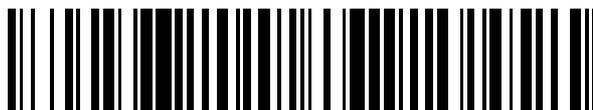


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 526 338**

51 Int. Cl.:

C07D 241/08 (2006.01)

A61K 31/4704 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.04.2008 E 08741448 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **24.09.2014 EP 2142519**

54 Título: **Inhibidor de DPP-IV que incluye grupo beta-amino, método de preparación del mismo y composición farmacéutica que contiene el mismo para prevenir y tratar diabetes u obesidad**

30 Prioridad:

19.04.2007 KR 20070038462

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

09.01.2015

73 Titular/es:

**DONG-A PHARM.CO., LTD. (100.0%)
252 YONGDU-DONG DONGDAEMUN-GU
SEOUL 130-823, KR**

72 Inventor/es:

**KIM, HEUNG JAE;
KWAK, WOO YOUNG;
SHIN, CHANG YELL;
KIM, HADONG;
MIN, JONG PIL;
PARK, KYUNG JIN;
LEE, JAE YOUNG;
CHOI, SONG-HYEN;
YOON, TAE HYUN;
KIM, HAE-SUN;
JANG, JI MYUN;
KIM, MI-KYUNG;
SON, MOON-HO;
KIM, SOON HOE y
YOO, MOOHI**

74 Agente/Representante:

MILTENYI, Peter

ES 2 526 338 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

Inhibidor de DPP-IV que incluye grupo beta-amino, método de preparación del mismo y composición farmacéutica que contiene el mismo para prevenir y tratar diabetes u obesidad

Campo técnico

- 5 La presente invención se refiere a un compuesto heterocíclico que contiene un grupo beta-amino, que tiene excelente actividad inhibitora sobre la dipeptidil peptidasa IV (a continuación en el presente documento, denominada "DPP-IV") y alta biodisponibilidad, y a una composición farmacéutica que comprende el mismo compuesto heterocíclico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo.

Antecedentes de la técnica

- 10 La enzima dipeptidil peptidasa IV, en el presente documento abreviada como DPP-IV (y en otras partes como DP-IV, DP-4 o DAP-IV) y también conocida mediante la clasificación EC. 3. 4. 14. 5, es una serina proteasa (Barrett A. J. *et al.*, Arch. Biochem. Biophys., 1995, 247-250), que escinde el dipéptido N-terminal de péptidos que comienzan con la secuencia H-Xaa-Pro-Y o H-Xaa-Ala-Y en las que Xaa representa cualquier aminoácido lipófilo, Pro representa prolina y Ala representa alanina (Heins J., *et al.*, Biochim. et Biophys. Acta 1988, 161). DPP-IV está ampliamente distribuida y se encuentra en una variedad de tejidos de mamífero tales como riñón, hígado e intestino delgado (Hegen M. *et al.*, J. Immunol., 1990, 2908-2914). DPP-IV se identificó por primera vez como proteína unida a membrana. Más recientemente, se ha identificado una forma soluble (Duke-Cohan J. S. *et al.*, J. Biol. Chem., 1995, 14107-14114). Según el estudio y el informe publicados recientemente, se reveló que una forma soluble de este tipo de DPP-IV tiene la misma estructura y función que una forma unida a membrana de la enzima y se encuentra sin un determinado dominio unido a membrana en la sangre (Christine D. *et al.*, Eur. J. Biochem., 2000, 5608-5613).

- El interés inicial por DPP-IV se ha centrado en su papel en la activación de linfocitos T. La DPP-IV responsable de la activación de linfocitos T se designó específicamente como CD26. Con el informe que muestra que CD26 se une a o interacciona con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) (Guteil W. G. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci., 1994, 6594-6598), se propuso que inhibidores de DPP-IV podrían ser útiles en el tratamiento de SIDA (Doreen M. A. *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 1996, 2745-2748).

- Además de un papel crítico que participa en el sistema inmunitario, la principal función de DPP-IV proviene de su actividad peptidolítica tal como se describió anteriormente. Se prestó particularmente atención al papel de DPP-IV ya que se encuentra que DPP-IV es una enzima clave implicada en la degradación de la proteína similar a glucagón 1 (a continuación en el presente documento, denominada "GLP-1") en el intestino delgado (Mentlein R. *et al.*, Eur. J. Biochem., 1993, 829-835). GLP-1 es la hormona peptídica de 30 aminoácidos que se secreta por células L intestinales como respuesta a la ingesta de alimentos del intestino delgado (Goke R. *et al.*, J. Biol. Chem., 1993, 19650-19655). Puesto que se conoce que GLP-1 tiene efectos potenciadores sobre la acción de la insulina en el control de los niveles de glucemia posprandial (Holst J. J. *et al.*, Diabetes Care, 1996, 580-586), se postuló que los inhibidores de DPP-IV también podrían emplearse de forma útil en el tratamiento de diabetes tipo 2. Basándose en esta suposición, se desarrolló una forma inicial del inhibidor de DPP-IV, demostrando algunos informes la eficacia terapéutica de un medicamento en experimentos con animales (Pauly R. P. *et al.*, Metabolism, 1999, 385-389). Además, ratas o ratones deficientes en DPP-IV mantuvieron la actividad de GLP-1 y altos niveles de insulina, lo que dio como resultado una disminución de los niveles de glucemia y tal perturbación o mutación genética del gen de la DPP-IV no presentó ningún efecto significativo sobre la supervivencia de animales individuales (Marguet D. *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci., 2000, 6874-6879). Como consecuencia, se propuso que DPP-IV es factible como potente agente terapéutico para el tratamiento de diabetes tipo 2, lo que dio como resultado una investigación acelerada y el desarrollo del inhibidor de DPP-IV.

- La unión de GLP-1 con un receptor en una variedad de tejidos da como resultado saciedad (sensación de estar lleno), vaciado gástrico retardado y el crecimiento facilitado de células beta pancreáticas. Por tanto, están aumentando gradualmente los ensayos clínicos para el tratamiento de diabetes tipo 2 a través de la administración intravenosa de GLP-1 *per se* (Verdich C. *et al.*, J. Clin. Endocrinol. Metab., 2001, 4382-4389). La semivida *in vivo* de GLP-1 es meramente de 2 min (Kieffer T. J., *et al.*, Endocrinology, 1995, 3585-3596), de modo que una semivida tan corta es un obstáculo importante para el uso directo de GLP-1 como agente terapéutico. Desde entonces, numerosos grupos de investigación e instituciones han realizado intentos para la derivatización de GLP-1, dando como resultado el desarrollo y la comercialización de un péptido que puede prolongar la corta semivida *in vivo* (Deacon C. F., Diabetes, 2004, 2181-2189). Sin embargo, un derivado de GLP-1 de este tipo todavía experimenta una limitación fundamental porque es una formulación inyectable. Además, se ha centrado cada vez más un gran interés en el desarrollo de un inhibidor eficaz de DPP-IV, debido al hecho de que GLP-1 (7-36) activo se degrada por DPP-IV y luego se convierte en GLP-1 (9-36) inactivo sólo en un corto periodo de tiempo, por ejemplo 2 min.

- 55 El comienzo en el desarrollo de inhibidores de DPP-IV fue similar a la tendencia de desarrollo de otros inhibidores. Es decir, la mayor parte de los resultados de investigación fueron para análogos de sustrato. Un representante de estos análogos de sustrato es un derivado de dipéptido que se obtuvo como el producto de la investigación inicial que se realizó con un núcleo original que tenía una estructura similar a la de prolina (Pro), basándose en el hecho de

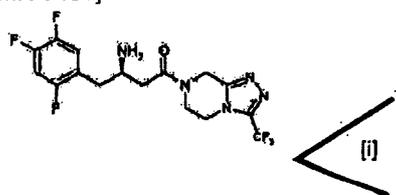
que DPP-IV presenta una afinidad pronunciada por un péptido que contiene un determinado aminoácido, prolina (Chinnaswamy T. *et al.*, J. Biol. Chem., 1990, 1476-1483). Los ejemplos típicos de estructuras similares a prolina incluyen pirrolidida y tiazolidida, y derivados que contienen estos compuestos de núcleo original presentan actividad inhibidora reversible y competitiva por la enzima DPP-IV (Augustyns KJL., *et al.*, Eur. J. Med. Chem., 1997, 301-309).

Entre los productos de tal investigación y desarrollo extensos, existen experimentos continuados sobre el mecanismo de acción y la eficacia de determinados compuestos, específicamente Val-Pyr (valina-pirrolidida), Ile-Thia (isoleucina-tiazolidida), y similares. Particularmente, se ha centrado una gran atención en Ile-Thia, porque la estructura de Val-Pyr presentaba una actividad inhibidora relativamente escasa sobre DPP-IV (Hanne B. R., *et al.*, Nat. Struct. Biol., 2003, 19-25), que como tal propició una investigación y estudio intensos sobre derivados del compuesto de Ile-Thia.

De los compuestos de derivado de Ile-Thia en los que se centró y obtenidos mediante la investigación y el estudio mencionados anteriormente, un compuesto que tenía la actividad más destacada era de la serie del beta-aminoácido tiazolidida que se intentó desarrollar por Merck & Co., Inc. Sin embargo, según los resultados de experimentos farmacodinámicos y farmacocinéticos realizados en ratas, el compuesto obtenido presentaba una biodisponibilidad significativamente baja junto con una limitación aparente en la inhibición de la actividad enzimática (Jinyou Xu, *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 2004, 4759-4762). Como consecuencia, se abandonó el desarrollo adicional con compuestos de esta clase debido a notables desventajas.

