AS 84 420

# PETITORIO

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

01 18857

## FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
2000-3

**1** **SOLICITUD DE**

[X] Patente de Invención. ✓ [ ] Patente de Modelo de Utilidad.

| | | |
|---|---|---|
| **2** **SOLICITANTE (71)** | Nombre: BRISTOL - MYERS SQUIBB COMPANY ✓<br>Dirección: P O Box 4000, Princeton New Jersey 08543-4000 ✓<br>Teléfono: Fax:<br>E-mail:<br>Domicilio: Estados Unidos ✓ | **IDENTIFICACIÓN**<br>C.C. [ ] NIT [ ]<br>C.E [ ] Otro [ ]<br>Número _____ |
| **3** **REPRESENTANTE O APODERADO (74)** | Nombre: RIVERO CASTRO DUQUE ✓<br>Dirección: Cra 7 No 16-56 Piso 9<br>Teléfono: 3-802200 Fax:<br>E-mail: | **IDENTIFICACIÓN**<br>C.C. [ ] NIT [ ]<br>C.E. [ ] Otro [ ]<br>Número _____ TP____ |
| **4** **INVENTOR (ES) (72)** | Nombre: En Hoja Anexa (Fol 4)<br>Dirección:<br>Teléfono: Fax:<br>E-mail:<br>Domicilio | **IDENTIFICACIÓN**<br>C.C. [ ] Otro [ ]<br>C.E. [ ]<br>Número _____ |

**5** Título (54) INHIBIDORES A BASE DE PIRROLIDINA FUSIONADA CON CICLOPROPILO DE DIPEPTIDIL PEPTIDASA IV Y METODO ✓

**6** Clasificación Internacional (51) A61 K 31/435

**7** Prioridad SI [X] NO [ ]

| (33) País de Origen | (32) Fecha | (31) Número de Solicitud |
|---|---|---|
| US | 00-03-10 ✓ | 60/188,555 ✓ |
| | | |
| | | |
| | | |
| | | |

**8** Para publicar a partir de la fecha de la presente solicitud a los.
6 meses [ ] 12 meses [ ] 18 meses [ ] Otro [ ]

**9** Comprobante de pago No. 6,840 - 8,217 Fecha Febrero/2001

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

2

(10) **ANEXOS**

- [X] Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud. $356.640
- [ ] Comprobante de pago de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación.
- [X] Comprobante de pago por reivindicación de prioridad. $100.000
- [ ] Certificado de existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.
- [X] Poderes, si fuere el caso. Protocolo No.19358
- [ ] Copia certificada de la primera solicitud, si se reivindica prioridad.
- [ ] Traducción simple de la primera solicitud, si se reivindica prioridad.
- [ ] Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.
- [X] Descripción de la invención.
- [X] Una o más reivindicaciones.
- [ ] Dibujos y/o planos necesarios
- [ ] De ser el caso, copia del contrato de acceso.
- [ ] De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.
- [ ] De ser el caso, certificado de depósito del material biológico
- [ ] Arte final 12x12.

(11) **FIGURA CARACTERÍSTICA:**

(12)

NOMBRE: RAMIRO CASTRO DUQUE

FIRMA:

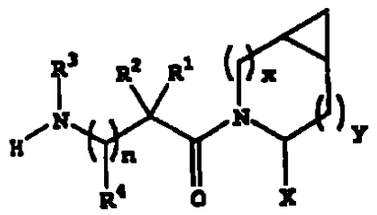
C.C. 170.322 de BtáT.P. 1003 del C.S.J.

CPB/hsr. Marzo 08. 2001

Instrucciones para la presentación de los anexos, ver reverso de esta página.

## RESUMEN DE LA INVENCION

Suministrar compuestos inhibidores de la dipeptidil peptidasa IV (DP 4) que tienen la fórmula:



en donde x es 0 ó 1 y Y es 0 ó 1 (siempre que X = 1 cuando Y = 0 y X = 0 cuando Y = 1);
n es 0 ó 1; X es H o CN;
y donde $R^1$, $R^2$, $R^3$ y $R^4$ son como se describió aquí.

**Brigard & Castro**
Abogados

Apartado 3692

Cra. 7 16-56
Bogotá - Colombia S.A.

Tel. Conm. 3802200
Tel./Fax: (57.1) 2827976
(57.1) 3802700

E.Mail:bricas@brigardycastro.com.co

4

**AS: 84.420 - INVENTORES**

1. Jeffrey A. Robl
   7 Tulip Dr., Newtown,
   Pennsylvania 18940
   Estados Unidos de América

2. Richard B. Sulsky
   2 Coventry Sq, West Trenton,
   New Jersey 08628
   Estados Unidos de América

3. David J. Augeri
   107 Carter Rd., Princeton,
   New Jersey 08540
   Estados Unidos de América

4. David R. Magnin
   40 Cottage Ct., Hamilton,
   New Jersey, 08690
   Estados Unidos de América

5. Lawrence G. Hamann
   24 E. Riding Dr., Cherry Hill,
   New Jersey 08003
   Estados Unidos de América

6. David A. Betebenner
   3 Easton Ct., Lawrenceville,
   New Jersey 08648
   Estados Unidos de América

**Industria y Comercio**

SUPERINTENDENCIA

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 01 - 6,840
FECHA : FEBRERO 7 DE 2001

Dependencia: Área Disciplinaria de Marcas Directas

##### C O N S I G N A C I O N #####

| DEPOSITANTE | TIPO PAGO | BANCO | CUENTA | No. PAGO | FECHA PGO | Vr. PAGO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| BRIGARD & CASTRO LTDA | RECIBO DE CAJA | | | 2264 | 18/01/2001 | 608,000.00 |
| BRIGARD & CASTRO LTDA | RECIBO DE CAJA | | | 2265 | 18/01/2001 | 608,000. |
| BRIGARD & CASTRO LTDA | RECIBO DE CAJA | | | 2266 | 18/01/2001 | 608,000. |
| BRIGARD & CASTRO LTDA | RECIBO DE CAJA | | | 2262 | 18/01/2001 | 608,000.00 |
| BRIGARD & CASTRO LTDA | RECIBO DE CAJA | | | 2267 | 18/01/2001 | 608,000.00 |
| BRIGARD & CASTRO LTDA | RECIBO DE CAJA | | | 79257 | 27/12/2000 | 608,000.00 |
| BRIGARD & CASTRO LTDA | RECIBO DE CAJA | | | 2268 | 18/01/2001 | 608,000.00 |
| BRIGARD & CASTRO LTDA | RECIBO DE CAJA | | | 72146 | 22/11/2000 | 608,000.00 |
| BRIGARD & CASTRO LTDA | RECIBO DE CAJA | | | 77993 | 20/12/2000 | 608,000.00 |

##### C O N C E P T O #####

| CANT. | RENTISTICO | CONCEPTO | TOTAL CONCEPTO |
|---|---|---|---|
| 1 | 50003-01-01 SOLICITUDES | 1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN | 356,640.00 |
| | | TOTAL : $ | 356,6 . |

SON: TRESCIENTOS CINCUENTA Y SEIS MIL SEISCIENTOS CUARENTA PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador: 382 0840
Fax: 350 5220
e-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C.,Colombia

6

**Industria y Comercio**

SUPERINTENDENCIA

NIT : 800176089-

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 01 - 8,217
FECHA : FEBRERO 9 DE 2001

##### C O N S I G N A C I O N #####

| DEPOSITANTE | TIPO PAGO | BANCO | CUENTA | No. PAGO | FECHA PGO | Vr. PAGO |
|---|---|---|---|---|---|---|
| BRIGARD & CASTRO LTDA | CONSIGNACION | BANCO POPULAR | 050-00110-6 | 2691920 | 09/02/2001 | 5,516,000.00 |

##### C O N C E P T O #####

| CANT. | RENTISTICO | CONCEPTO | | TOTAL CONCEPTO |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 50005-01-01 SOLICITUDES | 82 | INVOCACION DE UNA PRIORIDAD EN NU | 100,000.00 |
| | | | TOTAL : $ | 100,000.00 |

SON: CIEN MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No._____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador: 382 0840
Fax: 350 5220
e-mail: info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C.,Colombia

77

# INHIBIDORES A BASE DE PIRROLIDINA FUSIONADA CON CICLOPROPILO DE DIPEPTIDIL PEPTIDASA IV Y METODO

Folio 7 tarjeta propietarios

# INHIBIDORES A BASE DE PIRROLIDINA FUSIONADA CON CICLOPROPILO DE DIPEPTIDIL PEPTIDASA IV Y METODO

## CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a inhibidores de dipeptidil peptidasa IV (DP-4), a base de pirrolidina fusionada con ciclopropilo, y a un método para tratar la diabetes, especialmente diabetes del Tipo II, así como también hiperglicemia, Síndrome X, complicaciones diabéticas, hiperinsulinemia, obesidad, aterosclerosis y enfermedades relacionadas, así como también varias enfermedades inmunomoduladoras y enfermedad inflamatorias de los intestinos, empleando tales pirrolidinas fusionadas con ciclopropilo solas o en combinación con otros agentes de tipo antidiabético y/u otro agente de tipo terapéutico.

## ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La dipeptidil peptidasa IV (DP-4) es una aminodipeptidasa de serina no clásica, enlazada

a una membrana la cual se localiza en una variedad de tejidos (intestino, hígado, pulmón, riñón) así como también en la circulación de T-linfocitos (en donde la enzima es conocida como CD-26). La misma es responsable de la división metabólica de ciertos péptidos endógenos (GLP-1(7-36), glucagon) in vivo y ha demostrado actividad proteolítica contra una variedad de otros péptidos (GHRH, NPY, GLP-2, VIP) in vitro.

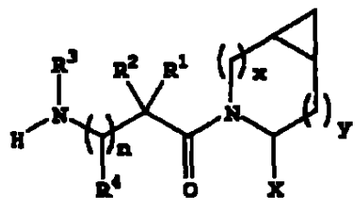
GLP-1(7-36) es un péptido de 29 aminoácidos derivado por procesamiento postranslacional de proglucagon en el intestino delgado. GLP-1(7-36) tiene acciones múltiples in vivo incluyendo la estimulación de secreción de insulina, inhibición de la secreción de glucagon, la promoción de saciedad, y la lentitud del vaciado gástrico. Basado en su perfil fisiológico, las acciones de GLP-1(7-36) se espera que sean benéficas en la prevención y tratamiento de diabetes del tipo II y potencialmente de la obesidad. Para soportar esta demanda, la administración exógena de GLP-1(7-36) (infusión continua) en pacientes diabéticos ha demostrado eficacia en esta

población de pacientes. Desafortunadamente, GLP-1(7-36) se degrada rápidamente in vivo y se ha demostrado que tiene un promedio de vida corto in vivo (t1/2≈1.5 min). Basado en un estudio de ratones DP-4 KO genéticamente reproducidos y en estudios in vivo/in vitro con inhibidores de DP-4 selectivos, se ha demostrado que DP-4 es la enzima de degradación primaria de GLP-1(7-36) in vivo. GLP-1(7-36) es degradado por DP-4 eficientemente a GLP-1(9-36), el cual se ha especulado que actúa como un antagonista fisiológico a GLP-1(7-36). Así, la inhibición de DP-4 in vivo deberá potenciar niveles de endógenos de GLP-1(7-36) y atenuar la formación de su antagonista GLP-1(9-36) y por consiguiente servir a mejorar la condición diabética.

## DESCRIPCION DE LA INVENCION

De acuerdo con la presente invención, se proporcionan los compuestos a base de pirrolidina fusionada con ciclopropilo, los cuales inhiben DP-4 y tienen la estructura

I



en donde x es 0 ó 1 y *y* es 0 ó 1 (siempre que

x = 1 cuando y = 0 y

x = 0 cuando y = 1);

n es 0 ó 1;

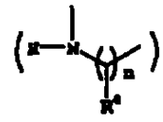
X es H o CN (es decir ciano);

$R^1$, $R^2$, $R^3$ y $R^4$ son los mismos o diferentes y son seleccionados en forma independiente de H, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, bicicloalquilo, tricicloalquilo, alquilcicloalquilo, hidroxialquilo, hidroxialquilcicloalquilo, hidroxicicloalquilo, hidroxibicicloalquilo, hidroxitricicloalquilo, bicicloalquilalquilo, alquiltioalquilo, arilalquiltioalquilo, cicloalquenilo, arilo, aralquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloheteroalquilo y cicloheteroalquilalquilo, todos substituidos opcionalmente a través de átomos de carbono disponibles con 1, 2, 3, 4 ó 5

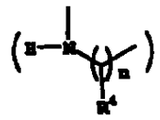
grupos seleccionados de hidrógeno, halo, alquilo, polihaloalquilo, alcoxi, haloalcoxi, polihaloalcoxi, alcoxicarbonilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, policicloalquilo, heteroarilamino, arilamino, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilalquilo, hidroxi, hidroxialquilo, nitro, ciano, amino, amino substituido, alquilamino, dialquilamino, tiol, alquiltio, alquilcarbonilo, acilo, alcoxicarbonilo, aminocarbonilo, alquinilaminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, alquenilaminocarbonilo, alquilcarboniloxi, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alquilsulfonilamino, alquilaminocarbonilamino, alcoxicarbonilamino, alquilsulfonilo, aminosulfonilo, alquilsulfinilo, sulfonamido o sulfonilo;

y $R^1$ y $R^3$ se pueden tomar opcionalmente de manera conjunta para formar $-(CR^5R^6)_m-$ en donde m es 2 a 6, y $R^5$ y $R^6$ son los mismos o diferentes y se seleccionan en forma independiente a partir de hidroxi, alcoxi, ciano, H, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, cicloalquenilo, arilo, arilalquilo, heteroarilo,

heteroarilalquilo, cicloheteroalquilo, halo, amino, amino substituido, cicloheteroalquilalquilo, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alcoxicarbonilamino, ariloxicarbonilamino, alcoxicarbonilo, ariloxicarbonilo, o alquilaminocarbonilamino, o $R^1$ y $R^4$ se pueden tomar opcionalmente de manera conjunta para formar $-(CR^7R^8)_p-$ en donde p es 2 a 6, y $R^7$ y $R^8$ son los mismos o diferentes y se seleccionan independientemente de hidroxi, alcoxi, ciano, H, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, cicloalquenilo, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloheteroalquilo, halo, amino, amino substituido, cicloheteroalquilalquilo, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alcoxicarbonilamino, ariloxicarbonilamino, alcoxicarbonilo, ariloxicarbonilo, o alquilaminocarbonilamino, u

opcionalmente $R^1$ y $R^3$ conjuntamente con  forman un anillo de 5 a 7 elementos que contienen un total de 2 a 4 heteroátomos seleccionados de N, O, S, SO, o $SO_2$;

u opcionalmente $R^1$ y $R^3$ conjuntamente

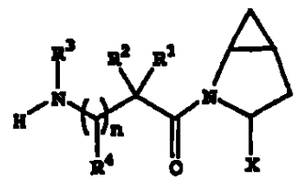


con forman un anillo cicloheteroalquilo de 4 a 8 elementos en donde el anillo cicloheteroalquilo tiene un anillo arilo opcional fusionado a éste o un anillo cicloalquilo de 3 a 7 elementos, opcional, fusionado a éste;

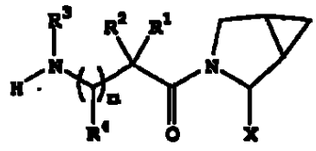
y que incluyen sales de los mismos farmacéuticamente aceptables, y ésteres de profármacos de los mismos, y todos los estereoisómeros de los mismos.

Así, los compuestos de la fórmula I de la invención incluyen las estructuras siguientes

IA



IB



fb 15

Además, de acuerdo con la presente invención, se proporciona un método para tratar diabetes, especialmente diabetes Tipo II, así como también homeostasis de glucosa dañada, tolerancia de glucosa dañada, infertilidad, síndrome de ovario policístico, desórdenes del crecimiento, debilidad, artritis, rechazo a aloinjertos en el transplante, enfermedades autoinmunes (tales como escleroderma y esclerosis múltiple), varias enfermedades inmunomoduladoras (tales como lupus eritematosa o psoriasis), SIDA, enfermedades intestinales (tales como enteritis de necrotización, enfermedades de inclusión de microvellosidad o enfermedad celiaca), síndrome inflamatorio de los intestinos, daño o atrofia mucosa intestinal inducida por quimioterapia, anorexia nerviosa, osteoporosis, Síndrome X, síndrome dismetabólico, complicaciones diabéticas, hiperinsulinemia, obesidad, aterosclerosis y enfermedades relacionadas, así como también enfermedad inflamatoria del intestino (tal como enfermedad de Crohn y colitis ulcerativa), en donde una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la estructura I (que inhibe DP

4) se administra a un paciente humano con necesidad de tal tratamiento.

Las condiciones, enfermedades, y males colectivamente mencionados como "Síndrome X" o Síndrome Metabólico se detallan en Johannsson *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 82, 727-734 (1997).

Además, de acuerdo con la presente invención, se proporciona un método para tratar diabetes y enfermedades relacionadas como se definió anteriormente y más adelante, así como también cualesquiera otros estados de enfermedad mencionados anteriormente, en donde una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de un compuesto de la estructura I y uno, dos, tres o más de otros tipos de agente(s) antidiabético(s) (los cuales se pueden emplear para tratar la diabetes y enfermedades relacionadas) y/o uno, dos o tres o más de otros tipos de agente(s) terapéutico(s) se administran a un paciente humano con necesidad de tratamiento.

El término "diabetes y enfermedades relacionadas" se refiere a diabetes Tipo II, diabetes Tipo I, tolerancia a la glucosa dañada, obesidad, hiperglicemia, Síndrome X, síndrome

dismetabólico, complicaciones diabéticas, síndrome dismetabólico, e hiperinsulinemia.

Las condiciones, enfermedades y males colectivamente se refieren como "complicaciones diabéticas" incluyen retinopatía, neuropatía y nefropatía, y otras complicaciones de diabetes conocidas.

El término "otro(s) tipo(s) de agentes terapéuticos" como se emplea aquí se refiere a uno o más agentes antidiabéticos (menos inhibidores DP4 de la fórmula I), uno o más agentes antiobesidad, y/o uno o más agentes moduladores de lípidos (incluyendo agentes antiateroescleróticos), y/o uno o más agentes de infertilidad, uno o más agentes para tratar el síndrome de ovario policístico, uno o más agentes para tratar desórdenes del crecimiento, uno o más agentes para tratar la debilidad, uno o más agentes para tratar la artritis, uno o más agentes para prevenir el rechazo de aloinjertos en el transplante, uno o más agentes para tratar enfermedades autoinmunes, uno o más agentes antiSIDA, uno o más agentes antiosteoporosis, uno o más agentes para tratar enfermedades inmunomoduladoras, uno o más agentes para tratar

el síndrome o la enfermedad inflamatoria del intestino, crónica, y/o uno o más agentes para tratar la anorexia nerviosa.

El término agente "modulador de lípidos" como se emplea aquí se refiere a agentes los cuales disminuyen LDL y/o elevan HDL y/o disminuyen triglicéridos y/o disminuyen el colesterol total y/u otros mecanismos conocidos para tratar terapéuticamente desórdenes de lípidos.

En los métodos anteriores de la invención, el compuesto de la estructura I se empleará en una relación o proporción en peso para el agente antidiabético u otro agente de tipo terapéutico (dependiendo de su modo de operación) dentro del rango desde aproximadamente 0.01:1 a en forma aproximada 500:1, preferiblemente desde en forma aproximada 0.1:1 a en forma aproximada 100:1, en forma más preferida desde aproximadamente 0.2:1 a en forma aproximada 10:1.

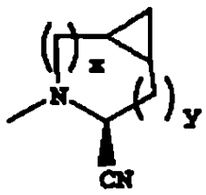
Los compuestos de la fórmula I son preferidos, en donde $R^3$ es H o alquilo, $R^1$ es H, alquilo, cicloalquilo, bicicloalquilo, tricicloalquilo, alquilcicloalquilo,

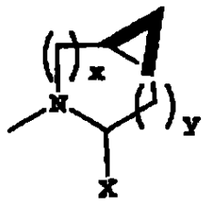
hidroxialquilo, hidroxitricicloalquilo, hidroxicicloalquilo, hidroxibicicloalquilo, o hidroxialquilcicloalquilo, $R^2$ es H o alquilo, n es 0, X es CN, x es 0 ó 1 y y es 0 ó 1.

Los compuestos más preferidos son los de la fórmula I como se describió anteriormente en donde X es  CN o  CN,

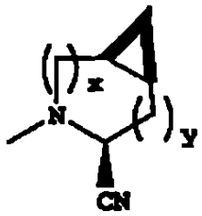
y/o en donde el grupo ciclopropilo fusionado es identificado como  .

Así, los compuestos preferidos de la fórmula I de la invención incluirán la porción:



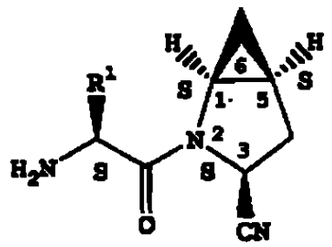




o



Los compuestos particularmente preferidos son los siguientes:

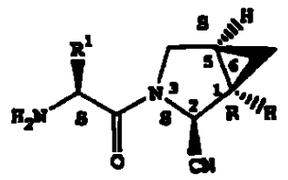
A)



[1S,2(2S),3S,5S]

en donde $R^1$ es alquilo, cicloalquilo, bicicloalquilo, tricicloalquilo, alquilcicloalquilo, hidroxialquilo, hidroxicicloalquilo, hidroxialquilcicloalquilo, hidroxibicicloalquilo o hidroxitricicloalquilo;

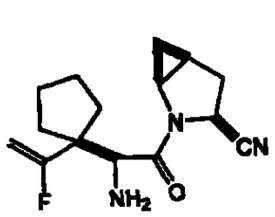
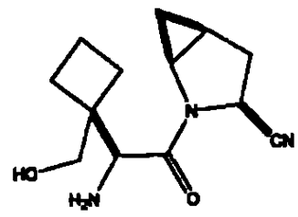
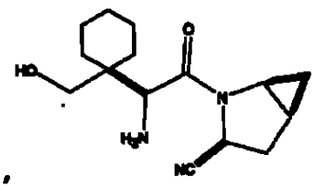
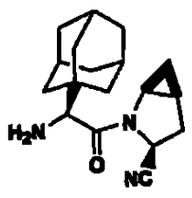
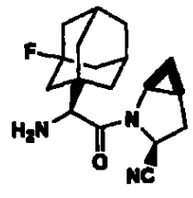
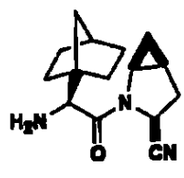
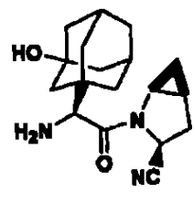
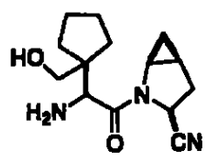
B)



[1R,2S,3(2S),5S]

en donde $R^1$ es alquilo, cicloalquilo, bicicloalquilo, tricicloalquilo, hidroxibicicloalquilo, hidroxitricicloalquilo,

alquilcicloalquilo hidroxialquilo, hidroxicicloalquilo o hidroxialquilcicloalquilo así como también los siguientes:








y


Los compuestos de la estructura I se pueden generar por los métodos como se muestra en los esquemas de reacción siguientes y la descripción de los mismos.

Refiriéndose al Esquema de Reacción 1, el compuesto 1, en donde $PG_1$ es un grupo de protección de amina común tal como Boc, Cbz, o FMOC y $X^1$ es H o $CO_2R^9$ como se describe posteriormente, se puede generar por métodos

como se describen aquí o en la literatura (por ejemplo, véase Sagnard et al, Tet-Lett., 1995, 36, pp. 3148-3152, Tverezovsky et al, Tetrahedron, 1997, 53, pp. 14773-14792, Hanessian et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, p. 2123-2128). La remoción del grupo $PG_1$ por métodos convencionales (por ejemplo, (1) TFA o HCl cuando $PG_1$ es Boc, o (2) $H_2$/Pd/C, TMSI cuando $PG_1$ es Cbz, o (3) $Et_2NH$ cuando $PG_1$ es (FMOC) produce la amina libre 2. La amina 2 se puede acoplar o unir a varios aminoácidos protegidos tales como 3 (en donde $PG_2$ puede ser cualquiera de los grupos de protección $PG_1$) que usan condiciones de acoplamiento de péptidos estándares (por ejemplo, EDAC/HOAT, i-BuCOCOCl/TEA, PyBop/NMM) para producir el dipéptido 4 correspondiente. La remoción del grupo protector de amina $PG_2$ proporciona el compuesto Ia de la invención en donde X=H.

En el caso en donde $X^1$=$CO_2R^9$ (en donde $R^9$ es alquilo o grupos aralquilo tales como metilo, etilo, t-butilo, o bencilo), el éster debe ser hidrolizado bajo una variedad de condiciones, por ejemplo con NaOH acuoso en un solvente adecuado tal como metanol, THF, o dioxano, para

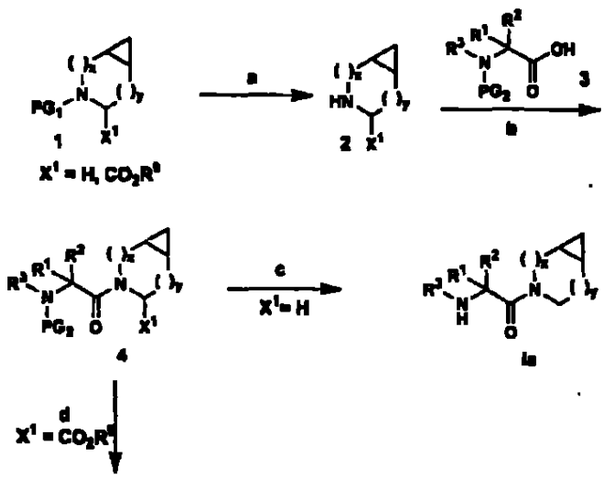
proporcionar el ácido 5. La conversión del grupo ácido a la carboxamida primaria, que produce 6, se puede efectuar por la activación del grupo ácido (por ejemplo, empleando i-BuOCOCl/TEA o EDAC) seguido por el tratamiento con $NH_3$ o un equivalente de amoniaco en un solvente tal como dioxano, éter, o metanol. La funcionalidad de amida se puede convertir al grupo nitrilo por una variedad de condiciones estándares (por ejemplo, $POCl_3$/piridina/imidazol o cloruro cianúrico/DMF o anhidrido trifluoroacético, THF, piridina) para dar 7. Finalmente, la remoción del grupo de protección $PG_2$ similar al anterior proporciona el compuesto de la invención Ib.

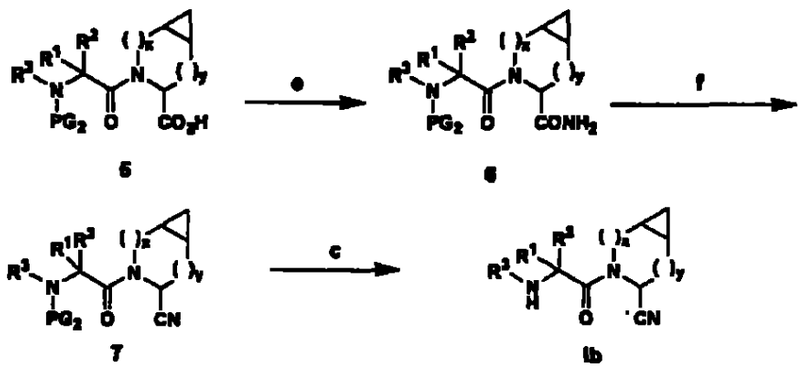
En una secuencia diferente (Esquema 2), el compuesto 1 en donde $X^1$ es $CO_2R^9$ se puede saponificar al ácido y posteriormente someter a amidación como se describió anteriormente para dar la amida 8. La remoción del grupo $PG_1$ seguido por el acoplamiento de péptidos a 3 produce el compuesto 6, un intermediario en la síntesis de Ib.

Alternativamente, el grupo carboxamida en 8 se puede convertir al nitrilo como se describió anteriormente para dar el compuesto 9.

La desprotección de $PG_1$ produce 10 el cual puede ser sometido a condiciones de acoplamiento de péptidos, estándares, para proporcionar 7, un intermediario en la síntesis de Ib. El compuesto 10 también se puede generar por la oxidación de la amina 2 (por ejemplo, NCS) seguido por hidrólisis y subsecuente tratamiento con cianuro. El compuesto 10 se puede obtener como una mezcla de estereoisómeros o un único isómero/diastereómero el cual se puede epimerizar (empleando los procedimientos convencionales) para dar una mezcla de estereoisómeros.

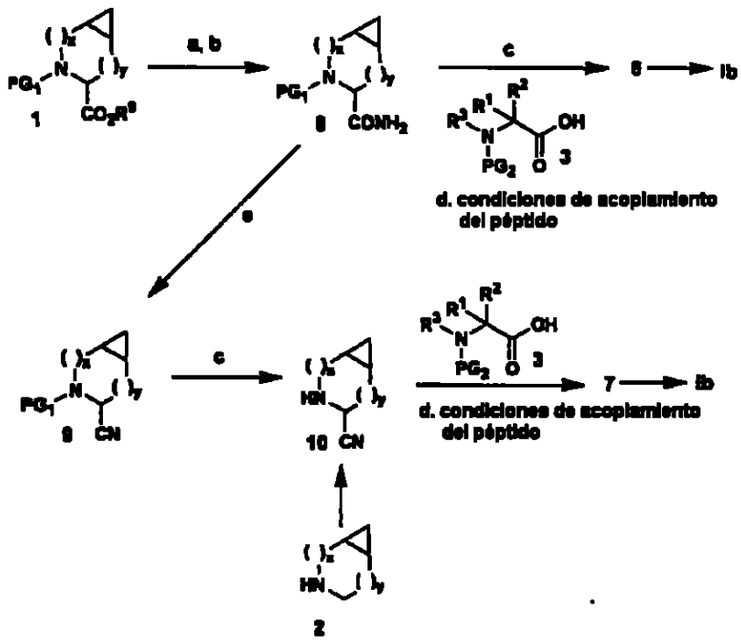
**Esquema 1**





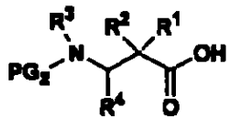
a. $PG_1$=Boc, TFA o HCl; $PG_1$= Cbz, $H_2$/Pd/C o TMSI; $PG_1$ = FMOC, $Et_2NH$ b. EDAC, HOBT, DMF o i-BuOCOCl/TEA o PyBop, NMM c. $PG_2$ = $PG_1$, (véanse las condiciones para a) d. LiOH o NaOH MeOH o THF/$H_2O$ o dioxano e. i-BuOCOCl/NMM o i-BuOCOCl/TEA o EDAC, entonces $NH_3$ · en dioxano o $Et_2O$ f. $POCl_3$, piridina, imidazol o cloruro cianúrico, DMF o TFAA, THF, piridina.

**Esquema 2**




a. LiOH o NaOH en MeOH o THF/$H_2O$ o dioxano b. i-BuOCOCl/NMM o i-BuOCOCl/TEA o EDAC, luego $NH_3$ en dioxano o $Et_2O$ c. $PG_1$ = Boc, TFA o HCl; $PG_1$ = Cbz, $H_2$/Pd/C o TMSI; $PG_1$ = FMOC, $Et_2NH$ d. EDAC, HOBT, DMF o i-BuOCOCl/TEA o PyBop, NMM e. $POCl_3$, piridina, imidazol o cloruro cianúrico, DMF.

De una manera semejante, los β-aminoácidos tales como

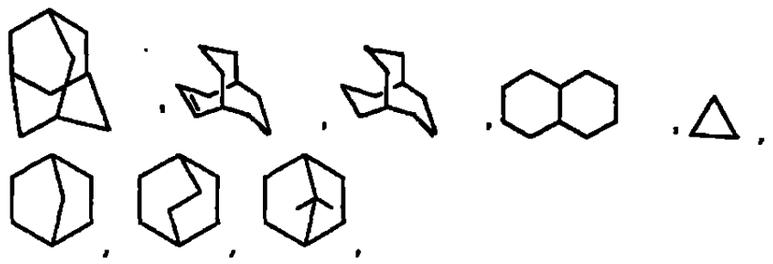


se pueden acoplar con 2, la amina libre de 8, o 10 para dar las amidas correspondientes las cuales se pueden convertir a los derivados de β-aminoácidos del compuesto Ia o Ib siguiendo la misma química.

A menos que se indique de otra forma, el término "alquilo inferior", "alquilo" o "alq" como se emplea aquí solo o como parte de otro grupo incluyen hidrocarburos tanto de cadena recta como ramificada, que contienen 1 a 20 carbonos, preferiblemente 1 a 10 carbonos, en forma más preferida 1 a 8 carbonos, en la cadena normal, tal como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, t-butilo, isobutilo, pentilo, hexilo, isohexilo, heptilo, 4,4-dimetilpentilo, octilo, 2,2,4-trimetil-pentilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, los diversos isómeros de cadena ramificada de los mismos, y semejantes así como también tales grupos que incluyen 1 a 4 substituyentes tales como halo, por ejemplo F, Br, Cl o I o $CF_3$, alquilo, alcoxi, arilo, ariloxi, aril(arilo) o diarilo, arilalquilo, arilalquiloxi, alquenilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, cicloalquilalquiloxi, amino, hidroxi,

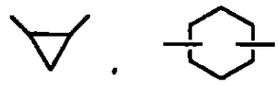
hidroxialquilo, acilo, heteroarilo, heteroariloxi, heteroarilalquilo, heteroarilalcoxi, ariloxialquilo, alquiltio, arilalquiltio, ariloxiarilo, alquilamido, alcanoilamino, arilcarbonilamino, nitro, ciano, tiol, haloalquilo, trihaloalquilo y/o alquiltio.

A menos que se indique de otra forma, el término "cicloalquilo" como se emplea aquí solo o como parte de otro grupo incluye grupos de hidrocarburos cíclicos (que contienen 1 ó 2 enlaces dobles) saturados o parcialmente insaturados que contienen 1 a 3 anillos, incluyendo alquilo monocíclico, alquilo bicíclico (o bicicloalquilo) y alquilo tricíclico (tricicloalquilo), que contienen un total de 3 a 20 carbonos que forman el anillo, preferiblemente 3 a 10 carbonos, que forman el anillo y los cuales se pueden fusionar a 1 ó 2 anillos aromáticos como se describe para arilo, los cuales incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclodecilo y ciclododecilo, ciclohexenilo, adamantilo,



Cualquiera de estos grupos se puede substituir en forma opcional con 1 a 4 substituyentes tales como halógeno, alquilo, alcoxi, hidroxi, arilo, ariloxi, arilalquilo, cicloalquilo, hidroxialquilo, alquilamido, alcanoilamino, oxo, acilo, arilcarbonilamino, amino, nitro, ciano, tiol y/o alquiltio y/o cualquiera de los substituyentes para alquilo.

El término "cicloalquenilo" como se emplea aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a hidrocarburos cíclicos que contienen 3 a 12 carbonos, preferiblemente 5 a 10 carbonos y 1 ó 2 enlaces dobles. Los grupos cicloalquenilo ejemplares incluyen ciclopentenilo, ciclohexenilo, cicloheptenilo, ciclooctenilo, ciclohexadienilo, y cicloheptadienilo, los cuales se pueden substituir opcionalmente como se define para cicloalquilo.

El término "cicloalquileno" como se emplea aquí se refiere a un grupo "cicloalquilo" el cual incluye enlaces libres y así está un grupo de enlace tal como  y semejantes, y opcionalmente se puede substituir como se definió anteriormente para "cicloalquilo".

El término "alcanoilo" como se usa aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a alquilo enlazado a un grupo carbonilo.

A menos que se indique de otra forma, el término "alquenilo inferior" o "alquenilo" como se usa aquí por él mismo o como parte de otro grupo se refiere a radicales de cadena recta o ramificada de 2 a 20 carbonos, preferiblemente 2 a 12 carbonos, y en forma más preferida de 1 a 8 carbonos en la cadena normal, los cuales incluyen uno a seis enlaces dobles en la cadena normal, tal como vinilo, 2-propenilo, 3-butenilo, 2-butenilo, 4-pentenilo, 3-pentenilo, 2-hexenilo, 3-hexenilo, 2-heptenilo, 3-heptenilo, 4-heptenilo, 3-octenilo, 3-nonenilo, 4-decenilo, 3-undecenilo, 4-dodecenilo, 4,8,12-tetradecatrienilo, y semejantes y los cuales se

pueden substituir opcionalmente con 1 a 4 substituyentes, principalmente, halógeno, haloalquilo, alquilo, alcoxi, alquenilo, alquinilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, amino, hidroxi, heteroarilo, cicloheteroalquilo, alcanoilamino, alquilamido, arilcarbonil-amino, nitro, ciano, tiol, alquiltio y/o cualquiera de los substituyentes alquilo descritos aquí.

A menos que se indique de otra forma, el término "alquinilo inferior" o "alquinilo" como se usa aquí por ellos mismos o como parte de otro grupo se refiere a radicales de cadena recta o ramificada de 2 a 20 carbonos, preferiblemente 2 a 12 carbonos, y en forma más preferida de 2 a 8 carbonos en la cadena normal, los cuales incluyen un triple enlace en la cadena normal, tal como 2-propinilo, 3-butinilo, 2-butinilo, 4-pentinilo, 3-pentinilo, 2-hexinilo, 3-hexinilo, 2-heptinilo, 3-heptinilo, 4-heptinilo, 3-octinilo, 3-noninilo, 4-decinilo, 3-undecinilo, 4-dodecinilo y semejantes, y los cuales se pueden substituir opcionalmente con 1 a 4 substituyentes, principalmente, halógeno, haloalquilo, alquilo, alcoxi, alquenilo, alquinilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo,

amino, heteroarilo, cicloheteroalquilo, hidroxi, alcanoilamino, alquilamido, arilcarbonilamino, nitro, ciano, tiol, y/o alquiltio, y/o cualquiera de los substituyentes alquilo descritos aquí.

Los términos "arilalquenilo" y "arilalquinilo" cuando se usan solos o como parte de otro grupo se refieren a grupos alquenilo y alquinilo como se describió anteriormente que tienen un substituyente arilo.

En donde los grupos alquilo como se definieron anteriormente tienen enlaces sencillos para el enlace o unión con otros grupos en dos átomos de carbono diferentes, los mismos son nombrados grupos "alquileno" y se pueden substituir opcionalmente como se definió anteriormente para "alquilo".

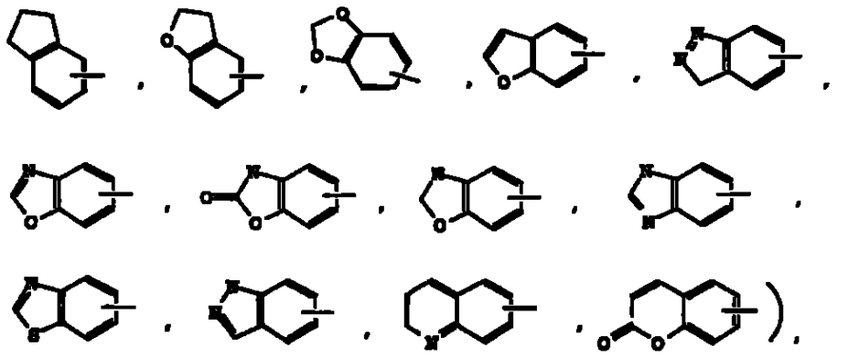
En donde los grupos alquenilo como se definieron anteriormente y grupos alquinilo como se definieron anteriormente, en forma respectiva, tienen enlaces sencillos para unir o enlazar a dos átomos de carbono diferentes, los mismos son llamados "grupos alquenileno" y "grupos alquinileno", respectivamente, y se pueden substituir de manera opcional como se

definió anteriormente para "alquenilo" y "alquinilo".

El término "halógeno" o "halo" como se usa aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a cloro, bromo, flúor, y yodo así como también $CF_3$, con cloro o flúor que es preferido.

El término "ion metálico" se refiere a iones de metales alcalinos tales como sodio, potasio o litio y iones de metales alcalinotérreos tales como magnesio y calcio, así como también zinc y aluminio.

A menos que se indique de otra forma, el término "arilo" como se emplea aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a grupos aromáticos monocíclicos o bicíclicos que contienen 6 a 10 carbonos en la porción del anillo (tal como fenilo o naftilo incluyendo 1-naftilo y 2-naftilo) y opcionalmente pueden incluir uno a tres anillos adicionales fusionados a un anillo carbocíclico o un anillo heterocíclico (tal como anillos de arilo, cicloalquilo, heteroarilo o cicloheteroalquilo por ejemplo



y opcionalmente se pueden substituir a través de átomos de carbono disponibles con 1, 2 ó 3 grupos seleccionados a partir del hidrógeno, halo, haloalquilo, alquilo, haloalquilo, alcoxi, haloalcoxi, alquenilo, trifluorometilo, trifluorometoxi, alquinilo, cicloalquilalquilo, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilalquilo, arilo, heteroarilo, arilalquilo, ariloxi, ariloxialquilo, arilalcoxi, ariltio, arilazo, heteroarilalquilo, heteroarilalquenilo, heteroarilheteroarilo, heteroariloxi, hidroxi, nitro, ciano, amino, amino substituido en donde el amino incluye 1 ó 2 substituyentes (los cuales son alquilo, arilo o cualquiera de los otros compuestos arilo mencionados en las definiciones), tiol, alquiltio, ariltio, heteroariltio, ariltioalquilo, alcoxiariltio,

alquilcarbonilo, arilcarbonilo, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, alcoxicarbonilo, aminocarbonilo, alquilcarboniloxi, arilcarboniloxi, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, arilsulfinilo, arilsulfinilalquilo, arilsulfonilamino o arilsulfon-aminocarbonilo y/o cualquiera de los substituyentes de alquilo descritos aquí.

A menos que se indique de otra manera, el término "alcoxi inferior", "alcoxi", "ariloxi" o "aralcoxi" como se emplea aquí solo o como parte de otro grupo incluido cualquiera de los grupos alquilo, aralquilo o arilo, anteriores, enlazados a un átomo de oxígeno.

A menos que se indique de otra forma, el término "amino substituido" como se emplea aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a amino substituido con uno o dos substituyentes, el cual puede ser el mismo o diferente, tal como alquilo, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilalquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo o tioalquilo. Estos substituyentes

se pueden substituir adicionalmente con cualquiera de los grupos $R^1$ o substituyentes para $R^1$ como se describió anteriormente. Además, los substituyentes amino se pueden tomar conjuntamente con el átomo de nitrógeno al cual los mismos están unidos para formar 1-pirrolidinilo, 1-piperidinilo, 1-azepinilo, 4-morfolinilo, 4-tiamorfolinilo, 1-piperazinilo, 4-alquil-1-piperazinilo, 4-arilalquil-1-piperazinilo, 4-diarilalquil-1-piperazinilo, 1-pirrolidinilo, 1-piperidinilo, o 1-azepinilo, opcionalmente substituido con alquilo, alcoxi, alquiltio, halo, trifluorometilo o hidroxi.

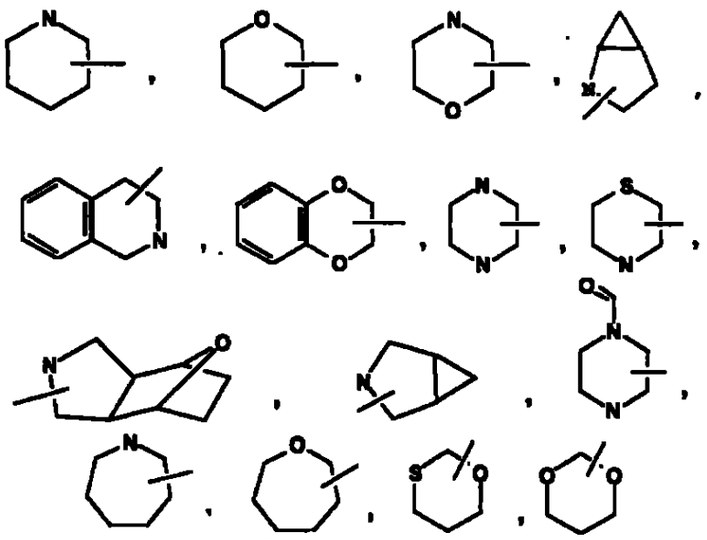
A menos que se indique de otra forma, el término "alquiltio inferior", "alquiltio", "ariltio" o "aralquiltio" como se emplea aquí solo o como parte de otro grupo incluyen cualquiera de los grupos alquilo, aralquilo o arilo, anteriores, enlazados a un átomo de azufre.

A menos que se indique de otra forma, el término "alquilamino inferior", "alquilamino", "arilamino", o "arilalquilamino" como se emplea aquí solo o como parte otro grupo incluye cualquiera de los grupos alquilo, arilo o

arilalquilo, anteriores, enlazados a un átomo de nitrógeno.

A menos que se indique de otra forma, el término "acilo" como se emplea aquí por él mismo o parte de otro grupo, como se define aquí, se refiere a un radical orgánico enlazado a un grupo carbonilo $(\overset{O}{\overset{\|}{C}})$, ejemplos de grupos acilo incluyen cualquiera de los grupos $R^1$ unidos a un carbonilo, tal como alcanoilo, alquenoilo, aroilo, aralcanoilo, heteroaroilo, cicloalcanoilo, cicloheteroalcanoilo y semejantes.

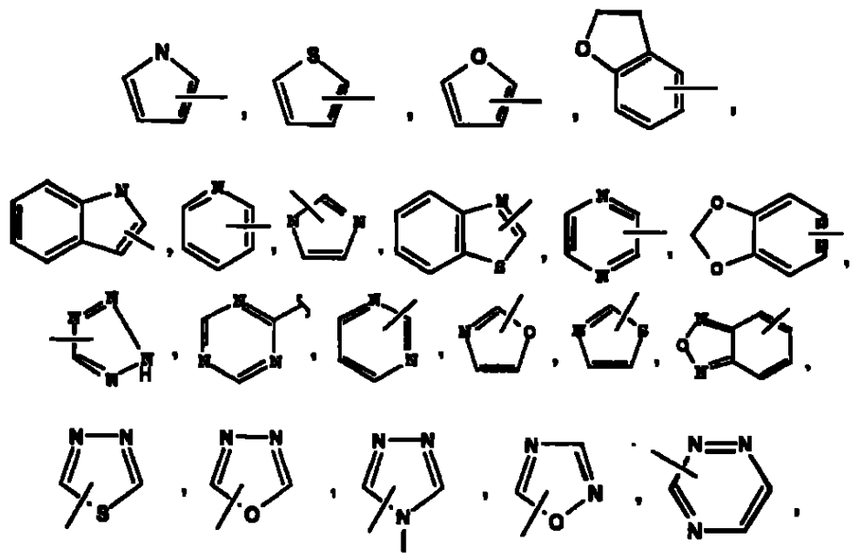
A menos que se indique de otra forma, el término "cicloheteroalquilo" como se utiliza aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a un anillo saturado o parcialmente insaturado de 5, 6 ó 7 elementos, el cual incluye 1 a 2 heteroátomos tales como nitrógeno, oxígeno y/o azufre, enlazado a través de un átomo de carbono o un heteroátomo, en donde sea posible, opcionalmente vía el enlazador $(CH_2)_r$ (en donde r es 1, 2 ó 3), tal como:



y semejantes. Los grupos anteriores pueden incluir 1 a 4 substituyentes tales como alquilo, halo, oxo y/o cualquiera de los substituyentes alquilo descritos aquí. Además, cualquiera de los anillos cicloheteroalquilo se pueden fusionar a un anillo cicloalquilo, arilo, heteroarilo o cicloheteroalquilo.

A menos que se indique de otra forma, el término "heteroarilo" como se usa aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a un anillo aromático de 5 ó 6 elementos el cual incluye 1, 2, 3 ó 4 heteroátomos tales como nitrógeno, oxígeno o azufre, y tales anillos fusionados a un anillo arilo, cicloalquilo, heteroarilo o cicloheteroalquilo (por ejemplo, benzotiofenilo,

indolilo), e incluyen posibles N-óxidos. El grupo heteroarilo opcionalmente puede incluir 1 a 4 substituyentes tales como cualquiera de los substituyentes descritos anteriormente para alquilo. Los ejemplos de grupo heteroarilo incluyen los siguientes:



y semejantes.

El término "cicloheteroalquilalquilo" como se usa aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a grupos cicloheteroalquilo como se definieron anteriormente enlazados a través de un átomo de C o heteroátomo a una cadena $(CH_2)_r$.

El término "heteroarilalquilo" o "heteroarilalquenilo" como se usa aquí solo o

como parte de otro grupo se refiere a un grupo heteroarilo como se definió anteriormente enlazado a través de un heteroátomo o átomo de C a una cadena $-(CH_2)_r-$, alquileno o alquenileno como se definió anteriormente.

El término "polihaloalquilo" como se usa aquí se refiere a un grupo "alquilo" como se definió anteriormente el cual incluye desde 2 a 9, preferiblemente de 2 a 5, substituyentes halo, tales como F o Cl, preferiblemente F, tal como $CF_3CH_2$, $CF_3$ o $CF_3CF_2CH_2$.

El término "polihaloalcoxi" como se usa aquí, se refiere a un grupo "alcoxi" o "alquiloxi" como se definió anteriormente el cual incluye desde 2 a 9, preferiblemente desde 2 a 5, substituyentes halo, tales como F o Cl, preferiblemente F, tal como $CF_3CH_2O$, $CF_3O$ o $CF_3CF_2CH_2O$.

Todos los estereoisómeros de los compuestos de la presente invención están contemplados, ya sea en mezcla o en la forma pura o substancialmente pura. Los compuestos de la presente invención pueden tener centros asimétricos en cualquiera de los átomos de carbono que incluyen cualquiera de los

substituyentes R. Por consiguiente, los compuestos de la fórmula I pueden existir en formas enantioméricas o diastereoméricas o en mezclas de las mismas. Los procesos para la preparación pueden utilizar racematos, enantiómeros o diastereómeros como materiales de partida. Cuando los productos diastereoméricos o enantioméricos se preparan, los mismos se pueden separar por métodos convencionales, por ejemplo, cromatográficos o cristalización fraccional.

Cuando se desee, los compuestos de la estructura I se pueden usar en combinación con uno o más tipos de agentes antidiabéticos (empleados para tratar diabetes y enfermedades relacionadas) y/o uno o más tipos de agentes terapéuticos los cuales se pueden administrar oralmente en la misma forma de dosificación, en una forma de dosificación oral separada o por inyección.

El otro tipo de agente antidiabético el cual se puede emplear opcionalmente en combinación con el inhibidor DP4 de la fórmula I, puede ser 1, 2, 3 o más agentes antidiabéticos o agentes antihiperglicémicos incluyendo secretagogos de insulina o

sintetizadores de insulina, u otros agentes antidiabéticos que preferiblemente tienen un mecanismo de acción diferente de la inhibición DP4 y pueden incluir biguanidas, sulfonil ureas, inhibidores de glucosidasa, PPAR γ agonistas, tales como tiazolidindionas, inhibidores de SGLT2, agonistas duales PPAR α/γ, inhibidores de aP2, inhibidores de glicogen fosforilasa, inhibidores de productos de extremo de glicosilación avanzada (AGE), y/o meglitinidas, así como también insulina, y/o péptido-1 semejante a glucagon (GLP-1) o miméticos del mismo.

Se cree que el uso de los compuestos de la estructura I en combinación con 1, 2, 3 o más de otros agentes antidiabéticos produce resultados antihiperglicémicos mayores que aquellos posibles de cada uno de estos medicamentos solo y mayores que los efectos antihiperglicémicos de aditivos combinados producidos por estos medicamentos.

El otro agente antidiabético puede ser un agente antihiperglicémico oral preferiblemente una biguanida tal como

metformina o fenformina o sales de las mismas, preferiblemente metformina HCl.

En donde el otro agente antidiabético es una biguanida, los compuestos de la estructura I serán empleados en una relación o proporción en peso para biguanida dentro del rango desde aproximadamente 0.01:1 a en forma aproximada 100:1, preferiblemente desde en forma aproximada 0.1:1 a aproximadamente 5:1.

El otro agente antidiabético también puede ser de manera preferida una sulfonil urea tal como gliburida (también conocido como glibenclamida), glimepirida (descrito en la Patente Norteamericana No. 4,379,785), glipizida, gliclazida o clorpropamida, otras sulfonilureas conocidas u otros agentes antihiperglicémicos los cuales actúan sobre el canal dependiente de ATP de las células β, con gliburida y glipizida que son preferidas, las cuales se pueden administrar en la misma forma o en formas de dosificación oral separadas.

Los compuestos de la estructura I se emplearán en una relación o proporción en peso a la sulfonil urea en el rango desde aproximadamente 0.01:1 a en forma aproximada

100:1, preferiblemente desde en forma aproximada 0.05:1 a aproximadamente 5:1.

El agente antidiabético oral también puede ser un inhibidor de glucosidasa tal como acarbosa (descrito en la Patente Norteamericana No. 4,904,769) o miglitol (descrito en la Patente Norteamericana No. 4,639,436), el cual se puede administrar en la misma forma o en una forma de dosificación oral separada.

Los compuestos de la estructura I se emplearán en una relación o proporción en peso al inhibidor de glucosidasa dentro del rango de aproximadamente 0.01:1 a en forma aproximada 100:1, preferiblemente desde en forma aproximada 0.2:1 a aproximadamente 50:1.

Los compuestos de la estructura I pueden ser empleados en combinación con un agente agonista γ PPAR tal como un agente anti-diabético oral de tiazolidinodiona u otros sensibilizadores de la insulina (los cuales tienen un efecto de sensibilidad a la insulina en pacientes NIDDM) tal como la troglitazona (Warner-Lambert's Rezulin®, descrito en la Patente Estadounidense No. 4,572,912), rosiglitazona (SKB), pioglitazona (Takeda),

Mistubishi's MCC-555 (descrito en la Patente Estadounidense No. 5,594,016), Glaxo-Wellcome's GL-262570, englitazona (CP-68722, Pfizer) o darglitazona (CP-86325, Pfizer, isaglitazona MIT/J&J), JTT-501 (JPNT/P&U), L-895645 (Merck), R-119702 (Sankyo/WL), NN-2344 (Dr. Reddy/NN), o YM-440 (Yamanouchi), preferiblemente rosiglitazona y pioglitazona.

Los compuestos de estructura I serán empleados en una relación en peso a la tiazolidinodiona en una cantidad dentro del rango de aproximadamente 0.01:1 hasta aproximadamente 100:1, preferiblemente de aproximadamente 0.1:1 hasta aproximadamente 10:1.

La sulfonil urea y la tiazolidinodiona en cantidades de menos de aproximadamente 150 mg del agente antidiabético oral, pueden ser incorporadas en una tableta individual con los compuestos de la estructura I.

Los compuestos de estructura I pueden también ser empleados en combinación con un agente antihiperglicémico tal como insulina o con el peptido-1 (GLP-1) parecido a la glucagona, tal como la amida GLP-1(1-36), amida

GLP-1(7-36), GLP-1 (7-37) (como se describe en la Patente Estadounidense No. 5,614,492 por Habener, la descripción de la cual es incorporada aquí por referencia), así como también AC2993 o Exendina-4 (Amylin) y LY-315902 o LY-307167 (Lilly) y NN221 (Novo-Nordisk), los cuales pueden ser administrados vía inyección, intranasal, o por dispositivos transdermales o bucales.

En la actualidad la metformina, las sulfonilureas, tal como gliburida, glimepirida, glipirida, glipizida, clorpropamida y gliclazida y los inhibidores de glucosidasa, acarbosa o miglitol o insulina (inyectable, pulmonar, bucal u oral) pueden ser empleadas en las formulaciones como se describe anteriormente y en cantidades y dosificaciones indicadas en la Physician's Desk Reference (PDR).

En la actualidad la metformina o la sal de la misma puede ser empleada en cantidades dentro del rango de aproximadamente 500 hasta aproximadamente 2000 mg por día, las cuales pueden ser administradas en dosis individuales o divididas de una a cuatro veces diariamente.

En la actualidad el agente anti-diabético tiazolidinodiona puede ser empleado en cantidades dentro del rango de aproximadamente 0.01 hasta aproximadamente 2000 mg/día el cual puede ser administrado en dosis individuales o

divididas de una a cuatro veces por día.

En la actualidad la insulina puede ser empleada en formulaciones, en cantidades y dosis como están indicadas por la Physician's Desk Reference.

En la actualidad los peptidos GLP-1 pueden ser administrados en formulaciones bucales orales, por administración nasal (por ejemplo inhalación de atomizador) o parenteralmente como se describe en la Patentes Estadounidenses Nos. 5,346,701 (TheraTech), 5,614,492 y 5,631,224 las cuales son incorporadas aquí por referencia.

El otro agente antidiabético puede también ser un agonista dual α/γ PPAR tal como AR-HO39242 (Astra/Zeneca), GW-409544 (Glaxo-Wellcome), KRP297 (Kyorin Merck) así como también aquellos descritos por Murakami et al, "A novel Insulin Sensitizer Acts As a Coligand for Peroxisome Proliferation - Activated Receptor Alpha (PPAR alpha) and PPAR gamma. Effect on PPAR alpha Activation on Abnormal Lipid Metabolism in Liver of Zucker Fatty Rats", Diabetes 47, 1841-1847 (1998), y en la Solicitud provisional Estadounidense Serie No.

09/664,598, presentada el 18 de Septiembre, 2000, (archivo del abogado LA29NP) descripción de la cual está incorporada aquí por referencia, empleando dosificaciones como las expuestas aquí, los cuales son compuestos designados como preferidos para usarse aquí.

El otro agente antidiabético puede ser un inhibidor SGLT2 tal como se describe en la Solicitud Estadounidense Serie No. 09/679,027 presentada el 4 de Octubre, 2000 (documento del abogado NA49NP), las cuales están incorporadas aquí para referencia, empleando dosificaciones como se exponen aquí. Se prefieren los compuestos designados como preferidos en la solicitud anterior.

El otro agente antidiabético el cual puede ser opcionalmente empleado en combinación con el inhibidor DP4 de fórmula I, puede ser un inhibidor aP2 tal como se describe en La Solicitud de Patente Estadounidense Serie No. 09/391,053, presentado el 7 de Septiembre de 1999, y Solicitud de Patente Estadounidense Serie No. 09/519,079, presentada el 6 de Marzo del 2000 (archivo del abogado LA27NP), las cuales están incorporadas aquí por referencia,

empleando dosificaciones como las expuestas aquí. Son preferidos los compuestos designados como preferidos en la solicitud anterior.

El otro agente antidiabético el cual puede ser opcionalmente empleado en combinación con el inhibidor DP4 de fórmula I, puede ser un inhibidor de la fosforilasa de glicógeno tal como se describe en WO 96/39384, EP 978279, WO 2000/47206, WO 99/43663, y Patentes Estadounidenses Nos. 5,952,322 y 5,998,463, WO 99/26659 y EP 1041068.

La meglitinida la cual puede ser opcionalmente empleada en combinación con el compuesto de la fórmula I de la invención, puede ser repaglinida, nateglinida (Novartis) o KAD1229 (PF/Kissei), con repaglinida siendo preferida.

El inhibidor DP4 de la fórmula I será empleado en proporción en peso a la meglitinida, agonista γ PPAR, agonista dual α/γ PPAR, inhibidor SGLT2, inhibidor aP2, o inhibidor de la fosforilasa de glicogeno, dentro del rango de aproximadamente 0.01:1 hasta aproximadamente 100:1, preferiblemente de aproximadamente 0.1:1 hasta aproximadamente

A50

10:1.

El agente hipolipidémico o el agente que modula los lípidos, el cual puede ser empleado opcionalmente en combinación con los compuestos de fórmula I de la invención, puede incluir 1,2,3 o más inhibidores MTP, inhibidores de la reductasa HMG CoA, inhibidores de la sintetasa de escualeno, derivados de ácido fíbrico, inhibidores ACAT, inhibidores de la lipoxigenasa, inhibidores de la absorción del colesterol, inhibidores co-transportadores de ácido $Na^+$/biliar ileal, los sobre reguladores de la actividad del receptor de LDL, inhibidores de la liasa de citrato, inhibidores de la proteína de transferencia del colesteriléster, secuestrantes del ácido biliar y/o ácido nicótico y derivados de los mismos.

