

# DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

## SOLICITUD FASE NACIONAL - PCT

### 1 Titulo de la Invención(200 caracteres o espacios máximos)

INHIBIDOR DE GRELINA O-ACIL TRANSFERASA

### 2 Datos del Solicitante

|                   |                                                    |                                        |                                                    |
|-------------------|----------------------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------------------|
| <b>Nombre:</b>    | ELI LILLY AND COMPANY                              | <b>Dirección Electrónica:</b>          | patents@olartemoure.com                            |
| <b>Dirección:</b> | Lilly Corporate Center Indianapolis, Indiana 46285 | <b>Domicilio/País de constitución:</b> | ESTADOS UNIDOS DE AMERICA - INDIANA - INDIANAPOLIS |

#### Identificación:

|                                                        |                                                |
|--------------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| <input type="checkbox"/> CEDULA DE CIUDADANIA          | <input type="checkbox"/> CEDULA DE EXTRANJERIA |
| <input checked="" type="checkbox"/> EMPRESA EXTRANJERA | <input type="checkbox"/> NIT                   |
| <input type="checkbox"/> PASAPORTE                     |                                                |

**Número:** 4099655-

### 3 Solicitantes

| Apellidos - Nombres o Razón Social | Tipo | Identificación |
|------------------------------------|------|----------------|
| 1. ELI LILLY AND COMPANY           | NN   | 4099655        |

### 4 Datos del Inventor

|                |                             |                               |                         |
|----------------|-----------------------------|-------------------------------|-------------------------|
| <b>Nombre:</b> | Maria Angeles MARTINEZ-GRAU | <b>Dirección Electrónica:</b> | patents@olartemoure.com |
|----------------|-----------------------------|-------------------------------|-------------------------|

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        |                                           |                                                      |                                            |                                                             |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------|------------------------------------------------------|--------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| <b>Dirección:</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |                                           | P.O. BOX 6288<br>Indianapolis, Indiana<br>46206-6288 | <b>Domicilio/País de<br/>constitución:</b> | ESTADOS UNIDOS<br>DE AMERICA -<br>INDIANA -<br>INDIANAPOLIS |
| <b>Identificación:</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                           |                                                      |                                            |                                                             |
| <div><div><input type="checkbox"/> CEDULA DE<br/>CIUDADANIA</div><div><input type="checkbox"/> EMPRESA<br/>EXTRANJERA</div><div><input type="checkbox"/> PASAPORTE</div></div> <div><div><input type="checkbox"/> CEDULA DE<br/>EXTRANJERIA</div><div><input type="checkbox"/> NIT</div><div><input checked="" type="checkbox"/> No Aplica</div></div> |                                           |                                                      |                                            |                                                             |
| <b>Número:</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                           |                                                      | -                                          |                                                             |
| 5                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Inventor(es)                              |                                                      |                                            |                                                             |
| <b>Apellidos - Nombres</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |                                           | <b>Domicilio</b>                                     |                                            |                                                             |
| 1. MARTINEZ-GRAU Maria Angeles                                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |                                           | ESTADOS UNIDOS DE AMERICA                            |                                            |                                                             |
| 6                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Datos Inventor(es)                        |                                                      |                                            |                                                             |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <b>País de Residencia</b>                 | <b>Departamento/Estado</b>                           | <b>Ciudad</b>                              | <b>Dirección</b>                                            |
| 1.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | ESTADOS<br>UNIDOS DE<br>AMERICA           | INDIANA                                              | INDIANAPOLIS                               | P.O. BOX 6288<br>Indianapolis,<br>Indiana 46206-<br>6288    |
| 7                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | Datos del Representante Legal / Apoderado |                                                      |                                            |                                                             |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <b>Nombre:</b>                            | CARLOS R. OLARTE<br>GARCIA                           | <b>Dirección<br/>Electrónica:</b>          | patents@olartemoure.com                                     |
|                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <b>Dirección:</b>                         | patents@olartemoure.com                              | <b>Domicilio/País de<br/>constitución:</b> | COLOMBIA - BOGOTA<br>D.C. - BOGOTA D.C.                     |
| <b>Identificación:</b>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                 |                                           |                                                      |                                            |                                                             |

☒ CEDULA DE CIUDADANIA  
☐ EMPRESA EXTRANJERA  
☐ PASAPORTE

☐ CEDULA DE EXTRANJERIA  
☐ NIT

Número:

79782747-

### Presentación de Poder

Año de Radicación

Número de Radicación

8

### Datos Solicitud: PCT / WO

Número Solicitud:

PCT/US2014/064202

Fecha Solicitud:

06/11/2014

Número Publicacion:

WO2015/073281

Fecha Publicacion:

21/05/2015

9

### Declaraciones de prioridad

☒ SI ☐ NO

|    | (33) País de origen               | Codigo del país | (31) No. Solicitud | (32) Fecha |
|----|-----------------------------------|-----------------|--------------------|------------|
| 1. | EUROP PATENT<br>ORGANIZATION(EPO) | EP              | 13382460.7         | 14/11/2013 |

10

### Reivindicaciones

Número reivindicaciones:

18

Pago Reivindicaciones:

No

11

### Reducción de tasas.

*Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente.*

☐ SI ☒ NO

**Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.**

- ☐ Micro, pequeñas y medianas empresas  
☐ Universidades públicas o privadas  
☐ Entidades sin ánimo de lucro

**Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos**

12

### Documentos Anexos

- ☒ Reivindicaciones  
☒ Descripción  
☐ Dibujos y/o Figuras  
☒ Resumen  
☐ Certificado Depósito Material Biológico  
☐ Uso de Conocimiento tradicional

- ☐ Listado de secuencias
- ☐ Artes finales 12 x 12 cm
- ☒ Poderes, si fuere el caso
- ☐ Copia de la primera solicitud si se reivindica prioridad
- ☐ Traducción simple de la primera solicitud, si se reivindica prioridad
- ☒ Otros Anexos

## INHIBIDOR DE GRELINA O-ACIL TRANSFERASA

### CAMPO DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a un compuesto  
5 útil para inhibir a grelina O-acil transferasa (GOAT, por sus  
siglas en inglés), composiciones farmacéuticas y métodos para  
tratar enfermedades relacionadas con la actividad de GOAT.

### ANTECEDENTES DE LA INVENCION

10 La GOAT pertenece a la familia de enzimas de O-acil  
transferasa (MBOAT, por sus siglas en inglés) unidas a la  
membrana. Convierte desacil-grelina (también conocida como  
grelina no acilada o UAG) a una forma biológicamente activa,  
acil-grelina (AG), transfiriendo un ácido grado al residuo  
15 Ser3 del péptido desacilgrelina. La acil-grelina se ha  
mostrado por incrementar la absorción de alimento e  
incrementar la adiposidad en humanos y en roedores. La  
infusión de AG en humanos también se ha mostrado por suprimir  
la secreción de insulina inducida por glucosa. La eliminación  
20 del gen grelina se ha mostrado por mejorar la liberación de  
insulina para prevenir o aliviar la intolerancia a la glucosa  
en ratones o/ob alimentados con dieta alta en grasa.

La prevalencia de obesidad y diabetes acoplada con  
la efectividad variable y respuestas a tratamientos actuales  
25 para obesidad y diabetes necesitan que más tratamientos de

elección estén disponibles a pacientes. Un inhibidor de GOAT se cree es un agente útil en el tratamiento de obesidad. Además se cree que un inhibidor de GOAT también puede ser útil en reducir la ganancia de peso o recuperación de peso como un adjunto a diete y/o ejercicio, otros agentes medicinales terapéuticos o procedimientos diseñados para reducir la ganancia de peso o tratar obesidad. De manera similar, un inhibidor de GOAT puede ser útil en el tratamiento de diabetes tipo 2, individualmente o en combinación con otros tratamientos para diabetes tipo 2.

15

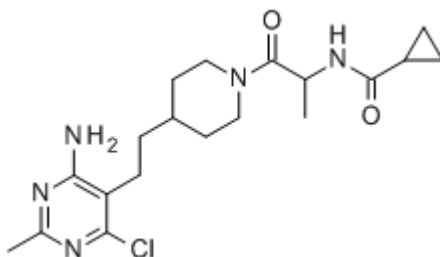
20

25

### **DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION**

La presente invención proporciona un compuesto que es un inhibidor de GOAT. En particular, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula

5

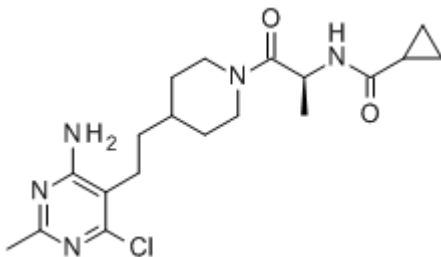


o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

10

La presente invención proporciona además un compuesto que es un inhibidor de GOAT de fórmula

15



La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la invención, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, y uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. En una modalidad adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención y uno o más de otros agentes terapéuticos.

25

Un aspecto adicional de la presente invención

proporciona un método para reducir la ganancia de peso o recuperación de peso o tratar diabetes tipo 2 u obesidad, que comprende administrar un compuesto de la presente invención, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, a un  
5 paciente en necesidad del mismo.

La presente invención también proporciona un compuesto de la invención, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para uso en terapia, en particular para reducir la ganancia de peso o recuperación de  
10 peso o tratar diabetes tipo 2 u obesidad. Además, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de la invención, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en la manufactura de un medicamento para reducir la ganancia de peso o recuperación de peso o tratar diabetes tipo 2 u  
15 obesidad.

El compuesto de la presente invención es en general efectivo sobre un amplio intervalo de dosificaciones. Por ejemplo, las dosificaciones por día normalmente caen dentro del intervalo de aproximadamente 0.03 hasta aproximadamente  
20 150 mg/Kg de peso corporal. En algunos casos los niveles de dosificación por debajo del límite inferior del intervalo mencionado antes pueden ser más que adecuados, mientras en otros casos dosis todavía más grandes pueden ser empleadas mientras mantienen un perfil de beneficio/riesgo favorable, y  
25 por lo tanto el intervalo de dosificación anterior no está

propuesto para limitar el alcance de la invención en cualquier forma. Se entenderá que la cantidad del compuesto actualmente administrado será determinada por un especialista, en vista de las circunstancias relevantes, que incluyen la condición a ser tratada, la ruta de administración elegida, el compuesto actual o compuestos administrados, la edad, peso y respuesta del paciente individual, y la severidad de los síntomas del paciente.

El término "tratar" (o "trata" o "tratamiento") como se usa en la presente se refiere a restringir, disminuir, detener o invertir el progreso o severidad de un síntoma, condición o trastorno existente.

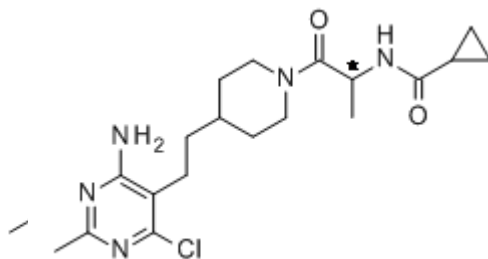
Como se usa en la presente, el término "reducir la ganancia de peso" se refiere a disminuir el incremento en peso de un paciente. El término "reducir la ganancia de peso" se refiere a disminuir el incremento en peso de un paciente que experimenta rebote en peso después de la pérdida de peso. La recuperación de peso puede ser debido a un efecto de rebote después de la cesación de pérdida de peso lograda vía dieta, ejercicio, modificación del comportamiento, o terapias aprobadas. Para evitar dudas, la ganancia de peso o recuperación de peso como se usa en la presente se refiere a ganancia de peso o recuperación de peso inducida por ingesta de alimento o hábitos alimenticios y no se refiere a ganancia de peso no relacionada con el alimento tal como acumulación

de fluidos, peso debido a retención de agua, masa muscular o inflamación.

Un compuesto de la presente invención puede reaccionar para formar sales farmacéuticamente aceptables. Sales farmacéuticamente aceptables y metodología común para prepararlas son bien conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, P. Stahl, et al. *Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, 2<sup>nd</sup> Revised Edition (Wiley-VCH, 2011); S.M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 66, No. 1, Enero 1977.

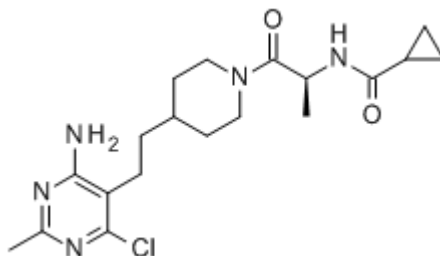
El experto en la técnica apreciará que el compuesto de la invención, o sal del mismo farmacéuticamente aceptables, están comprendidos de un núcleo que contiene al menos un centro quirral:

15



Aunque la presente invención contempla todos los enantiómeros individuales, así como también mezclas de los enantiómeros de tales compuestos que incluyen racematos, el compuesto preferido de la invención es representado por la fórmula:

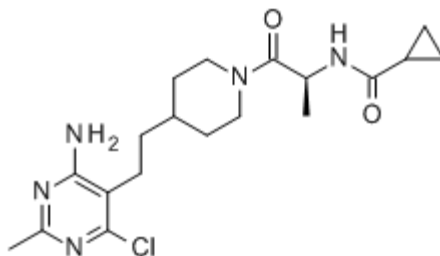
25



5

o sales del mismo farmacéuticamente aceptables.

Un compuesto de la presente invención es preferiblemente formulado como composiciones farmacéuticas administradas por una variedad de rutas. Tales composiciones farmacéuticas y procesos para preparar las mismas son bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy* (A. Gennaro, et al., eds., 21st ed., Mack Publishing Co., 2005). Más particularmente preferido, es una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención representado por la fórmula



o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable y uno o más portadores o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

Enantiómeros o diastereómeros únicos pueden ser preparados comenzando con reactivos quirales o por técnicas sintéticas estereoselectivas o estereoespecíficas.

25

Alternativamente, los enantiómeros o diastereómeros únicos pueden ser aislados de mezclas por técnicas de cristalización o cromatográficas quirales estándares en cualquier punto conveniente en la síntesis de compuestos de la invención.

5 Enantiómeros y diastereómeros únicos de los compuestos de la invención son una modalidad preferida de la invención.

Es bien sabido en la técnica que los agentes para el tratamiento de diabetes y/u obesidad pueden ser combinados con otros agentes para el tratamiento de diabetes y/u  
10 obesidad. El compuesto de la invención, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, puede ser co-administrado simultáneamente o secuencialmente, con otro(s) tratamiento(s) efectivo(s) para diabetes u obesidad. El compuesto de la invención, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable,  
15 sola o en combinación con otro(s) tratamiento(s) efectivo(s) puede ser administrado, simultáneamente o secuencialmente, siguiendo los procedimientos médicos aprobados tales como cirugías bariáticas, por ejemplo, cirugía de desvío gástrico o procedimientos de bandas gástricas ajustables.

20 La presente invención también abarca intermediarios y procesos útiles para la síntesis del compuesto de la presente invención.

Adicionalmente, los intermediarios descritos en los siguientes esquemas de reacción pueden contener un número de  
25 grupos protectores de nitrógeno. El grupo protector variable

puede ser el mismo o diferente en cada caso dependiendo de las condiciones de reacción particulares y las transformaciones particulares a ser realizadas. Las condiciones de protección y desprotección son bien conocidas para el experto en la técnica. Véase. *Por ejemplo*, Greene and Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, (T. Greene and P. Wuts, eds., 2d ed. 1991).

### **Preparaciones y Ejemplos**

Las siguientes preparaciones y Ejemplos ilustran además la invención y representan síntesis típica del compuesto de la invención. Los reactivos y materiales de partida son fácilmente disponibles o pueden ser fácilmente sintetizados por uno de habilidad ordinaria en la técnica. Se debe entender que las Preparaciones y Ejemplos están expuestos por medio de ilustración y sin limitación, y que varias modificaciones se pueden hacer por uno de habilidad ordinaria en la técnica.

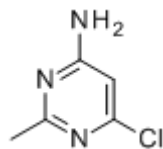
La configuración R o S del compuesto de la invención puede ser determinada por técnicas estándares tales como análisis de rayos-X y correlación con tiempo de retención HPLC-quiral. La nomenclatura de las siguientes Preparaciones y Ejemplos es en general realizada usando la característica de nomenclatura de IUPAC en MDL Accelrys® Draw versión 4.0 NET.

Como se usa en la presente, los siguientes términos tienen los significados indicados: "ACN" se refiere a acetonitrilo; "BSA" se refiere a albúmina de suero bovino; "DCM" se refiere a diclorometano; "DIPEA" se refiere a *N,N*-diisopropiletilamina; "DMF" se refiere a dimetilformamida; "DMSO" se refiere a dimetilsulfóxido; "EDTA" se refiere a ácido etilendiaminatetraacético; "EtOAc" se refiere a acetato de etilo", "EtOH" se refiere a etanol; "FBS" se refiere a suero bovino fetal; "HRP" se refiere a peroxidasa de rábano picante; "IC50" se refiere a la concentración de un agente el cual produce 50% de la respuesta máxima; "IPA" se refiere a alcohol isopropílico; "MeOH" se refiere a metanol"; "MTBE" se refiere a metil *terc*-butil éter; "PBS" se refiere a salina amortiguada de fosfato; "RT" se refiere a temperatura ambiente; "TEA" se refiere a trietilamina; "TFA" se refiere a ácido trifluoroacético; " $T_R$ " se refiere a tiempo de retención; "THF" se refiere a tetrahidrofurano; y "TMB" se refiere a 3,3',5,5'-tetrametilbencidina.

Condiciones de LC-MS (pH bajo): columna: Phenomenex Gemini NX C18 2.1 × 50 mm 3.0 m; gradiente: 5-100% B en 3 min, después 100% B por 0.75 min temperatura de columna: 50 °C +/-10 °C; velocidad de flujo: 1 mL/min; Solvente A: agua desionizada con 0.1% de ácido fórmico; Solvente B: ACN con 0.1% de ácido fórmico.

**Preparación 1**

## 6-Cloro-2-metilpirimidin-4-amina



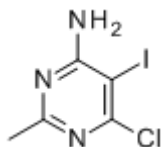
5

Se cargó un recipiente de presión de acero de 5 L (autoclave) con 4,6-dicloro-2-metilpirimidina (400 g, 2.45 mol) e hidróxido de amonio (2.8 L) a TA. Se calentó la reacción a 90 °C por 5 h. La mezcla de reacción se enfrió a  
 10 TA y después el sólido se filtró a través de un embudo Buchner. La torta de filtro se lavó con agua (200 mL) y hexano (200 mL) y después se secó bajo vacío para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (290 g, 82%). LC-ES/MS  $m/z$  144.0 (M+1).

15

**Preparación 2**

## 6-Cloro-5-yodo-2-metilpirimidin-4-amina



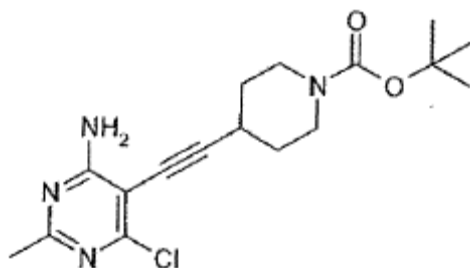
20

Se combinó 6-cloro-2-metilpirimidin-4-amina (708 g, 4.93 mol) y MeOH (7.08 L) en un matraz de fondo redondo de 20 L equipado con un agitador mecánico. Se enfrió a 0–5 °C. Se agregó monoclóruo de yodo (4.806 kg, 29.6 mol) disuelto en MeOH (6 L) usando un embudo de adición durante un periodo de  
 25 1 h. la mezcla de reacción se calentó a TA y se agitó a TA por

16 h. La mezcla de reacción se enfrió a 0–5 °C y se agregó sulfito de sodio (46 L, 20% de solución acuosa). El sólido resultante se filtró y se lavó con agua (2 L) seguido por hexano (3 L). El sólido se secó bajo vacío para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (1061 g, 80%).  
 LC-ES/MS  $m/z$  269.9 (M+1).

