

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 515 194**

51 Int. Cl.:

**C07D 207/09** (2006.01)

**C07D 207/06** (2006.01)

**C07D 207/02** (2006.01)

**A61P 3/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.02.2009 E 09718154 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.07.2014 EP 2252582**

54 Título: **Derivados de pirrolidina**

30 Prioridad:

**05.03.2008 US 33877**

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

**29.10.2014**

73 Titular/es:

**NATIONAL HEALTH RESEARCH INSTITUTES  
(100.0%)**

**35 Keyan Road Miaoli County  
Zhunan Town 350, TW**

72 Inventor/es:

**JIAANG, WEIR-TORN;  
CHAO, YU-SHENG;  
 TSAI, TING-YUEH y  
HSU, TSU**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 515 194 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Derivados de pirrolidina

## Antecedentes

5 La dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV), un miembro de la familia de las prolil peptidasas, escinde ciertos dipéptidos en la penúltima posición del terminal amino de las proteínas. Contribuye a la rápida degradación del péptido-1 similar al glucagón (GLP-1), una hormona del intestino producida por células L endocrinas intestinales en respuesta a la ingesta de comida.

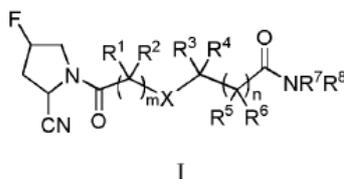
10 A su vez, GLP-1 inhibe la secreción de glucagón y estimula la liberación desde el páncreas de la insulina dependiente de la glucosa (Zander M, et al. *Lancet* 2002, 359: 824-830). Se ha mostrado que la inhibición de DPP-IV da lugar a una mayor secreción de insulina, una menor concentración de glucosa en el plasma y una mejor función de las células  $\beta$  pancreáticas (Pederson R.A., et al. *Diabetes* 1998, 47: 1253-1258; y Ahren B, et al. *Diabetes Care* 2002, 25: 869-875). Los agentes inhibidores de DPP-IV son por lo tanto potenciales candidatos a fármacos contra la diabetes del tipo II.

15 Estudios recientes indican que los agentes inhibidores de DPP-IV fueron agentes inhibidores potenciales de la dipeptidil peptidasa VIII (DPP-VIII), otro miembro de la familia de las prolil peptidasas, y que la inhibición de DPP-VIII dio lugar a efectos secundarios, por ej., toxicidad y trombocitopenia (*Diabetes*, 2005, 54: 2988-2994). Así, los agentes inhibidores de DPP-IV, como candidatos a fármacos contra la diabetes Tipo II, poseen preferiblemente poca o ninguna actividad contra DPP-VIII.

## Sumario

20 Esta invención está basada en el descubrimiento sorprendente de que un grupo de compuestos de pirrolidina inhiben a la DPP-IV.

Un aspecto de esta invención se refiere a compuestos de pirrolidina de fórmula (I) mostrada a continuación:



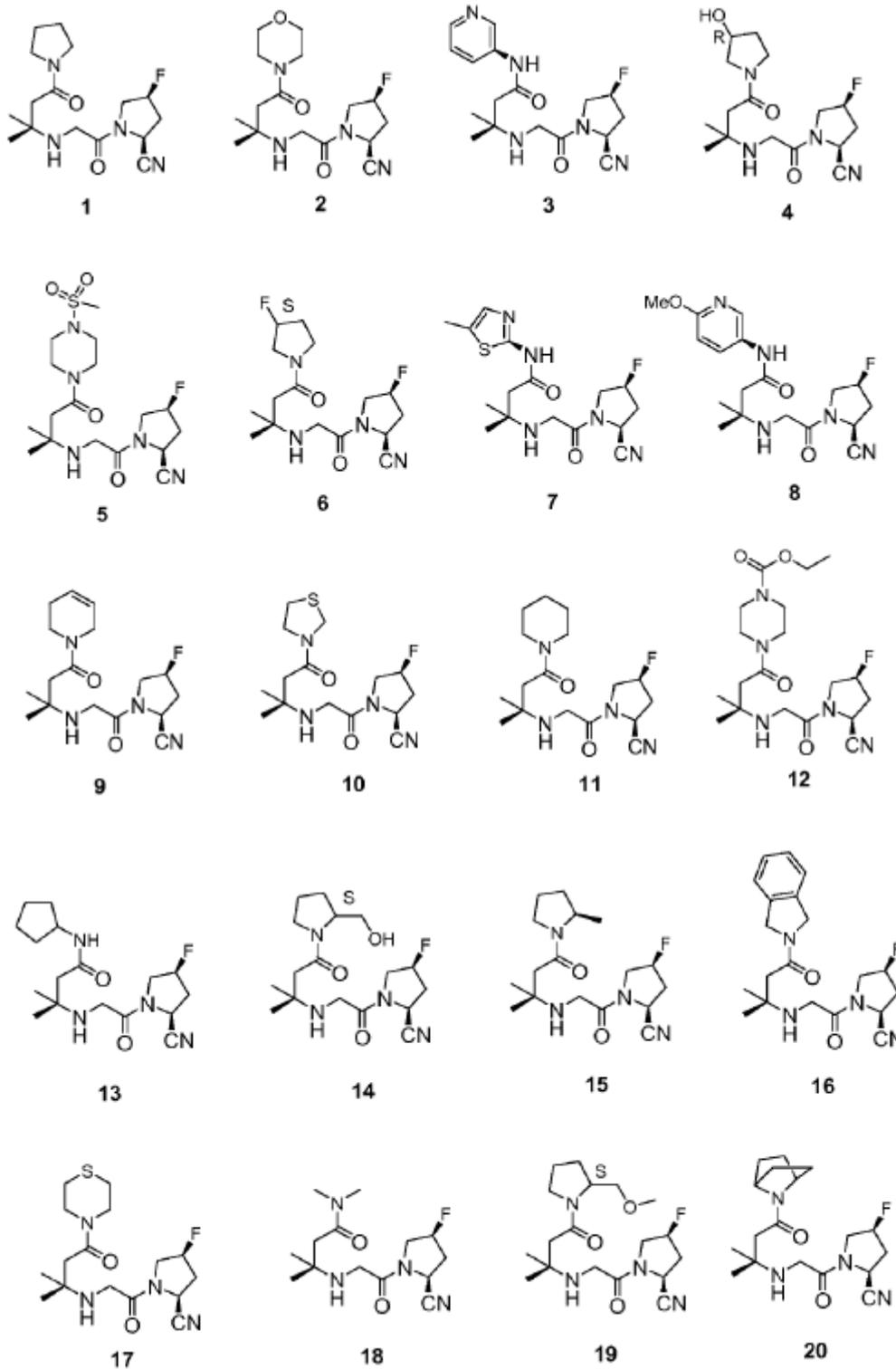
I

25 En la que cada uno de  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ , y  $R^6$ , independientemente, es H, halo, nitro, ciano, amino, hidroxilo, alquilo, haloalquilo, alcoxi, arilo, ariloxi, aralquilo, ciclilo, heterociclilo, arilo, o heteroarilo;  $R^7$  es alquilo o heteroarilo, y  $R^8$  es H o alquilo; o  $R^7$  y  $R^8$ , junto con el átomo de nitrógeno al cual están unidos, forman un anillo monocíclico o bicíclico, saturado o insaturado, de 3-10 miembros opcionalmente sustituido con halo, CN,  $\text{NO}_2$ ,  $-\text{OR}^1$ , alquilo, arilo, heteroarilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo,  $-\text{C}(\text{O})\text{R}^1$ ,  $-\text{SR}^1$ ,  $-\text{S}(\text{O})\text{R}^1$ ,  $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^1$ ,  $-\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^1$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^1$ ,  $-\text{NR}^1\text{C}(\text{O})\text{R}^2$ ,  $-\text{NR}^1\text{C}(\text{O})\text{OR}^2$ , o  $-\text{R}^1\text{C}(\text{O})\text{NR}^2\text{R}^3$ ; siendo cada uno de  $R^1$ ,  $R^2$ , y  $R^3$ , independientemente, H, alquilo, o arilo; cada uno de m y n, independientemente, es 0, 1, 2, ó 3; y X es  $\text{NR}^a$ , en el cual  $R^a$  es H, alquilo, o arilo.