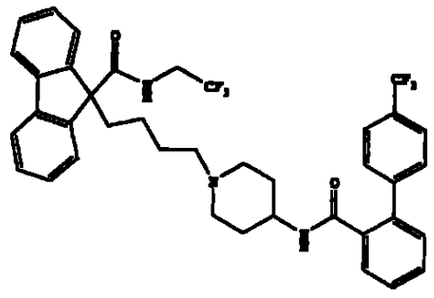
Los inhibidores MTP empleados aquí incluyen inhibidores MTP descritos en la Patente Estadounidense No. 5,595,872, Patente Estadounidense No. 5,739,135, Patente Estadounidense No. 5,712,279, Patente Estadounidense No. 5,760,246, Patente Estadounidense No. 5,827,875, Patente Estadounidense No. 5,885,983 y en la Solicitud

de Patente Serie No. 09/175,180 presentada el 20 de Octubre, 1998, ahora Patente Estadounidense No. 5,962,440. Se prefieren cada uno de los inhibidores MTP descritos en cada una de las patentes y solicitudes anteriores.

Todas las solicitudes y Patentes Estadounidenses mencionadas anteriormente están incorporadas aquí por referencia.

Se prefieren más los inhibidores MTP para ser empleados en acuerdo con la presente invención incluyendo inhibidores MTP preferidos expuestos en la Patente Estadounidense No. 5,739,135 y 5,712,279 y en la Patente Estadounidense No. 5,760,246, así como también implitapido (Bayer).

El inhibidor MTP más preferido es el 9-[4-[4-[[2-(2,2,2-Trifluoroetoxi)benzoil]amino]-1-piperidinil] butil]-N-(2,2,2-trifluoroetil)-9H-fluoreno-9-carboxamida



El agente hipolipidémico puede ser un inhibidor de la reductasa HMG CoA, el cual incluye, pero no está limitado a, la mevastatina y otros compuestos relacionados como se describen en la Patente Estadounidense No. 3,983,140, lovastatina (mevinolina) y compuestos relacionados como se describen en la Patente Estadounidense No. 4,231,938, pravastatina y compuestos relacionados, tal como se describen en la Patente Estadounidense No. 4,346,227, simvastatina y compuestos relacionados como se describen en la Patente Estadounidense No. 4,448,784 y 4,450,171. Otros inhibidores de la reductasa HMG CoA, los cuales pueden ser empleados aquí incluyen pero no están limitados a, fluvastatina, descritos en la Patente Estadounidense No. 5,354,772, cerivastatina descrita en la Patente Estadounidense No. 5,006,530 y 5,177,080, atorvastatina descrita en las Patentes Estadounidenses No. 4,681,893, 5,273,995, 5,385,929 y 5,686,104, atavastatina (nisvastatina Nissan/Sankyo's (NK-104)) descrita en la Patente Estadounidense No. 5,011,930, visastatina Shionogi-Astra/Zeneca (ZD-4522) descrita en la Patente Estadounidense

No. 5,260,440.

Los inhibidores de la sintetasa de escualeno adecuados para usarse aquí incluyen, pero no están limitados a α-fosfono-sulfonatos descritos en la Patente Estadounidense No. 5,712,396 aquellos descritos por Biller et al, J. Med. Chem., 1988, Vol. 31, No. 10, pp 1869-1871, incluyendo isoprenoides(fosfinil-metilo)fosfonatos así como también otros inhibidores de la sintetasa de escualeno conocidos, por ejemplo como se describe en la Patente Estadounidense No. 4,871,721 y 4,924,024 y en Biller, S.A., Neuenschwander, K., Ponpipom, M.M., y Poulter, C.D., Current Pharmaceutical Design, 2, 1-40 (1996).

Además, otros inhibidores de la sintetasa de escualeno adecuados para usarse aquí incluyen los pirofosfatos terpenoides descritos por P. Ortiz de Montellano et al, J. Med. Chem., 1977, 20, 243-249, el análogo de difosfato de farnesilo A y el análogo de pirofosfatos de prescualeno (PSQ-PP) como se describen por Corey y Volante, J. Am. Chem. Soc. 1976, 98, 1291-1293, fosfinilfosfonatos reportados por McClard, R.W. et al, 1987, 109,

5544 y ciclopropanos reportados por Capson, T.L., PhD dissertation, Junio, 1987, Dept. Med. Chem. U de Utah, Abstract, Table of Contents, pp 16,17, 40-43, Summary 48-51.

Otros agentes hipolipidémicos adecuados para usarse aquí incluyen, pero no están limitados a, derivados de ácido fíbrico, tal como fenofibrato, gemfibrozilo, clofibrato, bezafibrato, ciprofibrato, clinofibrate y similares, probucol, y compuestos relacionados como se describe en la Patente Estadounidense No.3,674,836, probucol y gemfibrozilo siendo preferidos, los secuentrantes de ácido biliar tal como colestiramina, colestipol y DEAE-Sephadex (Secholex®, Policexide®), así también como lipostabilo (Rhone-Poulenc), Eisai E-5050 (un derivado de etanolamina N-substituido), imanixilo (HOE-402), tetrahidrolipstatina (THL), istigmastanilfos-forilcolina (SPC, Roche), aminociclodextrina (Tanabe Seiyoku), Ajinomoto AJ-814 (Derivado de azuleno), melinamida (Sumitomo), Sandoz 58-035, American Cyanamid CL-277,082 y CL-283,546 (derivados de urea disubstituidos), ácido nicotínico, acipimox, acifran, neomicina, ácido p-aminosalicílico,

aspirina, derivados de poli(dialimetilamina) tal como se describe en la Patente Estadounidense No. 4,759,923, amina cuaternaria poli(cloruro de dialildimetilamonio) e iononas tal como se describen en la Patente Estadounidense No. 4,027,009, y otros agentes conocidos que disminuyen el colesterol de suero.

Los otros agentes hipolipidémicos pueden ser un inhibidor ACAT tal como se describe en, Drugs of the Future 24,9-15 (1999), (Avasimibe); "The ACAT inhibitor, Cl-1011 is effective in the prevention and regression of aortic fatty streak area in hamsters", Nicolosi et al, Atherosclerosis (Shannon, Irel). (1998), 137(1), 77-85; "The pharmacological profile of FCE 27677: a novel ACAT inhibitor with potent hypolipidemic activity mediated by selective suppression of hepatic secretion of ApoB100-containing lipoprotein", Ghiselli, Giancarlo, Cardiovasc. Drug Rev. (1998), 16(1), 16-30; "RP 73163:a bioavailable alkylsulfinyl-diphenylimidazole ACAT inhibitor", Smith, C., et al, Bioorg. Med. Chem. Lett. (1996), 6(1), 47-50; "ACAT inhibitors: physiologic mechanisms for

hypolipidemic and anti-atherosclerotic activities in experimental animals", Krause et al, Editor(s): Roffolo, Robert R., Jr.; Hollinger, Mannfred A., Inflammation: Mediators Pathways (1995), 173-98, Publiser: CRC, Boca Raton, Fla.; "ACAT inhibitors: potential anti-atherosclerotic agents", Sliskovic et al, Curr. Med. Chem.(1994), 1(3), 204-25; "Inhibitors of acyl-CoA:cholesterol O-acyl transferase (ACAT) as hypocholesterolemic agents. 6. The first water-soluble ACAT inhibitor with lipid-regulating activity. Inhibitors of acyl-CoA:cholesterol acyltransferase (ACAT). 7. Development of a series of substituted N-phenyl-N'-[(1-phenylcyclopentyl)methyl]ureas with enhanced hypocholesterolemic activity", Stout et al, Chemtracts: Org. Chem.. (1995), 8(6), 359-62, o Ts-962 (Taisho Pharmaceutical Co. Ltd).

El agente hipolipidémico puede ser un sobre regulador de la actividad del receptor LD2 tal como MD-700 (Taisho Pharmaceutical Co. Ltd) y LY295427 (Eli Lilly).

El agente hipolipidémico puede ser un inhibidor de absorción de colesterol

preferiblemente de Schering-Plough SCH48461, así como también, aquellos descritos en Atherosclerosis 115, 45-63 (1995) y J. Med. Chem. 41, 973 (1998).

El agente hipolipidémico puede ser un inhibidor co-transportador del ácido $Na^+$/biliar ileal, tal como se describe en Drugs of Future 24,425-430 (1999).

El agente de modulación de los lípidos puede ser un inhibidor de la proteína de transferencia del colesterilester (CETP), tal como CP 529,414 de Pfizer (WO /0038722 y EP 818448) y SC-744 y SC-795 de Pharmacia.

El inhibidor de la liasa de citrato ATP, el cual puede ser empleado en la combinación de la invención puede incluir, por ejemplo, aquellos descritos en la Patente Estadounidense No. 5,447,954.

Los agentes hipolipidémicos preferidos son pravastatina, lovastatina, simvastatina, atorvastatina, fluvastatina, cerivastatina y ZD-4522.

Las Patentes Estadounidenses mencionadas anteriormente están incorporadas aquí por referencia. Las cantidades y

458

dosificaciones empleadas serán como se indica en la Phisician's Desk Reference y/o en las patentes expuestas anteriormente.

Los compuestos de la fórmula I de la invención, será empleados en una proporción de peso al agente hipolipidémico (presentadas), dentro del rango de aproximadamente 500:1 hasta aproximadamente 1:500, preferiblemente desde aproximadamente 100:1 hasta aproximadamente 1:100.

La dosis administrada deberá ser cuidadosamente ajustada de acuerdo a la edad, peso y condición de el paciente, también como a la ruta de administración, forma y régimen de dosificación, y a los resultados deseados.

Las dosificaciones y formulaciones para el agente hipolipidémico serán como se describe en varias patentes y solicitudes descritas anteriormente.

Las dosificaciones y formulaciones para el otro agente hipolipidémico a ser empleado, cuando es aplicable, se expondrá en la edición más reciente de la Physicians' Desk Reference.

Para administración oral, un resultado satisfactorio puede ser obtenido empleando el

inhibidor MTP, en una cantidad dentro del rango de aproximadamente 0.01 mg/kg hasta aproximadamente 500 mg y preferiblemente desde aproximadamente 0.1 mg hasta aproximadamente 100 mg, de una a cuatro veces por día.

Una forma de dosificación oral preferida, tal como las tabletas o cápsulas, contendrá el inhibidor MTP en una cantidad desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 500 mg, preferiblemente desde aproximadamente 2 hasta aproximadamente 400 mg, y más preferiblemente desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 250 mg, de una a cuatro veces por día.

Para la administración oral, un resultado satisfactorio puede obtenerse empleando un inhibidor de la reductasa HMG CoA, por ejemplo pravastatina, lovastatina, simvastatina, atorvastatina, fluvastatina o cerivastatina en dosificaciones empleadas como se indica en la Physician's Desk Reference, tal como en una cantidad dentro del rango de aproximadamente 1 hasta aproximadamente 2000 mg y preferiblemente desde aproximadamente 4 hasta aproximadamente 200 mg.

El inhibidor sintetasa de escualeno puede ser empleado en dosificaciones en una cantidad dentro del rango de aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 2000 mg y preferiblemente desde aproximadamente 25 mg hasta aproximadamente 200 mg.

Una forma de dosificación oral preferida, tal como tabletas o cápsulas, contendrá el inhibidor de la reductasa HMG CoA, en una cantidad de aproximadamente 0.1 hasta aproximadamente 100 mg, preferiblemente de aproximadamente 5 hasta aproximadamente 80 mg y más preferiblemente desde aproximadamente 10 hasta aproximadamente 40 mg.

Una forma de dosificación oral preferida, tal como tabletas o cápsulas, contendrá el inhibidor de la sintetasa de escualeno en una cantidad de aproximadamente 10 hasta 500 mg, preferiblemente desde aproximadamente 25 hasta aproximadamente 200 mg.

El otro agente hipolipidémico puede también ser un inhibidor de la lipoxigenasa que incluye un inhibidor de la 15-lipoxigenasa (15-LO), tal como los derivados de benzimidazol, como se describe en WO 97/12615, los inhibidores

61

15-LO como se describen en WO 97/12613, isotiazolonas como se describen en WO 96/38144 e inhibidores 15-LO como se describen por Sendobry et al "Attenuation of diet-induced atherosclerosis in rabbits with a highly selective 15-lipoxygenasa inhibidor lacking significant antioxidant properties, Brit. J. Pharmacology (1997) 120, 1199-1206, and Cornicelli et al, "15-Lipoxygenase and its Inhibition: A Novel Therapeutic Target for Vascular Disease", Current Pharmaceutical Desing, 1999, 5, 11-20.

Los compuestos de la fórmula I y el agente hipolipidémico pueden ser empleados juntos, en la misma forma de dosificación oral o en formas de dosificación oral separadas tomadas al mismo tiempo.

Las composiciones descritas anteriormente pueden ser administradas en las formas de dosificación como se describieron anteriormente en dosis únicas o divididas de una a cuatro veces al día. Puede ser recomendable iniciar un paciente con una combinación de dosis bajas y trabajar gradualmente hasta una combinación de dosis altas.

El agente hipolipidémico preferido es pravastatina, simvastatina, lovastatina, atorvastatina, fluvastatina o cerivastatina.

El otro tipo de agente terapéutico, el cual puede ser opcionalmente empleado con el inhibidor DP4 de la fórmula I, puede ser 1, 2, 3 o más de un agente anti-obesidad que incluye un agonista adrenergíco beta 3, un inhibidor de la lipasa, un inhibidor de la recaptación de la serotonina (y dopamina), un fármaco beta receptor de la tiroides, un agente anoréxico y/o un sobre regulador de la oxidación del ácido graso.

El agonista adrenergíco beta 3 el cual puede ser opcionalmente empleado en combinación con un compuesto de fórmula I, puede ser AJ9677 (Takeda/Dainippon), L750355 (Merck) o CP331648 (Pfizer) u otro agonista beta 3 conocido como se describe en las Solicitudes de Patentes Estadounidense Nos. 5,541,204, 5,770,615, 5,491,134, 5,776,983 y 5,488,064, con AJ9677, L750,355 y CP331648 siendo preferidas.

El inhibidor de la lipasa el cual puede ser opcionalmente empleado en combinación con un compuesto de fórmula I puede ser orlistat o ATL-

962 (Alizyme), con orlistat preferido.

El inhibidor de la recaptación de la serotonina (y dopamina) el cual puede ser opcionalmente empleado en combinación con un compuesto de fórmula I puede ser sibutramina, topiramato (Johnson & Johnson) o axoquina (Regeneron), con sibutramina y topiramato siendo preferidos.

El compuesto beta receptor de la tiroides, el cual puede ser opcionalmente empleado en combinación con un compuesto de fórmula I, puede ser un ligando receptor de la tiroides, como se describe en WO97/21993 (U. Cal SF), WO99/00353 (KaroBio) y GB98/284425 (KaroBio), se prefiere con los compuesto de las solicitudes de KaroBio.

El agente anoréxico el cual puede ser opcionalmente empleado en combinación con un compuesto de fórmula I, puede ser dexamfetamina, fentermina, fenilpropanolamina o mazindol, se prefiere con dexamfetamina.

El sobre regulador de oxidación del ácido graso, el cual puede ser opcionalmente empleado en combinación con el compuesto de fórmula I puede ser famoxina (Genset).

Los varios agentes anti-obesidad descritos anteriormente pueden ser empleados en la misma forma de dosificación con el compuesto de fórmula I o en diferentes formas de dosificación, en dosificaciones y regímenes conocidos de manera general en la técnica o en el PDR.

El agente de infertilidad, el cual puede ser opcionalmente empleado en combinación con el inhibidor DP4 de la invención puede ser, 1, 2 o más de 1 citrato de clomifeno (Clomid , Aventis), mesilato de bromocriptina (Parlodel , Novartis), análogos de LHRH, Lupron (TAP Pharm.), danzol, Danocrina (Sanofi), progestogenos o glucocorticoides, los cuales pueden ser empleados en cantidades especificadas en el PDR.

El agente para el síndrome del ovario policístico el cual puede ser opcionalmente empleado en combinación con el inhibidor DP4 de la invención puede ser 1, 2 o más de la hormona de liberación de la gonadotropina (GnRH), leuprolido (Lupron®), Clomid®, Parlodel , anticonceptivos orales o sensibilizadores de la insulina tal como agonistas PPAR, u otros

agentes convencionales para tales usos, los cuales pueden ser empleados en cantidades especificadas en el PDR.

El agente para el tratamiento de las alteraciones del crecimiento y/o debilidad, el cual puede ser opcionalmente empleado en combinación con el inhibidor DP4 de la invención, puede ser 1, 2 o más de una hormona de crecimiento o secretagogo de la hormona de crecimiento tal como MK-677 (Merck), CP-424-391 (Pfizer), y compuestos descritos en la Solicitud de Patente Estadounidense Serie No. 09/506.749 presentada el 18 de Febrero del 2000, (documento del abogado LA26), así como también moduladores del receptor andrógeno selectivo (SARMS), los cuales están incorporados aquí para referencia, los cuales pueden ser empleados en cantidades especificadas en el PDR, cuando son aplicables.

El agente para el tratamiento de la artritis, el cual puede ser empleado opcionalmente en combinación con el inhibidor DP4 de la invención, puede ser 1, 2 o más de aspirina, indometacina, ibuprofeno, diclofenac de sodio, naproxeno, nabumetona (Relafen , SmithKline Beecham), tolmetina de sodio

(Tolectin , Ortho-McNeil), piroxicam (Feldene , Pfizer), trometamina cetorolac (Toradol , Roche), celecobix (Celebrex®, Searle), rofecoxib (Vioxx®, Merck) y similares, los cuales pueden ser empleados en cantidades especificadas en el PDR.

Los agentes convencionales para la prevención del rechazo al aloinjerto en el transplante tal como ciclosporina, Sandimmune (Novartis), azatioprina, Immuran (Faro) o metotrexato, pueden ser opcionalmente empleados en combinación con el inhibidor DP4 de la invención, el cual puede ser empleado en cantidades especificadas en el PDR.

Los agentes convencionales para el tratamiento de padecimientos autoinmunes tales como esclerosis múltiple y padecimientos inmunodoludadores tales como lupus eritematosos, soriasis, por ejemplo, azatiopirina, Immuran, ciclofosfamida, NSAIDS tal como ibuprofeno, inhibidores de cox 2 tal como Vioxx y Celebrex, glucocorticoides e hidroxicloroquina, pueden ser opcionalmente empleados en combinación con el inhibidor DP4 de la invención, los cuales pueden ser empleados en cantidades especificadas en el

PDR.

El agente AIDS, el cual puede ser opcionalmente empleado en combinación con el inhibidor DP4 de la invención, pueden ser un inhibidor de la transcriptasa inversa no nucleósido, un inhibidor de la transcriptasa inversa del nucleósido, un inhibidor de la proteasa y/o un AIDS adjunto anti-infectivo y puede ser 1, 2 o más de dronabinol (Marinol , Roxane Labs), didanosina (Videx, Bristol-Myers Squibb), acetato de megestrol (Mecage®, Bristol-Myers Squibb, estavudina (Zerit®, Bristol-Myers Squibb), mesilato de delavirdina (Rescriptor , Pharmacia), lamivudina/zidovudina (Combivir™, Glaxo), lamivudina (Epivir™, Glaxo), zalcitabina (Hivid®, Roche), zidovudina (Retrovir®, Glaxo), sulfato de indinavir (Crixivan®, Merck), saquinavir (Fortovase™, Roche), mesilato de saquinovir (Invirase®, Roche), ritonavir (Novir®, Abbott), nelfinavir (Viracept , Agouron).

Los agentes anti-AIDS anteriores, pueden ser empleados en cantidades especificadas en el PDR.

El agente para el tratamiento de

padecimientos o síndromes inflamatorios del intestino, el cual puede ser empleado en combinación con el inhibidor D4 de la invención, puede ser 1, 2, o más de sulfasalazina, salicilatos, mesalamina (Asacol®, P&G) o Zelmac®), (Bristol-Myers Squibb), los cuales pueden ser empleados en cantidades especificadas en el PDR o de otro modo, conocidas en la técnica.

El agente para el tratamiento de la osteoporosis, el cual puede ser opcionalmente empleado en combinación con el inhibidor DP4 de la invención puede ser, 1, 2 o más de alendronato de sodio (Fosamax®, Merck, tiludronato (Skelid®, Snofi), etidronato de sodio (Dibronel®, P&G), HCl de raloxifeno (Evista®, Lilly), los cuales pueden ser empleados en cantidades especificadas en el PDR.

Para llevar a cabo el método de la invención, una composición farmacéutica será empleada conteniendo los compuestos de la estructura I, con o sin otro agente anti-diabético y/o un agente antihiperlipidemico, u otro tipo de agente terapéutico, en asociación con un vehículo o diluyente farmacéutico. La

composición farmacéutica podrá ser formulada empleando vehículos sólidos o líquidos convencionales, o diluyentes y aditivos farmacéuticos de un tipo apropiado para el modo de administración deseado. Los compuestos pueden ser administrados a especies de mamíferos que incluye humanos, monos, perros, etc. por una ruta oral, por ejemplo, en forma de tabletas, cápsulas, granulados o polvos o pueden ser administrados por una ruta parenteral en la forma de preparaciones inyectables. Las dosis para adultos son preferiblemente entre 10 y 1,000 mg por día, los cuales pueden ser administrados en una sola dosis o en forma de dosis individuales de 1-4 veces por día.

Una cápsula típica para la administración oral, contiene compuestos de estructura I (250 mg), lactosa (75 mg) y estearato de magnesio (15 mg). La mezcla se pasa a través de un tamiz de malla 60 y se envasa en una cápsula de gelatina del No. 1.

Una preparación típica inyectable se produce por la colocación asépticamente de 250 mg de compuestos de la estructura I, en un frasco, secado por congelamiento y sellados

asépticamente. Para el uso, los contenidos del frasco son mezclados con 2 mL de solución salina fisiológica, para producir una preparación inyectable.

La actividad del inhibidor DP4 de los compuestos de la invención puede ser determinada por el uso de un sistema de ensayo in vitro, el cual mide la potenciación de la inhibición de DP4. Las constantes de inhibición (valores Ki) para los inhibidores DP4 de la invención, se pueden determinar por el método descrito abajo.

**Purificación de la Dipeptidil Peptidasa IV Porcina**

Se purificó la enzima porcina como se describe previamente (1), con varias modificaciones. Se obtuvieron riñones de 15-20 animales, y el córtex o corteza se retiró y se disecó y se congeló a -80°C. El tejido congelado (2000 -2500 g) se homogeneizó en 12 L de 0.25 M de sucrosa en un mezclador Waring. Lo homogeneizado entonces se dejó a 37°C por 18 horas para facilitar el desdoblamiento de DP4 de las membranas celulares. Después de la etapa de

desdoblamiento, lo homogeneizado se clarificó por centrifugación a 7000 x g por 20 minutos a 4°C, y se colectó el sobrenadante. Se agregó sulfato de amonio sólido a 60% de saturación, y lo precipitado se colectó por centrifugación a 10,000 x g y se descargó. Se agregó sulfato de amonio adicional al sobrenadante a 80% de saturación, y el 80% de las pelotillas se colectaron y disolvieron en 20 mM de $Na_2HPO_4$, pH 7.4.

Después de la diálisis contra 20 mm de $Na_2HPO_4$, pH 7.4, la preparación se clarificó por centrifugación a 10,000 X g. La preparación clarificada entonces se aplicó a 300 mL de Sepharosa ConA que ha sido equilibrada en el mismo amortiguador. Después del lavado con el amortiguador a una constante $A_{280}$, la columna se eluyó con 5% (p/v) α-D-manopiranosido de metilo. Las fracciones activas se vertieron, concentraron y dializaron contra 5 Mm de acetato de sodio, pH 5.0. El material dializado entonces se dejó fluir a través de una columna de Pharmacia Resourse S de 100 mL, equilibrada en el mismo amortiguador. El flujo a través del material se colectó y contenía la mayoría de la

actividad enzimática. El material activo nuevamente se concentró y dializó en 20 mM de $Na_2HPO_4$, pH 7.4. Finalmente, la enzima concentrada se cromatografió en una columna de filtración por gel Pharmacia S-200 para remover los contaminantes de peso molecular bajo. La pureza de las fracciones de la columna se analizaron por SDS-PAGE de reducción, y las fracciones más puras se vertieron y concentraron. La enzima purificada se almacenó en 20% de glicerol a -80°C.

**Ensayo de la Dipeptidil Peptidasa IV Porcina**

La enzima se ensayó bajo condiciones de estado listo como se describe previamente (2) con gli-pro-p-nitroanilida como substrato, con las siguientes modificaciones. Las reacciones contienen, a un volumen final de 100 µl, 100 mM de Aces, 52 mM de TRIS, 52 mM de etanolamina, 500 µM de gly-pro-p-nitroanilida, 0.2% de DMSO, y 4.5 nM de enzima a 25°C, pH 7.4. Para los ensayos individuales a 10 µM del compuesto de prueba, se agregaron el amortiguador, y la enzima, a los pozos de una placa

microtituladora de 96 pozos, y se incubaron a temperatura ambiente por 5 minutos. Las reacciones se iniciaron por la adición del substrato. La producción continua de p-nitroanilina se midió a 405 nM por 15 minutos usando un lector de placa Molecular Devices Tmax, con una lectura cada 9 segundos. La relación lineal de la producción de p-nitroanilina se obtuvo sobre la producción lineal de cada curva de progreso. Una curva estándar para la absorbencia de la p-nitroanilina se obtuvo al comienzo de cada experimento, y la producción de p-nitroalinina catalizada por la enzima, se cuantificó a partir de la curva estándar. Los compuestos que dieron más del 50% de inhibición, se seleccionaron para los análisis posteriores.

Para el análisis de los compuestos positivos, las constantes de inhibición cinética de estado listo se determinaron como una función de la concentración tanto del substrato como del inhibidor. Las curvas de saturación del substrato se obtuvieron a concentraciones gly-pro-p-nitroanilida de 60 µM hasta 3600 µM. Las curvas de saturación adicional también se

obtuvieron en la presencia del inhibidor. Los experimentos de inhibición completa contienen concentraciones, 11 del substrato y 7 del inhibidor, con determinaciones por triplicado a través de las placas. Para los inhibidores de enlaces estrechos con $K_i$s menores de 20 nM, la concentración de la enzima se redujo a 0.5 nM y los tiempos de reacción se incrementaron a 120 min. Las bases de datos vertidas de las tres placas se fijaron a la ecuación apropiada para ya sea la inhibición competitiva, no competitiva o incompetitiva.

(1) Rahfeld, J, Schutkowski, M., Faust, J., Neubert., Barth., A., y Heins, J. (1991) Biol. Chem. Hoppe-Seyller, 372, 313-318.

(2) Nagatsu, T., Hino, M., Fuyamada, H., Hayakawa, T., Sakakibara, S., Nakagawa, Y., y Takemoto, T., (1976) Anal. Biochem., 74, 466-476.

Ph = fenilo

Bn = bencilo

i-Bu = iso-butilo

Me = metilo

Et = etilo

Pr = propilo

Bu = butilo

TMS = trimetilsililo

FMOC = fluorenilmetoxicarbonilo

Boc o BOC = terc-butoxicarbonilo

Cbz = carbobenciloxi o carbobenciloxi o benciloxicarbonilo

HOAc o AcOH = ácido acético

DMF = N,N-dimetilformamida

EtOAc = acetato de etilo

THF = tetrahidrofurano

TFA = ácido trifluoroacético

$Et_2NH$ = dietilamina

NMM = N-metilmorfolina

n-BuLi = n-butillitio

Pd/C = paladio en carbono

$PtO_2$ = óxido de platino

TEA = trietilamina

EDAC = 3-etil-3'-(dimetilamino)propil-clorhidrato de carbodiimida (o clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida)

HOBT o $HOBT.H_2O$ = 1-hidrato de

76

hidroxibenzotriazol

HOAT = 1-Hidroxi-7-azabenzotriazol

Reactivo PyBOP = hexafluorofosfato de fosfonio de benzotriazol-1-iloxi-tripirrolidino

min = minuto(s)

h o hr = hora(s)

L = litro

mL = mililitro

µL = microlitro

g = gramo(s)

mg = miligramo(s)

mol = mole(s)

mmol= milimole(s)

meq = miliequivalente

TA = temperatura ambiente

Sat o sat'd = saturada

aq. = acuoso

TLC = cromatografía de capa delgada

HPLC = cromatografía líquida de alta realización

LC/MS = cromatografía líquida de alta realización/espectrometría de masa

MS o Mass Spec = espectrometría de masa

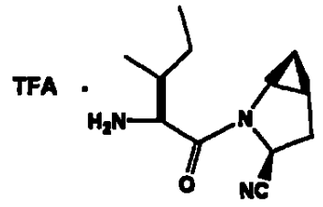
NMR = resonancia magnética nuclear .

mp = punto de fusión

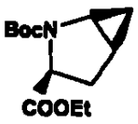
77

Los siguientes ejemplos representan las modalidades preferidas de la invención.

**EJEMPLO 1**




**Etapa 1**




El compuesto del titulo de la Etapa 1 se sintetizó siguiendo el procedimiento de literatura [Stephen Hanessian, Ulrich Reinhold, Michel Saulnier, y Stephen Claridge; Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 8 (1998) 2123-2128] o con las siguientes modificaciones. Se N-protegio el éster etílico del ácido L-piroglutámico como el t-butilcarbamato ($Boc_2O$, DMAP o NaH) y después se deshidrató al éster etílico de 4,5-deshidroprolina en una olla por reducción del carbonilo (trietilborohidruro,

tolueno -78°C), seguido por deshidratación (TFAA, lutidina). El compuesto del titulo se obtuvo por ciclopropanación del éster etílico de 4,5-deshidroprolina ($Et_2Zn$, $ClCH_2I$, 1,2-dicloroetano, -15°C). Un protocolo más detallado es como sigue:

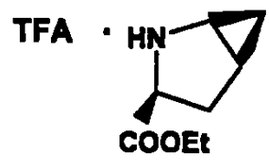
Síntesis del éster etílico de 4,5-deshidro-L-prolina: éster etílico del ácido L-piroglutámico (200 g, 1.27 mol), se disolvieron en 1.2 litros de cloruro de metileno y se trataron secuencialmente con di-terc-butilcarbonato (297 g, 1.36 mol) y un DMAP catalítico (1.55 g, 0.013 mol) a temperatura ambiente. Después de 6 horas, la mezcla se enfrió rápidamente con salmuera saturada y la fase orgánica se secó ($Na_2SO_4$) y se filtró a través de una columna de gel de sílice corta para dar 323 g (100%) del éster etílico del ácido N-Boc-L-piroglutámico. El éster etílico del ácido N-Boc-L-piroglutámico (160 g, 0.62 mol), se disolvió en 1 litro de tolueno, se enfrió a -78°C y se trató con trietilborohidruro de litio (666 mL de 1.0 M soln en THF) y se agregó en forma de gotas durante 90 minutos.

Después de 3 horas, se agregó en forma de gotas 2,6-lutidina (423 mL, 3.73 mol), seguido por DMAP (0.2 g, 0.0016 mol). A esta mezcla se agregó TFA (157 g, 0.74 mol) y la reacción se dejó llegar a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se diluyó con EtOAc y agua y los orgánicos se lavaron con HCl 3N, agua, bicarbonato acuoso y salmuera, y se secaron ($Na_2SO_4$) y se filtraron a través de un obturador de gel de sílice para dar 165 g del éster etílico de 4,5-deshidroprolina crudo que se purificó por cromatografía en columna en gel de sílice con 1:5 de acetato de etilo:hexanos para dar 120 g, 75% de la olefina.

Ciclopropanación del éster etílico de 4,5-deshidro-L-prolina: el éster etílico de 4,5-deshidro-L-pronina (35.0 g, 0.145 mol), se agregó a una solución de $Et_2Z$ (35.8 g, 0.209 mol) en 1 litro de 1,2-dicloroetano a -15°C. A esta mezcla se agregó una adición en forma de gotas de $ClCH_2I$ (102 g, 0.58 mol) durante 1 hora y la mezcla se agitó a -15°C por 18 horas. La reacción se enfrió rápidamente con bicarbonato de sodio acuoso y el solvente se evaporó y la

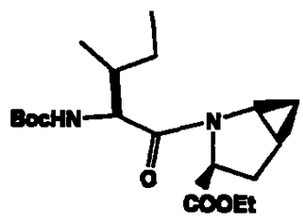
reacción se recuperó en EtOAc, se lavó con salmuera y se purificó por cromatografía en gel de sílice, usando un gradiente en forma de etapas de 20% de EtOAc/hexanos a 50% de EtOAc/hexanos para dar 17.5 g (50%) del compuesto del titulo de la etapa 1 diastereoméricamente puro.

Etapa 2.



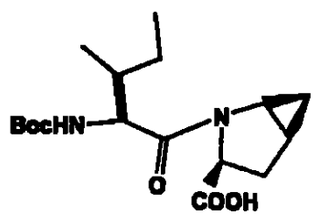

A una solución agitada del compuesto de la Etapa 1 (411 mg, 1.61 mmol) en $CH_2Cl_2$ (1.5 mL) a temperatura ambiente, se agregó TFA (1.5 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 2 horas y se evaporó. El residuo se diluyó con $CH_2Cl_2$ y después se evaporó y volvió a evaporar tres veces para dar el compuesto del titulo como un aceite incoloro, 433 mg, 100% rendimiento.

Etapa 3.



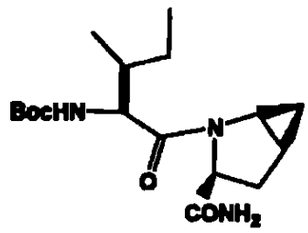

A una solución agitada de (S)-N-terc-butoxicarbonil-isoleucina (372.6 mg, 1.61 mmol) y hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio (1.25 g, 2.42 mmol) en $CH_2Cl_2$ (6 mL) bajo nitrógeno a temperatura ambiente, se agregó 4-metilmorfolina (NMM) (0.36 mL, 3.2 mmol). Después de cinco minutos, se agregó una solución del compuesto de la Etapa 2 (433 mg, 1.61 mmol) y NMM (0.27 mL, 2.4 mmol) en $CH_2Cl_2$ (1 ml). Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó bajo nitrógeno a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con $CH_2Cl_2$ (40 mL) y se lavó con 4% $KHSO_4$ (10 mL), $NaHCO_3$ acuoso (10 mL) y salmuera (10 mL), se secó ($Na_2SO_4$) y evaporó. La purificación por cromatografía en columna (1:4 EtOAc/hexanos) dio el compuesto del titulo como un aceite incoloro, 530 mg, 89% rendimiento.

Paso 4




A una solución agitada del compuesto del Paso 3 (530 mg, 1.44 mmol) en MeOH (4 ml) y $H_2O$ (4 ml) a ta se adicionó LiOH-$H_2O$ (91 mg, 2.16 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante la noche y se evaporó. El agua (10 ml) se adicionó al residuo y se extrajo con $Et_2O$ (2 x 10 ml). La capa acuosa se acidificó a ~pH 4 adicionando 4% de $KHSO_4$ por goteo. La solución lechosa se extrajo con EtOAc (15 ml x 3). Las capas de EtOAc combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre $Na_2SO_4$ y se evaporaron para dar el compuesto del título como un sólido blanco, 440 mg, 90% de rendimiento.

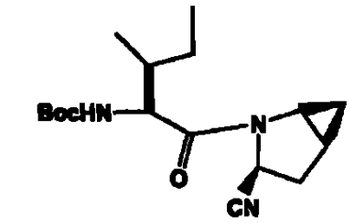
Paso 5




---

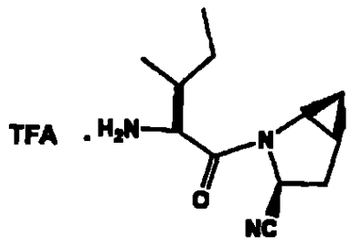
A una solución agitada del compuesto del Paso 4 (300 mg, 0.88 mmol) en THF (6 ml) a -15°C bajo nitrógeno, se adicionó 4-metilmorfolina (0.12 ml, 1.06 mmol) y luego cloroformato de isobutilo (0.13 ml, 0.97 mmol) durante 2 min. El precipitado blanco se formó. La mezcla de reacción se agitó a -15°C bajo nitrógeno por 25 min y una solución de $NH_3$ en dioxano (8.8 ml, 4.4 mmol) se adicionó. La mezcla de reacción se agitó a -15°C por 30 min, se calentó a ta y se agitó a ta durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió rápidamente por 4% de $KHSO_4$ a ~pH 4 y se extrajo con EtOAc (20 ml x 3). Los extractos se combinaron, se lavaron con salmuera (10 ml), se secaron ($Na_2SO_4$) y se evaporaron. La purificación por cromatografía de columna instantánea (1:1 EtOAc/hexano) dio el compuesto del título como una espuma blanca, 268 mg, 90% de rendimiento.

Paso 6



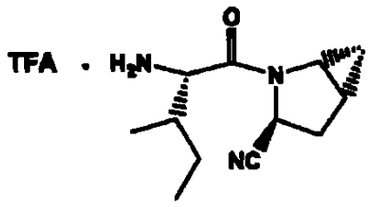

A una solución agitada del compuesto del Paso 5 (248 mg, 1.38 mmol) en imidazol (94 mg, 1.38 mmol) en piridina seca (12 ml) a -35°C bajo nitrógeno se adicionó $POCl_3$ (0.26 ml, 2.76 mmol) por goteo. La mezcla de reacción se agitó entre -35°C a -20°C por 1 h y se evaporó. $CH_2Cl_2$ (10 ml) se adicionó y se formaron precipitados blancos. Después de la filtración, el filtrado se concentró y se purificó por cromatografía instantánea (2:5 EtOAc/hexano) para dar el compuesto del título como un aceite incoloro, 196 mg, 88% de rendimiento.

Paso 7

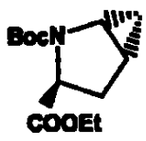


A una solución agitada del compuesto del Paso 6 (130 mg, 0.4 mmol) en $CH_2Cl_2$ (2 ml) a ta se adicionó TFA (2 ml). La mezcla de reacción se agitó a ta por 2 h. La mezcla de reacción se adicionó lentamente a una pasta aguada preenfriada de $NaHCO_3$ (3.8 g) en $H_2O$ (3 ml). La mezcla se extrajo con $CH_2Cl_2$ (6 ml x 5), y las capas de $CH_2Cl_2$ combinadas se evaporaron y se purificaron por HPLC preparativa para dar el compuesto del título como un polvo blanco, 77 mg. 57% de rendimiento, pf = 141-143°C. LC/MS dio el ion molecular correcto [$(M+H)^+$ = 222] para el compuesto deseado.

## Ejemplo 2

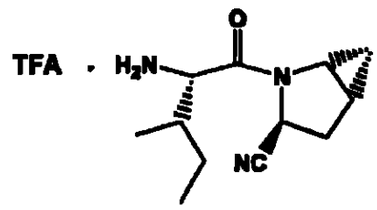



Paso 1



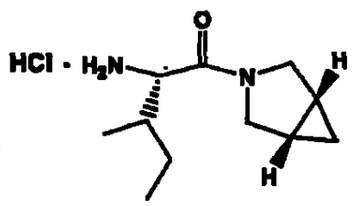
El compuesto del título del paso 1 se sintetizó siguiendo el procedimiento de la literatura. [Stephen Hanessian, Ulrich Reinhold, Michel Saulnier, y Stephen Claridge; Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 8 (1998) 2123-2128.]

Paso 2

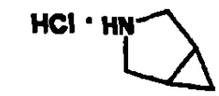



El compuesto del título se preparó a partir del compuesto del Paso 1, empleando el mismo procedimiento como aquel descrito para el Ejemplo 1, los Pasos 2-6. LC/MS da el ion molecular correcto [$(M+H)^+$ = 222] para el compuesto deseado.

## Ejemplo 3

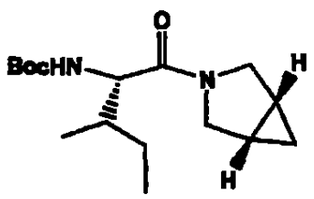


Paso 1



El compuesto del título del Paso 1 se preparó siguiendo el procedimiento de la literatura. [Willy D. Kollmeyer, Patente Norteamericana 4,183,857.].

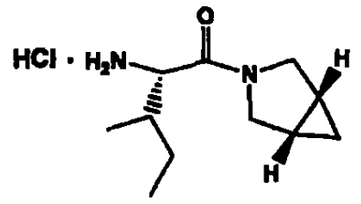
Paso 2



A una solución agitada de (S)-N-terc-butoxicarbonil-isoleucina (231 mg, 1 mmol) y hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio (780 mg, 1.5 mmol) en $CH_2Cl_2$ (6 ml) bajo nitrógeno a ta se adicionó 3 metilmorfolina (0.33 ml, 3 mmol). Después de 5

min, el compuesto del Paso 1 (120 mg, 1 mmol) se adicionó en una porción. La mezcla de reacción se agitó bajo nitrógeno a ta durante la noche y luego se diluyó con $CH_2Cl_2$ (30 ml), se lavó con 4.1% de $KHSO_4$ (10 ml), $NaHCO_3$ acuoso (10 ml), salmuera (10 ml), se secó ($Na_2SO_4$) y se evaporó. La purificación por cromatografía instantánea sobre gel de sílice (columna de 2.4 x 20 cm, 1:3 EtOAc/hexano) dio el compuesto del título como un aceite incoloro, 290 mg, 90% de rendimiento. LC/MS dio el ion molecular correcto [$(M+H)^+$ = 297] para el compuesto deseado.

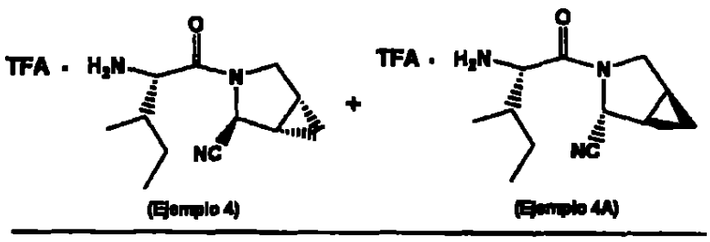
Paso 3




La mezcla de reacción del compuesto del Paso 2 (220 mg, 0.74 mmol) y 4 M HCl en dioxano (1.5 ml, 6 mmol) se agitó a ta por 2 h y se evaporó bajo presión reducida. $Et_2O$ se adicionó al residuo y se formó un precipitado. $Et_2O$ se

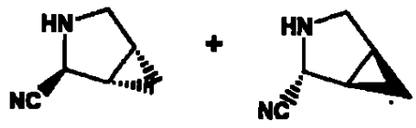
decantó y esto se hizo tres veces. El precipitado se secó *in vacuo* para dar el compuesto del título como un polvo blanco, 130 mg (76% de rendimiento), pf 205-206°C. LC/MS dio el ion molecular correcto [$(M+H)^+$ = 197] para el compuesto deseado.

## Ejemplos 4-4A



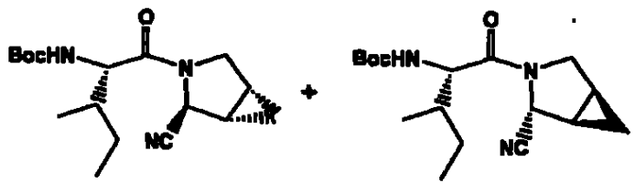

(Ejemplo 4) (Ejemplo 4A)

Paso 1




El compuesto del título del Paso 1, como una relación o proporción 1:1 de enantiómeros, se preparó siguiendo el procedimiento de la literatura. [Willy D. Kollmeyer, Patente Norteamericana 4,183,857.]

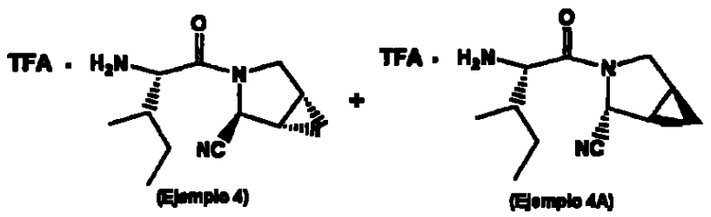
Paso 2




Una pasta aguada de (S)-N-terc-butoxicarbonil-isoleucina (92.5 mg, 0.4 mmol), 1-[(3-(dimetil)amino)propil]-3-etilcarbodiimida (77 mg, 0.4 mmol) y HOAT (54.4 mg, 0.4 mmol) en $ClCH_2CH_2Cl$ (0.3 ml) se agitó bajo nitrógeno a ta por 1 h, luego se adicionó el compuesto del Paso 1 (22 mg, 0.2 mmol), seguido por $Et_3N$ (0.015 ml, 0.1 mmol). La mezcla de reacción se agitó bajo nitrógeno a ta durante la noche y luego se diluyó con $CH_2Cl_2$ (3 ml), se lavó con $H_2O$ (1 ml), $NaHCO_3$ acuoso (1 ml) y salmuera (1 ml), se secó ($Na_2SO_4$) y se evaporó. La purificación por cromatografía instantánea sobre gel de sílice (columna de 2.4 x 12 cm, 2:7 EtOAc/hexano) dio el compuesto del título como un aceite sin color, 33 mg, 51% de rendimiento. LC/MS dio el ion molecular correcto [$(M+H)^+$ = 322] para el compuesto deseado.

91

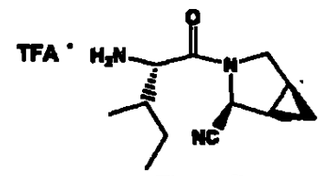
Paso 3




(Ejemplo 4) (Ejemplo 4A)

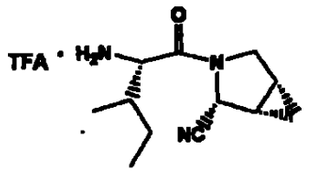
A una solución agitada del compuesto del Paso 2 (30 mg, 0.4 mmol) en $CH_2Cl_2$ (0.5 ml) a ta se adicionó TFA (0.5 ml). La mezcla de reacción se agitó a ta por 2 h. La mezcla de reacción se adicionó lentamente a una pasta aguada preenfriada de $NaHCO_3$ (0.8 g) en $H_2O$ (1 ml). La mezcla se extrajo con $CH_2Cl_2$ (2 ml x 5), y capas de $CH_2Cl_2$ combinadas se evaporaron y se purificaron por HPLC preparativa para dar los compuestos del título como una proporción 1:1 de diastereómeros, 22 mg, 73% de rendimiento. LC/MS dio el ion molecular correcto [$(M+H)^+$ = 222] para los compuestos deseados.

## Ejemplos 5-5A




(Ejemplo 6)

y



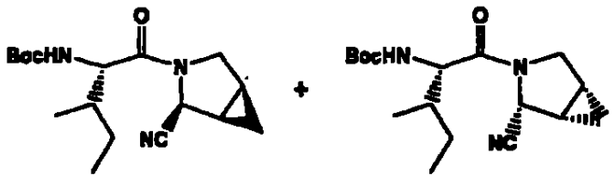

(Ejemplo 6A)

Paso 1




A una solución del Ejemplo 4, compuesto del Paso 1 (150 mg, 1.39 mmol) en 2-propanol (0.8 ml), se adicionó NaCN (40 mg, 1.0 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo por 3 h. Después del enfriamiento a ta, la mezcla de reacción se evaporó y luego se formó una pasta aguada en $Et_2O$ (5 ml). Después de la filtración, el filtrado se evaporó para dar los compuestos del Paso 1 del Ejemplo 4 y los compuestos del Paso 1 del Ejemplo 5 (140 mg, 93%) como una mezcla 2:1 de diastereómeros, cada uno como una mezcla racémica.

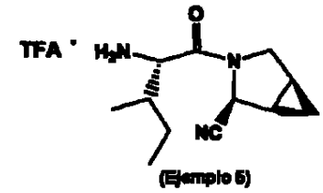
Paso 2




Una pasta aguada de (S)-N-terc-butoxicarbonil-isoleucina (595 mg, 2.57 mmol), 1-[(3-(dimetil)amino)propil]-3-etilcarbodiimida (493 mg, 2.57 mmol) y 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (350 mg, 2.57 mmol) en $ClCH_2CH_2Cl$ (2 ml) se agitó bajo nitrógeno a ta por 1h, luego la mezcla del compuesto del Paso 1 (139 mg, 1.28 mmol) se adicionó. La mezcla de reacción se agitó bajo nitrógeno a ta durante la noche y luego se diluyó con $CH_2Cl_2$ (30 ml), se lavó con $H_2O$ (10 ml), $NaHCO_3$ acuoso saturado (10 ml) y salmuera (10 ml), se secó ($Na_2SO_4$) y se evaporó. La purificación por cromatografía instantánea sobre gel de sílice (columna de 2.4 x 20 cm, 1:3 EtOAc/hexano) dio el Ejemplo 4, el compuesto del Paso 2 (260 mg), y los compuestos del título (105 mg) como una proporción o relación de 1:1 diastereómeros. LC/MS dio el ion molecular correcto [$(M+H)^+$ = 322] para los compuestos deseados.

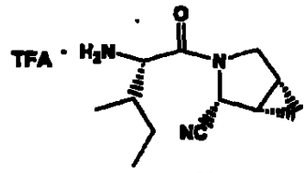
94

Paso 3




(Ejemplo 5)

y




(Ejemplo 5A)

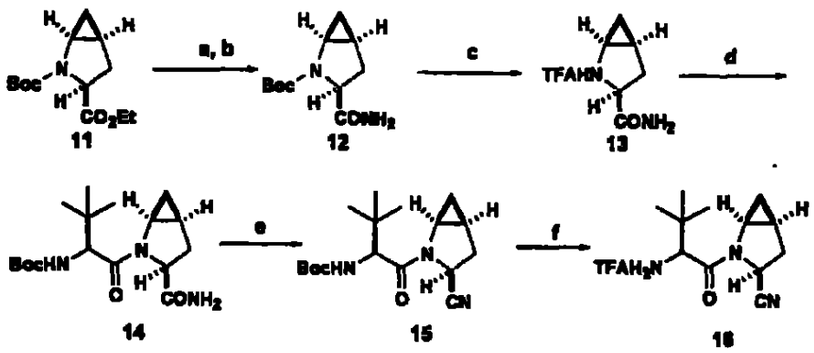
A una solución agitada de los compuestos del Paso 2 (104 mg, 0.32 mmol) en $CH_2Cl_2$ (1 ml) a ta se adicionó TFA (1 ml). La mezcla de reacción se agitó a ta por 2 h. La mezcla de reacción se adicionó lentamente a una pasta aguada preenfriada de $NaHCO_3$ (2 g) en $H_2O$ (2 ml). La mezcla se extrajo con $CH_2Cl_2$ (4 ml x 4), y las capas $CH_2Cl_2$ combinadas se evaporaron y purificaron por HPLC preparativa para dar el compuesto del título del Ejemplo 5 (36 mg) y del Ejemplo 5A (36 mg). LC/MS dio el ion molecular correcto [$(M+H)^+$ = 222] para los compuestos deseados.

## Ejemplo 6

**Método General A:** Los métodos de síntesis de arreglo paralelo para la

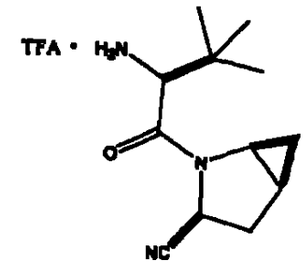
preparación de inhibidores de aminoácidos comercialmente disponibles. Como se muestra en el Esquema 3, el éster **11**, descrito en el Paso 2 del Ejemplo 1, se saponificó al ácido con LiOH en THF/$H_2O$ y se convirtió a la amida **12** por el tratamiento con el cloroformato de isobutilo/NMM seguido por amoníaco en dioxano. El grupo de protecciuón de Boc se removió bajo condiciones ácidas usando TFA en cloruro de metileno para dar **13**. La sal de TFA se acopló a Boc-t-butilglicina usando cualquiera de EDAC/HOBT/DMF o EDAC/DMAP/$CH_2Cl_2$ para dar **14**. La amida se deshidrató al nitrilo **15** usando $POCl_3$/imidazol en piridina a -20°C y finalmente se desprotegió con TFA en $CH_2Cl_2$ a temperatura ambiente para producir el blanco **16**.

**Esquema 3, Método General A (Ejemplos 6-27)**

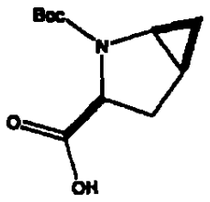


96

a. LiOH en THF/$H_2O$ o MeOH/$H_2O$ b. i-BuOCOCl/NMM o i-BuOCOCl/TEA a -30C o EDAC, luego $NH_3$ en dioxano o $Et_2O$ a TA c. TFA, $CH_2Cl_2$, TA d. Boc-t-butilglicina y PyBop/NMM o EDAC, DMAP, $CH_2Cl_2$ e. $POCl_3$, piridina, imidazol, -20C f. TFA. $CH_2Cl_2$, TA



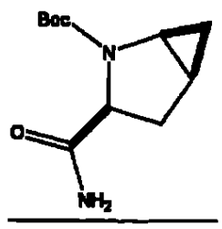

Paso 1




A una solución agitada del Ejemplo 1 Compuesto del Paso 1 (1.40 g, 5.49 mmol) en 40 ml de una solución 1:1 metanol:agua a ta se adicionó hidróxido de litio (0.20 g, 8.30 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta por 18 h y luego se calentó a 50°C por 2 h. La mezcla se diluyó con volúmenes iguales de éter y agua (50

ml) y luego se acidificó con $KHSO_4$ a pH 3. La solución lechosa se extrajo con éter (3 x 20 ml). Las capas de éter combinadas se secaron sobre $Na_2SO_4$ y se evaporaron. El residuo se despojó de tolueno (2 x 10 ml) y se secó bajo presión reducida para dar el compuesto del título como un jarabe espeso, 1.20 g, 96%.

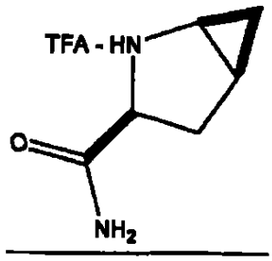
Paso 2




A una solución agitada del compuesto del Paso 1 (1.20 g, 5.28 mmol) en THF (20 ml) a -15°C bajo nitrógeno se adicionó 4-metilmorfolina (0.71 ml, 6.50 mmol) y luego cloroformato de isobutilo (0.78 ml, 6.00 mmol) durante 5 minutos. La reacción se agitó a -15°C por 30 min, se enfrió a -30°C y se trató con una solución de $NH_3$ en dioxano (50 ml, 25 mmol). La mezcla de reacción se agitó a -30°c por 30 min, se calentó a ta y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió rápidamente con

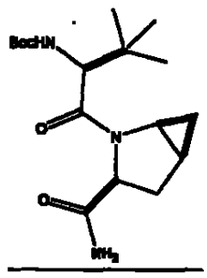
solución de ácido cítrico (pH 4) y se extrajo con éter (3 x 50 ml). Las fracciones orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre $Na_2SO_4$ y se concentraron. La purificación por cromatografía de columna instantánea sobre gel de sílice con EtOAc dio el compuesto del Paso 2, 1.00 g, 84%.

Paso 3




A una solución agitada del compuesto del paso 2 (0.90 g, 4.00 mmol) en $CH_2Cl_2$ (3 ml) a 0°C se adicionó TFA (3 ml). La mezcla de reacción se agitó a 0°C por 18 h. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para producir el compuesto del título en la forma de un aceite espeso, 0.98 g, 100%. El aceite gradualmente se solidificó durante el reposo prolongado.

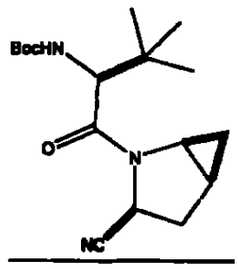
Paso 4



Un tubo de prueba de 15 ml secado en horno se cargó con el compuesto del Paso 3 (56 mg, 0.22 mmol), N-terc-butoxicarbonil-(L)-terc-leucina (53 mg, 0.23 mmol), dimetilaminopiridina (0.11 g, 0.88 mmol), y $CH_2Cl_2$ (4 ml). El tubo se selló bajo atmósfera de nitrógeno y se trató con 1-[(3-(dimetil)amino)propil]-3-etilcarbodiimida (84 mg, 0.44 mmol). La mezcla se colocó en un sacudidor y colocó en un vórtex para hacerla girar durante la noche. El producto se purificó por extracción de fase sólida usando una columna de United Technology SCX (2 g de sorbente en una columna de 6 ml) cargando el material sobre una columna de intercambio de iones SCX y sucesivamente se lavó con $CH_2Cl_2$ (5 ml), 30% de metanol en $CH_2Cl_2$ (5 ml), 50% de metanol en $CH_2Cl_2$ (5 ml) y metanol (10 ml). El producto que contienen fracciones se concentró bajo presión

reducida para dar la amida deseada. La purificación adicional por cromatografía de columna preparativa de fase inversa sobre una columna YMC S5 ODS 20 x 250 mm dio el compuesto del título, 50 mg (68% de rendimiento). Condiciones de purificación: elución de gradiente desde 30% metanol/agua/0.1 TFA a 90% metanol/agua/0.1 TFA durante 15 minutos. 5 minutos se mantuvo a 90% metanol/agua/0.1 TFA. Velocidad de Flujo: 20 ml/min. Longitud de onda de detección: 220. Tiempo de retención: 14 min.

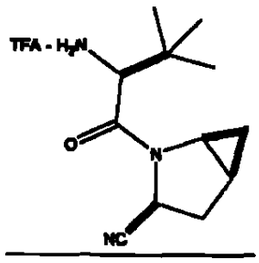
Paso 5




Un tubo de prueba de 15 ml secado en horno se cargó con el compuesto del Paso 4 (50 mg, 0.15 mmol), imidazol (31 mg, 0.46 mmol), y piridina (1 ml). El tubo se selló bajo atmósfera de nitrógeno y se enfrió a -30°C. La adición lenta de $POCl_3$ (141 mg, 88 uL, 0.92 mmol) dio

después del mezclado una pasta espesa. El tubo se mezcló a -30°C por 3 h y las substancias volátiles se evaporaron. El producto se purificó por extracción de fase sólida usando una columna de extracción de sílice de United Technology (2 g de sorbente en una columna de 6 ml) cargando el material sobre una columna de sílice y lavando sucesivamente con $CH_2Cl_2$ (5 ml), 5% de metanol en $CH_2Cl_2$ (5 ml), 7% de metanol en $CH_2Cl_2$ (5 ml) y 12% de metanol en $CH_2Cl_2$ (10 ml). Las fracciones que contienen el producto se reagrupan y se concentran bajo presión reducida para dar el compuesto del título, 46 mg, 96%.

Paso 6



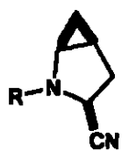

Un tubo de prueba de 15 ml secado en horno se cargó con el compuesto del Paso 5 (0.45 mg, 0.14 mmol), $CH_2Cl_2$ (1 ml), y TFA (1 ml). La mezcla de reacción se sometió a un vórtex por 40

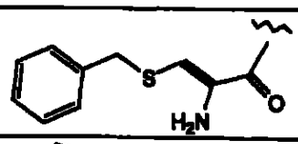
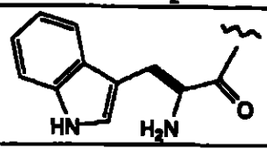
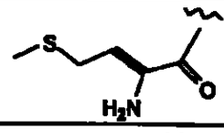
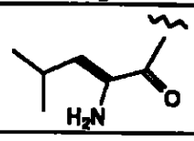
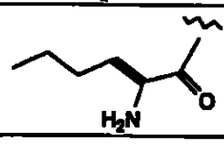
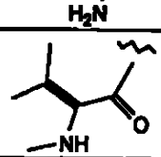
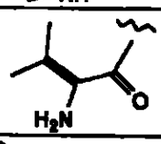
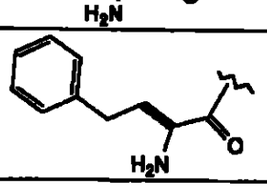
minutos a ta, diluido con tolueno (4 ml) y se concentró bajo presión reducida hasta un aceite espeso. El producto se purificó por cromatografía de columna preparativa de fase inversa sobre una columna YMC S5 ODS 20 X 250 mm para dar el compuesto del Ejemplo 6, 14 mg, 35%. Condiciones de purificación: elución de gradiente desde 10% de metanol/agua/0.1 de TFA a 90% de metanol/agua/0.1 de TFA durante 18 minutos; 5 minutos mantenido a 90% de metanol/agua/0.1 de TFA. Velocidad de flujo: 20 ml/min. Longitud de onda de detección: 220. Tiempo de retención: 10 min.

