

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 571 217**

51 Int. Cl.:

A61K 47/48 (2006.01)

C07K 5/02 (2006.01)

C07K 7/02 (2006.01)

A61K 38/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.09.2009 E 09812753 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.02.2016 EP 2343973**

54 Título: **Profármacos de sitagliptina**

30 Prioridad:

12.09.2008 IN MU19342008

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

24.05.2016

73 Titular/es:

**CADILA PHARMACEUTICALS LTD. (100.0%)
"Cadila Corporate Campus" Sarkhej-Dholka Road
Bhat, Ahmedabad 382 210 GUJ, IN**

72 Inventor/es:

**KHAMAR, BAKULESH MAFATLAL;
CHANDAN, SINGH y
MODI, RAJIV INDRAVADAN**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones :

Véase nota informativa (Remarks) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 571 217 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).

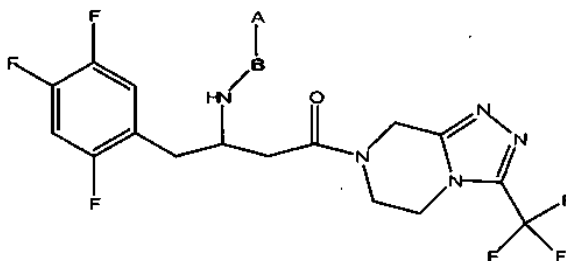
DESCRIPCIÓN

Profármacos de sitagliptina

Campo de la invención

5

La invención se refiere a nuevos compuestos antidiabéticos que tienen la fórmula,



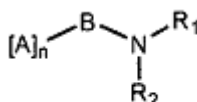
10 en la que

A es un péptido que tiene de 1 a 10 aminoácidos
y B es un enlace peptídico;

15 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Los compuestos incluyen sus estereoisómeros y composiciones que contienen los compuestos mencionados anteriormente como principios farmacéuticamente activos y procesos para la preparación de los mismos. En el presente documento se desvelan compuestos de fórmula I.

20



Fórmula I

en la que,

25 A es péptido
B es enlace peptídico entre péptido y amina sustituida.
R₁, y R₂ son como se definen en la memoria descriptiva.

Antecedentes de la invención

30

En los mamíferos están presentes diversas amino peptidasas y catalizan la liberación secuencial de peptidasa de péptidos tales como, piroglutamil aminopeptidasa y prolilaminpeptidasa además de dipeptidil peptidasa. La familia de la dipeptidil peptidasa incluye DP II, DP-IV, DP VIII, DP IX. (Curr. Opin. Chem. Biol. 2003, 7, 496). Los compuestos recién sintetizados proporcionan una actividad de inhibición de DP-IV y tasa de direccionamiento suficientemente rápidas. La enzima DP-IV es una parte de la región de superficie CD26 asociada con regulación inmune, transducción de señales y apoptosis. La enzima DP-IV funciona como un supresor en el desarrollo de cáncer y tumores. DP-IV también desempeña un papel importante en el metabolismo de la glucosa y es responsable de la degradación de incretinas tales como péptido 1 similar al Glucagón (GLP-1). GLP-1 es una hormona incretina secretada por células L intestinales como respuesta a la ingesta de alimentos. La forma activa de GLP-1 tiene 30 aminoácidos peptídicos, que estimula la liberación de insulina, inhibe la liberación de glucagones, y ralentiza el vaciado gástrico, cada uno un beneficio en el control de la homeostasis de la glucosa en pacientes con diabetes tipo II. La activación de GLP-1 se inactiva rápidamente por DP-IV en plasma que escinde un dipéptido a partir de un N-terminal. (Eur. J. Biochem., 1993, 214, 829 y Endocrinology 1995, 136, 3585). Los inhibidores de DP-IV ofrecen varias ventajas potenciales con respecto a las terapias existentes, incluyendo disminución del riesgo de hipoglucemia, pérdida potencial de peso, y el potencial para regeneración y diferenciación de células β pancreáticas. DP-IV también se une a la enzima adenosina desaminasa de forma específica y con alta afinidad.

45

La casomorfina es un tipo de péptido en particular que es un fragmento de proteína. La casomorfina se puede derivar de la digestión de las proteínas caseína en leche y productos lácteos. Las casomorfinas más importantes de la leche bovina son las liberadas a partir de la digestión de β -casomorfinas, en ocasiones denominadas BCM seguido por una cifra que indica el número de aminoácidos en la secuencia. La liberación potencial de β -

50

casomamorfina varía entre especies y razas. La casomorfina es una serie de péptidos que varían de 3 a 8 aminoácidos. En la presente invención, los inventores exploran la síntesis de derivados étlicos basados en la secuenciación de aminoácidos de péptidos de Casomorfina. Los diferentes derivados de péptidos que varían de 2 a 20 aminoácidos se sintetizan usando derivados de amina sustituidos.

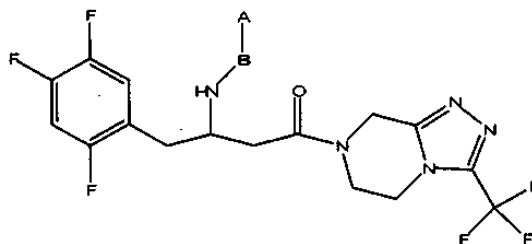
5 Se ha informado de varios inhibidores de DP-IV que poseen estructura de prolina modificada como resto P2 como se ilustra a continuación. (*Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008, 16, 190)

- 10 • En 2005, Sakashita *et al.*, desvelaron que la L-prolil-(2S)-2-cianopirrolidina (sustituida en la posición 4) mostraba un aumento de inhibición de la actividad de DP-IV con respecto a análogos insaturados y que la L-prolil-(2S)-2-cianopirrolidina (tituido en la posición 4β) presentaba una actividad 20 veces más fuerte que la del isómero 4a correspondiente. (*Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2005, 15, 2441)
- 15 • Tsai *et al.*, desvelaron que la (4βcarbamoil)-L-prolil-(2S)-2-cianopirrolidina mostraba un aumento de la actividad de inhibición de DP-IV, mientras que la (5,5-gem-dimetil)-L-prolil-(2S)-2-cianopirrolidina mostraba una disminución de 500 veces la inhibición de DP-IV con respecto al análogo sin sustituir. (*Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2006, 16, 3268)
- 20 • Heins, J. *et al.*, desvela que DP-IV es una serina proteasa que catalizan la escisión de dipéptidos desde el extremo N-terminal de proteínas con la secuencia H-X-Pro-Y o H-X-Ala-Y (en las que X, Y = cualquier aminoácido, Y ≠ Pro.) (*Biochim. Biophys. Acta.*, 1988, 954, 161).

La sitagliptina se desvela en el documento US 7326708 B2.

Sumario de la invención

25 El objetivo de la invención es proporcionar nuevos compuestos que tienen la fórmula,



en la que

30 A es un péptido que tiene de 1 a 10 aminoácidos
y B es un enlace peptídico;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos y enantiómeros de los mismos que tienen propiedades de inhibición de la enzima dipeptidil peptidasa IV (inhibidores de DP-IV) suficientemente rápida y tasa de direccionamiento.

La invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos y el uso de estos compuestos junto con su composición en la prevención o tratamiento de enfermedades asociadas con la enzima DP-IV.

40 Breve descripción de las figuras

Fig. 01: Liberación cinética por la enzima DPP IV de un compuesto de interés a partir de un compuesto de fórmula 5.

45 Fig. 02: Liberación cinética por la enzima DPP IV de un compuesto de interés a partir de un compuesto de fórmula 8.

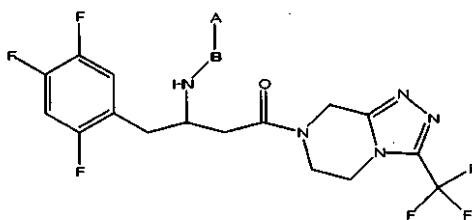
Fig. 03: Liberación cinética por la enzima DPP IV de un compuesto de interés a partir de un compuesto de fórmula 13.

50 Fig. 04: Liberación cinética por la enzima DPP IV de un compuesto de interés a partir de un compuesto de fórmula 15.

Descripción de la invención

55 Los derivados peptídicos recién sintetizados se pueden usar en el tratamiento de diversos trastornos, especialmente trastorno metabólico asociado con diabetes mellitus.

En el presente documento, los inventores desvelan una serie de nuevos compuestos que son potenciales inhibidores de proteasas. La invención se refiere a nuevos derivados peptídicos que tienen la fórmula,

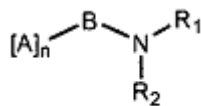


5 en la que,

A es un péptido que tiene de 1 a 10 aminoácidos
y B es un enlace peptídico;

10 o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En el presente documento se desvelan compuestos de fórmula I,



Fórmula I

15 en la que,

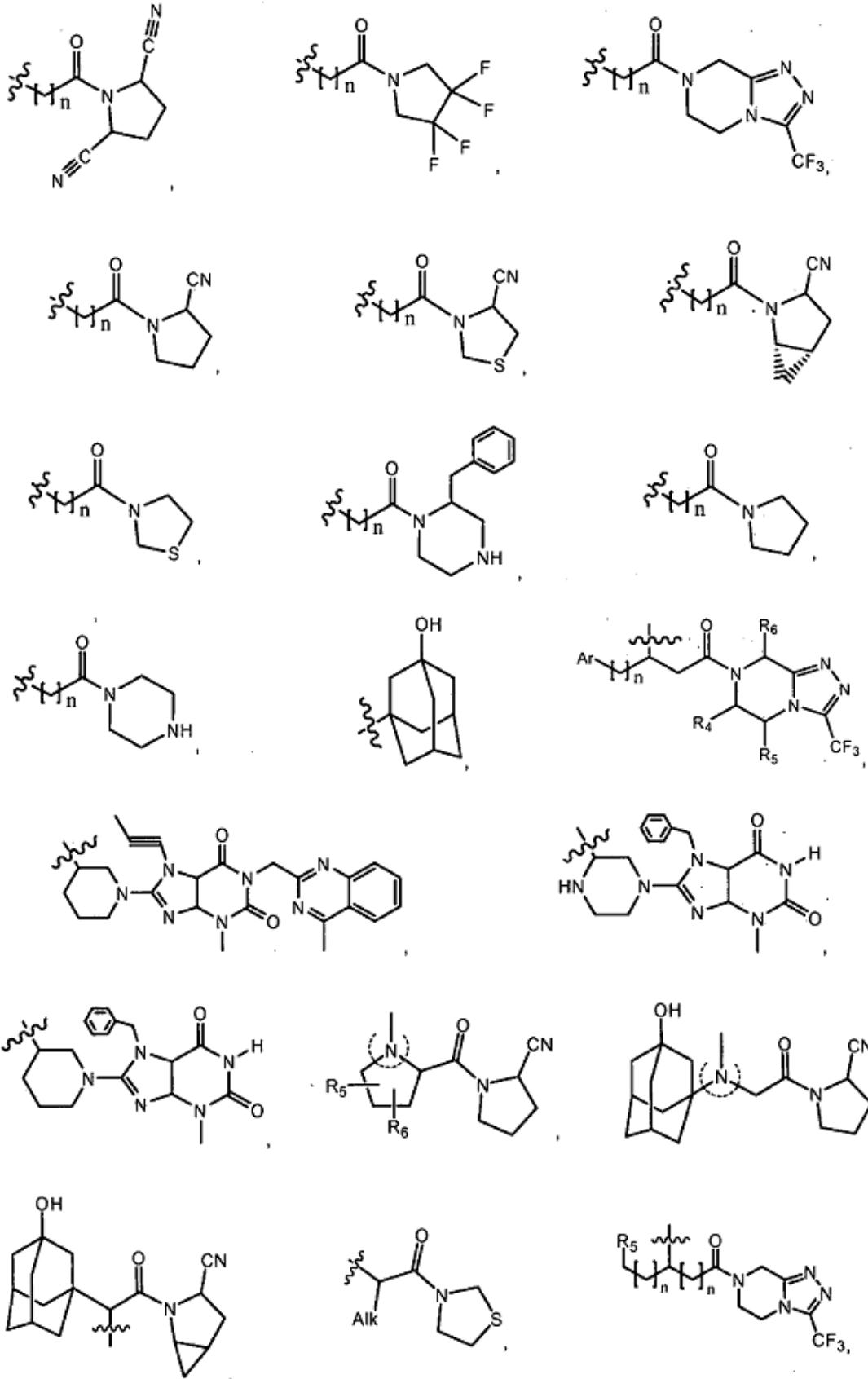
A es péptido;

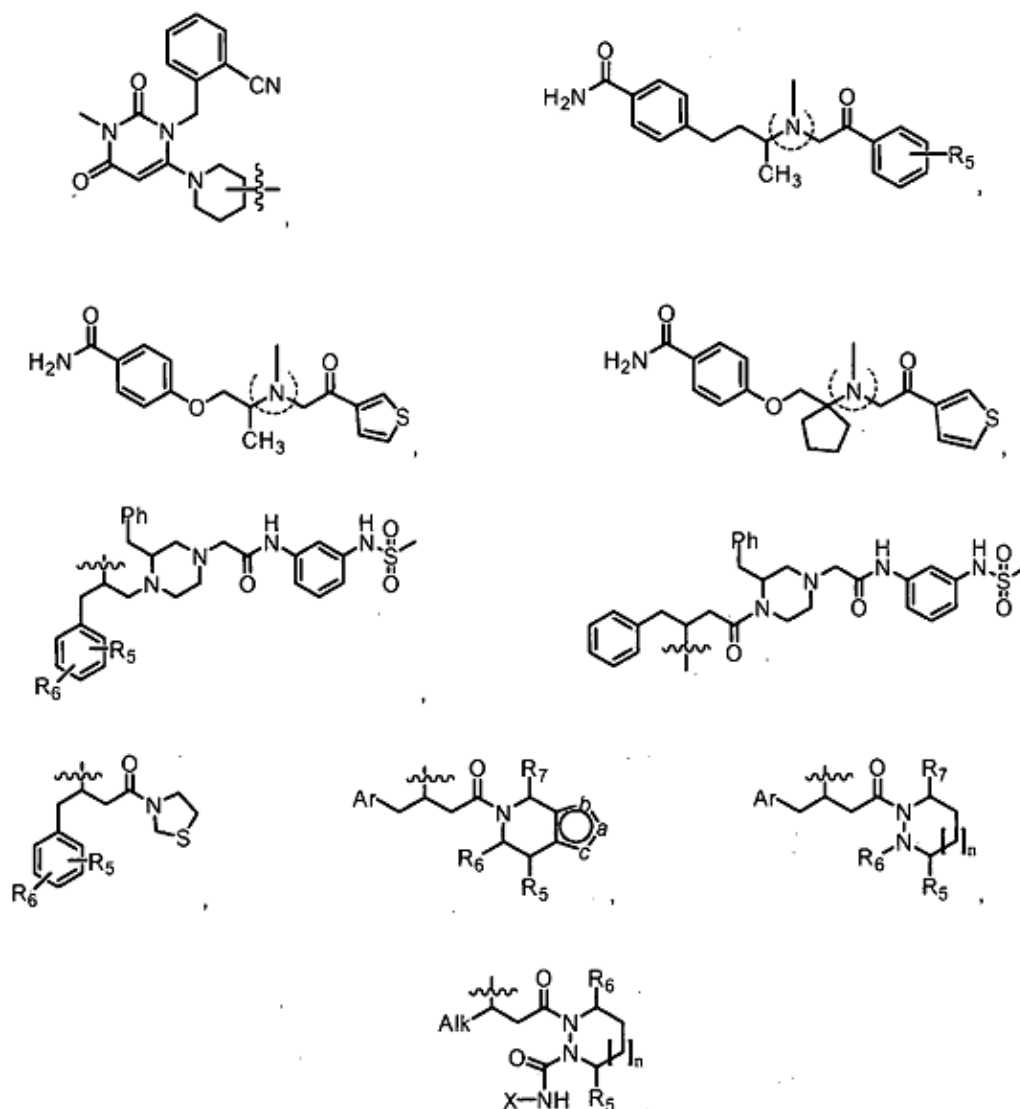
A se define adicionalmente como R₃-R₄ en el que R₃ y R₄ están juntos o se definen de forma independiente como péptidos que tienen aminoácidos que varían de 1 a 10.

20 Los aminoácidos para la formación de péptidos se seleccionan entre análogos de aminoácidos de origen natural o sintético. Los péptidos preferentes se forman usando aminoácidos seleccionados entre glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, fenilalanina, metionina, triptófano, lisina, glutamina, ácido glutámico, serina, prolina, cisteína, tirosina, histidina, arginina, asparaginas, ácido aspártico, treonina o mezclas de de aminoácidos de los mismos
B es un enlace peptídico entre péptido y amina sustituida.

25 Desvelado en el presente documento, R₁ y/o R₂ se selecciona independientemente entre alquilo sin sustituir o sustituido; cicloalquilo sin sustituir o sustituido; cicloalquilalcoxi sin sustituir o sustituido; alquilalcoxi C₁₋₆ sin sustituir o sustituido; cicloalcoxi-alquilo sin sustituir o sustituido; alcoxi C₁₋₆-alquilo C₁₋₆; fenilo sin sustituir o sustituido; bencilo sin sustituir o sustituido; alquilo C₁₋₆ halogenado; alcoxi C₁₋₆-alquilo C₁₋₆; cicloalcoxi-alquilo C₁₋₆; arilo sin sustituir o sustituido; compuesto de biciclo C₄-C₁₅ sin sustituir o sustituido; heterociclo que puede estar saturado o sin saturar que comprende 1-4 heteroátomos seleccionados independientemente entre N, S y O; estando el heterociclo sin sustituir o sustituido con 1-3 sustituyentes seleccionados independientemente entre oxo; OH; halógeno; alquilo C₁₋₆; y Oalquilo C₁₋₆, en el que alquilo C₁₋₆ y Oalquilo C₁₋₆ son lineales o ramificados y están opcionalmente sustituidos con 1-5 halógenos o

35 R₁ y R₂ en conjunto o de forma independiente se definen como hidrógeno o,





----- indica la presencia de átomo de N en la formación del enlace peptídico de fórmula I.

n es cualquiera entre 0 y 10

5 R₅, R₆, R₇, o Ar son cualquiera de H o alquilo C₁₋₄, -CH₂CF₃, -CH₂CH=CH₂, -CH₂-CON(CH₃)₂, -Ph, -CH₂-Ph, -CH₂-(4-MeO-Ph), -CH₂-(4-Me-Ph), -CH₂-(4-CN-Ph), -CH₂-(2-CF₃Ph), -CH₂-(2-F-Ph), -CH₂-(4-F-Ph), -CH(OH)-(4-F-Ph), -CH₂-(3,5-bisCF₃-Ph), -CH₂-(2-piridilo), -2,4-dicloro-Ph, -(4-MeO-Ph), -(4-Me-Ph), -(4-CN-Ph), -(2-Me-Ph), -(2-Cloro-Ph), -(2-cloro-4-MeO-Ph), -(2-cloro-4-CN-Ph), -Naftailo, -(2-F-Ph), -(2,4-di-F-Ph), -(2,4,5-tri-F-Ph),

10 a, o b, o c se selecciona independientemente entre N, S, O, C, y sales farmacéuticamente aceptables. Se incorporan enantiómeros, al proceso para la preparación de compuestos de acuerdo con la invención, a composición farmacéutica que los contiene y a su uso como principios activos medicinales.

15 Como se usa en el presente documento, se pueden aplicar las siguientes definiciones.

15 "Alquilo" así como otros grupos que tienen el prefijo "Alc", tales como alcoxi y alcanóilo, se refiere a cadenas de carbono que pueden ser lineales o ramificadas, y combinaciones de los mismos, a menos que la cadena de carbono se defina de otro modo. Algunos ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec- y terc-butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, y similares. Cuando se especifica ningún número de átomos de carbono, se entiende que es C₁₋₆.

25 "Cicloalquilo" así como otros grupos que tienen el prefijo "alc", tales como alcoxi y alcanóilo, se refiere al número especificado de átomos de carbono permitido, por ejemplo, de C₃₋₁₀, "Cicloalquilo" es un subconjunto de alquilo y se refiere a anillo carbocíclico saturado que tiene un número especificado de átomos de carbono. Algunos ejemplos de cicloalquilo incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, y similares. Un grupo

cicloalquilo por lo general es monocíclico a menos que se indique de otro modo. Los grupos cicloalquilo están saturados a menos que se indique de otro modo. No se limitan a combinaciones de cadenas de alquilo lineal o ramificado combinadas junto con estructuras de cicloalquilo.

5 El término "alcoxi" se refiere a alcóxidos de cadena lineal o ramificada del número de átomos de carbono especificado (por ejemplo, alcoxi C₁₋₁₀), o cualquier número dentro de este intervalo [es decir, metoxi (MeO-), etoxi, isopropoxi, etc.].

10 El término "alquiltio" se refiere a alquilsulfuros de cadena lineal o ramificada del número de átomos de carbono especificado (por ejemplo, alquiltio C₁₋₁₀), o cualquier número dentro de este intervalo [es decir, metiltio (MeS-), etiltio, isopropiltio, etc.].

15 El término "alquilamino" se refiere a alquilaminas de cadena lineal o ramificada del número de átomos de carbono especificado (por ejemplo, alquilamino C₁₋₆), o cualquier número dentro de este intervalo [es decir, metilamino, etilamino, isopropilamino, t-butilamino, etc.].

20 El término "alquilsulfonilo" se refiere a alquilsulfonas de cadena lineal o ramificada del número de átomos de carbono especificado (por ejemplo, alquilsulfonilo C₁₋₆), o cualquier número dentro de este intervalo [es decir, metilsulfonilo (MeSO₂-), etilsulfonilo, isopropilsulfonilo, etc.].

El término "alquiloxicarbonilo" se refiere a ésteres de cadena lineal o ramificada de un derivado de ácido carboxílico de la presente invención del número de átomos de carbono especificado (por ejemplo, alquiloxicarbonilo C₁₋₆), o cualquier número dentro de este intervalo [es decir, metiloxicarbonilo (MeOCO-), etiloxicarbonilo, o butiloxicarbonilo].

25 "Halógeno" o "Halo" se refiere a flúor, cloro, bromo e yodo. Por lo general son preferentes cloro y flúor. El flúor es el más preferente cuando los halógenos están sustituidos en un grupo alquilo o alcoxi (por ejemplo, CF₃O y CF₃CH₂O).

"Ariilo" se refiere a un sistema de anillo aromático mono- o policíclico que contiene átomos de carbono en el anillo. Los arilos preferentes son sistemas de anillos aromáticos de 6-10 miembros monocíclicos o bicíclicos.

30 "Heterociclo" y "heterociclilo" se refieren a anillos o sistemas de anillos no aromáticos saturados o insaturados que contienen al menos un heteroátomo seleccionado entre O, S y N, incluyendo adicionalmente las formas oxidadas de azufre, en particular SO y SO₂. Algunos ejemplos de heterociclos incluyen tetrahidrofurano (THF), dihidrofurano, 1,4-dioxano, morfolina, 1,4-ditiano, piperazina, piperidina, 1,3-dioxolano, imidazolidina, imidazolina, pirrolina, pirrolidina, tetrahidropirano, dihidropirano, oxatolano, ditiolano, 1,3-dioxano, 1,3-ditiano, oxatiano, tiomorfolina, y similares.

35 "Heteroarilo" se refiere a un heterociclo aromático o parcialmente aromático que contiene al menos un heteroátomo en el anillo seleccionado entre O, S y N. Los heteroarilos también incluyen heteroarilos fusionados con otros tipos de anillos, tales como arilos, cicloalquilos y heterociclos que no son aromáticos. Algunos ejemplos de grupos heteroarilo incluyen pirrolilo, isoxazolilo, isotiazolilo, pirazolilo, piridinilo, 2-oxo-(1H)-piridinilo (2-hidroxi-piridinilo), oxazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, tiadiazolilo, tiazolilo, imidazolilo, triazolilo, tetrazolilo, furilo, triazinilo, tienilo, pirimidinilo, pirazinilo, benzoisoxazolilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzotiadiazolilo, dihidrobenzofuranilo, indolinilo, piridazinilo, indazolilo, isoindolilo, dihidrobenzotienilo, indolizínilo, cinolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, naftiridinilo, carbazolilo, benzodioxolilo, quinoxalinilo, purinilo, furazanilo, isobencifuranilo, benzoimidazolilo, benzofuranilo, benzotienilo, quinolilo, indolilo, isoquinolilo, dibenzofuranilo, imidazo[1,2-a]piridinilo, [1,2,4-triazolo][4,3-a]piridinilo, pirazolo[1,5-a]piridinilo, [1,2,4-triazolo][1,5-a]piridinilo, 2-oxo-1,3-benzoxazolilo, 4-oxo-3H-quinazolinilo, 3-oxo-[1,2,4]-triazolo[4,3-a]-2H-piridinilo, 5-oxo-[1,2,4]-4H-oxadiazolilo, 2-oxo-[1,3,4]-3H-oxadiazolilo, 2-oxo-1,3-dihidro-2H-imidazolilo, 3-oxo-2,4-dihidro-3H-1,2,4-triazolilo, y similares. Para grupos heterociclilo y heteroarilo, están incluidos anillos y sistemas de anillos que contienen de 3-15 átomos, que forman 1-3 anillos.

40 Tanto arilo como heteroarilo en aril-alcoxi C₁₋₆, aril-alquilo C₁₋₆ y similares es por ejemplo, fenilo, naftilo que está sin sustituir o mono, di- o tri-sustituido con lineal o ramificado o sus alquilo halogenado en 1-5, halógeno, trifluorometilo, trifluorometiloxi, pentafluorometilo, pentafluorometiloxi y/o trifluoroetilo sin sustituir o sustituidos.

55 El compuesto bicíclico es, por ejemplo, compuesto bicíclico de C₄ a C₂₅ miembros, preferentemente compuesto bicíclico de 5, 6, 7, 8, 9, 10 miembros que está sin sustituir o sustituido con heterociclo o pueden incluir cualquiera de los grupos funcionales posibles. La posible sustitución en el compuesto de fórmula I o sus análogos contiene cualquiera de hidrógeno, OH, carboxi, halógeno, amino, amido, ciano, ester, cloruro de ácido, ácido carboxílico, aldehído, éter, anhídrido, acetilo, acetoxi, fenilo sustituido, bencilo sustituido.

60 La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales preparadas a partir de bases o ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables que incluyen bases inorgánicas u orgánicas y ácidos inorgánicos u orgánicos. Algunas sales derivadas de bases inorgánicas incluyen aluminio, amonio, calcio, cobre, férrica, ferrosa, litio, magnesio, sales mangánicas, manganosas, potasio, sodio, cinc, y similares. Las sales de amonio, calcio, magnesio, potasio, y sodio son particularmente preferentes. Las sales en forma sólida pueden existir en más de una estructura cristalina, y también pueden estar en forma de hidratos. Algunas sales derivadas de bases no tóxicas orgánicas

farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas, y resinas de intercambio iónico básicas, N,N'-dibenciletilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etil-morfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromo, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina, y similares.

Cuando el compuesto de la presente invención es básico, las áreas se pueden preparar a partir de ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables, incluyendo ácidos inorgánicos y orgánicos. Tales ácidos incluyen ácido acético, benzenosulfónico, benzoico, canforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, fumárico, glucónico, glutámico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, múxico, nítrico, pamoico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluenosulfónico, y similares. Son particularmente preferentes los ácidos cítrico, bromhídrico, clorhídrico, maleico, fosfórico, sulfúrico, fumárico, tartárico y similares.

Se entenderá que, como se usa en el presente documento, las referencias a los compuestos de fórmula I también pretenden incluir las sales farmacéuticamente aceptables.

Como observan los expertos en la materia, halo o halógeno, como se usan en el presente documento, pretenden incluir flúor, cloro, bromo y yodo. De forma análoga, C₁₋₈, como en alquilo C₁₋₈ se define para identificar el grupo que tiene 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 o 8 carbonos en una disposición lineal o ramificada, de modo que alquilo C₁₋₈ incluye de forma específica metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, terc-butilo, pentilo, hexilo, heptilo y octilo. De forma análoga, C₀, como en alquilo C₀ se define para identificar la presencia de un enlace covalente directo. Un grupo que se designa como sustituido independientemente con sustituyentes puede estar sustituido independientemente con múltiples números de tales sustituyentes.

Los compuestos de la presente invención pueden contener uno o más centros asimétricos y por lo tanto pueden aparecer como racematos y mezclas racémicas, enantiómeros individuales, mezclas diastereoméricas y diastereómeros individuales. Los compuestos de la presente invención tienen un centro asimétrico en el átomo de carbono beta. Algunos centros asimétricos adicionales pueden estar presentes dependiendo de la naturaleza de los diversos sustituyentes en la molécula. Cada uno de tales centros asimétricos producirá independientemente dos isómeros ópticos y se pretende que todos los posibles isómeros ópticos y diastereómeros en mezclas y como compuestos puros o parcialmente purificados estén incluidos dentro del alcance de la presente invención. La presente invención pretende incluir todas las formas isoméricas de estos compuestos.

El compuesto descrito en el presente documento puede contener dobles enlaces olefínicos, y, a menos que se indique de otro modo, pretende incluir los isómeros geométricos E y Z.

El compuesto descrito en el presente documento puede existir como tautómeros. Los tautómeros individuales así como mezclas de los mismos están incluidos con los compuestos de la presente invención.

La Fórmula de la reivindicación 1 muestra la estructura de la clase de compuestos sin estereoquímica preferente.

Las síntesis independientes de estos derivados peptídicos o sus separaciones cromatográficas se pueden conseguir como se sabe en la técnica mediante la modificación apropiada de la metodología desvelada en el presente documento. Su estereoquímica absoluta se puede determinar mediante la cristalografía de rayos X de productos cristalinos o compuestos intermedios cristalinos que se derivatizan, si fuera necesario, con un reactivo que contiene un centro asimétrico de configuración absoluta conocida.

Si se desea, las mezclas racémicas de los compuestos se pueden separar preferentemente de modo que los enantiómeros individuales se aísla. La separación se puede realizar con métodos bien conocidos en la técnica, tales como el acoplamiento de una mezcla racémica de compuestos a un compuesto enantioméricamente puro para formar una mezcla diastereomérica, seguido de separación de los diastereómeros individuales con métodos convencionales, tales como cristalización fraccionada o cromatografía. La reacción de acoplamiento a menudo es la formación de sales usando un ácido o base enantioméricamente puro. Los derivados diastereoméricos se pueden convertir a continuación en los enantiómeros puros mediante escisión del resto quiral añadido. La mezcla racémica de los compuestos también se puede separar directamente mediante métodos de cromatografía usando fases estacionarias quirales, métodos que se conocen bien en la técnica.

Como alternativa, cualquier enantiómero de un compuesto may se puede obtener mediante síntesis estereoselectiva usando materiales de partida o reactivos ópticamente puros de configuración conocida con métodos bien conocidos en la técnica.

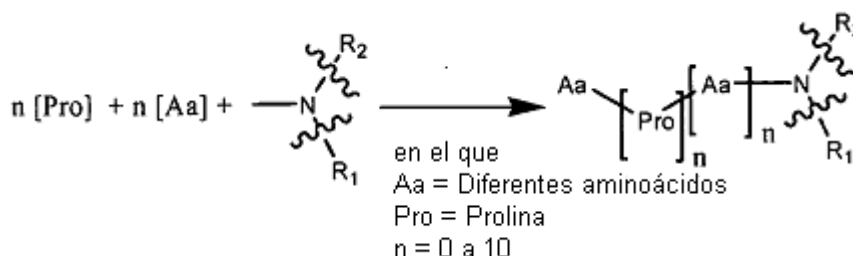
El término "composición" como se usa en el presente documento pretende incluir un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulte, directa o indirectamente, de la combinación de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas. Tal término, con respecto a la composición farmacéutica, pretende incluir un producto que comprende el principio o principios

activos, y el ingrediente o ingredientes inertes que forman el vehículo, así como cualquier producto que resulte, directa o indirectamente, de la combinación, formación de complejos o agregación de cualquiera de dos o más de los ingredientes, o de la disociación de uno o más de los ingredientes, o de otros tipos de reacciones o interacciones de uno o más de los ingredientes. Por consiguiente, las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen cualquier composición preparada por mezcla de un compuesto de la presente invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Por "farmacéuticamente aceptable" se hace referencia al vehículo, diluyente o excipiente que debe ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no debe ser perjudicial para el receptor del mismo.

- 5
- 10 Se debería entender en las expresiones "administración de" y/o "administración de un" compuesto hacen referencia a proporcionar un compuesto de la invención al individuo con necesidad de tratamiento.

La ruta de síntesis general para la preparación de compuestos que tienen la fórmula I implica el seguimiento del esquema general en el que el esquema se usa a modo de ejemplo con los aminoácidos seleccionados como prolina con diferentes aminoácidos para formar péptidos. Los compuestos peptídico sintetizados en el presente documento usando diferentes aminoácidos contienen enlace peptídico. El compuesto intermedio peptídico reacciona adicionalmente con diferentes derivados de amina primaria y secundaria para dar el compuesto de fórmula I.

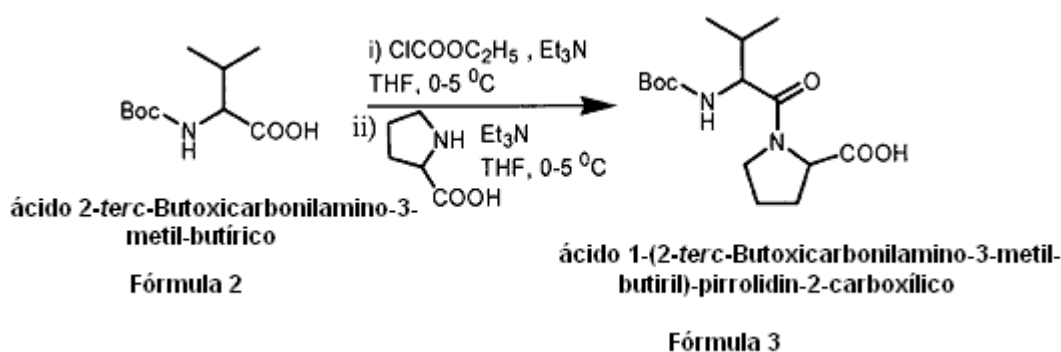
- 15



- 20 el proceso desvelado en el presente documento no se limita a la preparación de compuestos específicos como se preparan en el presente documento sino que se describe en el estado de la técnica general para preparar los compuestos de la presente invención. En el presente documento se desvela un compuesto que se selecciona entre el grupo que consiste en los compuestos desvelados en los siguientes ejemplos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos y diastereómeros individuales de los mismos.
- 25

Ejemplo - 1: Preparación de Clorhidrato de [3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propil]-amida del ácido 1-(2-amino-3-metil-butiril)-pirrolidin-2-carboxílico

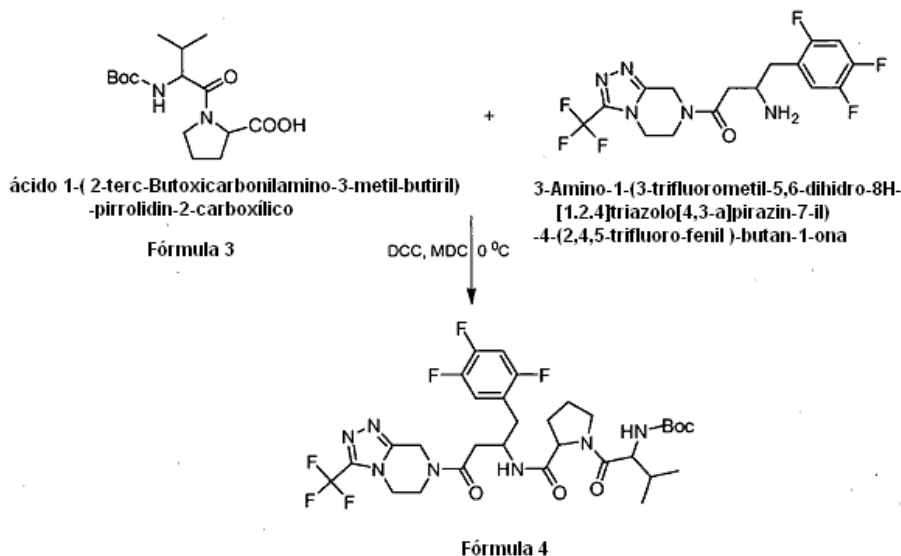
- 30 ETAPA -1: Preparación de ácido 1-(2-terc-butoxicarbonilamino-3-metil-butiril)-pirrolidin-2-carboxílico



- 35 A una solución agitada de N-Boc L-Valina (Compuesto de fórmula 2) [8 g, 0,037 mol] y trietilamina (5,15 ml, 0,037 mol) en THF (120 ml), se añadió cloro formiato de etilo (3,52 ml, 0,037 mol) gota a gota a 0-5 °C. La reacción se agitó a 0 °C durante 15 minutos y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A continuación, la reacción se mantuvo a 0 °C y se añadió la mezcla de trietilamina (10,3 ml, 0,074 mol) y THF (60 ml).

- 40 Por último, se añadió L-Prolina (4,25 g, 0,037 mol) a la mezcla mencionada anteriormente a 0 °C. La reacción se agitó a 0 °C durante 30 minutos y se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Después de agitar, THF se concentró al vacío el residuo se acidificó con HCl 1 N (hasta pH ~ 3). La fase del producto se extrajo con acetato de etilo. Los extractos orgánicos se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron para dar (B). El producto resultante se sometió a cromatografía en columna usando EtoAC / Hexano a 5/5 como eluyente para dar N-Boc Val-Pro (Compuesto de fórmula 3). (Rendimiento = 3,6 g, 31 %)

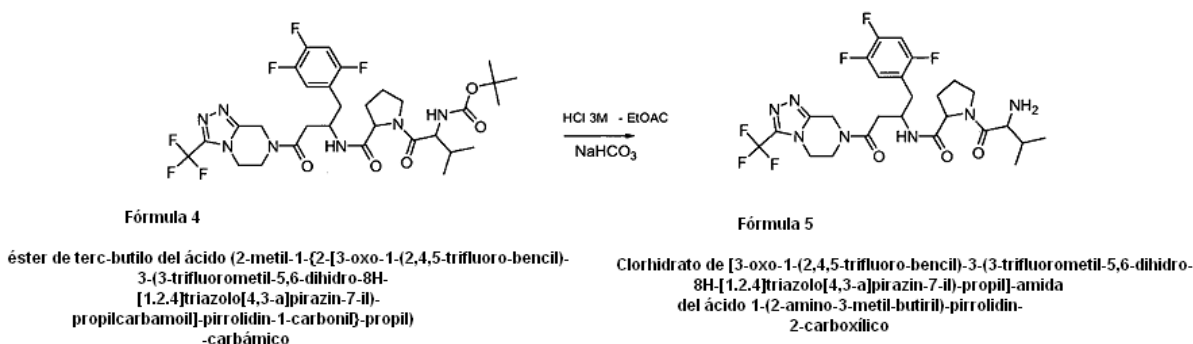
ETAPA - 2: Preparación de éster de terc-butilo del ácido (2-metil-1-{2-(3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propilcarbamoil]-pirrolidin-1-carbonil}-propil)-carbámico (compuesto de fórmula 4)



5 A una solución agitada de N-BoC Val-Pro (Compuesto de fórmula 3) (0,39 g, 1,23 mmol) en MDC (40 ml), se añadió dicitohexil dicarbobiimida (0,4 g, 0,0019 mol) a 0 °C, la mezcla de reacción se agitó durante 5 - 10 minutos a 0 °C. A continuación se añadió 3-Amino-1-(3-(trifluorometil-5,6,7,8-tetrahidro-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-4-(2,4,5-trifluoro-fenil)-butan-1-ona (0,5 g; 0,00123 mol) a esta mezcla a 0 °C. A continuación, la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Tomar la TLC para la finalización de la reacción.

15 La mezcla de reacción se filtró para retirar es derivado de urea de DCC. A continuación, el filtrado se concentró al vacío. Tomar la cromatografía en columna de este compuesto para purificación usando CHCl₃ / MeOH (9/1) como un sistema de disolvente para dar el éster de terc-butilo del ácido (2-Metil-1-{2-[3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propilcarbamoil]-pirrolidina-1-carbonil}-propil)-carbámico (Compuesto de fórmula 4) [0,54 g, rendimiento de un 62 %].

20 ETAPA - 3: Preparación de Clorhidrato de [3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propil]-amida del ácido 1-(2-amino-3-metil-butiril)-pirrolidin-2-carboxílico (Compuesto de fórmula 5)



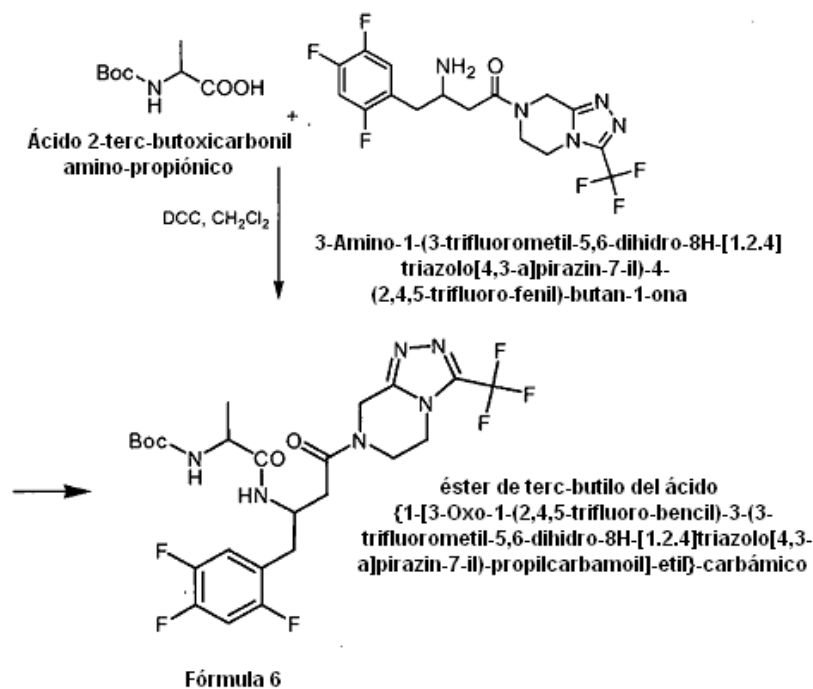
25 A una solución agitada de éster de terc-butilo del ácido (2-metil-1-{2-[3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propilcarbamoil]-pirrolidin-1-carbonil}-propil)-carbámico (Compuesto de fórmula 4) (0,54 g, 0,00077 mol) en acetato de etilo (5 ml), se añadió una solución de HCl 3 M en acetato de etilo (5 ml) a temperatura ambiente. A continuación, la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Tomar la TLC para la finalización de la reacción.

30

A continuación, por último, la mezcla de reacción se concentró al vacío para dar la sal de clorhidrato de [3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propil]-amida del ácido 1-(2-amino-3-metil-butiril)-pirrolidin-2-carboxílico. La sal de ácido clorhídrico del compuesto obtenida de este modo se trata con bicarbonato sódico para dar (Compuesto de fórmula 5). [0,46 g, rendimiento de un 93,88 %].

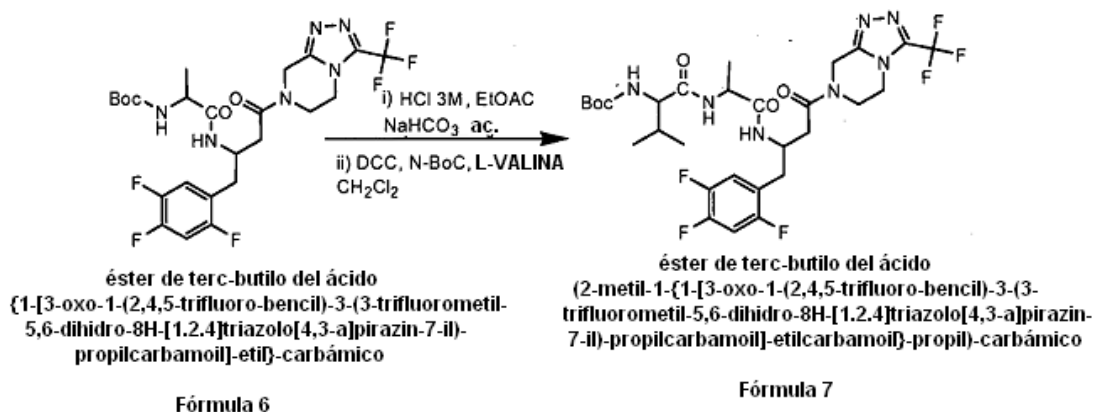
5 Ejemplo - 2: Clorhidrato de 2-amino-3-metil-N-{1-[3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propil]carbamoil}-etil}-butiramida (Compuesto de fórmula 8)

10 ETAPA - 1: Preparación de éster de terc-butilo del ácido {1-[3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propil]carbamoil}-etil}-carbámico (Compuesto de fórmula 8)



15 A una solución agitada de N-BoC-Alanina (1 g, 0,00245 mol) en CH₂Cl₂ (30 ml) se añadió diciohexil dicarbodiimida (1 g, 0,00245 x 1,5 mol) a 0 °C. La mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos a esta mezcla agitada se añadió 3-Amino-1-(3-trifluorometil-5,6,7,8-tetrahidro-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-4-(2,4,5-trifluoro-fenil)-butan-1-ona (1 g, 0,00245 mol) a 0 °C. A continuación, la mezcla de reacción se agitó durante 4 horas a temperatura ambiente. Después de agitar, la diciohexil urea se retiró por filtración y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice usando CH₂Cl₂ / MeOH (9,7 : 0,3) como eluyente para producir éster de terc-butilo del ácido {1-[3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propil]carbamoil}-etil}-carbámico (Compuesto de fórmula 6). [1,3 g, 92 %].

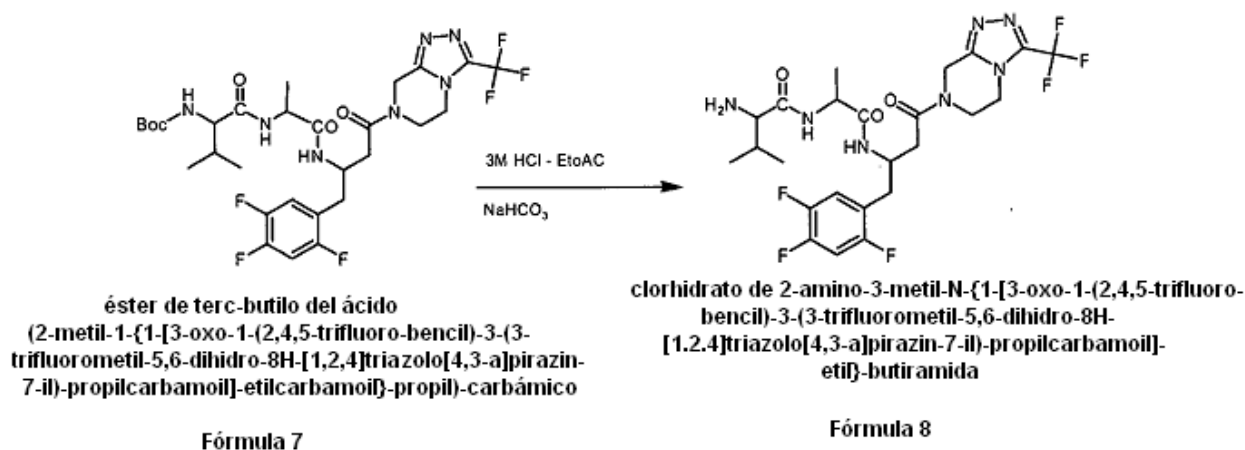
25 ETAPA - 2: Preparación de éster de terc-butilo del ácido (2-metil-1-{1-[3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propil]carbamoil}-etilcarbamoil}-propil)-carbámico (compuesto de fórmula 7)



A un compuesto, éster de terc-butilo del ácido {1-[3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propilcarbamoil]-etil}-carbámico (Compuesto de fórmula 6) (1 g, 0,00173 mol) se añadió HCl 3 M-EtoAC (10 ml) a temperatura ambiente. A continuación, la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Después de agitar, el EtoAC se retiró para obtener la sal de clorhidrato de 2-Amino-N-[3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propil]-propionamida. Por lo tanto, la sal de clorhidrato se disolvió en NaHCO₃ ac. saturado y se extrajo con EtoAC (30 ml x 3). Las fases de EtoAC combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron para obtener (Ala-Sitagliptina, 0,860 g, rendimiento de un 97 %). Por lo tanto, la base libre se usó en la etapa adicional.

A una solución agitada de ácido 2-terc-butoxicarbonilamino-3-metil-butírico (0,390 g, 0,00179 mol) se añadió CH₂Cl₂ (40 ml) a 0 °C. A continuación, la mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos. A esta solución en agitación se añadió 2-Amino-N-[3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propil]-propionamida (0,860 g, 0,00179 mol) a 0 °C. A continuación, la mezcla de reacción se agitó durante una noche. La dicitohexil urea se retiró por filtración y el filtrado se concentró al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice usando CH₂Cl₂ / MeOH (9,7/0,3) como eluyente para producir éster de terc-butilo del ácido (2-metil-1-{1-[3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propilcarbamoil]-etilcarbamoil}-propil)-carbámico (Compuesto de fórmula 7) (Rendimiento = 0,7 g, 58 %)

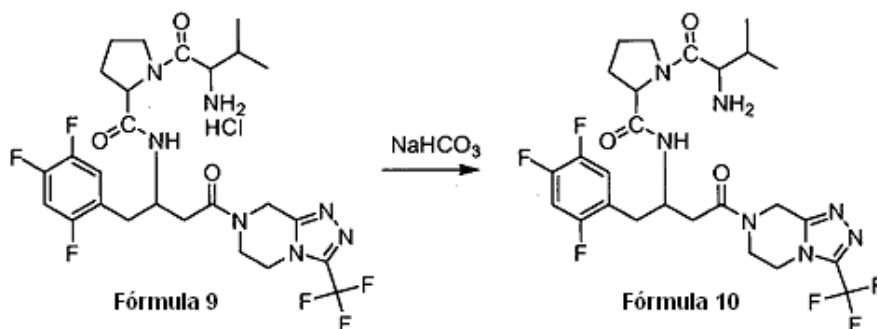
ETAPA - 3: Preparación de clorhidrato de 2-amino-3-metil-N-{1-[3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propilcarbamoil]-etil}-butiramida (Compuesto de fórmula 8)



A un compuesto, éster de terc-butilo del ácido (2-metil-1-{1-[3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propilcarbamoil]-etilcarbamoil}-propil)-carbámico (Compuesto de fórmula 7), (500 mg, 0,00073 moles) se añadió HCl-EtoAC 3 M (10 ml) a temperatura ambiente. A continuación, la mezcla de reacción se agitó durante 1 hora. A continuación, se concentró para obtener el clorhidrato de 2-amino-3-metil-N-{1-[3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propilcarbamoil]-etil}-butiramida (Compuesto de fórmula 8) (430 mg, rendimiento de un 94 %).

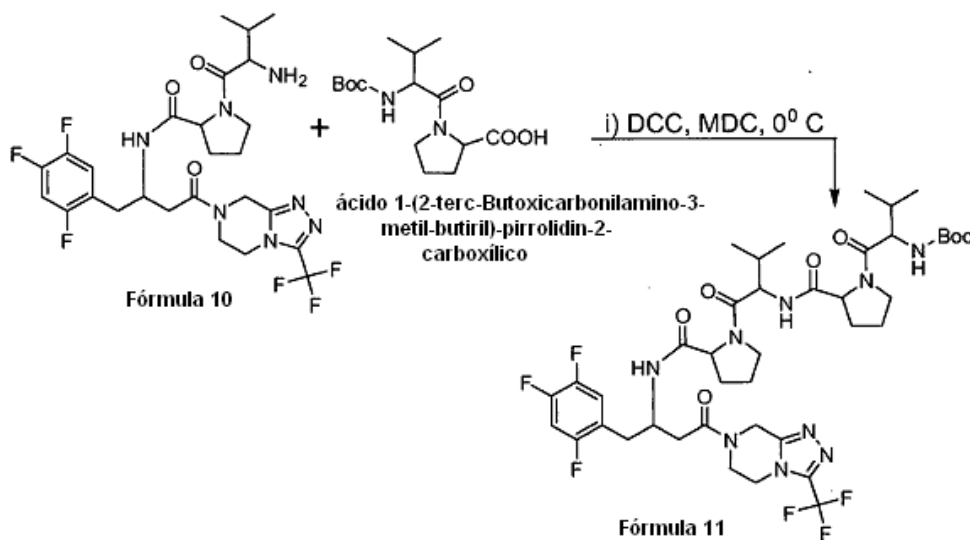
EJEMPLO - 3: [1-(2-[[1-(2-amino-3-metilbutanoil)ciclopentil]carbonilamino]-3-metil-butanoil)-pirrolidin-2-il]-N-{3-oxo-3-[3-(trifluorometil)(1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)]-1-[(2,4,5-trifluorofenil)metil]propil}-carboxamida (Compuesto de fórmula 13)

- 5 ETAPA -1: Preparación de [3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propil]-amida del ácido 1-(2-amino-3-metil-butiril)-pirrolidin-2-carboxílico (compuesto de fórmula 10)



- 10 El clorhidrato de [3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propil]-amida del ácido 1-(2-amino-3-metil-butiril)-pirrolidin-2-carboxílico (Compuesto de fórmula 9) (520 mg, 0,8 mmol) se disolvió en 95 ml de agua. A continuación, una solución saturada de bicarbonato sódico (6 ml) se añadió a esta solución hasta que el pH llegó a ser básico (pH ~ 10) para romper la sal de clorhidrato. A continuación, el compuesto se extrajo con ÉtoAC (3 x 75 ml). Los extractos orgánicos se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para producir la base libre de [3-oxo-1-(2,4,5-trifluoro-bencil)-3-(3-trifluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-propil]-amida del ácido 1-(2-amino-3-metil-butiril)-pirrolidin-2-carboxílico (Compuesto de fórmula 10). (Rendimiento = 480 mg = 98 %).

- 20 ETAPA - 2: Preparación de (terc-butoxi)-N-{1-(metiletil)-2-[2-(N-{1-(metiletil)-2-oxo-2-[2-(N-{3-oxo-3-[3-(trifluorometil)(1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)]-1-[(2,4,5-trifluorofenil)metil]propil]carbamoil]pirrolidinil]etil]carbamoil]-ciclopentil]-2-oxoetil}carboxamida (compuesto de fórmula 11):

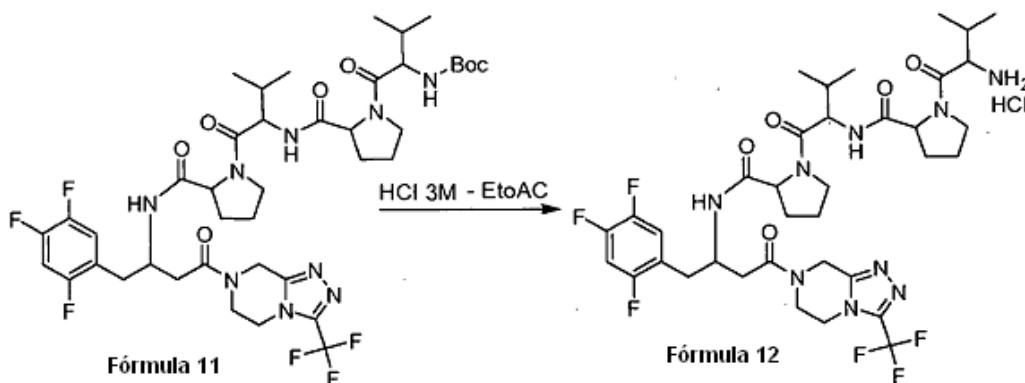


- 25 A una solución agitada de ácido 1-(2-terc-Butoxicarbonilamino-3-metil-butiril)-pirrolidin-2-carboxílico (274 mg, 0,87 mmol) en MDC (20 ml), se añadió diciohexil dicarbodiimida (DCC) (270 mg, 1,3 mmol) y se agitó a 0 °C durante 5-10 minutos. A continuación, la base libre de [3-oxo-1-(2,4,5,-trifluoro-bencil)-3-(3-tri-fluorometil-5,6-dihidro-8H-[1.2.4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-amida del ácido 1-(2-amino-3-metil-butiril)-pirrolidin-2-carboxílico (Compuesto de fórmula 10) (480 mg, 0,79 mmol) se añadió a esta mezcla a 0 °C. A continuación, la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 hora. Tomar la TLC para la finalización de la reacción.

La mezcla de reacción se filtró para retirar el derivado de urea de DCC. A continuación, el filtrado se concentró al vacío. Tomar la cromatografía en columna de este compuesto para purificación usando CH₂Cl₂ / MeOH (9,5/0,5)

como un sistema de disolvente para dar (terc-butoxi)-N-{1-(metiletil)-2-[2-(N-{1-(metiletil)-2-oxo-2-[2-(N-{3-oxo-3-[3-(trifluorometil)(1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)]-1-[(2,4,5-trifluorofenil)metil]propil}carbamoil)pirrolidinil]etil}carbamoil)ciclopentil]-2-oxoetil}carboxamida (Compuesto de fórmula 11) (400 mg, 62 %).

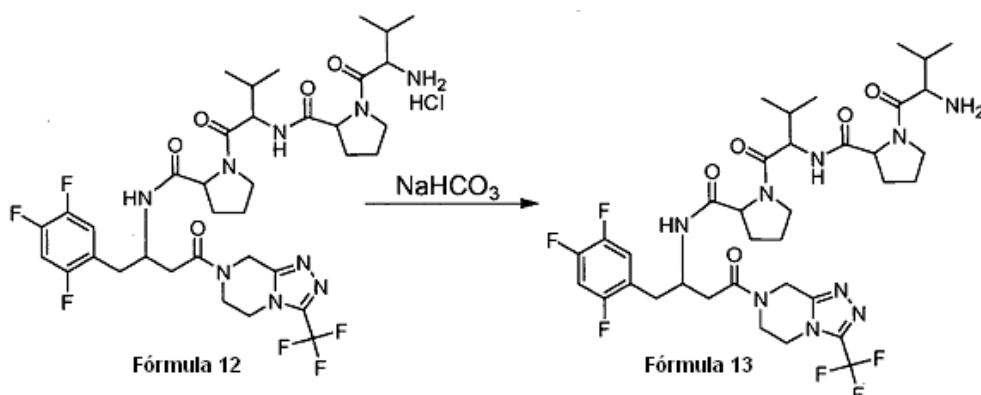
5 ETAPA - 3: Preparación de Clorhidrato de [1-(2-[[1-(2-amino-3-metilbutanoil)ciclopentil]carbonilamino]-3-metilbutanoil)pirrolidin-2-il]-N-{3-oxo-3-[3-(trifluorometil)(1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)]-1-[(2,4,5-trifluorofenil)metil]propil}carboxamida (Compuesto de fórmula 12):



10 A una solución agitada de (terc-butoxi)-N-{1-(metiletil)-2-[2-(N-{1-(metiletil)-2-oxo-2-[2-(N-{3-oxo-3-[3-(trifluorometil)(1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)]-1-[(2,4,5-trifluorofenil)metil]propil}carbamoil)pirrolidinil]etil}carbamoil)ciclopentil]-2-oxoetil}carboxamida (Compuesto de fórmula 11) (400 mg, 0,5 mmol) en acetato de etilo (5 ml), se añadió la solución de HCl 3 M en acetato de etilo (4 ml) a temperatura ambiente. A continuación, la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Tomar la TLC para la finalización de la reacción.

15 A continuación, por último, la mezcla de reacción se concentró al vacío para dar el clorhidrato de [1-(2-[[1-(2-amino-3-metilbutanoil)ciclopentil]carbonilamino]-3-metilbutanoil)pirrolidin-2-il]-N-{3-oxo-3-[3-(trifluorometil)(1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)]-1-[(2,4,5-trifluorofenil)metil]propil}carboxamida (Compuesto de fórmula 12) (0,350 g, rendimiento de un 95 %).

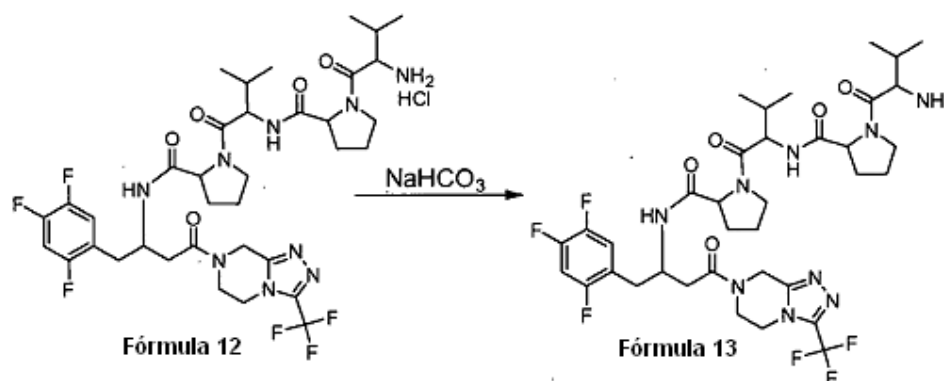
20 Etapa - 4: Clorhidrato de [1-(2-[[1-(2-amino-3-metilbutanoil)ciclopentil]carbonilamino]-3-metilbutanoil)pirrolidin-2-il]-N-{3-oxo-3-[3-(trifluorometil)(1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)]-1-[(2,4,5-trifluorofenil)metil]propil}carboxamida (Compuesto de fórmula 12) a [1-(2-[[1-(2-amino-3-metilbutanoil)ciclopentil]carbonilamino]-3-metilbutanoil)pirrolidin-2-il]-N-{3-oxo-3-[3-(trifluorometil)(1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)]-1-[(2,4,5-trifluorofenil)metil]propil}carboxamida (Compuesto de fórmula 13).



30 El clorhidrato de [1-(2-[[1-(2-amino-3-metilbutanoil)ciclopentil]carbonilamino]-3-metilbutanoil)pirrolidin-2-il]-N-{3-oxo-3-[3-(trifluorometil)(1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)]-1-[(2,4,5-trifluorofenil)metil]propil}carboxamida (Compuesto de fórmula 12) (265 g, 0,32 mmol) se disolvió en agua (5 ml) y a continuación se saturó con NaHCO₃. Por lo tanto, la sal de clorhidrato se rompió. A continuación, el compuesto se extrajo con EtOAc (3 x 75 ml). Los extractos orgánicos se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para producir [1-(2-[[1-(2-amino-3-metilbutanoil)ciclopentil]carbonilamino]-3-metilbutanoil)pirrolidin-2-il]-N-{3-oxo-3-[3-(trifluorometil)(1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)]-1-[(2,4,5-trifluorofenil)metil]propil}carboxamida (Compuesto de fórmula 13) (245 mg, 97 %).

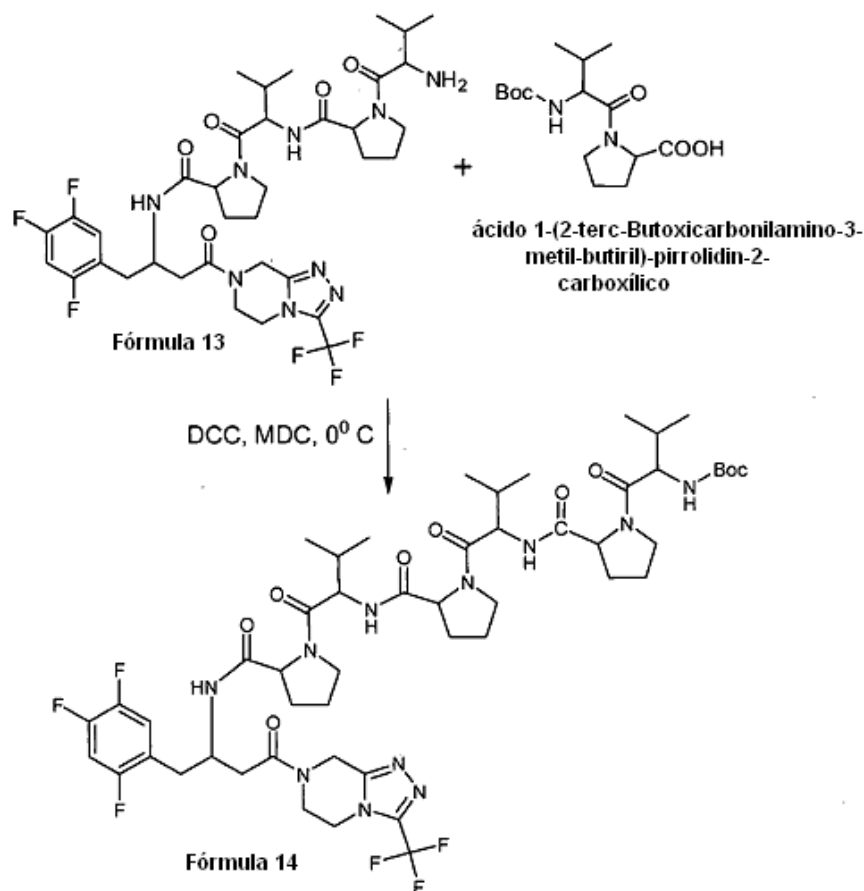
EJEMPLO - 4: (terc-butoxi)-N-{1-(metiletil)-2-[2-(N-{1-(metiletil)-2-[2-(N-{1-metiletil)-2-oxo-2-[2-(N-{3-oxo-3-[3-(trifluorometil)(1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-1-[2,4,5-trifluorofenil]metil]propil}carbamoil]pirrolidinil]etil}carbamoil]pirrolidinil]-2-oxoetil}carbamoil]pirrolidinil]-2-oxoetil}carboxamida (Compuesto de fórmula 15):

5 ETAPA - 1: Preparación de 1-(2-[[1-(2-amino-3-metilbutanoil)ciclopentil]carbonilamino]-3-metilbutanoil]pirrolidin-2-il)-N-{3-oxo-3-[3-(trifluorometil)(1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-1-[(2,4,5-trifluorofenil)metil]propil}carboxamida (Compuesto de fórmula 13):



10 El clorhidrato de [1-(2-[[1-(2-amino-3-metilbutanoil)ciclopentil]carbonilamino]-3-metilbutanoil]pirrolidin-2-il)-N-{3-oxo-3-[3-(trifluorometil)(1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-1-[(2,4,5-trifluorofenil)metil]propil}carboxamida (Compuesto de fórmula 12) (265 g, 0,32 mmol) se disolvió en agua (5 ml) y a continuación se saturó con NaHCO₃. Por lo tanto, la sal de clorhidrato se rompió. A continuación el compuesto se extrajo con EtoAC (3 x 75 ml). Los extractos orgánicos se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron al vacío para producir [1-(2-[[1-(2-amino-3-metilbutanoil)ciclopentil]carbonilamino]-3-metilbutanoil]pirrolidin-2-il)-N-{3-oxo-3-[3-(trifluorometil)(1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-1-[(2,4,5-trifluorofenil)metil]propil}carboxamida (Compuesto de fórmula 13) (245 mg, 97 %).

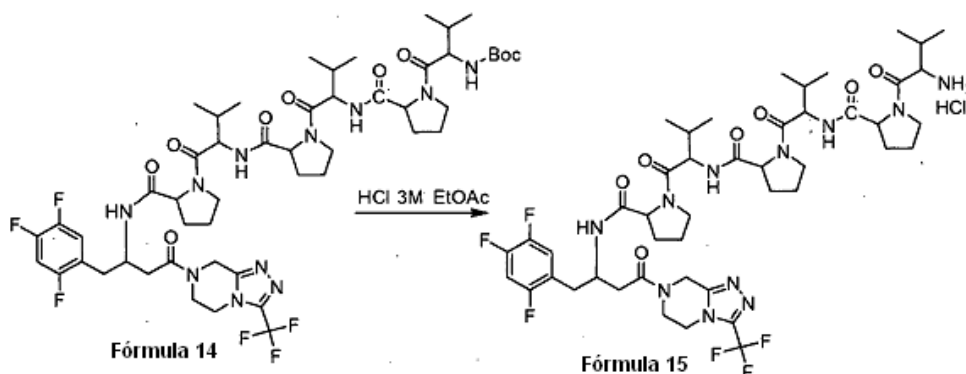
20 ETAPA - 2 : Preparación de (terc-butoxi)-N-{1-(metiletil)-2-[2-(N-{1-(metiletil)-2-[2-(N-{1-metiletil)-2-oxo-2-[2-(N-{3-oxo-3-[3-(trifluorometil)(1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-1-[2,4,5-trifluorofenil]metil]propil}carbamoil]pirrolidinil]etil}carbamoil]pirrolidinil]-2-oxoetil}carbamoil]pirrolidinil]-2-oxoetil}carboxamida (Compuesto de Fórmula 14):



A la solución agitada del ácido 1-(2-terc-Butoxicarbonilamino-3-metil-butiril)-pirrolidin-2-carboxílico (100 mg, 0,3 mmol) en MDC (20 ml) se añadió diciclohexil dicarbodiimida (DCC) (98 mg, 0,47 mmol) a 0 °C. La reacción se agitó a 0 °C durante 10 minutos. Después de agitar, se añadió 1-(2-[[1-(2-amino-3-metilbutanoil)pirrolidin-2-il]-N-{3-oxo-3-[3-(trifluorometil)(1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)]-1-[(2,4,5-trifluorofenil)metil]propil}carboxamida (Compuesto de fórmula 13) (254 mg, 0,3 mmol) a esta mezcla de reacción a 0 °C. La reacción se agitó durante 30 minutos a 0 °C y durante 4 horas a temperatura ambiente. Tomar la TLC para la finalización de la reacción.

La reacción se filtró para retirar el derivado de urea de DCC. A continuación, el filtrado se concentró al vacío. Tomar la cromatografía en columna para la purificación. (Compuesto de fórmula 14) (180 mg, 51 %).

ETAPA - 3: Preparación de sal de clorhidrato de [1-(2-amino-3-metilbutanoil)pirrolidin-2-il]-N-{1-(metiletil)-2-[2-(N-{1-(metiletil)-2-oxo-2-(N-{3-oxo-3-[3-(trifluorometil)(1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)]-1-[(2,4,5-trifluorofenil)metil]propil}carbamoyl)pirrolidinil]etil}carbamoyl)pirrolidinil]-2-oxoetil}carboxamida (Compuesto de fórmula 15)



A la solución agitada de (terc-butoxi)-N-{1-(metiletil)-2-[2-(N-{1-(metiletil)-2-[2-(N-{1-metiletil)-2-oxo-2-[2-(N-{3-oxo-3-[3-(trifluorometil)(1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-1-[2,4,5-trifluorofenil]metil]propil]carbamoil]pirrolidinil]etil]carbamoil]pirrolidinil]-2-oxoetil}carbamoil]pirrolidinil]-2-oxoetil}carboxamida (Compuesto de fórmula 14) (180 mg, 0,16 mmol) en EtoAC (5 ml) se añadió HCl 3 M - EtoAc (2 ml). La reacción se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Tomar la TLC para la finalización de la reacción. Por último, la reacción se concentró al vacío para producir Clorhidrato de [1-(2-amino-3-metilbutanoil)pirrolidin-2-il]-N-{1-(metiletil)-2-[2-(N-{1-(metiletil)-2-oxo-2-(N-{3-oxo-3-[3-(trifluorometil)(1,2,4-triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-1-[(2,4,5-trifluorofenil]metil]propil]carbamoil]pirrolidinil]etil]carbamoil]pirrolidin-2-oxoetil}carboxamida (Compuesto de fórmula 15). (160 mg, 94,6 %).

Método analítico para calcular la liberación de Sitagliptina de diferentes Reactivos y Disolventes de derivados de DPP IV

Reactivos, Disolventes, Patrones y Equipos:

- Ácido Trifluoro Acético (calidad para AR)
- Acetonitrilo (calidad para HPLC)
- Agua Milli Q
- Base de Sitagliptina como patrón de trabajo de inhibidor de DPP IV
- Shimadzu LC-2010 equipado con detector de UV y Auto Muestreador

Diluyente: Acetonitrilo

Preparación del Tampón

Transferir, medido de forma precisa, 1000 ml de agua Milli Q en un vaso de precipitados. Ajustar el pH a $2,00 \pm 0,05$ con ácido trifluoro acético. Agitarlo suavemente y filtrar a través un filtro de membrana de $0,45 \mu$.

Preparación de la Fase móvil

Transferir 300 ml de acetonitrilo en matraz volumétrico de 1000 ml y llevar el volumen hasta la marca con tampón a pH $2,00 \pm 0,05$.

Preparación del Patrón

Pesar exactamente aproximadamente 20 mg de patrón de trabajo de Base de Sitagliptina en un matraz volumétrico de 10 ml. Añadir 5,0 ml de diluyente y soncarlo (si fuera necesario) para disolver los sólidos y llevar el volumen hasta la marca con diluyente proporcionando una solución patrón que tiene una concentración de 2000 ppm (Solución de reserva).

Anteriormente la solución de reserva se diluyó adicionalmente para obtener una solución de concentración diferente que variaba de $0,025 \mu\text{M}$ a $100 \mu\text{M}$. La curva de linealidad del área máxima frente a la concentración en μM se representó para concentración diferente.

Preparación de la Muestra

Las muestras extraídas (después de retirar la materia proteica) se proporcionaron a partir de diferentes órganos (Hígado, Riñón y Páncreas) y muestras de suero que se inyectaron directamente en el sistema de HPLC.

Condiciones de cromatografía

La cromatografía líquida está equipada con detector de UV de longitud de onda variable, Auto muestreador y Procesador de datos

Columna	: ypersil BDS C8, 4,6 mm x 250 mm, 5 μ
Detector de longitud de	: 54 nm
Caudal	: 1,0 ml/min
Volumen de inyección	: 20 μl
Temperatura de la Columna	: 60 °C

Procedimiento

Inyectar blanco (diluyente) y muestras de extracción de blanco, inyectar preparación patrón de concentración que varía de $0,025 \mu\text{M}$ a $100 \mu\text{M}$ y representar un gráfico de Área bajo la curva frente a la concentración en μM . Inyectar

la preparación de muestra y registrar el cromatograma. Descartar cualquier pico debido a blanco y calcular la concentración de Sitagliptina liberada de las muestras extraídas recogidas a diferentes intervalos de tiempo. El tiempo de retención de la Sitagliptina es de aproximadamente 5,0 a 6,0 minutos.

5 Cálculo

allí se inicia calcular la concentración de Sitagliptina liberada de las muestras extraídas recogidas a diferentes intervalos de tiempo mediante extrapolación del área de Sitagliptina en muestras frente a la curva de linealidad patrón.

10

Procedimiento general para identificación sistemática

15

El dipéptido de Sitagliptina o base de Sitagliptina se incubaron con suero de cabra a 37 °C. En los puntos temporales: 0, 15, 30, 45 min, 1 h, 2 h, 6 h y 24 h, las muestras se recogieron y se realizó la extracción de la fase sólida usando cartuchos para Extracción de Sílice. Se prepararon patrones para ambas moléculas en Acetonitrilo + agua (para comprobar la eficacia de la extracción). Las muestras se desarrollaron en HPLC para evaluar el 'tiempo de retención' y el 'área bajo la curva'. El tiempo de retención del compuesto se usa como parámetro para identificación de compuestos. El área bajo la curva se usó para evaluar la cantidad de la molécula presente en la reacción. Los gráficos se representan para cada compuesto como sigue a continuación.

20

25

Los compuestos desvelados en la presente invención se preparan mediante la implicación del proceso preferente como se describe en la bibliografía conocida y es útil para obtener el principio activo medicinalmente importante. Los compuestos sintetizados son para uso en un método para inhibir la enzima dipeptidil peptidasa-IV en un paciente tal como un mamífero con necesidad de tal inhibición que comprende la administración de una cantidad eficaz del compuesto. La presente invención se refiere al uso de los compuestos desvelados en el presente documento como inhibidores de la actividad de la enzima dipeptidil peptidasa-IV.

30

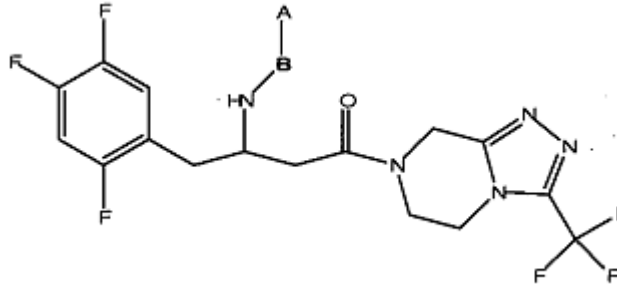
Además de primates, tales como seres humanos, se puede tratar una diversidad de otros mamíferos. Por ejemplo, se pueden tratar mamíferos que incluyen, pero no se limitan a, vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, cobayas, ratas u otras especies de bovino, ovino, equino, canino, felino, roedor o murino. Sin embargo, el compuesto también puede ser para uso en otras especies, tales como especies aviares (por ejemplo, pollos).

35

La presente invención se dirige adicionalmente a un método para la preparación de un medicamento para inhibir la actividad de la enzima DP-IV en seres humanos y animales que comprende la combinación de un compuesto de la presente invención con un vehículo o diluyente farmacéutico.

REIVINDICACIONES

1. El compuesto que tiene la fórmula,



5

en la que

10 A es un péptido que tiene de 1 a 10 aminoácidos
y B es un enlace peptídico;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en la que dicho compuesto es capaz de inhibir la enzima DPP IV.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2 para uso en la prevención o tratamiento de una enfermedad que se puede beneficiar de la inhibición de la dipeptidil peptidasa IV.

20 4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3 en la que la enfermedad es un trastorno metabólico asociado con diabetes mellitus.

25 5. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 y un vehículo o diluyente farmacéutico.

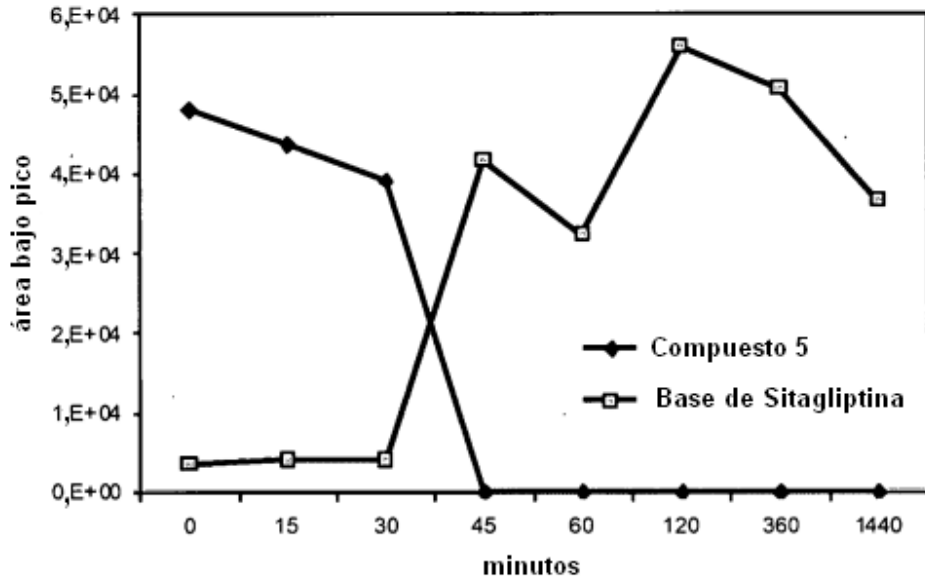


Fig. 01: Liberación cinética del compuesto de interés a partir del compuesto de fórmula 5

Liberación cinética de activo a partir del Compuesto 8

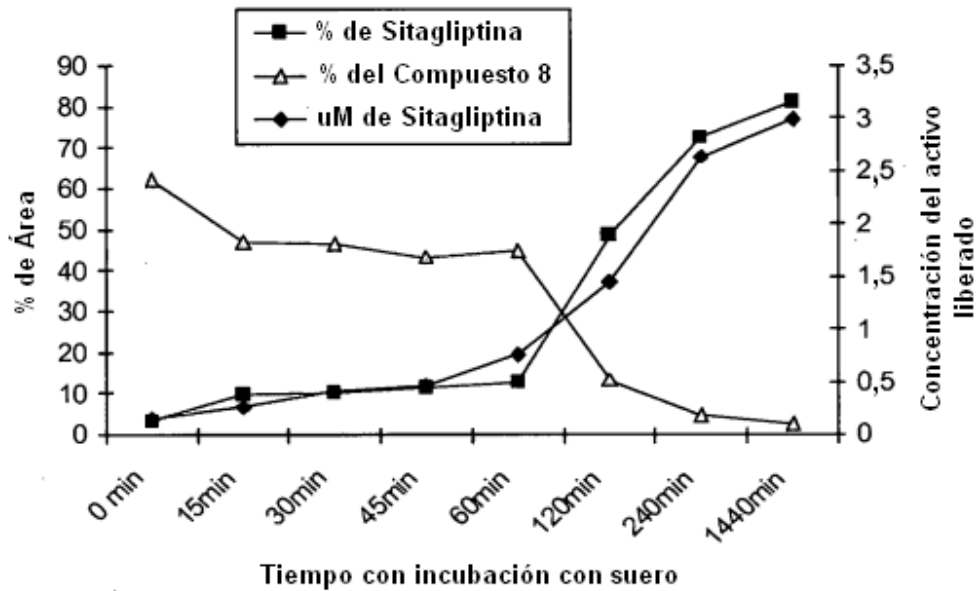


Fig. 02: Liberación cinética del compuesto de interés a partir del compuesto de fórmula 8

Liberación cinética de activo a partir del Compuesto 13

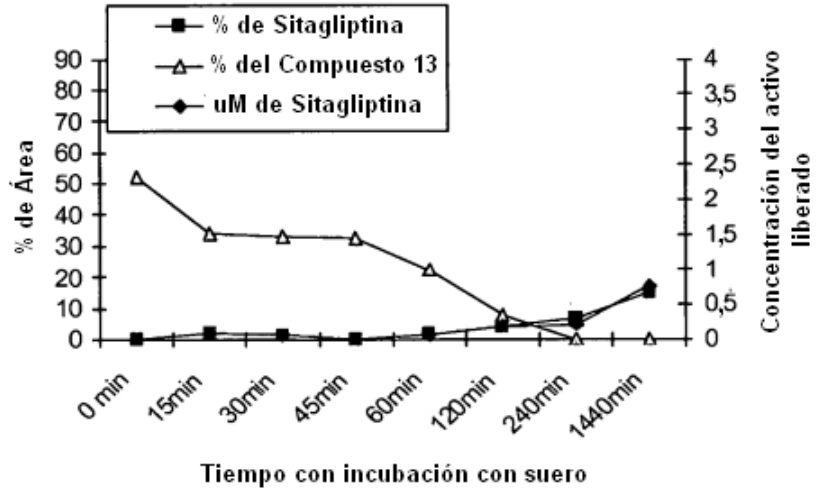


Fig. 03: Liberación cinética del compuesto de interés a partir del compuesto de fórmula 13

Liberación cinética de activo a partir del Compuesto 15

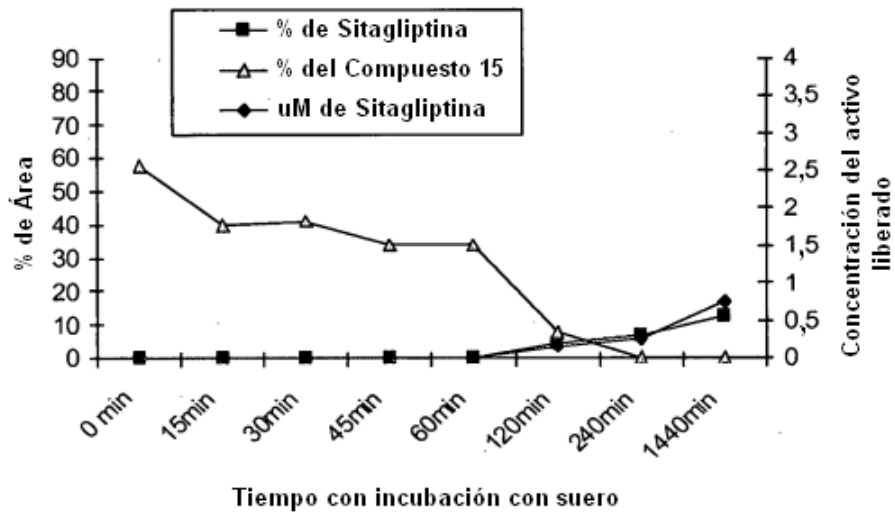


Fig. 04: Liberación cinética del compuesto de interés a partir del compuesto de fórmula 15