### Preparación 3

4-[2-(4-amino-6-cloro-2-metil-pirimidin-5-il)etnil]piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo



Se disolvió 6-cloro-5-yodo-2-metil-pirimidin-4-amina (20 g, 74.22 mmol), éster *terc*-butílico del ácido 4-etnil-piperidin-1-carboxílico (18.64 g, 89.06 mmol), y diisopropilamina (10.44 mL, 74.22 mmol) en THF (200 mL) en un matraz de 3 cuellos. Alternativamente, el matraz de evacuó y cargó con nitrógeno 3 veces. Se agregó cloruro de *bis*(trifenilfosfina)paladio (II) (2.63 g, 3.71 mmol) y yoduro de cobre (I) (0.713 g, 3.71 mmol) a la solución. La mezcla se calentó entre 50 hasta 55 °C por 16 h. La mezcla se enfrió a TA y se agregó más cloruro de *bis*(trifenilfosfina)paladio (II) (1.31 g, 1.86 mmol), yoduro de cobre (I) (0.356 g, 1.86

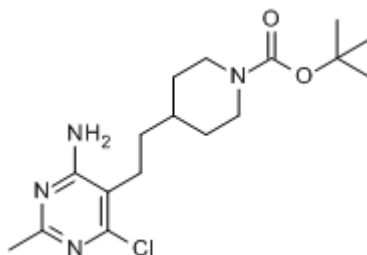
mmol) y éster *terc*-butílico del ácido 4-etinil-piperidin-1-carboxílico (1.55 g, 7.42 mmol). La mezcla se calentó a 60 °C por 3.5 h. La mezcla se enfrió a TA y se concentró bajo presión reducida. El material se diluyó con DCM (300 mL) y se lavó con solución acuosa saturada de cloruro de amonio (100 mL), agua (100 mL), y cloruro de sodio acuoso saturado (100 mL). La solución se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró, y se concentró bajo presión reducida. El residuo se purificó usando cromatografía en columna de gel de sílice (800 g de columna de gel de sílice) eluyendo con 20% hasta 100% de EtOAc en hexanos. Las fracciones purificadas se concentraron para dar el compuesto del título como un polvo anaranjado pálido (22.6 g, 86%). LC-ES/MS *m/z* (<sup>35</sup>Cl/<sup>37</sup>Cl) 351.2/353.1 (M+1).

15

#### Preparación 4

4-[2-(4-amino-6-cloro-2-metil-pirimidin-5-il)etil]piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo

20



25 EtOH (81 mL) y EtOAc (40 mL). Alternativamente, el matraz de

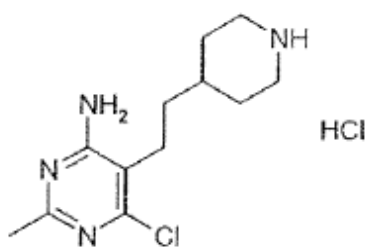
evacuó y cargó con hidrógeno usando un balón de hidrógeno **y** se agitó a TA por 8 h. La reacción se monitoreó cuidadosamente para así evitar un producto secundario potencial que resulta de la remoción del cloruro en la molécula. Se observa que el producto es más soluble en la mezcla de solvente que el alquino de partida. La mezcla se filtró a través de tierra diatomácea, enjuagando con MeOH. La solución se concentró bajo presión reducida. En el matraz se agregó sílice, 1-propantiol (4 g, carga = 1.28 mmol/g, SILIABOND® Tiol de SILICYCLE®) (para remover el paladio residual a partir de la reacción de acoplamiento previa) y EtOAc (300 mL). Se agitó el material a TA 3 días. Los sólidos se filtraron y lo filtrado se concentró bajo presión reducida. La hidrogenación se repitió en el residuo resultante como sigue. Se cargó el matraz que contiene el residuo con óxido de platino (IV) (0.139 g, 0.61 mmol), EtOH (81 mL) y EtOAc (40 mL). Alternativamente, el matraz de evacuó y cargó con hidrógeno usando un balón de hidrógeno y se agitó a TA por 8 h. Se filtró a través de tierra diatomácea, enjuagando con MeOH, y lo filtrado se concentró bajo presión reducida. La hidrogenación se repitió en el residuo resultante como sigue. Se cargó el matraz que contiene el residuo con óxido de platino (IV) (0.139 g, 0.61 mmol), EtOH (81 mL) y EtOAc (40 mL). Alternativamente, el matraz de evacuó y cargó con hidrógeno usando un balón de

hidrógeno y se agitó a TA por 8 h. Se filtró a través de tierra diatomácea, enjuagando con MeOH. Lo filtrado se concentró bajo presión reducida sobre gel de sílice (20 g). El material se purificó usando cromatografía en columna de gel de sílice eluyendo con 70% hasta 100% de EtOAc en hexanos (120 g de columna). Las fracciones purificadas se combinaron y se concentraron bajo presión reducida. El residuo se diluyó con DCM y hexanos y se concentró bajo presión reducida tres veces. El material se colocó bajo vacío para dar el compuesto del título como un sólido blanco (3.20 g, 73%). LC-ES/MS  $m/z$  ( $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$ ) 355.2/357.2 (M+1).

### Preparación 5

Sal de clorhidrato de 6-Cloro-2-metil-5-[2-(4-piperidil)etil]pirimidin-4-amina

15



Se disolvió 4-[2-(4-amino-6-cloro-2-metil-pirimidin-5-il)etil]piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (29.00 g, 81.72 mmol) en 1,4-dioxano (145 mL) y se agregó cloruro de hidrógeno 4M en 1,4-dioxano (204.2 mL, 817.1 mmol). Se agitó la solución por 18 h a TA. La mezcla se concentró bajo presión reducida, se suspendió en éter dietílico (250 mL), se filtró, y el sólido resultante se secó

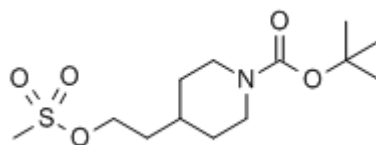
bajo vacío para dar el compuesto del título como un sólido blanco crudo (29 g). LC-ES/MS  $m/z$  ( $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$ ) 255.2/257.2 (M+1).

**Ruta alternativa para 6-cloro-2-metil-5-[2-(4-piperidil)etil]pirimidin-4-amina (Preparaciones 6 - 10)**

**Preparación 6**

4-(2-metilsulfoniloetil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo

10



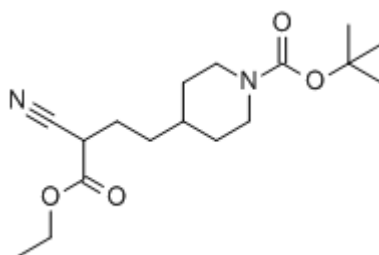
Se combinó 4-(2-hidroxietil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (4.720 kg, 20.6 mol) con DCM (40 L) y TEA (3020 mL, 21.63 mol) en un reactor de 50 L bajo una atmósfera de nitrógeno. La solución se enfrió a aproximadamente 0 °C y se agregó lentamente cloruro de metansulfonilo (2.478 kg, 21.63 mol) en DCM (5 L) mientras se mantiene la temperatura de reacción por debajo de 10 °C. Después que la adición se completó se agitó la mezcla por 18 h a 15 °C en tal tiempo la TLC (1:1, hexano:EtOAc) no mostró material de partida restante. Se lavó la mezcla con agua (30 L) y se permitió a las fases separarse. La fase orgánica se concentró a un sólido. El sólido formó en suspensión en MTBE (6 L), se recolectó por filtración, y se secó en un horno a vacío a 50 °C para proporcionar el compuesto del título como un sólido

blanco (5.67 kg, 91%).

### Preparación 7

4-(3-ciano-4-etoxi-4-oxo-butil)piperidin-1-carboxilato de  
*tert*-Butilo

5

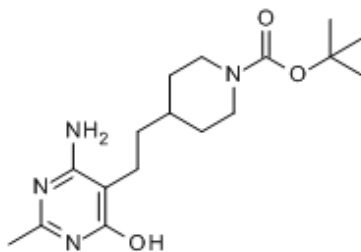


Se combinó 4-(2-metilsulfoniloxi-etil)piperidin-1-  
10 carboxilato de *tert*-butilo (5.26 kg, 17.1 mol), cianoacetato  
de etilo (7 kg, 62 mol), 21% de etóxido de sodio en EtOH  
(8.25 L, 24.75 mol) y EtOH (35 L) en un reactor de 50 L bajo  
una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se calentó a 35 - 40 °C  
por 18 h en tal tiempo el análisis de NMR mostró 20% del  
15 mesilato restante. Se continuó calentando la mezcla a 35 - 40  
°C por 24 h en tal tiempo el análisis de NMR mostró solamente  
una pequeña cantidad de mesilato. La reacción se enfrió  
lentamente a TA y se agregó ácido glacial acético (1422 mL,  
22.68 mol) durante 30 min. La mezcla se concentró usando  
20 destilación a vacío y después se dividió entre agua (25 L) y  
EtOAc (35 L). Las capas se separaron y la fase acuosa se  
extrajo con EtOAc (10 L). Las porciones orgánicas se  
combinaron, se lavaron con salmuera (15 L), y se concentraron  
a un aceite rojo. El aceite se purificó usando cromatografía  
25 en columna de gel de sílice (75 kg gel de sílice, malla 65-

250), eluyendo con hexano (40 L) y después 20% de EtOAc/hexano para proporcionar una fracción (7.8 kg) que es 30% de cianoacetato de etilo/70% del producto deseado. El material se concentró por destilación de película limpia a 100 °C y vacío a 210 mtorr, la fracción no volátil se recolectó para proporcionar el compuesto del título (4.54 kg, 82%).

### Preparación 8

4-[2-(4-amino-6-hidroxi-2-metil-pirimidin-5-il)etil]piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo



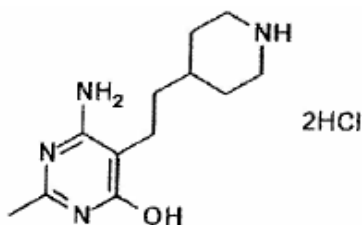
Se combinó 4-(3-ciano-4-etoxi-4-oxo-butyl)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (2.18 kg, 6.73 mol), clorhidrato de acetamida (1.27 kg, 13.46 mol, 95% de ensayo) [Nota: se pre-secó el clorhidrato de acetamida sometiendo a suspensión dos veces en tolueno (10 L) y después se retiró a sequedad bajo vacío], 21% de etóxido de sodio en EtOH (6.73 L, 20.19 mol) y EtOH (10 L) en un reactor de 22 L bajo una atmósfera de nitrógeno. Se calentó la reacción a reflujo por 42 h. La reacción se ajustó a aproximadamente pH = 5 con ácido glacial acético (1.2 L, 20.86 mol). El EtOH se removió por destilación a vacío en un evaporador rotatorio.

Los sólidos resultantes se sometieron a suspensión en agua (6 L), y después los sólidos se recolectaron por filtración, se lavaron con agua adicional (2 L). Los sólidos se secaron en un horno a vacío a 50 °C para proporcionar el compuesto del título (1.72 kg, 76%). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 4.83 (s, 3H); 4.05 (d, 2H), 2.75 (bs, 2H), 2.39 (m, 2H), 2.22 (s, 3H), 1.78 (d, 2H), 1.43 (m, 1H) 1.42 (s, 9H), 1.40 (m, 2H), 1.38 (m, 2H). El proceso se repitió, esencialmente como se describe, usando 4-(3-ciano-4-etoxi-4-oxo-butil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (2.36 kg) para obtener el compuesto del título (2.01 kg, 82%).

### Preparación 9

Sal de clorhidrato de 6-Amino-2-metil-5-[2-(4-piperidil)etil]pirimidin-4-ol,

15



Se combinó 4-[2-(4-amino-6-hidroxi-2-metil-pirimidin-5-il)etil]piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (3.73 kg, 11.09 mol) e IPA en un reactor de 50 L bajo una atmósfera de nitrógeno. Se agregó ácido clorhídrico 12N (3.05 L, 36.6 mol) con agitación durante 3 h. La mezcla se calentó at 50 °C por 16 h, formando una suspensión espesa. En tal tiempo el análisis de NMR no mostró un grupo BOC restante. La

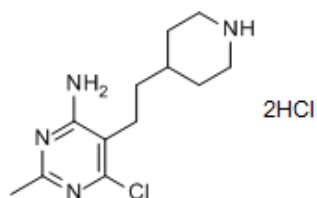
25

mezcla de reacción se enfrió a 20 - 25 °C, diluyéndose con THF (12 L). Los sólidos se recolectaron por filtración. La filtración es lenta y puede tomar más de 24 h para completarse. Se lavó con IPA (2 × 10 L). El material se secó en un horno a vacío a 50 °C para proporcionar el compuesto del título (3.117 kg, 91%).

### Preparación 10

Sal de diclorhidrato de 6-Cloro-2-metil-5-[2-(4-piperidil)etil]pirimidin-4-amina,

10



Se combinó sal de diclorhidrato de 6-amino-2-metil-5-[2-(4-piperidil)etil]pirimidin-4-ol, (3.167k g, 10.2 mol) y oxiclорuro de fósforo (30 L, 300 mol) bajo una atmósfera de nitrógeno en un reactor de 50 L el cual es ventilado a través de un depurador cáustico (10% NaOH). Se agregó 85% de ácido fosfórico (1 L, 8.5 mol) a la suspensión agitada. La mezcla se calentó lentamente usando una temperatura de reactor enchaquetado de 75 °C. A aproximadamente 55 °C, cuando ocurre la desgasificación, el depurador se enfrió en un baño de agua helada. Cuando la desgasificación se disminuyó, la mezcla se calentó a 90 - 95 °C por 50 h en tal tiempo la TLC y análisis de NMR mostraron que la reacción llegó a ser completa. Se removió el volumen de exceso de oxiclорuro de fósforo por

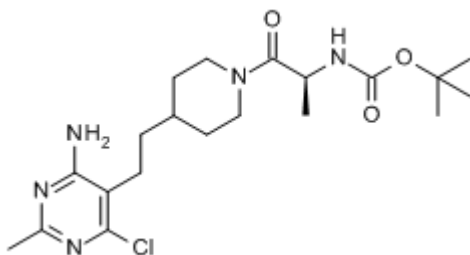
destilación a vacío (22 en un horno de Hg y 60 °C de temperatura interna) para recuperar 20 L en el destilado. La mezcla se enfrió a 20 - 25 °C y después se diluyó con tolueno (10 L). Además, la mezcla se enfrió a < 15 °C y se apagó  
5 lentamente con agua (1 L) manteniendo la temperatura < 30 °C. Después de la adición de tolueno la mezcla llegó a ser muy espesa y difícil de agitar con la fase del producto restante en el fondo del reactor como un semi-sólido viscoso. Las cuchillas del agitador se elevaron con el fin de lograr  
10 cualquier mezclado. Se agregó EtOH (10 L) a la mezcla y se agitó por aproximadamente 18 h a 25 °C. En este punto los semi-sólidos viscosos aún no son completamente digeridos, sino suavizados de manera que pueden ser manualmente probados. Se agitó vigorosamente por otras 4 - 5 h para  
15 digerir completamente. Se enfrió la suspensión resultante hasta 5 - 10 °C y los sólidos se recolectaron por filtración, lavando con MTBE (8 L) para obtener producto húmedo (aproximadamente 6 kg).

El producto crudo se recrystalizó disolviendo la  
20 torta húmeda en MeOH (35 L) a 40 °C. La solución se concentró por destilación a vacío, removiendo 15 L de solvente. Se agregó IPA (35 L) y la suspensión se concentró por destilación a vacío para remover 13 L del solvente. La suspensión se enfrió hasta 5 - 10 °C y después los sólidos se  
25 filtraron, lavando con IPA (2 L), y después MTBE (8 L). Los

sólidos se secaron en un horno a vacío a 55 °C para proporcionar el compuesto del título como un sólido blancuzco (2.77 kg, 82%). Analítico calculado para C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>4</sub>: C, 43.98; H, 6.46; Cl, 32.46; N, 17.10. Encontrado: C, 43.63; H, 6.53; Cl, 32.16; N, 16.86.

### Preparación 11

*N*-[(1*S*)-2-[4-[2-(4-amino-6-cloro-2-metil-pirimidin-5-il)etil]-1-piperidil]-1-metil-2-oxo-etil]carbamato de *terc*-butilo



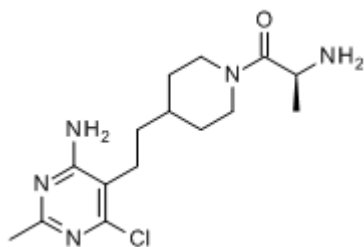
En cada uno de los dos matraces de fondo redondo se agregó clorhidrato de 6-cloro-2-metil-5-[2-(4-piperidil)etil]pirimidin-4-amina (12.50 g, 42.92 mmol), diisopropiletilamina (22.46 mL, 128.7 mmol) y DMF (100 mL). Las dos mezclas se enfriaron en un baño de agua fría y se agitaron por 5 min. Se agregó a cada una de la mezclas hexafluorofosfato de [dimetilamino(triazolo[4,5-*b*]piridin-3-iloxi)metilen]-dimetil-amonio (17.95 g, 47.21 mmol) y ácido (2*S*)-2-(*terc*-butoxicarbonilamino)propanoico (8.93 g, 47.21 mmol) en una porción. Las mezclas se agitaron a TA por 90 min. Las mezclas se vertieron en embudos separadores

separados junto con agua (300 mL) y EtOAc (400 mL), se  
sacudieron y dividieron. Las capas acuosas se extrajeron con  
EtOAc (3 × 300 mL), se lavaron las capas orgánicas  
respectivas con agua (4 × 250 mL), NaCl acuoso saturado (200  
5 mL) y se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron  
bajo presión reducida. Los materiales combinados se  
purificaron mediante cromatografía en columna de gel de  
sílice eluyendo con 70% hasta 100% de EtOAc en hexanos. Se  
combinó y las fracciones purificadas se concentraron bajo  
10 presión reducida. El residuo se diluyó con EtOAc (500 mL) y  
se lavó con NH<sub>4</sub>Cl acuoso saturado (100 mL), NaHCO<sub>3</sub> acuoso  
saturado (100 mL), agua (100 mL) y NaCl acuoso saturado (100  
mL). Los orgánicos se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron, y se  
concentraron bajo presión reducida para dar el compuesto del  
15 título como un sólido blanco (28.00 g, 76%). LC-ES/MS *m/z*  
(<sup>35</sup>Cl/<sup>37</sup>Cl) 426.2/428.2 (M+1).

### Preparación 12

(2*S*)-2-Amino-1-[4-[2-(4-amino-6-cloro-2-metil-pirimidin-5-  
il)etil]-1-piperidil]propan-1-ona

20



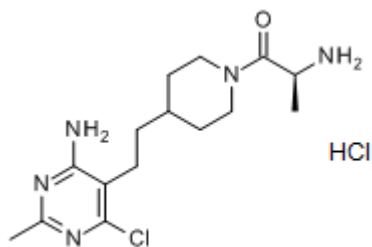
25

Se disolvió N-[(1*S*)-2-[4-[2-(4-amino-6-cloro-2-

metil-pirimidin-5-il)etil]-1-piperidil]-1-metil-2-oxo-  
 etil]carbamato de *terc*-butilo (15.78 g, 37.05 mmol) en DCM  
 (185 mL), se agregó TFA (185 mL) en una manera por goteo  
 durante 3 min, y se agitó durante la noche. La reacción se  
 5 analizó por LCMS (pH bajo) para mostrar la conversión  
 completa. Se agregó lentamente MeOH (400 mL) debido al  
 mezclado exotérmico. Se lavó previamente tres columnas de SCX  
 (50 g) con agua (20 mL) y después MeOH (20 mL). Se dividió la  
 mezcla de reacción en tres porciones iguales y se cargó  
 10 igualmente en las columnas de SCX. Se lavó cada columna con  
 agua (40 mL) y MeOH (40 mL) recolectando los lavados en un  
 matraz a vacío. El material deseado se eluyó a partir de las  
 columnas de SCX con amoníaco 2N en MeOH (60 mL) en un  
 recipiente limpio. Se combinó el producto que contiene las  
 15 soluciones, se concentró bajo presión reducida, se azeotropió  
 con DCM-hexanos (1:1), tres veces, y se colocó bajo vacío  
 para obtener el compuesto del título como una espuma blanca  
 (10.29 g, 84%). LC-ES/MS  $m/z$  ( $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$ ) 326.2/328.2 (M+1).