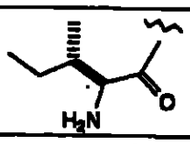
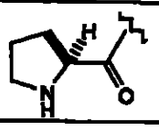
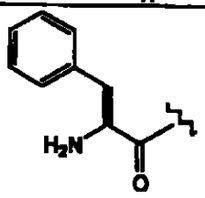
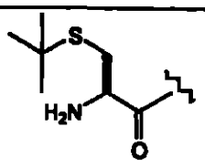
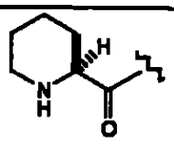
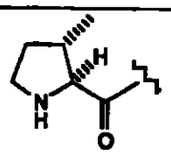
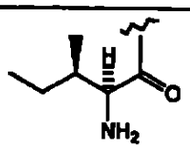
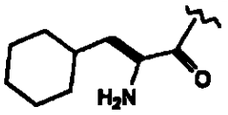
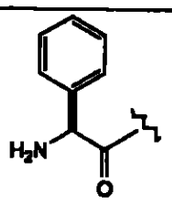
Los ejemplos 7-27 se prepararon a partir de aminoácidos disponibles de fuentes comerciales de acuerdo con el procedimiento en el Ejemplo 6.

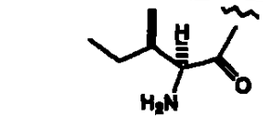
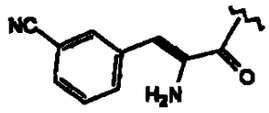
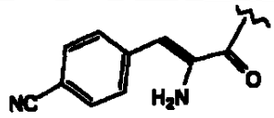
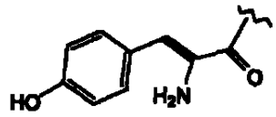
[104 103

Tabla 1

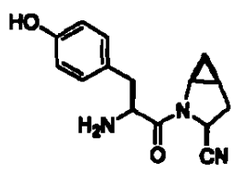


| Ejemplo | R | [M + H] |
|---|---|---|
| 7 |  | 302 |
| 8 |  | 295 |
| 9 |  | 240 |
| 10 |  | 222 |
| 11 |  | 222 |
| 12 |  | 222 |
| 13 |  | 208 |
| 14 |  | 270 |

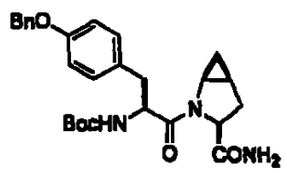
| | | |
|---|---|---|
| 15 |  | 222 |
| 16 |  | 206 |
| 17 |  | 256 |
| 18 |  | 268 |
| 19 |  | 220 |
| 20 |  | 220 |
| 21 |  | 210 |
| 22 |  | 262 |
| 23 |  | 242 |

| | | |
|---|---|---|
| 24 |  | 210 |
| 25 |  | 281 |
| 26 |  | 281 |
| 27 |  | 272 |

Ejemplo 27



Paso 1

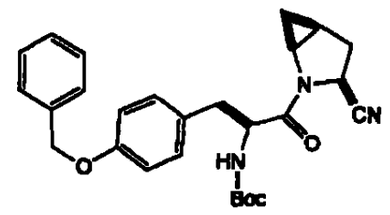


(2S,4S,5S)-4,5-metano-L-prolina carboxilamida, sal de TFA (53 mg, 0.22 mmol) se

106

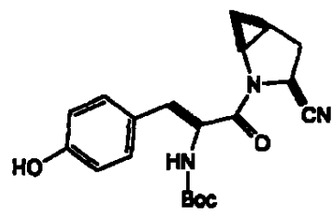
acopló a éter N-Boc-L-Tirosina-bencílico (82 mg, 0.22 mmol) usando PyBop (172 mg, 0.33 mmol) y N-metilmorfolina (67 mg, 0.66 mmol) en 4 ml de $CH_2Cl_2$. La reacción agitada por 16 h, se recuperó en EtOAc, se lavó con $H_2O$, HCl 1N acuoso, salmuera, luego se evaporó y se purificó por cromatografía instantánea de gel de sílice para dar el producto acoplado (FAB MH+ 480).

Paso 2



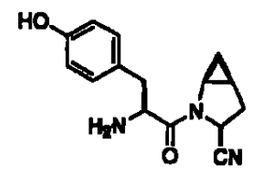

La amida del Paso 1 se deshidrató al nitrilo usando el método general C (el cual sigue el Ejemplo 29) (FAB MH+ 462).

Paso 3



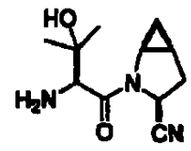
El éter bencílico del Paso 2 se divide por hidrogenólisis catalítica usando 10% de paladio sobre carbono y 1 atmósfera de gas hidrógeno en MeOH a ta por 1.5 h. La reacción se filtró a través de celita y se concentró hasta un aceite y se recuperó sin purificación adicional (FAB MH+ 372).

Paso 4



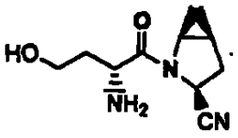

La N-[N-Boc-L-Tirosina-1-(2S,4S,5S)-2-ciano-4,5-metano-L-prolilamida del Paso 3 se disolvió en $CH_2Cl_2$ y se adicionó TFA a ta. La reacción se agitó por 1 h y se evaporó y purificó por HPLC preparativa como se describe en el método general B (descrito seguido del Ejemplo 29) para proporcionar el compuesto del título (FAB MH+ 272).

## Ejemplo 28



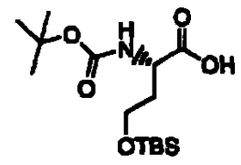
El compuesto del título se preparó por acoplamiento de (2S,4S,5S)-4,5-metano-L-prolina carboxilamida, sal de TFA descrita en el Ejemplo 6 Compuesto del Paso 3 con N-(*terc*-butiloxi-carbonilhidroxivalina. Después de la protección de hidróxilo con cloruro de trietilsililo y deshidratación de la amida con $POCl_3$/imidazol en piridina y la desprotección (nitrógeno de N-terminal e hidróxilo de valina) con TFA usando el método general C (FAB MH+ 224), se obtuvo el compuesto del título.

## Ejemplo 29



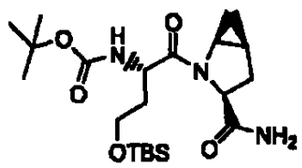
109

Paso 1



La N-Boc-L-homoserina (1.20 g, 5.47 mmol) en el tratamiento con cloruro de terc-butildimetilsililo (1.67 g, 11.04 mmol) e imidazol (938 mg, 13.8 mmol) en THF (17 ml) se agitó como pasta aguada espesa por 48 h bajo $H_2$. El solvente se evaporó, y el material crudo se disolvió en MeOH (10 ml). La solución resultante se agitó a ta por 2 h. El solvente se evaporó, y el material crudo se diluyó con $CH_2Cl_2$ (50 ml) y se trató con HCl 0.1N (2 x 10 ml). La capa de $CH_2Cl_2$ se lavó con salmuera y se secó sobre $MgSO_4$. La remoción de las substancias volátiles dio el compuesto del título como un aceite (1.8 g), el cual se utilizó son purificación adicional (LC/Masa, + ion): 334 (M+H).

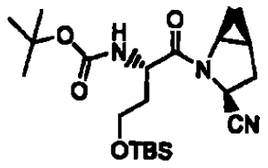
Paso 2



110

A una solución agitada del compuesto del Paso 1 (333 mg, 1.0 mmol) en 6 ml de $CH_2Cl_2$ se adicionó clorhidrato de 1-[3-(dimetilamino)-propil]-3-etilcarbodiimida (256 mg, 1.32 mmol). La solución se agitó entonces a ta por 30 min, seguido por la adición con la sal de TFA de amina del Paso 3 del Ejemplo 6 (160 mg, 0.66 mmol) y 4-(dimetilamino)piridina (244 mg, 2.0 mmol). La solución se agitó entonces a ta durante la noche. La mezcla se diluyó con $CH_2Cl_2$ (5 ml) y se lavó en forma secuencial con $H_2O$, 10% de ácido cítrico, salmuera, luego se secó sobre $Na_2SO_4$ y se evaporó para dar el compuesto del título (350 mg) el cual se utilizó sin purificación adicional (LC/Masa, + ion): 442 (M+H).

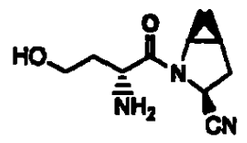
Paso 3




Un frasco de fondo redondo de 10 ml, secado en horno, se cargó con el compuesto del

Paso 2 (350 mg, 0.79 mmol), imidazol (108 mg, 1.58 mmol), piridina (3 ml). El frasco o recipiente bajo argón se enfrió a -30°C. La adición lenta de $POCl_3$ (0.30 ml, 3.16 mmol) dio después del mezclado una pasta espesa. La pasta se mezcló a -30°C por 3 h y las substancias volátiles se evaporaron. Luego se agregó diclorometano (5 ml) y el sólido insoluble se removió por filtración. La capa orgánica se lavó con $H_2O$, 10% de ácido cítrico, salmuera y se secó sobre $Na_2SO_4$. La remoción del solvente dio nitrilo crudo deseado (330 mg) (LC/Masa, + ion): 424 (M+H).

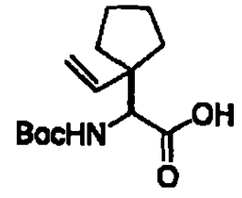
Paso 4




Se adicionó ácido trifluoroacético (3.3 ml) a una solución agitada del compuesto del Paso 3 (330 mg, 0.58 mmol) en 3.3 ml de $CH_2Cl_2$. La solución se agitó entonces a ta por 30 min., una pocas gotas de agua se adicionaron y la

mezcla se agitó por 0.5 h. La mezcla se diluyó con $CH_2Cl_2$ (5 ml) y se concentró bajo presión reducida hasta un aceite espeso. El producto se purificó por cromatografía de columna preparativa de fase inversa sobre una columna YMC S5 ODS 20x100 mm para dar el compuesto del título, 59 mg, 17%. Condiciones de purificación: elución de gradiente desde 10% de metanol/agua/0.1 de TFA a 90% de metanol/agua/0.1 de TFA durante 15 min., 5 minutos se mantuvo a 90% de metanol/agua/0.1 de TFA. Velocidad de flujo: 20 ml/min. Longitud de onda de detección: 220. Tiempo de retención 10 Min. (LC/Masa, + ion): 210 (M+H).

**Método General B**: Secuencia de rearreglo de Claisen para aminoácidos Boc-protegidos.

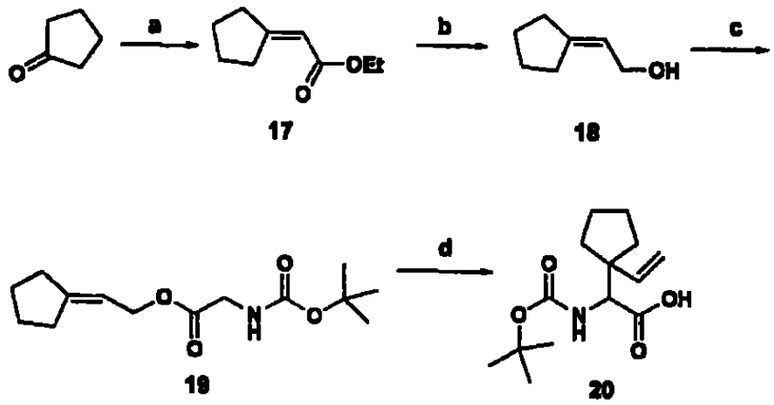



El método general B proporciona los aminoácidos Boc-protegidos cuaternarios. Los

113

Ejemplos 30-47 contienen la cadena lateral de vinilo por el acoplamiento de aminoácidos del Esquema 4, el compuesto **20** es representativo. La ciclopentanona fue olefinada bajo condiciones de Horner-Emmons para dar **17** el cual se reduce al alcohol alílico **18** usando DIBAL-H en tolueno -78°C a ta. El alcohol alílico **18** se esterificó con N-Boc glicina usando DCC/DMAP en $CH_2Cl_2$ para dar **19**. El éster de glicina **19** se sometió al rearreglo de Claisen mediado por el ácido de Lewis por formación de complejo con cloruro de zinc anhidro y la desprotonación a -78°C con diisopropilamida de litio seguido por calentamiento a temperatura ambiente para dar el **20**.

**Esquema 4, Método General B, Ejemplos 30-47**



114

a. Trietilfosfonoacetato, NaH, THF O C a TA b. DIBAL-H, tolueno, -78C a TA c. N-Boc glicina, DDC, DMAP, $CH_2Cl_2$, TA d. $ZnCl_2$, THF, LDA, -78C a TA.

Paso 1

Éster etílico del ácido ciclopentilidenacético

A un matraz de fondo redondo de 500 ml secado por contacto con la llama que contiene NaH (5.10 g de un 60% de dispersión en aceite mineral, 128 mmol, 1.10 equivalente) en 120 mL de THF anhidro a 0°C bajo argón se adicionó trietilfosfonoacetato (25.6 ml, 128 mmol, 1.10 equivalente) por goteo a través de un embudo de adición. La mezcla se dejó calentar a ta, se agitó por 1 hora adicional. Una solución de ciclopentanona (10.3 ml, 116 mmol) en 10 ml de THF anhidro se adicionó por goteo sobre 20 min a través de un embudo de adición, y la mezcla se dejó agitar a ta por 2.5 horas. Luego se adicionaron éter (200 ml) y agua (100 ml), y las capas se separaron. La fase orgánica se lavó

sucesivamente con agua (100 ml) y salmuera (100 ml), se secó ($Na_2SO_4$), y se concentró bajo presión reducida, dando 17.5 g (98%) del éster deseado como un aceite incoloro).

Paso 2

2-ciclopentilidenetanol

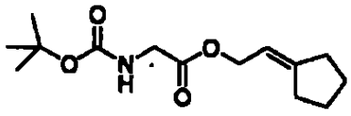
A un matraz de fondo redondo de 500 ml secado por contacto con la llama que contiene éster etílico del ácido ciclopentilidenacético (17.5 g, 113 mmol) en 100 ml de tolueno anhidro a -78°C bajo argón se adicionó DIBAL-H (189 ml de una solución 1.5 M en tolueno, 284 mmol, 2.50 equivalente) por goteo sobre un período de 30 minutos a través de un embudo de adición, y la mezcla luego se dejó calentar a ta, agitando por 18 horas. La mezcla de reacción luego se volvió a enfriar a -78°C, y se enfrió rápidamente por la adición cuidadosa de 30 ml de MeOH anhidro. Hasta que se calentó a ta, se adicionó sal de Rochelle 1N (100 ml), y la mezcla se agitó 90 min. La mezcla de reacción bifásica luego se diluyó con $Et_2O$ (200 ml) en un embudo de

116

separación, y las capas se separaron. Luego la capa orgánica se lavó con salmuera (100 ml), se secó ($Na_2SO_4$), y se concentró bajo presión reducida. La purificación por cromatografía de columna instantánea (gel de sílice, $CH_2Cl_2$/EtOAc, 10:1) dio 11.6 g (92%) del alcohol alílico deseado como un aceite incoloro.

Paso 3

(2-ciclopentilidenetil)-N-(terc-butiloxicarbonil)glicinato.

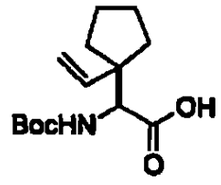


A un matraz de fondo redondo de 500 ml secado por contacto con la llama que contiene N-(terc-butiloxicarbonil)glicina (13.45 g, 76.75 mmol) en 100 ml de $CH_2Cl_2$ a ta se adicionó el compuesto del Paso 2 (8.61 g, 76.75 mmol, 1.00 equivalente) en 20 ml de $CH_2Cl_2$, seguido por diciclohexilcarbodiimida (16.63 g, mmol, 1.05 equivalente) en 80 ml de $CH_2Cl_2$. A esta mezcla de

reacción luego se adicionó 4-dimetilaminopiridina (0.94 mg, mmol, 0.10 equivalente), y la mezcla se dejó agitar durante la noche. La mezcla de reacción luego se filtró a través de un embudo de vidrio medio sinterizado, se enjuago con 100 ml de $CH_2Cl_2$, y se concentró bajo presión reducida. El producto crudo luego se purificó por cromatografía instantánea (gel de sílice, hexanos/EtOAc, gradiente 20:1 a 1:1) para dar 19.43 g (94%) del éster de glicinilo deseado como un aceite incoloro.

Paso 4

N-(terc-butiloxicarbonil) (1'vinilciclopentil)-glicina



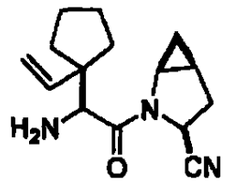

A un matraz de fondo redondo de 500 ml secado por contacto con la llama, bajo argón se

cargó con $ZnCl_2$ (11.8 g, mmol, 1.20 equivalente) y 20 ml de tolueno. La mezcla se calentó bajo vacío con agitación vigorosa para separar por azeotropía cualquiera de los rastros de humedad con la destilación de tolueno, repitiendo este proceso (2x). El matraz luego se enfrió a ta bajo argón, (2-ciclopentilidenetil)N-(terc-butiloxicarbonil)glicinato (19.36 g, 71.88 mmol) se adicionó vía cánula como una solución en 180 ml de THF, y la mezcla luego se enfrió a -78°C. En un matraz de fondo redondo de 200 ml secado por contacto con la llama separado que contiene diisopropilamina (26.3 ml, mmol, 2.60 equivalente) en 90 ml de THF a -78°C se adicionó n-butil litio (71.89 ml de una solución 2.5 M en hexanos, mmol, 2.5 equivalente), y la mezcla se dejó calentar a 0°C por 30 minutos antes de volver a enfriarse a -78°C. La diisopropilamina de litio así regenerada luego se adicionó vía cánula a la mezcla de éster $ZnCl_2$ por goteo a una velocidad estable durante 40 minutos, y la mezcla de reacción resultante se dejó calentar lentamente a ta y agitar durante la noche. La mezcla de reacción amarilla luego se vertió en un embudo de separación, se diluyó con 300 ml de

$Et_2O$, y la solución orgánica resultante se lavó sucesivamente con 300 ml de HCl 1N y 300 ml de salmuera, se secó ($Na_2SO_4$), y se concentró bajo presión reducida. La purificación por cromatografía instantánea (gel de sílice, 3% MeOH en $CH_2Cl_2$ con 0.5% de HOAc) dando 17.8 g (92%) del producto aminoácido deseado como un sólido blanco. (FAB MH+ 270).

## Ejemplo 30

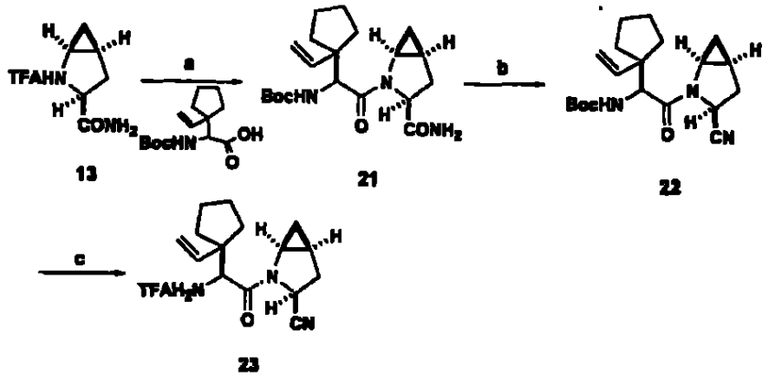
**Método General C:** Acoplamiento del péptido a la 4,5-metano-prolinamida, deshidratación de amina y desprotección final.




La sal de TFA de la amida **13** se acopló a una variedad de aminoácidos protegidos cuaternarios racémicos usando HOBT/EDC en DMF a ta para dar una mezcla D/L de diastereomeros en el aminoácido con terminación N. El

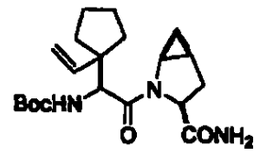
diastereomero L deseado se aisló de manera cromatográfica ya sea como la amida **21** o como el nitrilo **22**. El nitrilo **22** se obtuvo por el tratamiento de la amida con $POCl_3$/imidazol en piridina a -20°C. El blanco **23** final se obtuvo por la desprotección bajo condiciones ácidas usando TFA en $CH_2Cl_2$.

**Esquema 5, Método General C**



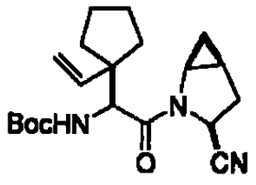

a.EDAC, HOBT, DMF b.$POCl_3$, piridina, imidazol, -20C c.TFA, $CH_2Cl_2$, TA

Paso 1



El compuesto del Ejemplo 6 Paso 3 (877 mg, 3.65 mmol) y ácido ciclopentilvinilamino N-Boc, descrito en el Paso 4 del método general B (1.13 g, 4.20 mmol) se disolvieron en 20 ml de DMF anhidro, se enfrió a 0°C y a esta mezcla se adicionó EDAC (1.62 g, 8.4 mmol), hidrato de HOBT (2.54 g, 12.6 mmol, y TEA (1.27 g, 12.6 mmol) y la reacción se dejó calentar a ta y se agitó por 24 horas. La mezcla de reacción se recuperó en EtOAc (100 ml), se lavó con $H_2O$ (3 x 20 ml), se secó ($Na_2SO_4$), y se purificó por cromatografía de columna instantánea de gel de sílice (100% EtOAc) para dar 1.38 g (86%) del compuesto del Paso 1 (MH+, 378).

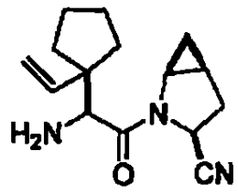
Paso 2




El compuesto del paso 1 (1.38 g, 3.65 mmol) e imidazol (497 mg, 7.30 mmol) se secaron por azeotropo de tolueno (5 ml x 2), se disolvió en 10 ml de piridina anhidra, se enfrió a -30°C

bajo gas de nitrógeno y $POCl_3$ (2.23 g, 14.60 mmol) se adicionó por medio de una jeringa. La reacción se completó después de 1 h y se evaporó hasta sequedad y el remanente purificado por dos cromatografías de columna instantánea sobre gel de sílice secuenciales. La primer columna (100% EtOAc) se uso para aislar la mezcla de distereomeros (1.15 g, 88%) a partir de los subproductos de la reacción. La segunda columna (gradiente de 25% EtOAc/hexanos a 50% EtOAc/hexanos) se realizó para volver a disolver la mezcla de diastereomeros y proporcionó 504 mg del nitrilo del Paso 2 deseado (MH+360).

Paso 3

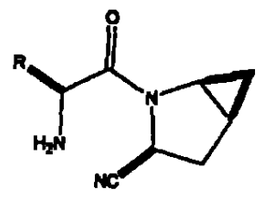


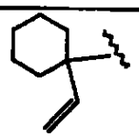
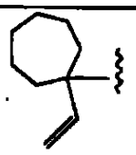
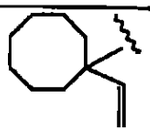
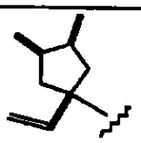
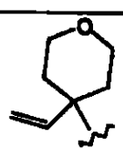
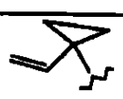
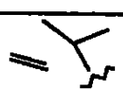

El compuesto del Paso 2 (32 mg, 0.09 mmol) se disolvió en 1 ml de $CH_2Cl_2$ y 1 ml de TFA se adicionó y la reacción se agitó por 30 min a ta y se evaporó hasta sequedad. El producto se purificó por cromatografía de columna

preparativa de fase inversa sobre una columna YMC S5 ODS 20 X 250 mm para dar 12 mg de sal de TFA (liofilizada desde agua o aislada después de la evaporación del efluente y la trituración con éter) del compuesto del título. Condiciones de purificación: elución del gradiente desde 10% metanol/agua/0.1 TFA a 90% metanol/agua/0.1 TFA durante 18 min; 5 min mantenida a 90% metanol/agua/0.1 ácido trifluoroacético. Velocidad de Flujo: 20 ml/min. Detección de longitud de onda: 220.

Los ejemplos 30-39 se prepararon por los métodos resumidos en el Método General B y Método General C que parten de ciclopentanona, ciclobutanona, ciclohexanona, cicloheptanona, ciclooctanona, cis-3,4-dimetilciclopentanona, y 4-piranona, ciclopropanetilhemiacetal, acetona, y 3-pentanona respectivamente.

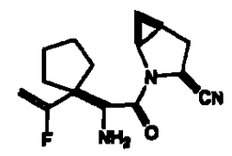
**Tabla 2**



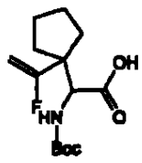
| Ejemplo | R | MS [M + H] |
|---|---|---|
| 30 |  | 260 |
| 31 |  | 246 |
| 32 |  | 274 |
| 33 |  | 288 |
| 34 |  | 302 |
| 35 |  | 288 |
| 36 |  | 276 |
| 37* |  | 232 |
| 38 |  | 234 |
| 39 |  | 262 |

* Paso 3 el compuesto se preparó por el método descrito en Tetrahedron Letters 1986, 1281-1284.

Ejemplo 40

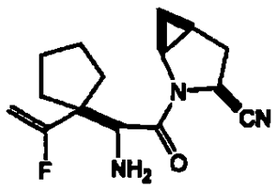


Paso 1



El compuesto del paso 1 se preparó empleando el método general B que parte de ciclopentanona y 2-fluoro-trietilfosfonoacetato en lugar de trietilfosfonoacetato.

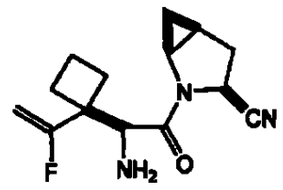
Paso 2



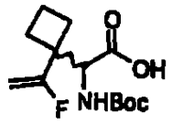
El compuesto del título se preparó por el acoplamiento del péptido del ácido del Paso 1

seguido por la deshidratación y la desprotección final como se describió en el método general C [MS (M+H)278].

Ejemplo 41

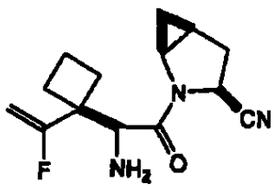


Paso 1



El compuesto del Paso 1 se preparó empleando el método general B que parte de ciclobutanona y 2-fluoro-trietilfosfonoacetato en lugar de trietilfosfonoacetato.

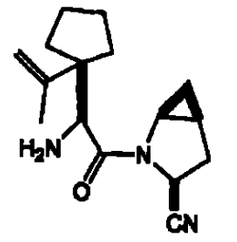
Paso 2

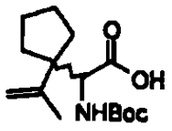


El compuesto del título se preparó por el acoplamiento del péptido del ácido del Paso 1 seguido por deshidratación y desprotección final como se describió en el método general C. MS (M+H) 264.

Ejemplo 42

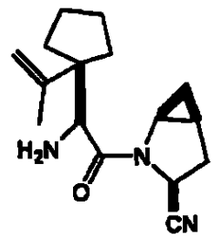
Paso 1



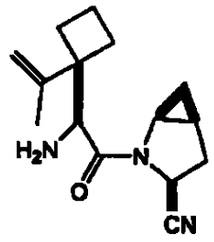

El compuesto del Paso 1 se preparó empleando el método general B que parte de ciclopentanona y trietilfosfonopropionato en lugar de trietilfosfonoacetato.

Paso 2

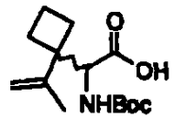


El compuesto del título se preparó por el acoplamiento del péptido del ácido del Paso 1 seguido por deshidratación y desprotección final como se describió en el método general C. MS (M+H) 274.

Ejemplo 43



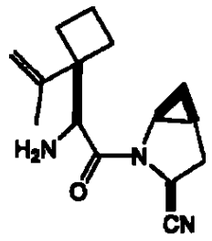
Paso 1



El compuesto del Paso 1 se preparó empleando el método general B que parte de

ciclobutanona y trietilfosfonopropionato en lugar de trietilfosfonoacetato.

Paso 2



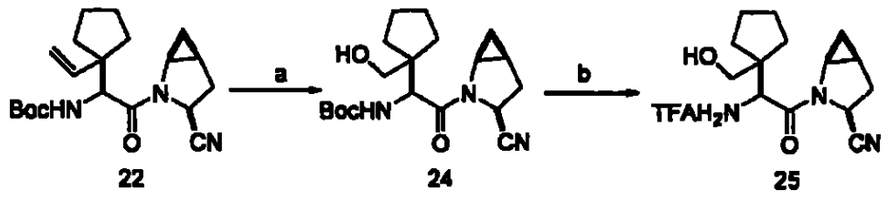
El compuesto del título se preparó por el acoplamiento del péptido del ácido del Paso 1 seguido por deshidratación y desprotección final como se describió en el método general C. MS (M+H) 260.

## Ejemplo 44

**Método General D**: Separación oxidativa del substituyente vinilo por ozonolisis. El ciclopentilvinil nitrilo **22** protegido se trató con ozono por 6-8 minutos y se sometió a un rápido enfriamiento reductivo con borohidruro de sodio para proveer el hidroximetilo análogo **24** directamente. Este compuesto se desprotegió bajo

condiciones ácidas con TFA en $CH_2Cl_2$ a 0°C para dar el compuesto blanco **25**.

**Esquema 6, Método General D, Ejemplos 44, 46, 48**




a.$O_3$, MeOH:$CH_2Cl_2$, 10:4, -78C; luego $NaBH_4$, -78C a 0 C, 79% b.TFA:$CH_2Cl_2$, 1:2, 0 grados C.

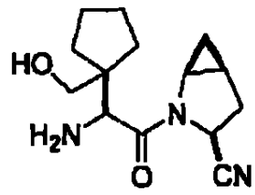
Paso 1




El compuesto ciclopentilvinilo preparado en el Paso 2 del método general C (1.28 g, 3.60 mmol) se disolvió en 56 ml de una mezcla 2:5 de $CH_2Cl_2$:metanol, se enfrió a -78°C y se trató con una corriente de ozono hasta que la mezcla de

reacción asumió un color azul, en este tiempo,, $NaBH_4$ (566 mg, 15.0 mmol, 4.2 equivalente) se adicionó y la reacción se calentó a 0°C. Después de 30 min, la reacción se enfrió rápidamente con 2 ml de $NaHCO_3$ acuoso saturado y luego se calentó a ta. La mezcla de reacción se evaporó hasta sequedad y se recuperó en EtOAc. Una pequeña cantidad de agua se adicionó para disolver los inorgánicos y las capas separadas. La capa de EtOAc se secó ($Na_2SO_4$), se filtró y se evaporó a un aceite que se purificó por cromatografía de columna instantánea sobre gel de sílice con EtOAc para dar 922 mg (71%) del compuesto del Paso 1. MS(M+H)364.

Paso 2




El compuesto del Paso 1 (900 mg, 2.48 mmol) se disolvió en 60 ml de $CH_2Cl_2$, se enfrió a 0°C y se trató con 20 ml de TFA destilado

recientemente. La reacción se completo en 80 minutos y la mezcla se evaporó hasta sequedad y se purificó por HPLC preparativa (YMC S5 ODS 30 X 100 mm, 18 minutos gradiente 80% Solvente A:Solvente B a 100% Solvente B, Solvente A = 10% MeOH-90%$H_2O$-0.1% TFA, Solvente B = 90% MeOH-10% $H_2O$ - 1% TFA, producto colectado desde 5.1-6.5 min) para dar, después la liofilización de agua, 660 mg (71%) del compuesto del título, sal de TFA como un liofilado blanco. (MH+264).

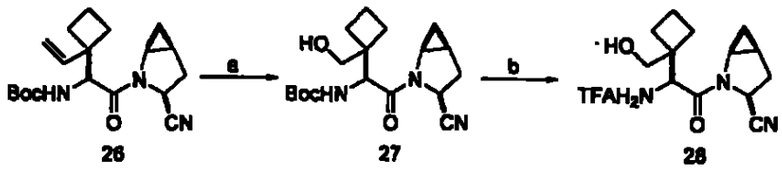
## Ejemplo 45

**Método General E**: Separación oxidativa del substituyente vinilo por peryodato de sodio con tetróxido de osmio seguido por reducción de borohidruro de sodio a alcohol. La ciclobutilolefina **26** se trató con tetróxido de osmio y peryodato de sodio en THF:agua, 1:1, y el aldehído intermediario se aisló crudo e inmediatamente se redujo con borohidruro de sodio para dar el **27** en un rendimiento del 56%. Las condiciones de desprotección estándares

133

usando TFA proporcionaron el compuesto blanco **28**.

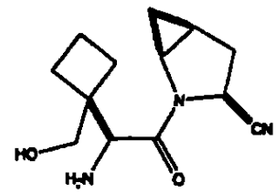
**Esquema 7, Método General E, Ejemplos 45, 47**

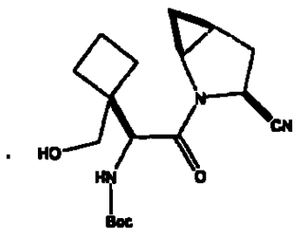



a. $OsO_4$, THF:$H_2O$, 1:1; $NaIO_4$; elaborado, luego $NaBH_4$, MeOH, TA. 56%

b. TFA:$CH_2Cl_2$, 1:2, 0 grados C a TA.

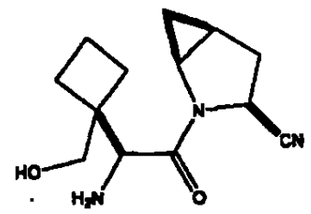
Paso 1



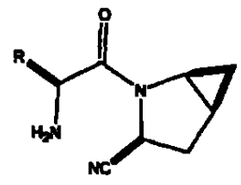
El compuesto ciclobutilvinilo N-Boc protegido (Ejemplo 31, preparado por el método general C) (0.16 g, 0.46 mmol) se disolvió en 10 ml de una mezcla 1:1 de THF:agua y se trató con $OsO_4$ (12 mg, catalizador) y $NaIO_4$ (0.59 g, 2.76 mmol, 6 equivalente). Después de 2 horas, la mezcla de reacción se diluyó con 50 ml de éter y 10 ml de agua. Las capas se equilibraron y la fracción orgánica se lavó una vez con solución de $NaHCO_3$, se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró para dar un aceite obscuro. El aceite se diluyó con 10 ml de metanol y se trató con $NaBH_4$ (0.08 g, 2.0 mmol). La mezcla se volvió obscura y después de 30 minutos se diluyó con éter y la reacción se enfrió rápidamente con solución de $NaHCO_3$ acuosa. La mezcla se equilibró y las capas se separaron. La fracción orgánica se lavó con soluciones de $NaHCO_3$ y HCl 0.1 M. Los orgánicos se secaron ($MgSO_4$) y se concentraron para dar 90 mg (56%) del compuesto del Paso 1 como un aceite obscuro.

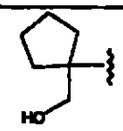
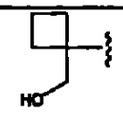
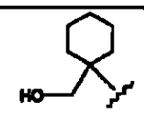
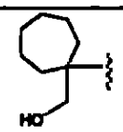
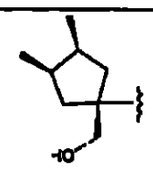
Paso 2



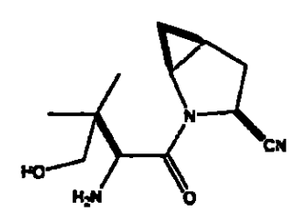
El compuesto del Paso 1 (90 mg, 0.26 mmol) se disolvió en 3 ml de $CH_2Cl_2$, se enfrió a 0°C y se trató con 3 ml de TFA recientemente destilado. La reacción se completo en 80 min y se evaporó hasta sequedad y se purificó por HPLC preparativa (YMC S5 ODS 30 X 100 mm, 10 minutos gradiente 100%A a 100%B, Solvente A = 10% MeOH-90%$H_2O$-0.1% TFA, Solvente B = 90% MeOH - 10%$H_2O$ - 0.1% TFA, para dar, después de la remoción de agua, 50 mg (60%) del compuesto del título. (MH+250).

Tabla 3

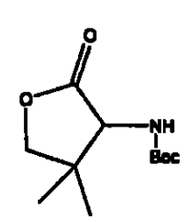


| Ejemplo | R | Método de Preparación | [M + H] |
|---|---|---|---|
| 44 |  | Ozonolisis/ borohidruro | 264 |
| 45 |  | Osmio/peryodato/ borohidruro | 250 |
| 46 |  | Ozonolisis/ borohidruro | 278 |
| 47 |  | Osmio/peryodato/ borohidruro | 292 |
| 48 |  | Ozonolisis/ borohidruro | 292 |

Ejemplo 49



Paso 1



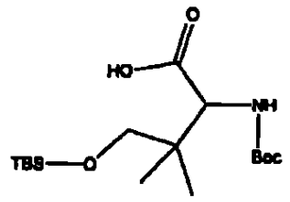
Parte A. Un matraz de 50 ml se cargó con dihidro-4,4-dimetil-2,3-furandiona (5.0 g, 39.0 mmol), ácido acético (10 ml), acetato de sodio (3.82 g, 39.0 mmol) y clorhidrato de hidroxilamina (2.71 g, 39.0 mmol). La mezcla de reacción se agitó por 2 h a ta y se concentró bajo presión reducida para eliminar más del ácido acético. El remanente se vertió en agua (100 ml) y la fase acuosa se extrajo con EtOAc (3 X 40 ml). Los orgánicos se secaron sobre $Na_2SO_4$ y se concentraron hasta un aceite incoloro el cual se solidificó en reposo.

Parte B. Un matraz de fondo redondo de 200 ml se cargó con el sólido de la Parte A (@ 39 mmol) y se diluyó con 80 ml de etanol y 39 ml de HCl 2N (78 mmol). La mezcla se trató con 1.0 g de 5% Pd/carbono y la mezcla se desgasificó. El matraz se colocó bajo una atmósfera de $H_2$ por 8 horas. La mezcla se filtró a través de celita y el filtrado se concentró hasta un sólido blancuzco.

Parte C. Un matraz de fondo redondo de 250 ml se cargó con el sólido de la Parte B y se

diluyó con THF (50 ml) y agua (15 ml). La mezcla se trató con di-terc-butildicarbonato (12.7 g, 117 mmol) y bicarbonato de sodio (10.0 g, 117 mmol). Después de 4 horas de agitación la mezcla se diluyó con 50 ml de éter y 50 ml de agua. Las capas se separaron y la fracción orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía de columna instantánea sobre gel de sílice con 30% EtOAc en hexanos para dar 2.00 g (22% total) del compuesto del Paso 1 como un sólido blanco.

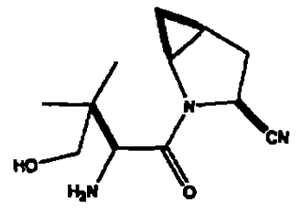
Paso 2




A una solución agitada del compuesto del Paso 1 (1.00 g, 3.80 mmol) en THF (20 ml) a ta bajo nitrógeno se adicionó hidrato de LiOH (0.16 g, 3.80 mmol) y luego agua (5 ml). La reacción se agitó a 40°C por 0.5 h y luego se enfrió a ta. La mezcla se concentró hasta sequedad y el remanente se liberó de THF (2X), tolueno (2X) y

THF (1X). El cristal remanente se diluyó con 5 ml de THF y se trató con imidazol (0.63 g, 9.19 mmol) seguido por cloruro de t-butil-dimetilsililo (1.26 g, 8.36 mmol). La reacción se agitó durante la noche y se enfrió rápidamente con 10 ml de metanol. Después de 1 hora de agitación la mezcla se concentró. Una porción adicional de metanol se adicionó y la mezcla se concentró. El aceite se diluyó con éter y HCl 0.1 N (pH 2). Las capas se equilibraron y la acuosa se aparto. La fracción orgánica se secó sobre $MgSO_4$ y se concentró para dar 1.25 g (83%) del compuesto del Paso 2 como un cristal incoloro.

Paso 3

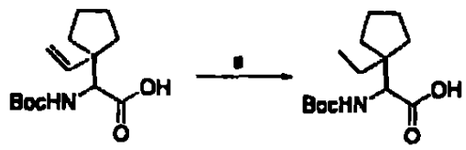



El compuesto del título se preparó por el acoplamiento del péptido del ácido carboxílico del Paso 2 con la amina del Ejemplo 6 Paso 3, seguido por deshidratación y

desprotección como se resumió en el Método General C. MS (M+H) 238.

**Método General F:** Hidrogenación Catalítica del susbtituyente vinilo. Como se muestra en el Esquema 8, el aminoácido **20** substituido con vinilo protegido se transformó al análogo **29** saturado correspondiente por hidrogenación catalítica usando 10% Pd/C e hidrógeno a presión atmosférica.

**Esquema 8, Método General F, Ejemplos 50-56**




20 29

a. 10% Pd/C, 1 atm $H_2$,
MeOH, 12 h, 100%

Paso 1

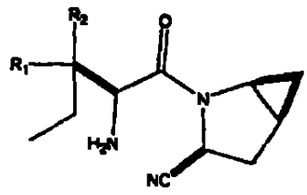
La N-(terc-butiloxicarbonil) (1'vinilciclopentil)glicina (2.23 g, 8.30 mmol)

141

se disolvió en 50 ml de MeOH y se colocó en un vaso de hidrogenación purgado con argón. A esta mezcla se adicionó 10% Pd-c (224 mg, 10% p/p) y la reacción se agitó bajo 1 atm de $H_2$ a ta por 12 horas. La reacción se filtró a través de celita y se concentró y se purificó por cromatografía de columna instantánea sobre gel de sílice con 1:9 metanol:$CH_2Cl_2$ para dar el compuesto del Paso 1 como un cristal. (FAB MH+ 272)

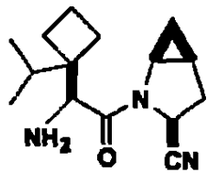
Los ejemplos 50-56 se prepararon por el acoplamiento del péptido de los aminoácidos (donde el substituyente vinilo se ha hidrogenado de acuerdo con el método general F) seguido por deshidratación y desprotección como se describió en el método general C.

Tabla 4



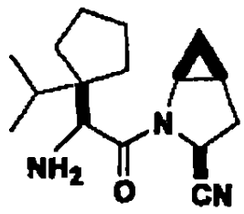
| Ejemplo | R1, R2 | MS [M + H] |
|---|---|---|
| 50 | Ciclopentilo | 262 |
| 51 | ciclobutilo | 248 |
| 52 | cicloheptilo | 290 |
| 53 | 4-piranilo | 278 |
| 54 | metilo, metilo | 236 |
| 55 | etilo, etilo | 264 |
| 56 | metilo, etilo | 250 |

Ejemplo 57



El compuesto del título en el Ejemplo 57 se preparó por el acoplamiento del péptido del isopropil ciclobutan aminoácido (donde el substituyente olefina se ha hidrogenado de acuerdo con el método general F) seguido por la deshidratación y desprotección comó se describió en el método general C.

Ejemplo 58

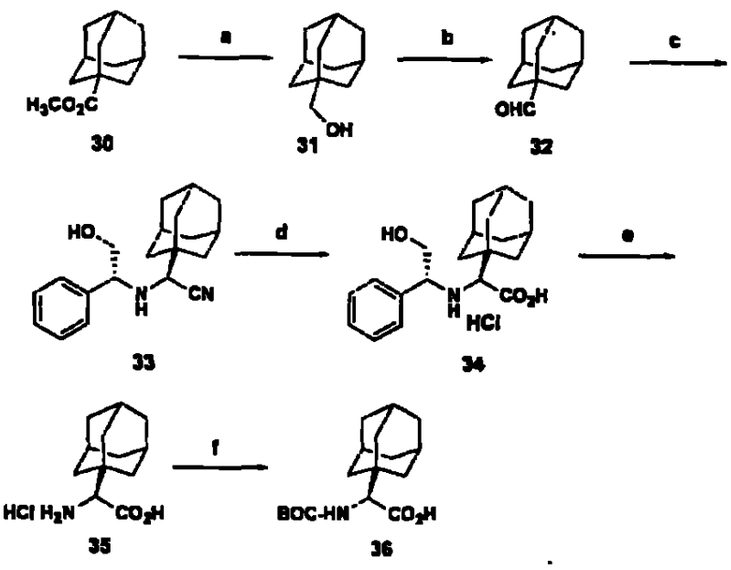



El compuesto del título en el Ejemplo 58 se preparó por el acoplamiento del péptido del isopropil ciclopentan aminoácido (donde el susbtituyente olefina se ha hidrogenado de acuerdo con el método general F) seguido por deshidratación y desprotección como se describió en el método general C. MS (M+H) 276.

**Método General G:** L-amino ácidos sintetizados por Reacción de Strecker Asimétrica. El ácido adamantil carboxílico comercialmente disponible se esterificó ya sea en MeOH con HCl a reflujo o usando trimetilsilildiazometano en $Et_2O$/metanol para dar el **30**. El éster se redujo a alcohol **31** con LAH en THF y luego se sometió a una oxidación Swern para dar el aldehído **32**. El aldehído **32** se transformó al **33** bajo condiciones de Strecker asimétricas con KCN, $NaHSO_3$ y R-(-)-2-

fenilglicinol. El nitrilo del **33** se hidrolizó bajo condiciones fuentemente ácidas usando HCl 12M en HOAc para dar el **34**. El quiral auxiliar se removió por reducción catalítica usando catalizador de Pearlman en metanol ácido bajo 50 psi de hidrógeno para dar el **35** y el grupo amino resultante se protegió como el t-butilcarbamato para dar el **36**.

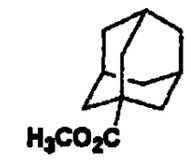
**Esquema 9, Método General G, Ejemplo 59-64**




a. LAH, THF, 0 C A TA, 96% b. ClCOCOCl, DMSO, $CH_2Cl_2$, -78 C, 98% c. R-(-)-2-Fenilglicinol, $NaHSO_3$, KCN d. HCl 12M, HOAc,

80 C, 16h, 78% e. 20% $Pd(OH)_2$, 50 psi $H_2$, MeOH:HOAc, 5:1 f. $(Boc)_2O$, $K_2CO_3$, DMF, 92%, 2 pasos

Paso 1




El ácido adamantan-1-carboxílico (10.0 g, 55 mmol, 1 equivalente) se disolvió en una mezcla de $Et_2O$ (160 ml) y MeOH (40 mL), y se trató con trimetilsilil diazometano (2.0 M en hexano, 30 ml, 60 mmol, 1.1 equivalente) y se agitó a ta por 3 h. Los volátiles luego se removieron por evaporación rotatoria y el producto se purificó por cromatografía de columna instantánea sobre gel de sílice (5x15 cm) con 40% $CH_2Cl_2$/hexanos para dar el producto como un sólido cristalino blanco (10.7 g, 100%).

Paso 2

146




El compuesto del Paso 1 (10.7 g, 0.055 mmol, 1 equivalente) se disolvió en THF anhidro (150 ml) bajo argón y se trató con una solución de $LiAlH_4$ (1 M en THF, 69 ml, 69 mmol, 1.25 equivalente). Después de la agitación a ta por 1.5 horas, la reacción se enfrió a 0°C y se enfrió rápidamente de manera secuencial con $H_2O$ (5.1 ml), 15% NaOH acuoso (5.1 ml), y $H_2O$ (10.2 ml). Después de la agitación a ta por 15 minutos, la pasta aguada se filtró a vacío, y los sólidos se lavaron con EtOAc (2x100 ml). El filtrado se concentró por evaporación rotatoria y el sólido resultante se purificó por cromatografía de columna instantánea sobre gel de sílice (5x15 cm) con 10% EtOAc/$CH_2Cl_2$. Esto proporcionó el producto del Paso 2 como un sólido blanco (8.74 g, 96%).

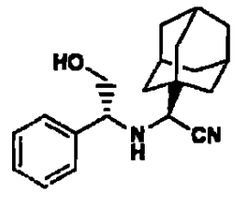
Paso 3




Un matraz de tres cuellos secado en estufa con un embudo de adición de 125 ml se cargó con $CH_2Cl_2$ anhidro (150 ml) y DMSO anhidro (10.3 ml, 0.145 mol, 2.5 equivalente) bajo atmósfera de argón y se enfrió a -78°C. La adición lenta por goteo de cloruro de oxalilo (6.7 ml, 0.0768 mol, 1.32 equivalente) seguido por la agitación por 15 min proporcionó un aducto DMSO activado. Este se trató con una solución del compuesto del Paso 2 (9.67 g, 58.2 mmol, 1 equivalente) en $CH_2Cl_2$ seco (75 ml) y la reacción se dejó agitar por 1 hora. La mezcla blanca resultante luego se trató por goteo con trietilamina (40.5 ml, 0.291 mol, 5 equivalente). Después de 30 min, el baño de enfriamiento se removió, y la reacción se enfrió rápidamente de manera secuencial con 20% $KH_2PO_4$ acuoso frío (25 ml) y $H_2O$ fría (150 ml). Después de la agitación a ta por 15 minutos la mezcla se diluyó con $EtO_2$ (400 ml) y las capas se

separaron. Los orgánicos fueron orgánicos lavados con $KH_2PO_4$ acuoso al 10% frío (3x150 ml) y NaCl acuoso saturado (100 ml). Los orgánicos se secaron ($Na_2SO_4$), se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía de columna instantánea sobre gel de sílice (5x10 cm) con $CH_2Cl_2$ para dar el compuesto del Paso 3 como un sólido blanco (9.40 g, 98%).

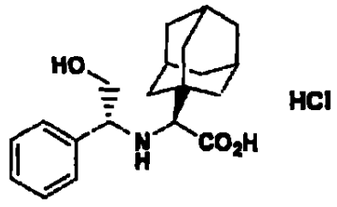
Paso 4




El compuesto del Paso 3 (9.40 g, 57 mmol, 1 equivalente) se suspendió en $H_2O$ (145 ml) y se enfrió a 0°C. La mezcla se trató con $NaHSO_3$ (5.95 g, 57 mmol, 1 equivalente), KCN (4.0 g, 59 mmol, 1.04 equivalente), y una solución de (R)-(-)-fenilglicinol (8.01 g, 57 mmol, 1 equivalente) en MeOH (55 ml). La mezcla resultante se agitó a ta por 2 h, luego se sometió a reflujo por 16 horas. La mezcla se

enfrió a ta, y se adicionaron 200 ml de EtOAc. Después del mezclado por 15 minutos las capas se separaron. La fracción acuosa se extrajo con EtOAc. Los extractos EtOAc combinados se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron sobre $Na_2SO_4$ anhidro, se filtraron y el filtrado se concentró. El producto se purificó por cromatografía de columna instantánea sobre gel de sílice (6.4x20 cm) con 20% EtOAc/hexanos para dar el producto (R,S) deseado como un sólido blanco (11.6 g, 37.4 mmol, 65%): MS m/e 311 $(M+H)^+$.

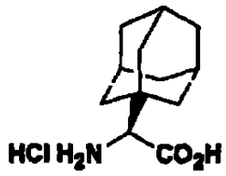
Paso 5




El nitrilo del Paso 4 (5.65 g, 18 mmol) se calentó en HCl concentrado (120 ml) y HOAc (30 ml) a 80°C por 18 h, en este tiempo la reacción se enfrió en un baño de hielo. La filtración en vacío del precipitado resultante

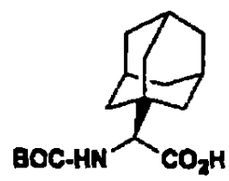
proporcionó el producto deseado como un sólido blanco (5.21 g, 14 mmol, 78%). MS m/e 330 $(M+H)^+$.

Paso 6




El compuesto del Paso 6 (5.21 g, 14 mmol) se disolvió en MeOH (50 ml) y HOAc (10 ml), y se hidrogenó con $H_2$ (50 psi) y catalizador de Pearlman (20% $Pd(OH)_2$, 1.04 g, 20% p/p) por 18 horas. La reacción se filtró a través de un filtro de membrana PTFE y el catalizador se lavó con MeOH (3x25 ml). El filtrado se concentró por evaporación rotatoria para producir un sólido blanco. El producto se usó en el Paso 7 sin purificación adicional.

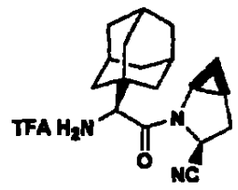
Paso 7



El compuesto del Paso 6 crudo (@ 14 mmol) se disolvió en DMF anhidro (50 ml) bajo argón y se trató con $K_2CO_3$ (5.90 g, 42 mmol, 3 equivalente) y di-terc-butildicarbonato (3.14 g, 14 mmol, 1 equivalente) bajo argón a ta. Después de 19 horas, el DMF se removió por evaporación rotatoria (bomba) y el residuo se secó adicionalmente bajo presión reducida. El residuo se mezcló con $H_2O$ (100 ml) y $Et_2O$ (100 ml), las capas se separaron, y la acuosa alcalina con $Et_2O$ (2x100 ml) para eliminar el subproducto del paso de hidrogenolisis. La cuosa se enfrió a 0°C, se diluyó con EtOAc (200 ml), y se agitó vigorosamente mientras se acidificaba cuidadosamente la acuosa a pH 3 con HCl acuoso 1_N. Las capas se separaron y la acuosa se extrajo con EtOAc (100 ml). Los extractos de EtOAc combinados se lavaron con salmuera (50 ml), se secaron ($Na_2SO_4$), se filtraron y el filtrado se concentró por evaporación rotatoria. El residuo se purificó por columna instantánea de $SiO_2$ (5x12 cm) con 5% $MeOH/CH_2Cl_2$ + 0.5% HOAc. El producto se capturó con hexanos para producir el producto como una espuma blanca (4.07 g, 13 mmol, 92%): MS m/e 310 $(m+H)^+$.

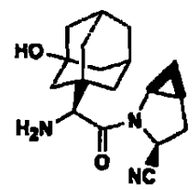
152

## Ejemplo 59

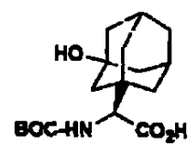



El compuesto del título en el Ejemplo 59 se preparó por el acoplamiento del péptido del compuesto del Paso 7 en el método general G seguido por deshidratación y desprotección como se describió en el método general C. MS m/e 300 $(m+H)^+$.

## Ejemplo 60




Paso 1

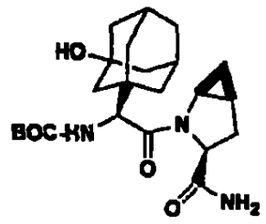


153

Una solución de $KMnO_4$ (337 mg, 2.13 mmol, 1.1 equivalente) en KOH acuoso al 2% (6 ml) se calentó a 60°C y el compuesto del Paso 7 en el método general G (600 mg, 1.94 mmol, 1 equivalente) se adicionó en porciones, y el calentamiento se incremento a 90°C. Después de 1.5 horas, la reacción se enfrió a 0°C, se adicionó EtOAc (50 ml), y la mezcla se acidificó cuidadosamente a pH 3 con HCl 1N. Las capas se separaron y la acuosa se extrajo con EtOAc (50 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre $Na_2SO_4$, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía de columna instantánea sobre gel de sílice (3.8x15 cm) con 2% (200 ml), 3% (200 ml), 4% (200 ml), y 5% (500 ml) $MeOH/CH_2Cl_2$ + 0.5% HOAc. Después del aislamiento del producto, el material se capturó con hexanos para producir para producir un sólido blanco (324 mg, 51%): MS m/e 326 $(m+H)^+$.

Paso 2

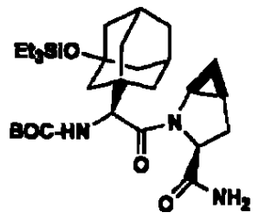
154




El compuesto del Paso 1 (404 mg, 1.24 mmol, 1 equivalente) se disolvió en DMF anhidro (10 ml) bajo argón y se enfrió a 0°C. Los siguientes se adicionaron en orden: sal del Ejemplo 6 Paso 3 (328 mg, 1.37 mmol, 1.1 equivalente), HOBT (520 mg, 3.85 mmol, 3.1 equivalente), EDAC (510 mg, 2.61 mmol, 2.1 equivalente), y TEA (0.54 ml, 3.85 mmol, 3.1 equivalente). La mezcla de reacción se dejó calentar a ta durante la noche y el DMF se removió por evaporación rotatoria (bomba). El remanente se secó adicionalmente bajo vacío. El residuo se disolvió en EtOAc (100 ml), se lavó con $NaHCO_3$ acuoso saturado (50 ml) y NaCl acuoso saturado (25 ml), se secó sobre $Na_2SO_4$ anhidro, se filtró y se concentró por evaporación rotatoria. El producto se purificó por cromatografía de columna instantánea sobre gel de sílice (3.8x15 cm) con un gradiente de 6%

(200 ml), 7% (200 ml), y 8% (500 ml) $MeOH/CH_2Cl_2$ para dar el producto como un sólido blanco (460 mg, 1.06 mmol, 85%): MS m/e 434 $(m+H)^+$.

Paso 3

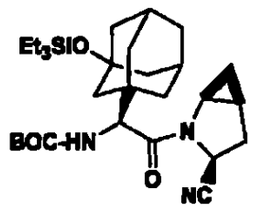



El compuesto del Paso 2 (95 mg, 0.22 mmol, 1 equivalente) se disolvió en $CH_2Cl_2$ anhidro (2.5 ml) bajo argón y se enfrió a -78°C. La mezcla se trató con diisopropiletilamina (65 µl, 0.37 mmol, 1.7 equivalente), y triflato de trietilsililo (75 µl, 0.33 mmol, 1.5 equivalente), y se agitó a 0°C por 1.5 horas. La reacción se mezcló con MeOH (0.5 ml), gel de sílice (200 mg) y $H_2O$ (2 gotas) y se agitó a ta por 18 h. El solvente se removió por evaporación rotatoria y el residuo se purificó por cromatografía de columna instantánea sobre gel de sílice (2.5x10 cm) con 4% $MeOH/CH_2Cl_2$ para

156

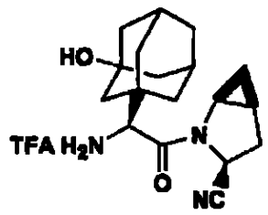
producir el producto (92 mg, 0.17 mmol, 77%): MS m/e 548 $(m+H)^+$.

Paso 4



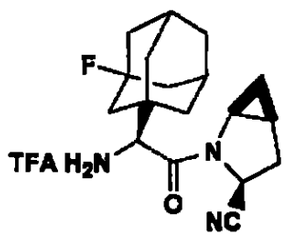

El compuesto del Paso 3 (90 mg, 0.16 mmol, 1 equivalente) se disolvió en piridina anhidra (2 ml) bajo argón y se enfrió a -30°C. El tratamiento con imidazol (24 mg, 0.35 mmol, 2.1 equivalente) y oxicloruro de fósforo (66 µl, 0.67 mmol, 4.1 equivalente), y se continuo agitatando a -30°C por 45 min dando una pasta aguada espesa. Los volátiles fueron por evaporación rotatoria y la torta se secó adicionalmente bajo presión reducida. El producto se purificó por cromatografía de columna instantánea sobre gel de sílice (2.5x10 cm) con 7% EtOAc/$CH_2Cl_2$ para producir el producto como una espuma blanca (76 mg, 87%): MS m/e 530 $(m+H)^+$.