35 Los compuestos de fórmula (I) pueden además tener una o más de las siguientes características: X es NH; m es 1; n es 1; cada uno de  $R^1$  y  $R^2$  es H; cada uno de  $R^3$  y  $R^4$  es alquilo (por ej., metilo); cada uno de  $R^5$  y  $R^6$  es H; y  $R^7$  y  $R^8$  es alquilo,  $R^7$  y  $R^8$ , junto con el átomo de nitrógeno al cual están unidos, forman un anillo monocíclico o bicíclico, saturado o insaturado, de 3-10 miembros opcionalmente sustituido con halo, CN,  $\text{NO}_2$ ,  $-\text{OR}^1$ , alquilo, arilo, heteroarilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo,  $-\text{C}(\text{O})\text{R}^1$ ,  $-\text{SR}^1$ ,  $-\text{S}(\text{O})\text{R}^1$ ,  $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}^1$ ,  $-\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^1$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^1\text{R}^2$ ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^1$ ,  $-\text{NR}^1\text{C}(\text{O})\text{R}^2$ ,  $-\text{NR}^1\text{C}(\text{O})\text{OR}^2$ , o  $-\text{R}^1\text{C}(\text{O})\text{NR}^2\text{R}^3$ ; siendo cada uno de  $R^1$ ,  $R^2$ , y  $R^3$ , independientemente, H, alquilo, o arilo. Ejemplos del anillo que se acaba de mencionar incluyen, pero no se limitan a, pirrolidinilo, tiazolidinilo, piperidinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, piperizinilo, 1,2,3,6-tetrahidropiridinilo, isoindolinilo, y 7-azabicyclo[2,2,1]heptan-7-ilo, sustituidos y no sustituidos.

40 Los compuestos de fórmula (I) pueden además tener una o más de las siguientes características: W es  $\text{CR}^a\text{R}^a$ ;  $R^1$  es CN; X es  $\text{CH}(\text{NH}_2)$ ; n es 1; cada uno de  $R^3$  y  $R^4$ , independientemente, es H o alquilo; cada uno de  $R^5$  y  $R^6$  es H; y  $R^7$  es alquilo (por ej., metilo), hidroxialquilo (por ej., hidroximetilo), o alcoxialquilo (por ej., metoximetilo).

A continuación se muestran compuestos ejemplo de esta invención:



El término "alquilo" se refiere en la presente memoria a un hidrocarburo lineal o ramificado, que contiene 1-10 átomos de carbono. Ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, i-butilo, y t-butilo. El término "alcoxi" se refiere a un -O-alquilo. El término "alcoxilalquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno o más grupos alcoxi. El término "haloalquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno o más grupos halo. El término "hidroxialquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno o más grupos hidroxilo.

El término "arilo" se refiere a un sistema de anillos aromáticos monocíclico de 6 átomos de carbono, bicíclico de 10 átomos de carbono y tricíclico de 14 átomos de carbono, donde cada anillo puede tener 1 a 4 sustituyentes.

Ejemplos de grupos arilo incluyen, pero no se limitan a, fenilo, naftilo, y antraceno. El término "ariloxi" se refiere a un -O-arilo. El término "aralquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo arilo.

5 El término "ciclilo" se refiere a un grupo hidrocarburo cíclico saturado y parcialmente insaturado que tiene 3 a 12 átomos de carbono. Ejemplos de grupos ciclilo incluyen, pero no se limitan a, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclopentenilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, cicloheptilo, y ciclooctilo.

El término "heteroarilo" se refiere a un sistema de anillos aromáticos monocíclico de 5-8 miembros, bicíclico de 8-12 miembros, o tricíclico de 11-14 miembros que tiene uno o más heteroátomos (tales como O, N, o S). Ejemplos de grupos heteroarilo incluyen piridilo, furilo, imidazolilo, benzimidazolilo, pirimidinilo, tienilo, quinolinilo, indolilo, y tiazolilo. El término "heteroaralquilo" se refiere a un grupo alquilo sustituido con un grupo heteroarilo.

10 El término "heterociclilo" se refiere a un sistema de anillos no aromáticos monocíclico de 5-8 miembros, bicíclico de 8-12 miembros, o tricíclico de 11-14 miembros que tiene uno o más heteroátomos (tales como O, N, o S). Ejemplos de grupos heterociclilo incluyen, pero no se limitan a, piperazinilo, pirrolidinilo, dioxanilo, morfolinilo, y tetrahidrofuranoilo.

15 Los grupos alquilo, ciclilo, heterociclilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, heteroaralquilo, alcoxi, y ariloxi mencionados en la presente memoria incluyen tanto restos sustituidos como no sustituidos. Ejemplos de sustituyentes incluyen, pero no se limitan a, halo, hidroxil, amino, ciano, nitro, mercapto, alcoxicarbonilo, amido, carboxi, alcanosulfonilo, alquilcarbonilo, carbamido, carbamilo, carboxilo, tioureido, tiocianato, sulfonamido, alquilo, alquenilo, alquinilo, alquiloxi, arilo, heteroarilo, ciclilo, heterociclilo, en los cuales los grupos alquilo, alquenilo, alquinilo, alquiloxi, arilo, heteroarilo, ciclilo y heterociclilo pueden además estar sustituidos.

20 El anillo monocíclico mencionado en la presente memoria está sustituido o no sustituido, pero no puede estar condensado con otro anillo aromático o no aromático.

25 Los compuestos de pirrolidina descritos anteriormente incluyen sus sales y profármacos farmacéuticamente aceptables, si es aplicable. Tal sal puede formarse entre un grupo iónico positivamente cargado en un compuesto de pirrolidina (por ej., amonio) y un contraión negativamente cargado (por ej., trifluoroacetato). Asimismo, un grupo iónico positivamente cargado en un compuesto de pirrolidina (por ej., carboxilato) también puede formar una sal con un contraión negativamente cargado (por ej., sodio, potasio, calcio, o magnesio). Los compuestos de pirrolidina pueden contener un doble enlace no aromático y uno o más centros asimétricos. Por tanto, pueden ocurrir como mezclas racémicas, enantiómeros individuales, diastereómeros individuales, mezclas de diastereómeros, y formas de isómeros cis o trans. Todas de tales formas isómeras están contempladas.

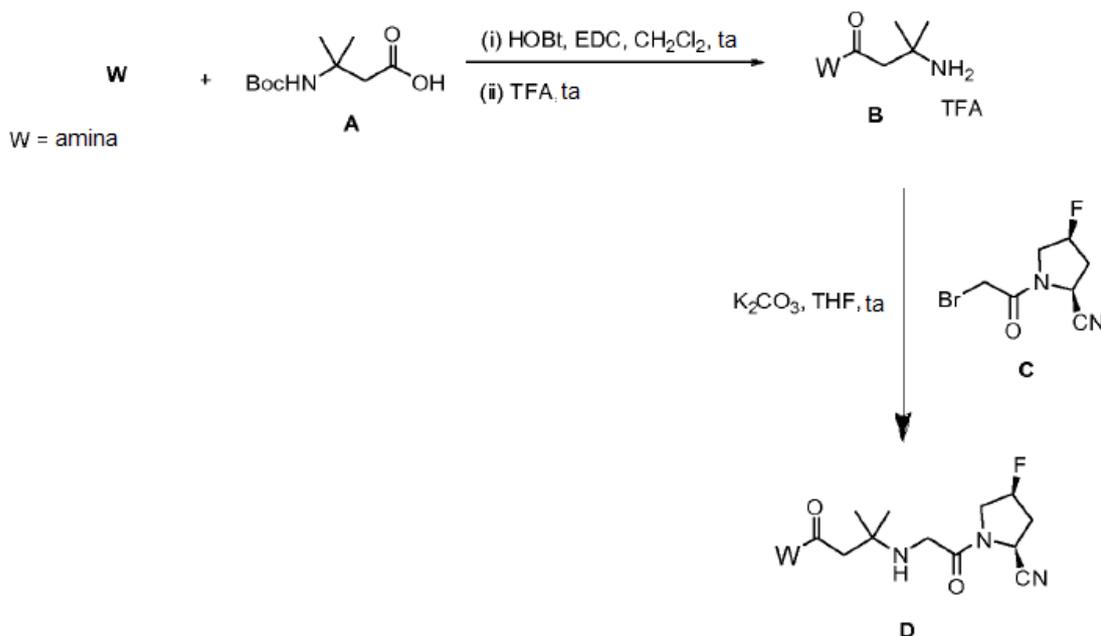
30 Los compuestos de pirrolidina descritos anteriormente pueden usarse para inhibir a la DPP-IV. Por consiguiente, se describe un método para inhibir a la DPP-IV con uno o más de los compuestos de pirrolidina. Como la inhibición de la DPP-IV da lugar a una menor concentración de glucosa en la sangre y a una mayor secreción de insulina, los compuestos de esta invención también pueden usarse para tratar la diabetes Tipo II. Así, se describe además un método para tratar la diabetes Tipo II administrando a un sujeto que necesite tal tratamiento una cantidad efectiva de uno o más de los compuestos de pirrolidina.

