición de un agente alquilante para dar como resultado los correspondientes productos alquilados. A continuación el grupo auxiliar quiral se puede eliminar con hidrólisis ácida para dar los compuestos diana quirales.



El compuesto intermedio XIII se puede obtener a partir de la hidrólisis del éster del compuesto V con base en una solución alcohólica acuosa, por ejemplo, LiOH o NaOH en una solución acuosa de metanol.

Procedimientos sintéticos

Todas las reacciones se llevaron a cabo en atmósfera inerte a no ser que se indique otra cosa. Se obtuvieron los espectros de RMN en un equipo Bruker dpx400. Se llevó a cabo la LCMS en un equipo Agilent 1100 usando una columna ZORBAX® SB-C18, de 4,6 x 75 mm y 3,5 micrómetros para el procedimiento A. El caudal de la columna fue de 1 ml/min y los disolventes usados fueron agua y acetonitrilo (TFA al 0,1%) con un volumen de inyección de 10 µl. Las longitudes de onda fueron 254 y 210 nm. Los análisis de la pureza quiral se llevaron a cabo mediante columnas quirales.

Abreviaturas

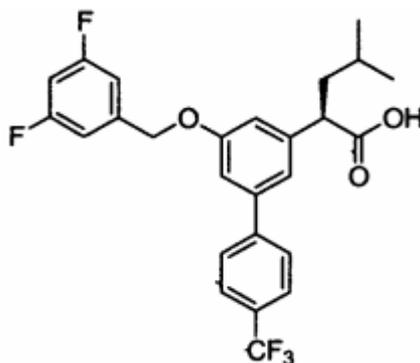
Ac	Acetilo
d	Doblete
DCM	Diclorometano
DME	1,2-dimetoxietano
DMF	N,N-dimetilformamida
DMSO	Dimetil sulfóxido
e.e.	exceso enantiomérico
Equiv.	Equivalentes

ES 2 395 083 T3

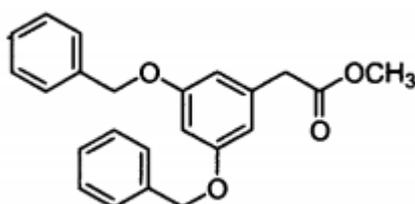
Et	Etilo
EtOAc	Acetato de etilo
g	Gramo
h	Hora
ISCO	Cromatografía Telydine ISCO
HPLC	Cromatografía líquida de alta presión
K ₂ CO ₃	Carbonato de potasio
l	Litro
LCMS	Cromatografía líquida – espectrometría de masas
LDA	Diisopropilamida de litio
M	Molar
m	Multiplete
Me	Metilo
min	Minuto
mol	Mol

(continuación)

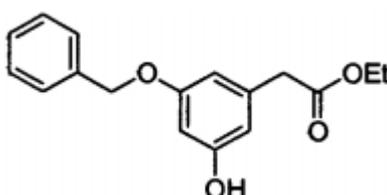
RMN	Resonancia magnética nuclear
q	Cuartete
TR	Tiempo de retención
s	Singlete
sat	saturado
t	Triplete
TFA	Ácido trifluoroacético
THF	Tetrahidrofurano

Ejemplos**Ejemplo 1****5 Ácido (R) 2-[5-(3,5-difluoro-benciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoico**

Síntesis racémica y separación quiral

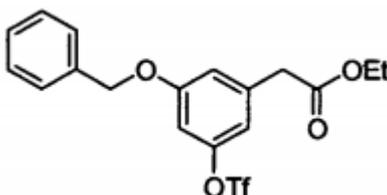
a) Éster metílico del ácido (3,5-bis-benciloxi-fenil)-acético

- 10 Una mezcla de éster metílico del ácido (3,5-dihidroxi-fenil)-acético (de Aldrich, 70 g, 0,385 moles), bromuro de bencilo (137 ml, 1,16 moles), carbonato de potasio (160 g, 1,16 moles) y DMF (1,5 l) en N₂ se agitó mecánicamente a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción resultante se vertió sobre una mezcla de 1,5 l de agua con hielo con agitación. El precipitado se obtuvo por filtración y se lavó con heptano en sucesivas veces para eliminar el bromuro de bencilo para dar los compuestos del título (123,7 g) como un sólido de color marrón que se
- 15 secó al aire para la siguiente reacción. RMN ¹H (CDCl₃): δ 3,60 (s, 2H), 3,71 (s, 3H), 5,05 (s, 4H), 6,60 (s, 3H), 7,35-7,50 (m, 10H); calculado para C₂₃H₂₂O₄ (M+H) 363,15, encontrado 363.

b) Éster etílico del ácido 3-benciloxi-5-hidroxi-fenil)-acético

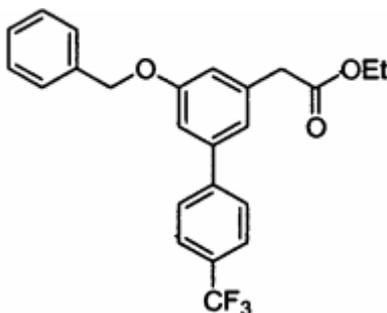
Una solución de 50 gramos (1,38 moles) de éster metílico del ácido 3,5-bis-benciloxi-fenil)-acético y NaOH (6,6 g, 1,65 moles) en 1 l de EtOH en presencia de Pd-C al 10% se hidrógeno en un agitador Parr hasta que se consumió un equivalente de hidrógeno. La mezcla se acidificó con HCl concentrado y a continuación, el catalizador y el disolvente se eliminaron para dar un residuo oleoso. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice ISCO (ISCO) usando EtOAc-heptano como eluyentes (gradiente desde 10% a 75% de EtOAc) para dar 25 gramos (rendimiento del 65%) del compuesto del título (1b). RMN ¹H (CDCl₃): δ 1,15-1,20 (t, 3H), 3,4-(s, 2H), 4,05-4,1 (q, 2H), 4,9 (s, 2H), 5,5 (s, 1H), 6,4 (s, 2H), 6,5 (s, 1H), 7,2-7,35 (m, 5H); calculado para C₁₇H₁₈O₄ (M+H) 287,3, encontrado 287.

c) Éster etílico del ácido (3-benciloxi-5-trifluorometanosulfonilo-fenil)-acético



A una solución de éster etílico del ácido 3-(benciloxi-5-hidroxi-fenil)-acético (74,4 g, 0,26 moles) en diclorometano (700 ml) se añadió piridina (62,5 ml, 0,78 moles). Se enfrió la mezcla a 0° C. A esta solución fría se añadió anhídrido trifluorometanosulfónico (65,6 ml, 0,39 moles) durante 1,5 h, manteniendo la temperatura interna por debajo de 5° C y se agitó durante 0,5 h más a 0° C. esta mezcla de reacción se vertió sobre una mezcla de HCl 1 N (420 ml), y hielo húmedo (105 g) y se agitó durante 0,5 h. La capa acuosa se extrajo con diclorometano (2 x 100 ml). Las fracciones combinadas se lavaron con agua (2 x 100 ml), solución saturada acuosa de NaHCO₃ (2 x 100 ml), y salmuera (2 x 100 ml). Las capas orgánicas se secaron (MgSO₄) y se concentraron a vacío para recibir un líquido rojizo (108 g) que se llevó a la siguiente etapa sin purificación adicional. calculado para C₁₈H₁₇F₃O₆S (M+H) 419,07, encontrado 419,1.