### Preparación 13

20 Sal de clorhidrato de (2*S*)-2-Amino-1-[4-[2-(4-amino-6-cloro-  
 2-metil-pirimidin-5-il)etil]-1-piperidil]propan-1-ona



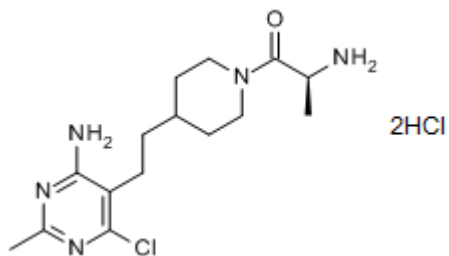
Se agregó *N*-[(1*S*)-2-[4-[2-(4-amino-6-cloro-2-metil-pirimidin-5-il)etil]-1-piperidil]-1-metil-2-oxo-etil]carbamato de *terc*-butilo (28.75 g, 67.49 mmol) a 1,4-dioxano (143.7 mL). Después se agregó cloruro de hidrógeno 4M en 1,4-dioxano (168.7 mL, 674.9 mmol) y se agitó por 10 min. Se agregó MeOH (20 mL) y se agitó la mezcla por 3 h con agitación vigorosa. La mezcla se concentró bajo presión reducida, los sólidos se diluyeron con éter dietílico (200 mL), y se agitó durante la noche. Se filtró el material, enjuagando con éter dietílico (2 × 25 mL). El material se secó mediante succión por 15 min, después se colocó bajo vacío por 1 h a 45 °C para obtener el compuesto del título como un polvo blanco crudo (27.7 g). LC-ES/MS *m/z* (<sup>35</sup>Cl/<sup>37</sup>Cl) 326.1/328.2 (M+1).

15

#### Preparación 14

Sal de diclorhidrato de (2*S*)-2-Amino-1-[4-[2-(4-amino-6-cloro-2-metil-pirimidin-5-il)etil]-1-piperidil]propan-1-ona,

20



Se calentó IPA (154 mL) hasta 50 °C y se agregó cloruro de acetilo (19.3 mL, 271 mmol) lentamente debido a una reacción exotérmica. La reacción se agitó a 50 °C por 10

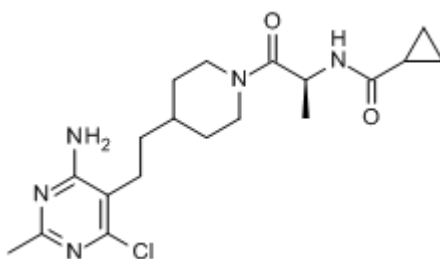
min y después se agregó *N*-[(1*S*)-2-[4-[2-(4-amino-6-cloro-2-metil-pirimidin-5-il)etil]-1-piperidil]-1-metil-2-oxo-etil]carbamato de *terc*-butilo (21.0 g, 45.3 mmol). Se agitó la reacción por 2 h monitoreando mediante LCMS (pH bajo). La  
 5 reacción se enfrió a TA y se agregó éter dietílico (386 mL). Se agitó la suspensión por 15 min. Los sólidos se filtraron, se lavaron con éter dietílico (2 × 50 mL) en una manera enérgica conforme el material es hidroscópico. Se filtró el material y se secó mediante filtración por 1 min, después en  
 10 un horno de secado a vacío a 50 °C durante la noche para dar el compuesto del título como un polvo blanco (18.4 g). LC-ES/MS *m/z* (<sup>35</sup>Cl/<sup>37</sup>Cl) 326.1/328.2 (M+1). El análisis de contraión por cromatografía iónica es consistente con la sal de diclorhidrato.

15

### Ejemplo 1

*N*-[(1*S*)-2-[4-[2-(4-Amino-6-cloro-2-metil-pirimidin-5-il)etil]-1-piperidil]-1-metil-2-oxo-etil]ciclopropancarboxamida

20



25

Se agregó 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (281 mg, 2.03

mmol) y clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (430 mg, 2.21 mmol) a una suspensión de ácido ciclopropanocarboxílico (161  $\mu$ L, 2.03 mmol), (2S)-2-amino-1-[4-[2-(4-amino-6-cloro-2-metil-pirimidin-5-il)etil]-1-piperidil]propan-1-ona (600 mg, 1.84 mmol) en THF anhidro (12 mL). Después se agregó TEA (770  $\mu$ L, 5.52 mmol) y se agitó la mezcla resultante a TA por 12 h. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (10 mL), se filtró sobre tierra diatomácea, y lo filtrado se concentró *in vacuo*. El residuo resultante se purificó por cromatografía de fase inversa por HPLC de masa guiada (espectrómetro de masas Agilent® 1200 LCMS y MSD, columna 75  $\times$  30 mm Phenomenex Gemini-NX®, tamaño de partícula 5  $\mu$  con una guarda de 10  $\times$  20 mm, 12-46% de ACN en 10 mM de solución acuosa de bicarbonato de amonio, pH 10, gradiente durante 9 min) para obtener el compuesto del título como un vidrio incoloro (572 mg, 78%). LC-ESMS *m/z* ( $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$ ) 394.2/396.2 (M+H).

#### **Procedimiento alternativo con anhídrido 1-propanfosfónico**

Se trató una mezcla de sal de diclorhidrato (2S)-2-amino-1-[4-[2-(4-amino-6-cloro-2-metil-pirimidin-5-il)etil]-1-piperidil]propan-1-ona, (107.4 g, 183.15 mmol) en DCM (584 mL) con DIPEA (128 mL, 732.59 mmol). La mezcla de reacción se enfrió a 0 °C en un baño de hielo y se agregó ácido ciclopropanocarboxílico (21.8 mL, 274.72 mmol). Después se

agregó una solución de anhídrido 1-propanfosfónico (50% de solución en EtOAc, 174.8 g, 274.72 mmol) seguido por DIPEA adicional (40 mL) para proporcionar la mezcla de reacción básica. Se agitó a TA durante la noche. La mezcla de reacción se lavó con agua (1 L) y las capas se separaron. La porción orgánica se secó sobre MgSO<sub>4</sub> y se concentró *in vacuo* para obtener el producto crudo como una espuma blancuzca. El material se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (800 g, 0-10% de MeOH en EtOAc). Las fracciones apropiadas se combinaron con otro lote de producto (51 g) obtenidas siguiendo esencialmente el mismo procedimiento usando sal de diclorhidrato de (2S)-2-amino-1-[4-[2-(4-amino-6-cloro-2-metil-pirimidin-5-il)etil]-1-piperidil]propan-1-ona, (77.9 g, 150.42 mmol). Los lotes combinados se concentraron *in vacuo* para obtener un sólido blanco (114 g). El producto comenzó a cristalizar durante la concentración. El material se trituroó con EtOAc caliente (200 mL), se enfrió, y se filtró para obtener el compuesto del título (111 g, 84%). LC-ES/MS *m/z* (<sup>35</sup>Cl/<sup>37</sup>Cl) 394.0/396.0 (M+1). Análisis quiral (columna OD-H, 25% de MeOH/iPrNH<sub>2</sub>, 5.0 mL/min, 100 bar, 35 °C, 220 nm) >99.9% de ee; T<sub>R</sub> = 1.15 min.

La GOAT es la principal enzima que convierte UAG a AG. Para revisiones del papel de GOAT y grelina véase: Kristy M. Heppner *et al.*, *The ghrelin O-aciltransferase-ghrelin*

*system: a novel regulator of glucose metabolism*, Current Opinion in Endocrinology, Diabetes & Obesity 2011, 18:50-55; Phillip A. Cole et al., *Glucose and Weight Control in Mice con a Designed Ghrelin OAciltransferase Inhibitor*, Science. 5 2010 Diciembre 17; 330(6011): 1689-1692. doi:10.1126/science.1196154, Matthias H. Tschöp et al., *Gastric O-acil transferase activates hunger signal to the brain*, Proc Natl Acad Sci USA. 2008 Abril 29; 105(17): 6213-6214, y Jesus Gutierrez, et al., *Ghrelin octanoilation* 10 *mediated by an orphan lipid transferase*, Proc Natl Acad Sci U S A., 2008 Abril 29, 105 (17): 6320-6325.

El papel de GOAT es soportado por los fenotipos observados en ratones desprovistos del gen GOAT. Por lo tanto, la inhibición de GOAT se espera reduzca el AG de 15 circulación y eleve el UAG de circulación. Consecuentemente, la relación de AG a grelina total (UAG + AG) se reduce después del tratamiento inhibidor de GOAT.

### **Ensayo enzimático de GOAT humana libre de células in vitro**

20 El gen de GOAT humano (Número de acceso: NM\_001100916) es subclonado al vector de expresión baculoviral pAN51. La solución base del baculovirus se prepara siguiendo el Protocolo Bac-to-Bac proporcionado por el vendedor, Invitrogen, California, USA. Cinco mililitros de 25 solución base baculoviral de GOAT humana se agregaron a 500

mL de células Sf9 en medio HyQ SFX-Insect™ (HyClone número de catálogo SH30278.02) a la densidad de  $1 \times 10^6$  células por mililitro en un matraz Erlenmeyer de 2 L. El matraz con las células Sf9 infectadas con el gen GOAT humano se colocó en un  
5 sacudidor de placa a 120 rpm a 28 °C por 48 h. Después de 48 h de incubación, las células se centrifugaron a 1,000xg por 10 min a 4 °C. Las pelletas celulares se recolectaron y almacenaron a -80 °C en un congelador hasta estar listas para procesamiento adicional.

10                    Preparación de membrana microsomal de enzima GOAT para el ensayo enzimático:

Un gramo de pelletas celulares se suspendió en 9 mL de amortiguador de homogenización enfriado (50 mM de Tris-HCl, 250 mM de sacarosa, se ajustó a pH 7.5, y filtró estéril  
15 a través de un filtro Millipore de 0.2 µm). La suspensión celular se transfirió a un homogenizador de vidrio Dounce. Las pelletas celulares se homogenizaron con 40 golpes en hielo. El homogenado se centrifugó a 3,000 rpm en un rotor de cubeta oscilante Beckman a 4°C por 10 minutos para remover  
20 las células no rotas. El sobrenadante se recolectó y centrifugó a 40,000 xg por 1 h a 4 °C. La pelletas de membrana resultante se suspendió en el amortiguador de homogenización usando un homogenizador de vidrio Dounce y se almacenó a -20 °C en el congelador para el ensayo. Para almacenaje a largo  
25 plazo de la preparación de membrana de enzima GOAT humana, la

membrana resuspendida se almacenó en un congelador a  $-80^{\circ}\text{C}$ .

Protocolo de ensayo enzimático de GOAT humano:

Se prepararon los compuestos de prueba en DMSO para hacer una solución base de 0.2 mM. Se diluyó serialmente la  
5 solución base en DMSO para obtener una curva de dilución de diez puntos con concentraciones de compuesto final que varían de 10  $\mu\text{M}$  a 0.5 nM en una placa de fondo redondo de 96 cavidades. Se preparó la enzima y las soluciones del sustrato en amortiguador de ensayo (0.02% de Tween<sup>TM</sup>-20 en 50 mM de  
10 Tris, pH 7.5/250 mM de sacarosa/1 mg/mL de BSA/10 mM de EDTA). Se agregó el compuesto diluido (1  $\mu\text{L}$ ) a cada cavidad de la fila A hasta la N de una placa de 384 cavidades de baja unión de proteína correspondiente. Se agregó mezcla de sustrato GOAT humano (10  $\mu\text{L}$ ), que consiste de desacil-  
15 grelina-biotina humana (CPC Scientific Inc., 6.0  $\mu\text{M}$  final), octanoil-CoA (Sigma, 60  $\mu\text{M}$  final) y un anticuerpo específico de AG (documento WO 2006/091381) (1.0  $\mu\text{g/mL}$  final), a los compuestos. Se agregó preparación de enzima GOAT-His/sf9, que ha sido preparada en amortiguador de ensayo (9  $\mu\text{L}$ ), a cada  
20 cavidad de la placa que contiene sustrato y compuestos de prueba que resultan en una concentración final de 0.01  $\mu\text{g/mL}$  para iniciar la reacción. Se incubó la mezcla por 1 h a TA en un oscilador de rotación suave. Se agregó ácido clorhídrico de guanidina 4 M (20  $\mu\text{L}$ ) a todas las cavidades, mezcló e  
25 incubó por 3 h para detener la reacción.

Se prepararon placas ELISA (STREPTAVIDIN SPECTRAPLATE™ 384, Perkin Elmer) bloqueando con 2% de FBS inactivado con calor en amortiguador de bloqueo PBS (40 µL) (Invitrogen) por 3 h. Se aspiró el amortiguador de bloqueo de la placa de ELISA y se agregó amortiguador de bloqueo (23 µL) a las columnas 1-24, filas A-N. Se reservaron las filas O y P para la curva estándar de acilgrelina. Se agregó la mezcla de reacción (2 µL) a las placas de ELISA. Se preparó una curva estándar de 10 puntos (octanoil-grelina etiquetada con biotina) por dilución serial 2X en amortiguador de bloqueo que contiene ácido clorhídrico de guanidina 0.2M partiendo a 2.5 pM. Se incubó la mezcla de reacción o AG etiquetado con biotina estándar en la placa de ELISA durante la noche a 4°C. Al siguiente día, se lavó la placa 3× con amortiguador de lavado (0.1% de Tween™-20/PBS, 100 µL por cavidad en cada ciclo de lavado). Se agregó anticuerpo específico de AG (documento WO 2006/091381) (25 µL of 0.5 µg/mL en amortiguador de bloqueo) a cada cavidad e incubó a TA por 1 h. Se lavó la placa 3× con el amortiguador de lavado, similarmente a la etapa previa. Se agregó Proteína G-HRP (25 µL) (Southern Biotech) diluida 3,000× en amortiguador de bloqueo e incubó 1 h a TA. Se lavó la última 3× con amortiguador de lavado, como en las etapas previas. Se agregó reactivo TMB (25 µL) (Kirkegaard & Perry Laboratories, Inc.) a cada cavidad y se dejó desarrollar por 20 min y detuvo con

ácido fosfórico 1M (25 µL por cavidad). Se leyeron las placas a 450 nm usando un lector de placa Envision Multilabel. Los niveles de AG se calcularon contra una curva estándar ajustada y se calculó el porcentaje de inhibición. La curva de inhibición de 10 puntos es trazada y ajustada con la ecuación logística de cuatro parámetros para obtener valores  $IC_{50}$  usando Activity Base (ver. 7.3.2.1).

Siguiendo un protocolo esencialmente como se describe anteriormente, el compuesto de Ejemplo 1 presenta un  $IC_{50}$  de aproximadamente  $192 \text{ nM} \pm 73$ , ( $n = 5$ ). Los datos demuestran que el compuesto de Ejemplo 1 inhibe la actividad de la enzima de GOAT purificada *in vitro*.

Comparando el cambio en la relación de AG a grelina total en el grupo tratado con compuesto y aquel del grupo tratado con vehículo, se refleja el grado de inhibición de enzima GOAT *in vivo*, debido al procesamiento dinámico de UAG AG por la enzima GOAT. En los estudios de farmacodinámica *in vivo* aquí, los niveles de AG y UAG en plasma y estómago en los grupos tratados con compuesto y vehículo son medidos por ELISA específicamente a estos dos analitos. El nivel de grelina total de cada muestra se computó como la suma de AG y UAG por estas mediciones de ELISA. La relación de AG a grelina total se define por el nivel de AG en cada muestra dividido por el nivel de grelina total en la misma muestra. Los niveles de AG, UAG y relación de AG a grelina total en el

grupo tratado con vehículo son computados y ajustados como 100%. El cambio relativo de estos parámetros en el grupo tratado con compuesto es entonces computado para determinar la efectividad del compuesto de prueba.

5

***Estudio de BID de 3 días dependiente de la dosis in vivo para  
inhibidor de GOAT:***

Animales y tratamiento

Se adquirieron ratones macho C57BL/6 de Harlan  
10 (Indianápolis, IN) a 9 semanas de edad. Se alojaron los  
ratones individualmente en una instalación con temperatura  
controlada (24 °C) con un ciclo de luz/oscuridad de 12 h  
(luces encendidas a 2200 h), y se les dejaron tener libre  
acceso a dieta estándar de roedor (dieta 2014, Harlan) y  
15 agua. Típicamente, se usaron los ratones cuando son de 10-13  
semanas de edad al tiempo del estudio. Al día 0 del  
experimento, se aleatorizaron los ratones en grupos de  
tratamiento (N=7/grupo) de manera que cada grupo tiene pesos  
corporales medios similares. Al día 1 y día 2, los animales  
20 se trataron con el vehículo (1% de hidroxietilcelulosa, 0.25%  
de Tween 80, 0.05% de antiespuma) o el compuesto de prueba  
preparado en el vehículo como una suspensión a varias  
dosificaciones por alimentación forzada oral a las 7 am y 7  
pm. En el día 3, los animales se ayunaron, se movieron en  
25 jaulas limpias y dosificaron con vehículo o el compuesto de

ensayo nuevamente a las 8 am por alimentación forzada oral. El mismo día a la 1 pm, se sacrificaron los animales por decapitación para recolectar la sangre. Para detalles de la recolección de sangre y tratamientos de plasma véase la  
 5 sección abajo de Recolección de Sangre y Extracción de Grelina a partir del plasma.

#### Recolección de sangre:

Se recolectaron aproximadamente 600  $\mu$ L de sangre en un tubo EDTA pre-pesado que contiene 600  $\mu$ L (definido como  
 10  $V_{\text{preservativo}}$ ) de preservativo recientemente preparado (4 mM de PEFABLOC® [clorhidrato de fluoruro de 4-(2-aminoetil)bencensulfonilo], 72 mM de NaCl, 58 mM de NaF, 0.032 N de ácido clorhídrico, pH 3.0) y se mezcló inmediatamente. Se pesó el tubo nuevamente y mantuvo en  
 15 hielo. Para determinar de manera precisa el volumen exacto de sangre de cada muestra usando este procedimiento de recolección de sangre, el peso de la sangre para cada ratón se computó usando la siguiente ecuación:

Peso de la Sangre = (Peso del tubo que contiene  
 20 Sangre + preservativo) - (Peso del tubo que contiene preservativo)

Volumen de sangre ( $V_{\text{sangre}}$ ) = (Peso de la sangre)/1.06

Se observa, la densidad de la sangre del roedor se  
 25 asume como 1.06 g/mL.

Dentro de 15 minutos después de la recolección de sangre, las muestras son centrifugadas a 5000 rpm a 4 °C por 8 min. Se removi6 plasma (650 µL) a un tubo de vidrio de 5 mL que contiene 6cido clorh6drico 1N (65µL), se mezcl6 y mantuvo en hielo.

Extracci6n de grelina por columna SEP-PAK®:

Se extrajeron AG y UAG de plasma usando la columna SEP-PAK®\_C<sub>18</sub> para eliminar la interferencia previo a la realizaci6n del ELISA. La extracci6n de fase s6lida de p6ptidos AG y UAG por columnas SEP-PAK®\_C<sub>18</sub> se puede realizar en un colector a vac6o (Aguas Corp) o usando una bomba perist6ltica. El procedimiento de extracci6n en columna SEP-PAK® de la muestra es independientemente aplicado a la muestra de plasma obtenida de cada rat6n individual. El protocolo de extracci6n general se describe como sigue.