Paso 5



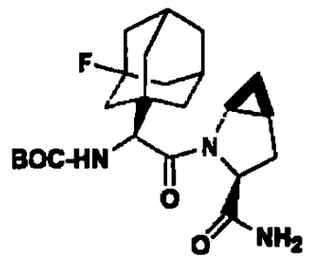

El compuesto del Paso 4 (76 mg, 0.14 mmol) se disolvió en $CH_2Cl_2$ anhidro (1 ml) y se enfrió a 0°C y se trató con TFA (1 ml) y $H_2O$ (2 gotas) y se agitó por 1.5 horas a 0°C. Los solventes se removieron por evaporación rotatoria y el residuo se capturó con tolueno (5 ml) y se secó bajo presión reducida. La trituración con $Et_2O$ produjo el compuesto del título como un sólido blanco (54 mg, 88%): MS m/e 316 $(m+H)^+$.

## Ejemplo 61



158

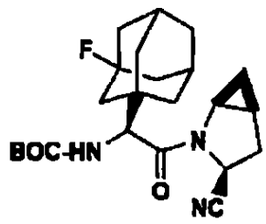
Paso 1




Un matraz secado en estufa purgado con argón se cargó con $CH_2Cl_2$ anhidro (3 ml) y se enfrió a -78°C. El tratamiento con trifluoruro de dietilaminoazufre (DAST, 60 µl, 0.45 mmol, 1.5 equivalente), seguido por una solución del compuesto del Ejemplo 60 Paso 2 (131 mg, 0.30 mmol, 1 equivalente) en $CH_2Cl_2$ seco (3 ml). Después de 15 minutos, la reacción se vertió en un embudo de separación que contiene $NaHCO_3$ acuoso saturado (25 ml) y las capas se separaron. La fracción acuosa se extrajo con $CH_2Cl_2$ (25 ml), luego los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (10 ml), se secaron ($Na_2SO_4$), se filtraron y se concentraron. El producto se purificó por cromatografía de columna instantánea sobre gel de sílice (2.5x10 cm) con 5% MeOH/$CH_2Cl_2$ para dar el compuesto del

Paso 1 (124 mg, 0.29 mmol, 94%): MS m/e 436 $(m+H)^+$.

Paso 2

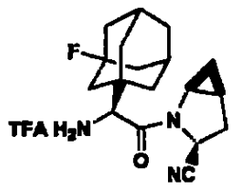



---

La amida fluorada del Paso 1 (161 mg, 0.37 mmol, 1 equivalente) se disolvió en piridina anhidra (4 ml) bajo argón y se enfrió a -30°C. La mezcla se trató con imidazol (54 mg, 0.77 mmol, 2.1 equivalente) y oxicloruro de fósforo (143 µl, 1.52 mmol, 4.1 equivalente) y se agitó a -30°C por 40 minutos. El solvente se removió por evaporación rotatoria y se secó además bajo presión reducida. El producto se purificó por cromatografía de columna instantánea sobre gel de sílice (2.5x10 cm) con 5% EtOAc/$CH_2Cl_2$ para dar el compuesto del Paso 2 como una espuma blanca (126 mg, 82%): MS m/e 418 $(m+H)^+$.

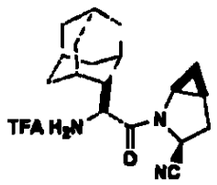
160

Paso 3

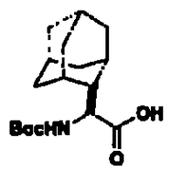



El compuesto del Paso 2 (125 mg, 0.30 mmol) se disolvió en TFA/$CH_2Cl_2$ (1:1 v/v, 2 ml) y se agitó a ta. Después de 30 minutos, los solventes se removieron por evaporación rotatoria, el remanente se capturó con tolueno (2 x 5 ml), y el sólido se secó bajo presión reducida. La trituración con $Et_2O$ produjo el compuesto del título como un sólido blanco (93 mg, 0.21 mmol, 72%): MS m/e 318 $(m+H)^+$.

## Ejemplo 62

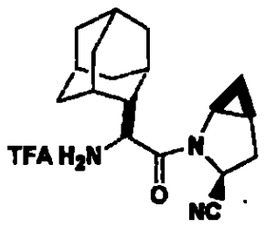



Paso 1



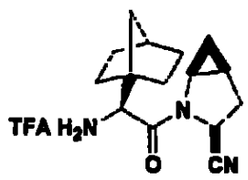
El compuesto del Paso 1 se preparó iniciando con 2-adamantana y se elaboró al Boc-amino ácido homoquiral por una sintésis Strecker asimétrica de acuerdo con el método general G.

Paso 2




El compuesto del título en el Ejemplo 62 se preparó por el acoplamiento del péptido del 2-adamantil amino ácido descrito en el Paso 1 seguido por deshidratación y desprotección como se describió en el método general C. MS (m+H) 300.

Ejemplo 63



Paso 1

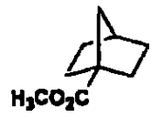



Un matraz secado en estufa equipado con un condensador y tubo de secado se cargó con ácido norvornan-2-carboxílico (4.92 g, 35 mmol, 1 equivalente) y se trató con bromuro (2.1 ml, 41 mmol, 1.15 equivalente) y tricloruro de fósforo (0.153 ml, 1.8 mmol, 0.05 equivalente). La mezcla se calentó a 85°C por 7 horas protegida de la luz. Se adicionó bromuro adicional (0.4 ml, 7.8 mmol, 0.22 equivalente) con calentamiento continuo por 1 hora. La mezcla se enfrió a ta, y se adicionó $EtO_2$ (100 ml). La mezcla se lavó con 10% $NaHSO_3$ acuoso (50 ml), $H_2O$ (2x50 ml), y salmuera (25 ml). La fracción de éter se secó ($Na_2SO_4$), se filtró y se concentró por evaporación rotatoria. El producto se purificó por cromatografía de columna instantánea sobre gel de sílice (5x15 cm) con 2% a 4% $MeOH/CH_2Cl_2$ + 0.5% HOAc. El producto se capturó con hexanos para remover el HOAc residual. El material aislado consiste de dos

materiales inseparables (4.7 g), el cual se uso sin purificación adicional en el siguiente paso.




El producto crudo a partir del anterior, ácido exo-2-bromonorbornan-1-carboxílico (4.7 g, impuro) en $Et_2O$ (80 ml) y MeOH (20 ml), se mezcló con trimetilsilildiazometano (2.0 m en hexano, 11.8 ml, 23.6 mol), y se agitó a ta por 1 hora. El solvente se removió por evaporación rotatoria, y la purificación del aceite por cromatografía de columna instantánea sobre gel de sílice (5x18 cm) con un gradiente de $CH_2Cl_2$/hexanos (600 ml cada uno de 20% y 30%) seguido por $CH_2Cl_2$ produjo el producto como un sólido blanco (3.97 g, 0.017 mol, 79% por 2 pasos): MS m/e 233/235 $(m+H)^+$.




Exo-2-bromonorbornan-1-carboxilato de metilo (2.0 g, 8.58 mmol, 1 equivalente) se

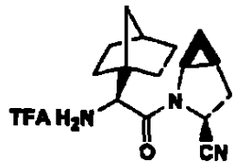
disolvió en THF anhidro (50 ml) en un matraz de 3 cuellos secado en estufa equipado con un condensador, y se purgó con argón. La mezcla se trató con AIBN (288 mg, 1.71 mmol, 0.2 equivalente) y hidruro de tributilestaño (3.6 ml, 12.87 mmol, 1.5 equivalente), y luego se calentó a reflujo por 2 hora. El matraz se enfrió a ta, y el THF se removió por evaporación rotatoria para dar el producto crudo. El producto se purificó por cromatografía de columna instantánea sobre gel de sílice (5x10 cm) con 50% EtOAc/hexanos. El material resultante se uso en el siguiente paso sin purificación adicional.

Paso 2



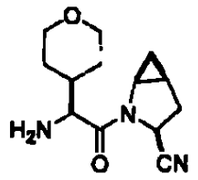

El compuesto del Paso 1 se preparó comenzando con carboxilato de 1-carbonil metilo elaboró al Boc aminoácido homoquiral por una síntesis Strecker asimétrica de acuerdo con el método general G.

Paso 3

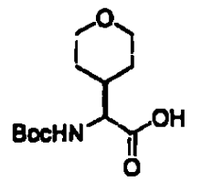



El compuesto del título en el Ejemplo 63 se preparó por el acoplamiento del péptido del 1-norbonil aminoácido descrito en el Paso 2, seguido por deshidratación y desprotección como se describió en el método general C. MS (M+H) 260.

## Ejemplo 64

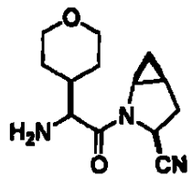



Paso 1



El compuesto del Paso 1 se preparó comenzando con 4-formilpirano y elaboró al Boc aminoácido homoquiral por una síntesis Strecker asimétrica de acuerdo con el método general G.

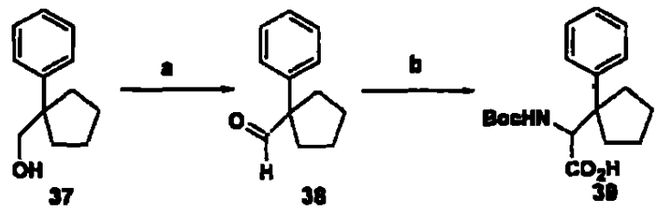
Paso 2



El compuesto del título en el Ejemplo 64 se preparó por el acoplamiento del péptido del 4-piranil aminoácido descrito en el Paso 2, seguido por deshidratación y desprotección como se describió en el método general C. MS (M+H) 250.

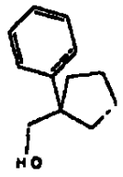
**Método General H:** Síntesis de Strecker de Aminoácidos Racémicos.

**Esquema 10, Método General H, Ejemplos 65-66**




a. celita, PCC, $CH_2Cl_2$, TA, 91% b.$NH_4Cl$, NaCN, MeOH; HCl 12M, HOAc; $(Boc)_2O$, TEA, DMF.

Paso 1

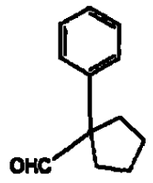



A una solución agitada de ácido 1-fenilciclo-1-pentan-carboxilico (5.00 g, 26.3 mmol) en 25 ml de THF a 0°C se adicionó LAH (52 ml, 52 mmol, 1M) en THF. La mezcla de reacción se calentó lentamente a ta y luego se sometió a reflujo por 18 horas. La reacción se enfrió rápidamente de acuerdo con el Procedimiento Fieser: adición cuidadosa de 2 ml de agua; 6 ml de NaOH al 15% en agua; y 2 ml de agua. La mezcla bifásica se diluyó con 100 ml de éter y

(69) 168

el sólido blanco granular se separó por filtración. La fracción de éter se secó sobre $Na_2SO_4$ y se evaporó para dar 4.30 g (93%) del compuesto del Paso 1.

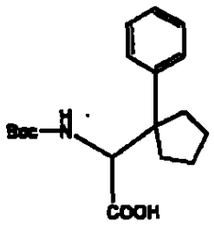
Paso 2




A una solución agitada del compuesto del Paso 1 (0.80 g, 4.50 mmol) en 15 ml de $CH_2Cl_2$ a ta se adicionó celita (5 g) seguido por PCC (1.95 g, 5.00 mmol). Después de la agitación por 3 horas la mezcla de reacción se diluyó con 40 ml de $CH_2Cl_2$ y se filtró a través de celita. El filtrado se filtró una vez adicional a través de gel de sílice resultando en un filtrado incoloro. La fracción de $CH_2Cl_2$ se evaporó para dar 0.72 g (91%) del aldehído como un aceite incoloro.

Paso 3

(170) 169

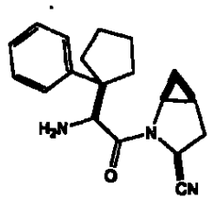



A un matraz de fondo redondo de 50 ml que contiene el compuesto del Paso 2 (0.72 g, 4.20 mmol) en 8 ml de agua a ta se adicionó NaCN (0.20 g, 4.20 mmol) seguido por $NH_4Cl$ (0.20 g, 5.00 mmol). A esta mezcla de reacción luego se adicionó metanol (8 ml) y la mezcla se dejó agitar durante la noche. La mezcla de reacción luego se extrajo con éter (2X15 ml), se secó ($MgSO_4$) y se concentró bajo presión reducida para dar el producto Strecker crudo.

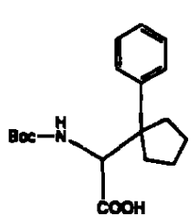
A un matraz de fondo redondo de 100 ml que contiene el producto Strecker crudo se adicionó 10 ml de HOAc y 10 ml de HCl concentrado. La mezcla se sometió a reflujo durante la noche. La mezcla se concentró bajo presión reducida para dar un sólido amarillo. El sólido se trituró con 5 ml de 1:1 mezcla de éter y hexanos. El sólido blanco se trató con trietilamina (1.4 ml, 9.99 mmol) y di-terc-

butildicarbonato (1.00 g, 4.60 mmol) en 50 ml de DMF. Después de 4 h el pH de la mezcla se ajustó a 9 con solución de $Na_2CO_3$ saturado. Después de unas 3 horas adicionales de agitación la mezcla se extrajo con 1:1 éter y hexanos y la fracción acuosa acidificada a pH 2 con solución de $KHSO_4$ al 5%. La fase acuosa se lavó con éter (2 X 40 ml), los orgánicos se secaron ($MgSO_4$), y se evaporaron hasta un aceite que se purificó por cromatografía instantánea de gel de sílice con 8:92 metanol:$CH_2Cl_2$ para dar 0.3 g (23%) del aminoácido protegido con Boc como un aceite claro (M-H, 318).

## Ejemplo 65

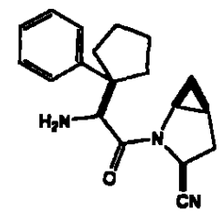



Paso 1



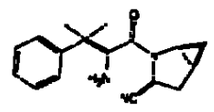
La síntesis del compuesto del Paso 1 se describió en el método general H por la síntesis de Strecker de los aminoácidos racémicos.

Paso 2

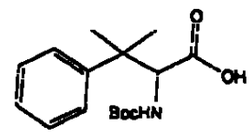



El compuesto del título en el Ejemplo 65 se preparó por el acoplamiento del péptido del ciclopentilfenil aminoácido descrito en el Paso 1 y método general H seguido por deshidratación y desprotección como se describió en el método general C. MS (M+H) 310.

## Ejemplo 66

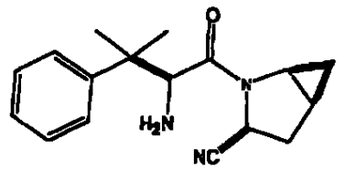


Paso 1



El compuesto del paso i se preparó usando síntesis de Strecker racémica de acuerdo con el método general H partiendo del ácido 2,2-dimetil-fenilacético.

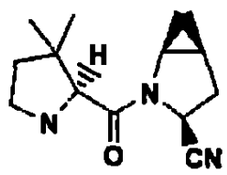
Paso 2



---

El compuesto del título en el Ejemplo 66 se preparó por el acoplamiento del péptido del dimetilfenil aminoácido descrito en el Paso 1 seguido por deshidratación y desprotección como se describió en el método general C. MS (M+H) 284.

## Ejemplo 67

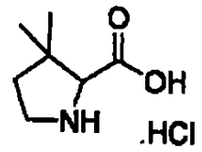


---

Paso 1

La N-(benciloxicarbonil)succinimida (5.6 g, 22.4 mmol) se disolvió en $CH_2Cl_2$ (25 ml) y la solución se adicionó a una solución agitada y enfriada (0°C) de clorhidrato de aminomalonato de dietilo (5.0 g, 23.6 mmol) y trietilamina (13.4 ml, 95 mmol) en $CH_2Cl_2$ (125 ml). La solución resultante se agitó a 0°C por 10 minutos y luego a ta por 1 hora. La solución se lavó con ácido cítrico al 10% (2 x 50 ml), carbonato ácido de sodio al 10% (2 x 50 ml), y agua (50 ml) y luego se secó ($Na_2SO_4$) y se evaporó para producir N-benciloxicarbonilaminomalonato de dietilo como un aceite incoloro, el cual se cristalizó hasta reposo a 0°C (6.3 g) (LC/Masa + ion): 310 (M+H).

Paso 2



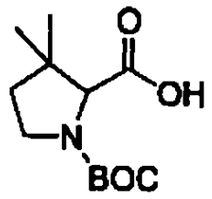

---

El compuesto del Paso 1 (6.18 g, 20 mmol) se disolvió en etanol seco (30 ml) y se adicionó a una solución de etóxido de sodio

(2.85 g, 8.8 mmol; 21% p/p solución en etanol (6 ml). Una solución de 3-metil-2-butenal (1.68 g, 20 mmol) en etanol (12 ml) se adicionó, y la solución se agitó a 25°C por 24 horas. Luego se adicionó ácido acético (0.56 ml) a la solución hidrogenada a 50 psi por 24 horas usando 10% Pd/C (2.0 g) como catalizador. La solución se filtró, se evaporó y el residuo se sometió a cromatografía sobre silice con $CH_2Cl_2$/EtOAc (9:1) para dar 2,2-dicarboetoxi-3,3-dimetil-pirrolidina (1.6 g) (LC/Masa + ion): 244 (M+H).

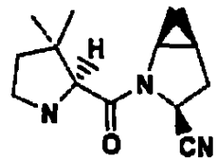
Este diéster (850 mg) se sometió a reflujo en ácido clorhídrico 5M (10 ml)/TFA (1 ml) por 8 horas para dar, después de la evaporación, un sólido blanco polvoroso. La cristalización a partir de metanol/éter dio clorhidrato de 3,3-dimetil-dl-prolina (190 mg) como cristales blancos pf 110-112°C.

Paso 3



El compuesto del Paso 2 (173 mg, 0.97 mmol) se disolvió en DMF (3 ml)/agua (3 ml). A esta solución clara se adicionó trietilamina (0.46 ml, 3.18 mmol) y dicarbonato de di-t-butilo (0.23 g, 1.06 mmol), y la mezcla de reacción se agitó a ta por 5 horas. La solución se evaporó y el residuo se sometió a cromatografía sobre columna de sílice usando $CH_2Cl_2$/metanol (9:1) como eluyente para producir t-butiloxi-carbonil-3,3-dimetil-dl-prolina (200 mg) como un aceite (LC/Masa, + ion): 244 (M+H).

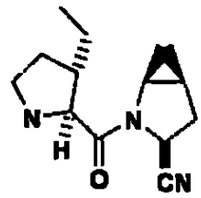
Paso 4



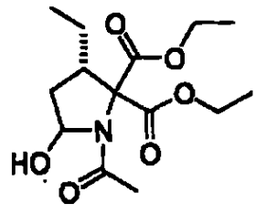

---

El compuesto del título en el Ejemplo 67 se preparó por el acoplamiento del péptido del t-butiloxicarbonil-3,3-dimetil-dl-prolina aminoácido descrito en el Paso 3 seguido por deshidratación y desprotección como se describió en el método general C. MS (M+H) 220.

Ejemplo 68



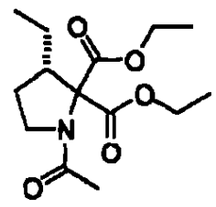
Paso 1



Se adicionó etóxido de sodio (940 mg de solución de 21 % en peso en etanol, 2.9 mmol) en etanol (2 ml) a una solución agitada de acetamidomalonato de dietilo (4.31 g, 19.8 mmol) en EtOH (23 ml) a ta bajo argón. La mezcla de reacción se enfrió a 0°C; y se adicionó por goteo trans-2-pentenal (1.51 g, 18.0 mmol) manteniendo la temperatura de reacción a <5°C. Después de la adición, la reacción se dejó calentar a ta, se agitó por 4 horas, luego se enfrió rápidamente con ácido acético (460 µl). La solución se concentró *in vacuo*, y el residuo se disolvió en EtOAc (25 ml), se lavó con

solución de $NaHCO_3$ al 10% (2x5 ml), salmuera y se secó ($MgSO_4$). La solución se filtró y se concentró hasta un volumen de 10 ml, luego se calentó a reflujo y se diluyó con hexano (20 ml). Hasta el enfriamiento a ta, el compuesto del título se precipitó y se colectó para dar 3.0 g (50%) del compuesto del Paso 1 (pf 106-109°C; LC/Masa: + iones, 324 M+Na).

Paso 2

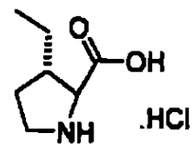


---

A una solución del compuesto del Paso 1 (2.87 g, 9.5 mmol) y trietilsilano (2.28 ml, 14.3 mmol) en $CH_2Cl_2$ (30 ml) bajo argón se adicionó TFA por goteo (7.35 ml, 95.3 mmol) con agitación mientras se mantenía la temperatura interna a 25°C por medio de un baño de hielo. Después de la agitación por 4 horas a ta, la solución se concentró. El residuo se diluyó con $CH_2Cl_2$ (100 ml), luego se trató con $H_2O$ (50 ml) y

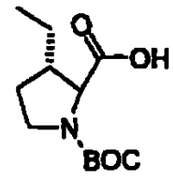
$Na_2CO_3$ sólido con agitación vigorosa hasta que la mezcla se hizo básica. La capa orgánica se separó, se secó ($Na_2SO_4$), se filtró, luego se concentró para dar el compuesto del Paso 2 como un aceite amarillo el cual se uso sin purificación adicional (LC/Masa: + iones, 308 M+Na).

Paso 3



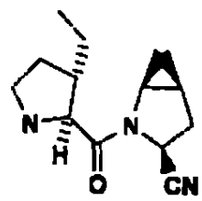

El compuesto del Paso 2 (3.73 g, 9.5 mmol) se suspendió en HCl 6N (20 ml) y HOAc (5 ml) y se calentó a reflujo por 20 horas. La mezcla de reacción luego se enfrió, se lavó con EtOAc (20 ml), luego se concentró para dar un aceite el cual se cristalizó hasta la trituración con éter para dar el compuesto del título (1.2 g, 70.6%) (LC/Masa, + ion): 144 (M+H).

Paso 4




El compuesto del Paso 3 (692 mg, 3.76 mmol) se disolvió en acetona (12 ml)/agua (12 ml). A esta solución clara se adicionó trietilamina (1.9 ml, 12.8 mmol) y dicarbonato de di-t-butilo (928 mg, 4.24 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta por 18 horas. Los solventes se evaporaron y el residuo se sometió a cromatografía sobre sílice con 1:9 metanol:$CH_2Cl_2$ para dar el compuesto del Paso 4 como un aceite (LC/Masa: + iones, 226 M+Na).

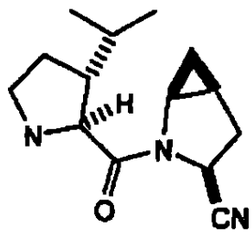
Paso 5



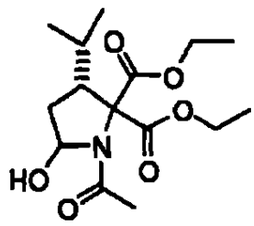

El compuesto del Ejemplo 68 se preparó por acoplamiento del péptido del aminoácido del Paso 4 seguido por deshidratación y

desprotección como se describió en el método general C (MS (M+H) 234).

Ejemplo 69



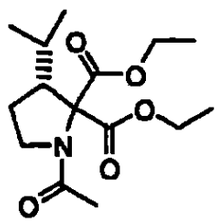
Paso 1



Se adicionó etóxido de sodio (940 mg, 2.9 mmol; solución de 21 % en peso en etanol, 2.9 mmol) en etanol (2 ml) a una solución agitada de acetamidomalonato de dietilo (4.31 g, 19.8 mmol) en EtOH (23 ml) a ta bajo argón. La mezcla de reacción se enfrió a 0°C; y se adicionó por gotec 4-metil-2-pentenal (1.77 g, 18.0 mmol) manteniendo la temperatura de reacción a <5°C. Después de la adición, la

reacción se dejó calentar a ta, se agitó por 4 horas, luego se enfrió rápidamente con ácido acético (460 µl). La solución se concentró y el remanente se disolvió en EtOAc (25 ml). Los orgánicos se lavaron con solución de $NaHCO_3$ al 10% (2x5 ml), salmuera y se secaron ($MgSO_4$). La solución se filtró y se concentró hasta un volumen de 10 ml, luego se calentó a reflujo y se diluyó con hexano (20 ml). En el enfriamiento, el compuesto del Paso 1 se precipitó y se colectó (3.3 g) (LC/Masa, + ion): 338 (M+Na).

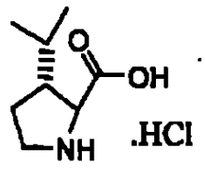
Paso 2



A una solución del compuesto del Paso 1 (3.0 g, 9.5 mmol) y trietilsilano (2.28 ml, 14.3 mmol) en $CH_2Cl_2$ (30 ml) bajo argón se adicionó TFA por goteo (7.35 ml, 95.3 mmol) con agitación mientras se mantenía la temperatura interna a

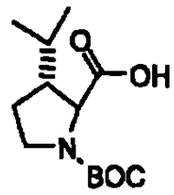
25°C por medio de un baño de hielo. Después de la agitación por 4 horas a ta, la solución se concentró, el residuo se diluyó con $CH_2Cl_2$ (100 ml), luego se trató con $H_2O$ (50 ml) y $Na_2CO_3$ sólido con agitación vigorosa hasta que la mezcla se hizo básica. La capa orgánica se separó, se secó ($Na_2SO_4$), se filtró, luego se concentró para dar el compuesto del título como un aceite el cual se uso sin purificación adicional (LC/Masa: + iones, 300 M+H).

Paso 3



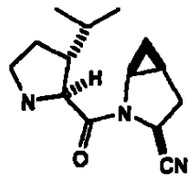

El compuesto del Paso 2 (3.8 g, 9.5 mmol) se suspendió en HCl 6N (20 ml) y HOAc (5 ml) y se calentó a reflujo por 20 horas. La mezcla de reacción se enfrió, se lavó con EtOAc (20 ml), luego se concentró para dar un aceite el cual se cristalizó hasta la trituración con éter para dar el compuesto del Paso 3 (1.4 g, 76.0%). LC/Masa, + iones, 158 (M+H).

Paso 4




El compuesto del Paso 3 (728 mg, 3.76 mmol) se disolvió en una solución 1:1 acetona/agua (24 ml). A esta solución clara se adicionó trietilamina (1.9 ml, 12.8 mmol) y dicarbonato de di-t-butilo (928 mg, 4.24 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta por 18 horas. La solución se evaporó y el residuo se sometió a cromatografía sobre columna de sílice usando $CH_2Cl_2$/metanol (9:1) como eluyente para dar el compuesto del título como un aceite (LC/Masa, + ion, 258 (M+H).

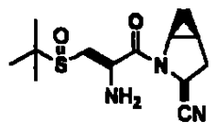
Paso 5



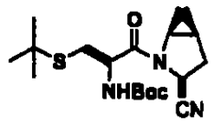

El compuesto del Ejemplo 69 se preparó por acoplamiento del péptido del aminoácido del

Paso 4 seguido por deshidratación y desprotección como se describió en el método general C (MS (M+H) 248).

Ejemplo 70

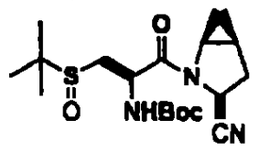


Paso 1



El compuesto del Paso 1 se preparó por el procedimiento descrito en el Método General C que parte de N-Boc-S-t-butilcisteina.

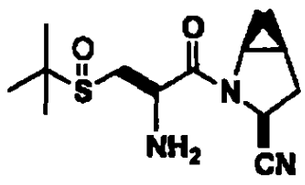
Paso 2



185

Un matraz de fondo redondo de 25 ml equipado con una barra de agitación magnética y entrada de $N_2$ se cargó con el compuesto del Paso 1 (78 mg, 0.21 mmol) y cloroformo (3 ml). La mezcla se enfrió a 0°C y se trató con ácido m-cloroperoxibenzoico (85 mg, 0.44 mmol) en $CHCl_3$ (2 ml). Después de 3 horas la solución se diluyó con $CHCl_3$ (7 ml), se lavó con $NaHCO_3$ al 5% (2x5 ml), $H_2O$ y se secó sobre $Na_2SO_4$. La remoción del solvente dio el sulfóxido crudo (100 mg), el cual se uso sin purificación adicional (LC/Masa, + iones): 384 (M+H).

Paso 3



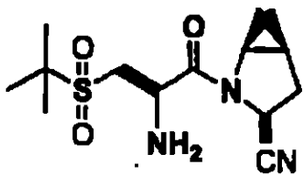

---

Se adicionó ácido trifluoroacético (1.5 ml) a una solución enfriada (0°C) del compuesto del Paso 2 (100 mg, 0.26 mmol) en 5 ml de $CH_2Cl_2$. La solución luego se agitó a 0°C por 1.5 h, se diluyó con $CH_2Cl_2$ (5 ml) y se concentró bajo presión reducida hasta un aceite espeso. El

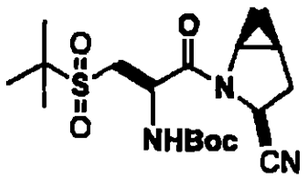
186

producto se purificó por cromatografía de columna preparativa de fase inversa sobre una columna YMC S5 ODS 20x100 mm para dar el compuesto del título del Ejemplo 70, 17 mg, 16%. Condiciones de purificación: elución de gradiente de 10% metanol/agua/0.1 TFA a 90% metanol/agua/0.1 TFA durante 15 minutos, 5 minutos mantenido a 90% metanol/agua/0.1 TFA. Velocidad de flujo: 20 ml/min. Detección de longitud de onda: 220. Tiempo de retención 10 minutos (LC/Masa, + ion): 284 (M+H).

Ejemplo 71



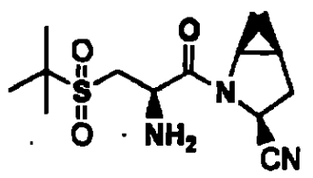
Paso 1



187

Un matraz de fondo redondo de 25 ml equipado con una barra de agitación magnética y entrada de $N_2$ se cargó con el compuesto del Ejemplo 70, Paso 1 (78 mg, 0.21 mmol) en cloroformo (3 ml). La mezcla se enfrió a 0°C y se trató con ácido m-cloroperoxibenzoico (144 mg, 0.84 mmol) en $CHCl_3$ (2 ml). Después de 30 minutos a ta, la solución se diluyó con $CHCl_3$ (7 ml), se lavó con $NaHCO_3$ al 5% (2x10 ml), $H_2O$ y se secó sobre $Na_2SO_4$. La remoción del solvente dio la sulfona cruda (100 mg), el cual se uso sin purificación adicional (LC/Masa, + ion): 344 (M+H-Bu).

Paso 2




Se adicionó ácido trifluoroacético (1.5 ml) a una solución agitada y enfriada (0°C) del compuesto del Paso 1 (100 mg, 0.26 mmol) en 5 ml de $CH_2Cl_2$. La solución se agitó a 0°C por 30 minutos, se diluyó con $CH_2Cl_2$ (5 ml) y se

concentró bajo presión reducida hasta un aceite espeso. El producto se purificó por cromatografía de columna preparativa de fase inversa sobre una columna YMC S5 ODS 20x100 mm para dar el compuesto del título, 14 mg, 17%. Condiciones de purificación: elución de gradiente de 10% metanol/agua/0.1 TFA a 90% metanol/agua/0.1 TFA durante 15 minutos. 5 minutos mantenido a 90% metanol/agua/0.1 TFA. Velocidad de flujo: 20 ml/min. Detección de longitud de onda: 220. Tiempo de retención 10 minutos (LC/Masa, + ion): 300 (M+H).

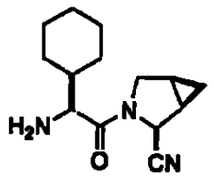
Ejemplo 72




El compuesto del título se preparó siguiendo un procedimiento publicado (Sasaki et al, Tetrahedron Lett. 1995, 36, 3149, Sasaki et al. Tetrahedron 1994, 50 7093) usado para sintetizar el carboxilato de (2S,3R,4S)-N-Boc-3,4-metano-L-prolina. La amida correspondiente

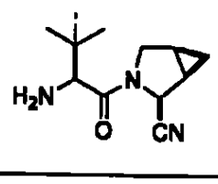
se preparó por el método general A y se desprotegió con TFA para dar la sal de TFA también como se describió en el método general A.

Ejemplo 73



El compuesto del título se preparó por acoplamiento del carboxamida-N-trifluoroacetato de (2S,3R,4S)-3,4-metano-L-prolina descrito en el Ejemplo 72 con L-ciclohexilglicina y luego se deshidrató a la amida con $POCl_3$/imidazol y se desprotegió con (nitrógeno terminado en N) con TFA usando el general C (FAB MH+ 248).

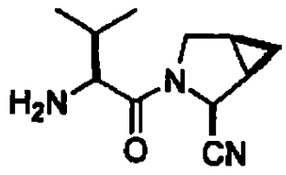
Ejemplo 74



1907

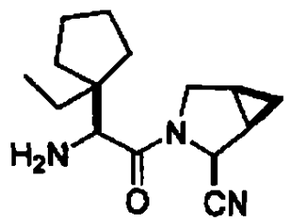
El compuesto del título se preparó por acoplamiento del carboxamida-N-trifluoroacetato de (2S,3R,4S)-3,4-metano-L-prolina descrito en el Ejemplo 72 con L-terc-butilglicina y luego se deshidrató a la amida con $POCl_3$/imidazol y se desprotegió con (nitrógeno terminado en N) con TFA usando el general C (FAB MH+ 222).

Ejemplo 75



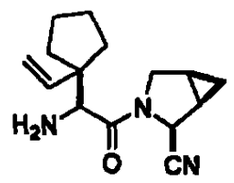

El compuesto del título se preparó por acoplamiento del carboxamida-N-trifluoroacetato de (2S,3R,4S)-3,4-metano-L-prolina descrito en el Ejemplo 72 con L-valina y luego se deshidrató a la amida con $POCl_3$/imidazol y se desprotegió con (nitrógeno terminado en N) con TFA usando el general C (FAB MH+ 207).

Ejemplo 76



El compuesto del título se preparó por acoplamiento del carboxamida-N-trifluoroacetato de (2S,3R,4S)-3,4-metano-L-prolina descrito en el Ejemplo 72 con N-(terc-butiloxicarbonil)-(1'etilciclopentil)glicina descrito en el Método General 8 y luego se deshidrató a la amida con $POCl_3$/imidazol y se desprotegió con (nitrógeno terminado en N) con TFA usando el general C (FAB MH+ 262).

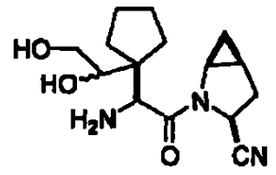
Ejemplo 77



El compuesto del título se preparó por acoplamiento del carboxamida-N-trifluoroacetato

de (2S,3R,4S)-3,4-metano-L-prolina descrito en el Ejemplo 72 con N-(terc-butiloxicarbonil)-(1'vinilciclopentil)glicina descrito en el Método General 8 y luego se deshidrató a la amida con $POCl_3$/imidazol y se desprotegió con (nitrógeno terminado en N) con TFA usando el Método General C (FAB MH+ 260).

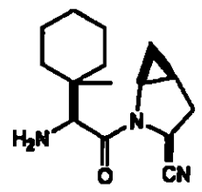
Ejemplo 78




La N-[((S)-ciclopentilvinil)-N-terc-butoxicarbonilglicinil]-(2S,4S,5S)-2-ciano-4,5-metano-L-prolilamida (70 mg, 0.19 mmol) descrita en el Método General C, Paso 2 se disolvió en una mezcla de 2 ml de t-BuOH / 3 ml de THF y se adicionó N-metilmorfolin-N-óxido (33 mg, 0.28 mmol) seguido por tetróxido de osmio (0.1 mmol, 50% mol). La reacción se enfrió rápidamente con 1ml de $Na_2SO_3$ acuoso al 10% y se recuperó en EtOAc y se lavó con 5 ml de $H_2O$, se secó

($Na_2SO_4$), se filtró, se evaporó y se purificó por cromatografía instantánea de gel de sílice (5% $MeOH/CH_2Cl_2$) para dar 41 mg (55%) del diol protegido como un aceite. El compuesto del título se obtuvo por desprotección dela funcionalidad amina con TFA de acuerdo con el Método General C (FAB MH+ 294).

Ejemplo 79

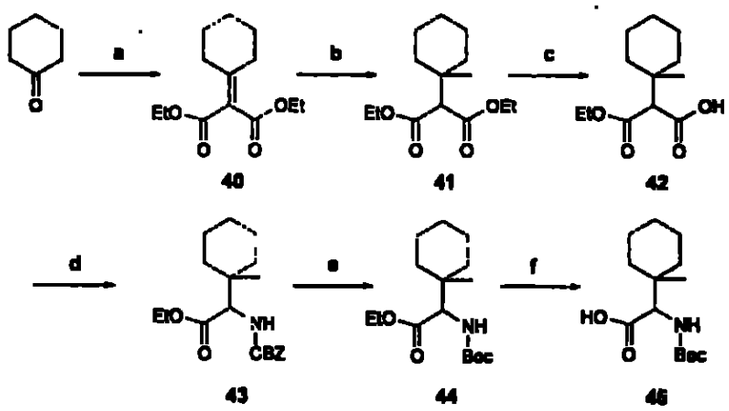



**Procedimiento General I:** Síntesis de Aminoácidos Cuaternarios Vía Adición de Michael a Malonatos seguido por Hidrólisis Selectiva y Rearreglo de Curtius. Ejemplo 79-84.

La ciclohexanona y dietilmalonato se sometieron a condensación de Knoevenagel mediada por tetracloruro de titanio en THF y $CCl_4$ para dar el **40**. El cobre (I) mediado por adición de Grignard de bromuro de metilmagnesio dio el **41**

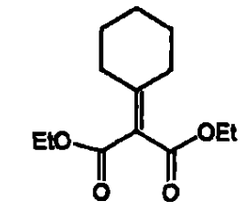
el cual se saponificó selectivamente al **42**. El rearreglo de Curtius con entrampados para alcohol bencílico dio el **43** el cual se convirtió al **44** por un protocolo de protección-desprotección estándar. El éster **44** se saponificó para dar el aminoácido cuaternario **45**.

**Esquema 11, Método General I**




a. THF, $CCl_4$, $TiCl_4$, dietilmalonato, 0C; piridina, THF, 0 a TA 72 h b. MeMgBr, CuI, $Et_2O$, 0C c. NaOH 1N, TA 6 días d. $Ph_2PON_3$, TEA, TA a reflujo a TA, BnOH e. 10% $Pd(OH)_2/C$, EtOAc; $(Boc)_2O$, $K_2CO_3$, THF f. NaOH 1N, dioxano

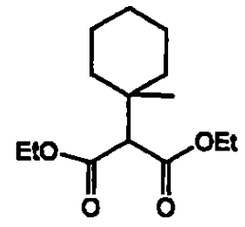
Paso 1




De acuerdo con el procedimiento de la literatura (Tetrahedron 1973, 29, 435), una mezcla de tetrahidrofurano seco (400 ml) y tetracloruro de carbono seco (50 ml) se enfrió a 0°C (baño de hielo con sal) y se trató con tetracloruro de titanio (22.0 ml, 0.2 moles). La suspensión amarilla resultante se agitó a 0°C por 5 minutos, se trató secuencialmente con ciclohexanona (10.3 ml, 0.1 moles) y se dietilmalonato destilado (15.2 ml, 0.1 moles) luego se agitó a 0°C por 30 minutos. La mezcla de reacción luego se trató con una solución de piridina seca (32 ml, 0.40 moles) en THF seco (60 ml), se agitó a 0°C por 1.0 h, luego a ta por 72 horas. La mezcla de reacción se enfrió rápidamente con agua (100 ml), se agitó por 5 minutos luego se extrajo con éter (2 x 200 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron

con cloruro de sodio saturado (100 ml), bicarbonato de sodio saturado (100 ml) y salmuera (100 ml), se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y se concentraron. La cromatografía instantánea usando 5% EtOAc en hexano dio el compuesto del Paso 1 como un aceite amarillo claro. Rendimiento: 5.25 g (22%). MS (M + Na) 263.

Paso 2

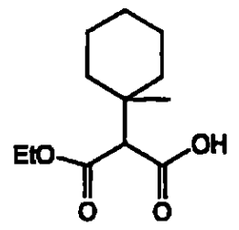



---

De acuerdo con la literatura (Org. Syn. VI, 442, 1988; Liebigs Ann. Che. 1981, 748) una mezcla de yoduro de metilmagnesio 3.0 M (3.1 ml, 9.36 mmol) y cloruro cuproso (9.0 mg) se agitó a 0°C (baño de agua de sal con hielo), se trató con una solución del compuesto del Paso 1 (1.5 g, 6.24 mmol) en éter seco (1.8 ml) durante 5 minutos y se agitó a 0°C por 1 h, luego a ta por 40 minutos. La mezcla se adicionó lentamente a

un pasta aguada de hielo y agua (15 ml), se trató por goteo con HCl al 10% (3.7 ml) luego se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con tiosulfato de sodio al 1% (2.0 ml) y cloruro de sodio saturado (2.0 ml), se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtraron, y se concentraron. La cromatografía instantánea sobre una columna de gel de sílice usando 5% éter en hexano (1.0 l) dio el compuesto del Paso 2 como un jarabe claro. Rendimiento: 1.09 g (68%). MS (M+H) 257.

Paso 3

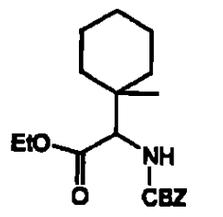



Una solución del compuesto del Paso 2 (1.09 g, 4.03 mmol) en una mezcla de metanol (5.4 ml) y agua (2.7 ml) se trató con hidróxido de sodio 1N (4.84 ml, 4.84 mmol o 1.2 equivalente) y se agitó a ta por 6 días. La

mezcla de reacción aún mostró la presencia de material de partida, como THF (4.0 ml) se adicionó y la mezcla completa se agitó por otros 2 dias. La solución se evaporó hasta sequedad y el jarabe resultante se dividió entre agua (8.0 ml) y éter (15 ml). La fase acuosa se acidificó con ácido clorhídrico 1N (4.8 ml) a pH 2-3 y se extrajo con EtOAc (3 x 25 ml). los extractor orgánicos combinados se lavaron con salmuera (10.0 ml), se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtraron, y se concentraron para dar el compuesto del paso 3 como un jarabe espeso. Rendimiento: 875 mg (95.1%). MS (M + H) 229.

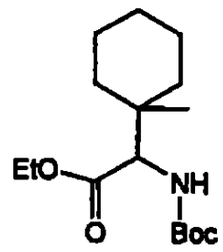
O alternativamente: las soluciones del diéster en una mezcla de etanol, THF, dioxano y agua o mezclas de los mismos se pueden hidrolizar con hidróxido de sodio.

Paso 4



De acuerdo con la literatura (J. Org. Chem 1994, 59, 8215), una solución del compuesto del Paso 3 (0.875 g, 3.83 mmol) en benceno seco (4.0 ml) se trató con trietilamina (0.52 ml, 3.83 mmol) y difenilfosforil azida (0.85 ml, 3.83 mmol), se sometió a reflujo bajo nitrógeno por 1 h y se enfrió a ta. La solución se trató con alcohol bencílico (0.60 ml, 5.75 mmol o 1.5 equivalente), se sometió a reflujo por 17 horas, se enfrió luego se diluyó con éter (40 ml). La solución se lavó con ácido cítrico al 10% (2x3 ml), se extrajo de nuevo el ácido cítrico lavado con éter (40 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con bicarbonato de sodio al 5% (2x3 ml), se secaron ($MgSO_4$), se filtraron, y se concentraron. La cromatografía instantánea sobre gel de sílice del producto crudo con EtOAc al 10% en hexano (1.0 L) dio el compuesto del Paso 4 como un jarabe espeso claro. Rendimiento: 1.15 g (90%). MS(M+H) 334.

Paso 5




Una solución del compuesto del Paso 4 (1.15 g, 3.46 mmol) en EtOAc (60 ml) se trató con hidróxido de paladio sobre carbono (298 mg) y se hidrogenó a ta por 20 horas. La mezcla se filtró a través de un almohadilla de cilita y luego que se lavó la almohadilla bien con EtOAc (3 x 25 ml) luego el filtrado se concentró para dar la amina libre. Una solución de la amina en tetrahidrofurano (12 ml) y agua (12 ml) se trató con dicarbonato de di-t-butilo (1.0 g, 4.58 mmol o 1.48 equivalente) y carbonato de potasio (854 mg, 6.18 mmol o 2.0 equivalente), luego se filtró a ta por 20 horas. La mezcla de reacción se dividió entre agua (8 ml) y éter dietílico (3 x 40 ml) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (8 ml), se secaron ($MgSO_4$), se filtraron, y se concentraron. La cromatografía instantánea del producto crudo con 10% EtOAc en hexano (1 L) dio el compuesto del

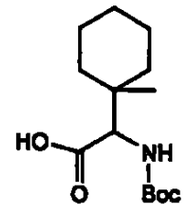
201

Paso 5 como un jarabe espeso claro. Rendimiento: 1.18 g (100%). MS: (M+H) 300.

Otros métodos también se pueden emplear, por ejemplo: De acuerdo con Tetrahedron Lett. 1988, 29, 2983, donde una solución de bencilcarbamato en etanol se puede tratar con trietilsilano (2 equivalente), di-t-butildicarbonato (1.1 equivalente), trietilamina y acetato de paladio catalítico (0.3 equivalente) para dar la amina protegida con Boc en la forma de "una cavidad".

O alternativamente: Las soluciones de bencilcarbamato en metano se pueden someter a hidrogenolisis en la presencia de di-t-butildicarbonato para dar la amina protegida con Boc en la forma de "una cavidad".

Paso 6

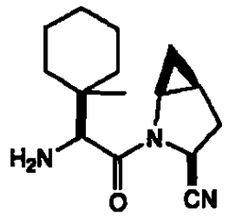



Una solución del compuesto del Paso 5 (1.18 g, 3.09 mmol) en dioxano (8.0 ml) se trató

202

con hidróxido de sodio 1N (9.1 ml, 9.1 mmol o 3.0 equivalente) y se agitó a 60°C (baño de aceite) por 28 horas. La mezcla de reacción se concentró hasta un jarabe el cual se disolvió en agua (15 ml) y se extrajo con éter (25 ml). La fase acuosa se acidificó a pH 2-3 con ácido clorhídrico 1N (9.2 ml) luego se extrajo con EtOAc (3 x 50 ml). Los extractor orgánicos combinados se lavaron con cloruro de sodio saturado (10 ml), se secaron ($MgSO_4$), se filtraron, y se concentraron para dar el compuesto del Paso 6 como un sólido blancuzco. Rendimiento: 808 mg (96%). MS (M+H) 272.

Paso 7

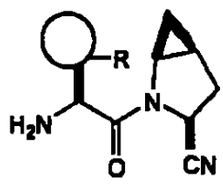



El compuesto del título se preparó a partir del compuesto del Paso 6 de acuerdo con el procedimientos en el Método General C donde el aminoácido se acopló, la amida se deshidrato,

y el grupo protector se eliminó para dar el compuesto del titulo. MS (M+H) 262.

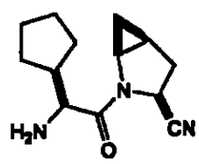
Los compuestos 90-100 se prepararon por el Método General I y Método General C que parten de ciclohexanona, ciclopentanona y ciclobutanona, y que emplean metil-, etil-, alil- y haluros de propilmagnesio como reactivos de Grignard.

**Tabla 5**

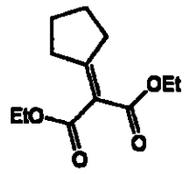



| # Ejemplo | Cicloalcano | R | Datos MS M+H |
|---|---|---|---|
| 79 | ciclohexano | Metilo | 262 |
| 80 | ciclohexano | Etilo | 276 |
| 81 | ciclopentano | Metilo | 248 |
| 82 | ciclopentano | Alilo | 274 |
| 83 | ciclopentano | Propilo | 276 |
| 84 | ciclobutano | Metilo | 234 |

## Ejemplo 85



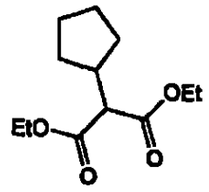
Paso 1



De acuerdo con el Ejemplo 79: Una mezcla de tetracloruro de carbono seco (50 ml) se enfrió a 0°C (baño de sal con hielo) y se trató con tetracloruro de titanio (11.0 ml, 0.1 mol). La suspensión amarilla resultante se agitó a 0°C por 5 minutos, se trató secuencialmente con ciclopentanona (4.42 ml, 0.05 mol) y dietilmalonato destilado (7.6 ml, 0.05 mol) luego se agitó a 0°C por 30 minutos. La mezcla de reacción luego se trató con una solución de piridina seca (16 ml, 0.20 mol) en THF seco (30 ml), se agitó a 0°C por 1.0 h, luego a ta por 20 horas. La mezcla de reacción se enfrió rápidamente con agua (50 ml), se agitó por 5 minutos luego se extrajo con éter (2 x 100 ml).

Los extractos orgánicos combinados se lavaron con cloruro de sodio saturado (50 ml), bicarbonato de sodio saturado (50 ml) y salmuera (50 ml), se secaron sobre ($MgSO_4$), se filtraron y se concentraron. La cromatografía instantánea usando 5% EtOAc en hexano dio el compuesto del Paso 1 como un aceite amarillo claro. Rendimiento: 7.67 g (68%). MS (m + H) 226.

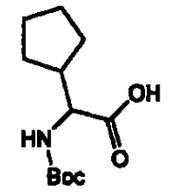
Paso 2




Una solución del compuesto del Paso 1 (1.00 g, 4.42 mmol) en metanol (50 ml) se trató con 10% Pd/C (0.20 g, 10% mol) y se hidrogenó (presión aerostática) a ta por 20 horas. La mezcla se diluyó con metanol y se filtró a través de una almohadilla de celita. El filtrado se concentró y se purificó por cromatografía de columna instantánea sobre gel de sílice con 7% EtOAc en hexanos para dar 0.84 g (91%) del compuesto del Paso 2. MS (M+H) 229.

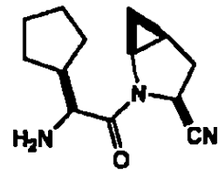
206

Paso 3



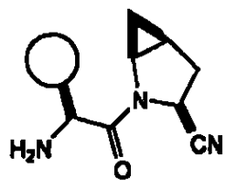

El compuesto del Paso 3 se preparó por el procedimiento resumido en el Método General H, donde el éster se sometió a hidrólisis, Rearreglo de Curtius, intercambio del grupo protector, y de nuevo hidrólisis del éter final.

Paso 4



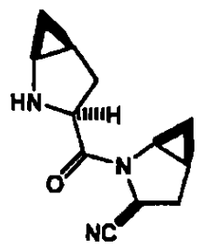

El compuesto del título se preparó a partir del compuesto del Paso 3 de acuerdo con el procedimiento en el Método General C donde el aminoácido se acopla, la amida se deshidrata, y el grupo protector se remueve para dar el compuesto del título. MS (M+H)234.

Los ejemplos 86 y 87 se prepararon por los procedimientos usados por el Ejemplo 85 que parten de ciclohexanona y ciclobutanona respectivamente.

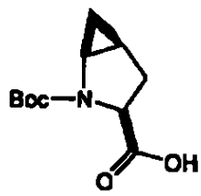


| Ejemplo # | cicloalcano | Espec. de Masa M+H |
|---|---|---|
| 85 | ciclopentilo | 234 |
| 86 | ciclohexilo | 248 |
| 87 | Ciclobutilo | 220 |

## Ejemplo 89

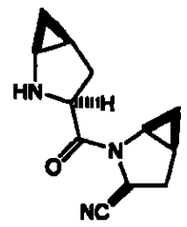


Paso 1



El compuesto del Paso 1 se preparó en el Ejemplo 6 Paso 1.

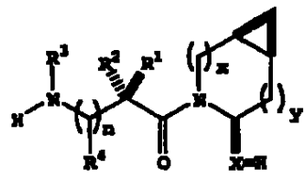
Paso 2

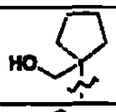
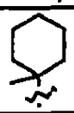
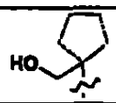
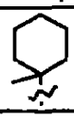



El compuesto del título se preparó a partir del compuesto del Paso 1 de acuerdo con el Método General C, donde el ácido carboxílico se sometió a acoplamiento del péptido, la deshidratación de la amida y remoción del grupo protector. MS (M+H) 218.

## Ejemplos 90 a 99

Los ejemplos de los compuestos donde X = H incluyen los siguientes compuestos los cuales se pueden preparar empleando los procedimientos como se describieron anteriormente.

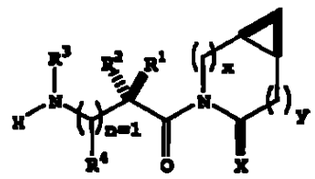


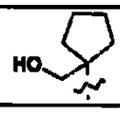
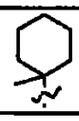
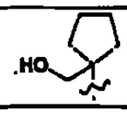
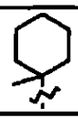
| Ej. # | n | x | y | $R^1$ | $R^2$ | $R^3$ | $R^4$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 90 | 0 | 0 | 1 | t-Bu | H | H | - |
| 91 | 0 | 0 | 1 | adamantilo | H | H | - |
| 92 | 0 | 0 | 1 |  | H | H | - |
| 93 | 0 | 0 | 1 |  | H | Me | - |
| 94 | 0 | 1 | 0 | t-Bu | H | H | - |
| 95 | 0 | 1 | 0 | adamantilo | H | H | - |
| 96 | 0 | 1 | 0 |  | H | H | - |
| 97 | 0 | 1 | 0 |  | H | Me | - |
| 98 | 1 | 0 | 1 | H | H | H | t-Bu |
| 99 | 1 | 1 | 0 | Me | H | H | t-Bu |

## Ejemplos 100 a 109

Los ejemplos de los compuestos donde n = 1 incluyen los siguientes compuestos los cuales

se pueden preparar empleando los procedimientos como se describieron anteriormente.

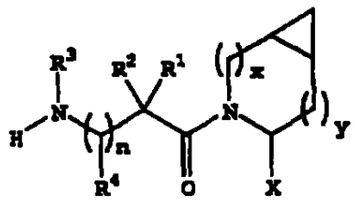


| Ej. # | X | x | y | $R^1$ | $R^2$ | $R^3$ | $R^4$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 100 | CN | 0 | 1 | H | H | H | t-Bu |
| 101 | CN | 0 | 1 | H | H | H | adamantilo |
| 102 | CN | 0 | 1 | H | Me | H |  |
| 103 | CN | 0 | 1 |  | H | Me | H |
| 104 | CN | 1 | 0 | t-Bu | H | H | H |
| 105 | CN | 1 | 0 | adamantilo | H | H | Me |
| 106 | CN | 1 | 0 |  | Et | H | H |
| 107 | CN | 1 | 0 | H | H | Me |  |
| 108 | H | 0 | 1 | t-Bu | H | H | H |
| 109 | H | 1 | 0 | Me | H | H | t-Bu |

211

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la estructura



caracterizado porque x es 0 ó 1 y y es 0 ó 1 siempre que

x = 1 cuando y = 0 y

x = 0 cuando y = 1; y en donde

n es 0 ó 1;

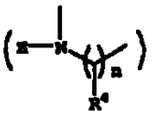
X es H o CN;

$R^1$, $R^2$, $R^3$ y $R^4$ son los mismos o diferentes y se seleccionan en forma independiente de hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, bicicloalquilo, tricicloalquilo, alquilcicloalquilo, hidroxialquilo, hidroxialquilcicloalquilo, hidroxicicloalquilo, hidroxibicicloalquilo, hidroxitricicloalquilo, bicicloalquilalquilo, alquiltioalquilo, arilalquiltioalquilo, cicloalquenilo, arilo,

aralquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloheteroalquilo y cicloheteroalquilalquilo; todos substituidos opcionalmente a través de átomos de carbono disponibles con 1, 2, 3, 4 ó 5 grupos seleccionados de hidrógeno, halo, alquilo, polihaloalquilo, alcoxi, haloalcoxi, polihaloalcoxi, alcoxicarbonilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, policicloalquilo, heteroarilamino, arilamino, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilalquilo, hidroxi, hidroxialquilo, nitro, ciano, amino, amino substituido, alquilamino, dialquilamino, tiol, alquiltio, alquilcarbonilo, acilo, alcoxicarbonilo, aminocarbonilo, alquinilaminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, alquenilaminocarbonilo, alquilcarboniloxi, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alquilsulfonilamino, alquilaminocarbonilamino, alcoxicarbonilamino, alquilsulfonilo, aminosulfinilo, aminosulfonilo, alquilsulfinilo, sulfonamido o sulfonilo;

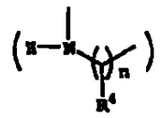
y $R^1$ y $R^3$ se pueden tomar opcionalmente de manera conjunta para formar $-(CR^5R^6)_m-$ en donde m es 2 a 6, y $R^5$ y $R^6$ son los mismos o diferentes y se seleccionan en forma

213

independiente a partir de hidroxi, alcoxi, H, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, halo, amino, amino substituido, cicloalquilalquilo, cicloalquenilo, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilalquilo, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alcoxicarbonilamino, ariloxicarbonilamino, alcoxicarbonilo, ariloxicarbonilo, o alquilaminocarbonilamino, o $R^1$ y $R^4$ se pueden tomar opcionalmente de manera conjunta para formar $-(CR^7R^8)_p-$ en donde p es 2 a 6, y $R^7$ y $R^8$ son los mismos o diferentes y se seleccionan independientemente de hidroxi, alcoxi, ciano, H, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, cicloalquenilo, halo, amino, amino substituido, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilalquilo, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alcoxicarbonilamino, ariloxicarbonilamino, alcoxicarbonilo, ariloxicarbonilo, o alquilaminocarbonilamino, u opcionalmente $R^1$ y $R^3$ conjuntamente con 

forman un anillo de 5 a 7 elementos que contienen un total de 2 a 4 heteroátomos seleccionados de N, O, S, SO, o $SO_2$;

u opcionalmente $R^1$ y $R^3$ conjuntamente

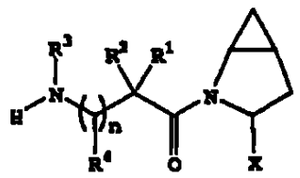
con  forman un anillo cicloheteroalquilo de 4 a 8 elementos en donde el anillo cicloheteroalquilo tiene un anillo arilo opcional fusionado a éste o un anillo cicloalquilo de 3 a 7 elementos, opcional, fusionado a éste;

que incluyen todos los estereoisómeros de los mismos;

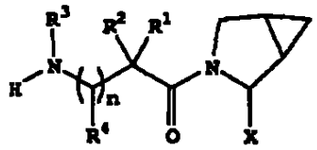
y una sal de los mismos farmacéuticamente aceptable, o un éster profármaco de los mismos, y todos los estereoisómeros de los mismos.

2. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque tiene la estructura:

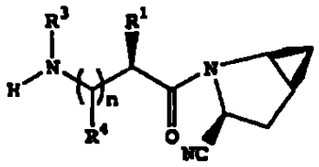
215



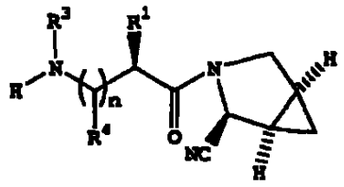
3. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque tiene la estructura:



4. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque tiene la estructura:



5. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque tiene la estructura:



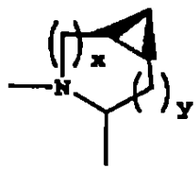
6. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque:

$R^3$ es H, $R^1$ es H, alquilo, cicloalquilo, bicicloalquilo, tricicloalquilo, alquilcicloalquilo, hidroxialquilo, hidroxialquilcicloalquilo, hidroxicicloalquilo hidroxibicicloalquilo, o hidroxitricicloalquilo,

$R^2$ es H o alquilo, n es 0,

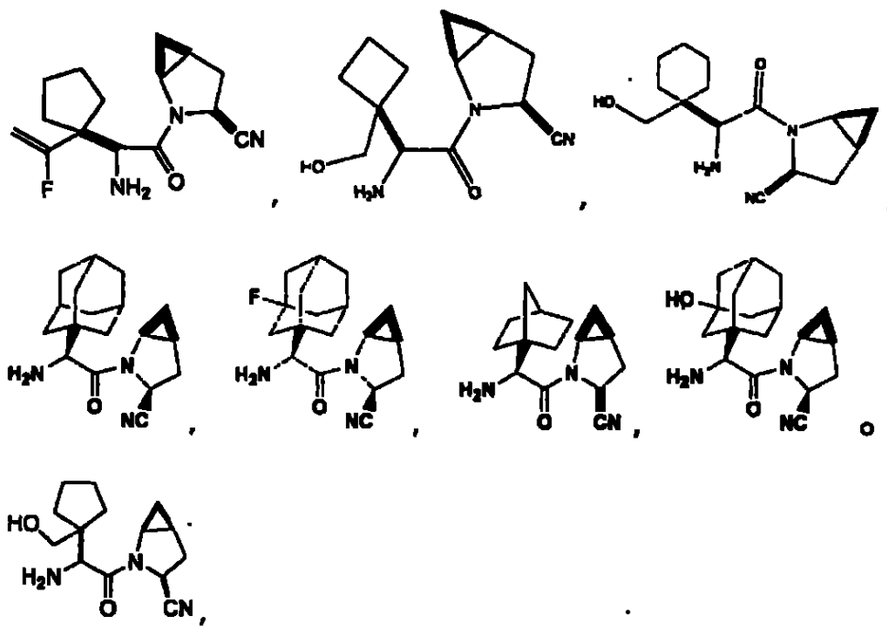
X es CN.

7. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque el ciclopropilo fusionado a la pirrolidina tiene la configuración:



217

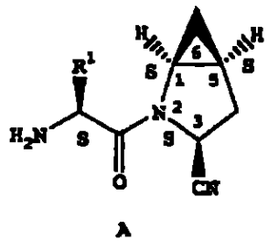
8. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, caracterizado porque tiene la estructura:



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

9. El compuesto de conformidad con la reivindicación 8, caracterizado porque la sal farmacéuticamente aceptable es la sal de clorhidrato o la sal del ácido trifluoroacético.

10. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, el cual es

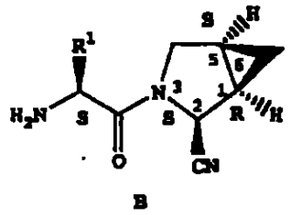


A

(1S,2(2S),3S,5S)

caracterizado porque $R^1$ es alquilo, cicloalquilo, bicicloalquilo, tricicloalquilo, alquilcicloalquilo, hidroxialquilo, hidroxicicloalquilo, hidroxialquilcicloalquilo, hidroxibicicloalquilo, o hidroxitricicloalquilo,

o



B

(1R,2S,3(2S),5S)

en donde $R^1$ es alquilo, cicloalquilo, bicicloalquilo, tricicloalquilo, alquilcicloalquilo, hidroxialquilo,

hidroxicicloalquilo, hidroxialquilcicloalquilo, hidroxibicicloalquilo, o hidroxitricicloalquilo.

11. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende un compuesto de conformidad con la reivindicación 1 y un portador del mismo farmacéuticamente aceptable.

12. Una combinación farmacéutica caracterizada porque comprende un compuesto inhibidor de DP4 como se definió en la reivindicación 1 y un agente antidiabético menos un inhibidor de DP4 para el tratamiento de la diabetes y enfermedades relacionadas, un agente antiobesidad y/o un agente modulador de lípidos.

13. La combinación farmacéutica de conformidad con la reivindicación 12, caracterizada porque comprende el compuesto inhibidor de DP4 y un agente antidiabético.

220

14. La combinación de conformidad con la reivindicación 13, caracterizada porque el agente antidiabético es 1, 2, 3 o más de una biguanida, una sulfonilurea, un inhibidor de glucosidasa, un agonista PPAR γ, un agonista dual PPAR α/γ, un inhibidor de SGLT2, un inhibidor de aP2, un inhibidor de glicogen fosforilasa, un inhibidor de AGE, un sintetizador de insulina, un péptido-1 semejante al glucagon (GLP-1) o mimético del mismo, insulina y/o una meglitinida.

15. La combinación de conformidad con la reivindicación 14, caracterizada porque el agente antidiabético es 1, 2, 3 o más de metformina, gliburida, glimepirida, glipirida, glipizida, clorpropamida, gliclazida, acarbosa, miglitol, pioglitazona, troglitazona, rosiglitazona, insulina, G1-262570, isaglitazona, JTT-501, NN-2344, L895645, YM-440, R-119702, AJ9677, repaglinida, nateglinida, KAD1129, AR-HO39242, GW-409544, KRP297, AC2993, Exendin-4, LY307161, NN2211, y/o LY315902.

221

16. La combinación de conformidad con la reivindicación 13, caracterizada porque el compuesto está presente en una relación o proporción en peso al agente antidiabético dentro del rango desde aproximadamente 0.01 a en forma aproximada 100:1.

17. La combinación de conformidad con la reivindicación 12, caracterizada porque el agente antiobesidad es un agonista adrenérgico beta 3, un inhibidor de lipasa, un inhibidor de reabsorción de serotonina (y dopamina), un compuesto beta receptor de la tiroide, un agente anoréctico, y/o un superrregulador de la oxidación del ácido graso.

18. La combinación de conformidad con la reivindicación 17, caracterizada porque el agente antiobesidad es orlistat, ATL-962, AJ9677, L750355, CP331648, sibutramina, topiramato, oxacina, dexanfetamina, fentermina, fenilpropanolamina, famoxina, y/o mazindol.

222

19. La combinación de conformidad con la reivindicación 12, caracterizada porque el agente modulador de lípidos es un inhibidor de MTP, un inhibidor de reductasa de HMG CoA, un inhibidor de escualeno sintetasa, un derivado del ácido fíbrico, un superregulador de la actividad del receptor de LDL, un inhibidor de lipoxigenasa, un inhibidor de ACAT, un inhibidor de proteína de transferencia de colesteril éster, o un inhibidor de liasa de citrato de ATP.

20. La combinación de conformidad con la reivindicación 17, caracterizada porque el agente de modulación de lípidos es pravastatina, lovastatina, simvastatina, atorvastatina, cerivastatina, fluvastatina, nisvastatina, visastatina, fenofibrato, gemfibrozil, clofibrato, implitapida, CP-529,414, avasimiba, TS-962, MD-700, y/o LY295427.

21. La combinación de conformidad con la reivindicación 19, caracterizada porque el

inhibidor de DP4 está presente en una relación o proporción en peso al agente modulador de lípidos dentro del rango desde aproximadamente 0.01 a en forma aproximada 100:1.

22. Una combinación farmacéutica caracterizada porque comprende un compuesto inhibidor de DP4 como se definió en la reivindicación 1 y un agente para el tratamiento de infertilidad, un agente para tratar el síndrome de ovario poliquístico, un agente para tratar un desorden de crecimiento y/o debilidad, un agente antiartritis, un agente para prevenir la inhibición del rechazo al aloinjerto en el transplante, un agente para tratar la enfermedad autoinmune, un agente antiSIDA, un agente para tratarla enfermedad/síndrome inflamatorio del intestino, un agente para tratar anorexia nerviosa, un agente antiosteoporosis y/o un agente antiobesidad.

23. Un método para tratar diabetes, resistencia a la insulina, hiperglicemia,

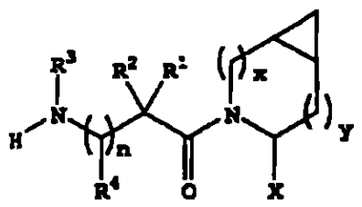
224

hiperinsulinemia, o elevados niveles en la sangre de ácidos grasos libres o glicerol, obesidad, Síndrome X, síndrome dismetabólico, complicaciones diabéticas, hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia, aterosclerosis, homeóstasis de glucosa dañada, tolerancia a la glucosa dañada, infertilidad, síndrome de ovario poliquístico, desórdenes del crecimiento, debilidad, artritis, rechazo a aloinjertos en el transplante, enfermedades autoinmunes, SIDA, enfermedades intestinales, síndrome inflamatorio de los intestinos, nerviosa, osteoporosis, o una enfermedad inmunomoduladora o una enfermedad inflamatoria de los intestinos, crónica, caracterizado porque comprende administrar a una especie de mamífero con necesidad del tratamiento, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto como se define en la reivindicación 1.

24. El método de conformidad con la reivindicación 23, caracterizado porque es para tratar la diabetes de tipo II y/u obesidad.

## RESUMEN DE LA INVENCION

Se proporcionan compuestos inhibidores de la dipeptidil peptidasa IV (DP 4) que tienen la fórmula



en donde x es 0 ó 1 y y es 0 ó 1 (siempre que x = 1 cuando y = 0 y x = 0 cuando y = 1);

n es 0 ó 1; X es H o CN;

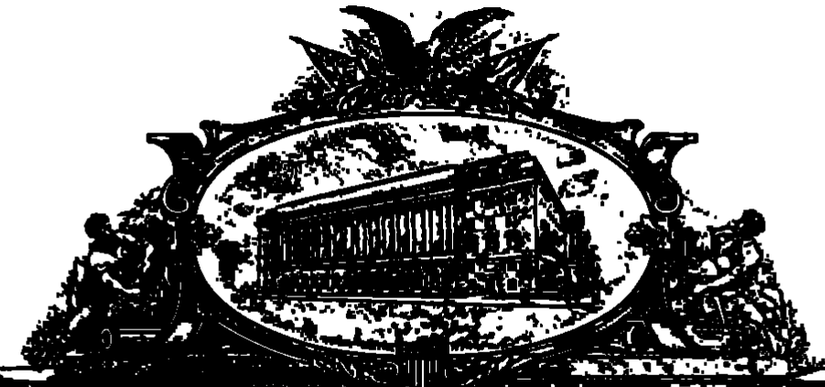
y donde $R^1$, $R^2$, $R^3$ y $R^4$ son como se describió aquí.

También se proporciona un método para tratar diabetes y enfermedades relacionadas, especialmente diabetes Tipo II, y otras enfermedades como se describen aquí, empleando tal inhibidor DP 4 o una combinación de tal inhibidor DP 4 y uno o más de otros agentes antidiabéticos tales como metformina, gluburida, troglitazona, pioglitazona, rosiglitazona y/o

226

insulina y/o uno o más de un agente hipolipidémico y/o agente anti obesidad y/u otro agente terapéutico.

84.420
227



# THE UNITED STATES OF AMERICA

TO ALL TO WHOM THESE PRESENTS SHALL COME:

**UNITED STATES DEPARTMENT OF COMMERCE**

**United States Patent and Trademark Office**

**December 26, 2000**

**THIS IS TO CERTIFY THAT ANNEXED HERETO IS A TRUE COPY FROM THE RECORDS OF THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE OF THOSE PAPERS OF THE BELOW IDENTIFIED PATENT APPLICATION THAT MET THE REQUIREMENTS TO BE GRANTED A FILING DATE UNDER 35 USC 111.**

**APPLICATION NUMBER:** ***60/188,555***
**FILING DATE:** ***March 10, 2000***



**By Authority of the**
**COMMISSIONER OF PATENTS AND TRADEMARKS**

T. Lawrence

**T. LAWRENCE**
**Certifying Officer**

03-13-00 A/PONV 228

03/10/00 jc759 U.S. PTO

PTO/SB/16 (6-95)

*PROVISIONAL APPLICATION COVER SHEET*

This is a request for filing a PROVISIONAL APPLICATION under 37 CFR 1.53(c)

jc541 U.S. PTO 60/180555 03/10/00

| Docket Number LA50(PSP) | | Type a plus sign(+) inside this box → | + |
|---|---|---|---|

**INVENTOR(S)/APPLICANT(S)**

| LAST NAME | FIRST NAME | MIDDLE INITIAL | RESIDENCE (CITY & STATE OR FOREIGN COUNTRY) |
|---|---|---|---|
| Robl | Jeffrey | A. | Newtown, PA, USA |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

**TITLE OF THE INVENTION (280 CHARACTERS MAX)**

CYCLOPROPYL-FUSED PYRROLIDINE-BASED INHIBITORS OF DIPEPTIDYL PEPTIDASE IV AND METHOD

**CORRESPONDENCE ADDRESS**

BURTON RODNEY
PATENT DEPARTMENT
BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY
PO BOX 4000
PRINCETON, NJ 08543-4000

**ENCLOSED APPLICATION PARTS (check all that apply)**

☒ Specification 59 *Number of Pages* ☐ Small Entity Statement

☐ Drawing(s) ☐ *Number of Sheets* ☐ Other(specify)

**EXPRESS MAIL NO. EM069782125US**

**METHOD OF PAYMENT**

☒ The Commissioner is hereby authorized to charge filing fees and credit Deposit Account Number 19-3880. The Provisional Filing Fee Amount is ($)150.00. The Commissioner is hereby authorized to charge any additional fees which may be required except the Issue Fee, or credit any overpayment to Deposit Account 19-3880.

60180555 03/10/00

The invention was made by an agency of the United States Government or under a contract with an agency of the United States Government.

☒ No.

☐ Yes, the name of the U.S. Government agency and the Government contract number are:

_____

Respectfully submitted,

SIGNATURE John M. Kilcoyne DATE March 10, 2000

TYPED OR PRINTED NAME John M. Kilcoyne

REGISTRATION No. 33,100

TELEPHONE NO. (609) 252-5909

☐ Additional inventors are being named on separately numbered sheets attached hereto.

501885S5.031000

230

# CYCLOPROPYL-FUSED PYRROLIDINE-BASED INHIBITORS OF DIPEPTIDYL PEPTIDASE IV AND METHOD

## Field of the Invention

The present invention relates to cyclopropyl-fused pyrrolidine-based inhibitors of dipeptidyl peptidase IV (DP-4), and to a method for treating diabetes, especially Type II diabetes, as well as hyperglycemia, Syndrome X, diabetic complications, hyperinsulinemia, obesity, atherosclerosis and related diseases, as well as various immunomodulatory diseases and chronic inflammatory bowel disease, employing such cyclopropyl-fused pyrrolidines alone or in combination with another type antidiabetic agent.

501885S5.030100

## Background of the Invention

Depeptidyl peptidase IV (DP-4) is a membrane bound non-clasical serine aminodipeptidase which is located in a variety of tissues (intestine, liver, lung, kidney) as well as on circulating T-lymphocytes (where the enzyme is known as CD-26). It is responsible for the metabolic cleavage of certain endogenous peptides (GLP-1(7-36), glucagon) in vivo and has demonstrated proteolytic activity against a variety of other peptides (GHRH, NPY, GLP-2, VIP) in vitro.

GLP-1(7-36) is a 29 amino-acid peptide derived by post-translational processing of proglucagon in the small intestine. GLP-1(7-36) has multiple actions in vivo including the stimulation of insulin secretion, inhibition of glucagon secretion, the promotion of satiety, and the slowing of gastric emptying. Based on its physiological profile, the actions of GLP-1(7-36) are expected to be beneficial in the prevention and treatment of type II diabetes and potentially obesity. To support this claim, exogenous administration of GLP-1(7-36) (continous infusion) in diabetic patients has demonstrated efficacy in this patient population.

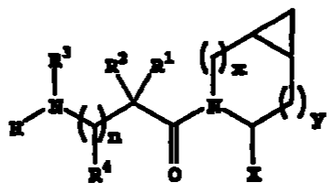
Unfortunately GLP-1(7-36) is degraded rapidly in vivo and has been shown to have a short half-life in vivo (t1/2≈1.5 min). Based on a study of genetically bred DP-4 KO mice and on in vivo/in vitro studies with selective DP-4 inhibitors, DP-4 has been shown to be the primary degrading enzyme of GLP-1(7-36) in vivo. GLP-1(7-36) is degraded by DP-4 efficiently to GLP-1(9-36), which has been speculated to act as a physiological antagonist to GLP-1(7-36). Thus, inhibition of DP-4 in vivo should potentiate endogenous levels of GLP-1(7-36) and attenuate formation of its antagonist GLP-1(9-36) and thus serve to ameliorate the diabetic condition.

001000-0318855

## Description of the Invention

In accordance with the present invention, cyclopropyl-fused pyrrolidine-based compounds are provided which inhibit DP-4 and have the structure

I



wherein x is 0 or 1 and y is 0 or 1 (provided that

x = 1 when y = 0 and

x = 0 when y = 1);

n is 0 or 1;

X is H or CN (that is cyano);

$R^1$, $R^2$, $R^3$ and $R^4$ are the same or different and are independently selected from H, alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, cycloalkylalkyl, bicycloalkyl, bicycloalkylalkyl, alkylthioalkyl, arylalkylthioalkyl, cycloalkenyl, aryl, aralkyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, cycloheteroalkyl and cycloheteroalkylalkyl, all optionally substituted through available carbon atoms with 1, 2, 3, 4 or 5 groups selected from hydrogen, halo, alkyl, polyhaloalkyl, alkoxy, haloalkoxy, polyhaloalkoxy, alkoxycarbonyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl,

232

cycloalkylalkyl, polycycloalkyl, heteroarylamino, arylamino, cycloheteroalkyl, cycloheteroalkylalkyl, hydroxy, hydroxyalkyl, nitro, cyano, amino, substituted amino, alkylamino, dialkylamino, thiol, alkylthio, alkylcarbonyl, acyl, alkoxycarbonyl, aminocarbonyl, alkynylaminocarbonyl, alkylaminocarbonyl, alkenylaminocarbonyl, alkylcarbonyloxy, alkylcarbonylamino, arylcarbonylamino, alkylsulfonylamino, alkylaminocarbonylamino, alkoxycarbonylamino, alkylsulfonyl, aminosulfonyl, alkylsulfinyl, sulfonamido or sulfonyl;

and $R^1$ and $R^3$ may optionally be taken together to form $-(CR^5R^6)_m-$ where m is 2 to 6, and $R^5$ and $R^6$ are the same or different and are independently selected from hydroxy, alkoxy, cyano, H, alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, cycloalkylalkyl, cycloalkenyl, aryl, arylalkyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, cycloheteroalkyl, cycloheteroalkylalkyl, alkylcarbonylamino, arylcarbonylamino, alkoxycarbonylamino, aryloxycarbonylamino, alkoxycarbonyl, aryloxycarbonyl, or alkylaminocarbonylamino, or $R^1$ and $R^4$ may optionally be taken together to form $-(CR^7R^8)_p-$ where p is 3 to 6, and $R^7$ and $R^8$ are the same or different and are independently selected from hydroxy, alkoxy, cyano, H, alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, cycloalkylalkyl, cycloalkenyl, aryl, arylalkyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, cycloheteroalkyl, cycloheteroalkylalkyl, alkylcarbonylamino, arylcarbonylamino, alkoxycarbonylamino, aryloxycarbonylamino, alkoxycarbonyl, aryloxycarbonyl, or alkylaminocarbonylamino, or optionally $R^1$ and $R^3$ together



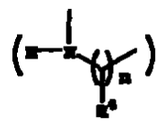
with $R^4$ form a 5 to 7 membered ring containing a total of 2 to 4 heteroatoms selected from N, O, S, SO, or $SO_2$;



0188555.0310D0

233

501 555.03100

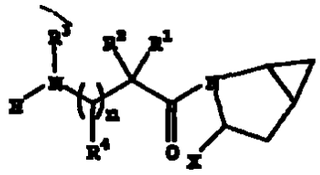


or optionally $R^1$ and $R^3$ together with form a 4 to 8 membered cycloheteroalkyl ring wherein the cycloheteroalkyl ring has an optional aryl ring fused thereto or an optional 3 to 7 membered cycloalkyl ring fused thereto;

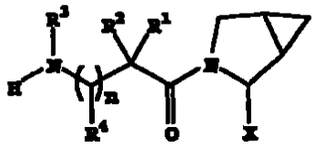
and including pharmaceutically acceptable salts thereof, and prodrug esters thereof, and all stereoisomers thereof.

Thus, the compounds of formula I of the invention include the following structures

IA



IB



In addition, in accordance with the present invention, a method is provided for treating diabetes, especially Type II diabetes, and related diseases such as insulin resistance, hyperglycemia, hyperinsulinemia, Syndrome X, diabetic conplications, elevated blood levels of fatty acids or glycerol, obesity, hypertriglyceridemia and atherosclerosis, and immunomodulatory diseases including AIDS, host-versus-graft rejection, and arthritis, and chronic inflammatory bowel disease (such as Crohn's disease and ulcerative colitis), wherein a therapeutically effective amount of a compound of structure I (which inhibits DP 4) is administered to a human patient in need of treatment.

The conditions, diseases, and maladies collectively referenced to as "Syndrome X" or Metabolic Syndrome are

detailed in Johannsson *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 82, 727-734 (1997).

In addition, in accordance with the present invention, a method is provided for treating diabetes and related diseases as defined above and hereinafter, wherein a therapeutically effective amount of a combination of a compound of structure I and one, two, three or more of other types of antidiabetic agent(s) and/or one, two or three or more other types of therapeutic agent(s) is administered to a human patient in need of treatment.

The conditions, diseases and maladies collectively referred to as "diabetic complications" include retinopathy, neuropathy and nephropathy, and other known complications of diabetes.

The term "other type(s) of therapeutic agents" as employed herein refers to one or more antidiabetic agents (other than DP4 inhibitors of formula I), one or more anti-obesity agents, and/or one or more lipid-lowering agents (including anti-atherosclerosis agents).

In the above method of the invention, the compound of structure I will be employed in a weight ratio to the antidiabetic agent or other type therapeutic agent (depending upon its mode of operation) within the range from about 0.01:1 to about 500:1, preferably from about 0.1:1 to about 100:1, more preferably from about 0.2:1 to about 10:1.

Preferred are compounds of formula I wherein $R^3$ is H or alkyl, $R^1$ is H or alkyl, $R^2$ is H or alkyl, n is 0, X is CN, x is 0 or 1 and y is 0 or 1.

Most preferred are preferred compounds of formula I as described above where X is  ;

and/or wherein the fused cyclopropyl group is identified as  .



0018855.03000

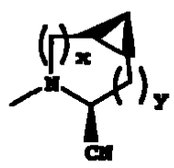
235

Thus, preferred compounds of formula I of the invention will include the moiety



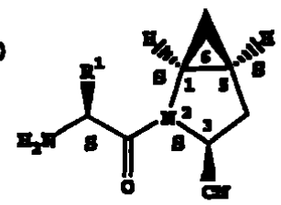


or



Particularly preferred are the following compounds

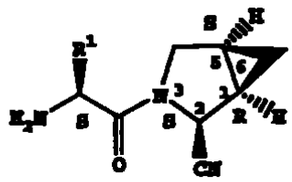
(A)



[1S,2(2S),3S,5S]

wherein $R^1$ is alkyl, cycloalkyl or bicycloalkyl;

(B)



[1R,2S,3(2S),5S]

wherein $R^1$ is alkyl, cycloalkyl or bicycloalkyl.



0018855 03100D

6018855.031000

## Detailed Description of the Invention

Compounds of the structure I may be generated by the methods as shown in the following reaction schemes and the description thereof.

Referring to Reaction Scheme 1, compound 1, where $PG_1$ is a common amine protecting group such as Boc, Cbz, or FMOC and $X^1$ is H or $CO_2R^9$ as set out below, may be generated by methods as described herein or in the literature (for example see Sagnard et al, Tet-Lett., 1995, 36, pp. 3148-3152, Tverezovsky et al, Tetrahedron, 1997, 53, pp. 14773-14792, Hanessian et al, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, p. 2123-2128). Removal of the $PG_1$ group by conventional methods (e.g. (1) TFA or HCl when $PG_1$ is Boc, or (2) $H_2$/Pd/C, TMSI when $PG_1$ is Cbz, or (3) $Et_2NH$ when $PG_1$ is (FMOC) affords the free amine 2. Amine 2 may be coupled to various protected amino acids such as 3 (where $PG_2$ can be any of the $PG_1$ protecting groups) using standard peptide coupling conditions (e.g. EDAC/HOAT, i-BuCOCOCl/TEA, PyBop/NMM) to afford the corresponding dipeptide 4. Removal of the amine protecting group $PG_2$ provides compound Ia of the invention where X=H.

In the case where $X^1$=$CO_2R^9$ (where $R^9$ is alkyl or aralkyl groups such as methyl, ethyl, t-butyl, or benzyl), the ester may be hydrolyzed under a variety of conditions, for example with aqueous NaOH in a suitable solvent such as methanol, THF, or dioxane, to provide the acid 5. Conversion of the acid group to the primary carboxamide, affording 6, may be effected by activation of the acid group (e.g. employing i-BuOCOCl/TEA or EDAC) followed by treatment with $NH_3$ or an ammonia equivalent in a solvent such as dioxane, ether, or methanol. The amide functionality may be converted to the nitrile group by a variety of standard conditions (e.g. $POCl_3$/pyridine/imidazole or cyanuric chloride/DMF) to give 7. Finally, removal of the $PG_2$ protecting group similar to above provides compound of the invention Ib.

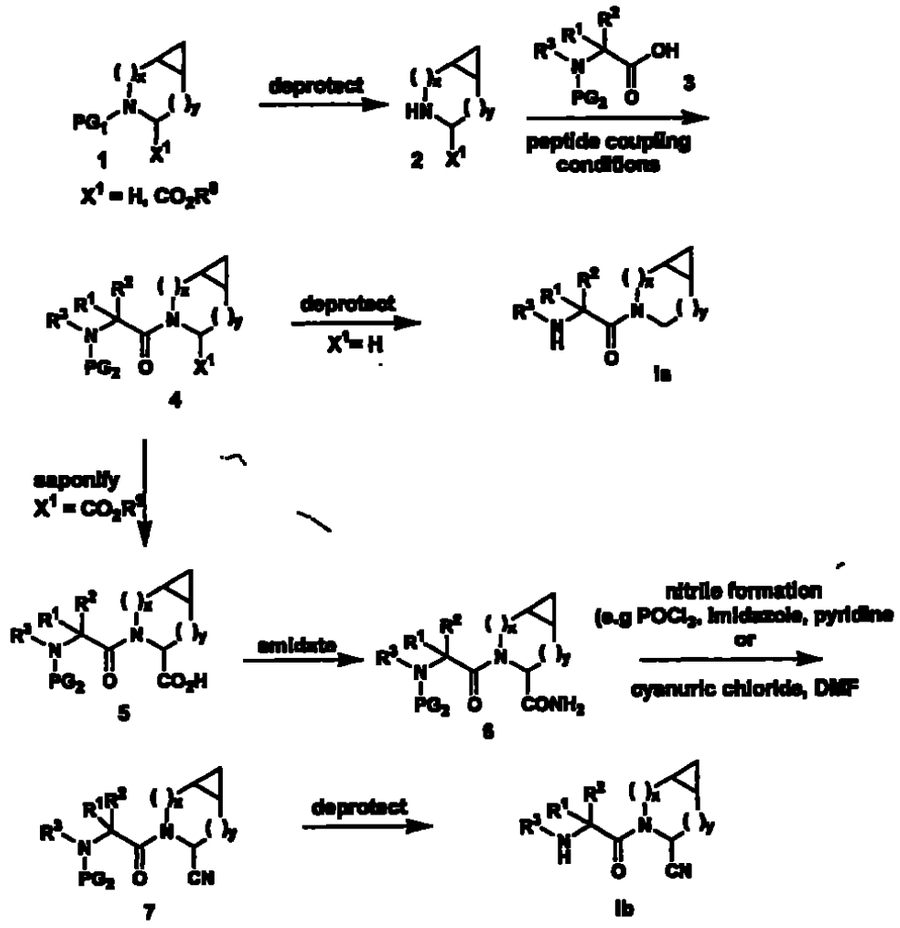
In a different sequence (Scheme 2), compound 1 where $X^1$ is $CO_2R^9$ may be saponified to the acid and subsequently amidated as described above to give amide 8. Removal of the $PG_1$ group followed by peptide coupling to 3 affords compound 6, an intermediate in the synthesis of Ib.

Alternately, the carboxamide group in 8 may be converted to the nitrile as described above to give compound 9. Deprotection of $PG_1$ affords 10 which may be subject to standard peptide coupling conditions to afford 7, an intermediate in the synthesis of Ib. Compound 10 may also be generated by oxidation of the amine 2 (e.g. NCS) followed by hydrolysis and subsequent cyanide treatment. Compound 10 may be obtained as a mixture of stereoisomers or a single isomer/diastereomer which may be epimerized (employing conventional procedures) to afford a mixture of stereoisomers.

0188555.031000

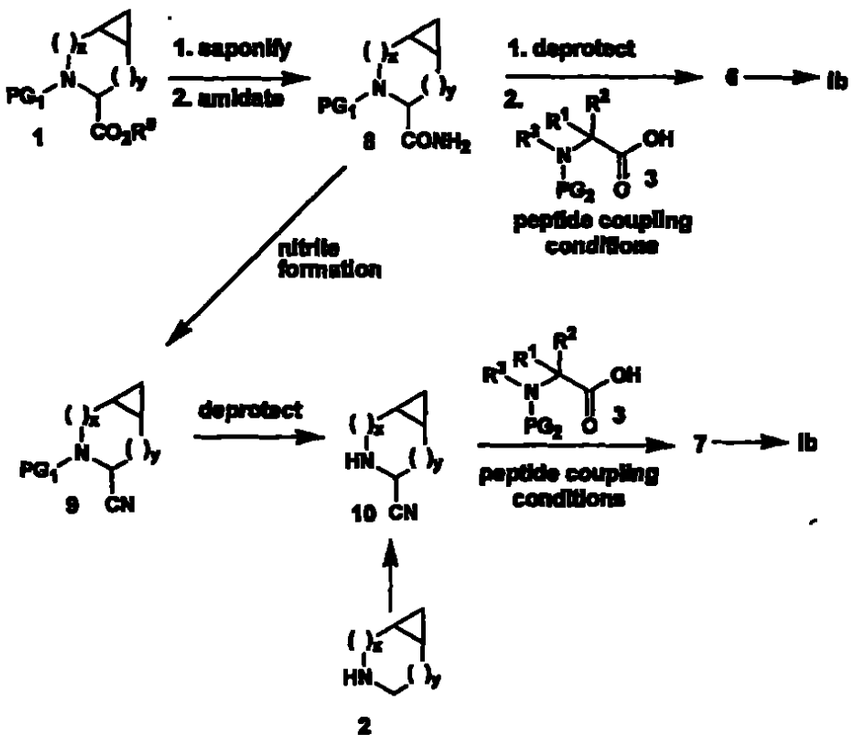
238

Scheme 1

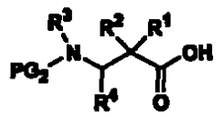



0 0140 555 881 09

Scheme 2




In a like manner, β-amino acids such as



may be coupled with 2, the free amine of 8, or 10 to give the corresponding amides which may be converted to compound Ia or Ib following the same chemistry.

Unless otherwise indicated, the term "lower alkyl", "alkyl" or "alk" as employed herein alone or as part of another group includes both straight and branched chain hydrocarbons, containing 1 to 20 carbons, preferably 1 to 10 carbons, more preferably 1 to 8 carbons, in the normal chain, such as methyl, ethyl, propyl, isopropyl, butyl, t-butyl, isobutyl, pentyl, hexyl, isohexyl, heptyl, 4,4-dimethylpentyl, octyl, 2,2,4-trimethyl-pentyl, nonyl, decyl, undecyl, dodecyl,

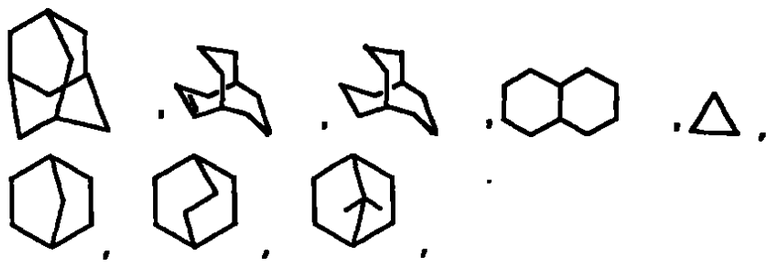


0188555 - 31000

5 188555.031000

the various branched chain isomers thereof, and the like as well as such groups including 1 to 4 substituents such as halo, for example F, Br, Cl or I or $CF_3$, alkyl, alkoxy, aryl, aryloxy, aryl(aryl) or diaryl, arylalkyl, arylalkyloxy, alkenyl, cycloalkyl, cycloalkylalkyl, cycloalkylalkyloxy, amino, hydroxy, hydroxyalkyl, acyl, heteroaryl, heteroaryloxy, heteroarylalkyl, heteroarylalkoxy, aryloxyalkyl, alkylthio, arylalkylthio, aryloxyaryl, alkylamido, alkanoylamino, arylcarbonylamino, nitro, cyano, thiol, haloalkyl, trihaloalkyl and/or alkylthio.

Unless otherwise indicated, the term "cycloalkyl" as employed herein alone or as part of another group includes saturated or partially unsaturated (containing 1 or 2 double bonds) cyclic hydrocarbon groups containing 1 to 3 rings, including monocyclic alkyl, bicyclic alkyl (or bicycloalkyl) and tricyclic alkyl, containing a total of 3 to 20 carbons forming the ring, preferably 3 to 10 carbons, forming the ring and which may be fused to 1 or 2 aromatic rings as described for aryl, which includes cyclopropyl, cyclobutyl, cyclopentyl, cyclohexyl, cycloheptyl, cyclooctyl, cyclodecyl and cyclododecyl, cyclohexenyl,

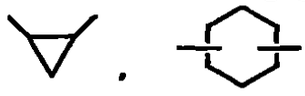


any of which groups may be optionally substituted with 1 to 4 substituents such as halogen, alkyl, alkoxy, hydroxy, aryl, aryloxy, arylalkyl, cycloalkyl, alkylamido, alkanoylamino, oxo, acyl, arylcarbonylamino, amino, nitro, cyano, thiol and/or alkylthio and/or any of the substituents for alkyl.

0188555 0310 0

The term "cycloalkenyl" as employed herein alone or as part of another group refers to cyclic hydrocarbons containing 3 to 12 carbons, preferably 5 to 10 carbons and 1 or 2 double bonds. Exemplary cycloalkenyl groups include cyclopentenyl, cyclohexenyl, cycloheptenyl, cyclooctenyl, cyclohexadienyl, and cycloheptadienyl, which may be optionally substituted as defined for cycloalkyl.

The term "cycloalkylene" as employed herein refers to a "cycloalkyl" group which includes free bonds and thus is a linking group such as



and the like, and may optionally be substituted as defined above for "cycloalkyl".

The term "alkanoyl" as used herein alone or as part of another group refers to alkyl linked to a carbonyl group.

Unless otherwise indicated, the term "lower alkenyl" or "alkenyl" as used herein by itself or as part of another group refers to straight or branched chain radicals of 2 to 20 carbons, preferably 2 to 12 carbons, and more preferably 1 to 8 carbons in the normal chain, which include one to six double bonds in the normal chain, such as vinyl, 2-propenyl, 3-butenyl, 2-butenyl, 4-pentenyl, 3-pentenyl, 2-hexenyl, 3-hexenyl, 2-heptenyl, 3-heptenyl, 4-heptenyl, 3-octenyl, 3-nonenyl, 4-decenyl, 3-undecenyl, 4-dodecenyl, 4,8,12-tetradecatrienyl, and the like, and which may be optionally substituted with 1 to 4 substituents, namely, halogen, haloalkyl, alkyl, alkoxy, alkenyl, alkynyl, aryl, arylalkyl, cycloalkyl, amino, hydroxy, heteroaryl, cycloheteroalkyl, alkanoylamino, alkylamido, arylcarbonyl-amino, nitro, cyano, thiol, alkylthio and/or any of the alkyl substituents set out herein.

Unless otherwise indicated, the term "lower alkynyl" or "alkynyl" as used herein by itself or as part of another group refers to straight or branched chain

0188555.03000

radicals of 2 to 20 carbons, preferably 2 to 12 carbons and more preferably 2 to 8 carbons in the normal chain, which include one triple bond in the normal chain, such as 2-propynyl, 3-butynyl, 2-butynyl, 4-pentynyl, 3-pentynyl, 2-hexynyl, 3-hexynyl, 2-heptynyl, 3-heptynyl, 4-heptynyl, 3-octynyl, 3-nonynyl, 4-decynyl,3-undecynyl, 4-dodecynyl and the like, and which may be optionally substituted with 1 to 4 substituents, namely, halogen, haloalkyl, alkyl, alkoxy, alkenyl, alkynyl, aryl, arylalkyl, cycloalkyl, amino, heteroaryl, cycloheteroalkyl, hydroxy, alkanoylamino, alkylamido, arylcarbonylamino, nitro, cyano, thiol, and/or alkylthio, and/or any of the alkyl substituents set out herein.

The terms "arylalkenyl" and "arylalkynyl" as used alone or as part of another group refer to alkenyl and alkynyl groups as described above having an aryl substituent.

Where alkyl groups as defined above have single bonds for attachment to other groups at two different carbon atoms, they are termed "alkylene" groups and may optionally be substituted as defined above for "alkyl".

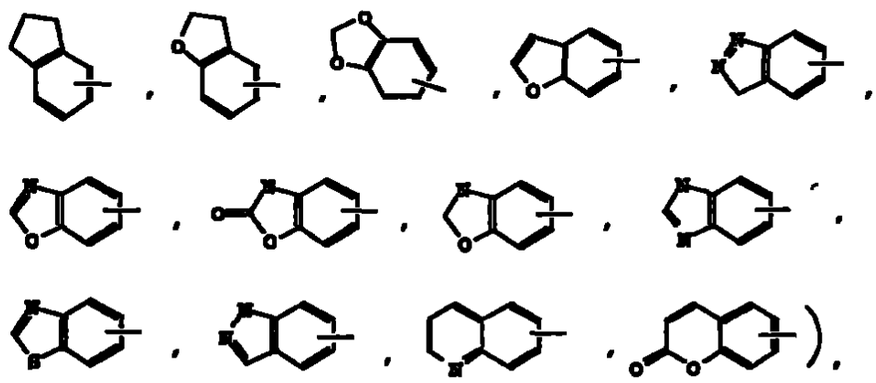
Where alkenyl groups as defined above and alkynyl groups as defined above, respectively, have single bonds for attachment at two different carbon atoms, they are termed "alkenylene groups" and "alkynylene groups", respectively, and may optionally be substituted as defined above for "alkenyl" and "alkynyl".

The term "halogen" or "halo" as used herein alone or as part of another group refers to chlorine, bromine, fluorine, and iodine as well as $CF_3$, with chlorine or fluorine being preferred.

The term "metal ion" refers to alkali metal ions such as sodium, potassium or lithium and alkaline earth metal ions such as magnesium and calcium, as well as zinc and aluminum.

243

Unless otherwise indicated, the term "aryl" as employed herein alone or as part of another group refers to monocyclic and bicyclic aromatic groups containing 6 to 10 carbons in the ring portion (such as phenyl or naphthyl including 1-naphthyl and 2-naphthyl) and may optionally include one to three additional rings fused to a carbocyclic ring or a heterocyclic ring (such as aryl, cycloalkyl, heteroaryl or cycloheteroalkyl rings for example



and may be optionally substituted through available carbon atoms with 1, 2, or 3 groups selected from hydrogen, halo, haloalkyl, alkyl, haloalkyl, alkoxy, haloalkoxy, alkenyl, trifluoromethyl, trifluoromethoxy, alkynyl, cycloalkyl-alkyl, cycloheteroalkyl, cycloheteroalkylalkyl, aryl, heteroaryl, arylalkyl, aryloxy, aryloxyalkyl, arylalkoxy, arylthio, arylazo, heteroarylalkyl, heteroarylalkenyl, heteroarylheteroaryl, heteroaryloxy, hydroxy, nitro, cyano, amino, substituted amino wherein the amino includes 1 or 2 substituents (which are alkyl, aryl or any of the other aryl compounds mentioned in the definitions), thiol, alkylthio, arylthio, heteroarylthio, arylthioalkyl, alkoxyarylthio, alkylcarbonyl, arylcarbonyl, alkyl-aminocarbonyl, arylaminocarbonyl, alkoxycarbonyl, aminocarbonyl, alkylcarbonyloxy, arylcarbonyloxy, alkylcarbonylamino, arylcarbonylamino, arylsulfinyl, arylsulfinylalkyl,

EP0188555.03A000

arylsulfonylamino or arylsulfon-aminocarbonyl and/or any of the alkyl substituents set out herein.

Unless otherwise indicated, the term "lower alkoxy", "alkoxy", "aryloxy" or "aralkoxy" as employed herein alone or as part of another group includes any of the above alkyl, aralkyl or aryl groups linked to an oxygen atom.

Unless otherwise indicated, the term "substituted amino" as employed herein alone or as part of another group refers to amino substituted with one or two substituents, which may be the same or different, such as alkyl, aryl, arylalkyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, cycloheteroalkyl, cycloheteroalkylalkyl, cycloalkyl, cycloalkylalkyl, haloalkyl, hydroxyalkyl, alkoxyalkyl or thioalkyl. These substituents may be further substituted with a carboxylic acid and/or any of the $R^1$ groups or substituents for $R^1$ as set out above. In addition, the amino substituents may be taken together with the nitrogen atom to which they are attached to form 1-pyrrolidinyl, 1-piperidinyl, 1-azepinyl, 4-morpholinyl, 4-thiamorpholinyl, 1-piperazinyl, 4-alkyl-1-piperazinyl, 4-arylalkyl-1-piperazinyl, 4-diarylalkyl-1-piperazinyl, 1-pyrrolidinyl, 1-piperidinyl, or 1-azepinyl, optionally substituted with alkyl, alkoxy, alkylthio, halo, trifluoromethyl or hydroxy.

Unless otherwise indicated, the term "lower alkylthio", alkylthio", "arylthio" or "aralkylthio" as employed herein alone or as part of another group includes any of the above alkyl, aralkyl or aryl groups linked to a sulfur atom.

Unless otherwise indicated, the term "lower alkylamino", "alkylamino", "arylamino", or "arylalkylamino" as employed herein alone or as part of another group includes any of the above alkyl, aryl or arylalkyl groups linked to a nitrogen atom.

Unless otherwise indicated, the term "acyl" as employed herein by itself or part of another group, as

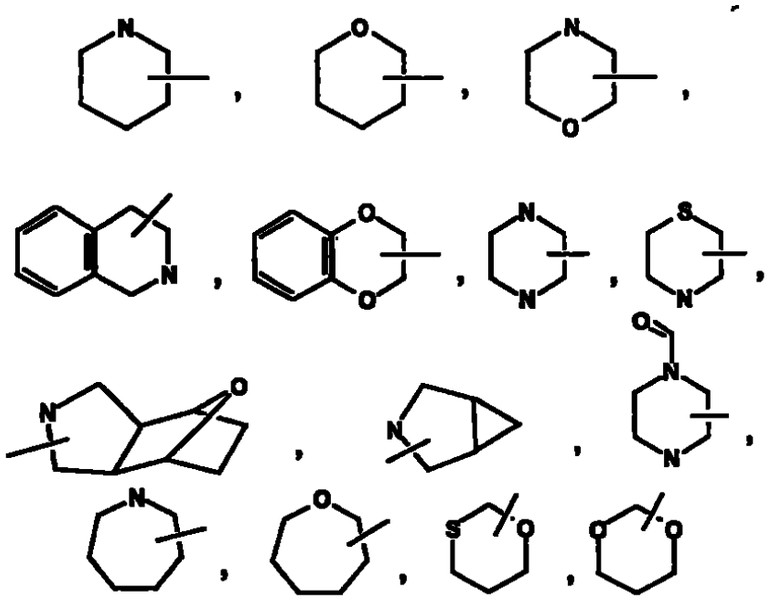


0018855.03000

245

defined herein, refers to an organic radical linked to a carbonyl $\left(\begin{matrix}O\\R\\C\end{matrix}\right)$ group; examples of acyl groups include any of the $R^1$ groups attached to a carbonyl, such as alkanoyl, alkenoyl, aroyl, aralkanoyl, heteroaroyl, cycloalkanoyl, cycloheteroalkanoyl and the like.

Unless otherwise indicated, the term "cycloheteroalkyl" as used herein alone or as part of another group refers to a 5-, 6- or 7-membered saturated or partially unsaturated ring which includes 1 to 2 hetero atoms such as nitrogen, oxygen and/or sulfur, linked through a carbon atom or a heteroatom, where possible, optionally via the linker $(CH_2)_r$ (where r is 1, 2 or 3), such as



and the like. The above groups may include 1 to 4 substituents such as alkyl, halo, oxo and/or any of of the alkyl substituents set out herein. In addition, any of the cycloheteroalkyl rings can be fused to a cycloalkyl, aryl, heteroaryl or cycloheteroalkyl ring.

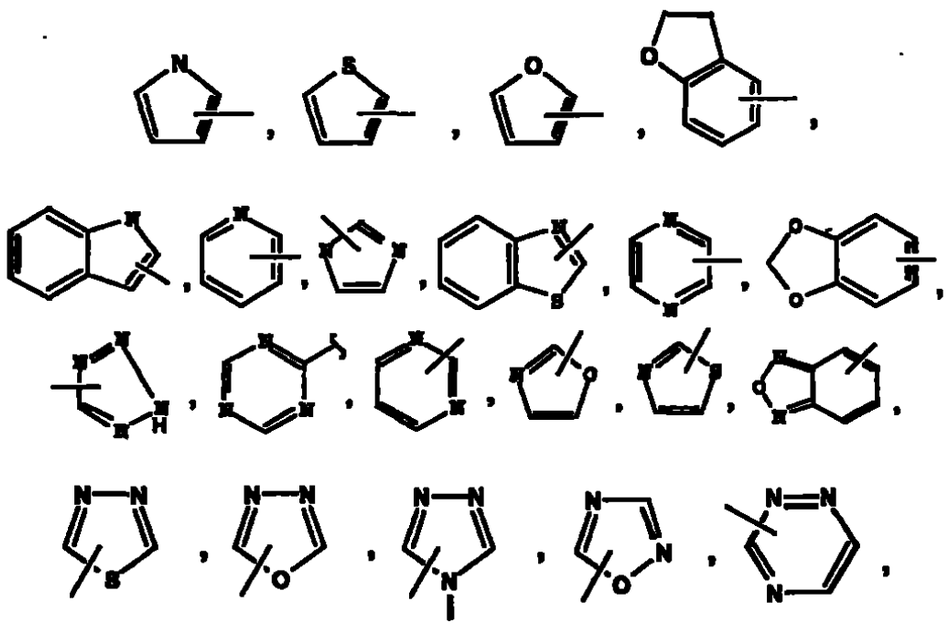
Unless otherwise indicated, the term "heteroaryl" as used herein alone or as part of another group refers to a 5- or 6- membered aromatic ring which includes 1, 2,



01888555.031000

246

3 or 4 hetero atoms such as nitrogen, oxygen or sulfur,and such rings fused to an aryl, cycloalkyl, heteroaryl or cycloheteroalkyl ring (e.g. benzothiophenyl, indolyl), and includes possible N-oxides. The heteroaryl group may optionally include 1 to 4 substituents such as any of the substituents set out above for alkyl. Examples of heteroaryl groups include the following:



and the like.

The term "cycloheteroalkylalkyl" as used herein alone or as part of another gorup refers to cycloheteroalkyl groups as defined above linked through a C atom or heteroatom to a $(CH_2)_r$ chain.

The term "heteroarylalkyl" or "heteroarylalkenyl" as used herein alone or as part of another group refers to a heteroaryl group as defined above linked through a C atom or heteroatom to a $-(CH_2)_r-$ chain, alkylene or alkenylene as defined above.

The term "polyhaloalkyl" as used herein refers to an "alkyl" group as defined above which includes from 2



BOOTED: 55588709

247

to 9, preferably from 2 to 5, halo substituents, such as F or Cl, preferably F, such as $CF_3CH_2$, $CF_3$ or $CF_3CF_2CH_2$.

The term "polyhaloalkoxy" as used herein refers to an "alkoxy" or "alkyloxy" group as defined above which includes from 2 to 9, preferably from 2 to 5, halo substituents, such as F or Cl, preferably F, such as $CF_3CH_2O$, $CF_3O$ or $CF_3CF_2CH_2O$.

All stereoisomers of the compounds of the instant invention are contemplated, either in admixture or in pure or substantially pure form. The compounds of the present invention can have asymmetric centers at any of the carbon atoms including any one or the R substituents. Consequently, compounds of formula I can exist in enantiomeric or diastereomeric forms or in mixtures thereof. The processes for preparation can utilize racemates, enantiomers or diastereomers as starting materials. When diastereomeric or enantiomeric products are prepared, they can be separated by conventional methods for example, chromatographic or fractional crystallization.

Where desired, the compounds of structure I may be used in combination with one or more other types of antidiabetic agents and/or one or more other types of therapeutic agents which may be administered orally in the same dosage form, in a separate oral dosage form or by injection.

The other type of antidiabetic agent which may be optionally employed in combination with the DP4 inhibitor of formula I may be 1,2,3 or more antidiabetic agents or antihyperglycemic agents including insulin secretagogues or insulin sensitizers, or other antidiabetic agents preferably having a mechanism of action different from DP4 inhibition and may include biguanides, sulfonyl ureas, glucosidase inhibitors, PPAR γ agonists, such as thiazolidinediones, SGLT2 inhibitors, PPAR α/γ dual agonists, aP2 inhibitors, and/or meglitinides, as well as insulin, and/or glucagon-like peptide-1 (GLP-1).



SOLBBSS.03100

248

It is believed that the use of the compounds of structure I in combination with 1, 2, 3 or more other antidiabetic agents produces antihyperglycemic results greater than that possible from each of these medicaments alone and greater than the combined additive anti-hyperglycemic effects produced by these medicaments.

The other antidiabetic agent may be an oral antihyperglycemic agent preferably a biguanide such as metformin or phenformin or salts thereof, preferably metformin HCl.

Where the other antidiabetic agent is a biguanide, the compounds of structure I will be employed in a weight ratio to biguanide within the range from about 0.01:1 to about 100:1, preferably from about 0.1:1 to about 5:1.

The other antidiabetic agent may also prefefably be a sulfonyl urea such as glyburide (also known as glibenclamide), glimepiride (disclosed in U.S. Patent No. 4,379,785), glipizide, gliclazide or chlorpropamide, other known sulfonylureas or other antihyperglycemic agents which act on the ATP-dependent channel of the β-cells, with glyburide and glipizide being preferred, which may be administered in the same or in separate oral dosage forms.

The compounds of structure I will be employed in a weight ratio to the sulfonyl urea in the range from about 0.01:1 to about 100:1, preferably from about 0.05:1 to about 5:1.

The oral antidiabetic agent may also be a glucosidase inhibitor such as acarbose (disclosed in U.S. Patent No. 4,904,769) or miglitol (disclosed in U.S. Patent No. 4,639,436), which may be administered in the same or in a separate oral dosage forms.

The compounds of structure I will be employed in a weight ratio to the glucosidase inhibitor within the range from about 0.01:1 to about 100:1, preferably from about 0.2:1 to about 50:1.

0018855.0210D0

The compounds of structure I may be employed in combination with a PPAR γ agonist such as a thiazolidinedione oral anti-diabetic agent or other insulin sensitizers (which has an insulin sensitivity effect in NIDDM patients) such as troglitazone (Warner-Lambert's Rezulin®, disclosed in U.S. Patent No. 4,572,912), rosiglitazone (SKB), pioglitazone (Takeda), Mitsubishi's MCC-555 (disclosed in U.S. Patent No. 5,594,016), Glaxo-Welcome's GL-262570, englitazone (CP-68722, Pfizer) or darglitazone (CP-86325, Pfizer, isaglitazone (MIT/J&J), JTT-501 (JPNT/P&U), L-895645 (Merck), R-119702 (Sankyo/WL), NN-2344 (Dr. Reddy/NN), or YM-440 (Yamanouchi), preferably rosiglitazone and pioglitazone.

The compounds of structure I will be employed in a weight ratio to the thiazolidinedione in an amount within the range from about 0.01:1 to about 100:1, preferably from about 0.1:1 to about 10:1.

The sulfonyl urea and thiazolidinedione in amounts of less than about 150 mg oral antidiabetic agent may be incorporated in a single tablet with the compounds of structure I.

The compounds of structure I may also be employed in combination with a antihyperglycemic agent such as insulin or with glucagon-like peptide-1 (GLP-1) such as GLP-1(1-36) amide, GLP-1(7-36) amide, GLP-1(7-37) (as disclosed in U.S. Patent No. 5,614,492 to Habener, the disclosure of which is incorporated herein by reference), as well as AC2993 (Amylen) and LY-315902 (Lilly), which may be administered via injection, intranasal, or by transdermal or buccal devices.

Where present, metformin, the sulfonyl ureas, such as glyburide, glimepiride, glipyride, glipizide, chlorpropamide and gliclazide and the glucosidase inhibitors acarbose or miglitol or insulin (injectable, pulmonary, buccal, or oral) may be employed in

601885S5.03100D

formulations as described above and in amounts and dosing as indicated in the Physician's Desk Reference (PDR).

Where present, metformin or salt thereof may be employed in amounts within the range from about 500 to about 2000 mg per day which may be administered in single or divided doses one to four times daily.

Where present, the thiazolidinedione anti-diabetic agent may be employed in amounts within the range from about 0.01 to about 2000 mg/day which may be administered in single or divided doses one to four times per day.

Where present insulin may be employed in formulations, amounts and dosing as indicated by the Physician's Desk Reference.

Where present GLP-1 peptides may be administered in oral buccal formulations, by nasal administration or parenterally as described in U.S. Patent Nos. 5,346,701 (TheraTech), 5,614,492 and 5,631,224 which are incorporated herein by reference.

The other antidiabetic agent may also be a PPAR α/γ dual agonist such as AR-H039242 (Astra/Zeneca), GW-409544 (Glaxo-Wellcome), KRP297 (Kyorin Merck) as well as those disclosed by Murakami et al, "A Novel Insulin Sensitizer Acts As a Coligand for Peroxisome Proliferation - Activated Receptor Alpha (PPAR alpha) and PPAR gamma. Effect on PPAR alpha Activation on Abnormal Lipid Metabolism in Liver of Zucker Fatty Rats", Diabetes 47, 1841-1847 (1998), and in U.S. provisional application No. 60/155,400, filed September 22, 1999, (attorney file LA29) the disclosure of which is incorporated herein by reference, employing dosages as set out therein, which compounds designated as preferred are preferred for use herein.

The other antidiabetic agent may be an SGLT2 inhibitor such as disclosed in U.S. provisional application No. 60/158,773, filed October 12, 1999 (attorney file LA49), employing dosages as set out



SUBSTITUTE SHEET (RULE 26)

251

herein. Preferred are the compounds designated as preferred in the above application.

The other antidiabetic agent which may be optionally employed in combination with the DP4 inhibitor of formula I may be an aP2 inhibitor such as disclosed in U.S. application Serial No. 09/391,053, filed September 7, 1999, and U.S. provisional application No. 60/127,745, filed April 5, 1999 (attorney file LA27*), employing dosages as set out herein.

The meglitinide which may optionally be employed in combination with the compound of formula I of the invention may be repaglinide, nateglinide (Novartis) or KAD1229 (PF/Kissei), with repaglinide being preferred.

The DP4 inhibitor of formula I will be employed in a weight ratio to the meglitinide, PPAR γ agonist, PPAR α/γ dual agonist, SGLT2 inhibitor or aP2 inhibitor within the range from about 0.01:1 to about 100:1, preferably from about 0.1:1 to about 10:1.

The hypolipidemic agent or lipid-lowering agent which may be optionally employed in combination with the compounds of formula I of the invention may include 1,2,3 or more MTP inhibitors, HMG CoA reductase inhibitors, squalene synthetase inhibitors, fibric acid derivatives, ACAT inhibitors, lipoxygenase inhibitors, cholesterol absorption inhibitors, ileal $Na^+$/bile acid cotransporter inhibitors, upregulators of LDL receptor activity, bile acid sequestrants, and/or nicotinic acid and derivatives thereof.

MTP inhibitors employed herein include MTP inhibitors disclosed in U.S. Patent No. 5,595,872, U.S. Patent No. 5,739,135, U.S. Patent No. 5,712,279, U.S. Patent No. 5,760,246, U.S. Patent No. 5,827,875, U.S. Patent No. 5,885,983 and U.S. Application Serial No. 09/175,180 filed October 20, 1998, now U.S. Patent No. 5,962,440. Preferred are each of the preferred MTP inhibitors disclosed in each of the above patents and applications.



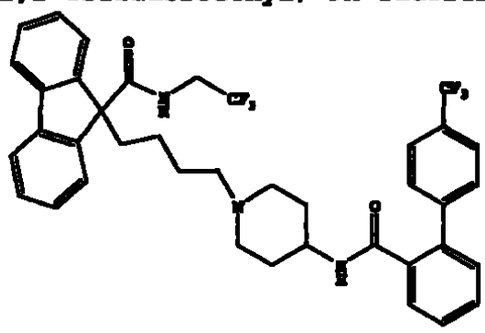
60188555.031000

252

All of the above U.S. Patents and applications are incorporated herein by reference.

Most preferred MTP inhibitors to be employed in accordance with the present invention include preferred MTP inhibitors as set out in U.S. Patent Nos. 5,739,135 and 5,712,279, and U.S. Patent No. 5,760,246.

The most preferred MTP inhibitor is 9-[4-[4-[[2-(2,2,2-Trifluoroethoxy)benzoyl]amino]-1-piperidinyl] butyl]-N-(2,2,2-trifluoroethyl)-9H-fluorene-9-carboxamide



60188555.0100

The hypolipidemic agent may be an HMG CoA reductase inhibitor which includes, but is not limited to, mevastatin and related compounds as disclosed in U.S. Patent No. 3,983,140, lovastatin (mevinolin) and related compounds as disclosed in U.S. Patent No. 4,231,938, pravastatin and related compounds such as disclosed in U.S. Patent No. 4,346,227, simvastatin and related compounds as disclosed in U.S. Patent Nos. 4,448,784 and 4,450,171. Other HMG CoA reductase inhibitors which may be employed herein include, but are not limited to, fluvastatin, disclosed in U.S. Patent No. 5,354,772, cerivastatin disclosed in U.S. Patent Nos. 5,006,530 and 5,177,080, atorvastatin disclosed in U.S. Patent Nos. 4,681,893, 5,273,995, 5,385,929 and 5,686,104, atavastatin (Nissan/Sankyo's nisvastatin (NK-104)) disclosed in U.S. Patent No. 5,011,930, Shionogi-Astra/Zeneca visastatin (ZD-4522) disclosed in U.S. Patent No. 5,260,440, and related statin compounds disclosed in U.S. Patent No. 5,753,675, pyrazole analogs

253

of mevalonolactone derivatives as disclosed in U.S. Patent No. 4,613,610, indene analogs of mevalonolactone derivatives as disclosed in PCT application WO 86/03488, 6-[2-(substituted-pyrrol-1-yl)-alkyl)pyran-2-ones and derivatives thereof as disclosed in U.S. Patent No. 4,647,576, Searle's SC-45355 (a 3-substituted pentanedioic acid derivative) dichloroacetate, imidazole analogs of mevalonolactone as disclosed in PCT application WO 86/07054, 3-carboxy-2-hydroxy-propane-phosphonic acid derivatives as disclosed in French Patent No. 2,596,393, 2,3-disubstituted pyrrole, furan and thiophene derivatives as disclosed in European Patent Application No. 0221025, naphthyl analogs of mevalonolactone as disclosed in U.S. Patent No. 4,686,237, octahydronaphthalenes such as disclosed in U.S. Patent No. 4,499,289, keto analogs of mevinolin (lovastatin) as disclosed in European Patent Application No.0,142,146 A2, and quinoline and pyridine derivatives disclosed in U.S. Patent No. 5,506,219 and 5,691,322.