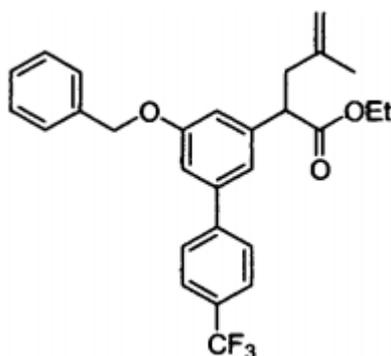
d) Éster etílico del ácido (5-benciloxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-acético



Una mezcla de éster etílico del ácido (3-benciloxi-5-trifluorometanosulfonilo-fenil)-acético (108 g, 0,26 moles), ácido 4-(trifluorometil) fenilborónico (55,6 g, 0,29 moles), 1,2-dimetoxietano (1,1 l) y una solución acuosa de Na₂CO₃ (2 M, 129 ml, 0,26 moles) se agitó mecánicamente con purga simultánea del N₂ a temperatura ambiente durante 10 min. A este sistema se añadió Pd(Ph₃)₄ (480 mg, 0,42 mmoles) y se calentó a reflujo (95° C) durante 2,5 h. La mezcla de color rojo-marrón se diluyó con EtOAc (0,5 l) y se lavó con solución saturada acuosa de NaHCO₃ (3 x 200 ml) y salmuera (2 x 200 ml). La fracción orgánica se secó (Na₂SO₄) y se concentró a vacío. La mezcla bruta se purificó mediante cromatografía en columna ISCO para obtener el éster etílico del ácido(5-benciloxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-acético (107 g, 100%).

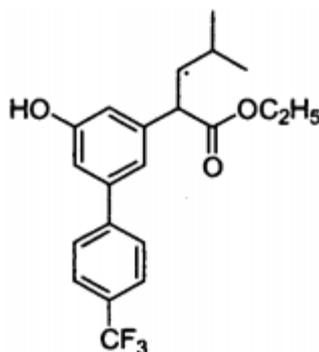
RMN ¹H (CDCl₃): δ 1,26 (t, 3H), 3,66 (s, 2H), 4,17 (q, 2H), 5,12 (s, 2H), 6,99 (s, 1H), 7,12 (s, 2H), 7,34-7,49 (m, 5H), 7,67 (s, 4H); calculado para C₂₄H₂₁F₃O₃ (M+H) 415,14, encontrado 415,2.

e) Éster etílico del ácido 2-(5-benciloxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-4-metil-pent-4-enoico



A una solución del compuesto 1d (4,9 g, 11,8 mmoles) en THF (50 ml) a -78°C se añadió $\text{Li}[\text{N}(\text{SiMe}_3)_2]$ (1 N en THF, 14.2 ml, 14,2 moles) gota a gota. La mezcla de reacción se agitó durante 1 h a -78°C y a continuación se añadió 3-bromo-2-metil-propeno (1,25 ml, 12,4 mmoles) gota a gota. La solución se calentó lentamente hasta -35°C y se agitó a -35°C durante 0,5 h. La reacción se desactivó rápidamente con solución saturada de NH_4Cl y se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos se secaron (Na_2SO_4), se concentraron y se purificaron mediante cromatografía en columna para dar el compuesto 1e (5,1 g, 92%) como un aceite transparente; RMN ^1H (400 MHz, CLOROFORMO-D) δ ppm 1,19 - 1,29 (m, 3 H), 1,74 (s, 3 H), 2,47 (m, 1 H), 2,85 (m, 1 H), 3,83 (m, 1 H), 4,11 (m, 2 H), 4,72 (s, 1 H), 4,77 (s, 1 H), 5,12 (s, 2 H), 7,03 (s, 1 H), 7,10 (s, 1 H), 7,15 (s, 1 H), 7,35 - 7,48 (m, 5 H), 7,67 (s, 4 H); calculado para $\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{F}_3\text{O}_3$ (M+H) 469,19, encontrado 469.

f) Éster etílico del ácido 2-(5-Hidroxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-4-metil-pentanoico



Una mezcla del **compuesto 1e** (5,1 g, 10,9 mmoles), Pd/C al 10% (500 mg) en EtOH (50 ml) se hidrogenó en H_2 (40 psi; 275,8 kPa) en un agitador Parr durante 20 h. La mezcla de reacción resultante se filtró a través de celite y el filtrado se concentró para dar el compuesto 1f (4,2 g, 100%) como un aceite transparente; RMN ^1H (300 MHz, CLOROFORMO-D) δ ppm 0,92 (d, $J=6,6$ Hz, 6 H), 1,25 (m, 3 H), 1,49 - 1,61 (m, 1 H), 1,65 - 1,70 (m, 1 H), 1,95 - 2,05 (m, 1 H), 3,67 (t, $J=7,7$ Hz, 1 H), 4,10 - 4,29 (m, 2 H), 6,91 (s, 1 H), 6,97 (t, $J=2,0$ Hz, 1 H), 7,08 (s, 1 H), 7,65 (s, 4 H); calculado para $\text{C}_{21}\text{H}_{23}\text{F}_3\text{O}_3$ (M+H) 381,16, encontrado 381.

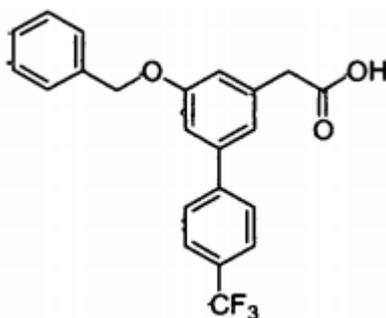
g) Ácido 2-[5-(3,5-difluoro-benciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoico

A una solución del compuesto 1f (4 g, 10 mmoles) en DMF se añadió carbonato de cesio (g, 15 mmoles) y a continuación bromuro de 3,5 difluorobencilo. La solución resultante se agitó a rt durante 18 h y a continuación se desactivó rápidamente con agua. La solución acuosa se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó, se secó y se evaporó para dar un residuo (5 g). El producto bruto se puso a continuación en KOH 1 N en MeOH (3 equiv.) a rt durante la noche. La solución se acidificó con HCl concentrado y a continuación se extrajo con EtOAc. La capa orgánica se lavó a continuación con agua, se secó en Na_2SO_4 , se evaporó a continuación en un evaporador rotatorio para dar un producto bruto. El producto bruto se trituró con heptano para dar como resultado 4,3 g (rendimiento del 91%) del producto (R) y (S).

La mezcla racémica se separó quiralmente mediante una columna Chiralpak AD usando como eluyente metanol y acetonitrilo que contenía ácido fórmico al 0,1% para obtener el enantiómero (R), el compuesto 1 y el enantiómero (S), el compuesto 2, respectivamente. Se encontró que el enantiómero (R) tenía una rotación de $-27,29$ grados en MeOH y que el enantiómero (S) tenía una rotación de $+25,2$ grados en MeOH. Los centros estereoquímicos absolutos se asignaron por correlación con los materiales sintéticos descritos a continuación.

Síntesis quiral del ácido (R)-2-[5-(3,5-difluoro-benciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoico

h) Ácido 5-benciloxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-acético

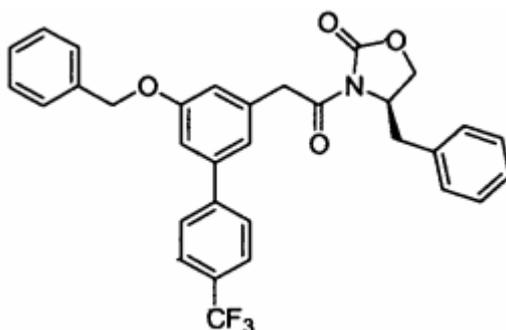


5 A una solución de éster etílico del ácido 5-benciloxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-acético (120 g, 0,29 moles) en THF (1,2 l) se añadió agua (240 ml), LiOH.H₂O (16 g, 0,32 moles) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. La solución se filtró y se concentró a vacío para eliminar el THF. El líquido espeso resultante se

10 acidificó a pH 2 añadiendo solución acuosa de HCl 2 N y la suspensión de color blanco se agitó mecánicamente durante 1 h a temperatura ambiente. El producto húmedo de color blanco se recuperó tras la filtración y se disolvió en EtOAc (500 ml). La capa orgánica se separó del agua, se secó (MgSO₄) y se concentró a vacío para obtener ácido 5-benciloxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-acético (105 g, 94%).