35 También está dentro del alcance de esta invención una composición farmacéutica que contiene uno o más de los compuestos de pirrolidina anteriormente descritos, así como el uso de la composición para el tratamiento de la diabetes Tipo II y para la fabricación de un medicamento para el tratamiento que se acaba de mencionar.

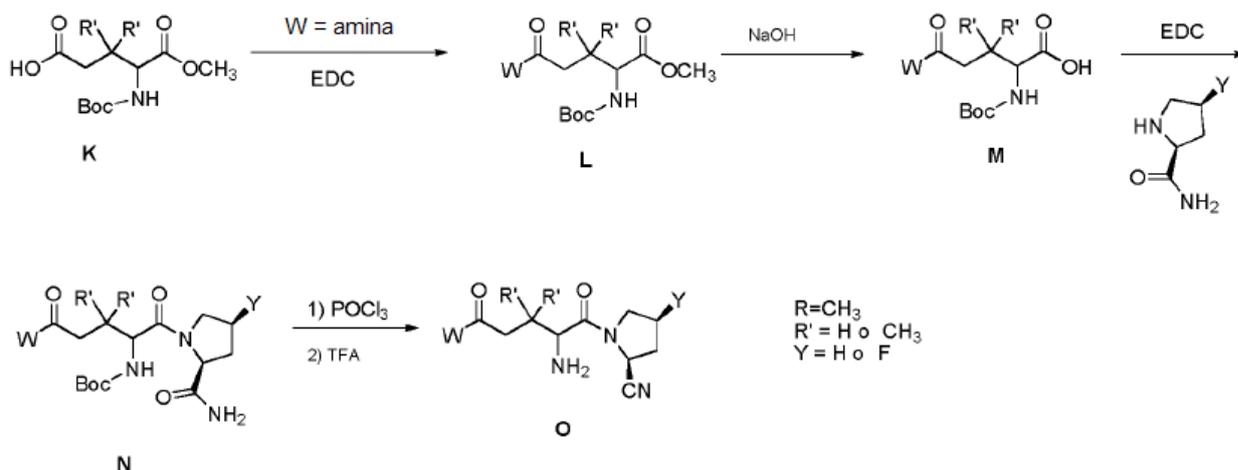
40 Los detalles de muchas realizaciones de la invención se ponen de manifiesto en la descripción detallada y en las reivindicaciones de más adelante. Otras características, objetos y ventajas de la invención serán evidentes a partir de la descripción detallada y de las reivindicaciones.

### Descripción detallada

Los compuestos de pirrolidina de esta invención pueden sintetizarse mediante métodos bien conocidos en la técnica. Métodos ejemplo para sintetizar estos compuestos se muestran a continuación en los esquemas 1-3.

**Esquema 1**

El esquema 1 ilustra una ruta sintética a los compuestos de fórmula (I). El material de partida (**A**) es un β-aminoácido N-prottegido. Reacciona con la amina (**W**) en presencia de un agente de condensación, por ej., N-(3-dimetilaminopropil)-N-etilcarbodiimida (EDC), seguido por desprotección, para dar la amida (**B**), la cual tiene un grupo amino libre. A continuación, la amida se condensa con la pirrolidina (**C**) para formar el compuesto deseado (**D**). El β-aminoácido N-prottegido (**A**) y la pirrolidina (**C**) pueden prepararse por métodos conocidos. Véanse, por ej., *J. Med. Chem.* 2006, 49, 373; *J. Med. Chem.* 1988, 31, 92; *J. Med. Chem.* 2002, 45, 2362; y *Bioorg. Med. Chem.* 2004, 12, 6053.

**Esquema 2**

El esquema 2 ilustra una ruta sintética a los compuestos de fórmula (II). En este esquema, el compuesto de partida es el ácido amino-sustituido dicarboxílico (**K**), en el cual un grupo amino y uno de los dos grupos carboxilo están protegidos. El compuesto (**K**) se condensa con una amina para dar el compuesto **L**, el cual se hidroliza para rendir el ácido (**M**). El ácido (**M**) se condensa con la L-prolinamida para dar el compuesto (**N**). El Compuesto (**N**) se deshidrata seguido por la separación del grupo protector del grupo amino para dar el producto deseado (**O**). Algunos compuestos usados en la síntesis anterior pueden prepararse mediante métodos bien conocidos en la técnica. Véase, por ej., *Bioorg. Med. Chem.* 2004, 12, 6053.

Los anteriores esquemas se proporcionan solo con fines ilustrativos. Un experto en la técnica sería capaz de sintetizar todos los compuestos de pirrolidina de esta invención vía una ruta mostrada en los esquemas con o sin modificaciones. Las transformaciones de la química sintética y las metodologías de protección de grupos (protección y desprotección) útiles en la síntesis de los compuestos de pirrolidina solicitados son conocidas en la técnica e incluyen, por ejemplo, las descritas en R. Larock, *Comprehensive Organic Transformations*, VCH Publishers (1989); T.W. Greene and P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3ª Ed., John Wiley and Sons (1999); L. Fieser and M. Fieser, *Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1994); y L. Paquette, ed., *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, John Wiley and Sons (1995) y sus ediciones subsiguientes.

Los compuestos de pirrolidina así obtenidos pueden además purificarse por cromatografía en columna, cromatografía de líquidos de alta resolución o cristalización.

Se describe un método para inhibir a la DPP-IV poniéndola en contacto con una cantidad efectiva de uno o más de los compuestos de pirrolidina descritos anteriormente. Se describe además un método para tratar la diabetes Tipo II administrando a un sujeto que lo necesite una cantidad efectiva de uno o más de los compuestos de pirrolidina descritos anteriormente. El término "tratar" se refiere a una aplicación o administración del compuesto de pirrolidina a un sujeto, quien tiene diabetes Tipo II, un síntoma de diabetes Tipo II, o una predisposición hacia la diabetes Tipo II, con el fin de curar, sanar, aliviar, mitigar, alterar, remediar, mejorar, o afectar a la enfermedad, el síntoma o la predisposición. "Una cantidad efectiva" se refiere a la cantidad del compuesto de pirrolidina que se requiere para conferir el efecto deseado al sujeto. Las cantidades efectivas varían, como es reconocido por los expertos en la técnica, dependiendo de la ruta de administración, uso de excipiente, y la posibilidad del co-uso con otros tratamientos terapéuticos tales como el uso de otros agentes activos.

Para practicar el método de tratamiento descrito en la presente memoria, una composición que tiene uno o más de los compuestos de pirrolidina descritos anteriormente puede administrarse parenteral, oral, nasal, rectal, tópica, o bucalmente. Cuando se usa, el término "parenteral" se refiere en la presente memoria a una inyección subcutánea, intracutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intraarterial, intrasinoval, intraesternal, intratecal, intralesional, o intracraneal, así como a cualquier técnica de infusión adecuada.