Todas las soluciones usadas para el protocolo completo de la extracci6n de columna SEP-PAK® deben estar en una condici6n enfriadas en hielo. Las columnas SEP-PAK® se humedecieron (WAT054960, Aguas Corp, Milford MA) con 99.9% de ACN/0.1% de TFA (1 mL de soluci6n de 100 mL de ACN/0.1 mL de TFA). Se aplic6 presi6n para ajustar la velocidad de flujo hasta aproximadamente 1mL/min para remover el l6quido del lecho de columna pero no permitir que la columna se seque en cualquier punto. Una vez que el l6quido es removido de la columna, se detiene la presi6n. Se equilibran las columnas

con 3% de ACN/0.1% de TFA (1 mL de 97 mL de agua, 3 mL de ACN, 0.1 mL de TFA). Se aplicó presión para ajustar la velocidad de flujo hasta aproximadamente 1mL/min para remover el líquido del lecho de la columna, pero no se deja secar la columna. Se diluyeron aproximadamente 650  $\mu$ L de plasma acidificado (definido como  $V_{\text{plasma}}$  agregado a la columna) a 1.4 mL de TFA al 0.1% enfriado en hielo. Se cargó todo el plasma acidificado diluido total a partir de la etapa de recolección de sangre previa en las columnas. Se aplica presión para ajustar la velocidad de flujo hasta aproximadamente 0.5mL/min para permitir a la muestra pasar a través de la columna y los péptidos de grelina absorberse en la resina de la columna. No se deja secar la columna. Se lavó con 3% de ACN/0.1% de TFA (0.9 mL de 97 mL de agua, 3 mL de ACN, 0.1 mL de TFA). Se aplica presión para ajustar la velocidad de flujo hasta aproximadamente 1mL/min para remover el líquido del lecho de la columna pero no se deja secar la columna. Se repitió el lavado dos veces más. Se eluyó con 60% de ACN/0.1% de TFA (1 mL de 40 mL de agua, 60 mL de ACN, 0.1 mL de TFA). Se colocó un tubo de recolección por debajo de cada columna, se aplica presión para ajustar la velocidad de flujo hasta aproximadamente 0.5 mL/min para empujar el líquido a través de la columna y se recolectó el eluyente en el tubo de recolección. Las muestras se congelaron en hielo seco inmediatamente. Se liofilizaron las muestras en un speed-vac

(Modelo# SC110A, Savant) y almacenaron a  $-20^{\circ}\text{C}$  hasta que se realiza el ensayo de ELISA.

Ensayo de ELISA para Grelina:

Se recubrieron placas de 96 cavidades MULTI-ARRAY®  
5 MSD® (Meso Scale Discovery, Gaithersberg, MD, Catálogo # L15XA-3) con 100  $\mu\text{L}$  de 1  $\mu\text{g/mL}$  de un anticuerpo (documento WO2005/026211 y documento WO2006/019577) que reconoce el dominio medio de tanto las formas aciladas y no aciladas de grelina en PBS (Invitrogen). Se aprovecharon los lados de las  
10 placas para asegurar la cobertura de las cavidades, se sellaron con sellador adhesivo de placa, e incubaron durante la noche a TA. Se descargaron los contenidos y se agregó Caseína Blocker™ en PBS (25  $\mu\text{L}$ ) (Thermo Scientific, Rockford, IL, Catálogo #37528) a cada cavidad. Se resellaron  
15 las placas y colocaron en un sacudidor de placa a TA por 1 h.

Se reconstituyeron las muestras de plasma preservadas liofilizadas de la columna de extracción SEP-PAK® C<sub>18</sub> en Caseína Blocker™ en PBS (400  $\mu\text{L}$  a cada muestra, este volumen es definido como *V<sub>reconstitución</sub>*), se mezcló bien con un  
20 mezclador de vórtice e incubó en hielo por 45-60 min. Se descargaron los contenidos de las placas y se agregaron muestras de plasma reconstituidas a 25  $\mu\text{L}$  a cada cavidad. Se prepararon curvas estándares de acilgrelina y grelina no acilada comenzando con 8000  $\text{pg/mL}$  y realizando diluciones  
25 seriales 1:4 para 8 concentraciones totales. Se agregaron

estándares preparados por duplicado a las placas bloqueadas con 25 µL en cada cavidad. Se sellaron las placas e incubaron a TA en un sacudidor de placa por 2 h.

Se desecharon los contenidos de la placa y se lavó  
5 tres veces con PBS que incluye 0.1% de Tween™ 20 (150 µL) (PBS-T). El anticuerpo específico de acilgrelina (documento WO 2006/091381) o anticuerpo específico de grelina no acilada (documento WO 2006/055347) etiquetado con MSD SULFO-TAG™ (Meso Scale Discovery) se diluyó a 0.05 µg/mL en  
10 0.2× de Caseína Blocker que contiene 0.05% de Tween™ 20, nombrado solución de anticuerpo secundario. Se removió el lavado final y se agregó solución de anticuerpo secundario (25 µL a cada cavidad) el cual reconoce específicamente AG o UAG. Las placas son reselladas e incubadas por 1 h a TA en un  
15 sacudidor de placa antes del lavado inicial 3× nuevamente con PBS-T (150 µL/cavidad).

Se desechó el lavado final y se recolocó con Amortiguador de Lectura 1× MSD (150 µL/cavidad). Se leyó la señal electroquimioluminiscente generada por activación de  
20 etiqueta unida MSD SULFO-TAG™ en los electrodos en las placas usando el analizador MSD® SECTOR® Imager 6000 (Meso Scale Discovery). Se calcularon las concentraciones de acilgrelina o grelina no acilada con base en la curva estándar respectiva generada por el software MSD®. Se determinó la concentración  
25 de plasma actual para cada muestra multiplicando el nivel de

acilgrelina o grelina no acilada medido por un factor de dilución. El factor de dilución para cada muestra de plasma se computa con la siguiente ecuación.

$$\text{Factor de Dilución} = \frac{(V_{\text{sangre}} + V_{\text{preservativo}})}{V_{\text{sangre}}} \times \left( \frac{V_{\text{reconstitución}}}{V_{\text{columna recargada de plasma}}} \right)$$

### Resultados:

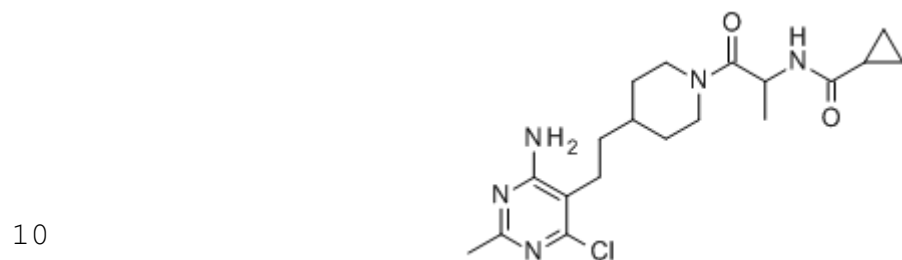
La administración del compuesto de Ejemplo 2 por 3 días disminuye la AG del plasma por -1%, 5%, 45%, y 48%, e incrementa la UAG por 2.24, 2.82, 2.53, y 2.89 veces, respectivamente a 0.3, 1, 3, y 10 mg/kg (resultados tabulados abajo). La administración a 0.3, 1, 3, y 10 mg/kg resulta en 39, 54, 71 y 77% de reducción respectivamente en AG a una relación de grelina total cuando se compara con los animales de control tratados con vehículo. Estos resultados demuestran que el compuesto de Ejemplo 1 suprime la producción de AG y eleva la AUG en circulación, como se muestra en el ratón agénico de GOAT, *in vivo*.

| Tratamiento | AG<br>(% de control) | UAG<br>(% de vehículo de control) | AG/Total-grelina<br>(% de control de vehículo) |
|-------------|----------------------|-----------------------------------|------------------------------------------------|
| Vehículo    | 100                  | 100                               | 100                                            |
| 0.3 mg/kg   | 101±25               | 224±35                            | 61±4                                           |
| 1 mg/kg     | 95±18                | 282±45                            | 46±11                                          |
| 3 mg/kg     | 55±6                 | 253±31                            | 29±4                                           |
| 10 mg/kg    | 52±10                | 289±44                            | 23±4                                           |

**REIVINDICACIONES**

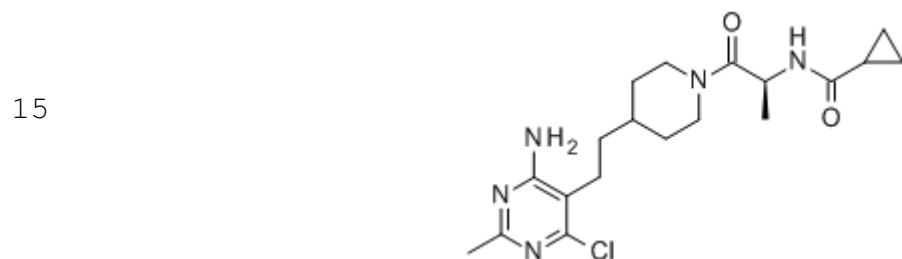
Habiéndose descrito la invención como antecede, se reclama como propiedad lo contenido en las siguientes.

- 5                    1. Un compuesto caracterizado porque es de la fórmula



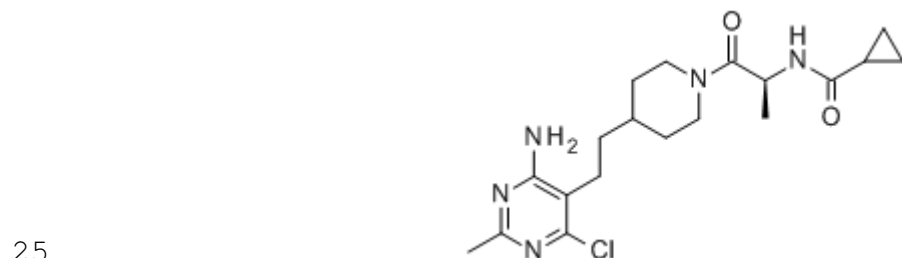
o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

2. El compuesto caracterizado porque es de conformidad con la Reivindicación 1 de la fórmula



o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

3. El compuesto caracterizado porque es de  
20 conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 ó 2 de la fórmula



4. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende un compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, y uno o más portadores, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

5. Una composición farmacéutica de conformidad con la Reivindicación 4, caracterizada porque comprende uno o más de otros agentes terapéuticos.

6. Un método para reducir la ganancia de peso, caracterizado porque comprende administrar un compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, a un paciente en necesidad del mismo.

7. Un método para reducir la recuperación de peso, caracterizado porque comprende administrar un compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, a un paciente en necesidad del mismo.

8. Un método para tratar obesidad, caracterizado porque comprende administrar un compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, a un paciente en necesidad del mismo.

9. Un método para tratar diabetes tipo 2, caracterizado porque comprende administrar un compuesto de

conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, a un paciente en necesidad del mismo.

10. Un compuesto de conformidad con cualquiera de  
5 las Reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para uso en terapia.

11. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para uso en la reducción de la  
10 ganancia de peso.

12. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para uso en la reducción de la recuperación de peso.

13. Un compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para uso en el tratamiento de  
15 obesidad.

14. Un compuesto de conformidad con cualquiera de  
20 las Reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para uso en el tratamiento de diabetes tipo 2.

15. El uso de un compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo  
25 farmacéuticamente aceptable, en la manufactura de un

medicamento para reducir la ganancia de peso.

16. El uso de un compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en la manufactura de un medicamento para reducir la recuperación de peso.

17. El uso de un compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en la manufactura de un medicamento para tratar diabetes tipo 2.

18. El uso de un compuesto de conformidad con cualquiera de las Reivindicaciones 1 a 3, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en la manufactura de un medicamento para tratar obesidad.

15

20

25

## PATENT COOPERATION TREATY

## PCT

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

(PCT Article 18 and Rules 43 and 44)

|                                                    |                                                                                                  |                                                                                     |
|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|
| Applicant's or agent's file reference<br>X19973    | <b>FOR FURTHER ACTION</b><br>see Form PCT/ISA/220<br>as well as, where applicable, item 5 below. |                                                                                     |
| International application No.<br>PCT/US2014/064202 | International filing date ( <i>day/month/year</i> )<br>6 November 2014 (06-11-2014)              | (Earliest) Priority Date ( <i>day/month/year</i> )<br>14 November 2013 (14-11-2013) |
| Applicant<br><br>ELI LILLY AND COMPANY             |                                                                                                  |                                                                                     |

This international search report has been prepared by this International Searching Authority and is transmitted to the applicant according to Article 18. A copy is being transmitted to the International Bureau.

This international search report consists of a total of 3 sheets.

☒ It is also accompanied by a copy of each prior art document cited in this report.

## 1. Basis of the report

a. With regard to the **language**, the international search was carried out on the basis of:

- ☒ the international application in the language in which it was filed  
☐ a translation of the international application into \_\_\_\_\_, which is the language of a translation furnished for the purposes of international search (Rules 12.3(a) and 23.1(b))

b. ☐ This international search report has been established taking into account the **rectification of an obvious mistake** authorized by or notified to this Authority under Rule 91 (Rule 43.6**bis**(a)).

c. ☐ With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, see Box No. I.

2. ☐ **Certain claims were found unsearchable** (See Box No. II)

3. ☐ **Unity of invention is lacking** (see Box No III)

4. With regard to the **title**,

- ☐ the text is approved as submitted by the applicant  
☒ the text has been established by this Authority to read as follows:

SUBSTITUTED PIPERIDYL-ETHYL-PYRIMIDINE AS GHRELIN O-ACYL TRANSFERASE INHIBITOR

5. With regard to the **abstract**,

- ☒ the text is approved as submitted by the applicant  
☐ the text has been established, according to Rule 38.2, by this Authority as it appears in Box No. IV. The applicant may, within one month from the date of mailing of this international search report, submit comments to this Authority

6. With regard to the **drawings**,

- a. the figure of the **drawings** to be published with the abstract is Figure No. \_\_\_\_\_  
☐ as suggested by the applicant  
☐ as selected by this Authority, because the applicant failed to suggest a figure  
☐ as selected by this Authority, because this figure better characterizes the invention  
b. ☐ none of the figures is to be published with the abstract

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/US2014/064202

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D401/06 A61K31/506 A61P3/00  
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data, BEILSTEIN Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                      | Relevant to claim No. |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| A         | WO 2007/079239 A2 (ACADIA PHARM INC [US];<br>BURSTEIN ETHAN [US]; EEG KNAPP ANNE [DK];<br>OLSSO) 12 July 2007 (2007-07-12)<br>page 1, paragraph 2<br>examples<br>claims 1,59-86,107,108 | 1-18                  |
| A         | WO 2006/124490 A2 (SCHERING CORP [US];<br>PALANI ANANDAN [US]; SU JING [US]; XIAO<br>DONG [US];) 23 November 2006 (2006-11-23)<br>page 8, lines 6,14<br>examples<br>claims              | 1-18                  |



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

## \* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

9 January 2015

Date of mailing of the international search report

15/01/2015

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Stix-Malaun, Elke

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/US2014/064202

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s) | Publication<br>date |
|-------------------------------------------|---------------------|----------------------------|---------------------|
| WO 2007079239 A2                          | 12-07-2007          | US 2007213359 A1           | 13-09-2007          |
|                                           |                     | WO 2007079239 A2           | 12-07-2007          |
| -----                                     |                     |                            |                     |
| WO 2006124490 A2                          | 23-11-2006          | AR 053728 A1               | 16-05-2007          |
|                                           |                     | AU 2006247695 A1           | 23-11-2006          |
|                                           |                     | BR PI0610133 A2            | 01-06-2010          |
|                                           |                     | CA 2608405 A1              | 23-11-2006          |
|                                           |                     | EP 1885726 A2              | 13-02-2008          |
|                                           |                     | JP 4975739 B2              | 11-07-2012          |
|                                           |                     | JP 2008540652 A            | 20-11-2008          |
|                                           |                     | KR 20080016567 A           | 21-02-2008          |
|                                           |                     | PE 14422006 A1             | 03-02-2007          |
|                                           |                     | US 2006264489 A1           | 23-11-2006          |
|                                           |                     | WO 2006124490 A2           | 23-11-2006          |
| -----                                     |                     |                            |                     |

## PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION )

|               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |                                                                                                                                                                                                    |
|---------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| VIII-3-1      | <b>Declaration: Entitlement to claim priority</b><br>Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application specified below, where the applicant is not the applicant who filed the earlier application or where the applicant's name has changed since the filing of the earlier application (Rules 4.17(iii) and 51bis.1(a)(iii))<br>Name | <b>In relation to this international application</b><br><br><b>ELI LILLY AND COMPANY</b><br><b>is entitled to claim priority of earlier application No. 13382460.7 by virtue of the following:</b> |
| VIII-3-1(i v) |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           | <b>an assignment from MARTINEZ-GRAU, Maria Angeles to ELI LILLY AND COMPANY, dated 08 November 2013 (08.11.2013)</b>                                                                               |

## PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION )

|               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     |                                                                                                                                                                       |
|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| VIII-2-1      | <b>Declaration: Entitlement to apply for and be granted a patent</b><br>Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent (Rules 4.17(ii) and 51bis.1(a)(ii)), in a case where the declaration under Rule 4.17(iv) is not appropriate:<br>Name (LAST, First) | <b>In relation to this international application</b><br><br><b>ELI LILLY AND COMPANY is entitled to apply for and be granted a patent by virtue of the following:</b> |
| VIII-2-1(i)   |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | <b>ELI LILLY AND COMPANY is entitled as employer of the inventor, MARTINEZ-GRAU, Maria Angeles</b>                                                                    |
| VIII-2-1(i v) |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                     | <b>an assignment from MARTINEZ-GRAU, Maria Angeles to ELI LILLY AND COMPANY, dated 01 September 2014 (01.09.2014)</b>                                                 |

## **LISTA DE INVENTORES**

**PCT/US2014/064202**

**Maria Angeles MARTINEZ-GRAU**  
P.O. BOX 6288  
Indianapolis,  
Indiana 46206-6288  
Estados Unidos  
Nacionalidad: Estadounidense



Espacio reservado para el adhesivo de radicación.

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD  
PATENTE PCT  
ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2016/000041

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.

☐

Patente de Modelo de Utilidad.

☐

Capítulo I.

☐

Capítulo II.

2

SOLICITANTE  
(71)

Nombre: ELI LILLY AND COMPANY

Dirección: Lilly Corporate Center,  
Indianapolis, Indiana 46285 (US)

Nacionalidad o Domicilio: Estados Unidos  
Lugar de Constitución: Estados Unidos

Teléfono: Fax:  
E-mail:

IDENTIFICACIÓN

C.C. NIT

C.E. Otro

Cual

Número

REPRESENTANTE  
O APODERADO

Nombre: CARLOS R. OLARTE

Dirección: Carrera 5 No. 34-03 Bogotá,  
Colombia

Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799  
E-mail: [office@olartemoure.com](mailto:office@olartemoure.com)

IDENTIFICACIÓN

C.C. X NIT

C.E. Otro

Cual

Número 79.782.747Bta  
TP 74.295

INVENTOR (ES)  
(72)

Nombre: VER PAGINA ADJUNTA

Dirección: VER PAGINA ADJUNTA

Nacionalidad o Domicilio: VER PAGINA ADJUNTA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/US2014/064202 Fecha Noviembre 06, 2014

Publicación Internacional No. WO2015/073281 Fecha Mayo 21, 2015

6

Título (54) INHIBIDOR DE GRELINA O-ACIL TRANSFERASA

Clasificación Internacional (51) C07D 401/06, A61K 31/506, A61P 3/00.

(33) País de Origen (32) Fecha (31) Número de Solicitud

EP Noviembre 14, 2013 13382460.7

9

Comprobante de pago No. Fecha

10

ANEXOS

☒

Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.

☐

Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.

☒

Poderes, si fuere el caso.

☐

Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.

☒

Declaraciones. Declaración bajo la Regla 4.17 (ii) del PCT.

☒

Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☒

Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).

☐

Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).

☐

Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.

☐

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 12 x 12.

☐

De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.

☐

De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.

☒

Otros. Búsqueda Internacional

11

FIGURA CARACTERÍSTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA: \_\_\_\_\_  
C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295



(51) International Patent Classification:

*C07D 401/06* (2006.01) *A61P 3/00* (2006.01)  
*A61K 31/506* (2006.01)

(21) International Application Number:

PCT/US2014/064202

(22) International Filing Date:

6 November 2014 (06.11.2014)

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

13382460.7 14 November 2013 (14.11.2013) EP

(71) Applicant: **ELI LILLY AND COMPANY** [US/US];  
Lilly Corporate Center, Indianapolis, Indiana 46285 (US).

(72) Inventor: **MARTINEZ-GRAU, Maria Angeles**; c/o Eli  
Lilly and Company, P.O. Box 6288, Indianapolis, Indiana  
46206-6288 (US).

(74) Agents: **DINGESS-HAMMOND, Elizabeth A.** et al.; Eli  
Lilly and Company, P.O. Box 6288, Indianapolis, Indiana  
46206-6288 (US).

(81) Designated States (*unless otherwise indicated, for every  
kind of national protection available*): AE, AG, AL, AM,  
AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY,  
BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,

DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT,  
HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR,  
KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, ME, MG,  
MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM,  
PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC,  
SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,  
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (*unless otherwise indicated, for every  
kind of regional protection available*): ARIPO (BW, GH,  
GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, ST, SZ,  
TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU,  
TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE,  
DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU,  
LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK,  
SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ,  
GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

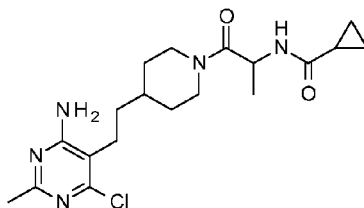
**Declarations under Rule 4.17:**

- *as to applicant's entitlement to apply for and be granted a  
patent (Rule 4.17(ii))*
- *as to the applicant's entitlement to claim the priority of the  
earlier application (Rule 4.17(iii))*

**Published:**

- *with international search report (Art. 21(3))*

(54) Title: SUBSTITUTED PIPERIDYL-ETHYL-PYRIMIDINE AS GHRELIN O-ACYL TRANSFERASE INHIBITOR



(57) Abstract: The present invention provides novel GOAT inhibitors and their salts and pharmaceutical compositions thereof.

-1-

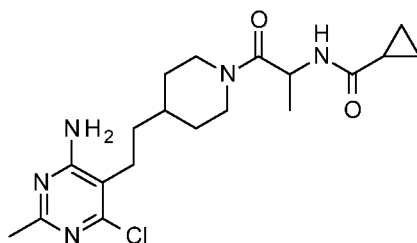
SUBSTITUTED PIPERIDYL-ETHYL-PYRIMIDINE AS GHRELIN O-ACYL  
TRANSFERASE INHIBITOR

The present invention relates to a compound useful for inhibiting ghrelin O-acyl transferase (GOAT), pharmaceutical compositions and methods for treating diseases  
5 related to GOAT activity.

GOAT belongs to the membrane-bound O-acyl transferase (MBOAT) family of enzymes. It converts desacyl-ghrelin (also known as unacylated ghrelin or UAG) to a biologically active form, acyl-ghrelin (AG), by transferring a fatty acid to the Ser3 residue of the desacylghrelin peptide. Acyl-ghrelin has been shown to increase food  
10 intake and increase adiposity in humans and in rodents. Infusion of AG in humans has also been shown to suppress glucose-induced insulin secretion. Elimination of the ghrelin gene has been shown to enhance insulin release to prevent or ameliorate glucose intolerance in high-fat diet fed ob/ob mice.

The prevalence of obesity and diabetes coupled with the variable effectiveness  
15 and responses to current treatments for obesity and diabetes necessitate that more treatment choices be available to patients. A GOAT inhibitor is believed to be a useful agent in the treatment of obesity. It is further believed that a GOAT inhibitor may also be useful in reducing weight gain or weight regain as an adjunct to diet and/or exercise, other therapeutic medicinal agents or procedures designed to reducing weight gain or treat  
20 obesity. Similarly, a GOAT inhibitor may be useful in treating type 2 diabetes, singly or in combination with other treatments for type 2 diabetes.

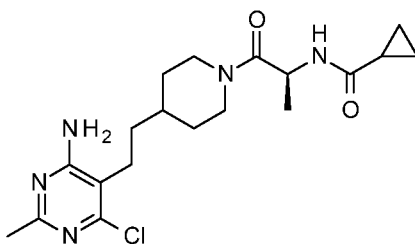
The present invention provides a compound that is a GOAT inhibitor. In particular, the present invention provides a compound of formula



25 or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

The present invention further provides a compound that is a GOAT inhibitor of formula

-2-



The present invention provides a pharmaceutical composition comprising a compound of the invention, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and one or more pharmaceutically acceptable carriers, diluents, or excipients. In a further  
5 embodiment, the present invention provides a pharmaceutical composition comprising a compound of the invention and one or more other therapeutic agents.

A further aspect of the present invention provides a method of reducing weight gain or weight regain or treating type 2 diabetes or obesity comprising administering a compound of the present invention, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, to a  
10 patient in need thereof.

The present invention also provides a compound of the invention, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, for use in therapy, in particular for reducing weight gain or weight regain or treating type 2 diabetes or obesity. Furthermore, the present invention provides the use of a compound of the invention, or a pharmaceutically  
15 acceptable salt thereof, in the manufacture of a medicament for reducing weight gain or weight regain or treating type 2 diabetes or obesity.

The compound of the present invention is generally effective over a wide dosage range. For example, dosages per day fall within the range of about 0.03 to about 150 mg/Kg of body weight. In some instances dosage levels below the lower limit of the  
20 aforesaid range may be more than adequate, while in other cases still larger doses may be employed while maintaining a favorable benefit/risk profile, and therefore the above dosage range is not intended to limit the scope of the invention in any way. It will be understood that the amount of the compound actually administered will be determined by a physician, in the light of the relevant circumstances, including the condition to be  
25 treated, the chosen route of administration, the actual compound or compounds administered, the age, weight, and response of the individual patient, and the severity of the patient's symptoms.

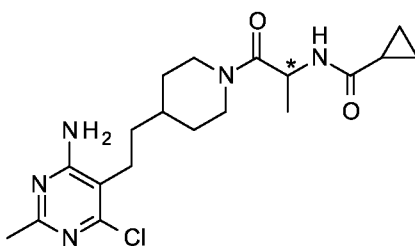
-3-

The term “treating” (or “treat” or “treatment”) as used herein refers to restraining, slowing, stopping, or reversing the progression or severity of an existing symptom, condition or disorder.

As used herein, the term “reducing weight gain” refers to diminishing the increase  
5 in weight of a patient. The term “reducing weight regain” refers to diminishing the increase in weight of a patient experiencing rebound in weight after weight loss. Weight regain may be due to a rebound effect following cessation of weight loss achieved via diet, exercise, behavior modification, or approved therapies. For avoidance of doubt weight gain or weight regain as used herein refers to weight gain or weight regain  
10 induced by food intake or eating habits and does not refer to non-food related weight gain such as build up of fluids, weight due to water retention, muscle mass, or inflammation.

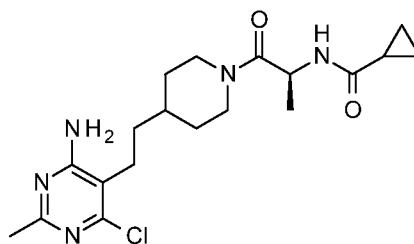
A compound of the present invention may react to form pharmaceutically acceptable salts. Pharmaceutically acceptable salts and common methodology for preparing them are well known in the art. See, e.g., P. Stahl, *et al. Handbook of*  
15 *Pharmaceutical Salts: Properties, Selection and Use*, 2<sup>nd</sup> Revised Edition (Wiley-VCH, 2011); S.M. Berge, *et al.*, “Pharmaceutical Salts,” *Journal of Pharmaceutical Sciences*, Vol. 66, No. 1, January 1977.

The skilled artisan will appreciate that the compound of the invention, or pharmaceutically acceptable salt thereof, are comprised of a core that contains at least one  
20 chiral center:



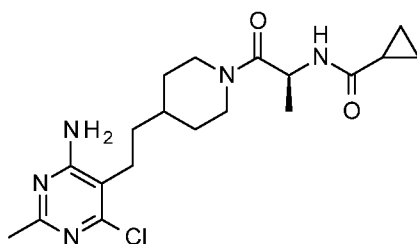
Although the present invention contemplates all individual enantiomers, as well as mixtures of the enantiomers of said compounds including racemates, the preferred compound of the invention is represented by the formula:

-4-



or pharmaceutically acceptable salts thereof.

A compound of the present invention is preferably formulated as pharmaceutical compositions administered by a variety of routes. Such pharmaceutical compositions and processes for preparing the same are well known in the art. *See, e.g., Remington: The Science and Practice of Pharmacy* (A. Gennaro, *et al.*, eds., 21st ed., Mack Publishing Co., 2005). More particularly preferred, is a pharmaceutical composition comprising a compound of the invention represented by the formula



or a pharmaceutically acceptable salt thereof and one or more pharmaceutically acceptable carriers or diluents.

Single enantiomers or diastereomers may be prepared beginning with chiral reagents or by stereoselective or stereospecific synthetic techniques. Alternatively, the single enantiomers or diastereomers may be isolated from mixtures by standard chiral chromatographic or crystallization techniques at any convenient point in the synthesis of compounds of the invention. Single enantiomers and diastereomers of compounds of the invention are a preferred embodiment of the invention.

It is well known in the art that agents for the treatment of diabetes and/or obesity may be combined with other agents for the treatment of diabetes and/or obesity. The compound of the invention, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, may be co-administered, simultaneously or sequentially, with other effective treatment(s) for diabetes or obesity. The compound of the invention, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, alone or in combination with other effective treatment(s) may be

administered, simultaneously or sequentially, following approved medical procedures such as bariatric surgeries, for example, gastric bypass surgery or adjustable gastric banding procedures.

The present invention also encompasses intermediates and processes useful for the  
5 synthesis of the compound of the present invention.

Additionally, the intermediates described in the following schemes may contain a number of nitrogen protecting groups. The variable protecting group may be the same or different in each occurrence depending on the particular reaction conditions and the particular transformations to be performed. The protection and deprotection conditions  
10 are well known to the skilled artisan. See, e.g., Greene and Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, (T. Greene and P. Wuts, eds., 2d ed. 1991).

### Preparations and Examples

The following Preparations and Examples further illustrate the invention and  
15 represent typical synthesis of the compound of the invention. The reagents and starting materials are readily available or may be readily synthesized by one of ordinary skill in the art. It should be understood that the Preparations and Examples are set forth by way of illustration and not limitation, and that various modifications may be made by one of ordinary skill in the art.

20 The R or S configuration of the compound of the invention may be determined by standard techniques such as X-ray analysis and correlation with chiral-HPLC retention time. The naming of the following Preparations and Example is generally performed using the IUPAC naming feature in MDL Accelrys® Draw version 4.0.NET.

As used herein, the following terms have the meanings indicated: “ACN” refers  
25 to acetonitrile; “BSA” refers to bovine serum albumin; “DCM” refers to dichloromethane; “DIPEA” refers to *N,N*-diisopropylethylamine; “DMF” refers to dimethylformamide; “DMSO” refers to dimethylsulfoxide; “EDTA” refers to ethylenediaminetetraacetic acid; “EtOAc” refers to ethyl acetate; “EtOH” refers to ethanol; “FBS” refers to fetal bovine serum; “HRP” refers to horseradish peroxidase;  
30 “IC<sub>50</sub>” refers to the concentration of an agent which produces 50% of the maximal response; “IPA” refers to isopropyl alcohol; “MeOH” refers to methanol; “MTBE” refers to methyl *tert*-butyl ether; “PBS” refers to phosphate buffered saline; “RT” refers to room

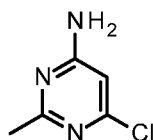
-6-

temperature; "TEA" refers to triethylamine; "TFA" refers to trifluoroacetic acid; "T<sub>R</sub>" refers to time of retention; "THF" refers to tetrahydrofuran; and "TMB" refers to 3,3',5,5'-tetramethylbenzidine.

LC-MS conditions (low pH): column: Phenomenex Gemini NX C18 2.1 × 50 mm  
3.0 m; gradient: 5-100% B in 3 min, then 100% B for 0.75 min column temperature: 50 °C +/-10 °C; flow rate: 1 mL/min; Solvent A: deionized water with 0.1% formic acid; Solvent B: ACN with 0.1% formic acid.

### Preparation 1

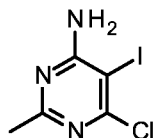
6-Chloro-2-methylpyrimidin-4-amine



Charge a 5 L steel pressure vessel (autoclave) with 4,6-dichloro-2-methylpyrimidine (400 g, 2.45 mol) and ammonium hydroxide (2.8 L) at RT. Heat the reaction to 90 °C for 5 h. Cool the reaction mixture to RT and then filter the solid through a Buchner funnel. Wash the filtercake with water (200 mL) and hexane (200 mL) and then dry under vacuum to afford the title compound as a white solid (290 g, 82%). LC-ES/MS *m/z* 144.0 (M+1).

### Preparation 2

6-Chloro-5-iodo-2-methylpyrimidin-4-amine



Combine 6-chloro-2-methylpyrimidin-4-amine (708 g, 4.93 mol) and MeOH (7.08 L) in a 20 L round bottom flask equipped with a mechanical stirrer. Cool to 0–5 °C. Add iodine monochloride (4.806 kg, 29.6 mol) dissolved in MeOH (6 L) using an addition funnel over a period of 1 h. Warm the reaction mixture to RT and stir at RT for 16 h. Cool the reaction mixture to 0–5 °C and add sodium sulfite (46 L, 20% aqueous solution). Filter the resulting solid and wash with water (2 L) followed by hexane (3 L). Dry the

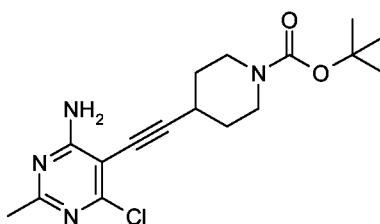
-7-

solid under vacuum to afford the title compound as a white solid (1061 g, 80%). LC-ES/MS  $m/z$  269.9 (M+1).

5

**Preparation 3**

*tert*-Butyl 4-[2-(4-amino-6-chloro-2-methyl-pyrimidin-5-yl)ethynyl]piperidine-1-carboxylate



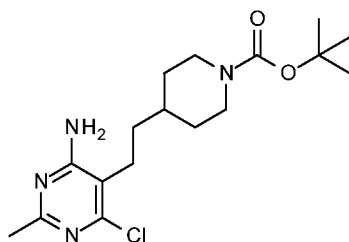
Dissolve 6-chloro-5-iodo-2-methyl-pyrimidin-4-amine (20 g, 74.22 mmol), 4-ethynyl-piperidine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (18.64 g, 89.06 mmol), and diisopropylamine (10.44 mL, 74.22 mmol) in THF (200 mL) in a 3-neck flask. Alternately evacuate and charge the flask with nitrogen 3 times. Add bis(triphenylphosphine)palladium(II) chloride (2.63 g, 3.71 mmol) and copper(I) iodide (0.713 g, 3.71 mmol) to the solution. Heat the mixture to between 50 to 55 °C for 16 h. Cool the mixture to RT and add more *bis*(triphenylphosphine)palladium(II) chloride (1.31 g, 1.86 mmol), copper(I) iodide (0.356 g, 1.86 mmol) and 4-ethynyl-piperidine-1-carboxylic acid *tert*-butyl ester (1.55 g, 7.42 mmol). Heat the mixture to 60 °C for 3.5 h. Cool the mixture to RT and concentrate under reduced pressure. Dilute the material with DCM (300 mL) and wash with saturated aqueous ammonium chloride solution (100 mL), water (100 mL), and saturated aqueous sodium chloride (100 mL). Dry the solution over MgSO<sub>4</sub>, filter, and concentrate under reduced pressure. Purify the residue using silica gel chromatography (800 g silica gel column) eluting with 20% to 100% EtOAc in hexanes. Concentrate the purified fractions to give the title compound as a pale orange powder (22.6 g, 86%). LC-ES/MS  $m/z$  (<sup>35</sup>Cl/<sup>37</sup>Cl) 351.2/353.1 (M+1).

25

**Preparation 4**

*tert*-Butyl 4-[2-(4-amino-6-chloro-2-methyl-pyrimidin-5-yl)ethyl]piperidine-1-carboxylate

-8-

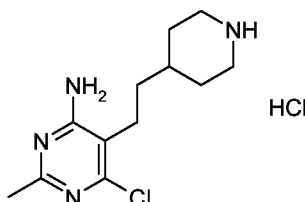


- Combine *tert*-butyl 4-[2-(4-amino-6-chloro-2-methyl-pyrimidin-5-yl)ethynyl]piperidine-1-carboxylate (4.30 g, 12.26 mmol) and platinum(IV) oxide (0.139 g, 0.61 mmol) in EtOH (81 mL) and EtOAc (40 mL). Alternately evacuate and charge the flask with hydrogen using a hydrogen balloon and agitate at RT for 8 h. Monitor the reaction carefully so as to avoid a potential side product resulting from removal of the chloride in the molecule. Note that the product is more soluble in the solvent mixture than the starting alkyne. Filter the mixture through diatomaceous earth, rinsing with MeOH. Concentrate the solution under reduced pressure. Into the flask add silica, 1-propanethiol (4 g, loading = 1.28 mmol/g, SILIABOND® Thiol from SILICYCLE®) (to remove residual palladium from the previous coupling reaction) and EtOAc (300 mL). Stir the material at RT 3 days. Filter the solids and concentrate the filtrate under reduced pressure. Repeat the hydrogenation on the resulting residue as follows. Charge the flask containing the residue with platinum(IV) oxide (0.139 g, 0.61 mmol), EtOH (81 mL) and EtOAc (40 mL). Alternately evacuate and charge the flask with hydrogen using a hydrogen balloon and agitate at RT for 8 h. Filter through diatomaceous earth, rinsing with MeOH, and concentrate the filtrate under reduced pressure. Repeat the hydrogenation on the resulting residue as follows. Charge the flask containing the residue with platinum(IV) oxide (0.139 g, 0.61 mmol), EtOH (81 mL) and EtOAc (40 mL). Alternately evacuate and charge the flask with hydrogen using a hydrogen balloon and agitate at RT for 8 h. Filter through diatomaceous earth, rinsing with MeOH. Concentrate the filtrate under reduced pressure onto silica gel (20 g). Purify the material using silica gel chromatography eluting with 70% to 100% EtOAc in hexanes (120 g column). Combine the purified fractions and concentrate under reduced pressure. Dilute the residue with DCM and hexanes and concentrate under reduced pressure three times. Place the material under vacuum to give the title compound as a white solid (3.20 g, 73%). LC-ES/MS  $m/z$  ( $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$ ) 355.2/357.2 ( $M+1$ ).

-9-

**Preparation 5**

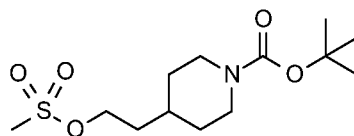
6-Chloro-2-methyl-5-[2-(4-piperidyl)ethyl]pyrimidin-4-amine, hydrochloride salt



- 5 Dissolve *tert*-butyl 4-[2-(4-amino-6-chloro-2-methyl-pyrimidin-5-yl)ethyl]piperidine-1-carboxylate (29.00 g, 81.72 mmol) in 1,4-dioxane (145 mL) and add 4M hydrogen chloride in 1,4-dioxane (204.2 mL, 817.1 mmol). Stir the solution for 18 h at RT. Concentrate the mixture under reduced pressure, slurry in diethyl ether (250 mL), filter, and dry the resultant solid under vacuum to give the title compound as a crude
- 10 white solid (29 g). LC-ES/MS  $m/z$  ( $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$ ) 255.2/257.2 (M+1).

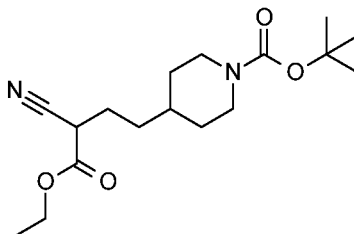
**Alternate route for 6-chloro-2-methyl-5-[2-(4-piperidyl)ethyl]pyrimidin-4-amine (Preparations 6 – 10)****Preparation 6**

- 15 *tert*-Butyl 4-(2-methylsulfonyloxyethyl)piperidine-1-carboxylate



- Combine *tert*-butyl 4-(2-hydroxyethyl)piperidine-1-carboxylate (4.720 kg, 20.6 mol) with DCM (40 L) and TEA (3020 mL, 21.63 mol) in a 50 L reactor under a nitrogen atmosphere. Cool the solution to about 0 °C and slowly add methane sulfonyl chloride
- 20 (2.478 kg, 21.63 mol) in DCM (5 L) while keeping the reaction temperature below 10 °C. After the addition is complete stir the mixture for 18 h at 15 °C at which time TLC (1:1, hexane:EtOAc) shows no starting material remaining. Wash the mixture with water (30 L) and allow the phases to separate. Concentrate the organic phase to a solid. Slurry the solid in MTBE (6 L), collect by filtration, and dry in a vacuum oven at 50 °C to provide
- 25 the title compound as a white solid (5.67 kg, 91%).

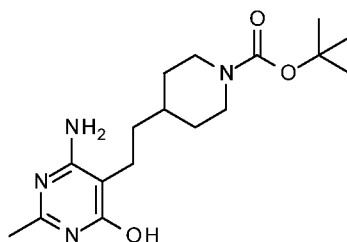
-10-

**Preparation 7***tert*-Butyl 4-(3-cyano-4-ethoxy-4-oxo-butyl)piperidine-1-carboxylate

Combine *tert*-butyl 4-(2-methylsulfonyloxyethyl)piperidine-1-carboxylate (5.26 kg, 17.1 mol), ethyl cyanoacetate (7 kg, 62 mol), 21% sodium ethoxide in EtOH (8.25 L, 24.75 mol) and EtOH (35 L) in a 50 L reactor under a nitrogen atmosphere. Heat the mixture at 35 – 40 °C for 18 h at which time NMR analysis shows 20% of the mesylate remaining. Continue heating the mixture at 35 – 40 °C for 24 h at which time NMR analysis shows only a small amount of mesylate. Slowly cool the reaction to RT and add glacial acetic acid (1422 mL, 22.68 mol) over 30 min. Concentrate the mixture using vacuum distillation and then partition between water (25 L) and EtOAc (35 L). Separate the layers and extract the aqueous phase with EtOAc (10 L). Combine the organic portions, wash with brine (15 L), and concentrate to a red oil. Purify the oil using silica gel chromatography (75 kg silica gel, 65-250 mesh), eluting with hexane (40 L) and then 20% EtOAc/hexane to provide a fraction (7.8 kg) that is 30% ethyl cyanoacetate/70% desired product. Concentrate the material by wipe film distillation at 100 °C and 210 mtorr vacuum, collecting the non-volatile fraction to provide the title compound (4.54 kg, 82%).

**Preparation 8***tert*-Butyl 4-[2-(4-amino-6-hydroxy-2-methyl-pyrimidin-5-yl)ethyl]piperidine-1-carboxylate

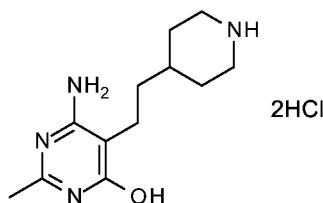
-11-



- Combine *tert*-butyl 4-(3-cyano-4-ethoxy-4-oxo-butyl)piperidine-1-carboxylate (2.18 kg, 6.73 mol), acetamidine hydrochloride (1.27 kg, 13.46 mol, 95% assay) [Note: pre-dry the acetamidine hydrochloride by slurrying twice in toluene (10 L) and then stripping to dryness under vacuum], 21% sodium ethoxide in EtOH (6.73 L, 20.19 mol) and EtOH (10 L) in a 22 L reactor under a nitrogen atmosphere. Heat the reaction at reflux for 42 h. Adjust the reaction to about pH = 5 with glacial acetic acid (1.2 L, 20.86 mol). Remove the EtOH by vacuum distillation on a rotary evaporator. Slurry the resulting solids in water (6 L), and then collect the solids by filtration, washing with additional water (2 L). Dry the solids in a vacuum oven at 50 °C to provide the title compound (1.72 kg, 76%). <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 4.83 (s, 3H); 4.05 (d, 2H), 2.75 (bs, 2H), 2.39 (m, 2H), 2.22 (s, 3H), 1.78 (d, 2H), 1.43 (m, 1H), 1.42 (s, 9H), 1.40 (m, 2H), 1.38 (m, 2H). Repeat the process, essentially as described, using *tert*-butyl 4-(3-cyano-4-ethoxy-4-oxo-butyl)piperidine-1-carboxylate (2.36 kg) to obtain the titled compound (2.01 kg, 82%).

### Preparation 9

6-Amino-2-methyl-5-[2-(4-piperidyl)ethyl]pyrimidin-4-ol, dihydrochloride salt



- Combine *tert*-butyl 4-[2-(4-amino-6-hydroxy-2-methyl-pyrimidin-5-yl)ethyl]piperidine-1-carboxylate (3.73 kg, 11.09 mol) and IPA in a 50 L reactor under a nitrogen atmosphere. Add 12 N hydrochloric acid (3.05 L, 36.6 mol) with stirring over 3 h. Heat the mixture at 50 °C for 16 h, forming a thick slurry. At that time NMR analysis shows no BOC group remaining. Cool the reaction mixture to 20 – 25 °C, diluting with

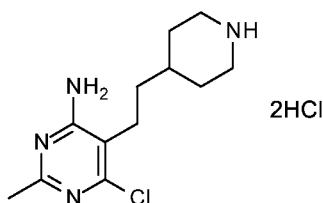
-12-

THF (12 L). Collect the solids by filtration. The filtration is slow and may take over 24 h to complete. Wash with IPA (2 × 10 L). Dry the material in a vacuum oven at 50 °C to provide the title compound (3.117 kg, 91%).

5

**Preparation 10**

6-Chloro-2-methyl-5-[2-(4-piperidyl)ethyl]pyrimidin-4-amine, dihydrochloride salt



Combine 6-amino-2-methyl-5-[2-(4-piperidyl)ethyl]pyrimidin-4-ol, dihydrochloride salt (3.167k g, 10.2 mol) and phosphorous oxychloride (30 L, 300 mol) under a nitrogen atmosphere in a 50 L reactor which is vented through a caustic (10% NaOH) scrubber. Add 85% phosphoric acid (1 L, 8.5 mol) to the stirred slurry. Heat the mixture slowly using a reactor jacket temperature of 75 °C. At about 55 °C, when off-gassing occurs, cool the scrubber in an ice water bath. When the off-gassing is slowed, heat the mixture at 90 – 95 °C for 50 h at which time TLC and NMR analysis shows the reaction to be complete. Remove the bulk of the excess phosphorous oxychloride by vacuum distillation (22 in Hg vacuum and 60 °C internal temperature) to recover 20 L in the distillate. Cool the mixture to 20 – 25 °C and then dilute with toluene (10 L). Further cool the mixture to < 15 °C and slowly quench with water (1 L) keeping the temperature < 30 °C. After the toluene addition the mixture becomes very thick and difficult to agitate with the product phase remaining at the bottom of the reactor as a viscous semi-solid. Elevate the agitator blades in order to achieve any mixing. Add EtOH (10 L) to the mixture and stir for about 18 h at 25 °C. At this point the viscous semi-solids are not yet completely digested, but are softened so that they can be manually probed. Agitate vigorously for another 4 – 5 h to completely digest. Cool the resulting slurry to 5 – 10 °C and collect the solids by filtration, washing with MTBE (8 L) to obtain wet product (about 6 kg).

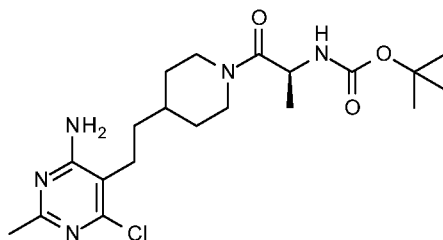
Recrystillize the crude product by dissolving the wet cake in MeOH (35 L) at 40 °C. Concentrate the solution by vacuum distillation, removing 15 L of solvent. Add IPA

-13-

(35 L) and concentrate the slurry by vacuum distillation to remove 13 L of solvent. Cool the slurry to 5 – 10 °C and then filter the solids, washing with IPA (2 L), and then MTBE (8 L). Dry the solids in a vacuum oven at 55 °C to afford the title compound as an off-white solid (2.77 kg, 82%). Analytical calculated for C<sub>12</sub>H<sub>21</sub>Cl<sub>3</sub>N<sub>4</sub>: C, 43.98; H, 6.46; Cl, 32.46; N, 17.10. Found: C, 43.63; H, 6.53; Cl, 32.16; N, 16.86.

### Preparation 11

*tert*-Butyl *N*-[(1*S*)-2-[4-[2-(4-amino-6-chloro-2-methyl-pyrimidin-5-yl)ethyl]-1-piperidyl]-1-methyl-2-oxo-ethyl]carbamate



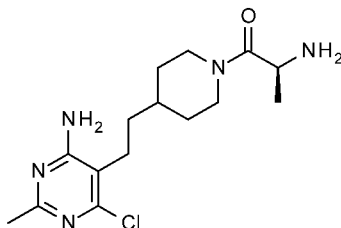
10

Into each of two round bottom flasks add 6-chloro-2-methyl-5-[2-(4-piperidyl)ethyl]pyrimidin-4-amine hydrochloride (12.50 g, 42.92 mmol), diisopropylethylamine (22.46 mL, 128.7 mmol) and DMF (100 mL). Cool the two mixtures in a cold water bath and stir for 5 min. Add to each of the mixtures [dimethylamino(triazolo[4,5-b]pyridin-3-yloxy)methylene]-dimethyl-ammonium hexafluorophosphate (17.95 g, 47.21 mmol) and (2*S*)-2-(*tert*-butoxycarbonylamino)propanoic acid (8.93 g, 47.21 mmol) in one portion. Stir the mixtures at RT for 90 min. Pour the mixtures into separate separatory funnels along with water (300 mL) and EtOAc (400 mL), shake and partition. Extract the aqueous layers with EtOAc (3 × 300 mL), wash the respective organic layers with water (4 × 250 mL), saturated aqueous NaCl (200 mL) and dry over MgSO<sub>4</sub>, filter and concentrate under reduced pressure. Purify the combined materials via silica gel chromatography eluting with 70% to 100% EtOAc in hexanes. Combine and concentrate the purified fractions under reduced pressure. Dilute the residue with EtOAc (500 mL) and wash with saturated aqueous NH<sub>4</sub>Cl (100 mL), saturated aqueous NaHCO<sub>3</sub> (100 mL), water (100 mL) and saturated aqueous NaCl (100 mL). Dry the organics over MgSO<sub>4</sub>, filter, and concentrate under reduced pressure to give the title compound as a white solid (28.00 g, 76%). LC-ES/MS *m/z* (<sup>35</sup>Cl/<sup>37</sup>Cl) 426.2/428.2 (M+1).

-14-

**Preparation 12**

(2S)-2-Amino-1-[4-[2-(4-amino-6-chloro-2-methyl-pyrimidin-5-yl)ethyl]-1-piperidyl]propan-1-one



5

Dissolve *tert*-butyl *N*-[(1*S*)-2-[4-[2-(4-amino-6-chloro-2-methyl-pyrimidin-5-yl)ethyl]-1-piperidyl]-1-methyl-2-oxo-ethyl]carbamate (15.78 g, 37.05 mmol) in DCM (185 mL), add TFA (185 mL) in a dropwise manner over 3 min, and stir overnight.

Analyze the reaction by LCMS (low pH) to show complete conversion. Slowly add

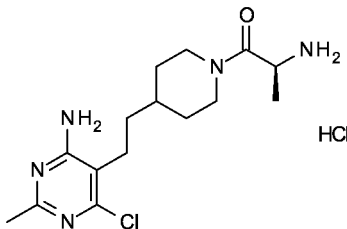
10 MeOH (400 mL) due to exothermic mixing. Prewash three SCX columns (50 g) with water (20 mL) and then MeOH (20 mL). Divide the reaction mixture into three equal portions and load equally onto the SCX columns. Wash each column with water (40 mL) and MeOH (40 mL) collecting the washes in a vacuum flask. Elute the desired material from the SCX columns with 2 N ammonia in MeOH (60 mL) into a clean vessel.

15 Combine the product containing solutions, concentrate under reduced pressure, azeotrope with DCM-hexanes (1:1), three times, and place under vacuum to obtain the title compound as a white foam (10.29 g, 84%). LC-ES/MS  $m/z$  ( $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$ ) 326.2/328.2 (M+1).

20

**Preparation 13**

(2S)-2-Amino-1-[4-[2-(4-amino-6-chloro-2-methyl-pyrimidin-5-yl)ethyl]-1-piperidyl]propan-1-one hydrochloride salt



-15-

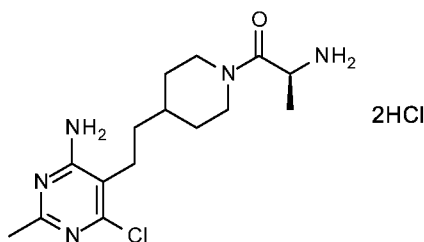
Add *tert*-butyl *N*-[(1*S*)-2-[4-[2-(4-amino-6-chloro-2-methyl-pyrimidin-5-yl)ethyl]-1-piperidyl]-1-methyl-2-oxo-ethyl]carbamate (28.75 g, 67.49 mmol) to 1,4-dioxane (143.7 mL). Then add 4M hydrogen chloride in 1,4-dioxane (168.7 mL, 674.9 mmol) and stir for 10 min. Add MeOH (20 mL) and stir the mixture for 3 h with vigorous stirring.

- 5 Concentrate the mixture under reduced pressure, dilute the solids with diethyl ether (200 mL), and stir overnight. Filter the material, rinsing with diethyl ether (2 × 25 mL). Dry the material via suction for 15 min, then place under vacuum for 1 h at 45 °C to obtain the title compound as a crude white powder (27.7 g). LC-ES/MS *m/z* (<sup>35</sup>Cl/<sup>37</sup>Cl) 326.1/328.2 (M+1).

10

#### Preparation 14

(2*S*)-2-Amino-1-[4-[2-(4-amino-6-chloro-2-methyl-pyrimidin-5-yl)ethyl]-1-piperidyl]propan-1-one, dihydrochloride salt



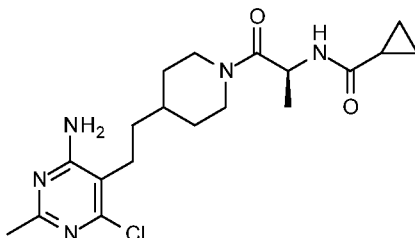
- 15 Heat IPA (154 mL) to 50 °C and add acetyl chloride (19.3 mL, 271 mmol) slowly due to an exothermic reaction. Stir the reaction at 50 °C for 10 min and then add *tert*-butyl *N*-[(1*S*)-2-[4-[2-(4-amino-6-chloro-2-methyl-pyrimidin-5-yl)ethyl]-1-piperidyl]-1-methyl-2-oxo-ethyl]carbamate (21.0 g, 45.3 mmol). Stir the reaction for 2 h monitoring via LCMS (low pH). Cool the reaction to RT and add diethyl ether (386 mL). Stir the
- 20 slurry for 15 min. Filter the solids, washing with diethyl ether (2 × 50 mL) in a brisk manner as the material is hygroscopic. Filter the material and dry via filtration for 1 min, then in a vacuum drying oven at 50 °C overnight to give the title compound as a white powder (18.4 g). LC-ES/MS *m/z* (<sup>35</sup>Cl/<sup>37</sup>Cl) 326.1/328.2 (M+1). Counterion analysis by ion chromatography is consistent with the dihydrochloride salt.

25

-16-

**Example 1**

N-[(1S)-2-[4-[2-(4-Amino-6-chloro-2-methyl-pyrimidin-5-yl)ethyl]-1-piperidyl]-1-methyl-2-oxo-ethyl]cyclopropanecarboxamide



- 5 Add 1-hydroxy-7-azabenzotriazole (281 mg, 2.03 mmol) and 1-(3-dimethylaminopropyl)-3-ethylcarbodiimide hydrochloride (430 mg, 2.21 mmol) to a slurry of cyclopropanecarboxylic acid (161  $\mu$ L, 2.03 mmol), (2S)-2-amino-1-[4-[2-(4-amino-6-chloro-2-methyl-pyrimidin-5-yl)ethyl]-1-piperidyl]propan-1-one (600 mg, 1.84 mmol) in anhydrous THF (12 mL). Then add TEA (770  $\mu$ L, 5.52 mmol) and stir the
- 10 resulting mixture at RT for 12 h. Dilute the reaction mixture with EtOAc (10 mL), filter over diatomaceous earth, and concentrate the filtrate *in vacuo*. Purify the resulting residue by mass-guided HPLC reverse phase chromatography (Agilent® 1200 LCMS and MSD mass spectrometer, 75  $\times$  30 mm Phenomenex Gemini-NX®, 5  $\mu$  particle size column with a 10  $\times$  20 mm guard, 12-46% ACN in 10 mM aqueous ammonium
- 15 bicarbonate solution, pH 10, gradient over 9 min) to obtain the title compound as a colorless glass (572 mg, 78%). LC-ESMS  $m/z$  ( $^{35}\text{Cl}/^{37}\text{Cl}$ ) 394.2/396.2 (M+H).

**Alternate procedure with 1-propanephosphonic anhydride**

- Treat a mixture of (2S)-2-amino-1-[4-[2-(4-amino-6-chloro-2-methyl-pyrimidin-5-yl)ethyl]-1-piperidyl]propan-1-one, dihydrochloride salt (107.4 g, 183.15 mmol) in DCM
- 20 (584 mL) with DIPEA (128 mL, 732.59 mmol). Cool the reaction mixture to 0 °C in an ice bath and add cyclopropanecarboxylic acid (21.8 mL, 274.72 mmol). Then add a solution of 1-propanephosphonic anhydride (50% solution in EtOAc, 174.8 g, 274.72 mmol) followed by additional DIPEA (40 mL) to render the reaction mixture basic. Stir
- 25 at RT overnight. Wash the reaction mixture with water (1 L) and separate the layers. Dry the organic portion over  $\text{MgSO}_4$  and concentrate *in vacuo* to obtain the crude product as an off-white foam. Purify the material by chromatography over silica gel (800 g, 0-10%

-17-

MeOH in EtOAc). The appropriate fractions were combined with another batch of product (51 g) obtained by essentially following the same procedure using (2*S*)-2-amino-1-[4-[2-(4-amino-6-chloro-2-methyl-pyrimidin-5-yl)ethyl]-1-piperidyl]propan-1-one, dihydrochloride salt (77.9 g, 150.42 mmol). The combined lots were concentrated *in vacuo* to obtain a white solid (114 g). The product began to crystallize during the concentration. Triturate the material with hot EtOAc (200 mL), cool, and filter to obtain the title compound (111 g, 84%). LC-ES/MS *m/z* (<sup>35</sup>Cl/<sup>37</sup>Cl) 394.0/396.0 (M+1). Chiral analysis (OD-H column, 25% MeOH/iPrNH<sub>2</sub>, 5.0 mL/min, 100 bar, 35 °C, 220 nm) >99.9% ee; T<sub>R</sub> = 1.15 min.

10

GOAT is the principal enzyme that converts UAG to AG. For reviews of the role of GOAT and ghrelin see: Kristy M. Heppner et al, *The ghrelin O-acyltransferase–ghrelin system: a novel regulator of glucose metabolism*, Current Opinion in Endocrinology, Diabetes & Obesity 2011, 18:50–55; Phillip A. Cole et al., *Glucose and Weight Control in Mice with a Designed Ghrelin OAcyltransferase Inhibitor*, Science. 2010 December 17; 330(6011): 1689–1692. doi:10.1126/science.1196154, Matthias H. Tschöp et al., *Gastric O-acyl transferase activates hunger signal to the brain*, Proc Natl Acad Sci U S A. 2008 April 29; 105(17): 6213–6214, and Jesus Gutierrez, et al., *Ghrelin octanoylation mediated by an orphan lipid transferase*, Proc Natl Acad Sci U S A., 2008 April 29, 105 (17): 6320-6325.

20

The role of GOAT is supported by the phenotypes observed in mice devoid of GOAT gene. Therefore, inhibition of GOAT is expected to decrease circulating AG and raise circulating UAG. Consequently, the ratio of AG to total ghrelin (UAG + AG) is reduced after GOAT inhibitor treatment.

25

#### ***In vitro* cell free human GOAT enzymatic assay**

Human GOAT gene (Accession number: NM\_001100916) is subcloned to pAN51 baculoviral expression vector. Baculovirus stock is prepared following the Bac-to-Bac Protocol provided by the vendor, Invitrogen, California, USA. Five milliliters of human GOAT baculoviral stock are added to 500 mL Sf9 cells in HyQ SFX-Insect<sup>TM</sup> media (HyClone catalog number SH30278.02) at the density of 1 × 10<sup>6</sup> cells per milliliter in a 2 L Erlenmeyer flask. The flask with human GOAT gene infected Sf9 cells is put on a

30

-18-

plate shaker at 120 rpm at 28 °C for 48 h. After 48 h incubation, cells are centrifuged at 1,000xg for 10 min at 4 °C. The cell pellets are collected and stored at -80 °C in a freezer until ready for further processing.

Preparation of microsomal membrane of GOAT enzyme for the enzymatic assay:

- 5           One gram cell pellets are suspended in 9 mL chilled homogenization buffer (50 mM Tris-HCl, 250 mM sucrose, adjusted to pH 7.5, and sterile filtered through 0.2 µm Millipore filter). The cell suspension is transferred to a Dounce glass homogenizer. Cell pellets are homogenized with 40 strokes on ice. The homogenate is centrifuged at 3,000 rpm in a Beckman swing bucket rotor at 4 °C for 10 min to remove unbroken cells. The
- 10   supernatant is collected and centrifuged at 40,000 xg for 1 h at 4 °C. The resulting membrane pellet is suspended in the homogenization buffer using a Dounce glass homogenizer and stored at -20 °C in the freezer for the assay. For long term storage of the human GOAT enzyme membrane preparation, the suspended membrane is stored in a -80 °C freezer.

15   Human GOAT enzymatic assay protocol:

- Prepare test compounds in DMSO to make up a 0.2 mM stock solution. Serially dilute the stock solution in DMSO to obtain a ten-point dilution curve with final compound concentrations ranging from 10 µM to 0.5 nM in a 96-well round-bottom plate. Prepare enzyme and substrate solutions in assay buffer (0.02% Tween™-20 in 50
- 20   mM Tris, pH 7.5/250 mM sucrose/1 mg/mL BSA/10 mM EDTA). Add diluted compound (1 µL) to each well of row A to N of a corresponding low protein binding 384 well plate. Add human GOAT substrate mix (10 µL), consisting of human desacyl-ghrelin-biotin (CPC Scientific Inc., 6.0 µM final), octanoyl-CoA (Sigma, 60 µM final) and an AG specific antibody (WO 2006/091381)(1.0 µg/mL final), to the compounds.
- 25   Add GOAT-His/sf9 enzyme preparation, that has been prepared in assay buffer (9 µL), to each well of the plate containing substrate and test compounds resulting in a final concentration of 0.01 µg/mL to initiate the reaction. Incubate the mixture for 1 h at RT on a gently rotating oscillator. Add 4 M guanidine hydrochloride (20 µL) to all wells, mix, and incubate for 3 h to stop the reaction.
- 30           Prepare ELISA plates (STREPTAVIDIN SPECTRAPLATE™ 384, Perkin Elmer) by blocking with 2% Heat-Inactivated FBS in PBS (40 µL) (Invitrogen) blocking buffer for 3 h. Aspirate the blocking buffer from ELISA plate and add blocking buffer (23 µL)

-19-

to columns 1-24, rows A-N. Reserve rows O and P for the acylghrelin standard curve. Add the reaction mix (2  $\mu$ L) to the ELISA plates. Prepare a 10 point standard curve (biotin-labeled octanoyl-ghrelin) by serial 2X dilution in blocking buffer containing 0.2M Guanidine hydrochloride starting at 2.5 pM. Incubate the reaction mixture or biotin-

5 labeled AG standard in the ELISA plate overnight at 4 °C. The following day, wash the plate 3 $\times$  with wash buffer (0.1% Tween<sup>TM</sup>-20/PBS, 100  $\mu$ L per well in each wash cycle). Add AG specific antibody (WO 2006/091381) (25  $\mu$ L of 0.5  $\mu$ g/mL in blocking buffer) to each well and incubate at RT for 1 h. Wash the plate 3 $\times$  with the wash buffer, similarly to the previous step. Add Protein G-HRP (25  $\mu$ L)(Southern Biotech) diluted 3,000 $\times$  in

10 blocking buffer and incubate 1 h at RT. Wash the plate 3 $\times$  with wash buffer, as in the previous steps. Add TMB reagent (25  $\mu$ L) (Kirkegaard & Perry Laboratories, Inc.) to each well and let develop for 20 min and stop with 1 M phosphoric acid (25  $\mu$ L per well). Read plates at 450 nm using an Envision Multilabel plate reader. AG levels are calculated versus a fitted standard curve and percent inhibition calculated. The 10-point

15 inhibition curve is plotted and fitted with the four-parameter logistic equation to obtain IC<sub>50</sub> values using Activity Base (ver. 7.3.2.1).

Following a protocol essentially as described above, the compound of Example 1 displays an IC<sub>50</sub> of about 192 nM  $\pm$  73, (n = 5). The data demonstrates that the compound of Example 1 inhibits purified GOAT enzyme activity *in vitro*.

20 Comparing the change in the ratio of AG to total ghrelin in the compound treated group and that of the vehicle treated group reflects the degree of GOAT enzyme inhibition *in vivo*, due to the dynamic processing of UAG to AG by the GOAT enzyme. In the *in vivo* pharmacodynamic studies herein, the levels of AG and UAG in plasma and stomach in the vehicle and compound treated groups are measured by ELISA specifically

25 to these two analytes. The total ghrelin level of each sample is computed as the sum of AG and UAG by these ELISA measurements. The ratio of AG to total ghrelin is defined by the level of AG in each sample divided by the level of total ghrelin in the same sample. The levels of AG, UAG and ratio of AG to total ghrelin in the vehicle treated group is computed and set as 100%. The relative change of these parameters in the

30 compound treated group is then computed to determine the effectiveness of the test compound.

***In vivo dose dependent 3 day BID study for GOAT inhibitor:***

Animals and treatment:

Purchase male C57BL/6 mice from Harlan (Indianapolis, IN) at 9 weeks of age. House the mice individually in a temperature-controlled (24 °C) facility with a 12 h light/dark cycle (lights on 2200 h), and allow free access to a standard rodent chow (diet 2014, Harlan) and water. Typically, use the mice when they are 10-13 weeks of age at the time of the study. On day 0 of the experiment, randomize the mice into treatment groups (N=7/group) so each group has similar mean body weights. On day 1 and day 2, treat the animals with vehicle (1% hydroxyethylcellulose, 0.25% Tween 80, 0.05% antifoam) or test compound prepared in the vehicle as suspension at various dosages by oral gavage at 7 am and 7 pm. On day 3, fast the animals, move them into clean cages and dose with vehicle or the test compound again at 8 am by oral gavage. That same day at 1 pm, sacrifice the animals by decapitation to collect blood. For details of blood collection and plasma treatments see Blood collection and Extraction of Ghrelin from Plasma section below.

Blood collection:

Collect approximately 600 µL blood into a pre-weighed EDTA tube containing 600 µL (defined as  $V_{preservative}$ ) freshly-prepared preservative (4 mM PEFABLOC® [4-(2-aminoethyl) benzenesulfonyl fluoride hydrochloride], 72 mM NaCl, 58 mM NaF, 0.032 N hydrochloric acid, pH 3.0) and mix immediately. Weigh the tube again and keep on ice. To accurately determine the exact blood volume of each sample using this blood collection procedure, the weight of the blood for each mouse is computed using the following equation:

$$\text{Weight of Blood} = (\text{Weight of the tube containing Blood} + \text{preservative}) - (\text{Weight of the tube containing preservative})$$

$$\text{Blood volume } (V_{\text{blood}}) = (\text{Weight of blood}) / 1.06$$

Note, the density of rodent blood is assumed as 1.06 g/mL.

Within 15 minutes after the blood collection, samples are centrifuged at 5000 rpm at 4 °C for 8 min. Remove plasma (650 µL) to a 5 mL glass tube containing 1 N hydrochloric acid (65µL), mix and keep on ice.

-21-

Ghrelin extraction by SEP-PAK® column:

AG and UAG are extracted from plasma using SEP-PAK®<sub>C<sub>18</sub></sub> column to remove interference prior to performing the ELISA. The solid phase extraction of AG and UAG peptides by SEP-PAK®<sub>C<sub>18</sub></sub> columns can be performed on a vacuum manifold (Waters Corp) or using a peristaltic pump. The sample SEP-PAK®<sub>column</sub> extraction procedure is independently applied to the plasma sample obtained from each individual mouse. The general extraction protocol is described as follows.

All solutions used for the entire protocol of the SEP-PAK® column extraction should be at ice cold condition. Wet SEP-PAK®<sub>columns</sub> (WAT054960, Waters Corp, Milford MA) with 99.9% ACN/0.1% TFA (1 mL of solution of 100 mL ACN/0.1 mL TFA). Apply pressure to adjust the flow-rate to about 1mL/min to remove liquid from the column bed but do not allow the column to dry out at any point. Once liquid is removed from the column, stop the pressure. Equilibrate the columns with 3% ACN/0.1% TFA (1 mL of 97 mL water, 3 mL ACN, 0.1 mL TFA). Apply pressure to adjust the flow-rate to about 1mL/min to remove liquid from the column bed, but do not let the column dry out. Dilute approximately 650 µL acidified plasma (defined as  $V_{plasma}$  added to column) to 1.4 mL ice cold 0.1% TFA. Load all diluted acidified plasma from the previous step onto the columns. Apply pressure to adjust the flow-rate to about 0.5mL/min to allow sample passing through the column and ghrelin peptides to absorb onto the resin of the column. Do not let the column dry out. Wash with 3% ACN/0.1% TFA (0.9 mL of 97 mL water, 3 mL ACN, 0.1 mL TFA). Apply pressure to adjust the flow-rate to about 1mL/min to remove liquid from the column bed but do not let the column dry out.. Repeat the wash two more times. Elute with 60% ACN/0.1% TFA (1 mL of 40 mL water, 60 mL ACN, 0.1 mL TFA). Put a collection tube underneath of each column, apply pressure to adjust the flow-rate to about 0.5 mL/min to push liquid through the column and collect the eluent into the collection tube. Freeze the samples on dry ice immediately. Lyophilize the samples in a speed-vac (Model# SC110A, Savant) and store at -20 °C until the ELISA assay is performed.

ELISA assay for Ghrelin:

Coat 96-well MULTI-ARRAY® MSD® plates (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD, Catalog # L15XA-3) with 100 µL of 1 µg/mL of an antibody (WO

-22-

2005/026211 AND WO2006/019577) that recognizes the mid-domain of both the acyl and unacylated forms of ghrelin in PBS (Invitrogen). Tap the sides of the plates to ensure coverage of wells, seal with adhesive plate sealer, and incubate overnight at RT. Discard the contents and add Blocker™ Casein in PBS (25 µL) (Thermo Scientific, Rockford, IL, Catalog #37528) to each well. Reseal the plates and put on a plate shaker at RT for 1 h.

Reconstitute the lyophilized preserved plasma samples from the SEP-PAK® C<sub>18</sub> column extraction in Blocker™ Casein in PBS (400 µL to each sample, this volume is defined as  $V_{reconstitution}$ ), mix well with a vortex mixer and incubate on ice for 45-60 min. Discard the contents from the plates and add reconstituted plasma samples at 25 µL to each well. Prepare acylghrelin and unacylated ghrelin standard curves beginning with 8000 pg/mL and performing serial 1:4 dilutions for 8 total concentrations. Add the prepared standards in duplicate to the blocked plates with 25 µL in each well. Seal the plates and incubate at RT on a plate shaker for 2 h.

Discard the plate contents and wash three times with PBS including 0.1% Tween™ 20 (150 µL)(PBS-T). Acylghrelin specific antibody (WO 2006/091381) or unacylated ghrelin specific antibody (WO 2006/055347) labeled with MSD SULFO-TAG™ (Meso Scale Discovery) are diluted to 0.05 µg/mL in 0.2 × Blocker Casein containing 0.05% Tween™ 20, named secondary antibody solution. Remove the final wash and add secondary antibody solution (25 µL to each well) which specifically recognizes AG or UAG. The plates are resealed and incubated for 1 h at RT on a plate shaker before finally washing 3× again with PBS-T (150 µL/well).

Discard the final wash and replace with 1× MSD Read Buffer (150 µL/well). Read the electrochemiluminescent signal generated by activation of the bound MSD SULFO-TAG™ label to the electrodes on the plates using the MSD® SECTOR® Imager 6000 analyzer (Meso Scale Discovery). Calculate concentrations of acylghrelin or unacylated ghrelin based on the respective standard curve generated by the MSD® software. Determine the actual plasma concentration for each sample by multiplying the measured acylghrelin or unacylated ghrelin level by a dilution factor. The dilution factor for each plasma sample is computed with the following equation.

30

-23-

$$\text{Dilution Factor} = \left( \frac{V_{\text{blood}} + V_{\text{preservative}}}{V_{\text{blood}}} \right) \times \left( \frac{V_{\text{reconstitution}}}{V_{\text{plasma loaded to column}}} \right)$$

Results:

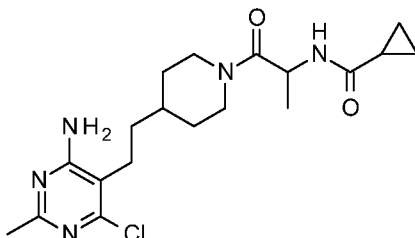
- Administration of the compound of Example 2 for 3 days decreases plasma AG by -1%, 5%, 45%, and 48%, and increases UAG by 2.24, 2.82, 2.53, and 2.89 fold, respectively at 0.3, 1, 3, and 10 mg/kg (results tabulated below). Administration at 0.3, 1, 3, and 10 mg/kg results in 39, 54, 71 and 77% reduction respectively in AG to total ghrelin ratio when compared to the vehicle-treated control animals. These results demonstrate that the compound of Example 1 suppresses AG production and elevates the UAG in circulation, as shown in the GOAT knock-out mouse, *in vivo*..

| Treatment | AG<br>(% of control) | UAG<br>(% of vehicle control) | AG/Total-ghrelin<br>(% of vehicle control) |
|-----------|----------------------|-------------------------------|--------------------------------------------|
| Vehicle   | 100                  | 100                           | 100                                        |
| 0.3 mg/kg | 101±25               | 224±35                        | 61±4                                       |
| 1 mg/kg   | 95±18                | 282±45                        | 46±11                                      |
| 3 mg/kg   | 55±6                 | 253±31                        | 29±4                                       |
| 10 mg/kg  | 52±10                | 289±44                        | 23±4                                       |

-24-

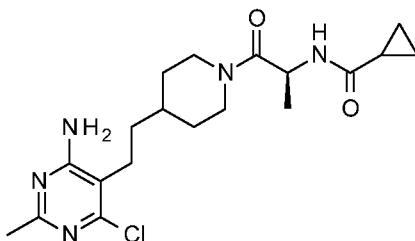
We claim:

1. A compound of formula



- 5 or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

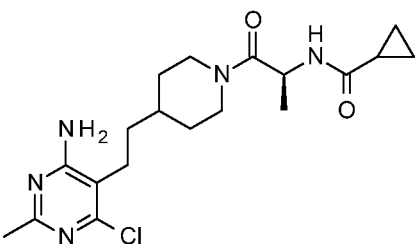
2. The compound of Claim 1 of formula



- or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

10

3. The compound of any of Claims 1 or 2 of formula



- 15 4. A pharmaceutical composition comprising a compound of any of Claims 1 to 3, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, and one or more pharmaceutically acceptable carriers, diluents, or excipients.

-25-

5. A pharmaceutical composition according to Claim 4 comprising one or more other therapeutic agents.
6. A method of reducing weight gain comprising administering a compound  
5 according to any of Claims 1 to 3, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, to a patient in need thereof.
7. A method of reducing weight regain comprising administering a compound  
according to any of Claims 1 to 3, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, to  
10 a patient in need thereof.
8. A method of treating obesity comprising administering a compound according to  
any of Claims 1 to 3, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, to a patient in  
need thereof.  
15
9. A method of treating type 2 diabetes comprising administering a compound  
according to any of Claims 1 to 3, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, to  
a patient in need thereof.
- 20 10. A compound according to any of Claims 1 to 3, or a pharmaceutically acceptable  
salt thereof, for use in therapy.
11. A compound according to any of Claims 1 to 3, or a pharmaceutically acceptable  
salt thereof, for use in reducing weight gain.  
25
12. A compound according to any of Claims 1 to 3, or a pharmaceutically acceptable  
salt thereof, for use in reducing weight regain.
13. A compound according to any of Claims 1 to 3, or a pharmaceutically acceptable  
30 salt thereof, for use in treating obesity.

-26-

14. A compound according to any of Claims 1 to 3, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, for use in treating type 2 diabetes.
15. The use of a compound of any of Claims 1 to 3, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in the manufacture of a medicament for reducing weight gain.
16. The use of a compound of any of Claims 1 to 3, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in the manufacture of a medicament for reducing weight regain.
17. The use of a compound of any of Claims 1 to 3, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in the manufacture of a medicament for treating type 2 diabetes.
18. The use of a compound of any of Claims 1 to 3, or a pharmaceutically acceptable salt thereof, in the manufacture of a medicament for treating obesity.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No  
PCT/US2014/064202

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
INV. C07D401/06 A61K31/506 A61P3/00  
ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
C07D A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, CHEM ABS Data, BEILSTEIN Data

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages                                                                                                      | Relevant to claim No. |
|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| A         | WO 2007/079239 A2 (ACADIA PHARM INC [US];<br>BURSTEIN ETHAN [US]; EEG KNAPP ANNE [DK];<br>OLSSO) 12 July 2007 (2007-07-12)<br>page 1, paragraph 2<br>examples<br>claims 1,59-86,107,108 | 1-18                  |
| A         | WO 2006/124490 A2 (SCHERING CORP [US];<br>PALANI ANANDAN [US]; SU JING [US]; XIAO<br>DONG [US];) 23 November 2006 (2006-11-23)<br>page 8, lines 6,14<br>examples<br>claims              | 1-18                  |



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

\* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

9 January 2015

Date of mailing of the international search report

15/01/2015

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Stix-Malaun, Elke

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

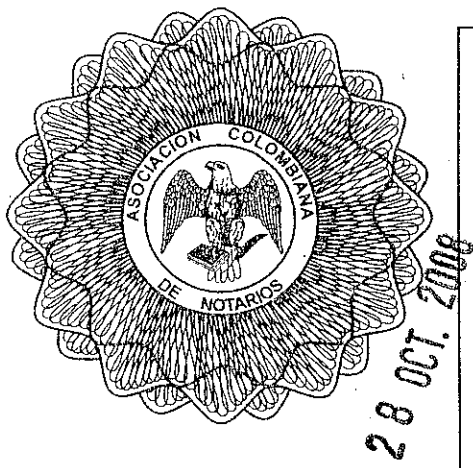
Information on patent family members

International application No

PCT/US2014/064202

| Patent document<br>cited in search report | Publication<br>date | Patent family<br>member(s)                                                                                                                                                                              | Publication<br>date                                                                                                                                    |
|-------------------------------------------|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| WO 2007079239 A2                          | 12-07-2007          | US 2007213359 A1<br>WO 2007079239 A2                                                                                                                                                                    | 13-09-2007<br>12-07-2007                                                                                                                               |
| -----                                     |                     |                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                        |
| WO 2006124490 A2                          | 23-11-2006          | AR 053728 A1<br>AU 2006247695 A1<br>BR PI0610133 A2<br>CA 2608405 A1<br>EP 1885726 A2<br>JP 4975739 B2<br>JP 2008540652 A<br>KR 20080016567 A<br>PE 14422006 A1<br>US 2006264489 A1<br>WO 2006124490 A2 | 16-05-2007<br>23-11-2006<br>01-06-2010<br>23-11-2006<br>13-02-2008<br>11-07-2012<br>20-11-2008<br>21-02-2008<br>03-02-2007<br>23-11-2006<br>23-11-2006 |
| -----                                     |                     |                                                                                                                                                                                                         |                                                                                                                                                        |

WK 9397304



ESCRITURA PUBLICA NUMERO : ( 1 2 2 7 )

MIL DOSCIENTOS VEINTISIETE

En la ciudad de Bogotá, Distrito Capital, República de Colombia, a los Veintiocho -- ( 28 ) días del mes de Octubre -- -- del año dos mil ocho (2008), ante mi MARIA EUGENIA

ROJAS DE URUETA NOTARIA(O) VEINTISIETE (27) DEL CIRCULO DE BOGOTA, se otorgó la escritura pública que se consigna en los siguientes términos:-----

CLASE DE ACTO: PROTOCOLIZACION DE PODER.-----

JAMES IAN RAISBECK LLÍNAS Y CARLOS REINALDO OLARTE GARCIA.-----

C.C. No. 79.376.996 Y 79.782.747.-----

Comparecieron JAMES IAN RAISBECK LLÍNAS, mayor de edad vecino de ésta ciudad, identificado con la cédula de ciudadanía número 79.376.996 de estado civil casado con sociedad conyugal vigente y CARLOS REINALDO OLARTE GARCIA, mayor de edad, vecino de Bogotá, identificado con la cédula de ciudadanía número 79.782.747, de estado civil casado con sociedad conyugal vigente, obrando en sus propios nombres y dijeron:-----

PRIMERO.- Que presentan para su protocolización y custodia en los archivos de ésta notaría, bajo el número y lugar que a ésta escritura corresponda, en cinco (5) folios autenticados, un poder y sus traducciones los cuales son del siguiente tenor:-----

PODER-----

El suscrito ELI LILLY AND COMPANY, domiciliado en Lilly Corporate Center, Indianápolis, Indiana 46285 US por medio del

ESTE PAPEL NO TIENE COSTO PARA EL USUARIO

presente otorga a Carlos R. Olarte, J. Ian Raisbeck y Ana María Frieri, poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de patentes, modelos de Utilidad y Diseños Industriales de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, apelaciones, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial o extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones y demandas que por motivo de encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultades para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.-----

Firma (ilegible) -----

Fecha 17 July 2003 -----

City, Country/ Ciudad, País: Indianápolis, Indiana, United Status of America.- -----

Traducción oficial del Inglés por Marlén Neira Castro resolución 2117 del Ministerio de Justicia de Colombia.- -----

APOSTILLA EN PODER DE DE REPRESENTACION DE ELI LILLY AND COMPANY.

Bilingüe inglés- español otorgado en Indianapoles, Indiana, Estados Unidos el 17 de julio de 2003 y firmado por Meter G. Stringer, Director Ejecutivo y patentes Internacionales de Ely Lilly & Company.- -----

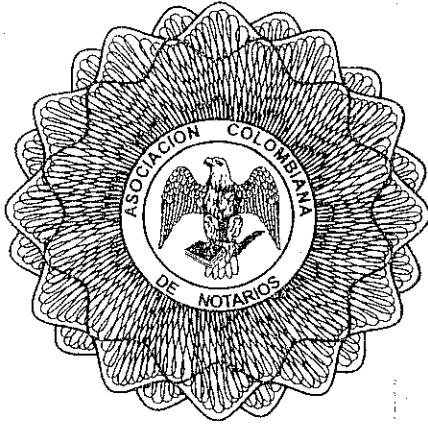
Todd Rokita Secretario de Estado -----

Secretario de Estado de Indiana Estado de Indiana -----

APOSTILLA

(Convencion de la Haya del 5 octubre 1961)

WK 9397305



1. País: Estados Unidos de América-  
este documento público -----
2. Ha sido firmado por: Catherine Michel
3. Quien ejerce funciones de Secretario  
de la Corte del Circuito en y para el  
condado Jonson -----
- 4 Lleva el sello del Secretario de la Corte  
del Circuito en y para el estado de Indiana -----

Certificado

5. En: Indianapoles, Indiana -----
6. El: 22 de julio de 2003.-----
7. Por el Secretario de Estado de Indiana 8 No. A2003-1279-----
9. Gran Sello del Estado de Indiana -----
10. Firma ilegible de Todd Rokita- Secretario de Estado de Indiana
- \* Vigente desde el 1 de mayo de 2003, todas las apostillas de  
Secretario y de Estado de Indiana tienen el sello impreso  
electrónicamente. -----
- The Statehouse, Indianapoles, Indiana 46204, (307) 232-6531, fax  
(317) 233-3283- -----

CERTIFICACION NOTARIAL

Bilingüe inglés- español, el 17 de julio de 2003 el suscrito notario  
Catherine Michel certifica que Meter G. Stringer, domiciliado en  
7620 Castleton Faros, West Drive Indianápolis, Indiana- 46256  
Estados Unidos ejercía funciones de Director Ejecutivo y Patentes  
Internacionales de Ely Lilly & Company, con sede en Indianápolis,  
Indiana, Estados Unidos.--

MARLEN NEIRA CASTRO Traductor e Intérprete Oficial inglés-  
Español- Inglés-----

Resolución No. 2117 del 7 Oct 1987.- -----

El otorgante fundamenta sus certificaciones en este documento:  
Delegación de Autoridad concerniente a Ciertas Materias de  
Patentes, suscrito el 20 de enero de 2003: conforme al poder

ESTE PAPEL NO TIENE COSTO PARA EL USUARIO

otorgado al Asesor General de la Compañía por el Comité Ejecutivo de la Junta Directiva de Eli Lilly and Company.-----

Firma del notario público Catherine Michel certifica sus funciones vencen el 21 de octubre de 2008- residente en el condado Johnson

Sello de notario público de Indiana.-----

Es traducción fiel de inglés, con copia archivo para confrontación, Bogotá 28 de julio-2003.-----

MARLEN NEIRA CASTRO Traductor e Intérprete Oficial Inglés-Español- Inglés -----

Resolución No. 2117 del 7 Oct 1987.------

**SEGUNDO.-** Que solicita a la señora Notaria la incorporación de dichos documentos al protocolo de ésta notaría para que de su tenor se expidan las copias que más adelante se soliciten -----

-----  
Se advierte que la protocolización de documentos no da mayor fuerza o autenticidad de la que tienen dichos documentos.----

-----  
Esta escritura pública fue firmada fuera del Despacho Notarial, de conformidad con el artículo 12 del Decreto 2.148 de 1.983. -----

-----  
Se advirtió a los otorgantes de esta escritura de la obligación que tienen de leer la totalidad de su texto, a fin de verificar la exactitud de todos los datos en ella consignados, con el fin de aclarar, modificar o corregir lo pertinente antes de firmarla, la firma de la misma demuestra su aprobación total del texto, en consecuencia, la notaria no asume ninguna responsabilidad por errores o inexactitudes establecidas con posterioridad a la firma de (el, los) otorgante(s) y de la notaría, en tal caso, este (os) debe(n) ser corregidos mediante el otorgamiento de una nueva escritura, suscrita por todos los que intervinieron en la inicial y sufragada por los mismos (artículo 35, decreto ley 960 de 1970).-----

Traducción oficial del Inglés por Marlén Neira Castro, resolución 2117 del Ministerio de Justicia de Colombia

APOSTILLA EN PODER DE REPRESENTACIÓN DE  
ELI LILLY AND COMPANY

Bilingüe inglés- español otorgado en Indianapolis, Indiana, Estados Unidos el 17 de julio de 2003 y firmado por Peter G. Stringer, Director Ejecutivo y Patentes Internacionales de Ely Lilly & Company.

Todd Rokita                                      Secretario de Estado  
Secretario de Estado de Indiana              Estado de Indiana

APOSTILLA

(Convención de la Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América- Este documento Público
2. ha sido firmado por Catherine Michel
3. Quien ejerce funciones de Secretario de la Corte del Circuito en y para el condado Johnson
4. Lleva el sello del Secretario de la Corte del Circuito en y para el estado de Indiana

CERTIFICADO

5. En Indianapolis, Indiana
6. El 22 de julio de 2003
7. Por el Secretario de Estado de Indiana
8. No. A2003- 1127
9. Gran Sello del Estado de Indiana
10. Firma legible de Todd Rokita- Secretario de Estado de Indiana

\* Vigente desde el 1 mayo de 2003, todas las apostillas del Secretario de Estado de Indiana tienen el sello impreso electrónicamente.

The Statehouse, Indianapolis, Indiana 46204, (317) 232-6531, fax (317) 233-3283

CERTIFICACION NOTARIAL

Bilingüe inglés- español, el 17 de julio de 2003 el suscrito notario Catherine Michel certifica que Peter G. Stringer, domiciliado en 7620 Castleton Farms, West Drive, Indianapolis, Indiana - 46256 Estados Unidos ejercía funciones de Director Ejecutivo y Patentes Internacionales de Ely Lilly & Company, con sede en Indianapolis, Indiana, Estados Unidos.

  
MARLEN NEIRA CASTRO  
Traductor e Intérprete Oficial  
inglés - Español - Inglés  
Resolución No. 2117 del 7 Oct 1987

El otorgante fundamenta sus certificaciones en este documento: Delegación de Autoridad concerniente a Ciertas Materias de Patentes, suscrito el 20 de enero de 2003: conforme al poder otorgado al Asesor General de la Compañía por el Comité ejecutivo de la Junta Directiva de Eli Lilly and Company.

Firma del notario público Catherine Michel certifica

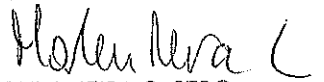
Sus funciones vencen el 21 de octubre de 2008 - residente en el condado Johnson

Sello de notario público de Indiana

--

Es traducción fiel del inglés, con copia archivo para confrontación. Bogotá 28 de julio-2003.

Marlen Neira C



MARLEN NEIRA CASTRO

Traductor e Intérprete Oficial

Inglés - Español - Inglés

Resolución No. 2117 del 7 Oct 1987

# OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI, LTDA.  
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER — TORRE C  
CALLE 100 NO. 8A-55 PISO 10  
BOGOTÁ, COLOMBIA  
TELEPHONE: +57-1 638-6200  
Fax: +57-1 638-6201

www.olarteraisbeck.com

## Power of Attorney

The undersigned,

domiciled in

ELI LILLY AND COMPANY

Lilly Corporate Center, Indianapolis, Indiana 46285 US

by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte, J. Ian Raisbeck and Ana María Frieri** full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's **Patents, Utility Models and Industrial Designs** in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, appeals, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

Signature/Firma

Date/Fecha: / 7 July 2003

City, Country/Ciudad, País: Indianapolis, Indiana, United States of America

## Poder

El suscrito,

domiciliado en

por medio del presente otorga a **Carlos R.**

**Olarte, J. Ian Raisbeck y Ana María**

**Frieri** poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de **Patentes, Modelos de Utilidad y Diseños Industriales** de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, apelaciones, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

NOTARIA VERIFICADA  
BOGOTÁ - República de Colombia



Todd Rokita  
Secretary of State

SECRETARY OF STATE  
STATE OF INDIANA



*APOSTILLE*

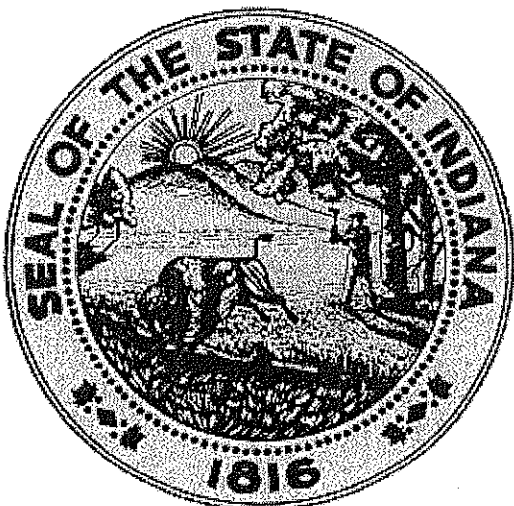
(Convention de la Haye du 5 Octobre 1961)

1. Country: United States of America
2. This public document has been signed by *Catherine Michel*
3. acting in the capacity of circuit court clerk in & for *Johnson County*
4. and bears the seal/stamp of circuit court clerk in & for the State of Indiana

Certified

5. at Indianapolis, Indiana
6. this *Twenty-second day of July, 2003*
7. by Secretary of State of Indiana
8. No. *A2003- 11279*
9. Seal/Stamp:

10. Signature:



  
Todd Rokita

Indiana Secretary of State

\*Effective May 1, 2003 all apostilles from the Indiana Secretary of State will have an electronically printed seal.

The Statehouse, Indianapolis, Indiana 46204, (317) 232-6531, Fax (317) 233-3283

# OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI, LTDA.  
LEGAL & PROFESSIONAL SERVICES

WORLD TRADE CENTER - TORRE C  
CALLE 100 NO. 8A-55 PISO 10  
BOGOTA, COLOMBIA  
TELEPHONE: +57-1 638-6200  
Fax: +57-1 638-6201

www.olarteraisbeck.com

## Notarial Certification

On this date,  
/ 7 July 2003  
The undersigned Notary Public certifies:

1. That

of legal age and domiciled in  
7620 Castleton Farms, West Drive,  
signed the foregoing document.

2. That the grantor has executed the foregoing  
document as Executive Director, International  
Patents  
of ELI LILLY AND COMPANY

3. That ELI LILLY AND COMPANY  
having its principal place of business located in  
Indianapolis, Indiana, United States of  
America

is duly incorporated, is currently in existence, and  
that the purposes for which the Power of Attorney is  
granted are within the scope of its corporate  
purposes.

4. That the grantor has the authority to execute the  
Power of Attorney and that his/her representation is  
legal.

5. The foundation for my certifications contained in  
points 2, 3 and 4 was the exhibition of the following  
authentic document(s):

Delegation of Authority Concerning Certain  
Patent Matters, executed January 20, 2003;  
pursuant to the authority granted to the  
General Counsel of the Company by the  
executive Committee of the Board of  
Directors of Eli Lilly and Company

NOTARY PUBLIC (Signature):



## Certificación Notarial

En esta fecha,

el Notario Público suscrito certifica:

1. Que

Peter G. Stringer

mayor de edad y domiciliado  
Indianapolis, Indiana 46256 US  
suscribió el documento que antecede.

2. Que el otorgante ha suscrito el referido  
documento en su carácter de

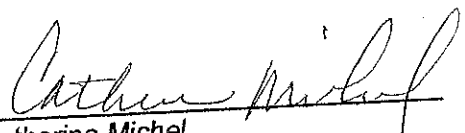
de

4. Que  
con sede principal ubicada en

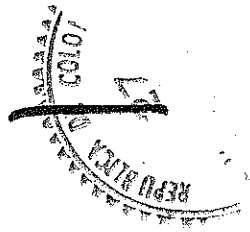
está legalmente constituida, que tiene existencia  
legal vigente y que los propósitos para los cuales  
se otorga el poder se encuentra dentro de los que  
comprenden su objeto social.

4. Que el otorgante tiene la representación para  
suscribir el poder, y que ésta es legítima.

5. El fundamento de mis certificaciones  
contenidas en los puntos 2, 3 y 4 fue la exhibición  
de los (del) siguiente(s) documento(s) auténtico(s):

  
Catherine Michel  
My Commission Expires October 21, 2008  
Resident of Johnson County

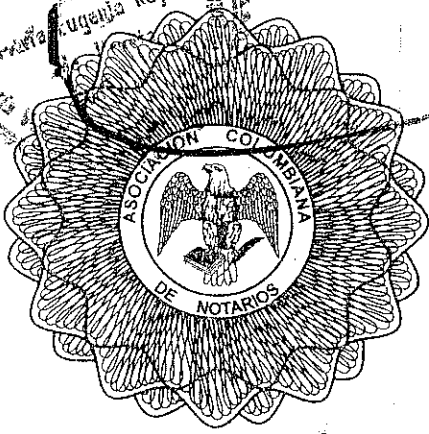
NOTARIO PUBLICO  
Catherine Michel  
Notario Eugenio Rojas de Hueta



ESPACIO EN BLANCO

ESPACIO EN BLANC

WK 9397306



ADVERTENCIA, OTORGAMIENTO Y  
AUTORIZACION.- Leído el presente  
instrumento por el (los) compareciente  
(s) y advertido (s) sobre las  
formalidades legales, lo aprueban y  
firman conmigo y ante mí la(el)  
Notaria(o) quién lo autoriza. ---Se

utilizaron las hojas de papel Notarial Nos. WK 9397304, WK 9397305 Y  
WK 9397306 .

DERECHOS LEGALES: \$ 39.630.00

RESOLUCION 8850 DE 2007

IVA \$ 10.781.00

*James Ian Raisbeck Llínas*

JAMES IAN RAISBECK LLÍNAS

C.C.No. 79.376.996 BOGOTÁ

TEL: 601-7700

*Carlos Reinaldo Olarte García*

CARLOS REINALDO OLARTE GARCIA

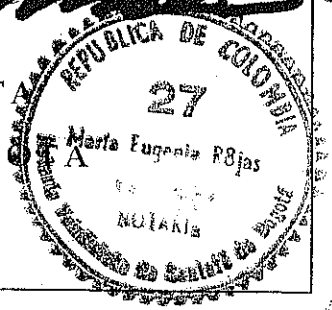
C.C.No. 79.782.747 BOGOTÁ.

TEL: 601-7700

*Marta Eugenia Rojas de Urqueta*

MARIA EUGENIA ROJAS DE URUETA  
NOTARIA(O) VENTISIETE (27) DE BOGOTÁ

redb.



ESTE PAPEL NO TIENE COSTO PARA EL USUARIO

Es fiel y Segunda 2ª  
fotocopia de la Escritura Pública No. 1227  
de fecha 28 de Octubre de 2008  
tomada de su original que expido en  
Seis ( 6 ) hojas útiles de papel  
común autorizado (Decreto 1343 de 1970) con destino a

Interesado

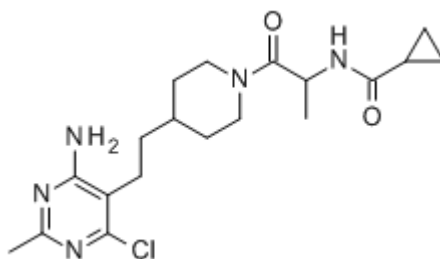
Dado en Santafé de Bogotá D.C., a 28 OCT 2008  
El Notario Veintisiete de Santafé de Bogotá



ESPACIO EN BLANCO

**RESUMEN DE LA INVENCIÓN**

La presente invención se refiere a inhibidores de  
GOAT novedosos y sus sales y composiciones farmacéuticas de  
5 los mismos.



10

15