RMN ¹H (d₆-DMSO): δ 3,64 (s, 2H), 5,18 (s, 2H), 7,02 (s, 1H), 7,24 (d, 2H), 7,34-7,50 (m, 5H), 7,81 (d, 2H), 7,89 (d, 2H), 12,25 (bs, 0,6H); calculado para C₂₂H₁₇F₃O₃ (M+H) 387,11, encontrado 387,1.

i) 4-Bencil-3-[2-(5-benciloxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-acetil]-oxazolidin-2-ona



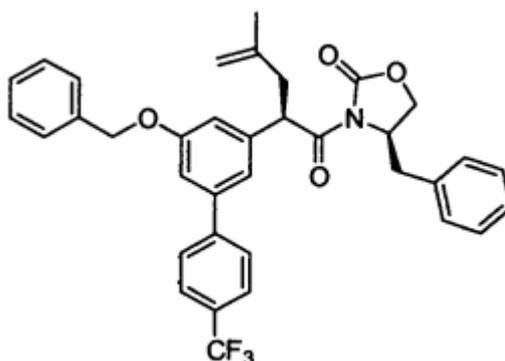
15 A una solución mecánicamente agitada de ácido (5-benciloxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-acético (20 g, 52 mmoles) en THF (104 ml) a -78° C se añadió N-metilmorfolina (NMM) (6,3 ml, 57 mmoles) y cloruro de trimetilacetilo (7,0 ml, 57 mmoles) manteniendo la temperatura interna por debajo de -70° C. Esta mezcla se agitó a -78° C durante 15 minutos y 0° C en 1 h. El sólido de color blanco se eliminó mediante filtración para recibir el anhídrido en el filtrado, que se enfrió de nuevo a -78° C. En un matraz separado, a una solución de (R)-(+)-4-bencil-2-oxazolidinona (9,6 g, 54,4 mmol) en THF (109 ml) a -78° C se añadió nBuLi (1,6 M en hexanos, 34 ml, 54,4 moles), gota a gota, manteniendo la temperatura interna por debajo de -70° C y se agitó a -78° C durante 45 min. Este auxiliar quiral

20 metalado se agregó al anhídrido a -78° C y se calentó a 0° C durante 1,5 h. La mezcla resultante se agitó adicionalmente a 0° C durante 30 minutos y se desactivó rápidamente añadiendo solución saturada acuosa de NH₄Cl en exceso. La solución se diluyó con EtOAc (200 ml) y la fase orgánica se lavó con solución saturada acuosa de NaHCO₃ (3 x 100 ml) y salmuera (2 x 100 ml). La solución se secó con MgSO₄ y el disolvente se eliminó a vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice ISCO para dar como resultado 20,3 g

25 (72%) de 4-bencil-3-[2-(5-benciloxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-acetil]-oxazolidin-2-ona como un sólido de color blanco.

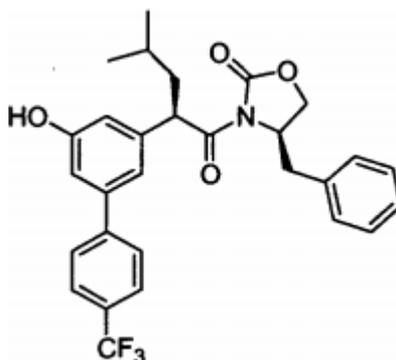
RMN ¹H (CDCl₃): δ 2,76 (dd, 1H), 3,26 (dd, 1H), 4,19 (m, 2H), 4,35 (q, 2H), 4,69 (m, 1H), 5,13 (s, 2H), 7,04-7,46 (m, 13H), 7,67 (s, 4H); calculado para C₃₂H₂₆F₃NO₄ (M+H) 546,18, encontrado 546,3.

j) 4-Bencil-3-[2-(5-benciloxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-4-metil-pent-4-enoil]-oxazolidin-2-ona



5 A una solución incolora de 4-bencil-3-[2-(5-benciloxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-acetil]-oxazolidin-2-ona (6,0 g, 11,00 mmoles) en THF seco (22 ml) a -78°C se añadió hexametil disilazida de sodio (NaHMDS) (1 M en solución de THF, 12,11 ml, 12,11 mmoles), gota a gota, manteniendo la temperatura interna por debajo de -75°C . La solución de color rojo resultante se agitó a -78°C durante 30 minutos. A esta se añadió 3-bromo-2-metil propeno (4,44 ml, 44 mmoles) manteniendo la temperatura por debajo de -75°C . Cuando la adición llegó hasta casi completarse, la mezcla de reacción se volvió de color verde. En este momento se retiró rápidamente el baño de hielo seco y se sustituyó por un baño de agua-hielo y se completó la adición. La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 30 min más y se desactivó rápidamente con solución saturada acuosa de NH_4Cl . El sistema se diluyó con EtOAc (100 ml) y la fase orgánica se lavó con solución saturada acuosa de NaHCO_3 (3 x 50 ml) y se secó (MgSO_4). El disolvente se eliminó a vacío y la mezcla bruta se purificó mediante una columna de gel de sílice ISCO para dar como resultado la 4-bencil-3-[2-(5-benciloxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-4-metil-pent-4-enoil]-oxazolidin-2-ona (6,3 g, 95%). RMN ^1H (CDCl_3): δ 1,80 (s, 3H), 2,46 (dd, 1H), 2,75 (dd, 1H), 3,05 (dd, 1H), 3,32 (dd, 1H), 4,08 (m, 2H), 4,59 (m, 1H), 4,80 (d, 2H), 5,13 (s, 2H), 5,48 (dd, 1H), 7,11 (d, 2H), 7,21-7,49 (m, 11H), 7,67 (s, 4H); calculado para $\text{C}_{36}\text{H}_{32}\text{F}_3\text{NO}_4$ (M+H) 600,23, encontrado 600,3.

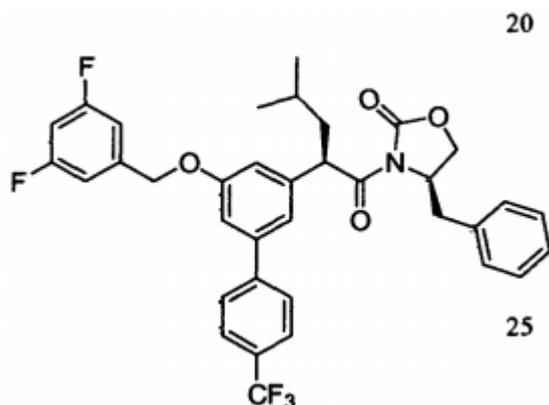
k) 4-Bencil-3-[2-(5-hidroxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-4-metil-pentanoil]-oxazolidin-2-ona



20 A una solución de 4-bencil-3-[2-(5-benciloxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-4-metil-pent-4-enoil]-oxazolidin-2-ona (6,7 g, 11,2 mmoles) en MeOH (150 ml) se añadió Pd/C al 10% (670 mg, 10% en peso). La suspensión de color negro se hidrogenó a 45-45 psi (310,3-310,3 kPa) durante la noche. La mezcla se filtró a través de celite y el disolvente se eliminó a vacío para obtener la 4-bencil-3-[2-(5-hidroxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-4-metil-pentanoil]-oxazolidin-2-ona relativamente pura (5,4 g, 93%).