Durante la investigación mencionada anteriormente, Merck se percató de que un beta-aminoácido, además de un núcleo original de tiazolidida, es también un factor clave que tiene efectos significativos sobre la actividad inhibidora de DPP-IV. Se aplicó este hallazgo al enfoque para la sustitución del núcleo original de tiazolidida por un compuesto de núcleo original diferente (Linda L. B., *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 2004, 4763-4766). Con tal investigación posterior, se sintetizaron una variedad de derivados que tenían sustitución del núcleo original de tiazolidida por un núcleo original de piperazina, con pruebas de eficacia farmacológica y estudios farmacodinámicos. Desafortunadamente, los derivados de piperazina de Merck todavía experimentaban una biodisponibilidad significativamente escasa. Según la optimización de compuestos para hacer frente a tal desventaja, se desarrolló el producto MK-0431 (nombre comercial: JANUVIA) con la modificación de un resto piperazina en un resto triazolopiperazina. Este producto está ahora disponible comercialmente con una nueva aprobación de fármaco por la FDA de los EE.UU. en 2006. Además, de manera posterior a MK-0431, un compuesto con incorporación de un resto diazepanona (anillo de siete miembros) está actualmente en desarrollo (documentos WO 2004037169; WO2005011581; WO2006104997; y Bioorg. Med. Chem. Lett., 2007, 49-52). Particularmente según el artículo publicado en la revista (Bioorg. Med. Chem. Lett., 2007, 49-52), se demostró que la imidazolona (anillo de cinco miembros) y la piperazinona (anillo de seis miembros) presentan una actividad *in vitro* notablemente menor, en comparación con la diazepanona, dando como resultado por tanto una intensa atención sobre la optimización de diazepanona.

[MK-0431]



I: Biftu, Tesfaye *et al.* (Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters 17 (1), 2006, págs. 49-52) da a conocer que (3R)-4-[(3R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(2,2,2-tri-fluoroetil)-1,4-diazepan-2-ona es un inhibidor selectivo de la dipeptidil peptidasa IV útil para el tratamiento de diabetes tipo 2.

Como resultado de una variedad de estudios y experimentos extensos e intensos para resolver los problemas descritos anteriormente y para lograr la optimización de un compuesto de interés, los inventores de la presente invención descubrieron que cuando se realiza una sustitución que incluye un heteroátomo en un resto piperazinona, el compuesto así modificado no sólo tiene excelente actividad inhibidora de DPP-IV, sino que también puede lograr una biodisponibilidad significativamente mejorada en comparación con un inhibidor convencional de DPP-IV y entonces tener éxito en la síntesis de un compuesto heterocíclico novedoso que contiene un grupo beta-amino. La presente invención se ha completado basándose en estos hallazgos.

Divulgación de la invención

Problema técnico

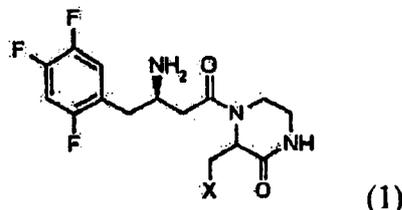
Un objeto de la presente invención es proporcionar un compuesto heterocíclico que contenga un grupo beta-amino y que tenga actividad inhibidora de DPP-IV, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o solvato del mismo.

Otro objeto de la presente invención es proporcionar una composición farmacéutica para la prevención y el tratamiento de diabetes u obesidad, que comprenda el compuesto heterocíclico mencionado anteriormente, o una sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o solvato del mismo como principio activo.

Solución técnica

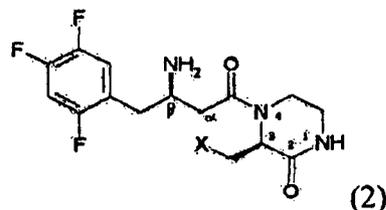
A continuación en el presente documento, la presente invención se describirá en más detalle.

La presente invención proporciona un compuesto heterocíclico con un grupo beta-amino representado por la fórmula 1:



- 5 en la que X es OR₁, SR₁ o NR₁R₂ en los que R₁ y R₂ son independientemente alquilo C₁ a C₅, y R₁ y R₂ de NR₁R₂ pueden formar un anillo de 5 a 7 miembros con la inclusión de un heteroátomo O; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 10 Preferiblemente, el compuesto de fórmula 1 según la presente invención engloba un compuesto de fórmula 2, que es un estereoisómero que induce actividad óptica en un átomo de carbono en la posición 3 de un anillo de piperazinona y está representado por la fórmula 2 a continuación.



en la que X es tal como se define en la fórmula 1.

- 15 Es decir, el compuesto de fórmula 1 puede tener dos centros asimétricos. Específicamente, el compuesto de fórmula 1, tal como se muestra en la fórmula 2, puede tener centros asimétricos en el carbono beta y en el carbono de la posición 3 del anillo de piperazinona, de modo que puede estar presente en forma de un diastereoisómero individual, racemato, mezcla racémica o mezcla diastereoisomérica, todos los cuales se encuentran dentro del compuesto de fórmula 1 según la presente invención.

Además, el compuesto de fórmula 1 puede estar presente parcialmente como tautómero. También están incluidos en el compuesto de fórmula 1, los tautómeros individuales así como las mezclas de los mismos.

- 20 La forma estereoisomérica del compuesto de fórmula 1 puede obtenerse mediante síntesis estereoselectiva según un método convencional conocido en la técnica, usando un material de partida ópticamente puro o un reactivo conocido.

Los ejemplos preferidos del compuesto heterocíclico que contiene grupo beta-amino de fórmula 1 según la presente invención pueden incluir los siguientes compuestos:

- 25 1) clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
 2) clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(metoximetil)piperazin-2-ona;
 3) clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(etoximetil)piperazin-2-ona;
 4) clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(isopropoximetil)piperazin-2-ona;
 5) clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(ciclopentiloximetil)piperazin-2-ona;
 30 6) diclorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(dietilamino)metil]piperazin-2-ona;
 7) diclorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(etilmetilamino)metil]piperazin-2-ona;
 8) diclorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(morfolinometil)piperazin-2-ona;
 9) clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butiltiometil)piperazin-2-ona;
 10) clorhidrato de (S)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
 35 11) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;

- 12) tartrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 13) citrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 14) fosfato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 15) acetato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 5 16) malato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 17) succinato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona; y
- 18) adipato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona.

El compuesto heterocíclico que contiene grupo beta-amino de fórmula 1 según la presente invención incluye una sal farmacéuticamente aceptable del mismo así como un hidrato y solvato que pueden prepararse a partir del mismo.

- 10 La sal farmacéuticamente aceptable del compuesto heterocíclico de fórmula 1 puede prepararse mediante cualquier método convencional para la preparación de sales conocido en la técnica.

Tal como se usa en el presente documento, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal preparada a partir de una base o un ácido no tóxico farmacéuticamente aceptable, incluyendo una base inorgánica u orgánica y un ácido inorgánico u orgánico. Los ejemplos de la sal farmacéuticamente aceptable pueden incluir sales del compuesto 1 con una base inorgánica, por ejemplo ion aluminio, amonio, calcio, cobre, férrico, ferroso, litio, magnesio, manganato, manganeso, potasio, sodio o zinc. Se prefieren particularmente las sales de amonio, calcio, magnesio, potasio y sodio. Una sal sólida puede tener una o más estructuras cristalinas, o si no puede estar en forma de un hidrato. Los ejemplos de la sal orgánica no tóxica farmacéuticamente aceptable pueden incluir sales del compuesto 1 con una amina primaria, secundaria o terciaria, una amina sustituida tal como una amina sustituida que se produce de manera natural, una amina cíclica o una resina de intercambio iónico básica tal como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resina de poliamina, procaína, purina, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripopilamina y trometamina.

- 25 Cuando el compuesto de la presente invención es básico, puede prepararse una sal del mismo a partir de ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables, incluyendo ácidos inorgánicos y orgánicos. Los ejemplos del ácido pueden incluir ácido acético, ácido bencenosulfónico, ácido benzoico, ácido canforsulfónico, ácido cítrico, ácido etanosulfónico, ácido fumárico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido bromhídrico, ácido clorhídrico, ácido isetiónico, ácido láctico, ácido maleico, ácido málico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido múcido, ácido nítrico, ácido pamoico, ácido pantoténico, ácido fosfórico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tartárico, ácido p-toluenosulfónico y ácido adípico. Se prefieren particularmente los ácidos acético, cítrico, clorhídrico, málico, fosfórico, succínico, tartárico y adípico.

Cuando se designa el compuesto de fórmula 1 en el presente documento, este término pretende abarcar una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

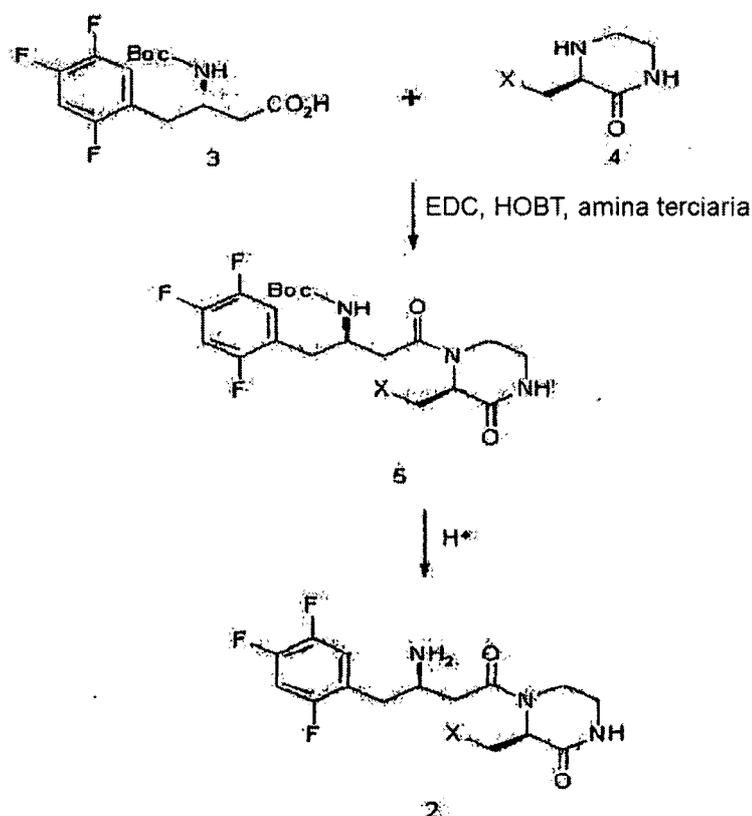
- 35 Tal como se usa en el presente documento, el término "hidrato" significa un compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que incluye además una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de agua unida al mismo mediante fuerzas intermoleculares no covalentes. El hidrato puede contener más de 1 equivalente de agua, normalmente de 1 a 5 equivalentes de agua. El hidrato puede prepararse mediante cristalización del compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en agua o disolvente que contiene agua.

45 Tal como se usa en el presente documento, el término "solvato" significa un compuesto de fórmula 1 o una sal del mismo, que incluye además una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de un disolvente unido al mismo mediante fuerzas intermoleculares no covalentes. Los disolventes preferidos son volátiles, no tóxicos y/o aceptables para la administración a seres humanos. Por ejemplo, puede hacerse mención de etanol, metanol, propanol, cloruro de metileno, etc.

Según otro aspecto de la presente invención, se proporciona un método para preparar un compuesto heterocíclico con un grupo beta-amino representado por la fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 50 La presente invención, tal como se muestra en el esquema de reacción 1 a continuación, incluye un método para preparar un compuesto heterocíclico representado por la fórmula 2, que comprende 1) hacer reaccionar un compuesto de fórmula 3 que tiene un grupo beta-amino con un compuesto heterocíclico sustituido de fórmula 4 en presencia de 1-hidroxibenzotriazol (HOBT), 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) y amina terciaria para preparar de ese modo un compuesto de fórmula 5 que tiene un enlace peptídico, y 2) hacer reaccionar el compuesto de fórmula 5 en presencia de un ácido para preparar un compuesto heterocíclico de fórmula 2 que tiene un grupo beta-amino.

[Esquema de reacción 1]



en el que X es tal como se define en la fórmula 1.

5 Por ejemplo, puede obtenerse un producto intermedio de fórmula 5 haciendo reaccionar el compuesto de fórmula 3 y el compuesto de fórmula 4 de manera convencional en un disolvente tal como N,N-dimetilformamida (DMF) o diclorometano en presencia de un reactivo de acoplamiento tal como 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) o 1-hidroxibenzotriazol (HOBT), y una base tal como diisopropiletilamina o trietilamina a de 0°C a temperatura ambiente durante de 3 a 48 horas.

10 Para impedir la participación de un compuesto en la peptización, se protege con un grupo protector un átomo de nitrógeno del producto intermedio de fórmula 5 que se preparó mediante peptización. Puede obtenerse el compuesto heterocíclico deseado de fórmula 2 que tiene un grupo beta-amino mediante la eliminación del grupo protector a través de desprotección. Es decir, debido a que el grupo protector es Boc, la eliminación del grupo protector puede llevarse a cabo en condiciones ácidas, normalmente usando ácido trifluoroacético/diclorometano, acetato de etilo/cloruro de hidrógeno, cloruro de hidrógeno/diclorometano o metanol/cloruro de hidrógeno, a de 0°C a temperatura ambiente durante de 1 a 24 horas.

20 Si es necesario, el compuesto de fórmula 2 preparado mediante la reacción de enlace peptídico y la desprotección puede purificarse de subproductos no deseados mediante cualquier método convencional tal como recristalización, trituración, cromatografía en capa fina preparativa, cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (véase W.C. Still *et al.*, J. Org. Chem., 43, 2923 (1978)) o HPLC. El compuesto purificado mediante HPLC puede separarse como la sal correspondiente del mismo. El compuesto de fórmula 5 también puede purificarse de la misma manera.

25 En la presente invención, se prepara una mezcla estereoisomérica de un compuesto de fórmula 1 usando una mezcla de estereoisómeros como material de partida, y la mezcla resultante se separa en estereoisómeros individuales para obtener de ese modo un compuesto de fórmula 1. Además, puede prepararse cada estereoisómero del compuesto de fórmula 1 usando cada estereoisómero como material de partida. La separación del estereoisómero puede llevarse a cabo mediante cromatografía en columna o recristalización convencionales.

En la preparación del compuesto de fórmula 2, el compuesto de fórmula 3 usado en el esquema de reacción 1 está disponible comercialmente o puede prepararse fácilmente mediante cualquier método conocido en la técnica.

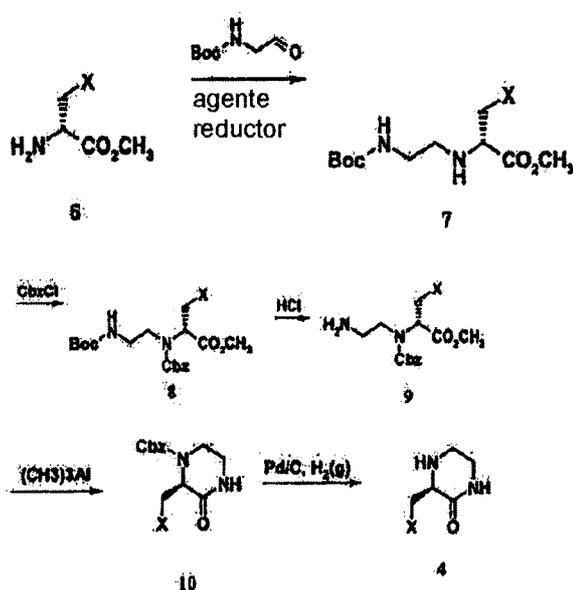
En la preparación del compuesto de fórmula 2, el compuesto de fórmula 4 usado en el esquema de reacción 1 puede prepararse según la ruta de síntesis del esquema de reacción 2 y el esquema de reacción 3.

30 En el esquema de reacción 2, el compuesto 6 puede estar disponible comercialmente o puede no estar disponible

comercialmente dependiendo de un sustituyente X, de modo que el compuesto 6 es uno disponible comercialmente o puede prepararse fácilmente mediante cualquier método conocido en la técnica, por ejemplo el método representado en el esquema de reacción 3 a continuación.

5 En el esquema de reacción 2, el compuesto 4 usado para preparar el compuesto de la presente invención puede prepararse a partir del compuesto 6. Específicamente, el compuesto 6 se hace reaccionar con N-butiloxicarbonil-2-amino-acetaldehído en presencia de un agente reductor para obtener el compuesto 7 a partir del que se prepara entonces el compuesto 8 que tiene una amina secundaria protegida mediante benciloxicarbonilo (Cbz), seguido por desprotección para preparar de ese modo el compuesto 9 en el que se desprotegió el butiloxicarbonilo (Boc). El
10 compuesto 9 se cicla entonces usando trimetilaluminio (o diisopropiletilamina/etanol, hidrogenocarbonato de sodio/metanol, etc.) para obtener el compuesto 10 que va seguido por desprotección de Cbz para preparar el compuesto 4. Los ejemplos del agente reductor que pueden usarse en la preparación del compuesto 7 a partir del compuesto 6 pueden incluir cianoborohidruro de sodio, triacetoxiborohidruro de sodio, borohidruro de sodio, y similares.

[Esquema de reacción 2]

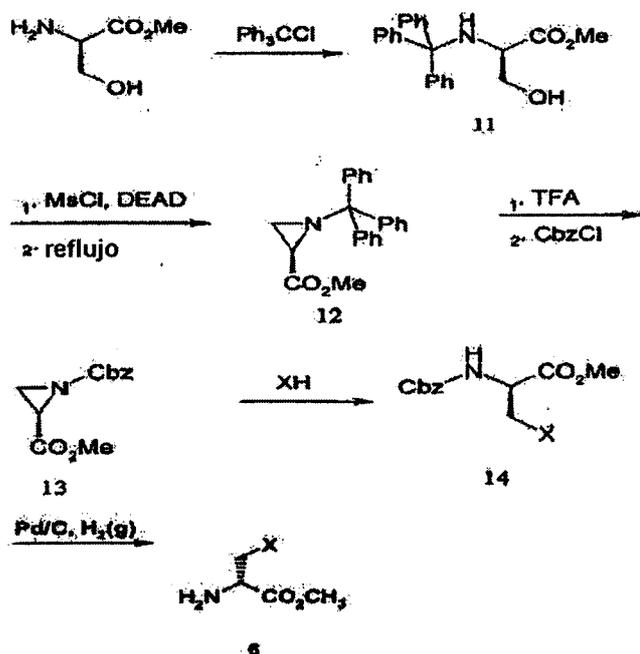


15

en el que X es tal como se define en la fórmula 1.

20 Cuando el compuesto 6 en el esquema de reacción 2 no está disponible comercialmente, puede prepararse de manera análoga al esquema de reacción 3 a continuación. El compuesto 6 que tiene una variedad de sustituyentes R_1 en el esquema de reacción 3 se prepara sustituyendo éster metílico de D-serina por cloruro de tritilo para obtener el compuesto 11 y sustituyendo un grupo hidroxilo del compuesto 11 por un grupo mesilo, seguido por reflujo para preparar de ese modo un compuesto de aziridina 12. Entonces, el grupo tritilo del compuesto 12 se elimina usando ácido trifluoroacético, seguido por protección mediante benciloxicarbonilo (Cbz) para preparar el compuesto 13. El compuesto 13 se hace reaccionar entonces con HX que tiene una variedad de sustituyentes R_1 para preparar el compuesto 14, seguido por desprotección de Cbz para preparar el compuesto 6.

[Esquema de reacción 3]



en el que X es tal como se define en la fórmula 1.

5 Para facilitar la reacción de interés o evitar la formación del producto de reacción no deseado para algunos de los compuestos de fórmula 1 de la presente invención, pueden variar las condiciones de reacción y secuencias de reacción mencionadas anteriormente según se desee.

Tal como se describió anteriormente, los compuestos de fórmula 1 de la presente invención, materiales de partida y productos intermedios pueden sintetizarse mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica.

10 Según un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona una composición farmacéutica para la prevención y el tratamiento de diabetes u obesidad, que comprende un compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo.

15 El compuesto de fórmula 1 según la presente invención presenta excelente actividad inhibitora sobre DPP-IV. Cuando se midió la capacidad inhibitora del compuesto de fórmula 1 sobre la enzima DPP-IV, CI_{50} , la concentración de fármaco que se requiere para inhibir la reacción enzimática de DPP-IV en un 50%, casi presenta un intervalo de 0,5 a 20 nM, lo que representa una actividad inhibitora superior de DPP-IV, en comparación con un inhibidor convencional de DPP-IV que se notifica que tiene una CI_{50} de varios cientos de nM a varios miles de nM, o incluso a varias decenas de miles de nM (Jinyou Xu, *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2004, 4759-4762; y Linda L. B., *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2004, 4763-4766).

20 Además, el compuesto de fórmula 1 según la presente invención tiene alta tolerancia oral a la glucosa. Según la prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG), se midió que el compuesto de fórmula 1 tiene efectos hipoglucemiantes de más del 35%, preferiblemente más del 50%, representando por tanto que tiene biodisponibilidad superior en comparación con inhibidores convencionales de DPP-IV. Además, los resultados experimentales *in vivo*, incluyendo correlaciones farmacocinéticas/farmacodinámicas, la medición del periodo de duración de la actividad inhibitora de DPP-IV y experimentos cinéticos *in vivo*, demuestran que el compuesto de la presente invención es superior en cuanto a la actividad inhibitora de DPP-IV y la biodisponibilidad.

25 Por tanto, la composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula 1 como principio activo puede usarse eficazmente para el tratamiento y la prevención de diabetes y obesidad que son enfermedades representativas provocadas por DPP-IV.

30 La composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula 1, o un estereoisómero, sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o solvato del mismo como principio activo puede formularse en una variedad de las siguientes formas de dosificación orales o parenterales sin limitarse a las mismas.

35 Los ejemplos de la forma de dosificación para administración oral pueden incluir comprimidos, pastillas, cápsulas blandas y duras, disoluciones, suspensiones, emulsiones, jarabes, gránulos, elixires, y similares. Estas formulaciones farmacéuticas pueden comprender, además del principio activo mencionado anteriormente, uno o más diluyentes o excipientes convencionales, tales como cargas, extendedores, agentes humectantes, disgregantes,

deslizantes, aglutinantes y tensioactivos. Los ejemplos de los disgregantes pueden incluir agar, almidón, ácido algínico o una sal de sodio del mismo, monohidrogenofosfato de calcio anhidro, y similares. Los ejemplos de los deslizantes pueden incluir sílice, talco, ácido esteárico o una sal de magnesio o calcio del mismo, polietilenglicol, y similares. Los ejemplos del aglutinante pueden incluir silicato de aluminio y magnesio, pasta de almidón, gelatina, goma tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, polivinilpirrolidona, hidroxipropilcelulosa con bajo grado de sustitución, y similares. Además, la formulación farmacéutica puede comprender diluyentes, por ejemplo lactosa, dextrosa, sacarosa, manitol, sorbitol, celulosa y/o glicina. Si se desea, la formulación puede comprender además mezclas efervescentes, absorbentes, colorantes, sabores y edulcorantes conocidos de manera convencional.

La composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como principio activo puede administrarse por una vía parenteral, por ejemplo un supositorio, inyección subcutánea, inyección intravenosa, inyección intramuscular o inyección intratorácica. Para la formulación de la composición de la presente invención en una preparación para administración parental, el compuesto de fórmula 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se mezcla con un estabilizador o tampón en presencia de agua para preparar una disolución o suspensión que se fabrica entonces en la forma de dosificación unitaria de ampollas o viales.

La composición puede esterilizarse y/o comprender adyuvantes tales como conservantes, estabilizadores, agentes hidratantes, emulsionantes, sales para controlar la presión osmótica y/o tampones, y sustancias terapéuticamente útiles, y puede formularse según métodos convencionales tales como mezclado, granulación y recubrimiento.

Si se desea, el compuesto de fórmula 1 o la composición farmacéutica que comprende el mismo como principio activo puede administrarse en combinación con otros fármacos, por ejemplo, fármacos antidiabéticos.

Cuando el compuesto de fórmula 1 o la composición farmacéutica que comprende el mismo como principio activo se formula en una forma de dosificación unitaria, el compuesto de fórmula 1 se aplica preferiblemente en una dosis unitaria de aproximadamente 0,1 a 1.500 mg en cuanto al principio activo. Tal como resultará evidente para los expertos en la técnica, la dosis eficaz del compuesto activo según la presente invención puede determinarse según la prescripción del médico, dependiendo de diversos factores tales como el peso corporal y la edad de los pacientes, la naturaleza y gravedad de la enfermedad, y similares. Para adultos, la dosis eficaz del compuesto activo está normalmente en un intervalo de aproximadamente 1 a 500 mg/día, teniendo en cuenta la frecuencia e intensidad de administración. En caso de inyección intramuscular o intravenosa a adultos, aproximadamente de 5 a 300 mg de la dosis total dividida en varias dosis unitarias puede ser apropiado cada día, aun cuando pueda requerirse una mayor dosis diaria para algunos pacientes.

Efectos ventajosos

Tal como se ilustrará específicamente a continuación en el presente documento, la presente invención proporciona un compuesto heterocíclico que contiene un grupo beta-amino y que tiene excelentes efectos inhibidores sobre la actividad enzimática de DPP-IV. Una composición farmacéutica que comprende el mismo compuesto de la presente invención como principio activo presenta excelente actividad inhibidora de DPP-IV y biodisponibilidad y entonces puede ser útil para la profilaxis o el tratamiento de diversas enfermedades que se considera que están provocadas por DPP-IV, tales como diabetes y obesidad.

Descripción de los dibujos

La figura 1 muestra correlaciones entre actividad de DPP-IV en plasma y dosis de fármaco, obtenidas para MK-0431 y un compuesto del ejemplo 1; y

la figura 2 muestra los resultados de medición y comparación de la duración de la actividad inhibidora de DPP-IV obtenidos para MK-0431 y un compuesto del ejemplo 1 en ratas de laboratorio.

Modo para la invención

Ahora se describirá la presente invención en más detalle con referencia a los siguientes ejemplos.

Ejemplo 1: Preparación de clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona

Etapa 1: Preparación de (R)-1-tritilaziridin-2-carboxilato de metilo

Se añadieron 200 g de clorhidrato de éster metílico de D-serina a 1,8 l de cloroformo y se enfrió la disolución de reacción hasta 0°C, a la que se añadieron entonces lentamente 448 ml de trietilamina. Se añadieron lentamente 358,4 g de cloruro de tritilo a la mezcla de reacción que se agitó entonces durante 1 hora. Se calentó la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y se añadió 1 l de cloroformo a la misma, seguido por lavado con 2,5 l de agua. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio y se enfrió hasta 0°C, a la que se añadieron entonces secuencial y lentamente 484 ml de trietilamina y 15,7 g de 4-metilaminopiridina. Se agitó la mezcla de reacción durante 5 min y se añadieron lentamente 139 ml de cloruro de metanosulfonilo a la misma. Se calentó la mezcla de

reacción hasta temperatura ambiente, se agitó durante otras 4 horas y entonces se puso a reflujo durante 12 horas. Se enfrió la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y se lavó con 4 l de agua y luego 3 l de salmuera. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio y se concentró hasta sequedad a presión reducida. Se añadieron 3 l de etanol al residuo resultante que se agitó luego. Se filtraron los sólidos resultantes proporcionando 329 g del compuesto del título.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): de 7,42 a 7,49 (m, 6H), de 7,18 a 7,32 (m, 9H), 7,68 (s, 1H), 3,74 (s, 3H), 2,24 (m, 1H), 1,87 (m, 1H) y 1,40 (m, 1H)

Etapa 2: Preparación de (R)-aziridin-1,2-dicarboxilato de 1-bencilo y 2-metilo

Se disolvieron 328,4 g de (R)-1-tritilaziridin-2-carboxilato de metilo en 1,4 l de cloroformo y se enfrió la disolución de reacción hasta 0°C, a la que se añadieron entonces lentamente 462 ml de ácido trifluoroacético. Se agitó la mezcla de reacción durante 1 hora, a la que se añadieron entonces 2 l de agua, seguido por agitación durante 10 min y eliminación de la fase orgánica. Se neutralizó la fase acuosa con hidrogenocarbonato de sodio y se usó en reacciones posteriores sin purificación adicional.

Se añadieron 2 l de dietil éter y 120,5 g de hidrogenocarbonato de sodio a la fase acuosa y se enfrió la disolución de reacción hasta 0°C, a la que se añadieron entonces lentamente gota a gota 165 ml de clorofornio de bencilo. Se agitó la mezcla de reacción durante otras 2 horas y se desechó la fase acuosa. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se concentró y se secó a presión reducida, y se purificó mediante cromatografía en columna, proporcionando de ese modo 108,5 g del compuesto del título.

¹H-RMN (400 MHz, DMSO): 7,32-7,36 (m, 5H), 5,13 (s, 2H), 3,09 (dd, J = 3,2, 5,4 Hz, 1H), 2,58 (dd, J = 1,2, 3,2 Hz, 1H) y 2,47 (dd, J = 1,2, 5,4 Hz, 1H)

Etapa 3: Preparación de éster metílico de (R)-2-amino-3-t-butoxiopropano

Se disolvieron 1,1 g de (R)-aziridin-1,2-dicarboxilato de 1-bencilo y 2-metilo en 11 ml de cloroformo, a lo que se añadieron entonces 18 ml de t-butanol. A la mezcla de reacción se le añadieron lentamente gota a gota 1,2 ml de BF₃OEt₂, seguido por agitación durante 12 horas. Se terminó la reacción con la adición de 2 l de agua a la mezcla de reacción. Entonces, se separó la fase orgánica y se secó sobre sulfato de magnesio, se concentró y se secó a presión reducida, y entonces se usó en reacciones posteriores sin purificación adicional.

Se disolvió el residuo resultante en 10 ml de metanol, a lo que se le añadieron entonces 740 mg de paladio/carbono en 2 ml de acetato de etilo, seguido por burbujeo de hidrógeno durante 1 hora a la presión atmosférica ambiental. Se filtró la mezcla de reacción y se secó a presión reducida proporcionando 736 mg del compuesto del título.

¹H-RMN (400 MHz, CD₃OD): 4,21 (m, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,74-3,88 (m, 2H) y 1,20 (s, 9H)

Etapa 4): Preparación de éster metílico del ácido (R)-3-terc-butoxi-2-(2-(terc-butoxicarbonilamino)etilamino)propiónico

Se disolvieron 736 mg de éster metílico de (R)-2-amino-3-t-butoxiopropano preparado en la etapa 3 en 14 ml de diclorometano, a lo que se añadieron entonces lentamente 6335 mg de N-t-butoxicarbonil-2-aminoacetaldehído-metanol. Se enfrió la mezcla de reacción hasta 0°C, seguido por la adición gradual de 1,2 ml de trietilamina y 1,78 g de triacetoxiborohidruro de sodio. Se calentó la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente, seguido por agitación durante 12 horas. Se añadió una disolución saturada de hidrogenocarbonato de sodio para terminar la reacción y se lavó la fase orgánica con 10 ml de agua y salmuera, se concentró y se secó a presión reducida. Se purificó el residuo resultante mediante cromatografía en columna, proporcionando de ese modo 355 mg del compuesto del título.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): 5,10 (m, 1H), 3,71 (s, 3H), 3,56 (m, 2H), 3,40 (m, 1H), 3,15-3,28 (m, 2H), 2,81 (m, 1H), 2,67 (m, 1H), 1,42 (s, 9H) y 1,13 (s, 9H)

Etapa 5): Preparación de éster metílico del ácido (R)-2-((benciloxicarbonil)(2-t-butoxicarbonilamino)etil)amino)-3-terc-butoxi-propiónico

Se disolvieron 355 mg de éster metílico del ácido (R)-3-terc-butoxi-2-(2-(terc-butoxicarbonilamino)etilamino)propiónico preparado en la etapa 4 en 11 ml de tetrahidrofurano y se enfrió la mezcla de reacción hasta 0°C, a la que se añadieron entonces 187 mg de hidrogenocarbonato de sodio. Se añadieron lentamente gota a gota 192 µl de clorofornio de bencilo a la misma y se calentó la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente. Tras 12 horas, se secó a presión reducida la mezcla de reacción, seguido por la adición de 10 ml de acetato de etilo y se lavó la fase orgánica con 10 ml de agua. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio, se secó a presión reducida y se purificó mediante cromatografía en columna, proporcionando de ese modo 410 mg del compuesto del título.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): 7,36-7,25 (m, 5H), 5,82-5,72 (m, 1H), 5,17-5,03 (m, 2H), 4,15 (m, 1H), 3,98 (m, 1H), 3,81 (m, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,60 (m, 1H), 3,42-3,28 (m, 3H), 1,40 (s, 9H) y 1,14 (s, 9H)

Etapa 6): Preparación de (R)-2-(terc-butoximetil)-3-oxopiperazin-1-carboxilato de bencilo

Se disolvieron 410 mg de éster metílico del ácido (R)-2-((benciloxicarbonil)(2-t-butoxicarbonilamino)etil)amino)-3-terc-butoxiopropiónico preparado en la etapa 5 en 10 ml de metanol y se enfrió la mezcla de reacción hasta 0°C, a la que se añadieron entonces lentamente 4 ml de ácido clorhídrico 2 N/dietil éter, seguido por agitación durante 3 horas. Se secó la mezcla de reacción a presión reducida y se usó en reacciones posteriores sin purificación adicional.

Se disolvió el residuo resultante en 10 ml de diclorometano y se enfrió la mezcla de reacción hasta 0°C, a la que se añadieron entonces lentamente 152 µl de trietilamina. Se añadieron lentamente 1,1 ml de trimetilaluminio (disolución 2,0 M en tolueno) a la misma y se calentó la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y entonces se agitó durante 12 horas. Se enfrió la mezcla de reacción hasta 0°C y se añadió una disolución acuosa saturada de cloruro de amonio para terminar la reacción. Se añadieron 10 ml de acetato de etilo a la mezcla de reacción que se lavó entonces con 10 ml de salmuera. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio y se secó a presión reducida. Se purificó el residuo resultante mediante cromatografía en columna proporcionando 103 mg del compuesto del título.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): 7,34-7,25 (m, 5H), 6,27 (m, 1H), 5,14 (m, 2H), 4,57 (m, 1H), 4,19 (m, 1H), 4,08 (m, 1H), 3,94 (m, 1H), 3,74 (m, 1H), 3,64 (m, 1H), 3,42 (m, 1H), 3,29 (m, 1H) y 1,09 (s, 9H)

Etapa 7): Preparación de (R)-(3-terc-butoximetil)piperazin-2-ona

Se disolvieron 103 mg de (R)-2-(terc-butoximetil)-3-oxopiperazin-1-carboxilato de bencilo preparado en la etapa 6 en 2 ml de metanol, a lo que se añadieron entonces 50 mg de paladio/carbono en 1 ml de acetato de etilo, seguido por burbujeo de hidrógeno durante 1 hora a la presión atmosférica ambiental. Se filtró la mezcla de reacción y se secó a presión reducida proporcionando 58 mg del compuesto del título.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): 6,41 (s a, 1H), 3,76 (m, 3H), 3,63 (m, 1H), 3,52 (m, 1H), 3,42 (m, 1H), 3,28 (m, 1H), 3,16 (m, 1H), 2,95 (m, 1H), 2,45 (s a, 1H) y 1,17 (s, 9H)

Etapa 8): Preparación de (R)-4-[(R)-2-(terc-butoximetil)-3-oxopiperazin-1-il]-4-oxo-1-(2,4,5-trifluorofenil)butan-2-ilcarbamato de terc-butilo

Se añadieron 104 mg de ácido (3R)-t-butoxicarbonilamino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoico y 58 mg de (R)-(3-terc-butoximetil)piperazin-2-ona a 4 ml de N,N-dimetilformamida, a lo que se añadieron entonces 63 mg de 1-hidroxibenzotriazol (HOBT) y 217 µl de diisopropiletilamina. Se enfrió la mezcla de reacción hasta 0°C y se añadieron 78 mg de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) a la misma, seguido por agitación a temperatura ambiente durante 12 horas. Se diluyó la mezcla de reacción con 10 ml de acetato de etilo y se lavó dos veces con salmuera. Se secó la fase orgánica sobre sulfato de magnesio y se concentró. Se purificó el residuo resultante mediante cromatografía en columna proporcionando 97 mg del compuesto del título.

¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃): 7,03 (m, 1H), 6,88 (m, 1H), 5,97 (m, 1H), 5,48 (m, 1H), 4,16-4,07 (m, 1H), 4,02-3,91 (m, 1H), 3,74 (m, 2H), 3,37 (m, 2H), 3,24 (m, 1H), 2,92 (m, 2H), 2,80 (m, 1H), 2,59 (m, 2H), 1,34 (d, 9H) y 1,13 (s, 9H)

Etapa 9): Preparación de clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(terc-butoximetil)piperazin-2-ona

Se disolvieron 97 mg de (R)-4-[(R)-2-(terc-butoximetil)-3-oxopiperazin-1-il]-4-oxo-1-(2,4,5-trifluorofenil)butan-2-ilcarbamato de terc-butilo preparado en la etapa 8 en 3 ml de metanol, seguido por la adición de 2 ml de ácido clorhídrico 2 N/dietil éter y agitación a temperatura ambiente durante 3 horas. Se concentró la mezcla de reacción y se secó a presión reducida proporcionando 64 mg del compuesto del título como un sólido espumoso.

¹H-RMN (400 MHz, CD₃OD): 7,37 (m, 1H), 7,23 (m, 1H), 4,80 (m, 1H), 4,59-4,40 (m, 1H), 3,93 (m, 1H), 3,90-3,83 (m, 2H), 3,70 (m, 1H), 3,38 (m, 2H), 3,27 (m, 1H), 3,07 (m, 2H), 2,89-2,66 (m, 2H), 1,18 (s, 3H) y 1,11 (s, 6H)

Masa (M+1): 402

Ejemplo 2: Preparación de clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(metoximetil)piperazin-2-ona

Se usó metanol en lugar de t-butanol en la etapa 3 del ejemplo 1 y entonces se sintetizaron 40 mg del compuesto del título de manera análoga a las etapas 4 a 9 del ejemplo 1.

¹H-RMN (400 MHz, CD₃OD): 7,34 (m, 1H), 7,23 (m, 1H), 4,82 (m, 1H), 4,62-4,46 (m, 1H), 3,92 (m, 1H), 3,87-3,82 (m, 2H), 3,66 (m, 1H), 3,35 (m, 2H), 3,24 (m, 1H), 3,04 (m, 2H), 2,94-2,72 (m, 2H) y 3,27 (s, 3H)

Masa (M+1): 360

Ejemplo 3: Preparación de clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(etoximetil)piperazin-2-

ona

Se usó etanol en lugar de t-butanol en la etapa 3 del ejemplo 1 y entonces se sintetizaron 66 mg del compuesto del título de manera análoga a las etapas 4 a 9 del ejemplo 1.

5 $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CD₃OD): 7,38 (m, 1H), 7,23 (m, 1H), 4,83 (m, 1H), 4,54-4,44 (m, 1H), 3,98 (m, 1H), 3,93-3,82 (m, 2H), 3,71 (m, 1H), 3,53 (m, 2H), 3,36 (m, 2H), 3,26 (m, 1H), 3,07 (m, 2H), 2,90-2,70 (m, 2H) y 1,11 (t, 3H)

Masa (M+1): 374

Ejemplo 4: Preparación de clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(isopropoximetil)piperazin-2-ona

10 Se usó isopropanol en lugar de t-butanol en la etapa 3 del ejemplo 1 y entonces se sintetizaron 69 mg del compuesto del título de manera análoga a las etapas 4 a 9 del ejemplo 1.

$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CD₃OD): 7,38 (m, 1H), 7,23 (m, 1H), 4,86 (m, 1H), 4,62-4,43 (m, 1H), 3,96 (m, 1H), 3,90-3,87 (m, 2H), 3,77 (m, 1H), 3,69 (m, 1H), 3,44 (m, 2H), 3,26 (m, 1H), 3,08 (m, 2H), 2,95-2,69 (m, 2H) y 1,15 (m, 6H)

Masa (M+1): 388

15 Ejemplo 5: Preparación de clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(ciclopentiloximetil)piperazin-2-ona

Se usó ciclopentanol en lugar de t-butanol en la etapa 3 del ejemplo 1 y entonces se sintetizaron 51 mg del compuesto del título de manera análoga a las etapas 4 a 9 del ejemplo 1.

$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CD₃OD): 7,38 (m, 1H), 7,23 (m, 1H), 4,82 (m, 1H), 4,61-4,42 (m, 1H), 3,93 (m, 1H), 3,90-3,82 (m, 2H), 3,67 (m, 1H), 3,40 (m, 1H), 3,36 (m, 2H), 3,25 (m, 1H), 3,08 (m, 2H), 3,01-2,62 (m, 2H) y 1,67-1,50 (m, 8H)

20 Masa (M+1): 414

Ejemplo 6: Preparación de diclorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(dietilamino)metil]piperazin-2-ona

25 Se añadió dietilamina en lugar de t-butanol y se llevó a cabo reflujo en lugar de la adición de BF₃OEt₂ en la etapa 3 del ejemplo 1, y entonces se sintetizaron 68 mg del compuesto del título de manera análoga a las etapas 4 a 9 del ejemplo 1.

$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CD₃OD): 7,41 (m, 1H), 7,24 (m, 1H), 5,21 (m, 1H), 3,59-3,53 (m, 2H), 3,50-3,53 (m, 4H), 3,43-3,37 (m, 4H), 3,35 (m, 2H), 3,09 (m, 2H), 2,97-2,81 (m, 2H) y 1,37 (m, 6H)

Masa (M+1): 401

30 Ejemplo 7: Preparación de diclorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(etilmetilamino)metil]piperazin-2-ona

Se añadió etilmetilamina en lugar de t-butanol y se llevó a cabo reflujo en lugar de la adición de BF₃OEt₂ en la etapa 3 del ejemplo 1, y entonces se sintetizaron 67 mg del compuesto del título de manera análoga a las etapas 4 a 9 del ejemplo 1.

35 $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CD₃OD): 7,42 (m, 1H), 7,24 (m, 1H), 5,22 (m, 1H), 4,08-3,87 (m, 2H), 3,86-3,75 (m, 2H), 3,68-3,57 (m, 2H), 3,56-3,33 (m, 4H), 3,09 (m, 2H), 3,02-2,81 (m, 5H) y 1,38 (m, 3H)

Masa (M+1): 387

Ejemplo 8: Preparación de diclorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(morfolinometil)piperazin-2-ona

40 Se añadió morfolina en lugar de t-butanol y se llevó a cabo reflujo en lugar de la adición de BF₃OEt₂ en la etapa 3 del ejemplo 1, y entonces se sintetizaron 27 mg del compuesto del título de manera análoga a las etapas 4 a 9 del ejemplo 1.

$^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, CD₃OD): 7,37 (m, 1H), 7,23 (m, 1H), 5,32 (m, 1H), 4,12-3,98 (m, 4H), 3,97-3,77 (m, 4H), 3,74-3,52 (m, 4H), 3,48-3,39 (m, 2H), 3,14-2,91 (m, 4H) y 2,86-2,72 (m, 2H)

Masa (M+1): 415

45 Ejemplo 9: Preparación de clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butiltiometil)piperazin-2-ona

Se usó t-butil-tiol en lugar de t-butanol en la etapa 3 del ejemplo 1 y entonces se sintetizaron 25 mg del compuesto del título de manera análoga a las etapas 4 a 9 del ejemplo 1.

¹H-RMN (400 MHz, CD3OD): 7,34 (m, 1H), 7,25 (m, 1H), 5,04 (m, 1H), 4,60 (s, 1H), 4,60-4,41 (m, 1H), 3,86 (m, 2H), 3,70 (m, 1H), 3,40 (m, 2H), 3,25 (m, 1H), 3,05 (m, 2H), 2,95 (m, 1H), 2,81 (m, 2H) y 1,26 (s, 9H)

5 Masa (M+1): 418

Ejemplo 10: Preparación de clorhidrato de (S)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona

10 Se usó clorhidrato de éster metílico de L-serina de en lugar de clorhidrato de éster metílico de D-serina en la etapa 1 del ejemplo 1 y entonces se sintetizaron 31 mg del compuesto del título de manera análoga a las etapas 2 a 9 del ejemplo 1.

¹H-RMN (400 MHz, CD3OD): 7,34 (m, 1H), 7,24 (m, 1H), 4,79 (m, 1H), 4,580-4,40 (m, 1H), 3,96 (m, 1H), 3,86-3,74 (m, 2H), 3,70 (m, 1H), 3,36 (m, 2H), 3,19 (m, 1H), 3,05-2,86 (m, 3H), 2,67 (m, 1H), 1,15 (s, 4H) y 1,03 (s, 5H)

Masa (M+1): 402

Ejemplo 11: Preparación de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona

15 Se añadieron 60 mg del compuesto obtenido en el ejemplo 1 a 10 ml de una disolución acuosa de hidrogenocarbonato de sodio al 5% y se extrajo la mezcla dos veces con 10 ml de una disolución mezclada de diclorometano/2-propanol (4/1 (v/v)). Se secó la fase orgánica a presión reducida proporcionando 55 mg del compuesto del título como un sólido.

20 ¹H-RMN (400 MHz, CD3OD): 7,27 (m, 1H), 7,14 (m, 1H), 4,56-4,39 (m, 1H), 3,96-3,81 (m, 3H), 3,70 (m, 1H), 3,46 (m, 1H), 3,43-3,32 (m, 1H), 2,83-2,65 (m, 3H), 2,58-2,40 (m, 2H), 1,16 (s, 3H) y 1,11 (s, 6H)

Masa (M+1): 402

Ejemplo 12: Preparación de tartrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona

25 Se disolvieron 55 mg del compuesto obtenido en el ejemplo 11 en 0,56 ml de acetona a lo que se añadió entonces lentamente una disolución de 26 mg de ácido L-tartárico en 0,35 ml de etanol/agua (9/1 (v/v)), seguido por agitación durante 30 min. Se añadieron 0,56 ml de 2-propanol a la misma, seguido por agitación durante 10 min y filtración proporcionando 77 mg del compuesto del título como un sólido.

30 ¹H-RMN (400 MHz, CD3OD): 7,38 (m, 1H), 7,22 (m, 1H), 4,80 (m, 1H), 4,59-4,40 (m, 1H), 4,40 (s, 2H), 3,93 (m, 1H), 3,90-3,83 (m, 2H), 3,70 (m, 1H), 3,38 (m, 2H), 3,27 (m, 1H), 3,07 (m, 2H), 2,89-2,66 (m, 2H), 1,15 (s, 3H) y 1,11 (s, 6H)

Masa (M+1): 402

Ejemplo 13: Preparación de citrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona

35 Se disolvieron 496 mg del compuesto obtenido en el ejemplo 11 en 2 ml de etanol, a lo que se añadió entonces lentamente una disolución de 273 mg de ácido cítrico anhidro en 1 ml de agua, seguido por agitación durante 30 min. Se concentró la mezcla de reacción, a la que se añadieron entonces 2 ml de acetato de etilo y 1 ml de 2-propanol seguido por agitación. Se añadieron 15 ml de hexano a la misma seguido por agitación durante 10 min y filtración proporcionando 637 mg del compuesto del título como un sólido.

40 ¹H-RMN (400 MHz, CD3OD): 7,34 (m, 1H), 7,22 (m, 1H), 4,81 (m, 1H), 4,58-4,40 (m, 1H), 3,94 (m, 1H), 3,87 (m, 2H), 3,70 (m, 1H), 3,36 (m, 2H), 3,25 (m, 1H), 3,03 (m, 2H), 2,94-2,70 (m, 4H), 1,18 (s, 3H) y 1,12 (s, 6H)

Masa (M+1): 402

Ejemplo 14: Preparación de fosfato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona

45 Se disolvieron 501 mg del compuesto obtenido en el ejemplo 11 en 3 ml de 2-propanol, a lo que se añadieron entonces lentamente 84 µl de una disolución acuosa de ácido fosfórico al 85% seguido por agitación durante 30 min. Se añadieron 3 ml de 2-propanol a la misma y se agitó la mezcla resultante durante 10 min y se filtró proporcionando 100 mg del compuesto del título como un sólido.

¹H-RMN (400 MHz, CD3OD): 7,33 (m, 1H), 7,19 (m, 1H), 4,81 (m, 1H), 4,58-4,41 (m, 1H), 3,94 (m, 1H), 3,85 (m, 2H), 3,65 (m, 1H), 3,37 (m, 2H), 3,22 (m, 1H), 2,95 (m, 2H), 2,69 (m, 2H), 1,17 (s, 3H) y 1,12 (s, 6H)

Masa (M+1): 402

Ejemplo 15: Preparación de acetato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona

5 Se disolvieron 500 mg del compuesto obtenido en el ejemplo 11 en 3 ml de acetato de etilo a lo que se añadió entonces lentamente una disolución de 74,5 mg de ácido acético en 1 ml de acetato de etilo seguido por agitación durante 30 min. Se concentró la mezcla de reacción, a la que se añadieron entonces 2 ml de acetato de etilo y 1 ml de 2-propanol seguido por agitación. Se añadieron 15 ml de hexano a la misma y se agitó la mezcla resultante durante 10 min y se filtró proporcionando 495 mg del compuesto del título como un sólido.

10 ¹H-RMN (400 MHz, CD3OD): 7,32 (m, 1H), 7,20 (m, 1H), 4,79 (m, 1H), 4,60-4,40 (m, 1H), 3,94 (m, 1H), 3,87 (m, 2H), 3,70 (m, 1H), 3,34 (m, 2H), 3,24 (m, 1H), 2,90 (m, 2H), 2,76-2,58 (m, 2H), 1,94 (s, 3H), 1,17 (s, 3H) y 1,12 (s, 6H)

Masa (M+1): 402

Ejemplo 16: Preparación de malato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona

15 Se disolvieron 498 mg del compuesto obtenido en el ejemplo 11 en 4 ml de acetona a lo que se añadió entonces lentamente una disolución de 166 mg de ácido L-málico en 1 ml de acetona seguido por agitación durante 30 min. Se concentró la mezcla de reacción, a la que se añadieron entonces 2 ml de acetato de etilo y 1 ml de 2-propanol seguido por agitación. Se añadieron 15 ml de hexano a la misma y se agitó la mezcla resultante durante 10 min y se filtró proporcionando 506 mg del compuesto del título como un sólido.

20 ¹H-RMN (400 MHz, CD3OD): 7,34 (m, 1H), 7,21 (m, 1H), 4,80 (m, 1H), 4,58-4,39 (m, 1H), 4,26 (m, 1H), 3,94 (m, 1H), 3,84 (m, 2H), 3,71 (m, 1H), 3,36 (m, 2H), 3,22 (m, 1H), 3,02 (m, 2H), 2,82-2,63 (m, 3H), 2,50 (m, 1 H), 1,17 (s, 3H) y 1,12 (s, 6H)

Masa (M+1): 402

Ejemplo 17: Preparación de succinato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona

25 Se disolvieron 498 mg del compuesto obtenido en el ejemplo 11 en 3 ml de acetona a lo que se añadió entonces lentamente una disolución de 147 mg de ácido succínico en 2 ml de acetona/agua (20/1 (v/v)) seguido por agitación durante 30 min. Se concentró la mezcla de reacción hasta sequedad a presión reducida proporcionando 596 mg del compuesto del título como un sólido.

30 ¹H-RMN (400 MHz, CD3OD): 7,34 (m, 1H), 7,21 (m, 1H), 4,81 (m, 1H), 4,58-4,40 (m, 1H), 3,95 (m, 1H), 3,85 (m, 2H), 3,70 (m, 1H), 3,36 (m, 2H), 3,25 (m, 1H), 2,92 (m, 2H), 2,81-2,64 (m, 2H), 2,51 (s, 4H), 1,18 (s, 3H) y 1,12 (s, 6H)

Masa (M+1): 402

Ejemplo 18: Preparación de adipato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona

35 Se disolvieron 503 mg del compuesto obtenido en el ejemplo 11 en 4 ml de acetato de etilo a lo que se añadió entonces lentamente una disolución de 183 mg de ácido adípico en 3 ml de acetona/agua (30/1 (v/v)) seguido por agitación durante 30 min. Se concentró la mezcla de reacción, a la que se añadieron entonces 2 ml de acetato de etilo y 1 ml de 2-propanol seguido por agitación. Se añadieron 15 ml de hexano a la misma y se agitó la mezcla resultante durante 10 min y se filtró proporcionando 336 mg del compuesto del título como un sólido.

40 ¹H-RMN (400 MHz, CD3OD): 7,32 (m, 1H), 7,19 (m, 1H), 4,80 (m, 1H), 4,56-4,40 (m, 1H), 3,94 (m, 1H), 3,87 (m, 2H), 3,70 (m, 1H), 3,35 (m, 2H), 3,25 (m, 1H), 2,92 (m, 2H), 2,83-2,58 (m, 2H), 2,25 (m, 4H), 1,63 (m, 4H), 1,21 (s, 3H) y 1,12 (s, 6H)

Masa (M+1): 402

Ejemplo experimental 1: Ensayo de actividad inhibidora de DPP-IV

45 Para examinar la capacidad inhibidora de DPP-IV de los compuestos inventivos de fórmula 1 preparados en los ejemplos 1 a 18, se llevaron a cabo los siguientes experimentos.

50 Se adquirió DPP-IV conocida como serina proteasa de R & D Systems. Se preparó MK-0431 como control según el método dado a conocer en J. Med. Chem., 2005, 48, 141-151. Para evaluar la eficacia farmacológica de los compuestos inventivos de fórmula 1, se midió la actividad de unión de inhibidores sintéticos de DPP-IV usando el sustrato fluorogénico Gly-Pro-AMC. Se llevó a cabo la reacción enzimática a 25°C en una disolución tampón que contenía Tris 25 mM/HCl (pH 8,0) usando 50 µM de Gly-Pro-AMC con respecto a 100 ng/ml de DPP-IV con

concentraciones variables del inhibidor. Se facilitó la CI_{50} , que es una constante de inhibición del inhibidor, midiendo la fluorescencia con un espectrofluorómetro tras la reacción enzimática durante 1 hora y calculando entonces la concentración del inhibidor que se requiere para inhibir la reacción enzimática de DPP-IV en el 50%. El espectrofluorómetro era un espectrofotómetro SpectraFluor de Tecan con una longitud de onda de excitación de 360 nm y una longitud de onda de emisión de 465 nm. Como resultado, la CI_{50} , medida como la capacidad del compuesto de fórmula 1 para inhibir la actividad de DPP-IV, estaba en el intervalo de 0,5 a 20 nM (tabla 1: actividad inhibidora de DPP-IV humana *in vitro*). A partir de este resultado, puede observarse que el compuesto inventivo de fórmula 1 tiene una actividad inhibidora de DPP-IV muy excelente, en comparación con el valor de CI_{50} notificado para JANUVIA disponible comercialmente o los compuestos inhibidores de DPP-IV convencionales (que oscila entre varios cientos de nM y varios miles de nM).

[Tabla 1]

N.º de ejemplo	CI_{50} (nM)
MK-0431	28,3
Ejemplo 1	0,72
Ejemplo 2	7,4
Ejemplo 3	2,2
Ejemplo 4	4,3
Ejemplo 5	1,7
Ejemplo 6	11,0
Ejemplo 7	17,4
Ejemplo 8	5,2
Ejemplo 9	1,3
Ejemplo 10	48,7
Ejemplo 11	0,8
Ejemplo 12	1,05
Ejemplo 13	0,81
Ejemplo 14	0,92
Ejemplo 15	0,87
Ejemplo 16	0,73
Ejemplo 17	1,2
Ejemplo 18	0,71

Ejemplo experimental 2: Prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG)

Para investigar los efectos antidiabéticos de una composición farmacéutica que comprende el compuesto inventivo de fórmula 1 como principio activo, se llevó a cabo la prueba de tolerancia oral a la glucosa (PTOG) que mide la capacidad del organismo para metabolizar glucosa en un periodo de tiempo dado.

Para este fin, se dejaron en ayunas animales de laboratorio (ratones C57BL/6) durante de 16 a 17 horas antes de los experimentos. Se extrajo sangre de las venas caudales de los animales por la mañana el día del experimento y se midió un nivel de glucemia con un medidor de glucemia Accu-Chek Active (Roche Diagnostics). Se administró por vía oral la composición farmacéutica con un portador 30 min antes de la administración de glucosa (-30 min), seguido por la administración oral de una disolución de glucosa (2 g/kg/10 ml) tras 30 min (0 min). Se realizó la extracción de sangre en los puntos de tiempo designados (justo antes de la administración del fármaco, justo antes de la administración de glucosa y 5, 15, 30, 60 y 90 min tras la administración de glucosa).

Como resultado, los ejemplos 1, 3 y 12 mostraron efectos hipoglucemiantes superiores del 54%, el 52% y el 62%, respectivamente, a una dosis de 1 mg/kg, en comparación con el grupo control (sin administración de una composición con un portador). A partir de estos resultados, puede observarse que el compuesto inventivo de fórmula 1 puede ser útil para el tratamiento de enfermedades relacionadas con DPP-IV incluyendo diabetes y obesidad, debido a la alta biodisponibilidad.

Ejemplo experimental 3: Correlación farmacocinética/farmacodinámica de inhibidor de DPP-IV (actividad de DPP-IV en plasma frente a la dosis de fármaco)

Para determinar los efectos antidiabéticos del compuesto inventivo de fórmula 1, se realizó una evaluación comparativa de la actividad inhibidora de DPP-IV en plasma entre los compuestos inventivos y MK-0431. Se administró por vía oral a ratones C57BL6 de 8 semanas MK-0431 y el compuesto inventivo (compuesto del ejemplo 1) a dosis individuales, seguido por la administración de glucosa a una dosis de 2 g/kg tras 1 hora. 10 min después, se extrajo sangre de los ojos de los animales. Se obtuvo el plasma sanguíneo de la sangre extraída y se midieron la actividad de DPP-IV en plasma y la concentración de fármaco en plasma.

Se facilitó la actividad de DPP-IV en plasma midiendo la cantidad de AMC fluorescente (7-amino-4-metilcumarina) liberada por la acción de DPP-IV tras el uso de Gly-Pro-AMC (Bachem, Suiza) como sustrato. Para este fin, se

añadieron 50 µl de plasma a una disolución de reacción (HEPES 100 mM, pH 7,6, 0,1 mg/ml, Gly-Pro-AMC 50 µM) y se calculó la velocidad de liberación de AMC a 25°C durante 5 min.

5 Como resultado, el compuesto de fórmula 1 (Ejemplo 1) presentó una actividad inhibitora de 4 a 5 veces mayor a una concentración en plasma de 10 ng/ml, junto con una CE₅₀ (concentración eficaz al 50%) y CE₈₀ (concentración eficaz al 80%) de 8 a 9 veces superiores, en comparación con MK-0431 (véase la figura 1).

Ejemplo experimental 4: Ensayo de DPP-IV *in vivo* (duración de la actividad inhibitora de DPP-IV)

Para investigar los efectos antidiabéticos del compuesto inventivo de fórmula 1, se evaluaron comparativamente la actividad inhibitora de DPP-IV en plasma y la duración de la misma entre MK-0431 y el compuesto inventivo (ejemplo 1), tras la administración de compuestos farmacológicos a ratas SD normales.

10 Para este fin, se dejaron en ayunas animales de laboratorio (ratas SD) durante de 16 a 17 horas antes de los experimentos. El día de experimento, se anestesiaron con éter los animales en ayunas, seguido por canulación aórtica abdominal. Después de eso, se diluyeron MK-0431 y el compuesto inventivo (ejemplo 1) hasta el 0,5% de MC y se administraron a los animales. Antes de la administración del fármaco (0 h) y después de periodos de tiempo designados tras la administración del fármaco, se extrajo sangre en tubos de heparina de 500 µl preparados
15 previamente y se separó el plasma. Se añadieron 50 µl de plasma a cada disolución de reacción (HEPES 0,1 M, pH 7,6, 0,1 mg/ml, Gly-Pro-AMC 50 µM) y se llevó a cabo un estudio cinético durante 5 min para calcular la velocidad de reacción.

20 Como resultado, se encontró que el compuesto inventivo a una dosis de 10 mg/kg conservaba el 90% o más de la actividad inhibitora de DPP-IV hasta 24 horas tras la administración, lo que es una actividad significativamente mayor, tras considerar el hecho de que MK-0431 conservó sólo aproximadamente el 50% de la actividad inhibitora de DPP-IV tras el mismo periodo de 24 horas (véase la figura 2).

Ejemplo experimental 5: Experimentos cinéticos *in vivo*

25 Para medir la semivida *in vivo* del compuesto inventivo de fórmula 1, se administró por vía oral a ratas SD normales (de 8 semanas) MK-0431 y el compuesto inventivo (ejemplos 1, 3 y 12) a una dosis de 10 mg/kg. Se tomaron muestras de sangre de la aorta femoral periódicamente y se midió el tiempo de retención *in vivo* del compuesto original. Como resultado, el compuesto inventivo presentó una semivida (T_{1/2}) *in vivo* superior a la de MK-0431.

[Tabla 1]

	Ejemplo 1	Ejemplo 3	Ejemplo 12	MK-0431
T _{1/2} (horas)	7,9	7,6	5,5	4,8

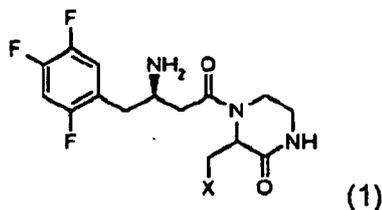
Aplicabilidad industrial

30 Tal como resulta evidente a partir de la descripción anterior, la presente invención permite la producción de un compuesto heterocíclico que contiene un grupo beta-amino, que tiene excelentes efectos inhibidores sobre la actividad de DPP-IV. Además, una composición farmacéutica que comprende el mismo compuesto de la presente invención como principio activo presenta excelente actividad inhibitora de DPP-IV y biodisponibilidad y entonces puede ser útil para la profilaxis o el tratamiento de diversas enfermedades que se considera que están provocadas por DPP-IV, tales como diabetes y obesidad.

35

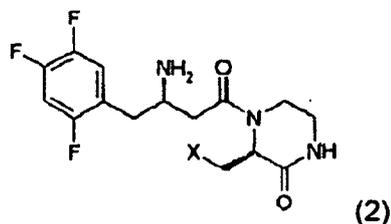
REIVINDICACIONES

1. Compuesto representado por la fórmula 1:



- 5 en la que X es OR₁, SR₁ o NR₁R₂ en los que R₁ y R₂ son independientemente alquilo C₁ a C₅, y R₁ y R₂ de NR₁R₂ pueden formar un anillo de 5 a 7 miembros con la inclusión de un heteroátomo O; o un estereoisómero, sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o solvato del mismo.

2. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto está representado por la fórmula 2:



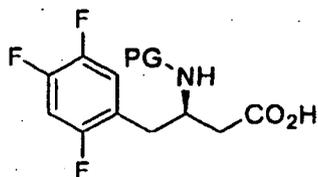
- 10 en la que X es tal como se define en la reivindicación 1; o un estereoisómero, sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o solvato del mismo.

3. Compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

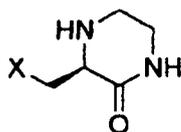
- 1) clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(metoximetil)piperazin-2-ona;
- 2) clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(etoximetil)piperazin-2-ona;
- 3) clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(isopropoximetil)piperazin-2-ona;
- 15 4) clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 5) clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(ciclopentiloximetil)piperazin-2-ona;
- 6) diclorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(dietilamino)metil]piperazin-2-ona;
- 7) diclorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(etilmetilamino)metil]piperazin-2-ona;
- 8) diclorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(morfolinometil)piperazin-2-ona;
- 20 9) clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butiltiometil)piperazin-2-ona;
- 10) clorhidrato de (S)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 11) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 12) tartrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 13) citrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 25 14) fosfato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 15) acetato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 16) malato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 17) succinato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona; y
- 18) adipato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona.
- 30 4. Método para preparar un compuesto representado por la fórmula 2 según la reivindicación 2, que comprende:

1) hacer reaccionar un compuesto de fórmula 3 que tiene un grupo beta-amino con un compuesto heterocíclico sustituido de fórmula 4 en presencia de 1-hidroxibenzotriazol (HOBT), 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) y amina terciaria para preparar de ese modo un compuesto de fórmula 5, y

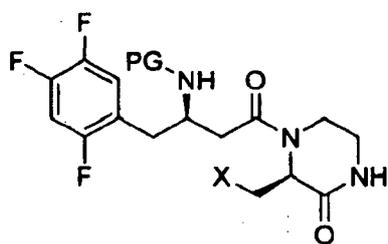
5 2) tratar el compuesto de fórmula 5 obtenido de la etapa (1) con un ácido para preparar un compuesto de fórmula 2:



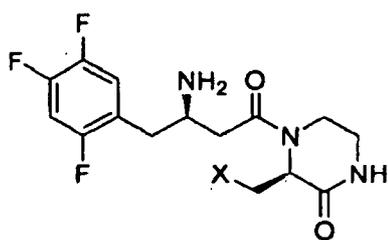
(3)



(4)



(5)



(2)

10 en las que X es OR₁, SR₁ o NR₁R₂ en los que R₁ y R₂ son independientemente alquilo C₁ a C₅, y R₁ y R₂ de NR₁R₂ pueden formar un anillo de 5 a 7 miembros con la inclusión de un heteroátomo O.

5. Composición farmacéutica para la prevención y el tratamiento de diabetes u obesidad, que comprende un compuesto según la reivindicación 1 representado por la fórmula 1 o un estereoisómero, sal farmacéuticamente aceptable, hidrato o solvato del mismo como principio activo.

15 6. Composición según la reivindicación 5, en la que el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

1) clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;

2) clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(etoximetil)piperazin-2-ona;

3) clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(isopropoximetil)piperazin-2-ona;

4) clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(metoximetil)piperazin-2-ona;

20 5) clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(ciclopentiloximetil)piperazin-2-ona;

6) diclorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(dietilamino)metil]piperazin-2-ona;

7) diclorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(etilmetilamino)metil]piperazin-2-ona;

8) diclorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(morfolinometil)piperazin-2-ona;

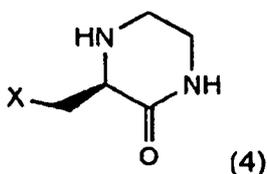
9) clorhidrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butiltiometil)piperazin-2-ona;

25 10) clorhidrato de (S)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;

11) (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;

12) tartrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;

- 13) citrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 14) fosfato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 15) acetato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 16) malato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 5 17) succinato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona; y
- 18) adipato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona.
7. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, para su uso en un método de tratamiento o prevención de diabetes u obesidad en un mamífero.
8. Uso de una composición farmacéutica que comprende el compuesto según una cualquiera de las
- 10 10. reivindicaciones 1 a 3, para la preparación de un medicamento para la prevención y el tratamiento de diabetes u obesidad.
9. Método según la reivindicación 4, en el que el PG es Boc.
10. Compuesto representado por la fórmula 4, usado para preparar un compuesto de fórmula 2 según la reivindicación 2:



- 15 en la que X es OR₁, SR₁ o NR₁R₂ en los que R₁ y R₂ son independientemente alquilo C₁ a C₅, y R₁ y R₂ de NR₁R₂ pueden formar un anillo de 5 a 7 miembros con la inclusión de un heteroátomo O.
11. Compuesto según la reivindicación 10, en el que X se selecciona del grupo que consiste en terc-butoxilo, metoxilo, etoxilo, isopropoxilo, ciclopentiloxilo, dietilamino, etilmetilamino, morfolino y terc-butiltio.
- 20 12. Compuesto según la reivindicación 10, en el que X es terc-butoxilo.

Fig. 1

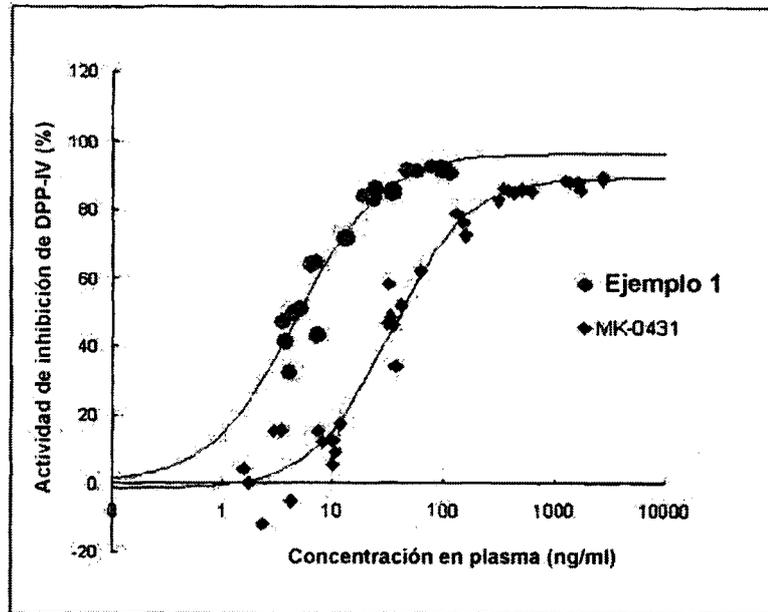


Fig. 2