In addition, phosphinic acid compounds useful in inhibiting HMG CoA reductase suitable for use herein are disclosed in GB 2205837.

The squalene synthetase inhibitors suitable for use herein include, but are not limited to, α-phosphono-sulfonates disclosed in U.S. Patent No. 5,712,396, those disclosed by Biller et al, J. Med. Chem., 1988, Vol. 31, No. 10, pp 1869-1871, including isoprenoid (phosphinyl-methyl)phosphonates as well as other known squalene synthetase inhibitors, for example, as disclosed in U.S. Patent No. 4,871,721 and 4,924,024 and in Biller, S.A., Neuenschwander, K., Ponpipom, M.M., and Poulter, C.D., Current Pharmaceutical Design, 2, 1-40 (1996).

In addition, other squalene synthetase inhibitors suitable for use herein include the terpenoid pyrophosphates disclosed by P. Ortiz de Montellano et al, J. Med. Chem., 1977, 20, 243-249, the farnesyl diphosphate analog A and presqualene pyrophosphate (PSQ-



0188555.031000

254

PP) analogs as disclosed by Corey and Volante, J. Am. Chem. Soc., 1976, 98, 1291-1293, phosphinylphosphonates reported by McClard, R.W. et al, J.A.C.S., 1987, 109, 5544 and cyclopropanes reported by Capson, T.L., PhD dissertation, June, 1987, Dept. Med. Chem. U of Utah, Abstract, Table of Contents, pp 16, 17, 40-43, 48-51, Summary.

Other hypolipidemic agents suitable for use herein include, but are not limited to, fibric acid derivatives, such as fenofibrate, gemfibrozil, clofibrate, bezafibrate, ciprofibrate, clinofibrate and the like, probucol, and related compounds as disclosed in U.S. Patent No. 3,674,836, probucol and gemfibrozil being preferred, bile acid sequestrants such as cholestyramine, colestipol and DEAE-Sephadex (Secholex®, Policexide®), as well as lipostabil (Rhone-Poulenc), Eisai E-5050 (an N-substituted ethanolamine derivative), imanixil (HOE-402), tetrahydrolipstatin (THL), istigmastanylphosphorylcholine (SPC, Roche), aminocyclodextrin (Tanabe Seiyoku), Ajinomoto AJ-814 (azulene derivative), melinamide (Sumitomo), Sandoz 58-035, American Cyanamid CL-277,082 and CL-283,546 (disubstituted urea derivatives), nicotinic acid, acipimox, acifran, neomycin, p-aminosalicylic acid, aspirin, poly(diallylmethylamine) derivatives such as disclosed in U.S. Patent No. 4,759,923, quaternary amine poly(diallyldimethylammonium chloride) and ionenes such as disclosed in U.S. Patent No. 4,027,009, and other known serum cholesterol lowering agents.

The other hypolipidemic agent may be an ACAT inhibitor such as disclosed in, Drugs of the Future 24, 9-15 (1999), (Avasimibe); "The ACAT inhibitor, Cl-1011 is effective in the prevention and regression of aortic fatty streak area in hamsters", Nicolosi et al, Atherosclerosis (Shannon, Irel). (1998), 137(1), 77-85; "The pharmacological profile of FCE 27677: a novel ACAT inhibitor with potent hypolipidemic activity mediated by



0188555 03000

255

02188555.031000

selective suppression of the hepatic secretion of ApoB100-containing lipoprotein", Ghiselli, Giancarlo, Cardiovasc. Drug Rev. (1998), 16(1), 16-30; "RP 73163: a bioavailable alkylsulfinyl-diphenylimidazole ACAT inhibitor", Smith, C., et al, Bioorg. Med. Chem. Lett. (1996), 6(1), 47-50; "ACAT inhibitors: physiologic mechanisms for hypolipidemic and anti-atherosclerotic activities in experimental animals", Krause et al, Editor(s): Ruffolo, Robert R., Jr.; Hollinger, Mannfred A., Inflammation: Mediators Pathways (1995), 173-98, Publisher: CRC, Boca Raton, Fla.; "ACAT inhibitors: potential anti-atherosclerotic agents", Sliskovic et al, Curr. Med. Chem. (1994), 1(3), 204-25; "Inhibitors of acyl-CoA:cholesterol O-acyl transferase (ACAT) as hypocholesterolemic agents. 6. The first water-soluble ACAT inhibitor with lipid-regulating activity. Inhibitors of acyl-CoA:cholesterol acyltransferase (ACAT). 7. Development of a series of substituted N-phenyl-N'-[(1-phenylcyclopentyl)methyl]ureas with enhanced hypocholesterolemic activity", Stout et al, Chemtracts: Org. Chem. (1995), 8(6), 359-62, or TS-962 (Taisho Pharmaceutical Co. Ltd).

The hypolipidemic agent may be an upregulator of LD2 receptor activity such as MD-700 (Taisho Pharmaceutical Co. Ltd) and LY295427 (Eli Lilly).

The hypolipidemic agent may be a cholesterol absorption inhibitor preferably Schering-Plough's SCH48461 as well as those disclosed in Atherosclerosis 115, 45-63 (1995) and J. Med. Chem. 41, 973 (1998).

The hypolipidemic agent may be an ileal $Na^+$/bile acid cotransporter inhibitor such as disclosed in Drugs of the Future, 24, 425-430 (1999).

Preferred hypolipidemic agents are pravastatin, lovastatin, simvastatin, atorvastatin, fluvastatin, cerivastatin, atavastatin and ZD-4522.

The above-mentioned U.S. patents are incorporated herein by reference. The amounts and dosages employed

256

will be as indicated in the Physician's Desk Reference and/or in the patents set out above.

The compounds of formula I of the invention will be employed in a weight ratio to the hypolipidemic agent (were present), within the range from about 500:1 to about 1:500, preferably from about 100:1 to about 1:100.

The dose administered must be carefully adjusted according to age, weight and condition of the patient, as well as the route of administration, dosage form and regimen and the desired result.

The dosages and formulations for the hypolipidemic agent will be as disclosed in the various patents and applications discussed above.

The dosages and formulations for the other hypolipidemic agent to be employed, where applicable, will be as set out in the latest edition of the Physicians' Desk Reference.

For oral administration, a satisfactory result may be obtained employing the MTP inhibitor in an amount within the range of from about 0.01 mg/kg to about 500 mg and preferably from about 0.1 mg to about 100 mg, one to four times daily.

A preferred oral dosage form, such as tablets or capsules, will contain the MTP inhibitor in an amount of from about 1 to about 500 mg, preferably from about 2 to about 400 mg, and more preferably from about 5 to about 250 mg, one to four times daily.

For oral administration, a satisfactory result may be obtained employing an HMG CoA reductase inhibitor, for example, pravastatin, lovastatin, simvastatin, atorvastatin, fluvastatin or cerivastatin in dosages employed as indicated in the Physician's Desk Reference, such as in an amount within the range of from about 1 to 2000 mg, and preferably from about 4 to about 200 mg.

The squalene synthetase inhibitor may be employed in dosages in an amount within the range of from about 10

0188555.0100

mg to about 2000 mg and preferably from about 25 mg to about 200 mg.

A preferred oral dosage form, such as tablets or capsules, will contain the HMG CoA reductase inhibitor in an amount from about 0.1 to about 100 mg, preferably from about 5 to about 80 mg, and more preferably from about 10 to about 40 mg.

A preferred oral dosage form, such as tablets or capsules will contain the squalene synthetase inhibitor in an amount of from about 10 to about 500 mg, preferably from about 25 to about 200 mg.

The other hypolipidemic agent may also be a lipoxygenase inhibitor including a 15-lipoxygenase (15-LO) inhibitor such as benzimidazole derivatives as disclosed in WO 97/12615, 15-LO inhibitors as disclosed in WO 97/12613, isothiazolones as disclosed in WO 96/38144, and 15-LO inhibitors as disclosed by Sendobry et al "Attenuation of diet-induced atherosclerosis in rabbits with a highly selective 15-lipoxygenase inhibitor lacking significant antioxidant properties, Brit. J. Pharmacology (1997) 120, 1199-1206, and Cornicelli et al, "15-Lipoxygenase and its Inhibition: A Novel Therapeutic Target for Vascular Disease", Current Pharmaceutical Design, 1999, 5, 11-20.

The compounds of formula I and the hypolipidemic agent may be employed together in the same oral dosage form or in separate oral dosage forms taken at the same time.

The compositions described above may be administered in the dosage forms as described above in single or divided doses of one to four times daily. It may be advisable to start a patient on a low dose combination and work up gradually to a high dose combination.

The preferred hypolipidemic agent is pravastatin, simvastatin, lovastatin, atorvastatin, fluvastatin or cerivastatin.



001885555.030000

258

The other type of therapeutic agent which may be optionally employed with the DP4 inhibitor of formula I may be 1, 2, 3 or more of an anti-obesity agent including a beta 3 adrenergic agonist, a lipase inhibitor, a serotonin (and dopamine) reuptake inhibitor, a thyroid receptor beta drug and/or an anorectic agent.

The beta 3 adrenergic agonist which may be optionally employed in combination with a compound of formula I may be AJ9677 (Takeda/Dainippon), L750355 (Merck), or CP331648 (Pfizer) or other known beta 3 agonists as disclosed in U.S. Patent Nos. 5,541,204, 5,770,615, 5,491,134, 5,776,983 and 5,488,064, with AJ9677, L750,355 and CP331648 being preferred.

The lipase inhibitor which may be optionally employed in combination with a compound of formula I may be orlistat or ATL-962 (Alizyme), with orlistat being preferred.

The serotonin (and dopoamine) reuptake inhibitor which may be optionally employed in combination with a compound of formula I may be sibutramine, topiramate (Johnson & Johnson) or axokine (Regeneron), with sibutramine and topiramate being preferred.

The thyroid receptor beta compound which may be optionally employed in combination with a compound of formula I may be a thyroid receptor ligand as disclosed in WO97/21993 (U. Cal SF), WO99/00353 (KaroBio) and GB98/284425 (KaroBio), with compounds of the KaroBio applications being preferred.

The anorectic agent which may be optionally employed in combination with a compound of formula I may be dexamphetamine, phentermine, phenylpropanolamine or mazindol, with dexamphetamine being preferred.

The various anti-obesity agents described above may be employed in the same dosage form with the compound of formula I or in different dosage forms, in dosages and regimens as generally known in the art or in the PDR.

01885S5.03100D

259

In carrying our the method of the invention, a pharmaceutical composition will be employed containing the compounds of structure I, with or without another antidiabetic agent and/or other type therapeutic agent, in association with a pharmaceutical vehicle or diluent. The pharmaceutical composition can be formulated employing conventional solid or liquid vehicles or diluents and pharmaceutical additives of a type appropriate to the mode of desired administration. The compounds can be administered to mammalian species including humans, monkeys, dogs, etc. by an oral route, for example, in the form of tablets, capsules, granules or powders, or they can be administered by a parenteral route in the form of injectable preparations. The dose for adults is preferably between 10 and 1,000 mg pér day, which can be administered in a single dose or in the form of individual doses from 1-4 times per day.

A typical capsule for oral administration contains compounds of structure I (250 mg), lactose (75 mg) and magnesium stearate (15 mg). The mixture is passed through a 60 mesh sieve and packed into a No. 1 gelatin capsule.

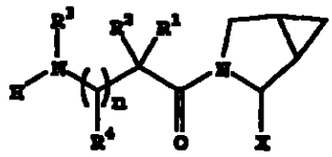
A typical injectable preparation is produced by aseptically placing 250 mg of compounds of structure I into a vial, aseptically freeze-drying and sealing. For use, the contents of the vial are mixed with 2 mL of physiological saline, to produce an injectable preparation.

DP4 inhibitor activity of the compounds of the invention may be determined by use of an <u>in vitro</u> assay system which measures the potentiation of inhibition of DP4. Inhibition constants (Ki values) for the DP4 inhibitors of the invention may be determined by the method described below.

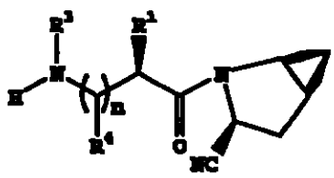
0188555.031000

260 Z

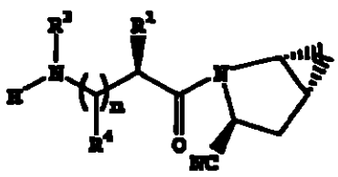
3. The compound as defined in Claim 1 having the structure



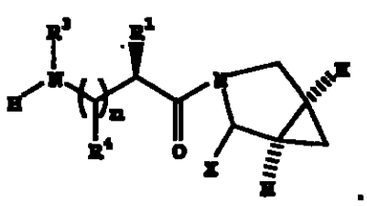
4. The compound as defined in Claim 1 having the structure



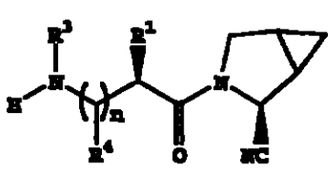
5. The compound as defined in Claim 1 having the structure



6. The compound as defined in Claim 1 having the structure



7. The compound as defined in Claim 1 having the structure

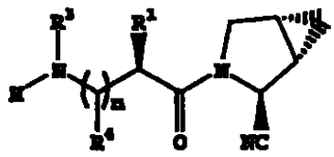




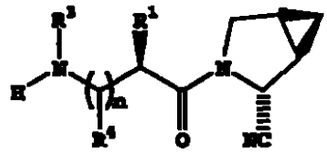
0188555 310 0

261

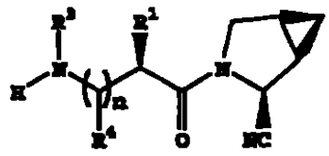
8. The compound as defined in Claim 1 having the structure



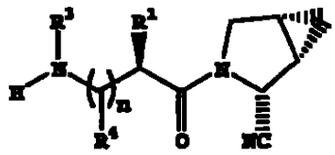
or



9. The compound as defined in Claim 1 having the structure



or



10. The compound as defined in Claim 1 wherein $R^3$ is H, $R^1$ is H or alkyl, $R^2$ is H or alkyl, n is 0, X is CN, x is 0 or 1 and y is 0 or 1.

11. The compound as defined in Claim 1 wherein X is CN and has the configuration  or .



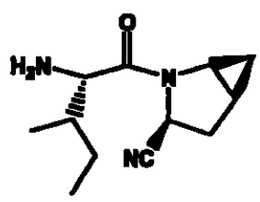
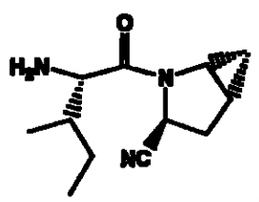
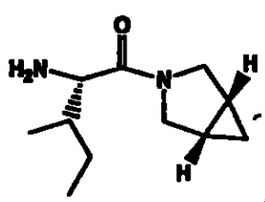
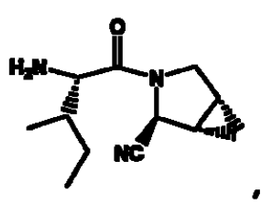
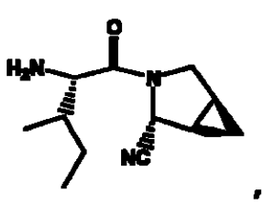
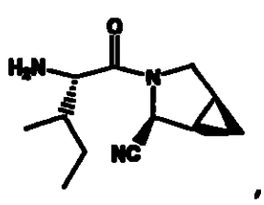
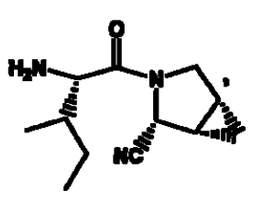
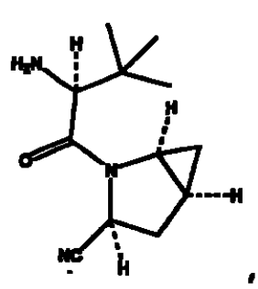
0188555.0310DD

262

12. The compound as defined in Claim 1 wherein the cyclopropyl fused to the pyrrolidine has the configuration

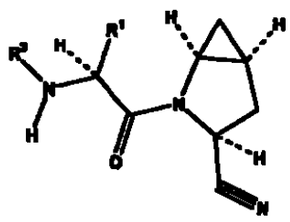


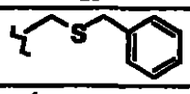
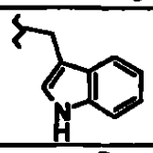
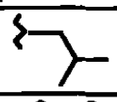
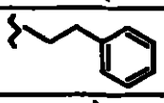
13. The compound as defined in Claim 1 having the structure

60188555.03100

263



| $R^1$ | $R^3$ |
|---|---|
|  | H |
|  | H |
|  | H |
|  | H |
|  | H |
|  | Me |
|  | H |
|  | H |
|  | H |
| $-CH_2CH_2CH_2-$ | |

or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

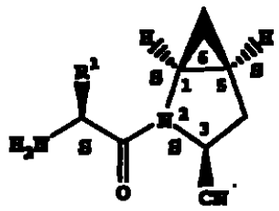
14. The compound as defined in Claim 13 wherein the pharmaceutically acceptable salt is the hydrochloride salt.



0018855.031000

2694

15. The compound as defined in Claim 1 which is

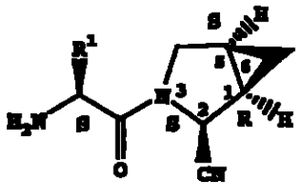


A

(1S,2(2S),3S,5S)

wherein $R^1$ is alkyl, cycloalkyl or bicycloalkyl,

or



B

(1R,2S,3(2S),5S)

wherein $R^1$ is alkyl, cycloalkyl or bicycloalkyl.

16. A pharmaceutical composition comprising a compound as defined in Claim 1 and a pharmaceutically acceptable carrier therefor.

17. A pharmaceutical combination comprising a DP4 inhibitor compound as defined in Claim 1 and an antidiabetic agent other than a DP4 inhibitor, an anti-obesity agent and/or a lipid-lowering agent.

18. The pharmaceutical combination as defined in Claim 17 comprising said DP4 inhibitor compound and an antidiabetic agent.

19. The combination as defined in Claim 18 wherein the antidiabetic agent is 1, 2, 3 or more of a biguanide, a sulfonyl urea, a glucosidase inhibitor, a PPAR γ agonist, a PPAR α/γ dual agonist, an SGLT2 inhibitor, an aP2 inhibitor, an insulin sensitizer, a glucagon-like peptide-1 (GLP-1), insulin and/or a meglitinide.



60188555.3 21000

265

20. The combination as defined in Claim 19 wherein the antidiabetic agent is 1, 2, 3 or more of metformin, glyburide, glimepiride, glipyride, glipizide, chlorpropamide, gliclazide, acarbose, miglitol, pioglitazone, troglitazone, rosiglitazone, insulin, Gl-262570, isaglitazone, JTT-501, MN-2344, L895645, YM-440, R-119702, AJ9677, repaglinide, nateglinide, KAD1129, AR-HO39242, GW-409544, KRP297, AC2993, LY315902, and/or NVP-DPP-728A.

21. The combination as defined in Claim 18 wherein the compound is present in a weight ratio to the antidiabetic agent within the range from about 0.01 to about 100:1.

22. The combination as defined in Claim 17 wherein the anti-obesity agent is a beta 3 adrenergic agonist, a lipase inhibitor, a serotonin (and dopamine) reuptake inhibitor, a thyroid receptor beta compound, and/or an anorectic agent.

23. The combination as defined in Claim 22 wherein the anti-obesity agent is orlistat, ATL-962, AJ9677, L750355, CP331648, sibutramine, topiramate, axokine, dexamphetamine, phentermine, phenylpropanolamine, and/or mazindol.

24. The combination as defined in Claim 17 wherein the lipid lowering agent is an MTP inhibitor, an HMG CoA reductase inhibitor, a squalene synthetase inhibitor, a fibric acid derivative, an upregulator of LDL receptor activity, a lipoxygenase inhibitor, or an ACAT inhibitor.

25. The combination as defined in Claim 24 wherein the lipid lowering agent is pravastatin, lovastatin, simvastatin, atorvastatin, cerivastatin, fluvastatin,



0 0150 • 55588109

266

nisvastatin, visastatin, fenofibrate, gemfibrozil, clofibrate, avasimibe, TS-962, MD-700, and/or LY295427.

26. The combination as defined in Claim 24 wherein the DP4 inhibitor is present in a weight ratio to the lipid-lowering agent within the range from about 0.01 to about 100:1.

27. A method for treating diabetes, insulin resistance, hyperglycemia, hyperinsulinemia, or elevated blood levels of free fatty acids or glycerol, obesity, Syndrome X, diabetic complications, hypertriglyceridemia or atherosclerosis, or an immunomodulatory disease or a chronic inflammatory bowel disease, which comprises administering to a mammalian species in need of treatment a therapeutically effective amount of a compound as defined in Claim 1.

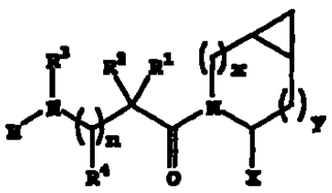
501885S5.03100D

267

# CYCLOPROPYL-FUSED PYRROLIDINE-BASED INHIBITORS OF DIPEPTIDYL PEPTIDASE IV AND METHOD


## Abstract of the Disclosure

Dipeptidyl peptidase IV (DP 4) inhibiting compounds are provided having the formula



where x is 0 or 1 and y is 0 or 1 (provided that x = 1 when y = 0 and x = 0 when y = 1); n is 0 or 1; X is H or CN; and wherein $R^1$, $R^2$, $R^3$ and $R^4$ are as described herein.

A method is also provided for treating diabetes and related diseases, especially Type II diabetes, employing such DP 4 inhibitor or a combination of such DP 4 inhibitor and one or more of another antidiabetic agent such as metformin, glyburide, troglitazone, pioglitazone, rosiglitazone and/or insulin and/or one or more of a hypolipidemic agent and/or anti-obesity agent.


60/18 555,031000

268

# POWER OF ATTORNEY
# FOR PROVISIONAL APPLICATION

Attorney's Docket Number LA50(PSP)
Jeffrey A. Robl, named inventor(s) of the provisional application for United States Patent for CYCLOPROPYL-FUSED PYRROLIDINE-BASED INHIBITORS OF DIPEPTIDYL PEPTIDASE IV AND METHOD

☒ a copy of which is attached hereto

☐ having Application No. _____ filed _____, 2000

do(es) hereby appoint Burton Rodney, Reg. No. 22,076, Stephen B. Davis, Reg. No. 26,693, Suzanne E. Babajko, Reg. No. 32,880, Joan E. Switzer, Reg. No. 34,740, Ronald S. Hermenau, Reg. No. 34,620, John M. Kilcoyne Reg. No. 33,100, and Timothy J. Babcock, Reg. No. 39,097, Post Office Box 4000, Princeton, New Jersey, 08543-4000; all of Bristol-Myers Squibb Company, my agents and/or attorneys to prosecute this application and to transact all business in the Patent and Trademark Office connected herewith.

Please send correspondence to:

Burton Rodney
Bristol-Myers Squibb Company
P.O. Box 4000
Princeton, N.J. 08543-4000

Direct telephone calls to: (609) 252-4336

Date: March 10, 2000

Jeffrey A. Robl
Type or print inventor's name

Inventor's signature

7 Tulip Drive
Post Office address
Newtown, PA 18940

☐ Added page(s) for signature(s) by additional named inventors.

60188555.031000

269

**Purification of Porcine Dipeptidyl Peptidase IV**

Porcine enzyme was purified as previously described (1), with several modifications. Kidneys from 15-20 animals were obtained, and the cortex was dissected away and frozen at -80°C. Frozen tissue (2000 -2500 g) was homogenized in 12 L of 0.25 M sucrose in a Waring blender. The homogenate then was left at 37°C for 18 hours to facilitate cleavage of DP-4 from cell membranes. After the cleavage step, the homogenate was clarified by centrifugation at 7000 X g for 20 minutes at 4°C, and the supernatant was collected. Solid ammonium sulfate was added to 60% saturation, and the precipitate was collected by centrifugation at 10,000 X g and was discarded. Additional ammonium sulfate was added to the supernatant to 80% saturation, and the 80% pellet was collected and dissolved in 20 mM $Na_2HPO4$, pH 7.4.

After dialysis against 20 mM $Na_2HPO4$, pH 7.4, the preparation was clarified by centrifugation at 10,000 X g. The clarified preparation then was applied to 300 ml of ConA Sepharose that had been equilibrated in the same buffer. After washing with buffer to a constant $A_{280}$, the column was eluted with 5% (wt/vol) methyl α-D-mannopyranoside. Active fractions were pooled, concentrated, and dialyzed against 5 mM sodium acetate, pH 5.0. Dialyzed material then was flowed through a 100 ml Pharmacia Resource S column equilibrated in the same buffer. The flow through material was collected and contained most of the enzyme activity. Active material again was concentrated and dialyzed into 20 mM $Na_2HPO4$, pH 7.4. Lastly, the concentrated enzyme was chromatographed on a Pharmacia S-200 gel filtration column to removed low molecular weight contaminants. Purity of column fractions was analyzed by reducing SDS-PAGE, and the purest fractions were pooled and concentrated. Purified enzyme was stored in 20% glycerol at -80°C.

0188555 31000

270

**Assay of Porcine Dipeptidyl Peptidase IV**

Enzyme was assayed under steady-state conditions as previously described (2) with gly-pro-p-nitroanilide as substrate, with the following modifications. Reactions contained, in a final volume of 100 µl, 100 mM Aces, 52 mM TRIS, 52 mM ethanolamine, 500 µM gly-pro-p-nitroanilide, 0.2 % DMSO, and 4.5 nM enzyme at 25°C, pH 7.4. For single assays at 10 µM test compound, buffer, compound, and enzyme were added to wells of a 96 well microtiter plate, and were incubated at room temperature for 5 minutes. Reactions were started by addition of substrate. The continuous production of p-nitroaniline was measured at 405 nM for 15 minutes using a Molecular Devices Tmax plate reader, with a read every 9 seconds. The linear rate of p-nitroaniline production was obtained over the linear portion of each progress curve. A standard curve for p-nitroaniline absorbance was obtained at the beginning of each experiment, and enzyme catalyzed p-nitroaniline production was quantitated from the standard curve. Compounds giving greater than 50% inhibition were selected for further analysis.

For analysis of positive compounds, steady-state kinetic inhibition constants were determined as a function of both substrate and inhibitor concentration. Substrate saturation curves were obtained at gly-pro-p-nitroanilide concentrations from 60 µM to 3600 µM. Additional saturation curves also were obtained in the presence of inhibitor. Complete inhibition experiments contained 11 substrate and 7 inhibitor concentrations, with triplicate determinations across plates. For tight binding inhibitors with $K_i$s less than 20 nM, the enzyme concentration was reduced to 0.5 nM and reaction times were increased to 120 minutes. Pooled datasets from the three plates were fitted to the appropriate equation for either competitive, noncompetitive or uncompetitive inhibition.

0018855.03000

(1) Rahfeld, J. Schutkowski, M., Faust, J., Neubert., Barth, A., and Heins, J. (1991) Biol. Chem. Hoppe-Seyler, 372, 313-318

(2) Nagatsu, T., Hino, M., Fuyamada, H., Hayakawa, T., Sakakibara, S., Nakagawa, Y., and Takemoto, T. (1976) Anal. Biochem., 74, 466-476

The following abbreviations are employed in the Examples and elsewhere herein:

Ph = phenyl
Bn = benzyl
i-Bu = iso-butyl
Me = methyl
Et ethyl
TMS = trimethylsilyl
FMOC = fluorenylmethoxycarbonyl
Boc = tert-butoxycarbonyl
Cbz = carbobenzyloxy or carbobenzoxy or benzyloxycarbonyl
HOAc or AcOH = acetic acid
TFA = trifluoroacetic acid
$Et_2NH$ = diethylamine
NMM = N-methyl morpholine
n-BuLi = n-butyllithium
Pd/C = palladium on carbon
$PtO_2$ = platinum oxide
TEA = triethylamine
EDAC = 3-ethyl-3'-(dimethylamino)propyl-carbodiimide hydrochloride (or 1-[(3-(dimethyl)amino)propyl])-3-ethylcarbodiimide hydrochloride)
HOBT or HOBT.$H_2O$ = 1-hydroxybenzotriazole hydrate
HOAT = 1-hydroxy-7-azabenzotriazole
PyBOP reagent = benzotriazol-1-yloxy-tripyrrolidino phosphonium hexafluorophosphate
min = minute(s)
h or hr = hour(s)



WO 93/18055 PCT/US93/01888

272

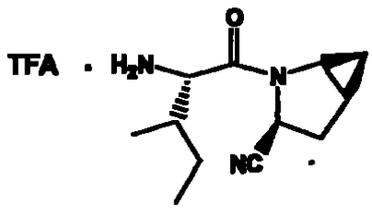
L = liter
mL = milliliter
µL = microliter
g = gram(s)
mg = milligram(s)
mol = moles
mmol = millimole(s)
meq = milliequivalent
RT = room temperature
sat or sat'd = saturated
aq. = aqueous
TLC = thin layer chromatography
HPLC = high performance liquid chromatography
LC/MS = high performance liquid chromatography/mass spectrometry
MS or Mass Spec = mass spectrometry
NMR = nuclear magnetic resonance
mp = melting point

The following Examples represent preferred embodiments of the invention.

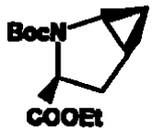
0 188555.0310 6

273

Example 1

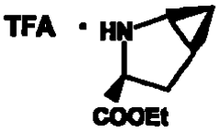



A.




The Part A title compound was prepared by following the literature procedure. [Stephen Hanessian, Ulrich Reinhold, Michel Saulnier, and Stephen Claridge; Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 8 (1998) 2123-2128.]

B.

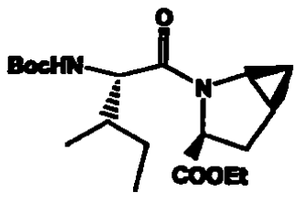



To a stirred solution of Part A compound (411 mg, 1.61 mmol) in $CH_2Cl_2$ (1.5 mL) at room temperature was added trifluoroacetic acid (1.5 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h and evaporated. The residue was diluted with $CH_2Cl_2$ and then evaporated and re-evaporated three times to give the title compound as a colorless oil, 433 mg, 100% yield.

WO 00/18555 PCT/US99/21810

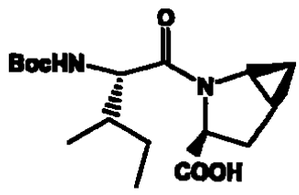
274

C.




To a stirred solution of (S)-N-tert-butoxycarbonyl-isoleucine (372.6 mg, 1.61 mmol) and benzotriazol-1-yloxytripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate (1.25 g, 2.42 mmol) in $CH_2Cl_2$ (6 mL) under nitrogen at room temperature was added 4-methylmorpholine (NMM) (0.36 mL, 3.2 mmol). After 5 minutes, a solution of Part B compound (433 mg, 1.61 mmol) and NMM (0.27 mL, 2.4 mmol) in $CH_2Cl_2$ (1 mL) was added. After addition, the reaction mixture was stirred under nitrogen at room temperature overnight. The reaction mixture was diluted with $CH_2Cl_2$ (40 mL) and washed with 4 % $KHSO_4$ (10 mL), aqueous $NaHCO_3$ (10 mL) and brine (10 mL), dried ($Na_2SO4$) and evaporated. Purification by flash chromatography (1:4 EtOAc/hexane) gave the title compound as a colorless oil, 530 mg, 89% yield.

D.



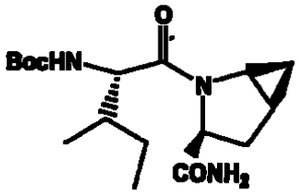

To a stirred solution of Part C compound (530 mg, 1.44 mmol) in MeOH (4 mL) and $H_2O$ (4 mL) at room temperature was added $LiOH \cdot H_2O$ (91mg, 2.16 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature overnight and evaporated. Water (10 mL) was added to the residue and extracted with $Et_2O$ (2 x 10 mL). The aqueous layer was acidified to ~pH 4 by adding 4 % $KHSO_4$ dropwise. The milky solution was extracted with EtOAc



0018855.0100

(15 mL x 3). Combined EtOAc layers were washed with brine, dried over $Na_2SO_4$ and evaporated to give the title compound as a white solid. 440 mg, 90% yield.

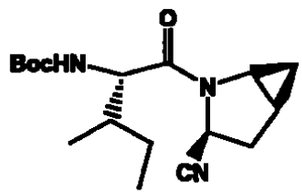
E.




---

To a stirred solution of Part D compound (300 mg, 0.88 mmol) in THF (6 mL) at -15°C under nitrogen, was added 4-methylmorpholine (0.12 mL, 1.06 mmol) and then isobutyl chloroformate (0.13 mL, 0.97 mmol) over 2 minutes. White precipitate was formed. The reaction mixture was stirred at -15°C under nitrogen for 25 minutes and a solution of $NH_3$ in dioxane ( 8.8 mL, 4.4 mmol) was added. The reaction mixture was stirred at -15°C for 30 minutes, warmed to room temperature and stirred at room temperature overnight. The reaction mixture was quenched by 4 % $KHSO_4$ to ~pH 4 and extracted with EtOAc (20 mL x 3). The extracts were combined, washed with brine (10 mL) dried ($Na_2SO_4$) and evaporated. Purification by flash chromatography (1:1 EtOAc/hexane) gave the title compound as a white foam, 268 mg, 90% yield.

F.




---

To a stirred solution of Part E compound (248 mg, 1.38 mmol) and imidazole (94 mg, 1.38 mmol) in dry pyridine (12 mL) at -35°C under nitrogen was added $POCl_3$

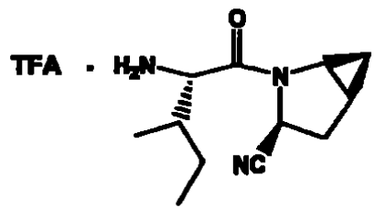


WO 00/31063 PCT/US99/25855

276

(0.26 mL, 2.76 mmol) dropwise. The reaction mixture was stirred between -35°C to -20°C for 1 h and evaporated. $CH_2Cl_2$ (10 mL) was added and white precipitates were formed. After filtration, the filtrate was concentrated and purified by flash chromatography (2:5 EtOAc/hexane) to give the title compound as a colorless oil, 196 mg, 88% yield.

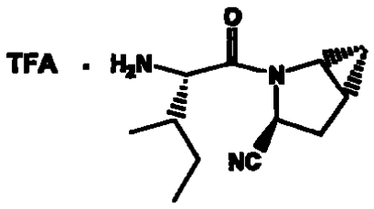
G.



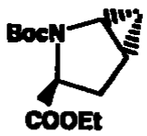

To a stirred solution of Part F compound (130 mg, 0.4 mmol) in $CH_2Cl_2$ (2 mL) at room temperature was added trifluoroacetic acid (2 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h. The reaction mixture was added slowly to a precooled slurry of $NaHCO_3$ (3.8 g) in $H_2O$ (3 mL). The mixture was extracted with $CH_2Cl_2$ (6 mL x 5), and the combined $CH_2Cl_2$ layers were evaporated and purified by preparative HPLC to give the title compound as a white powder, 77 mg. 57% yield, m.p. = 141-143°C. LC/MS gave the correct molecular ion [$(M+H)^+$ = 222] for the desired compound.

01 8555.03000

Example 2



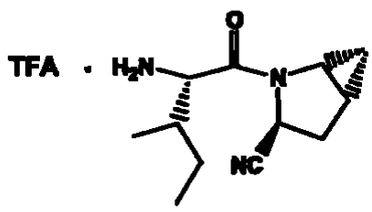
A.




---

Part A title compound was synthesized by following the literature procedure. [Stephen Hanessian, Ulrich Reinhold, Michel Saulnier, and Stephen Claridge; Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 8 (1998) 2123-2128.]

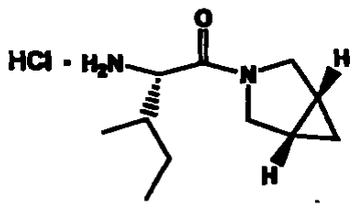
B.




---

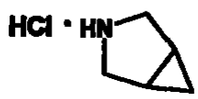
The title compound was prepared from Part A compound, employing the same procedure as that described for Example 1 compounds Parts B-G. LC/MS gave the correct molecular ion [$(M+H)^+$ = 222] for the desired compound.

## Example 3




---

A.

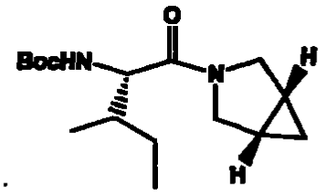



---

Part A title compound was prepared by following the literature procedure. [Willy D. Kollmeyer, U.S. Patent 4,183,857.]

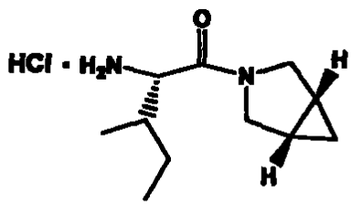
278

B.




To a stirred solution of (S)-N-tert-butoxycarbonyl-isoleucine (231 mg, 1 mmol) and benzotriazol-1-yloxytripyrrolidinophosphonium hexafluorophosphate (780 mg, 1.5 mmol) in $CH_2Cl_2$ (6 mL) under nitrogen at room temperature was added 4-methylmorpholine (0.33 mL, 3 mmol). After 5 minutes, Part A compound (120 mg, 1 mmol) was added in one portion. The reaction mixture was stirred under nitrogen at room temperature overnight and then diluted with $CH_2Cl_2$ (30 mL), washed with 4.1% $KHSO_4$ (10 mL), aqueous $NaHCO_3$ (10 mL), brine (10 mL), dried ($Na_2SO_4$) and evaporated. Purification by flash chromatography on silica gel (2.4 x 20 cm column, 1:3 EtOAc/hexane) gave the title compound as a colorless oil, 290 mg, 90% yield. LC/MS gave the correct molecular ion [$(M+H)^+$ = 297] for the desired compound.

C.



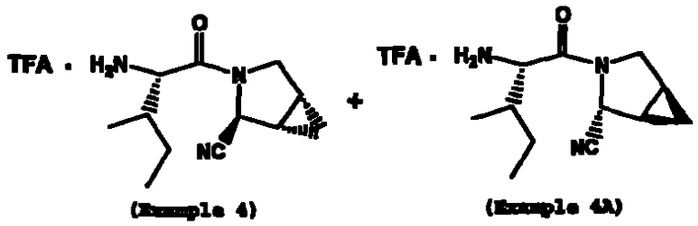

The reaction mixture of Part B compound (220 mg, 0.74 mmol) and 4 M HCl in dioxane (1.5 mL, 6 mmol) was stirred at room temperature for 2 h and evaporated under reduced pressure. $Et_2O$ was added to the residue and a



0018855.03100

precipitate was formed. $Et_2O$ was decanted and this was done three times. The precipitate was dried *in vacuo* to give the title compound as a white powder, 130 mg (76% yield), mp 205-206°C. LC/MS gave the correct molecular ion [$(M+H)^+$ = 197] for the desired compound.

Example 4-4A



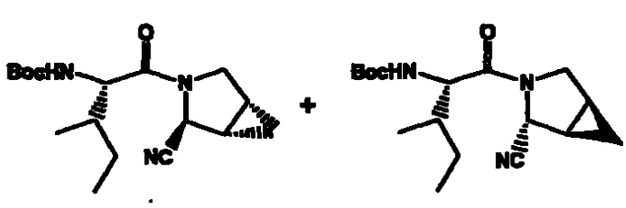

(Example 4) (Example 4A)

A.




Part A title compound, as a 1:1 ratio of enantiomers, was prepared by following the literature procedure. [Willy D. Kollmeyer, U.S. Patent 4,183,857.]

B.




A slurry of (S)-N-tert-butoxycarbonyl-isoleucine (92.5 mg, 0.4 mmol), 1-[(3-(dimethyl)amino)propyl]-3-ethylcarbodiimide(77 mg, 0.4 mmol) and 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (54.4 mg, 0.4 mmol) in $ClCH_2CH_2Cl$ (0.3 mL) was stirred under nitrogen at room temperature for 1 h, then Part A compound (22 mg, 0.2 mmol) was added, followed by $Et_3N$ (0.015 mL, 0.1 mmol). The reaction mixture was stirred under nitrogen at room temperature

overnight and then diluted with $CH_2Cl_2$ (3 mL), washed with $H_2O$ (1 mL), aqueous $NaHCO_3$ (1 mL) and brine (1 mL), dried ($Na_2SO_4$) and evaporated. Purification by flash chromatography on silica gel (2.4 x 12 cm column, 2:7 EtOAc/hexane) gave the title compound as a colorless oil, 33 mg, 51% yield. LC/MS gave the correct molecular ion [$(M+H)^+$ = 322] for the desired compound.

C.




(Example 4) (Example 4A)

To a stirred solution of Part B compound (30 mg, 0.4 mmol) in $CH_2Cl_2$ (0.5 mL) at room temperature was added trifluoroacetic acid (0.5 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h. The reaction mixture was added slowly to a precooled slurry of $NaHCO_3$ (0.8 g) in $H_2O$ (1 mL). The mixture was extracted with $CH_2Cl_2$ (2 mL x 5), and combined $CH_2Cl_2$ layers were evaporated and purified by preparative HPLC to give the title compounds as a 1:1 ratio of diastereomers, 22 mg. 73% yield. LC/MS gave the correct molecular ion [$(M+H)^+$ = 222] for the desired compounds.

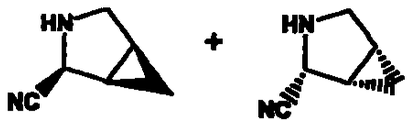
Examples 5 - 5A




(Example 5) (Example 5A)

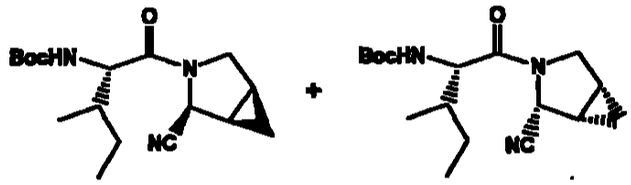
281

A.



To a solution of Example 4, Part A compound (150 mg, 1.39 mmol) in 2-propanol (0.8 mL), was added NaCN (40 mg, 1.0 mmol). The reaction mixture was heated to reflux for 3 h. After cooling to room temperature, the reaction mixture was evaporated and then slurried in $Et_2O$ (5 mL). After filtration, the filtrate was evaporated to give Example 4 Part A compounds and Example 5 Part A compounds (140 mg, 93%) as a 2:1 mixture of diastereomers, each as a racemic mixture.

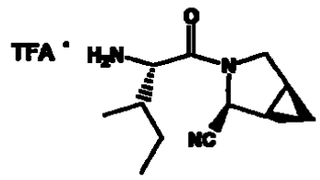
B.



A slurry of (S)-N-tert-butoxycarbonyl-isoleucine (595 mg, 2.57 mmol), 1-[(3-(dimethyl)amino)propyl]-3-ethylcarbodiimide(493 mg, 2.57 mmol) and 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (350 mg, 2.57 mmol) in $ClCH_2CH_2Cl$ (2 mL) was stirred under nitrogen at room temperature for 1 h, then Part A compound mixture (139 mg, 1.285 mmol) was added. The reaction mixture was stirred under nitrogen at room temperature overnight and then diluted with $CH_2Cl_2$ (30 mL), washed with $H_2O$ (10 mL), saturated aqueous $NaHCO_3$ (10 mL) and brine (10 mL), dried ($Na_2SO4$) and evaporated. Purification by flash chromatography on silica gel (2.4 x 20 cm column, 1:3 EtOAc/hexane) gave the Example 4, Part B compound (260 mg), and the title compounds (105 mg) as a ratio of 1:1 diastereomers. LC/MS gave the correct molecular ion [$(M+H)^+$ = 322] for the desired compounds.

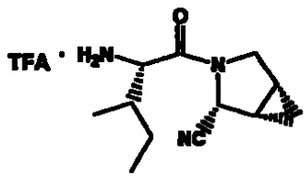
282

C.



(Example 5)

and

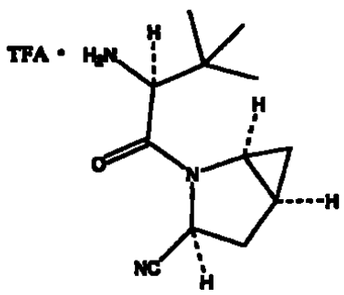


(Example 5A)

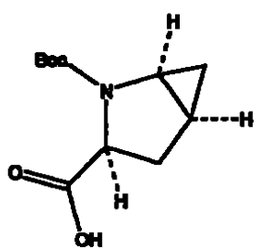
To a stirred solution of Part B compounds (104 mg, 0.32 mmol) in $CH_2Cl_2$ (1 mL) at room temperature was added trifluoroacetic acid (1 mL). The reaction mixture was stirred at room temperature for 2 h. The reaction mixture was added slowly to a precooled slurry of $NaHCO_3$ (2 g) in $H_2O$ (2 mL). The mixture was extracted with $CH_2Cl_2$ (4 mL x 4), and combined $CH_2Cl_2$ layers were evaporated and purified by preparative HPLC to give the title compound Example 5 (36 mg) and Example 5A (36 mg). LC/MS gave the correct molecular ion [$(M+H)^+$ = 222] for the desired compounds.

60188555.031 00

Example 6



A.

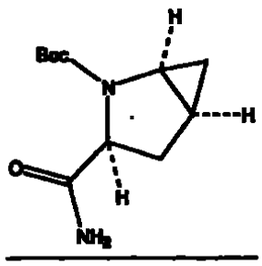


To a stirred solution of Example 1 Part A compound (1.40 g, 5.49 mmol) in 40 mL of a 1:1 methanol:water solution at room temperature was added lithium hydroxide

283 6

(0.20 g, 8.30 mmol). The reaction mixture was stirred at room temperature for 18 h and then heated to 50° C for 2 h. The mixture was diluted with equal volumes of ether and water (50 mL) and then acidified with $KHSO_4$ to pH 3. The milky solution was extracted with ether (3 X 20 mL). The combined ether layers were dried over $Na_2SO_4$ and evaporated. The residue was stripped from toluene (2 X 10 mL) and dried under reduced pressure to give the title compound as a thick syrup, 1.20 g, 96%.

B.

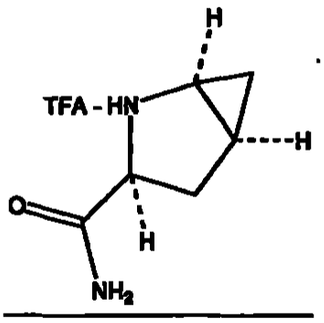



To a stirred solution of Part A compound (1.20 g, 5.28 mmol) in THF (20 mL) at -15° C under nitrogen was added 4-methylmorpholine (0.71 mL, 6.50 mmol) and then isobutyl chloroformate (0.78 mL, 6.00 mmol) over 5 min. The reaction was stirred at -15° C for 30 min, cooled to -30°C and treated with a solution of $NH_3$ in dioxane (50 mL, 25 mmol). The reaction mixture was stirred at -30°C for 30 min, warmed to room temperature and stirred at room temperature overnight. The reaction mixture was quenched with citric acid solution (pH 4) and extracted with ether (3 X 50 mL). The combined organic fractions were washed with brine, dried over $Na_2SO_4$ and concentrated. Purification by flash column chromatography on silica gel with ethyl acetate gave the title compound, 1.00 g, 84%.

5018855.031000

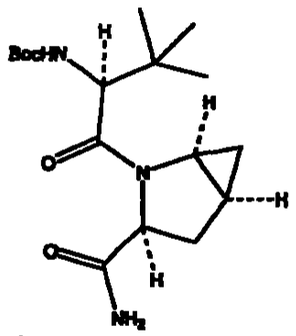
284

C.




To a stirred solution of Part B compound (0.90 g, 4.00 mmol) in dichloromethane (3 mL) at 0°C was added trifluoroacetic acid (3 mL). The reaction mixture was stirred at 0°C for 18 h. The reaction mixture was concentrated under reduced pressure to produce title compound in the form of a thick oil, 0.98 g, 100%. The oil gradually solidified upon prolonged standing.

D.




An oven dried 15 mL test tube was charged with Part C compound (56 mg, 0.22 mmol), N-tert-butoxycarbonyl-(L)-tert-leucine (53 mg, 0.23 mmol), dimethylaminopyridine (0.11 g, 0.88 mmol), and dichloromethane (4 mL). The tube was sealed under nitrogen atmosphere and treated with 1-[(3-(dimethyl)amino)propyl]-3-ethylcarbodiimide (84 mg, 0.44 mmol). The mixture was placed in a shaker and vortexed overnight. The product was purified by solid phase extraction using a United Technology SCX column (2 g of sorbent in a 6 mL column) by loading the material on a SCX ion exchange column and successively washing with dichloromethane (5 mL), 30% methanol in

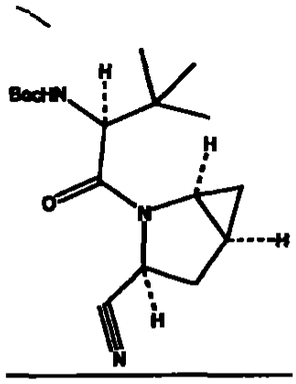


6018855.03100D

285

dichloromethane (5 mL), 50% methanol in dichloromethane (5 mL) and methanol (10 mL). The product containing fractions were concentrated under reduced pressure to give the desired amide. Further purification by reverse phase preparative column chromatography on a YMC S5 ODS 20 X 250 mm column gave the title compound, 50 mg (68% yield). Purification conditions: Gradient elution from 30% methanol/water/0.1 trifluoroacetic acid to 90% methanol/water/0.1 trifluoroacetic acid over 15 min. 5 min. hold at 90% methanol/water/0.1 trifluoroacetic acid. Flow rate: 20 mL/min. Detection wavelength: 220. Retention Time: 14 min.

E.




An oven dried 15 mL test tube was charged with Part D compound (50 mg, 0.15 mmol), imidazole (31 mg, 0.46 mmol), and pyridine (1 mL). The tube was sealed under nitrogen atmosphere and cooled to -30°C. Slow addition of $POCl_3$ (141 mg, 88 uL, 0.92 mmol) gave after mixing a thick slurry. The tube was mixed at -30°C for 3 h and the volatiles evaporated. The product was purified by solid phase extraction using a United Technology silica extraction column (2 g of sorbent in a 6 mL column) by loading the material on a silica column and successively washing with dichloromethane (5 mL), 5% methanol in dichloromethane (5 mL), 7% methanol in dichloromethane (5 mL) and 12% methanol in dichloromethane (10 mL). The product containing fractions were pooled and concentrated

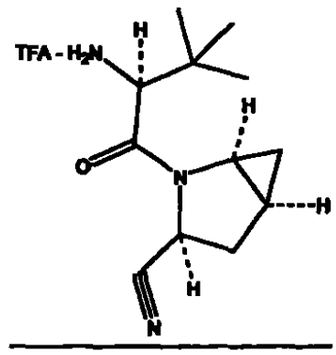


WO 00/31048 PCT/US99/25555

286

under reduced pressure to give the title compound, 46 mg, 96%.

F.




An oven dried 15 mL test tube was charged with Part E compound (0.45 mg, 0.14 mmol), dichloromethane (1 mL), and trifluoroacetic acid (1 mL). The reaction mixture was vortexed for 40 min at room temperature, diluted with toluene (4 mL) and concentrated under reduced pressure to a thick oil. The product was purified by reverse phase preparative column chromatography on a YMC S5 ODS 20 X 250 mm column to give the Example 6 compound, 14 mg, 35%. Purification conditions: Gradient elution from 10% methanol/water/0.1 trifluoroacetic acid to 90% methanol/water/0.1 trifluoroacetic acid over 18 min. 5 min. hold at 90% methanol/water/0.1 trifluoroacetic acid. Flow rate: 20 mL/min. Detection wavelength: 220. Retention Time: 10 min.

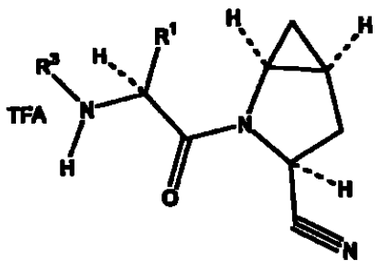
The following compounds of the invention (Examples 7 to 16) were prepared employing the procedure outlined in Example 6.

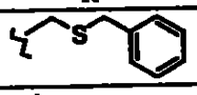
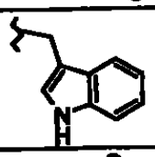
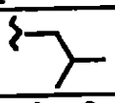
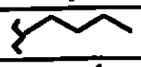
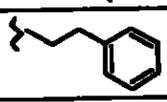


0018855 · 31000

287

Table 1




| Example | $R^1$ | $R^3$ | [M + H] |
|---|---|---|---|
| 7 |  | H | 302 |
| 8 |  | H | 295 |
| 9 |  | H | 240 |
| 10 |  | H | 222 |
| 11 |  | H | 222 |
| 12 |  | Me | 222 |
| 13 |  | H | 208 |
| 14 |  | H | 270 |
| 15 |  | H | 222 |
| 16 | $-CH_2CH_2CH_2-$ | | 206 |

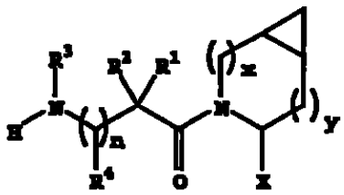
5

0188555.031000

288-1
2

What is Claimed is:

1. A compound having the structure



herein x is 0 or 1 and y is 0 or 1, provided that

x = 1 when y = 0 and

x = 0 when y = 1; and wherein

n is 0 or 1;

X is H or CN;

$R^1$, $R^2$, $R^3$ and $R^4$ are the same or different and are independently selected from hydrogen, alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, cycloalkylalkyl, bicycloalkyl, bicycloalkylalkyl, alkylthioalkyl, arylalkylthioalkyl, cycloalkenyl, aryl, aralkyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, cycloheteroalkyl or cycloheteroalkylalkyl; all optionally substituted through available carbon atoms with 1, 2, 3, 4 or 5 groups selected from hydrogen, halo, alkyl, polyhaloalkyl, alkoxy, haloalkoxy, polyhaloalkoxy, alkoxycarbonyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, cycloalkylalkyl, polycycloalkyl, heteroarylamino, arylamino, cycloheteroalkyl, cycloheteroalkylalkyl, hydroxy, hydroxyalkyl, nitro, cyano, amino, substituted amino, alkylamino, dialkylamino, thiol, alkylthio, alkylcarbonyl, acyl, alkoxycarbonyl, aminocarbonyl, alkynylaminocarbonyl, alkylaminocarbonyl, alkenylaminocarbonyl, alkylcarbonyloxy, alkylcarbonylamino, arylcarbonylamino, alkylsulfonylamino, alkylaminocarbonylamino, alkoxycarbonylamino, alkylsulfonyl, aminosulfinyl, aminosulfonyl, alkylsulfinyl, sulfonamido or sulfonyl;

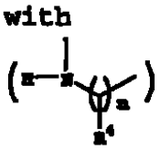
and $R^1$ and $R^3$ may optionally be taken together to form $-(CR^5R^6)_m-$ where m is 2 to 6, and $R^5$ and $R^6$ are the same or different and are independently selected from hydroxy, alkoxy, H, alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl,



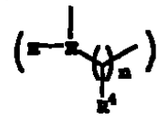
EO1 8555 03000

289

cycloalkylalkyl, cycloalkenyl, aryl, arylalkyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, cycloheteroalkyl, cycloheteroalkylalkyl, alkylcarbonylamino, arylcarbonylamino, alkoxycarbonylamino, aryloxycarbonylamino, alkoxycarbonyl, aryloxycarbonyl, or alkylaminocarbonylamino, or $R^1$ and $R^4$ may optionally be taken together to form $-(CR^7R^8)_p-$ wherein p is 3 to 6, and $R^7$ and $R^8$ are the same or different and are independently selected from hydroxy, alkoxy, cyano, H, alkyl, alkenyl, alkynyl, cycloalkyl, cycloalkylalkyl, cycloalkenyl, aryl, arylalkyl, heteroaryl, heteroarylalkyl, cycloheteroalkyl, cycloheteroalkylalkyl, alkylcarbonylamino, arylcarbonylamino, alkoxycarbonylamino, aryloxycarbonylamino, alkoxycarbonyl, aryloxycarbonyl, or alkylaminocarbonylamino, or optionally $R^1$ and $R^3$ together with



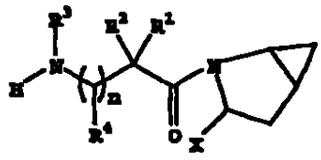
from a 5 to 7 membered ring containing a total of 2 to 4 heteroatoms selected from N, O, S, SO, or $SO_2$;

or optionally $R^1$ and $R^3$ together with  form a 4 to 8 membered cycloheteroalkyl ring wherein the cycloheteroalkyl ring has an optional aryl ring fused thereto or an optional 3 to 7 membered cycloalkyl ring fused thereto;

including all stereoisomers thereof;

and a pharmaceutically acceptable salt thereof, or a prodrug ester thereof.

2. The compound as defined in Claim 1 having the structure





0188555 • 03100D

**A QUIENES PUEDA LLEGAR LA PRESENTE:**

DEPARTAMENTO DE COMERCIO DE LOS ESTADOS UNIDOS

**Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos**

92
290

**Diciembre 26, 2000**

LA PRESENTE ES PARA CERTIFICAR QUE ANEXA A LA MISMA SE ENCUENTRA UNA COPIA AUTENTICA DE LOS REGISTROS DE LA OFICINA DE PATENTES Y MARCAS DE LOS ESTADOS UNIDOS, DE LOS DOCUMENTOS DE LA SOLICITUD DE PATENTE ABAJO IDENTIFICADA. QUE CUMPLE CON LOS REQUISITOS PARA QUE SE LE CONCEDA UNA FECHA DE PRESENTACION CONFORME A LA 35 USC 111.

NUMERO DE SOLICITUD: *60/188,555*

FECHA DE PRESENTACION: *Marzo 10, 2000*

(SELLO)

Por Autoridad del
COMISIONADO DE PATENTES Y MARCAS

(Rúbrica)
T. LAWRENCE
Oficial de Certificaciones

291

PTO/SB/16 (6-95)

**HOJA DE CUBIERTA DE LA SOLICITUD PR VISIONAL**

**Esta es una petición para llenar una SOLICITUD PROVISIONAL bajo la 37 CFR 1.53 (c)**

| Número de documento LA50(PSP) | | Escriba un signo más (+) dentro de este cuadro → | + |
|---|---|---|---|

**INVENTOR(ES)/SOLICITANTE(S)**

| ULTIMO NOMBRE | PRIMER NOMBRE | INICIAL INTERMEDIA | RESIDENCIA (CIUDAD Y ESTADO O PAIS EXTRANJERO) |
|---|---|---|---|
| Robl | Jeffrey | A. | Newtown. PA. USA |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

TITULO DE LA INVENCION (280 caracteres máx)

INHIBIDORES A BASE DE PIRROLIDINA FUSIONADA CON CICLOPROPILO DE DIPEPTIDIL PEPTIDASA IV Y METODO

DIRECCION PARA CORRESPONDENCIA

BURTON RODNEY
PATENT DEPARTMENT
BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY
PO BOX 4000
PRINCETON. NJ 08543-4000

PARTES DE LA SOLICITUD ADJUNTAS (*Checar todas las que se aplican*)

| | | | |
|---|---|---|---|
| ☒ Especificación | Número de Páginas | 59 | ☐ Declaración de entidad pequeña |
| ☐ Dibujo(s) | Número de Hojas | | ☐ Otro (especificar) |

CORREO EXPRESS NO EM069782125US

METODO DE PAGO

☒ El comisionado está con ello. autorizado para cargar la tasa de presentación o crédito de cualquier tipo de pago a la Cuenta de Depósito Numero:19-3880. La Cantidad de la Tasa de Presentación Provisional es ($)150.00. El comisionado está con ello. autorizado para cargar cualquier tasa adicional la cual se puede requerir excepto la Tasa de salida. o crédito o cualquier pago excesico a la cuenta de Depósito 19-3880.