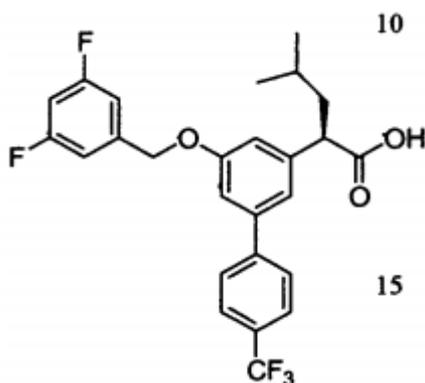
25 RMN ^1H (CDCl_3): δ 0,94 (d, 3H), 0,98 (d, 3H), 1,54 (m, 1H), 1,74 (m, 1H), 2,12 (m, 1H), 2,79 (dd, 1H), 3,36 (dd, 1H), 4,11 (m, 2H), 4,62 (m, 1H), 5,25 (t, 1H), 6,97 (m, 2H), 7,21-7,37 (m, 6H), 7,67 (s, 4H); calculado para $\text{C}_{29}\text{H}_{28}\text{F}_3\text{NO}_4$ (M+H) 512,20, encontrado 512,3.

l) 4-Bencil-3-[2-[5-(3,5-difluoro-benciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoil]-oxazolidin-2-ona



5 A una solución de 4-bencil-3-[2-(5-hidroxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-4-metil-pentanoil]-oxazolidin-2-ona (18,77 g, 36,73 mmoles) en acetonitrilo (184 ml) a 0° C se añadieron 1-bromometil-3,5-difluoro-benceno (7,13 ml, 55,10 mmoles) y Cs₂CO₃ (23,94 g, 73,46 mmoles) en porciones durante 5 minutos. La suspensión de color blanco resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El sólido de color blanco se eliminó mediante filtración y el disolvente se eliminó *a vacío* para obtener la 4-bencil-3-[2-[5-(3,5-difluoro-benciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoil]-oxazolidin-2-ona relativamente pura.

m) Ácido 2-[5-(3,5-difluoro-benciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoico



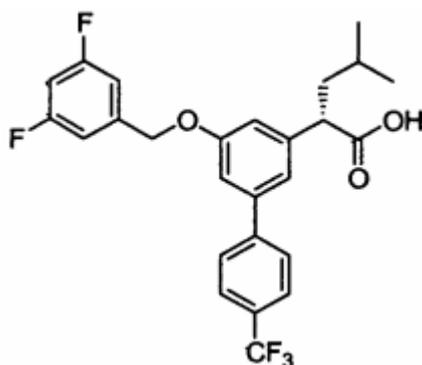
10 A una solución de 4-bencil-3-[2-[5-(3,5-difluoro-benciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoil]-oxazolidin-2-ona (23,40 g, 36,73 mmoles) en THF (180 ml) se añadió agua (60 ml). El sistema se enfrió a 0° C. A esta solución fría se añadió LiOH.H₂O (1,54 g, 36,73 mmoles) y H₂O₂ al 30% (16,65 ml, 146,92 mmoles), gota a gota, manteniendo la temperatura interna por debajo de 5° C. La solución turbia resultante se agitó a 0° C durante 20 min.

15 El H₂O₂ en exceso se desactivó rápidamente añadiendo una solución acuosa de Na₂SO₃ 1,5 M (97,9 ml, 146,92 mmoles) y se agitó a temperatura ambiente durante 15 min. El disolvente orgánico se eliminó *a vacío*. El líquido resultante se acidificó a pH 2 añadiendo solución acuosa de HCl 1 N. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 200 ml), se secó con MgSO₄, y se concentró *a vacío* dando como resultado una mezcla bruta que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice ISCO para dar como resultado el ácido (R)-2-[5-(3,5-difluorobenciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoico (12,25 g, 70%).

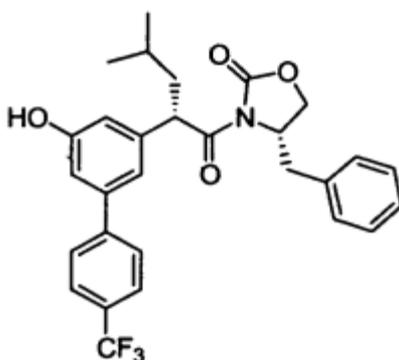
20 RMN ¹H (CDCl₃): δ 0,93 (d, 6H), 1,51 (m, 1H), 1,72 (m, 1H), 1,98 (m, 1H), 3,72 (t, 1H), 5,09 (s, 2H), 6,76 (m, 1H), 6,98 (m, 3H), 7,07 (t, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,66 (m, 4H); calculado para C₂₆H₂₃F₅O₃ (M+H) 479,45, encontrado 479,2.

Ejemplo 2

Ácido (S) -2-[5-(3,5-difluoro-benciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoico

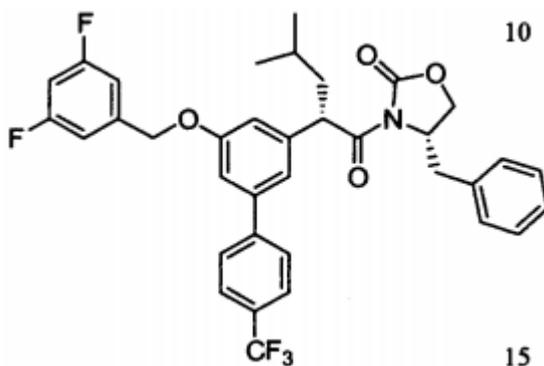


a) 4-Bencil-3-[2-(5-hidroxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-4-metilpentanoil]-oxazolidin-2-ona



5 El compuesto del título se preparó a partir de la 4-bencil-3-[2-(5-benciloxi-4'-trifluorometilbifenil-3-il)-4-metilpentanoil]-oxazolidin-2-ona siguiendo el mismo procedimiento que para la síntesis del Ejemplo 1, parte (k).
 RMN ¹H (CDCl₃): δ 0,94 (d, 3H), 0,98 (d, 3H), 1,54 (m, 1H), 1,74 (m, 1H), 2,12 (m, 1H), 2,79 (dd, 1H), 3,3 6 (dd, 1H), 4,11 (m, 2H), 4,62 (m, 1H), 5,25 (t, 1H), 6,97 (m, 2H), 7,21-7,37 (m, 6H), 7,67 (s, 4H); calculado para C₂₉H₂₈F₃NO₄ (M+H) 512,20, encontrado 512,3.

b) 4-Bencil-3-{2-[5-(3,5-difluoro-benciloxi)- 4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoil}-ozazolidin-2-ona

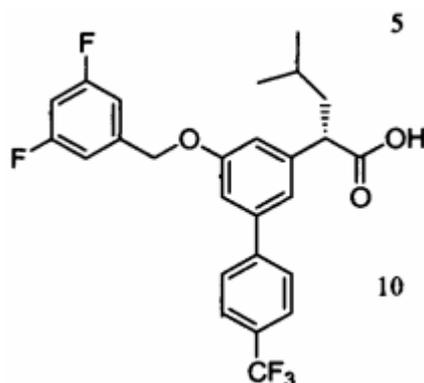


10

15

A una solución de 4-bencil-3-[2-(5-hidroxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-4-metil-pentanoil]-oxazolidin-2-ona (0,400 g, 0,78 mmoles) en acetonitrilo (3 ml) a temperatura ambiente se añadió 1-bromometil-3,5-difluoro-benceno (0,243 g, 1,17 mmoles) y Cs₂CO₃ (0,508 g, 1,56 mmoles). La suspensión de color blanco resultante se agitó durante 1 h. El sólido de color blanco se eliminó mediante filtración y el disolvente se eliminó a vacío para obtener la 4-bencil-3-[2-[5-(3,5-difluorobenciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoil]-oxazolidin-2-ona.

c) Ácido 2-[5-(3,5-difluoro-benciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metilpentanoico

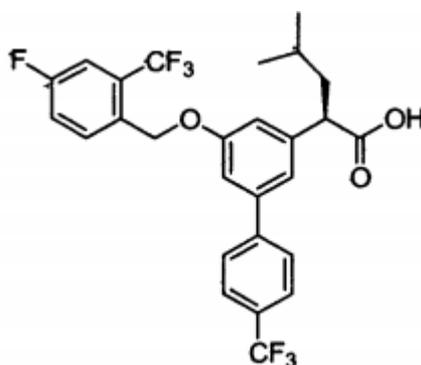


5 A una solución de 4-bencil-3-{2-[5-(3,5-difluoro-benciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoil}-oxazolidin-2-ona (0,425 g, 0,67 mmol) en THF (10 ml) se añadió agua (3,5 ml). El sistema se enfrió a 0° C. A esta solución fría se añadió LiOH.H₂O (0,028 g, 0,67 mmoles) y H₂O₂ al 30% (304 ml, 2,68 mmoles), gota a gota, manteniendo la temperatura interna por debajo de 5° C. La solución turbia resultante se agitó a 0° C durante 20 min. El H₂O₂ en exceso se desactivó rápidamente añadiendo una solución acuosa de Na₂SO₃ 1,5 M (1,79 ml, 2,68 mmoles) y se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. El disolvente orgánico se eliminó a vacío. El líquido resultante se acidificó a pH 2 añadiendo una solución acuosa de HCl 1 N. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml) y se secó (MgSO₄). La mezcla se concentró a vacío para recibir una mezcla bruta que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice ISCO para dar como resultado el ácido (S)-2-[5-(3,5-difluoro-benciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoico (0,295 g, 92%).