Una composición inyectable estéril puede ser una disolución o suspensión en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, tal como una disolución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están el manitol y el agua. Además, como disolvente o medio de suspensión se emplean convencionalmente aceites fijos (por ej., mono o diglicéridos sintéticos). Los ácidos grasos, tales como el ácido oleico y sus derivados glicéridos, son útiles en la preparación de inyectables, ya que son aceites naturales farmacéuticamente aceptables, tales como el aceite de oliva o el de ricino, especialmente en sus versiones polioxi-etilenadas. Estas disoluciones o suspensiones en aceites también pueden contener un diluyente o dispersante tipo alcohol de cadena larga, carboximetilcelulosa, o agentes dispersantes similares. Con fines de formular también pueden usarse otros tensioactivos comúnmente usados tales como Tweens o Spans u otros agentes emulsionantes o reforzantes de la biodisponibilidad similares que son comúnmente usados en la fabricación de formas de dosificación sólidas, líquidas u otras formas de dosificación.

Una composición para la administración oral puede ser una forma de dosificación oralmente aceptable que incluye cápsulas, comprimidos, emulsiones y suspensiones, dispersiones y disoluciones acuosas. En el caso de comprimidos, los vehículos comúnmente usados incluyen lactosa y almidón de maíz. También se añaden típicamente agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio. Para la administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz seco. Cuando se administran oralmente suspensiones o emulsiones acuosas, el ingrediente activo puede suspenderse o disolverse en una fase oleosa combinado con agentes emulsionantes o de suspensión. Si se desea pueden añadirse ciertos agentes edulcorantes, saborizantes o colorantes.

Puede prepararse un aerosol nasal o una composición para inhalar según técnicas bien conocidas en la técnica de la formulación farmacéutica. Por ejemplo, tal composición puede prepararse como una disolución en una disolución salina empleando alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, promotores de absorción para reforzar la biodisponibilidad, fluorocarbonos, y/u otros agentes solubilizantes o dispersantes conocidos en la técnica. Una composición que tiene un compuesto de pirrolidina activo también puede administrarse en forma de supositorios para administración rectal.

El vehículo de la composición farmacéutica tiene que ser "aceptable" en el sentido de que sea compatible con el ingrediente activo de la composición (y, preferiblemente, capaz de estabilizar el ingrediente activo) y no perjudicial para el sujeto a tratar. Como excipientes farmacéuticos para la administración del compuesto de pirrolidina activo pueden utilizarse uno o más agentes solubilizantes. Ejemplos de otros vehículos incluyen óxido de silicio coloidal, estearato de magnesio, celulosa, laurilsulfato de sodio, y D&C Amarillo nº 10.

Los compuestos de pirrolidina de esta invención pueden usarse solos o junto con otros fármacos contra la diabetes en el tratamiento de la diabetes Tipo II. Ejemplos de fármacos contra la diabetes incluyen, pero no se limitan a, un

secretagogo de insulina (sulfonilureas o meglitinidas), un sensibilizador de la insulina (tiazolidinadionas), una biguanida, o un agente inhibidor de la  $\alpha$ -glucosidasa.

Los compuestos de pirrolidina de esta invención pueden explorarse preliminarmente mediante un ensayo *in vitro* respecto a una o más de sus actividades deseadas, por ej., la inhibición de la DPP-IV. Los compuestos que demuestran altas actividades en la exploración preliminar pueden explorarse adicionalmente respecto a su eficacia mediante ensayos *in vivo*. Por ejemplo, un compuesto de ensayo puede administrarse a un animal (por ej., un modelo de ratón) que tiene diabetes Tipo II y a continuación pueden evaluarse sus efectos terapéuticos. Sobre la base de los resultados también pueden determinarse un intervalo de dosificación apropiado y una ruta de administración apropiada.

- 10 Los ejemplos específicos siguientes son para ser interpretados como meramente ilustrativos, y no limitantes del resto de la descripción en modo alguno. Sin elaboración adicional, se cree que un experto en la técnica puede, sobre la base de la descripción de la presente memoria, utilizar la presente invención en su extensión más completa.

**Ejemplo 1:** Síntesis de (2S,4S)-1-[2-(1,1-dimetil-3-oxo-3-pirrolidin-1-il-propilamino)-acetil]-4-fluoro-pirrolidina-2-carbonitrilo (compuesto 1)

- 15 (1) Preparación de trifluoroacetato de 3-amino-3-metil-1-pirrolidin-1-il-butan-1-ona

A una mezcla de ácido 3-(terc-butoxicarbonilamino)-3-metilbutanoico (0,87 g, 4 mmoles), pirrolidina (0,28 g, 4 mmoles), y 1-hidroxibenzotriazol hidrato (HOBt hidrato, 0,54 g, 4 mmoles) en  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL) se añadió hidrocloreuro de N-etil-N'-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC, 0,77 g, 4 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 h, se diluyó con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (40 mL), y se lavó con una disolución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (20 mL), una disolución acuosa 0,5 N de ácido cítrico (20 mL) y salmuera (20 mL). La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró, y se concentró a presión reducida para dar un aceite viscoso bruto. El aceite bruto se purificó por cromatografía rápida (gel de sílice, acetato de etilo 40%/hexanos) para dar la amina N-Boc-protégida (1,03 g) como un aceite incoloro.

Una disolución de la anterior amina en ácido trifluoroacético (TFA, 2 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 10 min y se concentró a vacío para dar trifluoroacetato de 3-amino-3-metil-1-pirrolidin-1-il-butan-1-ona (1,08 g, rendimiento global 95%) como un aceite incoloro el cual se usó en la siguiente etapa sin más purificación.

(2) Preparación de (2S,4S)-1-[2-(1,1-dimetil-3-oxo-3-pirrolidin-1-il-propilamino)-acetil]-4-fluoro-pirrolidina-2-carbonitrilo (compuesto 1)

A una disolución agitada de trifluoroacetato de 3-amino-3-metil-1-pirrolidin-1-il-butan-1-ona (0,28 g, 1 mmol) en THF anhidro (5 mL) se añadió carbonato de potasio (0,55 g, 4 mmoles). Después de agitar a temperatura ambiente durante 1 h, la mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite, y se lavó con acetato de etilo (5 mL). Al filtrado anterior se añadió (2S,4S)-1-(2-bromoacetil)-4-fluoropirrolidina-2-carbonitrilo (0,12 g, 0,5 mmoles) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente bajo nitrógeno durante 12 h. La mayoría del disolvente se separó a presión reducida y el residuo se repartió entre  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (20 mL) y  $\text{H}_2\text{O}$  (5 mL). La capa acuosa se extrajo adicionalmente con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (10 mL). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para dar un aceite viscoso bruto. El aceite bruto se purificó por cromatografía (gel de sílice, gradiente  $\text{CH}_3\text{OH}$  4 a 10%/ $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ) para dar el compuesto 1 (0,12 g, rendimiento global 74%) como un sólido blanco.

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz,  $\delta$ ): (mezcla 2/1 de rotámeros trans/cis de la amida) 5,53 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1/3H), 5,49 (t,  $J = 3,3$  Hz, 1/3H), 5,40 (t,  $J = 3,3$  Hz, 1/6H), 5,32 (t,  $J = 3,3$  Hz, 1/3H), 5,22 (t,  $J = 3,3$  Hz, 1/6H), 4,95 (d,  $J = 9,0$  Hz, 2/3H), 4,04-3,52 (m, 2H), 3,48-3,39 (m, 6H), 2,70 (t,  $J = 15,9$  Hz, 1/3H), 2,62 (t,  $J = 15,9$  Hz, 2/3H), 2,44-2,26 (m, 3H, singlete solapado a 2,39), 1,98-1,79 (m, 4H), 1,22 (s, 6H);

MS ( $\text{ES}^+$ )  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{FN}_4\text{O}_2$ : 324,39; encontrado: 325,2 (M+H), 347,2 (M+Na).

**Ejemplo 2:** Síntesis de (2S,4S)-1-[2-(1,1-dimetil-3-morfolin-4-il-3-oxopropilamino)-acetil]-4-fluoro-pirrolidina-2-carbonitrilo (compuesto 2)

El compuesto 2 se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz,  $\delta$ ): (mezcla 2/1 de rotámeros trans/cis de la amida) 5,50 (t,  $J = 3,3$  Hz, 1/3H), 5,42 (t,  $J = 3,3$  Hz, 1/6H), 5,38 (d,  $J = 9,0$  Hz, 1/3H), 5,32 (t,  $J = 3,3$  Hz, 1/3H), 5,23 (t,  $J = 3,3$  Hz, 1/6H), 4,94 (d,  $J = 9,0$  Hz, 2/3H), 4,12-3,35 (m, 12H, singlete solapado a 3,41), 2,70 (t,  $J = 15,6$  Hz, 1/3H), 2,65 (t,  $J = 15,6$  Hz, 2/3H), 2,50-2,18 (m, 3H), 1,20 (s, 6H);

MS ( $\text{ES}^+$ )  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{FN}_4\text{O}_3$ : 340,39; encontrado: 341,2 (M+H), 363,2 (M+Na).

**Ejemplo 3:** Síntesis de 3-[2-((2S,4S)-2-ciano-4-fluoro-pirrolidin-1-il)-2-oxo-etilamino]-3-metil-N-piridin-3-il-butiramida (compuesto 3)

El compuesto **3** se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): (mezcla 3/1 de rotámeros trans/cis de la amida) 11,12 (brs, 3/4H), 11,01 (brs, 1/4H), 8,66-8,63 (m, 1H), 8,28 (d, *J* = 4,5 Hz, 1H), 8,22-8,14 (m, 1H), 7,26-7,21 (m, 1H), 5,53 (t, *J* = 3,3 Hz, 3/8H), 5,46 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/8H), 5,36 (t, *J* = 3,3 Hz, 3/8H), 5,29 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/8H), 4,98 (d, *J* = 9,3 Hz, 3/4H), 4,80 (d, *J* = 9,3 Hz, 1/4H), 3,97-3,61 (m, 2H), 3,46 (similar a q, *J* = 16,8 Hz, 2H), 2,79 (t, *J* = 15,3 Hz, 1/4H), 2,71 (t, *J* = 15,3 Hz, 3/4H), 2,50-2,39 (m, 3H, 2 singletes solapados a 2,45, 2,44), 1,26 (s, 3H), 1,24 (s, 3H);

MS (ES<sup>+</sup>) *m/z* calculado para C<sub>17</sub>H<sub>22</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>2</sub>: 347,39; encontrado: 348,2 (M+H), 370,2 (M+Na).

**Ejemplo 4:** Síntesis de (2*S*,4*S*)-4-fluoro-1-{2-[3-((*R*)-3-hidroxi-pirrolidin-1-il)-1,1-dimetil-3-oxo-propilamino]-acetil}-pirrolidina-2-carbonitrilo (compuesto **4**)

10 El compuesto **4** se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): (mezcla 2/1 de rotámeros trans/cis de la amida) 5,50 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/3H), 5,40 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/6H), 5,38 (d, *J* = 9,0 Hz, 1/3H), 5,32 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/3H), 5,23 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/6H), 4,94 (d, *J* = 9,0 Hz, 2/3H), 4,47-4,21 (m, 1H), 3,99-3,22 (m, 8H), 2,84 (brs, OH), 2,69 (t, *J* = 15,3 Hz, 1/3H), 2,61 (t, *J* = 15,3 Hz, 2/3H), 2,50-2,15 (m, 3H), 2,04-1,89 (m, 2H), 1,21 (s, 3H), 1,18 (s, 3H);

15 MS (ES<sup>+</sup>) *m/z* calculado para C<sub>16</sub>H<sub>25</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>: 340,39; encontrado: 341,2 (M+H), 363,2 (M+Na).

**Ejemplo 5:** Síntesis de (2*S*,4*S*)-4-fluoro-1-(2-(2-metil-4-(4-(metilsulfonil)piperazin-1-il)-4-oxobutan-2-ilamino)acetil)pirrolidina-2-carbonitrilo (compuesto **5**)

El compuesto **5** se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.

20 **Ejemplo 6:** Síntesis de (2*S*,4*S*)-4-fluoro-1-(2-(4-((*R*)-3-fluoropirrolidin-1-il)-2-metil-4-oxobutan-2-ilamino)acetil)pirrolidina-2-carbonitrilo (compuesto **6**)

El compuesto **6** se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.

25 <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): (mezcla 3/1 de rotámeros trans/cis de la amida) 5,50 (t, *J* = 3,0 Hz, 3/8H), 5,41 (t, *J* = 3,0 Hz, 1/8H), 5,3 (t, *J* = 3,0 Hz, 3/8H), 5,25 (t, *J* = 3,0 Hz, 1/8H), 5,23 (d, *J* = 9,3 Hz, 1/4H), 4,92 (d, *J* = 9,3 Hz, 3/4H), 4,00-3,40 (m, 8H, singlete solapado a 3,46), 3,31-3,20 (m, 4H), 2,80 (s, 9/4H), 2,78 (s, 3/4H), 2,69 (t, *J* = 15,6 Hz, 1/4H), 2,64 (t, *J* = 15,6 Hz, 3/4H), 2,54-2,23 (m, 3H, singlete solapado a 2,51), 1,24 (s, 6H);

MS (ES<sup>+</sup>) *m/z* calculado para C<sub>17</sub>H<sub>28</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>4</sub>S: 417,50; encontrado: 418,2 (M+H), 440,1 (M+Na).

**Ejemplo 7:** Síntesis de 3-[2-((2*S*,4*S*)-2-ciano-4-fluoro-pirrolidin-1-il)-2-oxo-etilamino]-3-metil-N-(5-metil-tiazol-2-il)-butiramida (compuesto **7**)

El compuesto **7** se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.

30 <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): (mezcla 3/1 de rotámeros trans/cis de la amida) 6,48 (s, 1H), 5,53 (t, *J* = 3,3 Hz, 3/8H), 5,45 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/8H), 5,36 (t, *J* = 3,3 Hz, 3/8H), 5,32 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/8H), 4,89 (d, *J* = 9,0 Hz, 3/4H), 4,87 (d, *J* = 9,0 Hz, 1/4H), 4,12-3,63 (m, 2H), 3,52-3,39 (m, 2H), 2,75 (t, *J* = 15,6 Hz, 1/4H), 2,70 (t, *J* = 15,6 Hz, 3/4H), 2,60-2,26 (m, 6H, doblete solapado a 2,51, *J* = 2,4 Hz y un singlete a 2,31), 1,25 (s, 3H), 1,22 (s, 3H);

MS (ES<sup>+</sup>) *m/z* calculado para C<sub>16</sub>H<sub>22</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>2</sub>S: 367,44; encontrado: 368,1 (M+H), 390,1 (M+Na).

35 **Ejemplo 8:** Síntesis de 3-[2-((2*S*,4*S*)-2-ciano-4-fluoro-pirrolidin-1-il)-2-oxo-etilamino]-N-(6-metoxi-piridin-3-il)-3-metil-butiramida (compuesto **8**)

El compuesto **8** se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.

40 <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): (mezcla 3/1 de rotámeros trans/cis de la amida) 10,76 (brs, 3/4H), 10,59 (brs, 1/4H), 8,29-8,26 (m, 1H), 7,96 (dd, *J* = 9,0, 3,0 Hz, 1H), 6,70 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 5,54 (t, *J* = 3,6 Hz, 3/8H), 5,46 (t, *J* = 3,6 Hz, 1/8H), 5,36 (t, *J* = 3,6 Hz, 3/8H), 5,29 (t, *J* = 3,6 Hz, 1/8H), 4,98 (d, *J* = 9,0 Hz, 3/4H), 4,80 (d, *J* = 9,0 Hz, 1/4H), 4,13-3,55 (m, 5H, singlete solapado a 3,89), 3,45 (semejante a q, *J* = 16,2 Hz, 2H), 2,79 (t, *J* = 15,3 Hz, 1/4H), 2,71 (t, *J* = 15,3 Hz, 3/4H), 2,49-2,23 (m, 3H, 2 singletes solapados a 2,44, 2,42), 1,26 (s, 3H), 1,24 (s, 3H);

MS (ES<sup>+</sup>) *m/z* calculado para C<sub>18</sub>H<sub>24</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>: 377,41; encontrado: 378,2 (M+H), 400,1 (M+Na).

45 **Ejemplo 9:** Síntesis de (2*S*,4*S*)-1-{2-[3-(3,6-dihidro-2H-piridin-1-il)-1,1-dimetil-3-oxo-propilamino]-acetil}-4-fluoro-pirrolidina-2-carbonitrilo (compuesto **9**)

El compuesto **9** se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): (mezcla 2/1 de rotámeros trans/cis de la amida) 5,89-5,77 (m, 1H), 5,69-5,60 (m, 1H), 5,49 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/3H), 5,46 (d, *J* = 9,3 Hz, 1/3H), 5,40 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/6H), 5,31 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/3H), 5,22 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/6H), 4,92 (d, *J* = 9,3 Hz, 2/3H), 4,02-3,39 (m, 8H), 2,67 (t, *J* = 15,3 Hz, 1/3H), 2,61 (t, *J* = 15,3 Hz, 2/3H), 2,48-2,12 (m, 5H), 1,19 (s, 3H), 1,18 (s, 3H);

5 MS (ES<sup>+</sup>) *m/z* calculado para C<sub>17</sub>H<sub>25</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>: 336,40; encontrado: 337,2 (M+H), 359,2 (M+Na).

**Ejemplo 10:** Síntesis de (2*S*,4*S*)-1-[2-(1,1-dimetil-3-oxo-3-tiazolidin-3-il-propilamino)-acetil]-4-fluoro-pirrolidina-2-carbonitrilo (compuesto 10)

El compuesto 10 se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.

10 <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): (mezcla 2/1 de rotámeros trans/cis de la amida) 5,52 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/3H), 5,43 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/6H), 5,36 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/3H), 5,33 (d, *J* = 9,0 Hz, 1/3H), 5,25 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/6H), 4,96 (d, *J* = 9,0 Hz, 2/3H), 4,57 (s, 1H), 4,51 (s, 1H), 4,02-3,04 (m, 6H, singlete solapado a 3,43), 3,10 (t, *J* = 6,3 Hz, 1H), 3,00 (t, *J* = 6,3 Hz, 1H), 2,75 (t, *J* = 15,6 Hz, 1/3H), 2,64 (t, *J* = 15,6 Hz, 2/3H), 2,51-2,24 (m, 3H, 2 singletes solapados a 2,47, 2,46), 1,23 (s, 6H);

MS (ES<sup>+</sup>) *m/z* calculado para C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>S: 342,43; encontrado: 343,1 (M+H), 365,1 (M+Na).

15 **Ejemplo 11:** Síntesis de (2*S*,4*S*)-1-[2-(1,1-dimetil-3-oxo-3-piperidin-1-il-propilamino)-acetil]-4-fluoro-pirrolidina-2-carbonitrilo (compuesto 11)

El compuesto 11 se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.

20 <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): (mezcla 2/1 de rotámeros trans/cis de la amida) 5,48 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/3H), 5,45 (d, *J* = 9,3 Hz, 1/3H), 5,39 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/6H), 5,30 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/3H), 5,22 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/6H), 4,93 (d, *J* = 9,3 Hz, 2/3H), 4,00-3,35 (m, 8H), 2,67 (t, *J* = 15,6 Hz, 1/3H), 2,60 (t, *J* = 15,6 Hz, 2/3H), 2,50-2,20 (m, 3H, singlete solapado a 2,41), 1,64-1,44 (m, 6H), 1,18 (s, 6H);

MS (ES<sup>+</sup>) *m/z* calculado para C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>: 338,42; encontrado: 339,2 (M+H), 361,2 (M+Na).

**Ejemplo 12:** Síntesis del éster de etilo del ácido 4-(3-[2-((2*S*,4*S*)-2-ciano-4-fluoro-pirrolidin-1-il)-2-oxo-etilamino]-3-metil-butiril)-piperazina-1-carboxílico (compuesto 12)

25 El compuesto 12 se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.

<sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): (mezcla 2/1 de rotámeros trans/cis de la amida) 5,51 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/3H), 5,42 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/6H), 5,36 (d, *J* = 9,0 Hz, 1/3H), 5,34 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/3H), 5,25 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/6H), 4,96 (d, *J* = 25,9 Hz, 2/3H), 4,16 (q, *J* = 6,9 Hz, 2H), 4,19-3,38 (m, 12H), 2,72 (t, *J* = 15,3 Hz, 1/3H), 2,65 (t, *J* = 15,3 Hz, 2/3H), 2,53-2,22 (m, 3H, 2 singletes solapados a 2,46, 2,43), 1,27 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H), 1,22 (s, 6H).

30 MS (ES<sup>+</sup>) *m/z* calculado para C<sub>19</sub>H<sub>30</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>4</sub>: 411,47; encontrado: 412,2 (M+H), 434,2 (M+Na).

**Ejemplo 13:** Síntesis de 3-[2-((2*S*,4*S*)-2-ciano-4-fluoro-pirrolidin-1-il)-2-oxo-etilamino]-*N*-ciclopentil-3-metil-butiramida (compuesto 13)

El compuesto 13 se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.

35 <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): (mezcla 4/1 de rotámeros trans/cis de la amida) 7,94 (d, *J* = 7,2 Hz, 4/5H), 7,59 (d, *J* = 7,2 Hz, 1/5H), 5,51 (t, *J* = 3,3 Hz, 2/5H), 5,4 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/10H), 5,34 (t, *J* = 3,3 Hz, 2/5H), 5,25 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/10H), 5,02 (d, *J* = 9,0 Hz, 1/5H), 4,92 (d, *J* = 9,0 Hz, 4/5H), 4,20-4,07 (m, 1H), 4,03-3,27 (m, 4H), 2,73 (t, *J* = 15,6 Hz, 1/5H), 2,65 (t, *J* = 15,6 Hz, 4/5H), 2,44-2,10 (m, 3H), 1,91-1,82 (m, 2H), 1,68-1,48 (m, 4H), 1,43-1,31 (m, 2H), 1,15 (s, 6H).

MS (ES<sup>+</sup>) *m/z* calculado para C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>: 338,42; encontrado: 339,4 (M+H), 361,4 (M+Na).

40 **Ejemplo 14:** Síntesis de (2*S*,4*S*)-4-fluoro-1-[2-[3-((*S*)-2-hidroxi-metilpirrolidin-1-il)-1,1-dimetil-3-oxo-propilamino]-acetil]-pirrolidina-2-carbonitrilo (compuesto 14)

El compuesto 14 se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.

45 <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz, δ): (mezcla 2/1 de rotámeros trans/cis de la amida) 5,50 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/3H), 5,41 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/6H), 5,37 (d, *J* = 9,3 Hz, 1/3H), 5,32 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/3H), 5,22 (t, *J* = 3,3 Hz, 1/6H), 4,95 (d, *J* = 9,0 Hz, 2/3H), 4,26-4,19 (m, 1H), 4,03-3,37 (m, 8H, singlete solapado a 3,43), 2,70 (t, *J* = 15,6 Hz, 1/3H), 2,63 (t, *J* = 15,6 Hz, 2/3H), 2,55 (brs, OH), 2,52-2,21 (m, 3H, singlete solapado a 2,42), 2,07-1,79 (m, 3H), 1,69-1,57 (m, 1H), 1,22 (s, 6H);

MS (ES<sup>+</sup>) *m/z* calculado para C<sub>17</sub>H<sub>27</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>: 354,42; encontrado: 355,2 (M+H), 377,2 (M+Na).

**Ejemplo 15:** Síntesis de (2S,4S)-1-{2-[1,1-dimetil-3-((R)-2-metilpirrolidin-1-il)-3-oxo-propilamino]-acetil}-4-fluoropirrolidina-2-carbonitrilo (compuesto **15**)

El compuesto **15** se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.

5  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz,  $\delta$ ): (mezcla 2/1 de rotámeros trans/cis de la amida) 5,52-5,47 (m, 2/3H), 5,39 (t,  $J = 3,3$  Hz, 1/6H), 5,31 (t,  $J = 3,3$  Hz, 1/3H), 5,22 (t,  $J = 3,3$  Hz, 1/6H), 4,92 (d,  $J = 9,3$  Hz, 2/3H), 4,19-3,31 (m, 6H, singlete solapado a 3,39), 2,78-2,19 (m, 5H), 2,02-1,83 (m, 3H), 1,68-1,49 (m, 1H), 1,19-1,12 (m, 9H);

MS ( $\text{ES}^+$ )  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{17}\text{H}_{27}\text{FN}_4\text{O}_2$ : 338,42; encontrado: 339,4 (M+H), 361,4 (M+Na).

**Ejemplo 16:** Síntesis de (2S,4S)-1-{2-[3-(1,3-dihidro-isoindol-2-il)-1,1-dimetil-3-oxo-propilamino]-acetil}-4-fluoropirrolidina-2-carbonitrilo (compuesto **16**)

10 El compuesto **16** se preparó de una manera similar a la descrita en el Ejemplo 1.

$^1\text{H}$  RMN ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz,  $\delta$ ): (mezcla 3/1 de rotámeros trans/cis de la amida) 7,30-7,16 (m, 4H), 5,52 (d,  $J = 9,3$  Hz, 1/4H), 5,50 (t,  $J = 3,3$  Hz, 3/8H), 5,40 (t,  $J = 3,3$  Hz, 1/8H), 5,31 (t,  $J = 3,3$  Hz, 3/8H), 5,23 (t,  $J = 3,3$  Hz, 1/8H), 4,94 (d,  $J = 9$  Hz, 3/4H), 4,83 (s, 2H), 4,78 (s, 2H), 4,15-3,35 (m, 4H, singlete solapado a 3,45), 2,70 (t,  $J = 15,3$  Hz, 1/4H), 2,64 (t,  $J = 15,3$  Hz, 3/4H), 2,59-2,18 (m, 3H), 1,22 (s, 6H);

15 MS ( $\text{ES}^+$ )  $m/z$  calculado para  $\text{C}_{20}\text{H}_{25}\text{FN}_4\text{O}_2$ : 372,44; encontrado: 373,2 (M+H), 395,2 (M+Na).

**Ejemplos 17-20:** Síntesis de los compuestos **17-20**

Los compuestos 17-20 se prepararon de maneras similares a la descrita en el Ejemplo 1.

**Ejemplo 21**

20 Se purificó DPP-IV tanto de suero de ser humano como de células de insectos de una manera similar a la descrita en *Biochemistry*, 2006, 45: 7006-7012.

Se purificó DPP-VIII de células sfa infectadas con baculovirus de una manera similar a la descrita en *J. Biol. Chem.* 2006, 28: 138653-138662.

25 La pureza de DPP-IV o DPP-VIII se comprobó por SDS-PAGE, seguido por tinción con azul de Commassie o tinción con plata. Las concentraciones de DPP-IV y DPP-VIII fueron medidas mediante el método de Bradford usando BSA como patrón (*Anal. Biochem.* 1976, 72: 248-254.)

30 Los compuestos 1-20 fueron ensayados respecto a su efecto inhibidor sobre DPP-IV como sigue: para cada compuesto se prepararon y usaron 8 diluciones en serie (concentraciones finales de 0,0046 a 10  $\mu\text{moles/L}$ ). Se incubaron 40  $\mu\text{L}$  de DPP-IV en Tris (40 mM, pH 8,3) con 10  $\mu\text{L}$  del compuesto de ensayo en Tris que contenía 1% de DMSO a 37°C durante 10 min. Se añadieron 50  $\mu\text{L}$  de Gly-Pro-7-amino-4-metilcumarina (concentración final: 150  $\mu\text{M}$ ) a la disolución y se incubó a 37°C durante 1 h. La liberación de 7-amino-4-metilcumarina se monitorizó continuamente en un fluorímetro de placa de 96 pocillos (Victor<sup>2</sup> V) y los datos se registraron en el punto final de la reacción de inhibición. Los valores de  $\text{IC}_{50}$  se calcularon sobre la base de los resultados.

35 Similarmente, los compuestos 1-20 fueron ensayados respecto a su efecto inhibidor sobre DPP-VIII. Se incubó DPP-VIII en PBS (NaCl 137 mM, KCl 2,7 mM,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,4 mM,  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  4,3 mM, pH 7,4) con 1  $\mu\text{L}$  del compuesto de ensayo en DMSO a 37°C durante 10 min. Se añadieron 0,5  $\mu\text{L}$  de Gly-Pro-para-nitroanilida (concentración final: 2,5 mM). La disolución resultante se incubó a 37°C durante 30-45 min. Las reacciones se monitorizaron y midieron a OD 405 nm. Los valores de  $\text{IC}_{50}$  se calcularon sobre la base de los resultados.

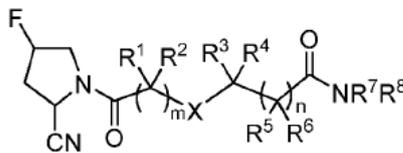
40 Todos los compuestos de ensayo exhibieron bajos valores de  $\text{IC}_{50}$  en la inhibición de DPP-IV (de suero de ser humano o de células de insectos) y altos valores de  $\text{IC}_{50}$  en la inhibición de DPP-VIII (de células sfa infectadas con baculovirus). Algunos de los compuestos de ensayo mostraron una relación muy alta del valor de  $\text{IC}_{50}$  en la inhibición de DPP-VIII al valor de  $\text{IC}_{50}$  en la inhibición de DPP-IV, por ej., 100 ó incluso mayor. Por tanto, todos los compuestos 1-20 tienen alta selectividad en la inhibición de DPP-IV sobre la inhibición de DPP-VIII.

**Otras realizaciones**

45 Todas las características descritas en esta memoria descriptiva pueden combinarse en cualquier combinación. También pueden obtenerse compuestos estructuralmente análogos a los compuestos de pirrolidina de esta invención, explorarse respecto a sus actividades inhibitoras contra DPP-IV y el tratamiento de la diabetes Tipo II, y usarse.

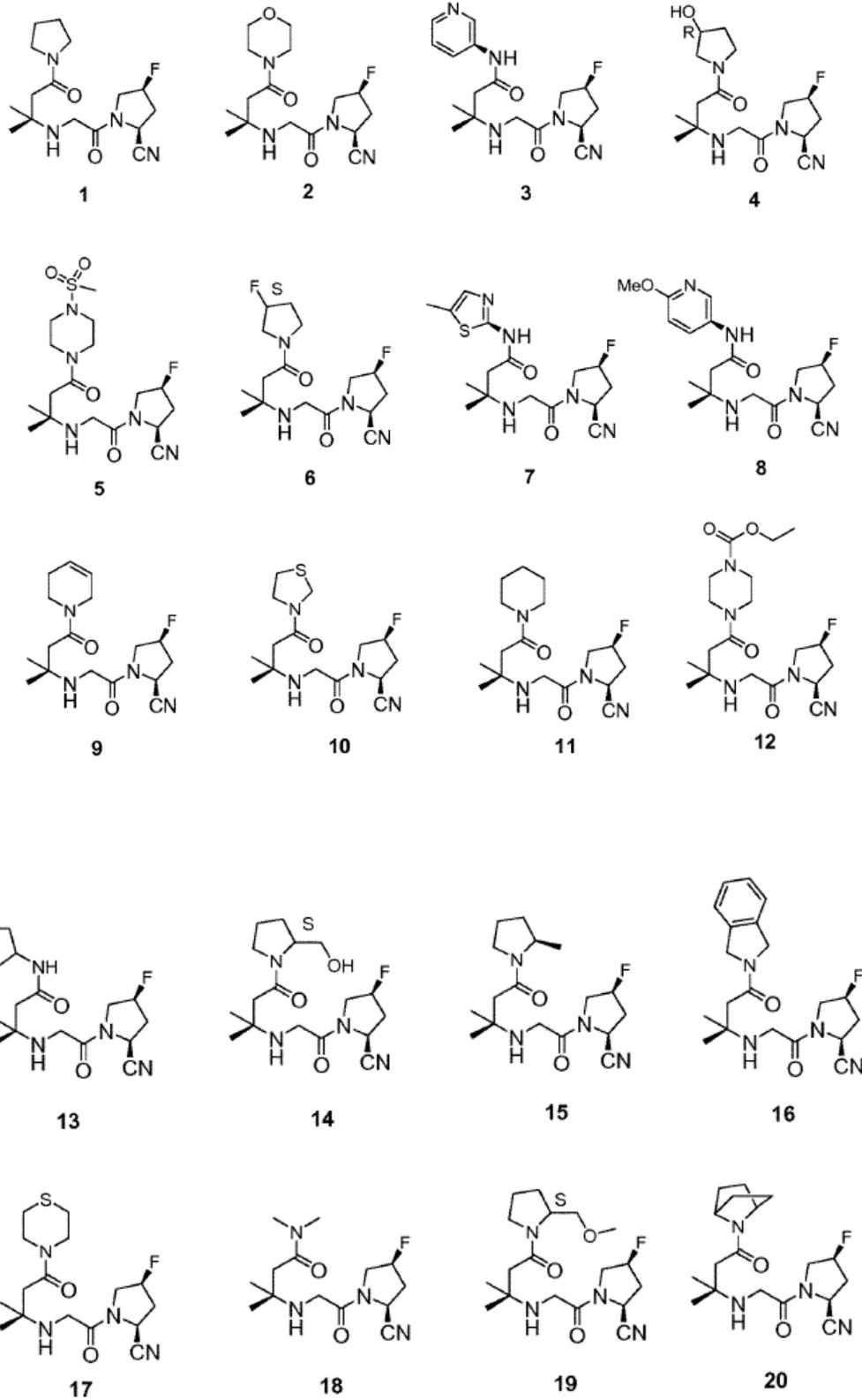
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la siguiente fórmula:



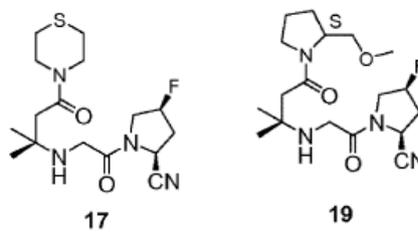
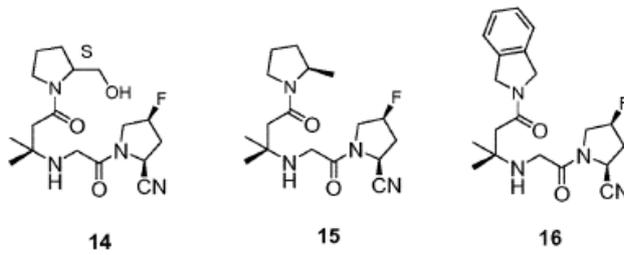
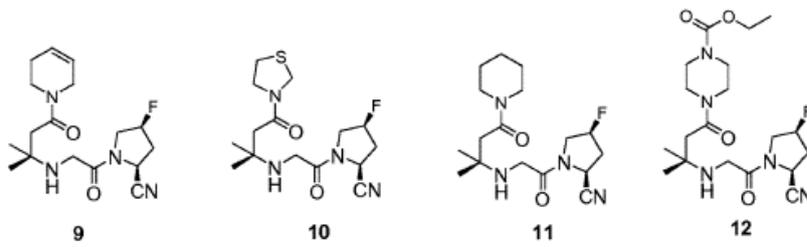
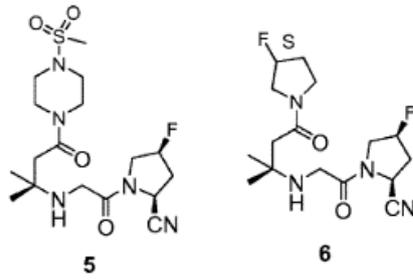
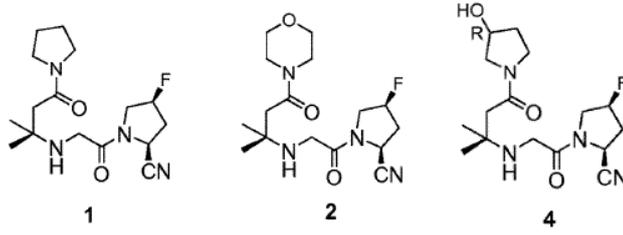
donde

- 5 cada uno de  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$ ,  $R^5$ , y  $R^6$ , independientemente, es H, halo, nitro, ciano, amino, hidroxilo, alquilo, haloalquilo, alcoxi, ariloxi, aralquilo, ciclilo, heterociclilo, arilo, o heteroarilo;
- $R^7$  es alquilo o heteroarilo, y  $R^8$  es H o alquilo; o  $R^7$  y  $R^8$ , junto con el átomo de N al cual están unidos, forman un anillo monocíclico o bicíclico, saturado o insaturado, de 3-10 miembros opcionalmente sustituido con halo, CN,  $\text{NO}_2$ ,  $-\text{OR}'$ , alquilo, arilo, heteroarilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo,  $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ ,  $-\text{SR}'$ ,  $-\text{S}(\text{O})\text{R}'$ ,  $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}'$ ,  $-\text{NR}'\text{R}''$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{OR}'$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{NR}'\text{R}''$ ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{R}'$ ,  $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{R}''$ ,  $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{OR}''$ , o  $-\text{R}'\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{R}'''$ ; siendo cada uno de  $\text{R}'$ ,  $\text{R}''$ , y  $\text{R}'''$ , independientemente, H, alquilo, o arilo;
- 10 cada uno de m y n, independientemente, es 0, 1, 2, ó 3; y
- X es  $\text{NR}^a$ , en el cual  $\text{R}^a$  es H, alquilo, o arilo.
2. El compuesto según la reivindicación 1, donde X es NH.
- 15 3. El compuesto según la reivindicación 1 ó 2, donde cada uno de  $\text{R}^3$  y  $\text{R}^4$  es alquilo.
4. El compuesto según la reivindicación 3, donde X es NH, cada uno de  $\text{R}^3$  y  $\text{R}^4$  es alquilo, cada uno de m y n es 1 y cada uno de  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^5$  y  $\text{R}^6$  es H.
- 20 5. El compuesto según la reivindicación 1 ó 4, donde cada uno de  $\text{R}^7$  y  $\text{R}^8$  es alquilo, o donde  $\text{R}^7$  y  $\text{R}^8$ , junto con el átomo de N al cual están unidos, forman un anillo monocíclico o bicíclico, saturado o insaturado, de 3-10 miembros opcionalmente sustituido con halo, CN,  $\text{NO}_2$ ,  $-\text{OR}'$ , alquilo, arilo, heteroarilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo,  $-\text{C}(\text{O})\text{R}'$ ,  $-\text{SR}'$ ,  $-\text{S}(\text{O})\text{R}'$ ,  $-\text{S}(\text{O})_2\text{R}'$ ,  $-\text{NR}'\text{R}''$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{OR}'$ ,  $-\text{C}(\text{O})\text{NR}'\text{R}''$ ,  $-\text{OC}(\text{O})\text{R}'$ ,  $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{R}''$ ,  $-\text{NR}'\text{C}(\text{O})\text{OR}''$ , o  $-\text{R}'\text{C}(\text{O})\text{NR}''\text{R}'''$ ; siendo cada uno de  $\text{R}'$ ,  $\text{R}''$ , y  $\text{R}'''$ , independientemente, H, alquilo, o arilo.
6. El compuesto según la reivindicación 1, donde m es 1 y cada uno de  $\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$  es H.
- 25 7. El compuesto según la reivindicación 1, donde n es 1 y cada uno de  $\text{R}^5$  y  $\text{R}^6$  es H.
8. El compuesto según la reivindicación 1, donde el compuesto es uno de los compuestos 1-20 que se definen a continuación:



- 5 9. El compuesto según la reivindicación 2, donde R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup>, junto con el átomo de N al cual están unidos, forman un anillo monocíclico o bicíclico, saturado o insaturado, de 3-10 miembros opcionalmente sustituido con halo, CN, NO<sub>2</sub>, -OR', alquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, -C(O)R', -SR', -S(O)R', -S(O)<sub>2</sub>R', -NR'R'', o -C(O)OR', siendo cada uno de R' y R'', independientemente, H o alquilo.

10. El compuesto según la reivindicación 8, donde el compuesto es uno de los compuestos 1, 2, 4-6, 9-12, 14-17, y 19 que se definen a continuación:



5

11. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, para usar en el tratamiento de la diabetes Tipo II.