Se elabora la invención por una agencia del Gobierno de los Estados Unidos o bajo un contrato con una agencia del Gobierno de los Estados Unidos.

☒ NO

☐ SI. el Nombre de la Agencia del Gobierno de U.S. y el número de contrato Gubernamental son: ____

_____

Respetuosamente quedo de usted.

FIRMA:_____ Fecha: Marzo 10, 2000

SIGNO O NOMBRE IMPRESO: John M. Kilcoyne

REGISTRO No. 33,100

TELEFONO No. (609) 252-5909

☐ Los inventores adicionales son mencionados en hojas numeradas de manera separada adjuntas a esta.

293

# INHIBIDORES A BASE DE PIRROLIDINA FUSIONADA CON CICLOPROPILO DE DIPEPTIDIL PEPTIDASA IV Y METODO

## CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a inhibidores a base de pirrolidina fusionada con ciclopropilo de dipeptidil peptidasa IV (DP-4), y a un método para tratar la diabetes, especialmente diabetes del Tipo II, así como también hiperglicemia, Síndrome X, complicaciones diabéticas, hiperinsulinemia, obesidad, aterosclerosis y enfermedades relacionadas, así como también varias enfermedades inmunomoduladoras y enfermedad inflamatoria de los intestinos, empleando tales pirrolidinas fusionadas con ciclopropilo solas o en combinación con otros agentes de tipo antidiabético.

## ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La dipeptidil peptidasa IV (DP-4) es una aminodipeptidasa de serina no clásica, enlazada a una membrana la cual se localiza en una

variedad de tejidos (intestino, hígado, pulmón, riñón) así como también en la circulación de T-linfocitos (en donde la enzima es conocida como CD-26). La misma es responsable de la división metabólica de ciertos péptidos endógenos (GLP-1(7-36), glucagon) in vivo y ha demostrado actividad proteolítica contra una variedad de otros péptidos (GHRH, NPY, GLP-2, VIP) in vitro.

GLP-1(7-36) es un péptido de 29 aminoácidos derivado por procesamiento postranslacional de proglucagon en el intestino delgado. GLP-1(7-36) tiene acciones múltiples in vivo incluyendo la estimulación de secreción de insulina, inhibición de la secreción de glucagon, la promoción de saciedad, y la lentitud del vaciado gástrico. Basado en su perfil fisiológico, las acciones de GLP-1(7-36) se espera que sean benéficas en la prevención y tratamiento de diabetes del tipo II y potencialmente de la obesidad. Para soportar esta demanda, la administración exógena de GLP-1(7-36) (infusión continua) en pacientes diabéticos ha demostrado eficacia en esta población de pacientes. Desafortunadamente, GLP-

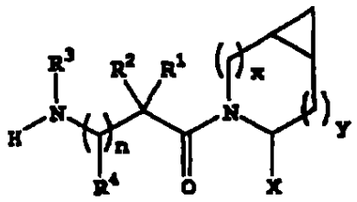
295

1(7-36) se degrada rápidamente in vivo y se ha demostrado que tiene un promedio de vida corto in vivo (t1/2≈1.5 min). Basado en un estudio de ratones DP-4 KO genéticamente reproducidos y en estudios in vivo/in vitro con inhibidores de DP-4 selectivos, se ha demostrado que DP-4 es la enzima de degradación primaria de GLP-1(7-36) in vivo. GLP-1(7-36) es degradado por DP-4 eficientemente a GLP-1(9-36), el cual se ha especulado que actúa como un antagonista fisiológico a GLP-1(7-36). Así, la inhibición de DP-4 in vivo deberá potenciar niveles de endógenos de GLP-1(7-36) y atenuar la formación de su antagonista GLP-1(9-36) y por consiguiente servir a mejorar la condición diabética.

## DESCRIPCION DE LA INVENCION

De acuerdo con la presente invención, se proporcionan los compuestos a base de pirrolidina fusionada con ciclopropilo, los cuales inhiben DP-4 y tienen la estructura

I



en donde x es 0 ó 1 y y es 0 ó 1 (siempre que

x = 1 cuando y = 0 y

x = 0 cuando y = 1);

n es 0 ó 1;

X es H o CN (es decir ciano);

$R^1$, $R^2$, $R^3$ y $R^4$ son los mismos o diferentes y son seleccionados en forma independiente de H, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, bicicloalquilo, bicicloalquilaquilo, alquiltioalquilo, arilalquiltioalquilo, cicloalquenilo, arilo, aralquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloheteroalquilo y cicloheteroalquilalquilo, todos substituidos opcionalmente a través de átomos de carbono disponibles con 1, 2, 3, 4 ó 5 grupos seleccionados de hidrógeno, halo, alquilo, polihaloalquilo, alcoxi, haloalcoxi, polihaloalcoxi, alcoxicarbonilo, alquenilo,

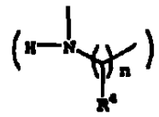
297

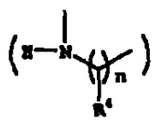
alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, policicloalquilo, heteroarilamino, arilamino, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilalquilo, hidroxi, hidroxialquilo, nitro, ciano, amino, amino substituido, alquilamino, dialquilamino, tiol, alquiltio, alquilcarbonilo, acilo, alcoxicarbonilo, aminocarbonilo, alquinilaminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, alquenilaminocarbonilo, alquilcarboniloxi, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alquilsulfonilamino, alquilaminocarbonilamino, alcoxicarbonilamino, alquilsulfonilo, aminosulfonilo, alquilsulfinilo, sulfonamido o sulfonilo;

y $R^1$ y $R^3$ se pueden tomar opcionalmente de manera conjunta para formar $-(CR^5R^6)_m-$ en donde m es 2 a 6, y $R^5$ y $R^6$ son los mismos o diferentes y se seleccionan en forma independiente a partir de hidroxi, alcoxi, ciano, H, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, cicloalquenilo, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilaquilo, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alcoxicarbonilamino,

298 81 94

ariloxicarbonilamino, alcoxicarbonilo, ariloxicarbonilo, o alquilaminocarbonilamino, o $R^1$ y $R^4$ se pueden tomar opcionalmente de manera conjunta para formar $-(CR^7R^8)_p-$ en donde p es 3 á 6, y $R^7$ y $R^8$ son los mismos o diferentes y se seleccionan independientemente de hidroxi, alcoxi, ciano, H, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, cicloalquenilo, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilalquilo, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alcoxicarbonilamino, ariloxicarbonilamino, alcoxicarbonilo, ariloxicarbonilo, o alquilaminocarbonilamino, u

opcionalmente $R^1$ y $R^3$ conjuntamente con  forman un anillo de 5 a 7 elementos que contienen un total de 2 a 4 heteroátomos seleccionados de N, O, S, SO, o $SO_2$;

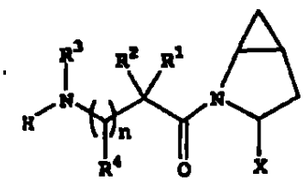
u opcionalmente $R^1$ y $R^3$ conjuntamente con  forman un anillo cicloheteroalquilo de 4 a 8 elementos en donde el anillo

cicloheteroalquilo tiene un anillo arilo opcional fusionado a éste o un anillo cicloalquilo de 3 a 7 elementos, opcional, fusionado a éste;

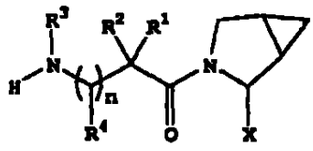
y que incluyen sales de los mismos farmacéuticamente aceptables, y ésteres de profármacos de los mismos, y todos los estereoisómeros de los mismos.

Así, los compuestos de la fórmula I de la invención incluyen las estructuras siguientes

IA



IB



Además, de acuerdo con la presente invención, se proporciona un método para tratar diabetes, especialmente diabetes Tipo II, y enfermedades relacionadas tal como resistencia a la insulina, hiperglicemia, hiperinsulinemia, Síndrome X, complicaciones diabéticas, niveles

300

sanguíneos elevados de ácidos grasos o glicerol, obesidad, hipertrigliceridemia y aterosclerosis, y enfermedades inmunomoduladoras incluyendo SIDA, rechazo de huésped contra injerto, y artritis, y enfermedad inflamatoria del intestino crónica (tal como enfermedad de Crohn y colitis ulcerativa), en donde una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la estructura I (la cual inhibe DP 4) se administra a un paciente humano con necesidad del tratamiento.

Las condiciones, enfermedades, y males colectivamente mencionados como "Síndrome X" o Síndrome Metabólico se detallan en Johannsson *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 82, 727-734 (1997).

Además, de acuerdo con la presente invención, se proporciona un método para tratar diabetes y enfermedades relacionadas como se definió anteriormente y más adelante, en donde una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de un compuesto de la estructura I y uno, dos, tres o más de otros tipos de agente(s) antidiabético(s) y/o uno, dos o tres o más de otros tipos de agente(s) terapéutico(s) se

301

administran a un paciente humano con necesidad de tratamiento.

Las condiciones, enfermedades y males colectivamente se refieren como "complicaciones diabéticas" incluyen retinopatía, neuropatía y nefropatía, y otras complicaciones de diabetes conocidas.

El término "otro(s) tipo(s) de agentes terapéuticos" como se emplea aquí se refiere a uno o más agentes antidiabéticos (menos inhibidores DP4 de la fórmula I), uno o más agentes antiobesidad, y/o uno o más agentes moduladores de lípidos (incluyendo agentes antiateroescleróticos).

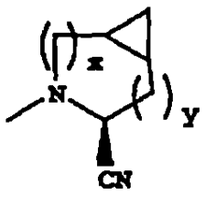
En el método anterior de la invención, el compuesto de la estructura I se empleará en una relación o proporción en peso para el agente antidiabético u otro agente de tipo terapéutico (dependiendo de su modo de operación) dentro del rango desde aproximadamente 0.01:1 a en forma aproximada 500:1, preferiblemente desde en forma aproximada 0.1:1 a en forma aproximada 100:1, en forma más preferida desde aproximadamente 0.2:1 a en forma aproximada 10:1.

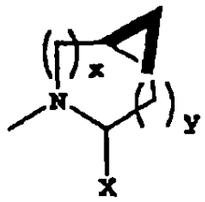
Los compuestos de la fórmula I son preferidos, en donde $R^3$ es H o alquilo, $R^1$ es H o alquilo, $R^2$ es H o alquilo, n es 0, X es CN, x es 0 ó 1 y y es 0 ó 1.

Los compuestos más preferidos son los de la fórmula I como se describió anteriormente en donde X es  o  ;

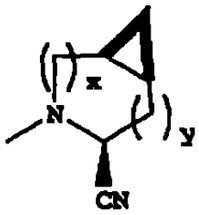
y/o en donde el grupo ciclopropilo fusionado es identificado como  .

Asi, los compuestos preferidos de la fórmula I de la invención incluirán la porción:

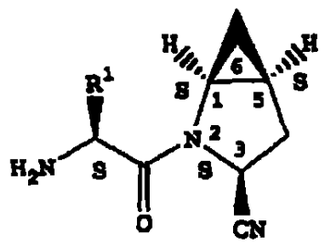



o

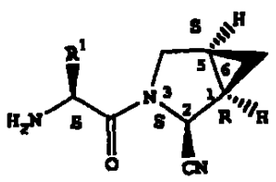


Los compuestos particularmente preferidos son los siguientes:

A) 

[1S,2(2S),3S,5S]

en donde $R^1$ es alquilo, cicloalquilo o bicicloalquilo;

B) 

[1R,2S,3(2S),5S]

en donde $R^1$ es alquilo, cicloalquilo o bicicloalquilo.

## DESCRIPCION DETALLADA DE LA INVENCION

Los compuestos de la estructura I se pueden generar por los métodos como se muestra en los esquemas de reacción siguientes y la descripción de los mismos.

Refiriéndose al Esquema de Reacción 1, el compuesto 1, en donde $PG_1$ es un grupo de protección de amina común tal como Boc, Cbz, o FMOC y $X^1$ es H o $CO_2R^9$ como se describe posteriormente, se puede generar por métodos como se describen aquí o en la literatura (por ejemplo, véase Sagnard et al, Tet-Lett., 1995, 36, pp. 3148-3152, Tverezovsky et al, Tetrahedron, 1997, 53, pp. 14773-14792, Hanessian et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1998, 8, p. 2123-2128). La remoción del grupo $PG_1$ por métodos convencionales (por ejemplo, (1) TFA o HCl cuando $PG_1$ es Boc, o (2) $H_2$/Pd/C, TMSI cuando $PG_1$ es Cbz, o (3) $Et_2NH$ cuando $PG_1$ es (FMOC) produce la amina libre 2. La amina 2 se puede acoplar o unir a varios aminoácidos protegidos tales como 3 (en donde $PG_2$ puede ser cualquiera de los grupos de protección $PG_1$) que usan condiciones de acoplamiento de péptidos estándares (por ejemplo, EDAC/HOAT, i-BuCOCOCl/TEA, PyBop/NMM) para producir el

dipéptido 4 correspondiente. La remoción del grupo protector de amina $PG_2$ proporciona el compuesto Ia de la invención en donde X=H.

En el caso en donde $X^1=CO_2R^9$ (en donde $R^9$ es alquilo o grupos aralquilo tales como metilo, etilo, t-butilo, o bencilo), el éster debe ser hidrolizado bajo una variedad de condiciones, por ejemplo con NaOH acuoso en un solvente adecuado tal como metanol, THF, o dioxano, para proporcionar el ácido 5. La conversión del grupo ácido a la carboxamida primaria, que produce 6, se puede efectuar por la activación del grupo ácido (por ejemplo, empleando i-BuOCOCl/TEA o EDAC) seguido por el tratamiento con $NH_3$ o un equivalente de amoniaco en un solvente tal como dioxano, éter, o metanol. La funcionalidad de amida se puede convertir al grupo nitrilo por una variedad de condiciones estándares (por ejemplo, $POCl_3$/piridina/imidazol o cloruro cianúrico/DMF) para dar 7. Finalmente, la remoción del grupo de protección $PG_2$ similar al anterior proporciona el compuesto de la invención Ib.

En una secuencia diferente (Esquema 2), el compuesto 1 en donde $X^1$ es $CO_2R^5$ se puede

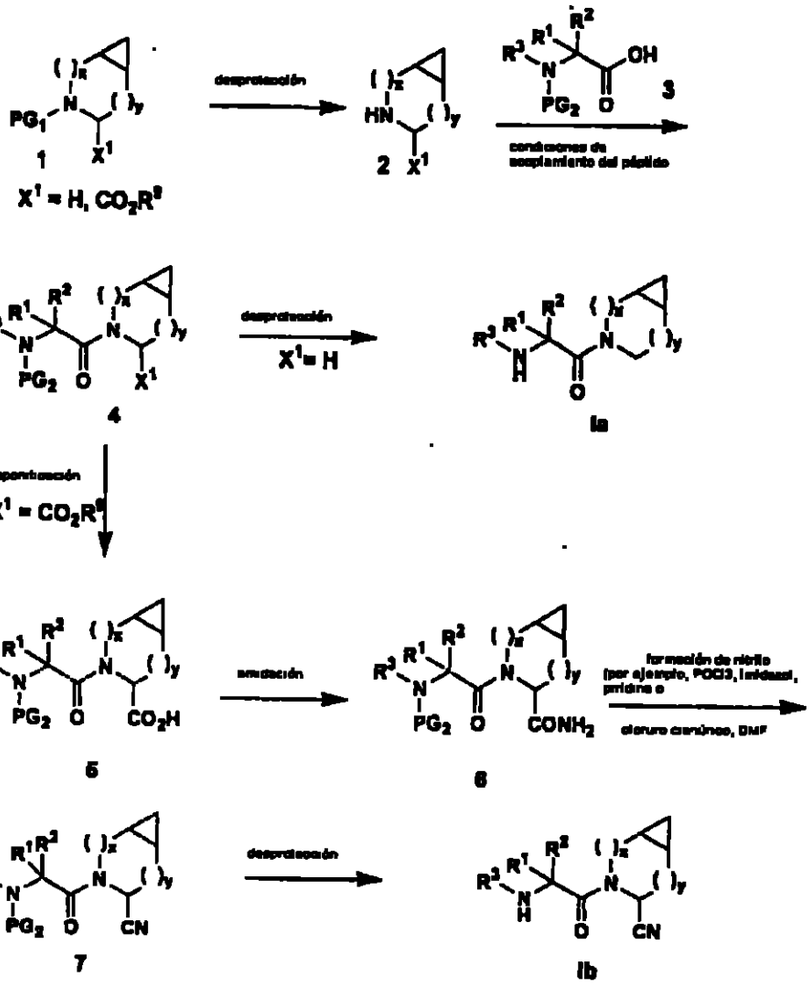
306

saponificar al ácido y posteriormente someter a amidación como se describió anteriormente para dar la amida 8. La remoción del grupo $PG_1$ seguido por el acoplamiento de péptidos a 3 produce el compuesto 6, un intermediario en la síntesis de Ib.

Alternativamente, el grupo carboxamida en 8 se puede convertir al nitrilo como se describió anteriormente para dar el compuesto 9. La desprotección de $PG_1$ produce 10 el cual puede ser sometido a condiciones de acoplamiento de péptidos, estándares, para proporcionar 7, un intermediario en la síntesis de Ib. El compuesto 10 también se puede generar por la oxidación de la amina 2 (por ejemplo, NCS) seguido por hidrólisis y subsecuente tratamiento con cianuro. El compuesto 10 se puede obtener como una mezcla de estereoisómeros o un único isómero/diastereómero el cual se puede epimerizar (empleando los procedimientos convencionales) para dar una mezcla de estereoisómeros.

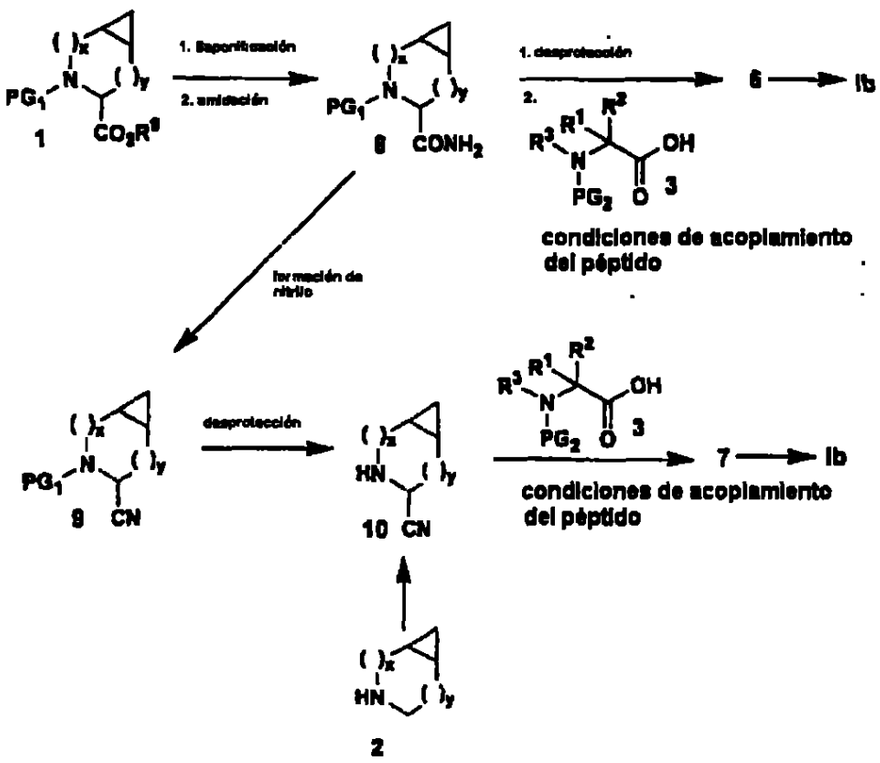
307

**Esquema 1**

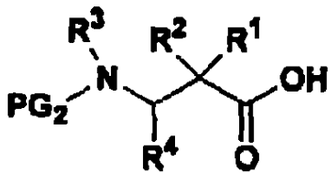


308

**Esquema 2**




De una manera semejante, los β-aminoácidos tales como



Esta traducción es responsabilidad de la Oficina Española de Patentes y Marcas

309

se pueden acoplar con 2, la amina libre de 8, o 10 para dar las amidas correspondientes las cuales se pueden convertir al compuesto Ia o Ib siguiendo la misma química.

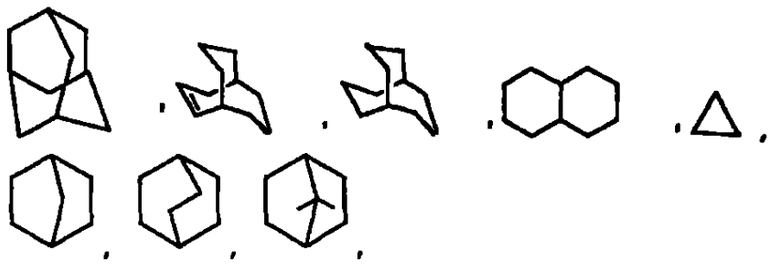
A menos que se indique de otra forma, el término "alquilo inferior", "alquilo" o "alq" como se emplea aquí solo o como parte de otro grupo incluyen hidrocarburos tanto de cadena recta como ramificada, que contienen 1 a 20 carbonos, preferiblemente 1 a 10 carbonos, en forma más preferida 1 a 8 carbonos, en la cadena normal, tal como metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, t-butilo, isobutilo, pentilo, hexilo, isohexilo, heptilo, 4,4-dimetilpentilo, octilo, 2,2,4-trimetil-pentilo, nonilo, decilo, undecilo, dodecilo, los diversos isómeros de cadena ramificada de los mismos, y semejantes así como también tales grupos que incluyen 1 a 4 substituyentes tales como halo, por ejemplo F, Br, Cl o I o $CF_3$, alquilo, alcoxi, arilo, ariloxi, aril(arilo) o diarilo, arilalquilo, arilalquiloxi, alquenilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, cicloalquilalquiloxi, amino, hidroxi, hidroxialquilo, acilo, heteroarilo,

310

heteroariloxi, heteroarilalquilo, heteroarilalcoxi, ariloxialquilo, alquiltio, arilalquiltio, ariloxiarilo, alquilamido, alcanoilamino, arilcarbonilamino, nitro, ciano, tiol, haloalquilo, trihaloalquilo y/o alquiltio.

A menos que se indique de otra forma, el término "cicloalquilo" como se emplea aqui solo o como parte de otro grupo incluye grupos de hidrocarburos cíclicos (que contienen 1 ó 2 enlaces dobles) saturados o parcialmente insaturados que contienen 1 a 3 anillos, incluyendo alquilo monocíclico, alquilo bicíclico (o bicicloalquilo) y alquilo tricíclico (tricicloalquilo), que contienen un total de 3 a 20 carbonos que forman el anillo, preferiblemente 3 a 10 carbonos, que forman el anillo y los cuales se pueden fusionar a 1 ó 2 anillos aromáticos como se describe para arilo, los cuales incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclodecilo y ciclododecilo, ciclohexenilo,

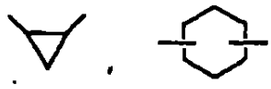
311



cualquiera de estos grupos se puede substituir en forma opcional con 1 a 4 substituyentes tales como halógeno, alquilo, alcoxi, hidroxi, arilo, ariloxi, arilalquilo, cicloalquilo, alquilamido, alcanoilamino, oxo, acilo, arilcarbonilamino, amino, nitro, ciano, tiol y/o alquiltio y/o cualquiera de los substituyentes para alquilo.

El término "cicloalquenilo" como se emplea aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a hidrocarburos cíclicos que contienen 3 a 12 carbonos, preferiblemente 5 a 10 carbonos y 1 ó 2 enlaces dobles. Los grupos cicloalquenilo ejemplares incluyen ciclopentenilo, ciclohexenilo, cicloheptenilo, ciclooctenilo, ciclohexadienilo, y cicloheptadienilo, los cuales se pueden substituir opcionalmente como se define para cicloalquilo.

312

El término "cicloalquileno" como se emplea aquí se refiere a un grupo "cicloalquilo" el cual incluye enlaces libres y así está un grupo de enlace tal como  y semejantes, y opcionalmente se puede substituir como se definió anteriormente para "cicloalquilo".

El término "alcanoilo" como se usa aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a alquilo enlazado a un grupo carbonilo.

A menos que se indique de otra forma, el término "alquenilo inferior" o "alquenilo" como se usa aquí por él mismo o como parte de otro grupo se refiere a radicales de cadena recta o ramificada de 2 a 20 carbonos, preferiblemente 2 a 12 carbonos, y en forma más preferida de 1 a 8 carbonos en la cadena normal, los cuales incluyen uno a seis enlaces dobles en la cadena normal, tal como vinilo, 2-propenilo, 3-butenilo, 2-butenilo, 4-pentenilo, 3-pentenilo, 2-hexenilo, 3-hexenilo, 2-heptenilo, 3-heptenilo, 4-heptenilo, 3-octenilo, 3-nonenilo, 4-decenilo, 3-undecenilo, 4-dodecenilo, 4,8,12-tetradecatrienilo, y semejantes y los cuales se

313

pueden substituir opcionalmente con 1 a 4 substituyentes, principalmente, halógeno, haloalquilo, alquilo, alcoxi, alquenilo, alquinilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo, amino, hidroxi, heteroarilo, cicloheteroalquilo, alcanoilamino, alquilamido, arilcarbonil-amino, nitro, ciano, tiol, alquiltio y/o cualquiera de los substituyentes alquilo descritos aquí.

A menos que se indique de otra forma, el término "alquinilo inferior" o "alquinilo" como se usa aquí por ellos mismos o como parte de otro grupo se refiere a radicales de cadena recta o ramificada de 2 a 20 carbonos, preferiblemente 2 a 12 carbonos, y en forma más preferida de 2 a 8 carbonos en la cadena normal, los cuales incluyen un triple enlace en la cadena normal, tal como 2-propinilo, 3-butinilo, 2-butinilo, 4-pentinilo, 3-pentinilo, 2-hexinilo, 3-hexinilo, 2-heptinilo, 3-heptinilo, 4-heptinilo, 3-octinilo, 3-noninilo, 4-decinilo, 3-undecinilo, 4-dodecinilo y semejantes, y los cuales se pueden substituir opcionalmente con 1 a 4 substituyentes, principalmente, halógeno, haloalquilo, alquilo, alcoxi, alquenilo, alquinilo, arilo, arilalquilo, cicloalquilo,

amino, heteroarilo, cicloheteroalquilo, hidroxi, alcanoilamino, alquilamido, arilcarbonilamino, nitro, ciano, tiol, y/o alquiltio, y/o cualquiera de los substituyentes alquilo descritos aquí.

Los términos "arilalquenilo" y "arilalquinilo" cuando se usan solos o como parte de otro grupo se refieren a grupos alquenilo y alquinilo como se describió anteriormente que tienen un substituyente arilo.

En donde los grupos alquilo como se definieron anteriormente tienen enlaces sencillos para el enlace o unión con otros grupos en dos átomos de carbono diferentes, los mismos son nombrados grupos "alquileno" y se pueden substituir opcionalmente como se definió anteriormente para "alquilo".

En donde los grupos alquenilo como se definieron anteriormente y grupos alquinilo como se definieron anteriormente, en forma respectiva, tienen enlaces sencillos para unir o enlazar a dos átomos de carbono diferentes, los mismos son llamados "grupos alquenileno" y "grupos alquinileno", respectivamente, y se pueden substituir de manera opcional como se

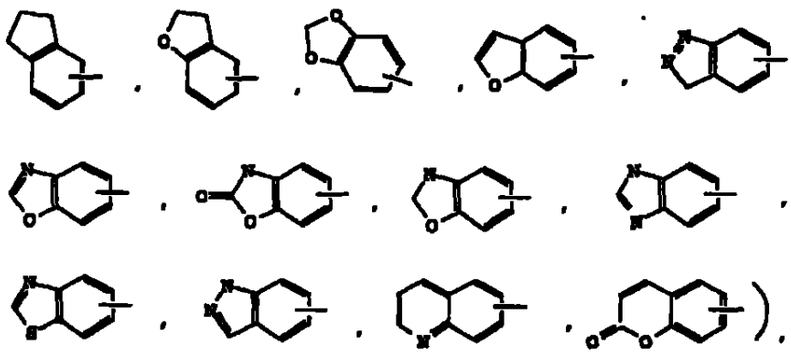
315

definió anteriormente para "alquenilo" y "alquinilo".

El término "halógeno" o "halo" como se usa aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a cloro, bromo, flúor, y yodo así como también $CF_3$, con cloro o flúor que es preferido.

El término "ion metálico" se refiere a iones de metales alcalinos tales como sodio, potasio o litio y iones de metales alcalinotérreos tales como magnesio y calcio, así como también zinc y aluminio.

A menos que se indique de otra forma, el término "arilo" como se emplea aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a grupos aromáticos monocíclicos y bicíclicos que contienen 6 a 10 carbonos en la porción del anillo (tal como fenilo o naftilo incluyendo 1-naftilo y 2-naftilo) y opcionalmente pueden incluir uno a tres anillos adicionales fusionados a un anillo carbocíclico o un anillo heterocíclico (tal como anillos de arilo, cicloalquilo, heteroarilo o cicloheteroalquilo por ejemplo



y opcionalmente se pueden substituir a través de átomos de carbono disponibles con 1, 2 ó 3 grupos seleccionados a partir del hidrógeno, halo, haloalquilo, alquilo, haloalquilo, alcoxi, haloalcoxi, alquenilo, trifluorometilo, trifluorometoxi, alquinilo, cicloalquilalquilo, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilalquilo, arilo, heteroarilo, arilalquilo, ariloxi, ariloxialquilo, arilalcoxi, ariltio, arilazo, heteroarilalquilo, heteroarilalquenilo, heteroarilheteroarilo, heteroariloxi, hidroxi, nitro, ciano, amino, amino substituido en donde el amino incluye 1 ó 2 substituyentes (los cuales son alquilo, arilo o cualquiera de los otros compuestos arilo mencionados en las definiciones), tiol, alquiltio, ariltio, heteroariltio, ariltioalquilo, alcoxiariltio,

317

alquilcarbonilo, arilcarbonilo, alquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo, alcoxicarbonilo, aminocarbonilo, alquilcarboniloxi, arilcarboniloxi, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, arilsulfinilo, arilsulfinilalquilo, arilsulfonilamino o arilsulfon-aminocarbonilo y/o cualquiera de los substituyentes de alquilo descritos aquí.

A menos que se indique de otra manera, el término "alcoxi inferior", "alcoxi", "ariloxi" o "aralcoxi" como se emplea aquí solo o como parte de otro grupo incluye cualquiera de los grupos alquilo, aralquilo o arilo, anteriores, enlazados a un átomo de oxígeno.

A menos que se indique de otra forma, el término "amino substituido" como se emplea aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a amino substituido con uno o dos substituyentes, el cual puede ser el mismo o diferente, tal como alquilo, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilalquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo o tioalquilo. Estos substituyentes

se pueden substituir adicionalmente con un ácido carboxílico y/o cualquiera de los grupos $R^1$ o substituyentes para $R^1$ como se describió anteriormente. Además, los substituyentes amino se pueden tomar conjuntamente con el átomo de nitrógeno al cual los mismos están unidos para formar 1-pirrolidinilo, 1-piperidinilo, 1-azepinilo, 4-morfolinilo, 4-tiamorfolinilo, 1-piperazinilo, 4-alquil-1-piperazinilo, 4-arilalquil-1-piperazinilo, 4-diarilalquil-1-piperazinilo, 1-pirrolidinilo, 1-piperidinilo, o 1-azepinilo, opcionalmente substituido con alquilo, alcoxi, alquiltio, halo, trifluorometilo o hidroxi.

A menos que se indique de otra forma, el término "alquiltio inferior", "alquiltio", "ariltio" o "aralquiltio" como se emplea aquí solo o como parte de otro grupo incluyen cualquiera de los grupos alquilo, aralquilo o arilo, anteriores, enlazados a un átomo de azufre.

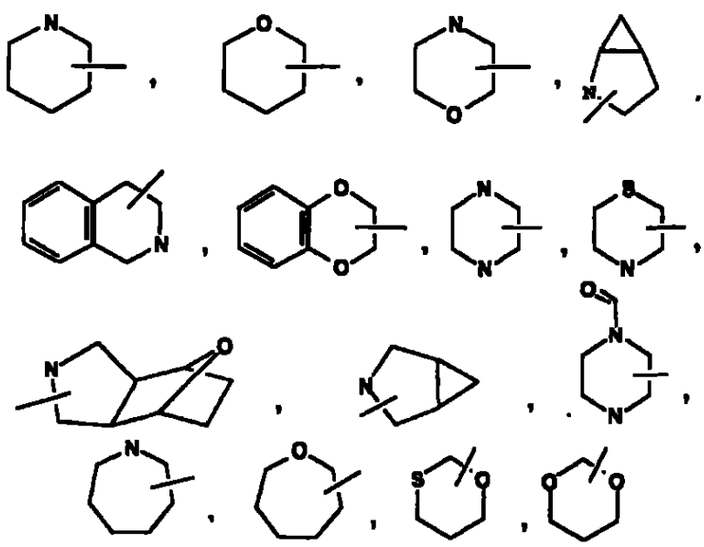
A menos que se indique de otra forma, el término "alquilamino inferior", "alquilamino", "arilamino", o "arilalquilamino" como se emplea aquí solo o como parte otro grupo incluye

cualquiera de los grupos alquilo, arilo o arilalquilo, anteriores, enlazados a un átomo de nitrógeno.

A menos que se indique de otra forma, el término "acilo" como se emplea aquí por él mismo o parte de otro grupo, como se define aquí, se refiere a un radical orgánico enlazado a un grupo carbonilo $\left(\begin{matrix}O\\ \|\\ C\end{matrix}\right)$; ejemplos de grupos acilo incluyen cualquiera de los grupos $R^1$ unidos a un carbonilo, tal como alcanoilo, alquenoilo, aroilo, aralcanoilo, heteroaroilo, cicloalcanoilo, cicloheteroalcanoilo y semejantes.

A menos que se indique de otra forma, el término "cicloheteroalquilo" como se utiliza aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a un anillo saturado o parcialmente insaturado de 5, 6 ó 7 elementos, el cual incluye 1 a 2 heteroátomos tales como nitrógeno, oxígeno y/o azufre, enlazado a través de un átomo de carbono o un heteroátomo, en donde sea posible, opcionalmente vía el enlazador $(CH_2)_r$ (en donde r es 1, 2 ó 3), tal como:

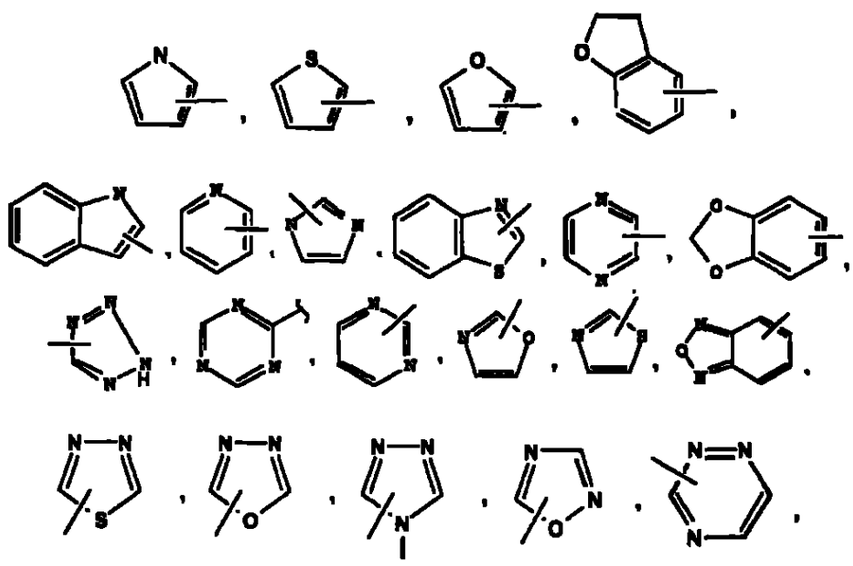
320



y semejantes. Los grupos anteriores pueden incluir 1 a 4 substituyentes tales como alquilo, halo, oxo y/o cualquiera de los substituyentes alquilo descritos aquí. Además, cualquiera de los anillos cicloheteroalquilo se pueden fusionar a un anillo cicloalquilo, arilo, heteroarilo o cicloheteroalquilo.

A menos que se indique de otra forma, el término "heteroarilo" como se usa aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a un anillo aromático de 5 ó 6 elementos el cual incluye 1, 2, 3 ó 4 heteroátomos tales como nitrógeno, oxigeno o azufre, y tales anillos fusionados a un anillo arilo, cicloalquilo, heteroarilo o

cicloheteroalquilo (por ejemplo, benzotiofenilo, indolilo), e incluyen posibles N-óxidos. El grupo heteroarilo opcionalmente puede incluir 1 a 4 substituyentes tales como cualquiera de los substituyentes descritos anteriormente para alquilo. Los ejemplos de grupo heteroarilo incluyen los siguientes:



y semejantes.

El término "cicloheteroalquilalquilo" como se usa aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a grupos cicloheteroalquilo como se definieron anteriormente enlazados a través de un átomo de C o heteroátomo a una cadena $(CH_2)_r$.

322

El término "heteroarilalquilo" o "heteroarilalquenilo" como se usa aquí solo o como parte de otro grupo se refiere a un grupo heteroarilo como se definió anteriormente enlazado a través de un heteroátomo o átomo de C a una cadena $-(CH_2)_r-$, alquileno o alquenileno como se definió anteriormente.

El término "polihaloalquilo" como se usa aquí se refiere a un grupo "alquilo" como se definió anteriormente el cual incluye desde 2 a 9, preferiblemente de 2 a 5, substituyentes halo, tales como F o Cl, preferiblemente F, tal como $CF_3CH_2$, $CF_3$ o $CF_3CF_2CH_2$.

El término "polihaloalcoxi" como se usa aquí, se refiere a un grupo "alcoxi" o "alquiloxi" como se definió anteriormente el cual incluye desde 2 a 9, preferiblemente desde 2 a 5, substituyentes halo, tales como F o Cl, preferiblemente F, tal como $CF_3CH_2O$, $CF_3O$ o $CF_3CF_2CH_2O$.

Todos los estereoisómeros de los compuestos de la presente invención están contemplados, ya sea en mezcla o en la forma pura o substancialmente pura. Los compuestos de la presente invención pueden tener centros

323

asimétricos en cualquiera de los átomos de carbono que incluyen cualquiera de los substituyentes R. Por consiguiente, los compuestos de la fórmula I pueden existir en formas enantioméricas o diastereoméricas o en mezclas de las mismas. Los procesos para la preparación pueden utilizar racematos, enantiómeros o diastereómeros como materiales de partida. Cuando los productos diastereoméricos o enantioméricos se preparan, los mismos se pueden separar por métodos convencionales, por ejemplo, cromatográficos o cristalización fraccional.

Cuando se desee, los compuestos de la estructura I se pueden usar en combinación con uno o más tipos de agentes antidiabéticos y/o uno o más tipos de agentes terapéuticos los cuales se pueden administrar oralmente en la misma forma de dosificación, en una forma de dosificación oral separada o por inyección.

El otro tipo de agente antidiabético el cual se puede emplear opcionalmente en combinación con el inhibidor DP4 de la fórmula I, puede ser 1, 2, 3 o más agentes antidiabéticos o agentes antihiperglicémicos incluyendo secretagogos de insulina o

sintetizadores de insulina, u otros agentes antidiabéticos que preferiblemente tienen un mecanismo de acción diferente de la inhibición DP4 y pueden incluir biguanidas, sulfonil ureas, inhibidores de glucosidasa, PPAR γ agonistas, tales como tiazolidindionas, inhibidores de SGLT2, agonistas duales PPAR α/γ, inhibidores de aP2, y/o meglitinidas, así como también insulina, y/o péptido-1 semejante a glucagon (GLP-1).

Se cree que el uso de los compuestos de la estructura I en combinación con 1, 2, 3 o más de otros agentes antidiabéticos produce resultados antihiperglicémicos mayores que aquellos posibles de cada uno de estos medicamentos solo y mayores que los efectos antihiperglicémicos de aditivos combinados producidos por estos medicamentos.

El otro agente antidiabético puede ser un agente antihiperglicémico oral preferiblemente una biguanida tal como metformina o fenformina o sales de las mismas, preferiblemente metformina HCl.

En donde el otro agente antidiabético es una biguanida, los compuestos de la estructura I

325

serán empleados en una relación o proporción en peso para biguanida dentro del rango desde aproximadamente 0.01:1 a en forma aproximada 100:1, preferiblemente desde en forma aproximada 0.1:1 a aproximadamente 5:1.

El otro agente antidiabético también puede ser de manera preferida una sulfonil urea tal como gliburida (también conocido como glibenclamida), glimepirida (descrito en la Patente Norteamericana No. 4,379,785), glipizida, gliclazida o clorpropamida, otras sulfonilureas conocidas u otros agentes antihiperglicémicos los cuales actúan sobre el canal dependiente de ATP de las células β, con gliburida y glipizida que son preferidas, las cuales se pueden administrar en la misma forma o en formas de dosificación oral separadas.

Los compuestos de la estructura I se emplearán en una relación o proporción en peso a la sulfonil urea en el rango desde aproximadamente 0.01:1 a en forma aproximada 100:1, preferiblemente desde en forma aproximada 0.05:1 a aproximadamente 5:1.

El agente antidiabético oral también puede ser un inhibidor de glucosidasa tal como

326

acarbosa (descrito en la Patente Norteamericana No. 4,904,769) o miglitol (descrito en la Patente Norteamericana No. 4,639,436), el cual se puede administrar en la misma forma o en una forma de dosificación oral separada.

Los compuestos de la estructura I se emplearán en una relación o proporción en peso al inhibidor de glucosidasa dentro del rango de aproximadamente 0.01:1 a en forma aproximada 100:1, preferiblemente desde en forma aproximada 0.2:1 a aproximadamente 50:1.

Los compuestos de la estructura I pueden ser empleados en combinación con un agente agonista γ PPAR tal como un agente anti-diabético oral de tiazolidinodiona u otros sensibilizadores de la insulina (los cuales tienen un efecto de sensibilidad a la insulina en pacientes NIDDM) tal como la troglitazona (Warner-Lambert's Rezulin®, descrito en la Patente Estadounidense No. 4,572,912), rosiglitazona (SKB), pioglitazona (Takeda), Mistubishi's MCC-555 (descrito en la Patente Estadounidense No. 5,594,016), Glaxo-Wellcome's GL-262570, englitazona (CP-68722, Pfizer) o darglitazona (CP-86325, Pfizer, isaglitazona

327

MIT/J&J), JTT-501 (JPNT/P&U), L-895645 (Merck), R-119702 (Sankyo/WL), NN-2344 (Dr. Reddy/NN), o YM-440 (Yamanouchi), preferiblemente rosiglitazona y pioglitazona.

Los compuestos de estructura I serán empleados en una relación en peso a la tiazolidindiona en una cantidad dentro del rango de aproximadamente 0.01:1 hasta aproximadamente 100:1, preferiblemente de aproximadamente 0.1:1 hasta aproximadamente 10:1.

La sulfonil urea y la tiazolidindiona en cantidades de menos de aproximadamente 150 mg del agente antidiabético oral, pueden ser incorporadas en una tableta individual con los compuestos de la estructura I.

Los compuestos de estructura I pueden también ser empleados en combinación con un agente antihiperglicémico tal como insulina o con el peptido-1 (GLP-1) parecido a la glucagona, tal como la amida GLP-1(1-36), amida GLP-1(7-36), GLP-1 (7-37) (como se describe en la Patente Estadounidense No. 5,614,492 por Habener, la descripción de la cual es incorporada aqui por referencia), así como también AC2993 (Amylen) y LY-315902 (Lilly), los

cuales pueden ser administrados vía inyección, intranasal, o por dispositivos transdermales o bucales.

En la actualidad la metformina, las sulfonilureas, tal como gliburida, glimepirida, glipirida, glipizida, clorpropamida y gliclazida y los inhibidores de glucosidasa, acarbosa o miglitol o insulina (inyectable, pulmonar, bucal u oral) pueden ser empleadas en las formulaciones como se describe anteriormente y en cantidades y dosificaciones indicadas en la Physician's Desk Reference (PDR).

En la actualidad la metformina o la sal de la misma puede ser empleada en cantidades dentro del rango de aproximadamente 500 hasta aproximadamente 2000 mg por día, las cuales pueden ser administradas en dosis individuales o divididas de una a cuatro veces diariamente.

En la actualidad el agente anti-diabético tiazolidindiona puede ser empleado en cantidades dentro del rango de aproximadamente 0.01 hasta aproximadamente 2000 mg/día el cual puede ser administrado en dosis individuales o divididas de una a cuatro veces por día.

En la actualidad la insulina puede ser

329

empleada en formulaciones, en cantidades y dosis como están indicadas por la Physician's Desk Reference.

En la actualidad los peptidos GLP-1 pueden ser administrados en formulaciones bucales orales, por administración nasal o parenteralmente como se describe en la Patentes Estadounidenses Nos. 5,346,701 (TheraTech), 5,614,492 y 5,631,224 las cuales son incorporadas aquí por referencia.

El otro agente antidiabético puede también ser un agonista dual α/γ PPAR tal como AR-HO39242 (Astra/Zeneca), GW-409544 (Glaxo-Wellcome), KRP297 (Kyorin Merck) así como también aquellos descritos por Murakami et al, "A novel Insulin Sensitizer Acts As a Coligand for Peroxisome Proliferation - Activated Receptor Alpha (PPAR alpha) and PPAR gamma. Effect on PPAR alpha Activation on Abnormal Lipid Metabolism in Liver of Zucker Fatty Rats", Diabetes 47, 1841-1847 (1998), y en la Solicitud provisional Estadounidense No. 60/155,400, presentada el 22 de Septiembre, 1999, (archivo del abogado LA29) descripción de la cual está incorporada aquí por referencia, empleando

dosificaciones como las expuestas aquí, los compuestos designados como preferidos son preferidos para usarse aquí.

El otro agente antidiabético puede ser un inhibidor SGLT2 tal como se describe en la Solicitud provisional Estadounidense No. 60/158,773 presentada el 12 de Octubre, 1999 (documento del abogado LA49), empleando dosificaciones como se exponen aquí. Se prefieren los compuestos designados como preferidos en la solicitud anterior.

El otro agente antidiabético el cual puede ser opcionalmente empleado en combinación con el inhibidor DP4 de fórmula I, puede ser un inhibidor aP2 tal como se describe en La Solicitud de Patente Estadounidense Serie No. 09/391,053, presentado el 7 de Septiembre de 1999, y Solicitud provisional Estadounidense No. 60/127,745, presentada el 5 de Abril del 1999 (archivo del abogado LA27*), empleando dosificaciones como las expuestas aquí.

La meglitinida la cual puede ser opcionalmente empleada en combinación con el compuesto de la fórmula I de la invención, puede ser repaglinida, nateglinida (Novartis) o

331

KAD1229 (PF/Kissei), con repaglinida siendo preferida.

El inhibidor DP4 de la fórmula I será empleado en proporción en peso a la meglitinida, agonista γ PPAR, agonista dual α/γ PPAR, inhibidor SGLT2 o inhibidor aP2 dentro del rango de aproximadamente 0.01:1 hasta aproximadamente 100:1, preferiblemente de aproximadamente 0.1:1 hasta aproximadamente 10:1.

El agente hipolipidémico o el agente que modula los lípidos, el cual puede ser empleado opcionalmente en combinación con los compuestos de fórmula I de la invención, puede incluir 1,2,3 o más inhibidores MTP, inhibidores de la reductasa HMG CoA, inhibidores de la sintetasa de escualeno, derivados de ácido fíbrico, inhibidores ACAT, inhibidores de la lipoxigenasa, inhibidores de la absorción del colesterol, inhibidores co-transportadores de ácido $Na^+$/biliar ileal, los sobre reguladores de la actividad del receptor de LDL, secuestrantes del ácido biliar y/o ácido nicótico y derivados de los mismos.

Los inhibidores MTP empleados aquí

332

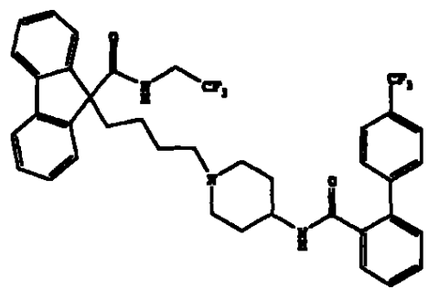
incluyen inhibidores MTP descritos en la Patente Estadounidense No. 5,595,872, Patente Estadounidense No. 5,739,135, Patente Estadounidense No. 5,712,279, Patente Estadounidense No. 5,760,246, Patente Estadounidense No. 5,827,875, Patente Estadounidense No. 5,885,983 y en la Solicitud Estadounidense Serie No. 09/175,180 presentada el 20 de Octubre, 1998, ahora Patente Estadounidense No. 5,962,440. Se prefieren cada uno de los inhibidores MTP descritos en cada una de las patentes y solicitudes anteriores.

Todas las solicitudes y Patentes Estadounidenses mencionadas anteriormente están incorporadas aquí por referencia.

Se prefieren más los inhibidores MTP para ser empleados en acuerdo con la presente invención incluyendo inhibidores MTP preferidos expuestos en la Patente Estadounidense No. 5,739,135 y 5,712,279 y en la Patente Estadounidense No. 5,760,246.

El inhibidor MTP más preferido es el 9-[4-[4-[[2-(2,2,2-Trifluoroetoxi)benzoil]amino]-1-piperidinil]butil]-N-(2,2,2-trifluoroetil)-9H-fluoreno-9-carboxamida

333



El agente hipolipidémico puede ser un inhibidor de la reductasa HMG CoA, el cual incluye, pero no está limitado a, la mevastatina y otros compuestos relacionados como se describen en la Patente Estadounidense No. 3,983,140, lovastatina (mevinolina) y compuestos relacionados como se describen en la Patente Estadounidense No. 4,231,938, pravastatina y compuestos relacionados, tal como se describen en la Patente Estadounidense No. 4,346,227, simvastatina y compuestos relacionados como se describen en la Patente Estadounidense No. 4,448,784 y 4,450,171. Otros inhibidores de la reductasa HMG CoA, los cuales pueden ser empleados aquí incluyen pero no están limitados a, fluvastatina, descritos en la Patente Estadounidense No. 5,354,772, cerivastatina descrita en las Patentes Estadounidenses Nos. 5,006,530 y 5,177,080, atorvastatina descrita en

334

las Patentes Estadounidenses No. 4,681,893, 5,273,995, 5,385,929 y 5,686,104, atavastatina (nisvastatina Nissan/Sankyo's (NK-104)) descrita en la Patente Estadounidense No. 5,011,930, visastatina Shionogi-Astra/Zeneca (ZD-4522) descrita en la Patente Estadounidense No. 5,260,440., y compuestos de estatina relacionados descritos en la Patente Estadounidense No. 5,753,675, análogos pirazol de derivados de mevalonolactona como se describe en la Patente Estadounidense No. 4,613,610, análogos de indeno de derivados de mevalonolactona como se describe en la solicitud PCT WO 86/03488, 6-[2-(substituido-pirrol-1-il)-alquil)piran-2-onas y derivados de los mismos como se describe en la Patente Estadounidense No 4,647,576, dicloroacetato (un derivado del ácido pentandioico 3-substituido) Searle's SC-45355, análogos de imidazol de mevalonolactona como se describe en la solicitud PCT WO 86/07054, derivados del ácido 3-carboxi-2-hidroxi-propan-fosfónico como se describe en la Patente Francesa No. 2,596,393, pirrol 2,3-disubstituido, furan y derivados de tiofeno como se describe la Solicitud de Patente Europea No.

0221025, análogos de naftilo de mevalonolactona como se describe en la Patente Estadounidense No. 4,686,237, octahidronaftalenos tal como se describen en la Patente Estadounidense No. 4,499,289, análogos de ceto de mevinolina (lovastatina) como se describe en la Solicitud de Patente Europea No. 0,142,146 A2, y derivados de quinolina y piridina descrito en Patente Estadounidense No 5,506,219 y 5,691,322.

Además, los compuestos del ácido fosfínico útiles en la inhibición de la reductasa HMG CoA adecuados para el uso aquí son descritos en la GB 2205837.

Los inhibidores de la sintetasa de escualeno adecuados para usarse aquí incluyen, pero no están limitados a α-fosfono-sulfonatos descritos en la Patente Estadounidense No. 5,712,396 aquellos descritos por Biller et al, J. Med. Chem., 1988, Vol. 31, No. 10, pp 1869-1871, incluyendo isoprenoides (fosfinil-metilo)fosfonatos así como también otros inhibidores de la sintetasa de escualeno conocidos, por ejemplo como se describe en la Patente Estadounidense No. 4,871,721 y 4,924,024 y en Biller, S.A., Neuenschwander, K., Ponpipom,

M.M., y Poulter, C.D., Current Pharmaceutical Design, 2, 1-40 (1996).

Además, otros inhibidores de la sintetasa de escualeno adecuados para usarse aquí incluyen los pirofosfatos terpenoides descritos por P. Ortiz de Montellano et al, J. Med. Chem., 1977, 20, 243-249, el análogo de difosfato de farnesilo A y el análogo de pirofosfatos de prescualeno (PSQ-PP) como se describen por Corey y Volante, J. Am. Chem. Soc. 1976, 98, 1291-1293, fosfinilfosfonatos reportados por McClard, R.W. et al, J.A.C.S. 1987, 109, 5544 y ciclopropanos reportados por Capson, T.L., PhD dissertation, Junio, 1987, Dept. Med. Chem. U de Utah, Abstract, Table of Contents, pp 16,17, 40-43, 48-51, Summary.

Otros agentes hipolipidémicos adecuados para usarse aquí incluyen, pero no están limitados a, derivados de ácido fíbrico, tal como fenofibrato, gemfibrozilo, clofibrato, bezafibrato, ciprofibrato, clinofibrate y similares, probucol, y compuestos relacionados como se describe en la Patente Estadounidense No.3,674,836, probucol y gemfibrozilo siendo preferidos, los secuentrantes de ácido biliar

tal como colestiramina, colestipol y DEAE-Sephadex (Secholex®, Policexide®), así también como lipostabilo (Rhone-Poulenc), Eisai E-5050 (un derivado de etanolamina N-substituido), imanixilo (HOE-402), tetrahidrolipstatina (THL), istigmastanilfos-forilcolina (SPC, Roche), aminociclodextrina (Tanabe Seiyoku), Ajinomoto AJ-814 (Derivado de azuleno), melinamida (Sumitomo), Sandoz 58-035, American Cyanamid CL-277,082 y CL-283,546 (derivados de urea disubstituidos), ácido nicotínico, acipimox, acifran, neomicina, ácido p-aminosalicílico, aspirina, derivados de poli(dialimetilamina) tal como se describe en la Patente Estadounidense No. 4,759,923, amina cuaternaria poli(cloruro de dialildimetilamonio) e iononas tal como se describen en la Patente Estadounidense No. 4,027,009, y otros agentes conocidos que disminuyen el colesterol de suero.

Los otros agentes hipolipidémicos pueden ser un inhibidor ACAT tal como se describe en, Drugs of the Future 24, 9-15 (1999), (Avasimibe); "The ACAT inhibitor, Cl-1011 is effective in the prevention and regression of aortic fatty streak area in

hamsters", Nicolosi et al, Atherosclerosis (Shannon, Irel). (1998), 137(1), 77-85; "The pharmacological profile of FCE 27677: a novel ACAT inhibitor with potent hypolipidemic activity mediated by selective suppression of hepatic secretion of ApoB100-containing lipoprotein", Ghiselli, Giancarlo, Cardiovasc. Drug Rev. (1998), 16(1). 16-30; "RP 73163:a bioavailable alkylsulfinyl-diphenylimidazole ACAT inhibitor", Smith, C., et al, Bioorg. Med. Chem. Lett. (1996), 6(1), 47-50; "ACAT inhibitors: physiologic mechanisms for hypolipidemic and anti-atherosclerotic activities in experimental animals", Krause et al, Editor(s): Roffolo, Robert R., Jr.; Hollinger, Mannfred A., Inflammation: Mediators Pathways (1995), 173-98, Publiser: CRC, Boca Raton, Fla.; "ACAT inhibitors: potential anti-atherosclerotic agents", Sliskovic et al, Curr. Med. Chem.(1994), 1(3), 204-25; "Inhibitors of acyl-CoA:cholesterol O-acyl transferase (ACAT) as hypocholesterolemic agents. 6. The first water-soluble ACAT inhibitor with lipid-regulating activity. Inhibitors of acyl-CoA:cholesterol

acyltransferase (ACAT). 7. Development of a series of substituted N-phenyl-N'-[(1-phenylcyclopentyl)methyl]ureas with enhanced hypocholesterolemic activity", Stout et al, Chemtracts: Org. Chem. (1995), 8(6), 359-62, o Ts-962 (Taisho Pharmaceutical Co. Ltd).

El agente hipolipidémico puede ser un sobre regulador de la actividad del receptor LD2 tal como MD-700 (Taisho Pharmaceutical Co. Ltd) y LY295427 (Eli Lilly).

El agente hipolipidémico puede ser un inhibidor de absorción de colesterol preferiblemente de Schering-Plough SCH48461, así como también, aquellos descritos en Atherosclerosis 115, 45-63 (1995) y J. Med. Chem. 41, 973 (1998).

El agente hipolipidémico puede ser un inhibidor co-transportador del ácido $Na^+$/biliar ileal, tal como se describe en Drugs of Future 24, 425-430 (1999).

Los agentes hipolipidémicos preferidos son pravastatina, lovastatina, simvastatina, atorvastatina, fluvastatina, cerivastatina atavastatina y ZD-4522.

Las Patentes Estadounidenses

mencionadas anteriormente están incorporadas aquí por referencia. Las cantidades y dosificaciones empleadas serán como se indica en la Phisician's Desk Reference y/o en las patentes expuestas anteriormente.

Los compuestos de la fórmula I de la invención, serán empleados en una proporción de peso al agente hipolipidémico (presentadas), dentro del rango de aproximadamente 500:1 hasta aproximadamente 1:500, preferiblemente desde aproximadamente 100:1 hasta aproximadamente 1:100.

La dosis administrada deberá ser cuidadosamente ajustada de acuerdo a la edad, peso y condición de el paciente, también como a la ruta de administración, forma y régimen de dosificación, y a los resultados deseados.

Las dosificaciones y formulaciones para el agente hipolipidémico serán como se describe en varias patentes y solicitudes descritas anteriormente.

Las dosificaciones y formulaciones para el otro agente hipolipidémico a ser empleado, cuando es aplicable, se expondrá en la edición más reciente de la Physicians' Desk Reference.

Para administración oral, un resultado satisfactorio puede ser obtenido empleando el inhibidor MTP, en una cantidad dentro del rango de aproximadamente 0.01 mg/kg hasta aproximadamente 500 mg y preferiblemente desde aproximadamente 0.1 mg hasta aproximadamente 100 mg, de una a cuatro veces por día.

Una forma de dosificación oral preferida, tal como las tabletas o cápsulas, contendrá el inhibidor MTP en una cantidad desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 500 mg, preferiblemente desde aproximadamente 2 hasta aproximadamente 400 mg, y más preferiblemente desde aproximadamente 5 hasta aproximadamente 250 mg, de una a cuatro veces por día.