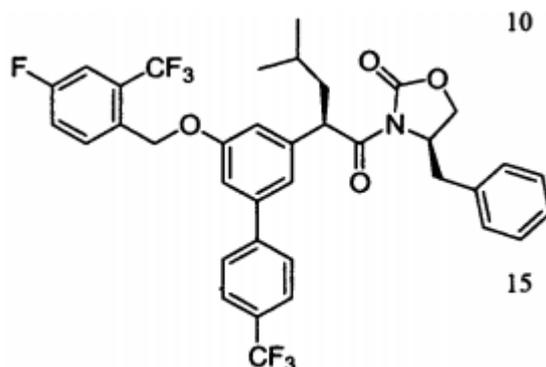
10 RMN ¹H (CDCl₃): δ 0,93 (d, 6H), 1,51 (m, 1H), 1,72 (m, 1H), 1,98 (m, 1H), 3,72 (t, 1H), 5,09 (s, 2H), 6,76 (m, 1H), 6,98 (m, 3H), 7,07 (t, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,66 (m, 4H); calculado para C₂₆H₂₃F₅O₃ (M+H) 479,45, encontrado 479,2.

Ejemplo 3

15 **Ácido (R) -2-[5-(4-fluoro-2-trifluorometil-benciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoico**



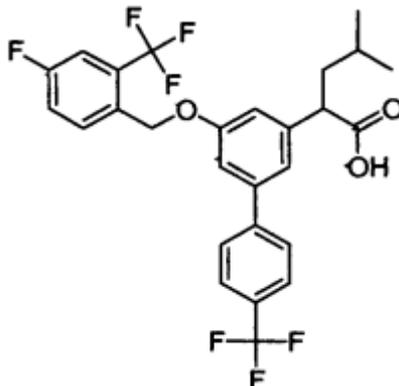
a) **4-Bencil-3-{2-[5-(4-fluoro-2-trifluorometil-benciloxi)-4'-trifluorometilbifenil-3-il]-4-metil-pentanoil}-oxazolidin-2-ona**



20 A una solución de 4-bencil-3-[2-(5-hidroxi-4'-trifluorometil-bifenil-3-il)-4-metil-pentanoil]-oxazolidin-2-ona (preparada como en el **Ejemplo 1**, etapa (k)) (0,400 g, 0,78 mmoles) en acetonitrilo (3,9 ml) se añadió 1-bromometil-4-fluoro-2-trifluorometil-benceno (0,181 ml, 1,17 mmoles) y Cs₂CO₃ (0,508 g, 1,56 mmoles). La suspensión de color blanco

resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El sólido de color blanco se eliminó mediante filtración y el disolvente se eliminó a *vacío* para obtener la 4-bencil-3-{2-[5-(4-fluoro-2-trifluorometil-benciloxi)- 4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metilpentanoil}-oxazolidin-2-ona.

b) Ácido 2-[5-(4-fluoro-2-trifluorometil-benciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoico



5

A una solución de 4-bencil-3-{2-[5-(4-fluoro-2-trifluorometil-benciloxi)- 4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoil}-oxazolidin-2-ona (0,535 g, 0,78 mmoles) en THF (9 ml) se añadió agua (3 ml). El sistema se enfrió a 0° C. A esta solución fría se añadió LiOH.H₂O (33 mg, 0,78 mmoles) y H₂O₂ al 30% (0,354 ml, 3,12 mmoles) y se agitó a 0° C durante 20 min. El H₂O₂ se desactivó rápidamente añadiendo una solución acuosa de Na₂SO₃ 1,5 M (2,08 ml, 3,12 mmoles) y se agitó a temperatura ambiente durante 5 min. El disolvente orgánico se eliminó a *vacío*. El líquido resultante se acidificó a pH 2 añadiendo una solución acuosa de HCl 1 N. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml) y se secó (MgSO₄). La mezcla se concentró a *vacío* para recibir una mezcla bruta que se purificó mediante cromatografía en columna de gel de sílice ISCO para dar como resultado el ácido (R)-2-[5-(4-Fluoro-2-trifluorometil-benciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metilpentanoico (310 mg).

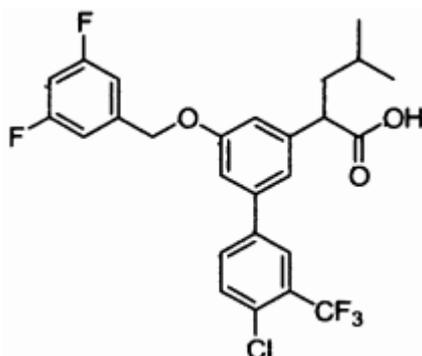
10

15

RMN ¹H (CDCl₃): δ 0,92 (d, 6H), 1,52 (m, 1H), 1,71 (m, 1H), 1,99 (m, 1H), 3,73 (t, 1H), 5,27 (s, 2H), 6,98 (bs, 1H), 7,06 (bs, 1H), 7,17 (bs, 1H), 7,29 (m, 1H), 7,42 (m, 1H), 7,68 (m, 5H); calculado para C₂₇H₂₃F₇O₃ (M+H) 529,46, encontrado 529,2.

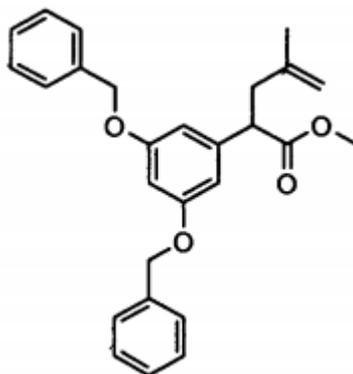
Ejemplo 4

Ácido 2-[4'-cloro-5-(3,5-difluoro-2-benciloxi)-3'-trifluorometil-bifenil-3-il]4-metil-pentanoico



20

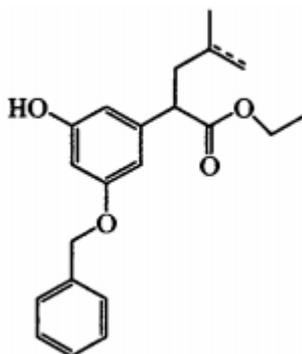
a) Éster metílico del ácido 2-(3,5-bis-benciloxi-fenil)-4-metil-pent-4-enoico



Una solución de LDA 2 M en THF-heptano-etilbenceno (21,5 ml, 43,0 mmoles) se añadió gota a gota a una solución agitada de éster metílico del ácido (3,5-bis-benciloxifenil) acético (preparado en el **Ejemplo 1**, etapa (a)) (13,0 g, 35,9 mmoles) en THF (80 ml) a -78° C en atmósfera de nitrógeno. La temperatura se mantuvo por debajo de -70° C durante 50 min más, a continuación se añadió 3-bromo-2-metilpropeno (4,0 ml, 39,7 mmoles) en una porción y la mezcla de reacción se calentó a 0° C. Tras 2 h, la mezcla se concentró a vacío, se diluyó con una solución saturada acuosa de NH₄Cl (100 ml) y se extrajo con EtOAc (100 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (100 ml), se secó (MgSO₄), se concentró a vacío y se purificó mediante cromatografía instantánea (sílice, EtOAc al 0-10% en éter de petróleo) para dar como resultado el producto del título como un aceite de color amarillo (14,1 g, 94%).

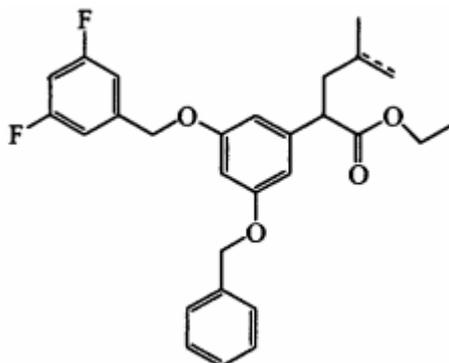
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃): δ 7,42-7,25 (m, 10H), 6,58 (s, 2H), 6,52 (s, 1H), 5,02 (s, 4H), 4,74 (s, 1H), 4,66 (s, 1H), 3,74 (t, 1H), 3,64 (s, 3H), 2,79 (dd, 1H), 2,38 (dd, 1H), 1,70 (s, 3H).

b) Éster etílico del ácido 2-(3-benciloxi-5-hidroxi-fenil)-4-metil-pentanoico



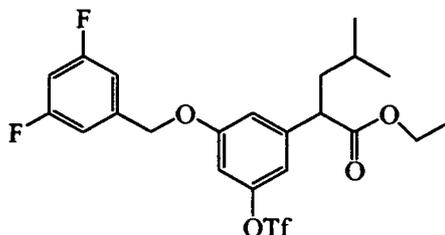
A una mezcla del intermedio 4a (20 g, 48 mmoles), NaOH (2,3 g, 57 mmoles) en EtOH (500 ml) se añadieron 0,5 g de Pd-C al 10% sobre carbón activo en N₂, la mezcla se sometió a hidrogenación bajo 40 psi (275,8 kPa) durante 30 min, en cuyo momento, la LC/MS indicó que el material de partida se había consumido. El catalizador se eliminó por filtración y el EtOH se evaporó. La cromatografía en columna (0-40% EtOAc/ Heptano) proporcionó 11,8 g (rendimiento del 75%) de aceite incoloro, como una mezcla de ésteres de metilo y etilo y el doble enlace del éster sin reducir. MH⁺ 341 (éster etílico con doble enlace sin reducir); 343 (éster etílico con ramificación de isopropilo reducido); 327 (éster metílico con doble enlace no reducido).

c) Éster etílico del ácido 2-[3-benciloxi-5-(3,5-difluoro-benciloxi)-fenil]-4-metil-pentanoico



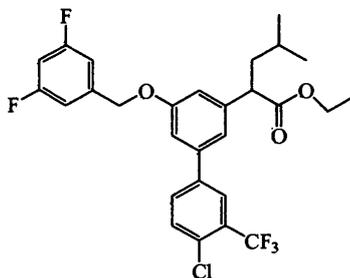
Una solución del éster etílico (mezclado con éster metílico) 4b (5 g, 15 mmoles), K₂CO₃ (4,1 g, 30 mmoles), y bromuro de 3,5 difluorobencilo (2,9 ml, 22 mmoles) en DMF (70 ml) se calentó a 80° C durante una hora. El DMF se eliminó mediante vacío y el producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna (EtOAc/heptano al 0-30%) para dar 4,5 g de producto (rendimiento del 66%). MH⁺ 453,1 y otros iones moleculares (éster metílico y las correspondientes olefinas).

d) Éster etílico del ácido 2-[3-(3,5-difluoro-benciloxi)-5-trifluorometanosulfonilo-fenil]-4-metilpentanoico



A una solución del intermedio 4c (4,5 g, 10 mmoles) en MeOH (100 ml) se añadieron 0,45 g de Pd-C al 10% sobre carbón activo en N₂; la mezcla se sometió a hidrogenación bajo 20 psi (137,9 kPa) durante dos horas. El catalizador se filtró y se evaporó el MeOH. La cromatografía en columna (EtOAc/Heptano al 0-50%) proporcionó 3,0 g de fenol como un aceite incoloro, que se disolvió en 50 ml de DCM y se enfrió a 0° C. Se añadieron piridina (2 ml, 40 mmoles) y anhídrido del ácido trifluorometanosulfónico 2 ml, 12 mmoles). La solución se agitó a 0° C durante una hora antes de verse en una solución de HCl 1 N (20 ml), se extrajo con DCM (200 ml), y se lavó mediante una solución acuosa de NaHCO₃ / NaCl. La capa de DCM se secó en Mg₂SO₄ y se evaporó para dar 4,0 g de un aceite de color amarillo. (78% en dos etapas). MH⁺ 511,2

e) Éster etílico del ácido 2-[4'-Cloro-5-(3,5-difluoro-benciloxi)-3'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoico



Una solución de ácido 3-CF₃-4-Cl-benzenoborónico (3,6 g, 16 mmoles), el triflato 4d (4 g, 7,8 mmoles), (PPh₃)₄Pd (0,5 g, 0,4 mmoles), K₂CO₃ (2,2 g, 16 mmoles), en tolueno/EtOH/H₂O (20/10/5 ml) se colocó en un tubo de reacción sellado y se calentó a 80° C durante una hora. Se añadió EtOAc (200 ml) y se lavó con salmuera. La capa de EtOAc se secó en Mg₂SO₄ y se evaporó. La cromatografía en columna (0-20%/EtOAc/ hexano) dio como resultado 3,05 g de aceite incoloro (74%). MH⁺ 541,3.

f) Ácido 2-[4'-cloro-5-(3,5-difluoro-2-benciloxi)-3'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoico

Una solución del intermedio 4e (3 g, 5,5 mmoles) NaOH 1 N (16 ml) en THF/MeOH (50/50 ml) se agitó a temperatura ambiente durante un día. La solución se concentró y se añadió EtOAc (500 ml). Tras el lavado con HCL 1 N y salmuera, la capa de EtOAc se secó con Mg₂SO₄ y se evaporó. La cromatografía en columna (0-30% /EtOAc/ hexano) dio como resultado 2,7 g de un sólido de color blanco (71%). A continuación el sólido se disolvió en EtOAc (100 ml) y se añadió a NaOH 1 N (5,26 ml, 5 mmoles) y se agitó a temperatura ambiente durante 10 min. A continuación el disolvente se eliminó mediante vacío y se obtuvo el compuesto como su sal de sodio MH⁺ 513,2 (pico débil). RMN ¹H (300 MHz, CD₃OD): δ 0,94 (d, 6H, J=6,51 Hz), δ 1,5-1,67 (m, 2H), δ 1,9-2,0 (m, 1H), δ 3,67 (t, 1H, J=7,85 Hz), δ 5,2 (s, 2H), δ 6,89 (m, 1H), δ 7,1 (m, 4H), δ 7,27 (s, 1H), δ 7,68 (d, 1H, J=8,42 Hz), δ 7,85 (m, 1H), δ 7,97 (d, 1H, J=2,0 Hz).

Determinación del efecto de los compuestos de acuerdo con la invención sobre la ciclooxigenasa-1 y la ciclooxigenasa-2 (Cox-1, Cox-2)

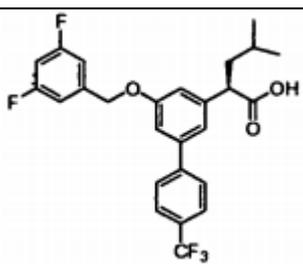
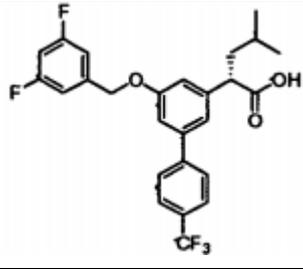
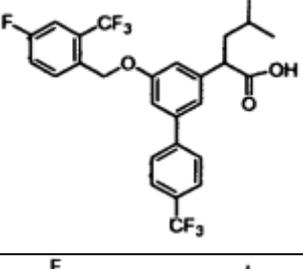
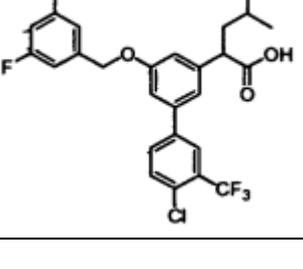
Se determinó la inhibición de Cox-1 y Cox-2 usando el ensayo colorimétrico de selección del inhibidor de Cox proporcionado por Cayman Chemical Company, Ann Arbor, MI, EE.UU. (N° de Cat. 760111) de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Selección de los compuestos de la invención por la actividad de modulación de la γ -secretasa

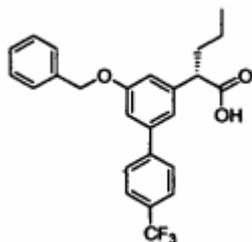
5 Se llevó a cabo la selección usando células SKNBE2 que transportaban la APP 695 – natural haciéndolas crecer en DMEM/NUT mezclado con F12 (HAM) proporcionado por Gibco (nº de cat 31330-38) que contenía Suero/Fe al 5% suplementado con aminoácidos no esenciales al 1%.

Se hicieron crecer las células hasta casi la confluencia.

Se llevó a cabo la selección usando el ensayo que se describe en Citron y col (1997) Nature Medicine 3: 67.

Estructura		CE50 en el ensayo de células WTAPP A β 42 (μ M)
	Compuesto 1	0,525
	Compuesto 2	1,123
	Compuesto 3	0,316
	Compuesto 4	0,19

Por comparación,



10

cuyas características ni los valores R¹ y R² seleccionados, ni el grupo sec-butilo, mostraron una CI50 de 2,5 μ M en el

anterior ensayo de células WTAPP

Demostración de la eficacia in vivo

Los agentes disminuidores de A β 42 de la invención se pueden usar para tratar la EA en mamíferos tales como seres humanos o alternativamente demostrar eficacia en modelos animales tales como, pero sin limitarse a, el ratón, rata, o cobaya. El mamífero puede no estar diagnosticado con EA, o puede no tener una predisposición genética para la EA, pero puede ser transgénico de tal manera que produce en exceso y eventualmente deposita el A β de una manera similar a la que se observa en los seres humanos que padecen EA. Los agentes disminuidores de A β 42 se pueden administrar en cualquier forma estándar usando cualquier procedimiento normalizado. Por ejemplo, pero sin limitarse a, los agentes disminuidores de A β 42 pueden estar en forma de líquido, comprimidos o cápsulas que se toman por vía oral o mediante inyección. Los agentes disminuidores de A β 42 pueden administrarse a cualquier dosis que sea suficiente para reducir significativamente los niveles de A β 42 en la sangre, plasma sanguíneo, suero, fluido cerebroespinal (CSF), o cerebro.

Para determinar si la administración aguda de un agente disminuidor de A β 42 podría reducir los niveles de A β 42 in vivo, se utilizaron roedores no transgénicos, por ejemplo, ratones o ratas. Alternativamente, se pueden utilizar ratones Tg2576 de dos a tres meses de edad que expresan APP695 que contienen la variante "Swedish" o un modelo de ratón transgénico desarrollado por el Dr. Fred Van Leuven (K.U. Leuven, Bélgica) y colaboradores, con expresión específica de neuronas de un mutante clínico de la proteína precursora amiloide humana [V717I] (Moechars y col., 1999 J. Biol. Chem. 274, 6483). Los ratones transgénicos jóvenes tienen elevados niveles de A β en el cerebro pero no deposición detectable de A β . Aproximadamente a los 6-8 meses de edad, el ratón transgénico comienza a mostrar una acumulación progresiva espontánea de β -amiloide (A β) en el cerebro, dando como resultado eventualmente placas amiloides en el subículo, el hipocampo y la corteza. Los animales tratados con el agente disminuidor de A β 42 se examinarán y compararán con aquellos no tratados o tratados con vehículo, y se cuantificarán los niveles cerebrales de A β 42 soluble y A β total mediante técnicas normalizadas, por ejemplo, usando ELISA. Los periodos de tratamiento pueden variar desde horas a días y se ajustarán basándose en los resultados de la disminución de A β 42 una vez se pueda establecer el curso de tiempo de comienzo del efecto.

Se muestra un protocolo típico para medir la disminución de A β 42 in vivo pero es solo una de muchas variaciones que podrían usarse para optimizar los niveles de A β detectable. Por ejemplo, los compuestos que disminuyen A β 42 como ácidos libres o sales de sodio se formularon como un 5% de soluto en agua o hidroxipropil β ciclodextrina al 20%. Los agentes disminuidores de A β 42 se administran como una única dosis oral o mediante cualquier ruta de administración aceptable, por ejemplo, tres a cuatro horas antes del sacrificio, determinado empíricamente, y análisis, o podrían proporcionarse alternativamente durante una serie de días y sacrificarse los animales tres a cuatro horas después de proporcionar la dosis final.

Los ratones se anestesiaron con una mezcla de ketalar (Ketamina), Rompun (Xilazina al 2%) y Atropina (2.1:1) y se lavaron transcardialmente con suero fisiológico a 4^o C. Se recogió la sangre durante el sacrificio. La recogida de sangre se llevó a cabo mediante una punción en el corazón durante la anestesia en tubos de recogida tratados con EDTA. Se centrifugó la sangre a 4000 g durante 5 minutos a 4^o C y el plasma se recuperó y se congeló rápidamente para el posterior análisis. Se retiró el cerebro del cráneo y se separaron el rombencéfalo y el prosencéfalo con un corte en el plano coronal/frontal. Se retiró el cerebelo y se retuvo para el análisis cuantitativo de los niveles del compuesto de ensayo. El prosencéfalo se dividió equitativamente en hemisferio izquierdo y derecho utilizando un corte sagital en la línea media.

Ambos hemisferios se sumergieron inmediatamente en nitrógeno líquido y se almacenaron a -70^o C hasta la homogeneización para los ensayos bioquímicos.

Los cerebros de ratón se volvieron a suspender en 10 volúmenes de DEA (dietilamina) / NaCl 50 mM al 0,4% pH 10 (para animales no transgénicos) o CHAPS al 0,1% en TBS (para animales transgénicos) que contenía inhibidores de la proteasa (Roche-11948699) por gramo de tejido, por ejemplo, para 0,158 g de cerebro, añadir 1,58 ml de DEA al 0,4%. Todas las muestras se sonicaron durante 30 segundos en hielo a un 30% de potencia de salida. Los homogenizados se centrifugaron a 355.000 x g durante 30 min. Los sobrenadantes de alta velocidad resultantes se transfirieron a continuación a tubos frescos para posterior purificación o ensayo inmediato.

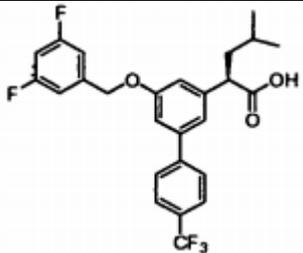
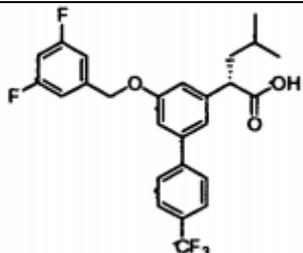
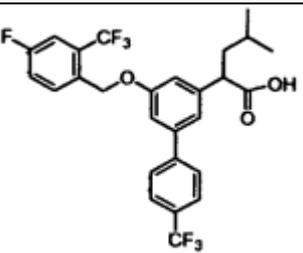
Los sobrenadantes obtenidos se purificaron con columnas de fase inversa Oasis HLB de Waters (Waters Corp., Milford, MA) para eliminar el material inmunoreactivo no específico procedente de los lisados cerebrales antes de la posterior detección de A β . Usando un manguito de vacío, todas las disoluciones se pasaron a través de las columnas a una velocidad de aproximadamente 1 ml por minuto, de tal manera que la presión del vacío se iba ajustando según lo requiera el procedimiento. Las columnas se preacondicionaron con 1 ml de MeOH al 100%, antes del equilibrio con 1 ml de H₂O. Los lisados cerebrales no neutralizados se introdujeron en las columnas. Las muestras introducidas se lavaron a continuación dos veces, el primer lavado llevado a cabo con 1 ml de MeOH al 5%, y el segundo lavado con 1 ml de MeOH al 30%. Finalmente, el A β se eluyó de las columnas a tubos de vidrio de 100 x 30 mm, con una solución de MeOH al 90% con NH₄OH al 2%. A continuación, el eluato se transfirió a tubos de 1,5 ml y se concentró en un concentrador speed-vac calentado a alta temperatura durante aproximadamente 2 horas. El concentrado A β se volvió a suspender a continuación en medio libre de suero UltraCULTURE de fin

inespecífico (Cambrex Corp., Walkersville, MD) más inhibidores de la proteasa añadidos de acuerdo con las recomendaciones de los fabricantes.

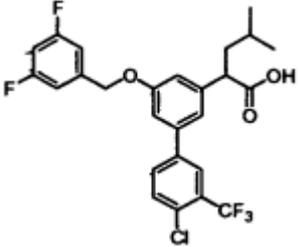
Para cuantificar la cantidad de A β 42 en la fracción soluble de los homogenados cerebrales, se usaron kits de enzimoanálisis de adsorción (ELISA) (Innotest® β -Amyloid₍₁₋₄₂₎, Innogenetics N.V., Ghent, Bélgica). Se llevó a cabo el ELISA de A β 42 esencialmente de acuerdo con el protocolo del fabricante. De manera breve, el patrón (una dilución de A β 1-42 sintético) y las muestras se prepararon en una placa de 96 pocillos prerrevestida de polipropileno suministrada con el kit (Nunc-Immuno MaxiSorp, A/S Nunc, Dinamarca). Las diluciones normalizadas con concentraciones finales de 1000, 500, 250, 125, 62,5, 31,3 y 15,6 pg/ml y las muestras se prepararon en un diluyente de la muestra, suministrado con el kit ELISA, hasta un volumen final de 60 μ l. Muestras, patrones y blancos (50 μ l) se añadieron a la placa revestida con anticuerpo dirigido contra A β 42 (el anticuerpo de captura reconoce selectivamente el extremo C del antígeno). La placa se dejó incubar durante la noche a 4^o C con el fin de permitir la formación del complejo anticuerpo-amiloide. Tras esta incubación y las posteriores etapas de lavado, se añadió un conjugado de anticuerpo dirigido contra A β selectivo (anticuerpo de detección biotinilado, por ejemplo, 4G8 biotinilado (Covance Research Products, Dedham, MA) y se incubó durante un mínimo de 1 hora con el fin de permitir la formación del complejo anticuerpo-amiloide-anticuerpo. Tras la incubación y las etapas de lavado adecuadas, se añadió estreptavidina-peroxidasa-conjugado, seguido 30 minutos después por la adición de una mezcla de TMB/peróxido, que dio como resultado la conversión del sustrato en un producto coloreado. Esta reacción se detuvo mediante la adición de ácido sulfúrico (1 M) y se midió la intensidad del color por medio de fotometría con un lector para ELISA con un filtro de 450 nm. Se obtuvo la cuantificación del contenido de A β de las muestras comparando la absorbancia con una curva patrón preparada con A β 1-42 sintético. Alternativamente, se puede conseguir la detección usando el sustrato fluorogénico para la peroxidasa QuantBlu de Pierce y los reactivos de detección de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Pierce Corp., Rockford, IL).

En el mencionado modelo sería ventajosa al menos una disminución del 20% del A β 42 en comparación con los animales no tratados.

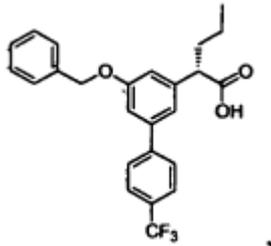
Datos in vivo
30 mg/kg de dosis oral en un punto temporal de 4 h

Estructura		Inhibición de la eficacia in vivo de A β 42 de ratón a 30 mpk (4 h)	Concentración Cerebro / plasma a 30 mpk de dosis oral (4 h)
	Compuesto 1	50%	6,9 \pm 2,3 μ M / 45 \pm 12,2 μ M
	Compuesto 2	45%	11,1 \pm 2,8 μ M / 43,3 \pm 8,9 μ M
	Compuesto 3	25%	5,1 \pm 1,1 μ M / 18,4 \pm 2,8 μ M

(continuación)

Estructura		Inhibición de la eficacia in vivo de Aβ42 de ratón a 30 mpk (4 h)	Concentración Cerebro / plasma a 30 mpk de dosis oral (4 h)
	Compuesto 4	42%	6,5 ± 1,5 μM / 24,5 ± 6,3 uM

Por comparación,



5

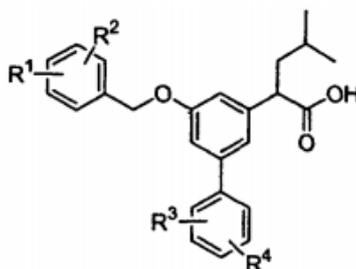
la dosis requerida para disminuir los niveles en plasma de Aβ42 en ratones en un 40% es de 100 MPK dos veces al día.

10

Aunque la memoria anterior enseña los principios de la presente invención, con ejemplos proporcionados a fines de ilustración, se entenderá que la práctica de la invención abarca todas las variaciones, adaptaciones y/o modificaciones usuales comprendidas en el alcance de las siguientes reivindicaciones y sus equivalentes.

REIVINDICACIONES

1.Un compuesto de Fórmula I:



(Fórmula I)

5 en la que:

- R¹ es F, Cl, o CF₃;
- R² es F, Cl, o CF₃;
- R³ es F, Cl, o CF₃
- R⁴ es H, F, Cl, o CF₃;

10 y sus solvatos, hidratos, ésteres y sales farmacéuticamente aceptables.

2.Un compuesto de la reivindicación 1 en el que:

- R¹ es F;
- R³ es CF₃;

y sus solvatos, hidratos, ésteres y sales farmacéuticamente aceptables.

15 3.Un compuesto de la reivindicación 2 seleccionado del grupo que consiste en:

- Ácido (R)-2-[5-(3,5-difluoro-benciloxi)-4'-thfluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoico,
- Ácido (S)-2-[5-(3,5-difluoro-benciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metil-pentanoico,
- Ácido 2-[5-(4-fluoro-2-trifluorometil-benciloxi)-4'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metilpentanoico,
- Ácido 2-[4'-cloro-5-(3,5-difluoro-benciloxi)-3'-trifluorometil-bifenil-3-il]-4-metilpentanoico,

20 y sus solvatos, hidratos, ésteres y sales farmacéuticamente aceptables.

4.Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para uso como un medicamento.

5.Uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para la preparación de un medicamento para la modulación de la γ -secretasa.

25 6.Uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad asociada con un elevado nivel de producción de A β 42.

7.Uso de un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

8.Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en premezcla con un vehículo inerte.

30 9.Procedimiento para la preparación de un medicamento que comprende las etapas de:

- a) preparar un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3; y
- b) formulación de un medicamento que contiene dicho compuesto.

10.Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para uso en un procedimiento de tratamiento de un mamífero par la modulación de la γ -secretasa.

35 11.Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para uso en un procedimiento de tratamiento en un mamífero de una enfermedad asociada con un elevado nivel de producción de A β 42.

12.Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 para uso en un procedimiento de tratamiento de la enfermedad de Alzheimer en un mamífero.

13.Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 como una base sustancialmente pura.

40 14.Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en forma aislada.