Para la administración oral, un resultado satisfactorio puede obtenerse empleando un inhibidor de la reductasa HMG CoA, por ejemplo pravastatina, lovastatina, simvastatina, atorvastatina, fluvastatina o cerivastatina en dosificaciones empleadas como se indica en la Physician's Desk Reference, tal como en una cantidad dentro del rango de aproximadamente 1 hasta aproximadamente 2000 mg

342

y preferiblemente desde aproximadamente 4 hasta aproximadamente 200 mg.

El inhibidor de la sintetasa de escualeno puede ser empleado en dosificaciones en una cantidad dentro del rango de aproximadamente 10 mg hasta aproximadamente 2000 mg y preferiblemente desde aproximadamente 25 mg hasta aproximadamente 200 mg.

Una forma de dosificación oral preferida, tal como tabletas o cápsulas, contendrá el inhibidor de la reductasa HMG CoA, en una cantidad de aproximadamente 0.1 hasta aproximadamente 100 mg, preferiblemente de aproximadamente 5 hasta aproximadamente 80 mg y más preferiblemente desde aproximadamente 10 hasta aproximadamente 40 mg.

Una forma de dosificación oral preferida, tal como tabletas o cápsulas, contendrá el inhibidor de la sintetasa de escualeno en una cantidad de aproximadamente 10 hasta 500 mg, preferiblemente desde aproximadamente 25 hasta aproximadamente 200 mg.

El otro agente hipolipidémico puede también ser un inhibidor de la lipoxigenasa que incluye un inhibidor de la 15-lipoxigenasa (15-

LO), tal como los derivados de benzimidazol, como se describe en WO 97/12615, los inhibidores 15-LO como se describen en WO 97/12613, isotiazolonas como se describen en WO 96/38144 e inhibidores 15-LO como se describen por Sendobry et al "Attenuation of diet-induced atherosclerosis in rabbits with a highly selective 15-lipoxygenasa inhibidor lacking significant antioxidant properties, Brit. J. Pharmacology (1997) 120, 1199-1206, and Cornicelli et al, "15-Lipoxygenase and its Inhibition: A Novel Therapeutic Target for Vascular Disease", Current Pharmaceutical Desing, 1999, 5, 11-20.

Los compuestos de la fórmula I y el agente hipolipidémico pueden ser empleados juntos, en la misma forma de dosificación oral o en formas de dosificación oral separadas tomadas al mismo tiempo.

Las composiciones descritas anteriormente pueden ser administradas en las formas de dosificación como se describieron anteriormente en dosis únicas o divididas de una a cuatro veces al dia. Puede ser recomendable iniciar un paciente con una combinación de

dosis bajas y trabajar gradualmente hasta una combinación de dosis altas.

El agente hipolipidémico preferido es pravastatina, simvastatina, lovastatina, atorvastatina, fluvastatina o cerivastatina.

El otro tipo de agente terapéutico, el cual puede ser opcionalmente empleado con el inhibidor DP4 de la fórmula I, puede ser 1, 2, 3 o más de un agente anti-obesidad que incluye un agonista adrenergico beta 3, un inhibidor de la lipasa, un inhibidor de la recaptación de la serotonina (y dopamina), un fármaco beta receptor de la tiroides y/o un agente anoréxico.

El agonista adrenergico beta 3 el cual puede ser opcionalmente empleado en combinación con un compuesto de fórmula I, puede ser AJ9677 (Takeda/Dainippon), L750355 (Merck) o CP331648 (Pfizer) u otro agonista beta 3 conocido como se describe en las Solicitudes de Patentes Estadounidense Nos. 5,541,204, 5,770,615, 5,491,134, 5,776,983 y 5,488,064, con AJ9677, L750,355 y CP331648 siendo preferidas.

El inhibidor de la lipasa el cual puede ser opcionalmente empleado en combinación con un compuesto de fórmula I puede ser orlistat o ATL-

345

962 (Alizyme), con orlistat preferido.

El inhibidor de la recaptación de la serotonina (y dopamina) el cual puede ser opcionalmente empleado en combinación con un compuesto de fórmula I puede ser sibutramina, topiramato (Johnson & Johnson) o axoquina (Regeneron), con sibutramina y topiramato siendo preferidos.

El compuesto beta receptor de la tiroides, el cual puede ser opcionalmente empleado en combinación con un compuesto de fórmula I, puede ser un ligando receptor de la tiroides, como se describe en WO97/21993 (U. Cal SF), WO99/00353 (KaroBio) y GB98/284425 (KaroBio), se prefiere con los compuesto de las solicitudes de KaroBio.

El agente anoréxico el cual puede ser opcionalmente empleado en combinación con un compuesto de fórmula I, puede ser dexamfetamina, fentermina, fenilpropanolamina o mazindol, se prefiere con dexamfetamina.

Los varios agentes anti-obesidad descritos anteriormente pueden ser empleados en la misma forma de dosificación con el compuesto de fórmula I o en diferentes formas de

346

dosificación, en dosificaciones y regímenes conocidos de manera general en la técnica o en el PDR.

Para llevar a cabo el método de la invención, una composición farmacéutica será empleada conteniendo los compuestos de la estructura I, con o sin otro agente anti-diabético y/u otro tipo de agente terapéutico, en asociación con un vehículo o diluyente farmacéutico. La composición farmacéutica podrá ser formulada empleando vehículos sólidos o líquidos convencionales, o diluyentes y aditivos farmacéuticos de un tipo apropiado para el modo de administración deseado. Los compuestos pueden ser administrados a especies de mamíferos que incluye humanos, monos, perros, etc. por una ruta oral, por ejemplo, en forma de tabletas, cápsulas, granulados o polvos o pueden ser administrados por una ruta parenteral en la forma de preparaciones inyectables. Las dosis para adultos son preferiblemente entre 10 y 1,000 mg por día, los cuales pueden ser administrados en una sola dosis o en forma de dosis individuales de 1-4 veces por día.

Una cápsula típica para la

administración oral, contiene compuestos de estructura I (250 mg), lactosa (75 mg) y estearato de magnesio (15 mg). La mezcla se pasa a través de un tamiz de malla 60 y se envasa en una cápsula de gelatina del No. 1.

Una preparación típica inyectable se produce por la colocación asépticamente de 250 mg de compuestos de la estructura I, en un frasco, secado por congelamiento y sellados asépticamente. Para el uso, los contenidos del frasco son mezclados con 2 mL de solución salina fisiológica, para producir una preparación inyectable.

La actividad del inhibidor DP4 de los compuestos de la invención puede ser determinada por el uso de un sistema de ensayo <u>in vitro</u>, el cual mide la potenciación de la inhibición de DP4. Las constantes de inhibición (valores Ki) para los inhibidores DP4 de la invención, se pueden determinar por el método descrito abajo.

**Purificación de la Dipeptidil Peptidasa IV Porcina**

Se purificó la enzima porcina como se

348

describe previamente (1), con varias modificaciones. Se obtuvieron riñones de 15-20 animales, y el córtex o corteza se retiró y se disecó y se congeló a -80°C. El tejido congelado (2000 -2500 g) se homogeneizó en 12 L de 0.25 M de sucrosa en un mezclador Waring. Lo homogeneizado entonces se dejó a 37°C por 18 horas para facilitar el desdoblamiento de DP4 de las membranas celulares. Después de la etapa de desdoblamiento, lo homogeneizado se clarificó por centrifugación a 7000 x g por 20 minutos a 4°C, y se colectó el sobrenadante. Se agregó sulfato de amonio sólido a 60% de saturación, y lo precipitado se colectó por centrifugación a 10,000 x g y se descargó. Se agregó sulfato de amonio adicional al sobrenadante a 80% de saturación, y el 80% de las pelotillas se colectaron y disolvieron en 20 mM de $Na_2HPO_4$, pH 7.4.

Después de la diálisis contra $Na_2HPO_4$ 20 mM, pH 7.4, la preparación se clarificó por centrifugación a 10,000 X g. La preparación clarificada entonces se aplicó a 300 mL de Sepharosa ConA que ha sido equilibrada en el mismo amortiguador. Después del lavado con el

amortiguador a una constante $A_{280}$, la columna se eluyó con 5% (p/v) α-D-manopiranosido de metilo. Las fracciones activas se vertieron, concentraron y dializaron contra acetato de sodio 5 mM, pH 5.0. El material dializado entonces se dejó fluir a través de una columna de Pharmacia Resourse S de 100 mL, equilibrada en el mismo amortiguador. El flujo a través del material se colectó y contenía la mayoría de la actividad enzimática. El material activo nuevamente se concentró y dializó en $Na_2HPO_4$ 20 mM pH 7.4. Finalmente, la enzima concentrada se sometió a cromatografía en una columna de filtración por gel Pharmacia S-200 para remover los contaminantes de peso molecular bajo. La pureza de las fracciones de la columna se analizaron por SDS-PAGE de reducción, y las fracciones más puras se vertieron y concentraron. La enzima purificada se almacenó en 20% de glicerol a -80°C.

**Ensayo de la Dipeptidil Peptidasa IV Porcina**

La enzima se ensayó bajo condiciones de estado listo como se describe previamente (2)

350

con gli-pro-p-nitroanilida como substrato, con las siguientes modificaciones. Las reacciones contienen, a un volumen final de 100 µl, 100 mM de Aces, 52 mM de TRIS, 52 mM de etanolamina; 500 µM de gly-pro-p-nitroanilida, 0.2% de DMSO, y 4.5 nM de enzima a 25°C, pH 7.4. Para los ensayos individuales a 10 µM del compuesto de prueba, se agregaron el amortiguador, compuesto, y la enzima, a los pozos de una placa microtituladora de 96 pozos, y se incubaron a temperatura ambiente por 5 minutos. Las reacciones se iniciaron por la adición del substrato. La producción continua de p-nitroanilina se midió a 405 nM por 15 minutos usando un lector de placa Molecular Devices Tmax, con una lectura cada 9 segundos. La relación lineal de la producción de p-nitroanilina se obtuvo sobre la porción lineal de cada curva de progreso. Una curva estándar para la absorbencia de la p-nitroanilina se obtuvo al comienzo de cada experimento, y la producción de p-nitroalinina catalizada por la enzima, se cuantificó a partir de la curva estándar. Los compuestos que dieron más del 50% de inhibición, se seleccionaron para los

351

análisis posteriores.

Para el análisis de los compuestos positivos, las constantes de inhibición cinética de estado listo se determinaron como una función de la concentración tanto del substrato como del inhibidor. Las curvas de saturación del substrato se obtuvieron a concentraciones gly-pro-p-nitroanilida de 60 µM hasta 3600 µM. Las curvas de saturación adicional también se obtuvieron en la presencia del inhibidor. Los experimentos de inhibición complete contienen concentraciones, 11 del substrato y 7 del inhibidor, con determinaciones por triplicado a través de las placas. Para los inhibidores de enlaces estrechos con $K_i$s menores de 20 nM, la concentración de la enzima se redujo a 0.5 nM y los tiempos de reacción se incrementaron a 120 min. Las bases de datos vertidas de las tres placas se fijaron a la ecuación apropiada para ya sea la inhibición competitiva, no competitiva o incompetitiva.

(1) Rahfeld, J, Schutkowski, M., Faust, J., Neubert., Barth., A.,. y Heins, J. (1991) Biol. Chem. Hoppe-Seyller, 372, 313-318.

(2) Nagatsu, T., Hino, M., Fuyamada, H., Hayakawa, T., Sakakibara, S., Nakagawa, Y., y Takemoto, T., (1976) Anal. Biochem., 74, 466-476.

Las siguientes abreviaciones son empleadas en los Ejemplo y en otra parte aquí.

Ph = fenilo

Bn = bencilo

i-Bu = iso-butilo

Me = metilo

Et = etilo

TMS = trimetilsililo

FMOC = fluorenilmetoxicarbonilo

Boc = terc-butoxicarbonilo

Cbz = carbobenciloxi o carbobenzoxi o benciloxicarbonilo

HOAc o AcOH = ácido acético

TFA = ácido trifluoroacético

$Et_2NH$ = dietilamina

NMM = N-metilmorfolina

n-BuLi = n-butillitio

Pd/C = paladio en carbono

$PtO_2$ = óxido de platino

TEA = trietilamina

EDAC = clorhidrato de 3-etil-3'-(dimetilamino)propil-carbodiimida (o clorhidrato de 1-[(3-(dimetil)amino)propil])-3-etilcarbodiimida)

HOBT o HOBT.$H_2O$ = hidrato de 1-hidroxibenzotriazol

HOAT = 1-Hidroxi-7-azabenzotriazol

Reactivo PyBOP = hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxi-tripirrolidin fosfonio

min = minuto(s)

h o hr = hora(s)

L = litro

mL = mililitro

µL = microlitro

g = gramo(s)

mg = miligramo(s)

mol = mole(s)

mmol= milimole(s)

meq = miliequivalente

TA = temperatura ambiente

Sat o sat'd = saturada

aq. = acuoso

TLC = cromatografía de capa delgada

HPLC = cromatografía líquida de alta realización

14 354

LC/MS = cromatografía líquida de alta realización/espectrometría de masa

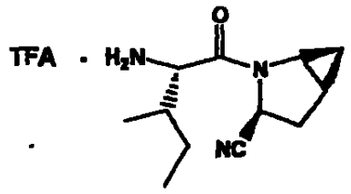
MS o Mass Spec = espectrometría de masa

NMR = resonancia magnética nuclear

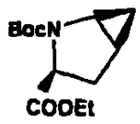
mp = punto de fusión

Los siguientes ejemplos representan las modalidades preferidas de la invención.

## Ejemplo 1




A.

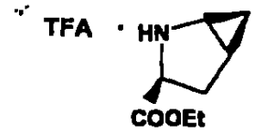



El compuesto del titulo de la Parte A se preparo siguiendo el procedimiento de literatura. [Stephen Hanessian, Ulrich Reinhold,

355

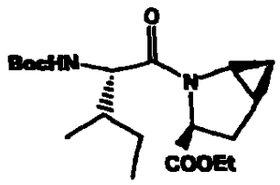
Michel Saulnier, y Stephen Claridge; Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 8 (1998) 2123-2128.]

B.




A una solución agitada del compuesto de la Parte A (411 mg, 1.61 mmol) en $CH_2Cl_2$ (1.5 mL) a temperatura ambiente, se agregó ácido trilfuoroacético (1.5 mL). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 2 horas y se evaporó. El residuo se diluyó con $CH_2Cl_2$ y después se evaporó y volvió a evaporar tres veces para dar el compuesto del titulo como un aceite incoloro, 433 mg, 100% rendimiento.

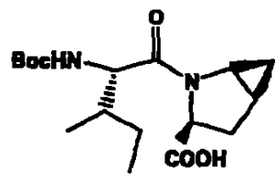
C.



356

A una solución agitada de (S)-N-terc-butoxicarbonill-isoleucina (372.6 mg, 1.61 mmol) y hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio (1.25 g, 2.42 mmol) en $CH_2Cl_2$ (6 mL) bajo nitrógeno a temperatura ambiente, se agregó 4-metilmorfolina (NMM) (0.36 mL, 3.2 mmol). Después de cinco minutos, se agregó una solución del compuesto de la Parte B (433 mg, 1.61 mmol) y NMM (0.27 mL, 2.4 mmol) en $CH_2Cl_2$ (1 ml). Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó bajo nitrógeno a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con $CH_2Cl_2$ (40 mL) y se lavó con 4% $KHSO_4$ (10 mL), $NaHCO_3$ acuoso (10 mL) y salmuera (10 mL), se secó ($Na_2SO_4$) y evaporó. La purificación por cromatografía instantánea (1:4 EtOAc/hexanos) dio el compuesto del titulo como un aceite incoloro, 530 mg, 89% rendimiento.

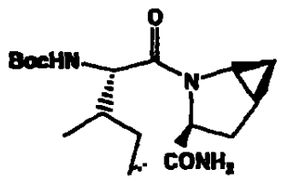
D.



357

A una solución agitada del compuesto de la Parte C (530 mg, 1.44 mmol) en MeOH (4 ml) y $H_2O$ (4 ml) a temperatura ambiente se adicionó $LiOH.H_2O$ (91 mg, 2.16 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche y se evaporó. El agua (10 ml) se adicionó al residuo y se extrajo con $Et_2O$ (2 x 10 ml). La capa acuosa se acidificó a ~pH 4 adicionando 4% de $KHSO_4$ por goteo. La solución lechosa se extrajo con EtOAc (15 ml x 3). Las capas de EtOAc combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre $Na_2SO_4$ y se evaporaron para dar el compuesto del titulo como un sólido blanco, 440 mg, 90% de rendimiento.

E.



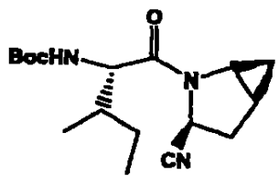

---

A una solución agitada del compuesto de la Parte D (300 mg, 0.88 mmol) en THF (6 ml) a -15°C bajo nitrógeno, se adicionó 4-metilmorfolina (0.12 ml, 1.06 mmol) y luego

358

cloroformato de isobutilo (0.13 ml, 0.97 mmol) durante 2 min. El precipitado blanco se formó. La mezcla de reacción se agitó a -15°C bajo nitrógeno por 25 min y una solución de $NH_3$ en dioxano (8.8 ml, 4.4 mmol) se adicionó. La mezcla de reacción se agitó a -15°C por 30 min, se calentó a temperatura ambiente y se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió rápidamente por 4% de $KHSO_4$ a ~pH 4 y se extrajo con EtOAc (20 ml x 3). Los extractos se combinaron, se lavaron con salmuera (10 ml), se secaron ($Na_2SO_4$) y se evaporaron. La purificación por cromatografía instantánea (1:1 EtOAc/hexano) dio el compuesto del titulo como una espuma blanca, 268 mg, 90% de rendimiento.

F.



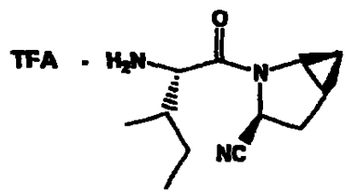

---

A una solución agitada del compuesto de la Parte E (248 mg, 1.38 mmol) e imidazol (94

359

mg, 1.38 mmol) en piridina seca (12 ml) a -35°C bajo nitrógeno se adicionó $POCl_3$ (0.26 ml, 2.76 mmol) por goteo. La mezcla de reacción se agitó entre -35°C a -20°C por 1 h y se evaporó. $CH_2Cl_2$ (10 ml) se adicionó y se formaron precipitados blancos. Después de la filtración, el filtrado se concentró y se purificó por cromatografía instantánea (2:5 EtOAc/hexano) para dar el compuesto del título como un aceite incoloro, 196 mg, 88% de rendimiento.

G.



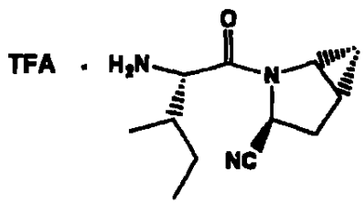

---

A una solución agitada del compuesto de la Parte F (130 mg, 0.4 mmol) en $CH_2Cl_2$ (2 ml) a temperatura ambiente se adicionó ácido trifluoroacético (2 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 2 h. La mezcla de reacción se adicionó lentamente a una pasta aguada preenfriada de $NaHCO_3$ (3.8 g) en $H_2O$ (3 ml). La mezcla se extrajo con $CH_2Cl_2$ (6 ml x

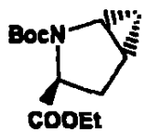
360

5), y las capas de $CH_2Cl_2$ combinadas se evaporaron y se purificaron por HPLC preparativa para dar el compuesto del título como un polvo blanco, 77 mg. 57% de rendimiento, pf = 141-143°C. LC/MS dio el ion molecular correcto [$(M+H)^+$ = 222] para el compuesto deseado.

Ejemplo 2



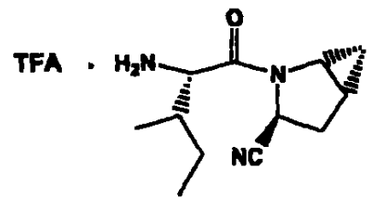

A.




El compuesto del título de la Parte A se sintetizó siguiendo el procedimiento de la literatura. [Stephen Hanessian, Ulrich Reinhold, Michel Saulnier, y Stephen Claridge; Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 8 (1998) 2123-2128.]

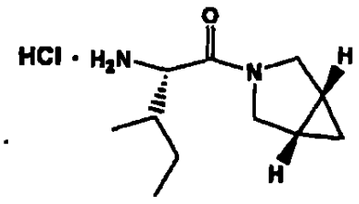
361

B.

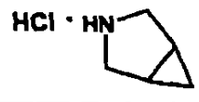



El compuesto del título se preparó a partir del compuesto de la Parte A, empleando el mismo procedimiento como aquel descrito para las Partes B-G de los compuestos del Ejemplo 1. LC/MS da el ion molecular correcto [(M+H)$^+$ = 222] para el compuesto deseado.

## Ejemplo 3

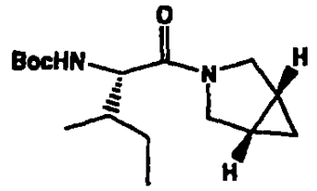



A.



El compuesto del título de la Parte A se preparó siguiendo el procedimiento de la literatura. [Willy D. Kollmeyer, Patente Norteamericana 4,183,857.].

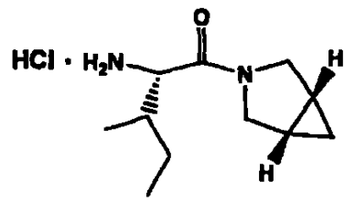
B.




A una solución agitada de (S)-N-terc-butoxicarbonil-isoleucina (231 mg, 1 mmol) y hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitripirrolidinofosfonio (780 mg, 1.5 mmol) en $CH_2Cl_2$ (6 ml) bajo nitrógeno a temperatura ambiente se adicionó 4-metilmorfolina (0.33 ml, 3 mmol). Después de 5 min, el compuesto de la Parte A (120 mg, 1 mmol) se adicionó en una porción. La mezcla de reacción se agitó bajo nitrógeno a temperatura ambiente durante la noche y luego se diluyó con $CH_2Cl_2$ (30 ml), se lavó con 4.1% de $KHSO_4$ (10 ml), $NaHCO_3$ acuoso (10 ml), salmuera (10 ml), se secó ($Na_2SO_4$) y se evaporó. La purificación por cromatografía

instantánea sobre gel de sílice (columna de 2.4 x 20 cm, 1:3 EtOAc/hexano) dio el compuesto del título como un aceite incoloro, 290 mg, 90% de rendimiento. LC/MS dio el ion molecular correcto [(M+H)$^+$ = 297] para el compuesto deseado.

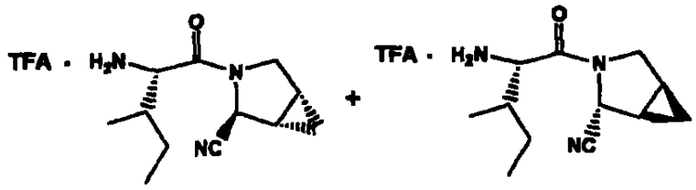
C.




La mezcla de reacción del compuesto de la Parte B (220 mg, 0.74 mmol) y HCl 4 M en dioxano (1.5 ml, 6 mmol) se agitó a temperatura ambiente por 2 h y se evaporó bajo presión reducida. $Et_2O$ se adicionó al residuo y se formó un precipitado. $Et_2O$ se decantó y esto se hizo tres veces. El precipitado se secó *in vacuo* para dar el compuesto del título como un polvo blanco, 130 mg (76% de rendimiento), pf 205-206°C. LC/MS dio el ion molecular correcto [(M+H)$^+$ = 197] para el compuesto deseado.

364/16

## Ejemplos 4-4A



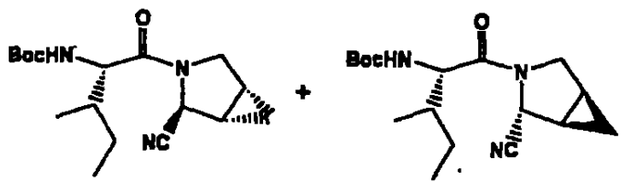

(Ejemplo 4) (Ejemplo 4A)

A.




El compuesto del título de la Parte A, como una relación o proporción 1:1 de enantiómeros, se preparó siguiendo el procedimiento de la literatura. [Willy D. Kollmeyer, Patente Norteamericana 4,183,857.]

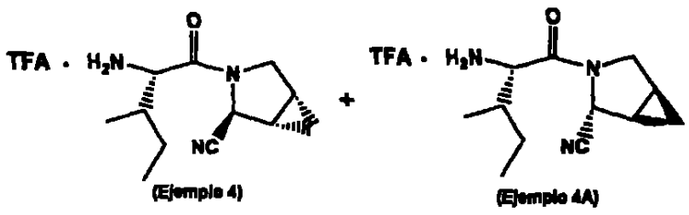
B.



365

Una pasta aguada de (S)-N-terc-butoxicarbonil-isoleucina (92.5 mg, 0.4 mmol), 1-[(3-(dimetil)amino)propil]-3-etilcarbodiimida (77 mg, 0.4 mmol) y 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (54.4 mg, 0.4 mmol) en $ClCH_2CH_2Cl$ (0.3 ml) se agitó bajo nitrógeno a temperatura ambiente por 1 h, luego se adicionó el compuesto de la Parte A (22 mg, 0.2 mmol), seguido por $Et_3N$ (0.015 ml, 0.1 mmol). La mezcla de reacción se agitó bajo nitrógeno a temperatura ambiente durante la noche y luego se diluyó con $CH_2Cl_2$ (3 ml), se lavó con $H_2O$ (1 ml), $NaHCO_3$ acuoso (1 ml) y salmuera (1 ml), se secó ($Na_2SO_4$) y se evaporó. La purificación por cromatografía instantánea sobre gel de sílice (columna de 2.4 x 12 cm, 2:7 EtOAc/hexano) dio el compuesto del título como un aceite sin color, 33 mg, 51% de rendimiento. LC/MS dio el ion molecular correcto [$(M+H)^+$ = 322] para el compuesto deseado.

C.

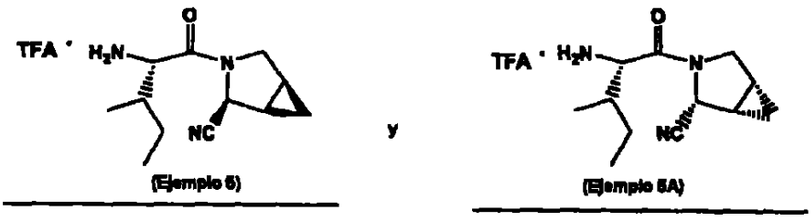



(Ejemplo 4) (Ejemplo 4A)

366

A una solución agitada del compuesto de la Parte B (30 mg, 0.4 mmol) en $CH_2Cl_2$ (0.5 ml) a temperatura ambiente se adicionó ácido trifluoroacético (0.5 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 2 h. La mezcla de reacción se adicionó lentamente a una pasta aguada preenfriada de $NaHCO_3$ (0.8 g) en $H_2O$ (1 ml). La mezcla se extrajo con $CH_2Cl_2$ (2 ml x 5), y capas de $CH_2Cl_2$ combinadas se evaporaron y se purificaron por HPLC preparativa para dar los compuestos del título como una proporción 1:1 de diastereómeros, 22 mg, 73% de rendimiento. LC/MS dio el ion molecular correcto [$(M+H)^+$ = 222] para los compuestos deseados.

## Ejemplos 5-5A




(Ejemplo 5) (Ejemplo 5A)

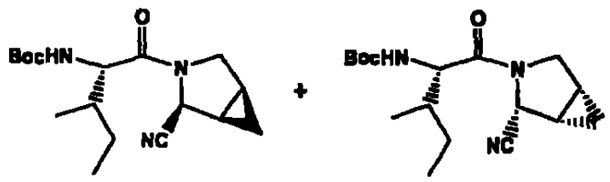
A.



367

A una solución del Ejemplo 4, compuesto de la Parte A (150 mg, 1.39 mmol) en 2-propanol (0.8 ml), se adicionó NaCN (40 mg, 1.0 mmol). La mezcla de reacción se calentó a reflujo por 3 h. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se evaporó y luego se formó una pasta aguada en $Et_2O$ (5 ml). Después de la filtración, el filtrado se evaporó para dar los compuestos del Ejemplo 4 Parte A y los compuestos del Ejemplo 5 Parte A (140 mg, 93%) como una mezcla 2:1 de diastereómeros, cada uno como una mezcla racémica.

B.

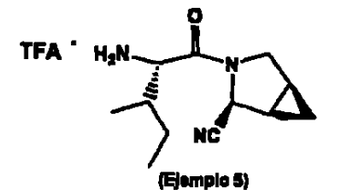



Una pasta aguada de (S)-N-terc-butoxicarbonil-isoleucina (595 mg, 2.57 mmol), 1-[(3-(dimetil)amino)propil]-3-etilcarbodiimida (493 mg, 2.57 mmol) y 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (350 mg, 2.57 mmol) en $ClCH_2CH_2Cl$

368

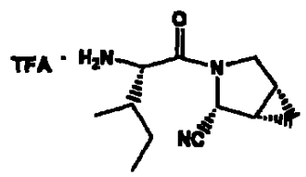
(2 ml) se agitó bajo nitrógeno a temperatura ambiente por 1h, luego la mezcla del compuesto de la Parte A (139 mg, 1.285 mmol) se adicionó. La mezcla de reacción se agitó bajo nitrógeno a temperatura ambiente durante la ncche y luego se diluyó con $CH_2Cl_2$ (30 ml), se lavó con $H_2O$ (10 ml), $NaHCO_3$ acuoso saturado (10 ml) y salmuera (10 ml), se secó ($Na_2SO_4$) y se evaporó. La purificación por cromatografía instantánea sobre gel de sílice (columna de 2.4 x 20 cm, 1:3 EtOAc/hexano) dio el compuesto del Ejemplo 4, Parte B (260 mg), y los compuestos del título (105 mg) como una proporción o relación de 1:1 diastereómeros. LC/MS dio el ion molecular correcto [(M+H)$^+$ = 322] para los compuestos deseados.

C.




(Ejemplo 5)

y



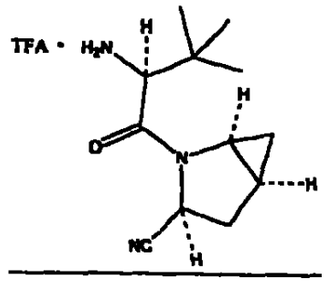

(Ejemplo 5A)

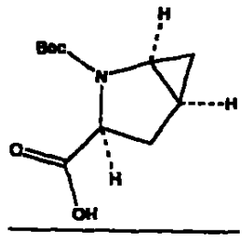
369

A una solución agitada de los compuestos de la Parte B (104 mg, 0.32 mmol) en $CH_2Cl_2$ (1 ml) a temperatura ambiente se adicionó ácido trifluoroacético (1 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 2 h. La mezcla de reacción se adicionó lentamente a una pasta aguada preenfriada de $NaHCO_3$ (2 g) en $H_2O$ (2 ml). La mezcla se extrajo con $CH_2Cl_2$ (4 ml x 4), y las capas $CH_2Cl_2$ combinadas se evaporaron y purificaron por HPLC preparativa para dar el compuesto del título del Ejemplo 5 (36 mg) y del Ejemplo 5A (36 mg). LC/MS dio el ion molecular correcto [(M+H)$^+$ = 222] para los compuestos deseados.

## Ejemplo 6

A.

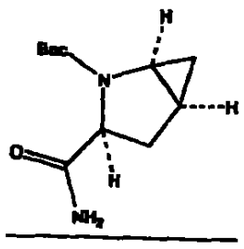


370.2

A una solución agitada del compuesto del Ejemplo 1 Parte A (1.40 g, 5.49 mmol) en 40 ml de una solución 1:1 metanol:agua a temperatura ambiente se adicionó hidróxido de litio (0.20 g; 8.30 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente por 18 h y luego se calentó a 50°C por 2 h. La mezcla se diluyó con volúmenes iguales de éter y agua (50 ml) y luego se acidificó con $KHSO_4$ a pH 3. La solución lechosa se extrajo con éter (3 x 20 ml). Las capas de éter combinadas se secaron sobre $Na_2SO_4$ y se evaporaron. El residuo se despojó de tolueno (2 x 10 ml) y se secó bajo presión reducida para dar el compuesto del título como un jarabe espeso, 1.20 g, 96%.

B.

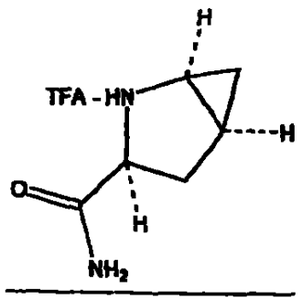



A una solución agitada del compuesto de la Parte A (1.20 g, 5.28 mmol) en THF (20 ml) a -15°C bajo nitrógeno se adicionó 4-

371

metilmorfolina (0.71 ml, 6.50 mmol) y luego cloroformato de isobutilo (0.78 ml, 6.00 mmol) durante 5 minutos. La reacción se agitó a -15°C por 30 min, se enfrió a -30°C y se trató con una solución de $NH_3$ en dioxano (50 ml, 25 mmol). La mezcla de reacción se agitó a -30°c por 30 min, se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió rápidamente con solución de ácido cítrico (pH 4) y se extrajo con éter (3 x 50 ml). Las fracciones orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre $Na_2SO_4$ y se concentraron. La purificación por cromatografía de columna instantánea sobre gel de sílice con acetato de etilo dio el compuesto del título, 1.00 g, 84%.

C.

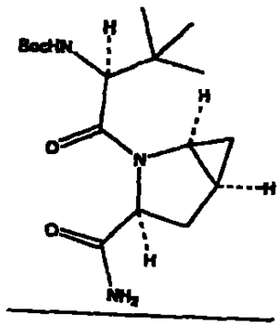



A una solución agitada del compuesto de la Parte B (0.90 g, 4.00 mmol) en diclorometano

372

(3 ml) a 0°C se adicionó ácido trifluoroacético (3 ml). La mezcla de reacción se agitó a 0°C por 18 h. La mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para producir el compuesto del título en la forma de un aceite espeso, 0.98 g, 100%. El aceite gradualmente se solidificó durante el reposo prolongado.

D.

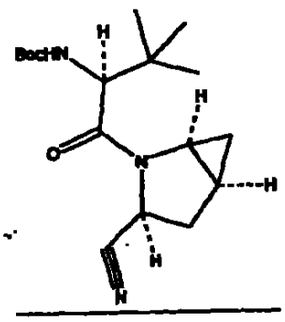



Un tubo de prueba de 15 ml secado en horno se cargó con el compuesto de la Parte C (56 mg, 0.22 mmol), N-terc-butoxicarbonil-(L)-terc-leucina (53 mg, 0.23 mmol), dimetilaminopiridina (0.11 g, 0.88 mmol), y diclorometano (4 ml). El tubo se selló bajo atmósfera de nitrógeno y se trató con 1-[(3-(dimetil)amino)propil]-3-etilcarbodiimida (84 mg, 0.44 mmol). La mezcla se colocó en un

sacudidor y en un vórtex para hacerla girar durante la noche. El producto se purificó por extracción de fase sólida usando una columna de United Technology SCX (2 g de sorbente en una columna de 6 ml) cargando el material sobre una columna de intercambio de iones SCX y sucesivamente se lavó con diclorometano (5 ml), 30% de metanol en diclorometano (5 ml), 50% de metanol en diclorometano (5 ml) y metanol (10 ml). El producto que contienen fracciones se concentró bajo presión reducida para dar la amida deseada. La purificación adicional por cromatografía de columna preparativa de fase inversa sobre una columna YMC S5 ODS 20 x 250 mm dio el compuesto del titulo, 50 mg (68% de rendimiento). Condiciones de purificación: elución de gradiente desde 30% metanol/agua/0.1 ácido trifluoroacético a 90% metanol/agua/0.1 ácido trifluroacético durante 15 minutos. 5 minutos se mantuvo a 90% metanol/agua/0.1 ácido trifluoroacético. Velocidad de Flujo: 20 ml/min. Longitud de onda de detección: 220. Tiempo de retención: 14 min.

374

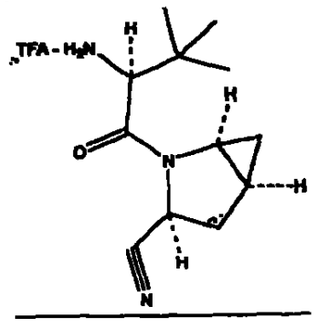
E.



Un tubo de prueba de 15 ml secado en horno se cargó con el compuesto de la Parte D (50 mg, 0.15 mmol), imidazol (31 mg, 0.46 mmol), y piridina (1 ml). El tubo se selló bajo atmósfera de nitrógeno y se enfrió a -30°C. La adición lenta de $POCl_3$ (141 mg, 88 uL, 0.92 mmol) dio después del mezclado una pasta espesa. El tubo se mezcló a -30°C por 3 h y las substancias volátiles se evaporaron. El producto se purificó por extracción de fase sólida usando una columna de extracción de silice de United Technology (2 g de sorbente en una columna de 6 ml) cargando el material sobre una columna de silice y lavando sucesivamente con diclorometano (5 ml), 5% de metanol en diclorometano (5 ml), 7% de metanol en diclorometano (5 ml) y 12% de metanol en diclorometano (10 ml). Las

fracciones que contienen el producto se reagrupan y se concentran bajo presión reducida para dar el compuesto del título, 46 mg, 96%.

F.




Un tubo de prueba de 15 ml secado en horno se cargó con el compuesto de la Parte E (0.45 mg, 0.14 mmol), diclorometano (1 ml), y ácido trifluoroacético (1 ml). La mezcla de reacción se sometió a un vórtex por 40 minutos a temperatura ambiente, diluido con tolueno (4 ml) y se concentró bajo presión reducida hasta un aceite espeso. El producto se purificó por cromatografía de columna preparativa de fase inversa sobre una columna YMC S5 ODS 20 X 250 mm para dar el compuesto del Ejemplo 6, 14 mg, 35%. Condiciones de purificación: elución de gradiente desde 10% de metanol/agua/0.1 de ácido

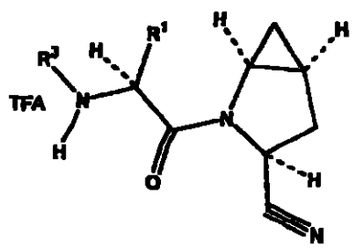
376

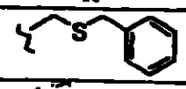
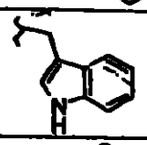
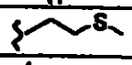
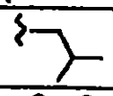
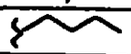
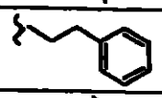
trifluoroacético a 90% de metanol/agua/0.1 de ácido trifluoroacético durante 18 minutos. 5 minutos mantenido a 90% de metanol/agua/0.1 de ácido trifluoroacético. Velocidad de flujo: 20 ml/min. Longitud de onda de detección: 220. Tiempo de retención: 10 min.

Los siguientes compuestos de la invención (Ejemplos 7 a 16) se prepararon empleando el procedimiento resumido en el Ejemplo 6.

377

**TABLA 1**

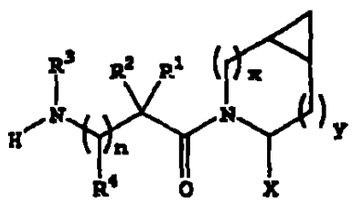



| Ejemplos | $R^1$ | $R^2$ | [M + H] |
|---|---|---|---|
| 7 |  | H | 302 |
| 8 |  | H | 295 |
| 9 |  | H | 240 |
| 10 |  | H | 222 |
| 11 |  | H | 222 |
| 12 |  | Me | 222 |
| 13 |  | H | 208 |
| 14 |  | H | 270 |
| 15 |  | H | 222 |
| 16 | $-CH_2CH_2CH_2-$ | | 206 |

378

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la estructura



en donde x es 0 ó 1 y y es 0 ó 1 siempre que

x = 1 cuando y = 0 y

x = 0 cuando y = 1; y en donde

n es 0 ó 1;

X es H o CN;

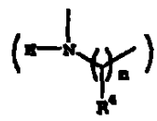
$R^1$, $R^2$, $R^3$ y $R^4$ son los mismos o diferentes y se seleccionan en forma independiente de hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, bicicloalquilo, bicicloalquilalquilo, alquiltioalquilo, arilalquiltioalquilo, cicloalquenilo, arilo, aralquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloheteroalquilo o cicloheteroalquilalquilo; todos substituidos opcionalmente a través de átomos de carbono disponibles con 1, 2, 3, 4 ó 5 grupos

379

seleccionados de hidrógeno, halo, alquilo, polihaloalquilo, alcoxi, haloalcoxi, polihaloalcoxi, alcoxicarbonilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, policicloalquilo, heteroarilamino, arilamino, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilalquilo, hidroxi, hidroxialquilo, nitro, ciano, amino, amino substituido, alquilamino, dialquilamino, tiol, alquiltio, alquilcarbonilo, acilo, alcoxicarbonilo, aminocarbonilo, alquinilaminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, alquenilaminocarbonilo, alquilcarboniloxi, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alquilsulfonilamino, alquilaminocarbonilamino, alcoxicarbonilamino, alquilsulfonilo, aminosulfinilo, aminosulfonilo, alquilsulfinilo, sulfonamido o sulfonilo;

y $R^1$ y $R^3$ se pueden tomar opcionalmente de manera conjunta para formar $-(CR^5R^6)_m-$ en donde m es 2 a 6, y $R^5$ y $R^6$ son los mismos o diferentes y se seleccionan en forma independiente a partir de hidroxi, alcoxi, H, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, cicloalquenilo, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo,

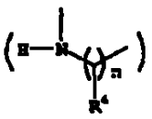
cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilalquilo, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alcoxicarbonilamino, ariloxicarbonilamino, alcoxicarbonilo, ariloxicarbonilo, o alquilaminocarbonilamino, o $R^1$ y $R^4$ se pueden tomar opcionalmente de manera conjunta para formar $-(CR^7R^8)_p-$ en donde p es 3 a 6, y $R^7$ y $R^8$ son los mismos o diferentes y se seleccionan independientemente de hidroxi, alcoxi, ciano, H, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, cicloalquenilo, arilo, arilalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilalquilo, alquilcarbonilamino, arilcarbonilamino, alcoxicarbonilamino, ariloxicarbonilamino, alcoxicarbonilo, ariloxicarbonilo, o alquilaminocarbonilamino, u



opcionalmente $R^1$ y $R^3$ conjuntamente con forman un anillo de 5 a 7 elementos que contienen un total de 2 a 4 heteroátomos seleccionados de N, O, S, SO, o $SO_2$;

u opcionalmente $R^1$ y $R^3$ conjuntamente

381

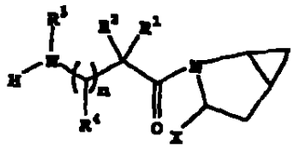


con forman un anillo cicloheteroalquilo de 4 a 8 elementos en donde el anillo cicloheteroalquilo tiene un anillo arilo opcional fusionado a éste o un anillo cicloalquilo de 3 a 7 elementos, opcional, fusionado a éste;

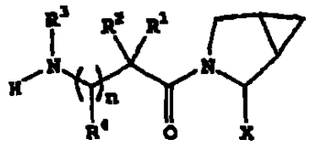
que incluyen todos los estereoisómeros de los mismos;

y una sal de los mismos farmacéuticamente aceptable, o un éster profármaco de los mismos.

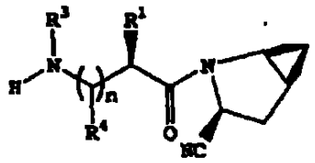
2. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, que tiene la estructura



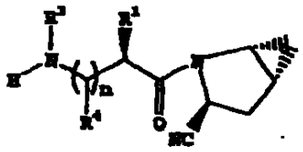
3. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, que tiene la estructura



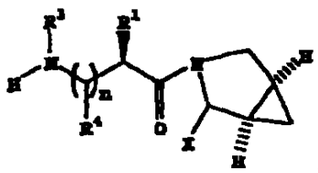
4. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, que tiene la estructura



5. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1 que tiene la estructura

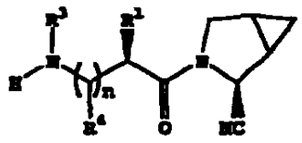


6. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, que tiene la estructura:

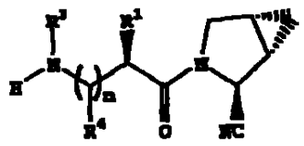


383

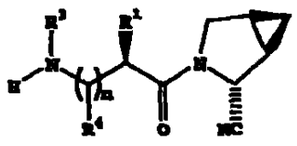
7. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, que tiene la estructura



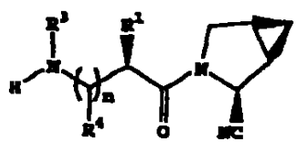
8. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, que tiene la estructura



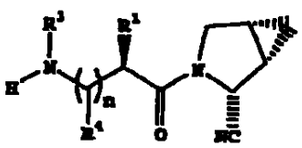
o



9. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, que tiene la estructura



o



384

10. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1 donde

$R^3$ es H, $R^1$ es H o alquilo,

$R^2$ es H o alquilo, n es 0,

X es CN, x es 0 ó 1 y

Y es 0 ó 1.

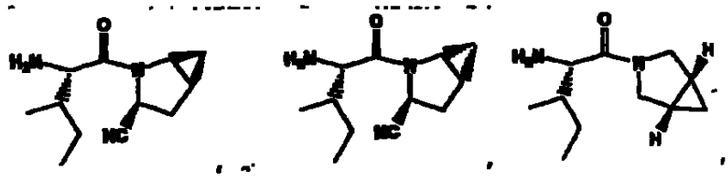
11. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1 en donde X es CN o tiene la configuración es  o  .

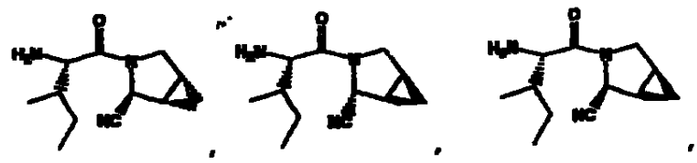
12. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, en donde el ciclopropilo fusionado a la pirrolidina tiene la configuración

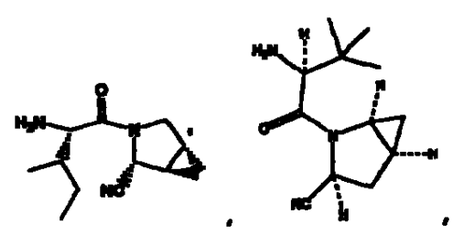


385

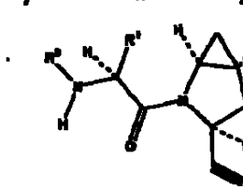
13. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, que tiene la estructura

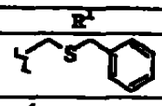
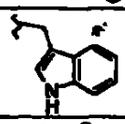
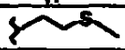
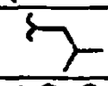
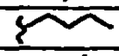
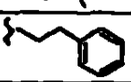








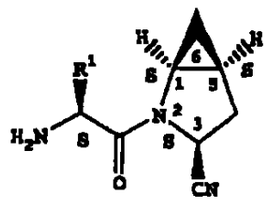


| $R^1$ | $R^2$ |
|---|---|
|  | H |
|  | H |
|  | H |
|  | H |
|  | H |
|  | Me |
|  | H |
|  | H |
|  | H |
| $-CH_2CH_2CH_2-$ | |

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

14. El compuesto de conformidad con la reivindicación 13, en donde la sal farmacéuticamente aceptable es la sal de clorhidrato.

15. El compuesto de conformidad con la reivindicación 1, el cual es

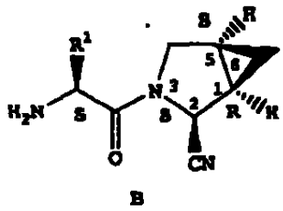


A

(1S,2(2S),3S,5S)

en donde $R^1$ es alquilo, cicloalquilo o bicicloalquilo,

o



B

387

(1R,2S,3(2S),5S)

en donde $R^1$ es alquilo, cicloalquilo o bicicloalquilo.

16. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de conformidad con la reivindicación 1 y un portador del mismo farmacéuticamente aceptable.

17. Una combinación farmacéutica que comprende un compuesto inhibidor de DP4 como se definió en la reivindicación 1 y un agente antidiabético menos un inhibidor de DP4, un agente anti-obesidad y/o un agente modulador de lípidos.

18. La combinación farmacéutica de conformidad con la reivindicación 12, que comprende el compuesto inhibidor de DP4 y un agente antidiabético.

19. La combinación de conformidad con la reivindicación 13, en donde el agente antidiabético es 1, 2, 3 o más de una biguanida, una sulfonilurea, un inhibidor de glucosidasa, un agonista PPAR γ, un agonista dual PPAR α/γ, un inhibidor de SGLT2, un inhibidor de aP2, un sintetizador de insulina, un péptido-1 semejante al glucagon (GLP-1), insulina y/o una meglitinida.

20. La combinación de conformidad con la reivindicación 19, en donde el agente antidiabético es 1, 2, 3 o más de metformina, gliburida, glimepirida, glipirida, glipizida, clorpropamida, gliclazida, acarbosa, miglitol, pioglitazona, troglitazona, rosiglitazona, insulina, G1-262570, isaglitazona, JTT-501, NN-2344, L895645, YM-440, R-119702, AJ9677, repaglinida, nateglinida, KAD1129, AR-HO39242, GW-409544, KRP297, AC2993, LY315902, y/o NVP-DPP-728A.

389

21. La combinación de conformidad con la reivindicación 18, en donde el compuesto está presente en una relación o proporción en peso al agente antidiabético dentro del rango desde aproximadamente 0.01 a en forma aproximada 100:1.

22. La combinación de conformidad con la reivindicación 17, en donde el agente antiobesidad es un agonista adrenérgico beta 3, un inhibidor de lipasa, un inhibidor de reabsorción de serotonina (y dopamina), un compuesto beta receptor de la tiroide y/o un agente anoréctico.

23. La combinación de conformidad con la reivindicación 22, en donde el agente antiobesidad es orlistat, ATL-962, AJ9677, L750355, CP331648, sibutramina, topiramato, oxacina, dexanfetamina, fentermina, fenilpropanolamina, y/o mazindol.

24. La combinación de conformidad con la reivindicación 17, en donde el agente modulador de lípidos es un inhibidor de MTP, un inhibidor de reductasa de HMG CoA, un inhibidor de escualeno sintetasa, un derivado del ácido fíbrico, un superregulador de la actividad del receptor de LDL, un inhibidor de lipoxigenasa, o un inhibidor de ACAT.

25. La combinación de conformidad con la reivindicación 24, en donde el agente de modulación de lípidos es pravastatina, lovastatina, simvastatina, atorvastatina, cerivastatina, fluvastatina, nisvastatina, visastatina, fenofibrato, gemfibrozil, clofibrato, avasimiba, TS-962, MD-700, y/o LY295427.

26. La combinación de conformidad con la reivindicación 24, en donde el inhibidor de DP4 está presente en una relación o proporción en peso al agente modulador de lípidos dentro del

391

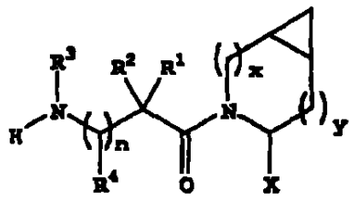
rango desde aproximadamente 0.01 a en forma aproximada 100:1.

27. Un método para tratar diabetes, resistencia a la insulina, hiperglicemia, hiperinsulinemia, o elevados niveles en la sangre de ácidos grasos libres o glicerol, obesidad, Síndrome X, complicaciones diabéticas, hipertrigliceridemia o aterosclerosis o una enfermedad inmunomoduladora o una enfermedad inflamatoria de los intestinos, crónica, la cual comprende administrar a una especie de mamífero con necesidad del tratamiento, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto como se define en la reivindicación 1.

3927

## RESUMEN DE LA INVENCION

Se proporcionan compuestos inhibidores de la dipeptidil peptidasa IV (DP 4) que tienen la fórmula



en donde x es 0 ó 1 y y es 0 ó 1 (siempre que x = 1 cuando y = 0 y x = 0 cuando y = 1);

n es 0 ó 1; X es H o CN;

y donde $R^1$, $R^2$, $R^3$ y $R^4$ son como se describió aquí.

También se proporciona un método para tratar diabetes y enfermedades relacionadas, especialmente diabetes Tipo II, empleando tal inhibidor DP 4 o una combinación de tal inhibidor DP 4 y uno o más de otros agentes antidiabéticos tales como metformina, gliburida, troglitazona, pioglitazona, rosiglitazona y/o

393

insulina y/o uno o más de un agente hipolipidémico y/o agente anti obesidad.

394 96

**PODER DEL ABOGADO**
**PARA LA SOLICITUD PROVISIONAL**

Número del Documento del Abogado LA50(PSP'

Jeffrey A. Robl., nombrado inventor(es) de la solicitud Provisional para la patente Estadounidense para INHIBIDORES A BASE DE PIRROLIDINA FUSIONADA CON CICLOPROPILO DE DIPEPTIDIL PEPTIDASA IV Y METODO

☒ una copia del cual se adjunta a esta

☐ que tiene el Número de Solicitud_____ presentado_____, 1999

se hace(n) con ello designación a Burton Rodney, Reg. No. 22,076, Stephen B. Davis, Reg. No. 26,693, Suzanne E. Babajko, Reg. No. 32,880, Joan E. Switzer, Reg. 34,740, Ronald S. Hermenau, Reg. No. 34,620, John M. Kilcoyne Reg. No. 33,100, y Timothy J. Babcock, Reg. No. 39,097, Post Office Box 4000, Princeton, New Jersey, 08543-4000; todos de Bristol-Myers Squibb Company, mis gentes y/o abogados para continuar esta solicitud y para gestionar todos los negocios en la Oficina de Patentes y Marcas conectadas con esta.

Favor de enviar correspondencia a:

Burton Rodney
Bristol Myers Squibb Company
P.O. Box 4000
Princeton, N.J, 08543-4000

Dirigir las llamadas telefónicas a: (609) 252-4336

Fecha: Marzo 10, 2000

Jeffrey A. Robl
Nombre del inventor impreso o tipeado

_____
Firma del Inventor

7 ulip Drive
Dirección de la Oficina Postal

Newtown, PA 18940

☐ Agregar pagina(s) para firma(s) por los inventores nombrados adicionalmente

397

**Industria y Comercio**
SUPERINTENDENCIA

395

## REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE

**PATENTE DE INVENCIÓN [ ]** **MODELO DE UTILIDAD [ ]**

- Indicación de que se solicita la concesión de una patente [ ]
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [ ]
- Descripción de la invención [ ]
- Dibujos de ser estos pertinentes [ ]
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas [ ]

COMPLETA [ ] INCOMPLETA [ ]

**DISEÑO INDUSTRIAL [ ]**

- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial [ ]
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud. [ ]
- Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño . [ ]
- Comprobante de pago de las tasas establecidas. [ ]

COMPLETA [ ] INCOMPLETA [ ]

**ESQUEMA DE TRAZADO [ ]**

- Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de trazado. [ ]
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud. [ ]
- Representación gráfica del esquema de trazado [ ]
- Comprobante de pago de las tasas establecidas. [ ]

COMPLETA [ ] INCOMPLETA [ ]

Firma Responsable

Fecha:

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5 y 10
Conmutador: 334 12 21-2-3-4
Fax: 281 31 25 e-mail: info@sic.gov.co
Santa Fe de Bogotá D.C. -Colombia

EXTRACTO 480

2001-10857 396

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

Horas 8/200

**FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD DE PATENTE**
**2980-3**

**(1) SOLICITUD DE :**

[X] Patente de Invención. [ ] Patente de Modelo de Utilidad.

| | | |
|---|---|---|
| **(2) SOLICITANTE (71)** | Nombre: BRISTOL – MYERS SQUIBB COMPANY<br>Dirección: P.O. Box 4000, Princeton, New Jersey 08543-4000<br>Teléfono: Fax:<br>E-mail:<br>Domicilio: Estados Unidos | **IDENTIFICACIÓN**<br>C.C. [ ] NIT [ ]<br>C.E. [ ] Otro [ ]<br>Número _____ |
| **(3) REPRESENTANTE O APODERADO (74)** | Nombre: ROMERO CASTRO DUQUE<br>Dirección: Cra 7 No. 16-56 Piso 9<br>Teléfono: 3-802200 Fax:<br>E-mail: | **IDENTIFICACIÓN**<br>C.C. [ ] NIT [ ]<br>C.E. [ ] Otro [ ]<br>Número _____ TP____ |
| **(4) INVENTOR (ES) (72)** | Nombre: En Hoja Anexa<br>Dirección:<br>Teléfono: Fax:<br>E-mail:<br>Domicilio | **IDENTIFICACIÓN**<br>C.C. [ ] Otro [ ]<br>C.E. [ ]<br>Número _____ |

**(5) Título (54)** [redacted]

**(6) Clasificación Internacional (51)** A61K 31/435

| **(7) Prioridad** SI [X] NO [ ] | (33) País de Origen | (32) Fecha | (31) Número de Solicitud |
|---|---|---|---|
| | US | 00-03-10 | 60/188,555 |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

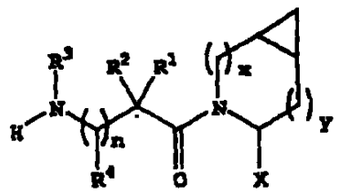
**(8) Para publicar a partir de la fecha de la presente solicitud a los:**
6 meses [ ] 12 meses [ ] 18 meses [ ] Otro [ ]

**(9) Comprobante de pago No.** 6,840 - 8,217 **Fecha** Febrero/2001

Instrucciones para el diligenciamiento del presente formulario, ver reverso de esta página.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la estructura



en donde x es 0 ó 1 y *y* es 0 ó 1 siempre que

x = 1 cuando y = 0 y

x = 0 cuando y = 1; y en donde

n es 0 ó 1;

X es H o CN;

$R^1$, $R^2$, $R^3$ y $R^4$ son los mismos o diferentes y se seleccionan en forma independiente de hidrógeno, alquilo, alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, bicicloalquilo, bicicloalquilalquilo, alquiltioalquilo, arilalquiltioalquilo, cicloalquenilo, arilo, aralquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo, cicloheteroalquilo o cicloheteroalquilalquilo; todos substituidos opcionalmente a través de átomos de carbono disponibles con 1, 2, 3, 4 ó 5 grupos

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

398

# INFORME DE PROTOCOLO

Expediente 01-18857.

Fecha: 4 de mayo del 2001.

Se certifica que:

Desde fecha 7 de mayo de 1999, del folio 106.177 al folio 106.186 del libro de Protocolo N° 370, obra el poder N° 19358 conferido por BRISTOL-MYERS SQUIBB COMPANY

domiciliado(a) en Princeton, New Jersey, E.U.A.

al doctor Ramiro Castro Duque y/o Hector Gòmez Mejìa.

Facultad para desistir y sustituir sì.

Revisado.

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador: 382 0840
Fax: 382 2695
E-mail: info@sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

403

**Industria y Comercio**
**SUPERINTENDENCIA**

399

2020
Bogotá, D.C.

Doctor
RAMIRO CASTRO DUQUE
Apoderado

| | | |
|---|---|---|
| **REFERENCIA:** | Radicación No. | 01-18857 |
| | Trámite | 002 |
| | Evento | 001 |
| | Actuación | 430 |
| | Oficio No. | 1384 |
| | Folios | 001 |

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le comunica que:

- Debe allegar copia del documento en que conste la cesión del derecho a la patente otorgado por el inventor al solicitante o a su causante (art. 26-k,Dec 486/2000).

En cumplimiento del artículo 39 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le requiere para que dentro del término de dos (2) meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el artículo 8 de la Resolución Reglamentaria No. 210 del 15 de enero del 2001.

**ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL**
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha 10 MAYO 2001.

202027/202022

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador: 382 0840
Fax: 382 2695
E-mail: info@sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia