



República Federativa do Brasil  
Ministério da Economia  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

**(11) PI 0810246-5 B1**



\* B R P I 0 8 1 0 2 4 6 B 1 \*

**(22) Data do Depósito: 18/04/2008**

**(45) Data de Concessão: 30/11/2021**

**(54) Título:** INIBIDOR DA DPP-IV INCLUINDO O GRUPO BETA-AMINO. MÉTODO DE PREPARAÇÃO DO MESMO E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA CONTENDO O MESMO PARA PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA DIABETES OU OBESIDADE

**(51) Int.Cl.:** C07D 241/08; A61K 31/4704; A61P 3/10.

**(30) Prioridade Unionista:** 19/04/2007 KR 10-2007-0038462.

**(73) Titular(es):** DONG-A ST CO., LTD.

**(72) Inventor(es):** HEUNG JAE KIM; CHANG YELL SHIN; HADONG KIM; JONG PIL MIN; JAE YOUNG LEE; SONG-HYEN CHOI; TAE HYUN YOON; HAE-SUN KIM; MI-KYUNG KIM; MOON-HO SON; SOON HOE KIM; JI MYUN JANG; MOOHI YOO; WOO YUONG KWAK; KYUNG JIN PARK.

**(86) Pedido PCT:** PCT KR2008002203 de 18/04/2008

**(87) Publicação PCT:** WO 2008/130151 de 30/10/2008

**(85) Data do Início da Fase Nacional:** 16/10/2009

**(57) Resumo:** INIBIDOR DA DPP-IV INCLUINDO O GRUPO BETA-AMINO, MÉTODO DE PREPARAÇÃO DO MESMO E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA CONTENDO O MESMO PARA PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA DIABETES OU OBESIDADE. A presente invenção propõe um novo composto heterocíclico contendo um grupo beta-amino, método para sua preparação, e uma composição farmacêutica compreendendo o mesmo composto heterocíclico ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo como ingrediente ativo. O composto heterocíclico da presente invenção apresenta excelente atividade inibitória da DPP-IV e biodisponibilidade, sendo, portanto, útil para a profilaxia ou tratamento de doenças relacionadas à DPP-IV, tal como diabetes ou obesidade.

Relatório Descritivo da Patente de Invenção  
para **“INIBIDOR DA DPP-IV INCLUINDO O GRUPO  
BETA-AMINO, MÉTODO DE PREPARAÇÃO DO MESMO  
E COMPOSIÇÃO FARMACÊUTICA CONTENDO O  
5 MESMO PARA PREVENÇÃO E TRATAMENTO DA  
DIABETES OU OBESIDADE”.**

### **CAMPO TÉCNICO**

A presente invenção se refere a um composto heterocíclico contendo um grupo beta-amino, que possui excelente atividade inibitória sobre a dipeptidil peptidase-IV (daqui em diante chamada de "DPP-IV") e alta biodisponibilidade, e a uma composição farmacêutica compreendendo o mesmo composto heterocíclico ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo como ingrediente ativo.

### **ESTADO DA TÉCNICA**

A enzima dipeptidil peptidase IV, aqui abreviada por DPP-IV (e às vezes chamada de DP-IV, DP-4 ou DAP-IV), e também conhecida pela classificação EC. 3. 4. 14. 5, é uma serina protease (Barrett A. J. e col., Arch. Biochem. Biophys., 1995, 247-250) que cliva o dipeptídeo N-terminal dos peptídeos que começam com a sequência H-Xaa-Pro-Y ou H-Xaa-Ala-Y, em que Xaa representa qualquer aminoácidos lipofílico, Pro representa prolina e Ala representa alanina (Heins J., e col., Biochim. et Biophys. Acta 1988, 161). A DPP-IV 20 encontra-se largamente distribuída e é encontrada em uma variedade de tecidos de mamíferos, tal como o rim, fígado e

intestino delgado (Hegen M. e col., *J. Immunol.*, 1990, 2908-2914). A DPP-IV foi primeiro identificada como uma proteína ligada à membrana. Mais recentemente, uma forma solúvel foi identificada (Duke-Cohan J. S. e col., *J. Biol. Chem.*, 1995, 14107-14114). De acordo com o estudo e relatório publicados recentemente, foi revelado que tal forma solúvel da DPP-IV tem a mesma estrutura e função que a forma ligada à membrana da enzima e é encontrada sem um certo domínio ligado à membrana no sangue (Christine D. e col., *Eur. J. Biochem.*, 2000, 5608-5613).

O interesse inicial na DPP-IV focou-se em seu papel na ativação dos T-linfócitos. A DPP-IV responsável pela ativação dos T linfócitos foi designada especificamente como CD26. Com o relatório mostrando que a CD26 se liga ou interage com o vírus da imunodeficiência humana (HIV) (Guteil W. G. e col., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1994, 6594-6598), propôs-se que os inibidores da DPP-IV poderiam ser úteis no tratamento da AIDS (Doreen M. A. e col., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1996, 2745-2748).

Além do papel crucial de participação no sistema imunológico, a principal função da DPP-IV deriva-se de sua atividade peptidolítica como descrito acima. Foi dada atenção especial ao papel da DPP-IV, após ser descoberto que a DPP-IV é uma enzima fundamental envolvida na degradação da proteína-1 tipo glucágono (daqui em diante chamada de "GLP-1") no intestino delgado (Mentlein R. e col., *Eur. J. Biochem.*, 1993,

829-835). A GLP-1 é o hormônio peptídico de 30 aminoácidos que é segregado pelas células L intestinais em resposta à ingestão de alimentos do intestino delgado (Goke R. e col., *J. Biol. Chem.*, 1993, 19650-19655). Uma vez que a GLP-1 é conhecida por ter efeitos potencializadores sobre a ação da insulina no controle dos níveis de glicemia após refeições (Holst J. J. e col., *Diabetes Care*, 1996, 580-586), pressupõe-se que os inibidores da DPP-IV também poderiam ser empregados de forma útil no tratamento da diabetes tipo 2. Baseando-se nessa suposição, uma forma primitiva do inibidor da DPP-IV foi desenvolvida, com alguns relatórios demonstrando a eficácia terapêutica de um remédio em experimentos em animais (Pauly R. P. e col., *Metabolism*, 1999, 385-389). Além disso, os camundongos ou ratos deficientes em DPP-IV mantiveram a atividade da GLP-1 e níveis elevados de insulina, resultando na diminuição nos níveis de glicemia, e tal interrupção ou mutação genética do gene DPP-IV não apresentou efeito significativo sobre a sobrevivência dos animais individuais (Marguet D. e col., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2000, 6874-6879). Como consequência, propôs-se que a DPP-IV é viável como um agente terapêutico potente para o tratamento da diabetes tipo 2, o que resultou na pesquisa e desenvolvimento acelerado do inibidor da DPP-IV.

A ligação da GLP-1 com um receptor em uma variedade de tecidos resulta em saciedade (sensação estar satisfeito), retardo do esvaziamento gástrico e crescimento facilitado das células beta pancreáticas. Portanto, os ensaios

clínicos para o tratamento da diabetes tipo 2 estão aumentando gradualmente pela administração intravenosa do GLP-1 em si (Verdich C. e col., *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2001, 4382-4389).

Uma meia-vida *in vivo* da GLP-1 é de meramente 2 min (Kieffer

5 T. J., e col., *Endocrinology*, 1995, 3585-3596), fazendo com que tal meia-vida curta seja um grande obstáculo ao uso direto da GLP-1 como agente terapêutico. Desde então, muitos grupos de pesquisa e instituições realizaram diversas tentativas voltadas para a derivatização da GLP-1, resultando no desenvolvimento e 10 comercialização de um peptídeo que é capaz de estender a meia-vida curta *in vivo* (Deacon C. F., *Diabetes*, 2004, 2181-2189). No entanto, tal derivado da GLP-1 ainda sofre da limitação fundamental de que ele é uma formulação injetável. Além disso, 15 foi dada cada vez mais atenção ao desenvolvimento de um inibidor eficiente da DPP-IV, devido ao fato de que a GLP-1 (7-36) ativa é degradada pela DPP-IV e então convertida em GLP-1 (9-36) inativa apenas dentro de um curto período de tempo, por exemplo, 2 min.

O começo no desenvolvimento dos inibidores 20 da DPP-IV foi similar à tendência de desenvolvimento dos outros inibidores. Isto é, a maioria dos resultados de pesquisa foram para análogos do substrato. Um exemplo desses análogos de substrato é um derivado depeptídico que foi obtido como produto da pesquisa anterior que foi realizada em um núcleo pai com 25 estrutura similar à da Prolina (Pro), baseado no fato de que a DPP-IV apresenta afinidade pronunciada por um peptídeo

contendo um certo aminoácido Prolina (Chinnaswamy T. e col., J. Biol. Chem., 1990, 1476-1483). Exemplos típicos de estruturas do tipo Prolina incluem pirrolidina e tiazolidida, e derivados contendo esses compostos de núcleo pai apresentam atividade 5 inibitória reversível e competitiva para a enzima DPP-IV (Augustyns KJL., e col., Eur. J. Med. Chem., 1997, 301-309).

Dentre os produtos dessa pesquisa e desenvolvimento extensos, há experimentos contínuos sobre o mecanismo de ação e a eficácia de certos compostos, 10 especificamente, Val-Pyr (Valina-Pirrolidina), Ile-Thia (Isoleucina-Tiazolidida), entre outros. Particularmente, muita da atenção tem se voltado para a Ile-Thia, pois a estrutura Val-Pyr apresentou atividade inibitória relativamente fraca sobre a DPP-IV (Hanne B. R., e col., Nat. Struct. Biol., 2003, 19-25), o que, 15 como tal, resultou em vastas pesquisas e estudos sobre derivados do composto Ile-Thia.

Fora dos compostos derivados de Ile-Thia enfocados e obtidos pelas pesquisas e estudos mencionados acima, um composto tendo a atividade mais proeminente foi a 20 série de beta-aminoácidos tazolidida, que a Merck & Co., Inc. tentou desenvolver. No entanto, de acordo com os resultados dos experimentos farmacodinâmicos e farmacocinéticos realizados em ratos, o composto obtido apresentou biodisponibilidade significativamente baixa junto com uma limitação visível na 25 inibição da atividade enzimática (Jinyou Xu, e col., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2004, 4759-4762). Como consequência, o

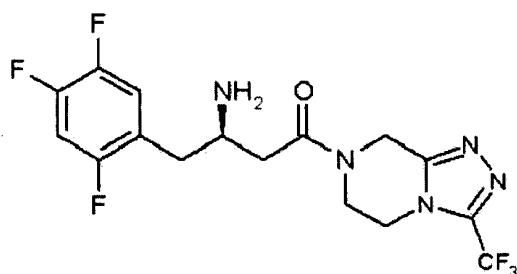
desenvolvimento adicional dos compostos dessa classe foi descontinuado devido a grandes desvantagens.

Durante a investigação mencionada acima, Merck percebeu que um beta-aminoácido, além de um núcleo pai da tiazolidida, é também um fator essencial que possui efeitos significativos sobre a atividade inibitória da DPP-IV. Essa descoberta foi aplicada à abordagem para substituição do núcleo pai da tiazolidida por um composto de núcleo pai diferente (Linda L. B., e col., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2004, 4763-4766). Com tal pesquisa subsequente, uma variedade de derivados contendo a substituição do núcleo pai da tiazolidida por um núcleo pai da piperazina foram sintetizadas com teste da eficácia do fármaco e estudos farmacodinâmicos. Infelizmente, os derivados da piperazina de Merck ainda sofriam de biodisponibilidade significativamente insatisfatória. De acordo com a otimização do composto para lidar com tal desvantagem, o produto MK-0431 (nome comercial: JANUVIA) foi desenvolvido com a modificação de um grupamento piperazina para um grupamento triazolpiperazina. Esse produto agora está disponível para comercialização sob a nova aprovação de fármaco pela US FDA em 2006. Além disso, depois do MK-0431, um composto com incorporação de um grupamento diazepanona (anel de sete membros) encontra-se sob desenvolvimento atualmente (WO 2004037169; WO2005011581; WO2006104997; e *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2007, 49-52). Particularmente de acordo com o artigo publicado (*Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2007, 49-52), foi

demonstrado que a imidazolona (anel de cinco membros) e a piperazinona (anel de seis membros) apresentam atividade *in vitro* notavelmente menor, se comparado à diazepanona, resultando assim em um foco intenso na otimização da diazepanona.

5

[MK-0431]



Como resultado de diversos estudos e experimentos extensos e intensos para solucionar os problemas descritos acima e para obter a otimização de um composto de interesse, os inventores da presente invenção descobriram que quando uma substituição incluindo um heteroátomo é feita em um grupamento piperazinona, o composto assim modificado não apenas apresenta excelente atividade inibitória da DPP-IV, mas é também capaz de atingir biodisponibilidade significativamente aperfeiçoada se comparado a um inibidor da DPP-IV convencional, e obtiveram então êxito na síntese de um novo composto heterocíclico contendo um grupo beta-amino. A presente invenção foi consumada com base nessas descobertas.

## REVELAÇÃO DA INVENÇÃO

### PROBLEMA TÉCNICO

A presente invenção tem por objetivo oferecer um composto heterocíclico contendo um grupo beta-amino e

20

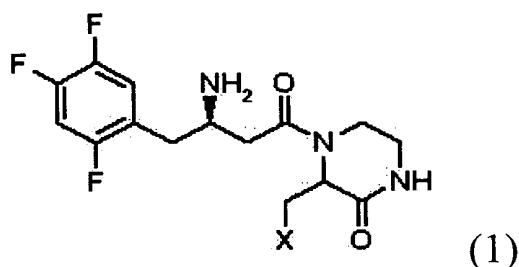
tendo atividade inibitória da DPP-IV, ou um sal farmaceuticamente aceitável, hidrato ou solvato do mesmo.

Outro objetivo da presente invenção é oferecer uma composição farmacêutica para a prevenção e tratamento da diabetes ou obesidade, compreendendo o composto heterocíclico mencionado acima, ou um sal farmaceuticamente aceitável, hidrato ou solvato do mesmo como ingrediente ativo.

## **SOLUÇÃO TÉCNICA**

Daqui em diante, a presente invenção será descrita em mais detalhes.

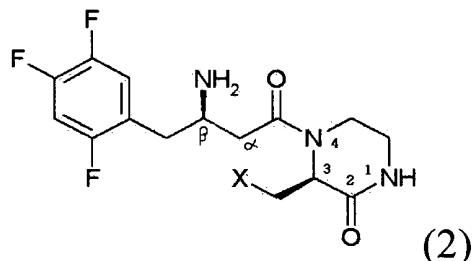
A presente invenção propõe compostos heterocíclicos com um grupo beta-amino representado pela Fórmula 1:



em que X é OR1, SR1 ou NR1R2, em que R1 e R2 são independentemente alquila inferior C<sub>1</sub> a C<sub>5</sub>, e R1 e R2 de NR1R2 pode formar um anel de 5 a 7 membros com inclusão de um heteroátomo O; ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

De preferência, o composto da Fórmula I de acordo com a presente invenção abrange um composto da Fórmula 2, que é um estereoisômero que induz atividade óptica

em um átomo de carbono na posição 3 de um anel de piperazinona e é representado pela Fórmula 2 abaixo.



em que  $X$  é conforme definido na Fórmula 1.

5 Isto é, o composto da Fórmula 1 pode ter dois centros assimétricos. Especificamente, o composto da Fórmula 1, como mostra a Fórmula 2, pode ter centros assimétricos no carbono beta e no carbono da posição 3 do anel de piperazinona, de modo que ele possa estar presente na forma de um único diasteroisômero, racemato, mistura racêmica ou mistura 10 diasteroisomérica, todos os quais se enquadram no composto da Fórmula 1 de acordo com a presente invenção.

Além disso, o composto da Fórmula 1 pode estar parcialmente presente como um tautômero. Também inclusos no composto da Fórmula 1 estão tautômeros individuais, bem como misturas dos mesmos.

A forma estereoisomérica do composto da Formula 1 pode ser obtida mediante síntese estereoseletiva de acordo com um método convencional conhecido na técnica, usando um material inicial opticamente puro ou um reagente conhecido.

Exemplos preferidos do composto heterocíclico contendo o grupo beta-amino da Fórmula 1 de acordo com a presente invenção podem incluir os seguintes compostos:

- 1) cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 5 2) cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(metoximetil)piperazin-2-ona;
- 10 3) cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(etoximetil)piperazin-2-ona;
- 4) cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(isopropoximetil) piperazin-2-ona;
- 15 5) cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(ciclopentiloximetilpiperazin-2-ona;
- 6) dicloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(detilamino)metil] piperazin-2-ona;
- 20 7) dicloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(etilmetilamino)metil] piperazin-2-ona;
- 8) dicloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(morfolinometil) piperazin-2-ona;
- 9) cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butiltiometil)piperazin -2-ona;
- 10) cloridrato 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;
- 25

- 12) tartarato 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;
- 5 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;
- 10 17) succinato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona; e
- 18) adipato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona.

15 O composto heterocíclico contendo o grupo beta-amino da Fórmula 1 de acordo com a presente invenção inclui um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, bem como um hidrato e solvato que podem ser preparados a partir do mesmo.

20 O sal farmaceuticamente aceitável do composto heterocíclico da Fórmula 1 pode ser preparado por qualquer método convencional para preparação de sais conhecido na técnica.

Como usado aqui, o termo "sal farmaceuticamente aceitável" se refere a um sal preparado a partir de uma base ou ácido atóxico farmaceuticamente aceitável incluindo uma base orgânica ou inorgânica e um ácido orgânico ou inorgânico. Exemplos do sal farmaceuticamente aceitável podem incluir

sais do Composto 1 com uma base inorgânica, por exemplo, íon alumínio, amônio, cálcio, cobre, férrico, ferroso, lítio, magnésio, manganato, manganês, potássio, sódio ou zinco. Particularmente preferidos são os sais de amônio, cálcio, magnésio, potássio e sódio. Um sal sólido pode ter uma ou 5 mais estruturas cristalinas, ou então pode estar na forma de um hidrato. Exemplos do sal orgânico atóxico farmaceuticamente aceitável podem incluir sais do Composto 1 com uma amina primária, secundária ou terciária, uma amina substituída, tal como uma amina substituída de ocorrência natural, uma amina cíclica, ou uma resina de troca 10 iônica básica, tal como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenziletilenodiamina, dietilamina, 2-dietilminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilenodiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glicosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resina de poliamina, procaína, purina, 15 teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina e trometamina.

Quando o composto da presente invenção é básico, um sal do mesmo pode ser preparado a partir dos ácidos atóxicos farmaceuticamente aceitáveis, inclusive ácidos orgânicos e inorgânicos. Exemplos do ácido podem incluir ácido acético, 20 ácido benzenosulfônico, ácido benzóico, ácido canforsulfônico, ácido cítrico, ácido etanosulfônico, ácido fumárico, ácido glucônico, ácido glutâmico, ácido bromídrico, ácido clorídrico, ácido isetiônico, ácido láctico, ácido maléico, ácido málico, ácido mandélio, ácido metanosulfônico, ácido 25 mágico, ácido nítrico, ácido pamóico, ácido pantotênico, ácido fosfótico, ácido succínico, ácido sulfúrico, ácido tartárico, ácido p-tolueno sulfônico e

ácido adípico. Particularmente preferidos são os ácidos acético, cítrico, clorídrico, málico, fosfórico, succínico, tartárico e adípico.

Quando o composto da Fórmula 1 é designado no presente relatório, este termo pretende abranger um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

Como usado na presente invenção, o termo "hidrato" se refere a um composto da Fórmula 1 ou a um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo, que adicionalmente inclui uma quantidade estequiométrica ou não-estequiométrica de água ligada ao mesmo por forças intermoleculares não-covalentes. O hidrato pode conter mais de 1 equivalente da água, tipicamente 1 a 5 equivalentes da água. O hidrato pode ser preparado pela cristalização do composto da Fórmula 1 ou de um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo em água ou solvente contendo água.

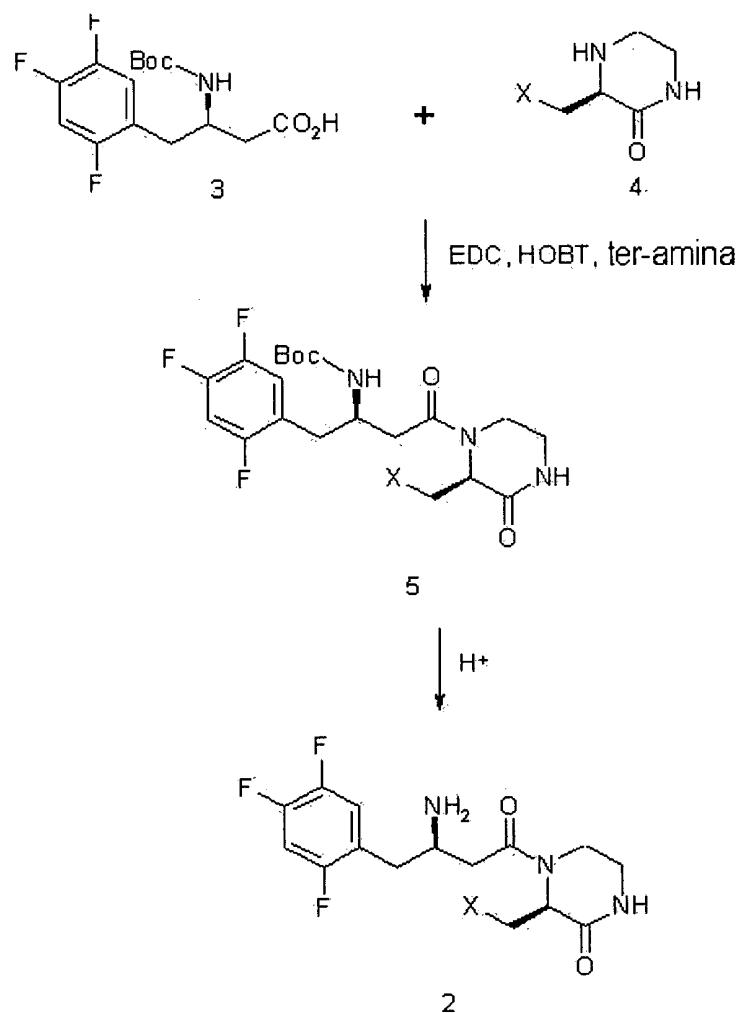
Como usado na presente invenção, o termo "solvato" se refere a um composto da Fórmula 1 ou a um sal do mesmo, que adicionalmente inclui uma quantidade estequiométrica ou não-estequiométrica de um solvente ligado ao mesmo por forças intermoleculares não-covalentes. Solventes preferidos são os voláteis, atóxicos e/ou aceitáveis para administração a humanos. Por exemplo, podemos mencionar o etanol, metanol, propanol, cloreto de metileno, etc.

De acordo com outro aspecto da presente invenção, é proporcionado um método para preparação de um composto heterocíclico com um grupo beta-amino representado pela Fórmula 1 ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

A presente invenção, como mostra o Esquema de Reação 1 a seguir, inclui um método para preparação de um composto

heterocíclico representado pela Fórmula 2, compreendendo 1) reagir um composto da Fórmula 3 contendo um grupo beta amino com um composto heterocíclico substituído da Fórmula 4 na presença de 1-hidroxibenotriazol (HOBT), 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) e amina terciária para, desse modo, preparar um composto da Fórmula 5 contendo uma ligação peptídica, e 2) reagir o composto da fórmula 5 na presença de um ácido para preparar um composto heterocíclico da Fórmula 2 contendo um grupo beta-amino.

[Esquema de Reação 1]



10

em que X é conforme definido na Fórmula 1.

Por exemplo, um intermediário da Fórmula 5 pode ser obtido mediante a reação do composto da Fórmula 3 e do composto da Fórmula 4 da maneira convencional em um solvente, tal como N,N-dimetilformamida (DMF) ou diclorometano na 5 presença e um reagente de acoplamento, tal como 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carboiimida (EDC) ou 1-hidroxibenzotriazol (HOBT), e uma base, tal como diisopropiletilamina ou trietilamina a 0°C até a temperatura ambiente durante 3 a 48 horas.

De modo a prevenir a participação de um 10 composto na peptidização, um átomo de nitrogênio do intermediário da Fórmula 5, que foi preparado por peptidização, é protegido com um grupo protetor. O composto heterocíclico desejado da Fórmula 2 contendo um grupo beta-amino pode ser obtido pela remoção do grupo protetor por meio da desproteção. 15 Isto é, uma vez que o grupo protetor é Boc, a remoção do grupo protetor pode ser realizada sob condições ácidas, geralmente usando ácido trifluoroacético/diclorometano, acetato de etila/cloreto de hidrogênio, cloreto de hidrogênio/diclorometano ou metanol/cloreto de hidrogênio, a 0°C até a temperatura 20 ambiente por 1 a 24 horas.

Se necessário, o composto da Fórmula 2 preparado pela reação de ligação peptídica e desproteção pode ser purificado a partir de subprodutos indesejáveis por qualquer método convencional, tal como recristalização, trituração, 25 cromatografia em camada delgada preparativa, cromatografia flash em gel de sílica (vide W.C. Still e ol., J. Org.

Chem., 43, 2923 (1978)), ou HPLC. O composto purificado por HPLC pode ser separado como o sal correspondente do mesmo. O composto da Fórmula 5 também pode ser purificado da mesma forma.

Na presente invenção, uma mistura estereoisomérica de um composto da Fórmula 1 é preparada usando uma mistura de estereoisômeros como material inicial, e a mistura resultante é separada em estereoisômeros individuais para, desse modo, obter um composto da Fórmula 1. Além disso, cada estereoisômero do composto da Fórmula 1 pode ser preparado mediante o uso de cada estereoisômero como material inicial. A separação do estereoisômero pode ser realizada por cromatografia ou recristalização em coluna convencional.

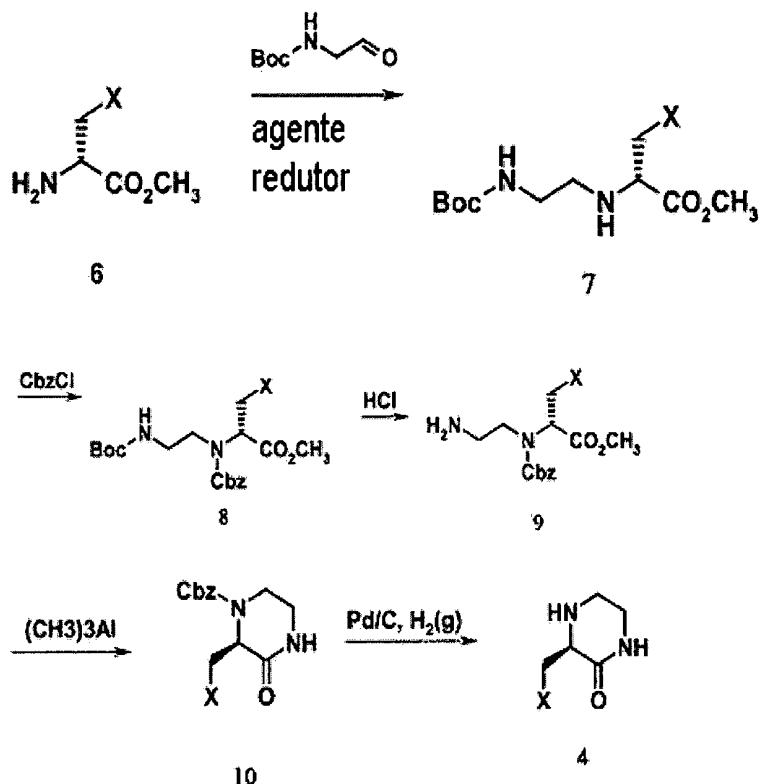
Na preparação do composto da Fórmula 2, o composto da Fórmula 3 usado no Esquema de Reação 1 encontra-se comercialmente disponível ou pode ser facilmente preparado por qualquer método conhecido na técnica.

Na preparação do composto da Fórmula 2, o composto da Fórmula 4 usado no Esquema de Reação 1 pode ser preparado de acordo com a via sintética do Esquema de Reação 2 e do Esquema de Reação 3.

No Esquema de Reação 2, o Composto 6 pode estar comercialmente disponível ou não,

dependendo de um substituinte X, logo, o Composto 6 encontra-se comercialmente disponível ou pode ser preparado rapidamente por qualquer método conhecido na técnica, por exemplo, pelo método representado no 5 Esquema de Reação 3 abaixo.

No Esquema de Reação 2 o Composto 4 usado para preparar o composto da presente invenção pode ser preparado a partir do Composto 6. Especificamente, o Composto 6 é reagido com o N-10 butiloxicarbonil-2-aminoacetaldeído na presença de um agente redutor para obter o Composto 7, a partir do qual o Composto 8 contendo uma amina secundária protegida pela benziloxicarbonila (Cbz) é então preparado, seguido de desproteção para preparar assim o Composto 9, em 15 que a butiloxicarbonila (Boc) foi desprotegida. O Composto 9 é então ciclizado usando trimetil alumínio (ou diisopropiletilamina/etanol, hidrogenocarbonato de sódio/metanol, etc.) para obter o Composto 10, que é seguido pela desproteção da Cbz para preparar o 20 Composto 4 Exemplos do agente redutor que podem ser usados na preparação do Composto 7 a partir do Composto 6 podem incluir cianoboroidreto de sódio, triacetoxiboroireto de sódio, boroidreto de sódio, e similares.

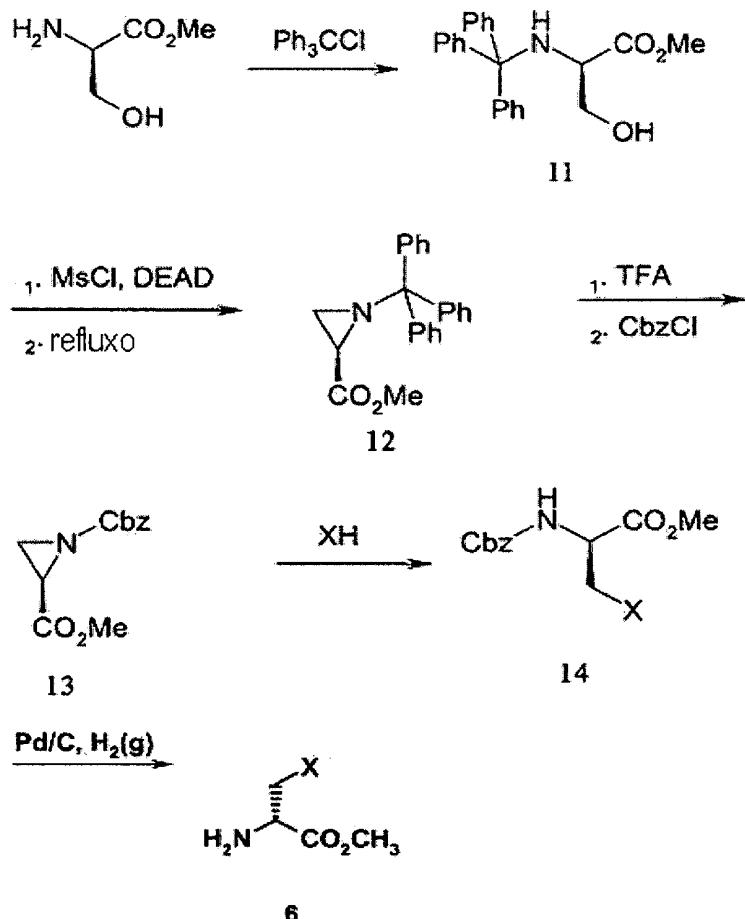


em que X é conforme definido na Fórmula 1.

Quando o Composto 6 no Esquema de Reação 2 não está comercialmente disponível, ele pode ser preparado de forma similar ao Esquema de Reação 3 abaixo. O composto 6 contendo uma variedade de substituintes R1 no Esquema de Reação 3 é preparado substituindo o éster metílico de D-serina por cloreto de tritila para obter o Composto 11, e substituindo um grupo hidroxila do Composto 11 por um grupo mesila, seguido de refluxo para, dessa forma, preparar um composto de aziridina 12. Em seguida, o grupo tritila do Composto 12 é removido usando ácido trifluoroacético, seguido da proteção do benziloxicarbonil (Cbz) para preparar o Composto 13. O composto 13 é então reagido com HX contendo uma variedade de substituintes R1 para

preparar o Composto 14, seguido da desproteção do Cbz para preparar o Composto 6.

[Esquema de Reação 3]



5 em que X é conforme definido na Fórmula 1.

De modo a facilitar a reação de interesse ou evitar a formação do produto de reação indesejado para alguns dos compostos da Fórmula 1 da presente invenção, as condições de reação e sequências de reação mencionadas acima podem 10 variar conforme desejado.

Como descrito acima, os compostos da Fórmula 1 da presente invenção, os materiais iniciais e intermediários

podem ser sintetizados por uma variedade de métodos conhecidos na técnica.

De acordo com um aspecto adicional da presente invenção, é proporcionada uma composição farmacêutica para a prevenção e tratamento da diabetes ou obesidade, compreendendo um composto da Fórmula 1 ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo como ingrediente ativo.

O composto da Fórmula 1 de acordo com a presente invenção apresenta excelente atividade inibitória sobre a DPP-IV. Quando a capacidade inibitória do composto da Fórmula 1 da enzima DPP-IV foi medida, a  $IC_{50}$ , a concentração do fármaco que é necessária para inibir a reação enzimática da DPP-IV em 50%, quase apresenta uma faixa de 0,5 a 20 nM, o que representa uma atividade inibitória superior da DPP-IV, se comparado ao inibidor convencional da DPP-IV, cuja  $IC_{50}$  varia de centenas de nM a milhares de nM, ou até mesmo dezenas de milhares de nM (Jinyou Xu, e col., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2004, 4759-4762; and Linda L. B., e col., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2004, 4763-4766).

Além disso, o composto da Fórmula 1 de acordo com a presente invenção possui alta tolerância à glicose oral. De acordo com o teste de tolerância à glicose oral (OGTT), medições do composto da Fórmula 1 apontaram efeitos de redução da glicemia de mais de 35%, de preferência mais de 50%, demonstrando assim que ele possui biodisponibilidade superior em relação aos inibidores convencionais da DPP-IV. Além disso,

resultados experimentais *in vivo*, incluindo correlações farmacocinéticas/farmacodinâmicas, a medição de um período de duração da atividade inibitória da DPP-IV, e experimentos cinéticos *in vivo* demonstram que o composto da presente 5 invenção é superior quanto à atividade inibitória da DPP-IV e à biodisponibilidade.

Portanto, a composição farmacêutica compreendendo o composto da Fórmula 1 como ingrediente ativo pode ser usada de forma eficaz no tratamento e prevenção da 10 diabetes e da obesidade, que são doenças representativas provocadas pela DPP-IV.

De acordo com ainda outro aspecto da presente invenção, é proporcionado o uso da composição supracitada para a prevenção e tratamento da diabetes ou obesidade, e um método 15 para a prevenção e tratamento da diabetes ou obesidade, compreendendo administrar uma quantidade eficaz da composição supracitada a um mamífero (inclusive humanos).

A composição farmacêutica compreendendo o composto da Fórmula 1, ou um estereoisômero, sal 20 farmaceuticamente aceitável, hidrato ou solvato do mesmo como ingrediente ativo, pode ser formulada em diversas dentre as seguintes formas de dosagem oral ou parenteral, sem se limitar a elas.

Exemplos da forma de dosagem para 25 administração oral podem incluir comprimidos, pílulas, cápsulas moles e duras, soluções, suspensões, emulsões, xaropes, grânulos,

elixires, entre outros. Essas formulações farmacêuticas podem compreender, além do ingrediente ativo supracitado, um ou mais diluentes ou excipientes convencionais, tais como cargas, extensores, agentes umectantes, desintegrantes, fluidificantes, 5 aglutinantes e surfactantes. Exemplos dos desintegrantes podem incluir ágar, amido, ácido algínico ou um sal deste, monohidrogenofosfato de cálcio anidro, entre outros. Exemplos dos fluidificantes podem incluir sílica, talco, ácido esteárico ou um sal de magnésio ou cálcio do mesmo, polietileno glicol, entre 10 outros. Exemplos do aglutinante podem incluir silicato de alumínio e magnésio, pasta de amido, gelatina, tragacanto, metilcelulose, carboximetilcelulose sódica, polivinilpirrolidona, hidroxipropil celulose de baixa substituição, entre outros. Além disso, a formulação farmacêutica pode compreender diluentes, por 15 exemplo, lactose, dextrose, sucrose, manitol, sorbitol, celulose e/ou glicina. Caso seja desejado, a formulação pode adicionalmente compreender misturas efervescentes convencionalmente conhecidas, absorventes, corantes, aromatizantes e edulcorantes.

20 A composição farmacêutica compreendendo o composto da Fórmula 1 ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo como ingrediente ativo pode ser administrada por uma via parenteral, por exemplo, um supositório, injeção subcutânea, injeção intravenosa, injeção intramuscular ou injeção 25 intratorácica. Para a formulação da composição da presente invenção em uma preparação para administração parenteral, o

composto da Fórmula 1 ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo é misturado com um estabilizante ou tampão na presença de água para preparar uma solução ou suspensão que é então produzida na forma de dosagem unitária de ampolas ou frascos.

5 A composição pode ser esterilizada e/ou compreender adjuvantes, tais como conservantes, estabilizantes, agentes de hidratação, emulsificantes, sais para controle da pressão osmótica e/ou tampões, e substâncias de utilidade terapêutica, e pode ser formulada de acordo com os métodos 10 convencionais, tal como mistura, granulação e recobrimento.

Se desejado, o composto da Fórmula 1 ou a composição farmacêutica compreendendo o mesmo como ingrediente ativo pode ser administrada em combinação com outros fármacos, por exemplo, fármacos contra a diabetes.

15 Quando o composto da Fórmula 1 ou a composição farmacêutica compreendendo o mesmo como ingrediente ativo for formulado em uma forma de dosagem unitária, o composto da Fórmula 1 é aplicado preferencialmente em uma dose unitária de aprox. 0,1 a 1.500 mg em termos de 20 ingrediente ativo. Como ficará evidente aos versados na técnica, a dose efetiva do composto ativo de acordo com a presente invenção pode ser determinada de acordo com a prescrição do médico, dependendo de vários fatores, tal como o peso corporal e a idade dos pacientes, da natureza e gravidade da doença, entre 25 outros. Para adultos, a dose efetiva do composto ativo costuma variar entre aproximadamente 1 a 500 mg/dia, levando em conta a

frequência de administração e a intensidade. No caso de injeção intramuscular ou intravenosa em adultos, cerca de 5 a 300 mg da dose total, dividida em várias doses unitárias, pode ser adequado por dia, ainda que uma dose diária maior possa ser necessária para 5 alguns pacientes.

### **EFEITOS VANTAJOSOS**

Como será ilustrado especificamente daqui em diante, a presente invenção oferece um composto heterocíclico contendo um grupo beta-amino e com excelentes efeitos 10 inibitórios sobre a atividade enzimática da DPP-IV. Uma composição farmacêutica compreendendo o mesmo composto da presente invenção como ingrediente ativo apresenta excelente atividade inibitória da DPP-IV e biodisponibilidade, podendo então ser útil à profilaxia ou tratamento de várias doenças 15 consideradas causadas pela DPP-IV, tal como a diabetes e obesidade.

### **BREVE DESCRIÇÃO DOS DESENHOS**

A Fig. 1 mostra correlações entre a atividade da DPP-IV no plasma e a dose do fármaco, obtida para MK-0431 e 20 um composto do Exemplo 1; e

A Fig. 2 mostra a medição e os resultados de comparação da duração da atividade inibitória da DPP-IV obtida para MK-0431 e um composto do Exemplo 1 em ratos de laboratório.

Agora, a presente invenção será descrita em mais detalhes com referência aos Exemplos a seguir. Esses exemplos são apresentados apenas para ilustrar a presente invenção e não devem ser interpretados como limitação ao âmbito 5 e espírito da presente invenção.

**Exemplo 1: Preparação do cloridrato de (R)-4-[**(R)**-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona**

**Etapa 1: Preparação do 1-tritilaziridina-2-carboxilato de (R)-metila**

200 g de cloridrato do éster metílico de D-serina foram adicionados a 1,8 L de clorofórmio, e a solução de reação foi resfriada a 0°C, à qual 448 mL de trietilamina foram então lentamente adicionados. 358,4 g de cloreto de tritila foram 15 lentamente adicionados à mistura de reação, que foi então agitada por 1 hora. A mistura de reação foi aquecida à temperatura ambiente, e 1 L de clorofórmio foi adicionado a ela, seguido de lavagem com 2,5 L de água. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de magnésio e resfriada a 0°C, sendo então adicionados 20 de forma lenta e sequencial de 484 mL de trietilamina e 15,7 g de 4-metilaminopiridina. A mistura de reação foi agitada durante 5 min e 139 mL de cloreto de metano sulfonila foram lentamente adicionados a ela. A mistura de reação foi aquecida à temperatura ambiente, agitada por mais 4 horas e então mantida sob refluxo 25 por 12 horas. A mistura de reação foi resfriada à temperatura ambiente, e lavada com 4 L de água e então 3 L de salmoura. A

camada orgânica foi seca sobre sulfato de magnésio e concentrada à secura sob pressão reduzida. 3 L de etanol foram adicionados ao resíduo resultante, que foi então agitado. Os sólidos resultantes foram filtrados para obter 329 g do composto titular.

<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 7,42 to 7,49(m, 6H), 7,18 to 7,32(m, 9H), 7,68(s, 1H), 3,74(s, 3H), 2,24(m, 1H), 1,87(m, 1H), e 1,40(m, 1H)

## Etapa 2: Preparação do 2-metil aziridina-1,2-dicarboxilato de (R)-1-benzila

328,4 g de 1-tritilaziridina-2-carboxilato de (R)-metila foram dissolvidos em 1,4 L de clorofórmio e a solução de reação foi resfriada a 0°C, à qual 462 mL de ácido trifluoroacético foram então lentamente adicionados. A mistura de reação foi agitada por 1 hora, à qual 2 L de água foram então adicionados, seguido de agitação por 10 min e remoção da camada orgânica. A camada aquosa foi neutralizada com hidrogenocarbonato de sódio e usada nas reações subsequentes sem purificação adicional.

2 L de éter dietílico e 120,5 g de hidrogenocarbonato de sódio foram adicionados à camada aquosa, e a solução de reação foi resfriada a 0°C, à qual 165 mL de cloroformato de benzila foram então lentamente adicionados gota a gota. A mistura de reação foi agitada por mais 2 horas e a camada aquosa foi descartada. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de magnésio, concentrada e seca sob pressão reduzida, e purificada por cromatografia em coluna, obtendo assim 108,5 g do composto titular.

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

**Etapa 3: Preparação do éster metílico de (R)-**

5 **2-amino-3-t-butoxipropano**

1,1 g de 2-metil aziridina-1,2-dicarboxilato de (R)-1-benzila foi dissolvido em 11 mL de clorofórmio, ao qual 18 mL de t-butanol foi então adicionado. À mistura de reação, foi lentamente adicionada gota a gota 1,2 mL de  $\text{BF}_3\text{OEt}_2$ , seguido de agitação por 12 horas. A reação foi terminada com a adição de 2 L de água à mistura de reação. Em seguida, a camada orgânica foi separada e seca sobre sulfato de magnésio, concentrada e seca sob pressão reduzida, e então usada nas reações subsequentes sem purificação adicional.

15 O resíduo resultante foi dissolvido em 10 mL de metanol, ao qual 740 mg de paládio/carbono em 2 mL de acetato de etila foi então adicionado, seguido de borbulhamento de hidrogênio por 1 hora sob pressão atmosférica ambiente. A mistura de reação foi filtrada e seca sob pressão reduzida para 20 obter 736 mg do composto titular.

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

**Etapa 4: Preparação do éster metílico do ácido (R)-3-ter-butoxi-2-(2-(ter-butoxicarbonilamino) 25 etilamino)propiônico**

736 mg do éster metílico de (R)-2-amino-3-t-butoxipropano preparado na Etapa 3 foram dissolvidos em 14 mL de diclorometano, ao qual 6335 mg de N-t-butoxicarbonil-2-aminoacetaldeído metanol foram então lentamente adicionados. A 5 mistura de reação foi resfriada à 0°C, seguido da adição gradual de 1,2 mL de trietilamina e 1,78 g de triacetoxiboroidreto de sódio. A mistura de reação foi aquecida à temperatura ambiente, seguido de agitação por 12 horas. Uma solução de hidrogenocarbonato de sódio foi adicionada para terminar a reação, e a camada orgânica 10 foi lavada com 10 mL de água e salmoura, concentrada e seca sob pressão reduzida. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna, obtendo assim 335 mg do composto titular.

1H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 5,10(m, 1H), 15 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), e 1,13(s, 9H)

**Etapa 5: Preparação do éster metílico do ácido (R)-2-((benziloxicarbonil)(2-t-butoxicarbonilamino)etil)amino)-3-ter-butoxipropiônico**

20 355 mg do éster metílico do ácido (R)-3-ter-butoxi-2-(2-(ter-butoxicarbonilamino)etilamino)propiônico preparado na Etapa 4 foram dissolvidos em 11 mL de tetraidrofurano, e a mistura de reação foi resfriada a 0°C, à qual 187 mg de hidrogenocarbonato de sódio foram então adicionados. 25 192 μL de benzicloroformato foram lentamente adicionados gota a

gota, e a mistura de reação foi aquecida à temperatura ambiente. Após 12 horas, a mistura de reação foi seca sob pressão reduzida, seguido da adição de 10 mL de acetato de etila, e a camada orgânica foi lavada com 10 mL de água. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de magnésio, seca sob pressão reduzida, e purificada por cromatografia em coluna, obtendo assim 410 mg do composto titular.

1H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 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), e 1,14(s, 9H)

**Etapa 6: Preparação do 2-(ter-butoximetil)-3-oxopiperazina-1-carboxilato de (R)-benzila**

410 mg do éster metílico do ácido (R)-2-((benziloxicarbonil)(2-t-butoxicarbonilamino)etil)amino)-3-ter-butoxipropiônico preparado na Etapa 5 foram dissolvidos em 10 mL de metanol, e a mistura de reação foi resfriada a 0°C, à qual 4 mL de ácido 2-N clorídrico/éter dietílico foram então adicionados, seguido de agitação por 3 horas. A mistura de reação foi seca sob pressão reduzida e usada nas reações subsequentes sem purificação adicional.

O resíduo resultante foi dissolvido em 10 mL de ciclorometano e a mistura de reação foi resfriada a 0°C, à qual 152 μL de trietilamina foram então lentamente adicionados. Adicionou-se lentamente 1,1 mL de trimetilalumínio (2,0 M de

solução em tolueno), e a mistura de reação foi aquecida à temperatura ambiente e então agitada por 12 horas. A mistura de reação foi agitada a 0°C e uma solução aquosa de cloreto de amônio saturada foi adicionada para terminar a reação. 10 mL de acetato de etila foram adicionados à mistura de reação, que foi então lavada com 10 mL de salmoura. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de magnésio e seca sob pressão reduzida. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna, obtendo assim 103 mg do composto titular.

1H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 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), e 1,09(s, 9H)

**Etapa 7: Preparação da (R)-(3-ter-**

**butoximetil)piperazin-2-ona**

103 mg do 2-(ter-butoximetil)-3-oxopiperazina-1-carboxilato de (R)-benzila preparado na Etapa 6 foram dissolvidos em 2 mL de metanol, adicionando-se então 50 mg de paládio/carbono em 1 mL de acetato de etila, seguido de borbulhação de hidrogênio por 1 hora sob pressão atmosférica ambiente. A mistura de reação foi filtrada e seca sob pressão reduzida para obter 58 mg do composto titular.

1H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 6,41(brs, 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(brs, 1H), e 1,17(s, 9H)

**Etapa 8: Preparação do (R)-4-[(R)-2-(ter-butoximetil)-3-oxopiperazin-1-il]-4-oxo-1-(2,4,5-trifluorofenil)butan-2-ilcarbamato de ter-butila**

104 mg do ácido (3R)-t-butoxicarbonilamino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanóico e 58 mg de (R)-(3-ter-butoximetil)piperazin-2-ona foram adicionados a 4 mL de N,N-dimetilformamida, aos quais foram então adicionados 63 mg de 1-hidroxibenzotriazol (HOBT) e 217  $\mu\ell$  de diisopropiletilamina. A mistura de reação foi resfriada a 0°C e 78 mg de 1-etyl-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) foram adicionados a ela, seguido de agitação à temperatura ambiente por 12 horas. A mistura de reação foi diluída com 10 mL de acetato de etila e lavada duas vezes com salmoura. A camada orgânica foi seca sobre sulfato de magnésio e concentrada. O resíduo resultante foi purificado por cromatografia em coluna, obtendo assim 97 mg do composto titular.

1H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): 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), e 1,13(s, 9H)

**Etapa 9: Preparação do cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(ter-butoximetil)piperazin-2-ona**

97 mg do (R)-4-[(R)-2-(ter-butoximetil)-3-oxopiperazin-1-il]-4-oxo-1-(2,4,5-trifluorofenil)butan-2-

ilcarbamato de ter-butila preparado na etapa 8 foram dissolvidos em 3 mL de metanol, seguido da adição de 2 mL de ácido 2N-clorídrico/éter dietílico e agitação à temperatura ambiente por 3 horas. A mistura de reação foi concentrada e seca sob pressão reduzida para obter 64 mg do composto titular como um sólido espumoso.

1H NMR (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), e 1,11(s, 6H)

Massa (M+1): 402

**Exemplo 2: Preparação do cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(metoximetil)piperazin-2-ona**

15 Utilizou-se metanol em vez de t-butanol na Etapa 3 do Exemplo 1, e 40 mg do composto titular foram então sintetizados de forma similar às Etapas 4 a 9 do Exemplo 1.

20 1H NMR (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), e 3,27(s, 3H)

Massa (M+1): 360

**Exemplo 3: Preparação do cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(etoximetil)piperazin-2-ona**

Utilizou-se etanol em vez de t-butanol na Etapa 3 do Exemplo 1, e 66 mg do composto titular foram então sintetizados de forma similar às Etapas 4 a 9 do Exemplo 1.

1H NMR (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), e 1,11(t, 3H)

Massa (M+1): 374

**Exemplo 4: Preparação do cloridrato de (R)-**

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

Utilizou-se isopropanol em vez de t-butanol na Etapa 3 do Exemplo 1, e 69 mg do composto titular foram então sintetizados de forma similar às Etapas 4 a 9 do Exemplo 1.

1H NMR (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), e 1,15(m, 6H)

Massa (M+1): 388

**Exemplo 5: Preparação do cloridrato de (R)-**

**4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(ciclopentiloximetil)piperazin-2-ona**

Utilizou-se ciclopentanol em vez de t-butanol na Etapa 3 do Exemplo 1, e 51 mg do composto titular foram então sintetizados de forma similar às Etapas 4 a 9 do Exemplo 1.

1H NMR (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), e 1,67-1,50(m, 8H)

5 Massa (M+1): 414

**Exemplo 6: Preparação do dicloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(dietilamino)metil]piperazin-2-ona**

Adicionou-se dietilamina em vez de t-butanol, 10 realizando-se refluxo em vez da adição de  $\text{BF}_3\text{OEt}_2$  na Etapa 3 do Exemplo 1, e 68 mg do composto titular foram então sintetizados de forma similar às Etapas 4 a 9 do Exemplo 1.

15 1H NMR (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), e 1,37(m, 6H)

20 Massa (M+1): 401

**Exemplo 7: Preparação do dicloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(etilmetylamino)metil]piperazin-2-ona**

Adicionou-se etilmetylamina em vez de t-butanol, realizando-se refluxo em vez da adição de  $\text{BF}_3\text{OEt}_2$  na Etapa 3 do Exemplo 1, e 67 mg do composto titular foram então sintetizados de forma similar às Etapas 4 a 9 do Exemplo 1.

25 1H NMR (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), e 1,38(m, 3H)

Massa (M+1): 387

**Exemplo 8: Preparação do dicloridrato de**  
**5 (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-**  
**(morfolinometil)piperazin-2-ona**

Adicionou-se morfolina em vez de t-butanol, realizando-se refluxo em vez da adição de  $\text{BF}_3\text{OEt}_2$  na Etapa 3 do Exemplo 1, e 27 mg do composto titular foram então sintetizados 10 de forma similar às Etapas 4 a 9 do Exemplo 1.

1H NMR (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), e 2,86-2,72(m, 2H)

15 Massa (M+1): 415

**Exemplo 9: Preparação do cloridrato de (R)-**  
**4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-**  
**butiliometil)piperazin-2-ona**

Utilizou-se t-butil tiol em vez de t-butanol na 20 Etapa 3 do Exemplo 1, e 25 mg do composto titular foram então sintetizados de forma similar às Etapas 4 a 9 do Exemplo 1.

1H NMR (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), 25 2,95(m, 1H), 2,81(m, 2H), e 1,26(s, 9H)

Massa (M+1): 418

**Exemplo 10: Preparação do cloridrato de (S)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona**

Utilizou-se cloridrato do éster metílico de L-serina em vez do cloridrato do éster metílico de D-serina na Etapa 5 1 do Exemplo 1, e 31 mg do composto titular foram então sintetizados de forma similar às Etapas 2 a 9 do Exemplo 1.

1H NMR (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), 3,86-10 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), a 1,03(s, 5H)

Massa (M+1): 402

**Exemplo 11: Preparação da (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona**

60 mg do composto obtido no Exemplo 1 foram adicionados a 10 mL de uma solução aquosa de hidrogenocarbonato de sódio a 5%, e a mistura foi extraída duas vezes com 10 mL de uma solução mista de diclorometano/20 propanol (4/1(v/v)). A camada orgânica foi seca sob pressão reduzida para obter 55 mg do composto titular como um sólido.

1H NMR (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, 25 2H), 1,16(s, 3H), e 1,11(s, 6H)

Massa (M+1): 402

**Exemplo 12: Preparação do tartarato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona**

5 55 mg do composto obtido no Exemplo 11 foram dissolvidos em 0,56 mL de acetona, a qual uma solução de 26 mg de ácido L-tartárico em 0,35 mL de etanol/água (9/1(v/v)) foi então lentamente adicionada, seguido de agitação por 30 min. 0,56 mL de 2-propanol foi adicionado a ela, seguido de agitação por 10 min e filtração para obter 77 mg do composto titular como 10 um sólido.

1H NMR (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), e 1,11(s, 6H)

15 Massa (M+1): 402

**Exemplo 13: Preparação do citrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona**

496 mg do composto obtido no Exemplo 11 20 foram dissolvidos em 2 mL de etanol, ao qual uma solução de 273 mg de ácido cítrico anidro em 1 mL de água foi então lentamente adicionada, seguido de agitação por 30 min. A mistura de reação foi concentrada, à qual 2 mL de acetato de etila e 2 mL de 2-propanol foram então adicionados seguido de agitação. 15 mL de 25 hexano foi adicionado a ela, seguido de agitação por 10 min e filtração para obter 637 mg do composto titular como um sólido.

1H NMR (400MHz, 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), e 1,12(s, 6H)

5 Massa (M+1): 402

**Exemplo 14: Preparação do fosfato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona**

501 mg do composto obtido no Exemplo 11 foram dissolvidos em 3 mL de etanol, ao qual uma solução de 84  $\mu\ell$  de uma solução aquosa de cítrico fosfórico a 85% foi então lentamente adicionada, seguido de agitação por 30 min. 3 mL de 2-propanol foram adicionado a ela, e a mistura resultante foi agitada por 10 min e filtrada para obter 100 mg do composto titular como um sólido.

1H NMR (400MHz, 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), e 1,12(s, 6H)

20 Massa (M+1): 402

**Exemplo 15: Preparação do acetato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona**

500 mg do composto obtido no Exemplo 11 foram dissolvidos em 3 mL de acetato de etila, ao qual uma

solução de 74,5 mg de ácido acético em 1 mL de acetato de etila foi então lentamente adicionada, seguido de agitação por 30 min. A mistura de reação foi concentrada, à qual 2 mL de acetato de etila e 2 mL de 2-propanol foram então adicionados seguido de agitação. 15 mL de hexano foram adicionado a ela, e a mistura resultante foi agitada por 10 min e filtrada para obter 495 mg do composto titular como um sólido.

1H NMR (400MHz, 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), e 1,12(s, 6H)

Massa (M+1): 402

**Exemplo 16: Preparação do malato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona**

498 mg do composto obtido no Exemplo 11 foram dissolvidos em 4 mL de acetona, ao qual uma solução de 166 mg de ácido L-málico anidro em 1 mL de acetona foi então lentamente adicionada, seguido de agitação por 30 min. A mistura de reação foi concentrada, à qual 2 mL de acetato de etila e 2 mL de 2-propanol foram então adicionados seguido de agitação. 15 mL de hexano foram adicionado a ela, e a mistura resultante foi agitada por 10 min e filtrada para obter 506 mg do composto titular como um sólido.

25 1H NMR (400MHz, 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, 1H), 1,17(s, 3H), e 1,12(s, 6H)

Massa (M+1): 402

5 **Exemplo 17: Preparação do succinato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona**

498 mg do composto obtido no Exemplo 11 foram dissolvidos em 3 mL de acetona, à qual uma solução de 10 147 mg de ácido succínico em 2 mL de acetona/água (20/1(v/v)) foi então lentamente adicionada, seguido de agitação por 30 min. A mistura de reação foi concentrada à secura sob pressão reduzida para obter 596 mg do composto titular como um sólido.

1H NMR (400MHz, CD3OD): 7,34(m, 1H), 15 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), e 1,12(s, 6H)

Massa (M+1): 402

20 **Exemplo 18: Preparação do adipato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona**

503 mg do composto obtido no Exemplo 11 foram dissolvidos em 3 mL de acetato de etila, ao qual uma solução de 183 mg de ácido adípico em 3 mL de acetona/água 25 (30/1(v/v)) foi então lentamente adicionada, seguido de agitação por 30 min. A mistura de reação foi concentrada, à qual 2 mL de

acetato de etila e 2 mL de 2-propanol foram então adicionados seguido de agitação. 15 mL de hexano foram adicionado a ela, e a mistura resultante foi agitada por 10 min e filtrada para obter 336 mg do composto titular como um sólido.

5  $^1\text{H}$  NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD): 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), e 1,12(s, 6H).

Massa (M+1): 402

10 **Exemplo Experimental 1: Ensaio de atividade inibitória da DPP-IV**

De modo a examinar a capacidade inibitória da DPP-IV dos Compostos Inventivos da Fórmula 1 preparados nos Exemplos 1 a 18, o seguintes experimentos foram realizados.

15 A DPP-IV conhecida como serina protease foi adquirida pela R & D Systems. O MK-0431 como controle foi preparado segundo o método revelado em J. Med. Chem., 2005, 48, 141-151. A fim de avaliar a eficácia do fármaco dos Compostos Inventivos da Fórmula 1, a atividade de ligação dos 20 inibidores sintéticos da DPP-IV foi medida usando o substrato fluorogênico Gly-Pro-AMC. A reação enzimática foi realizada a 25°C em uma solução tampão contendo 25 mM Tris/HCl (pH 8,0) usando 50  $\mu\text{M}$  de Gly-Pro-AMC em relação a 100 ng/mL de DPP-IV com concentrações variáveis do inibidor. A IC<sub>50</sub>, que é 25 uma constante de inibição do inibidor, foi obtida medindo a fluorescência com um espectrofluorômetro após a reação

enzimática por 1 hora, e então calculando a concentração do inibidor que é necessária para inibir a reação enzimática da DPP-IV em 50%. O espectrofluorômetro era um espectrofotômetro Tecan SpectraFluor com um comprimento de onda de excitação de 360 nm e um comprimento de onda de emissão de 465 nm. Como resultado, a  $IC_{50}$ , medida como a capacidade do composto da Fórmula 1 em inibir a atividade da DPP-IV, estava na faixa de 0,5 a 20 nM (Tabela 1: atividade inibitória da DPP-IV humana *in vitro*). Com base neste resultado, é possível observar que o Composto Inventivo da fórmula 1 possui excelente atividade inibitória da DPP-IV, se comparado ao valor  $IC_{50}$  relatado para a JANUVIA comercialmente disponível ou dos compostos inibidores da DPP-IV convencionais (que variam de centenas de nM a milhares de nM).

[Tabela 1]

Exemplo Nº	$IC_{50}$ (nM)
MK-0431	28,3
Exemplo 1	0,72
Exemplo 2	7,4
Exemplo 3	2,2
Exemplo 4	4,3
Exemplo 5	1,7
Exemplo 6	11,0
Exemplo 7	17,4
Exemplo 8	5,2
Exemplo 9	1,3
Exemplo 10	48,7
Exemplo 11	0,8
Exemplo 12	1,05
Exemplo 13	0,81
Exemplo 14	0,92
Exemplo 15	0,87
Exemplo 16	0,73
Exemplo 17	1,2
Exemplo 18	0,71

## **Exemplo Experimental 2: Teste de tolerância à glicose oral (OGTT)**

De modo a investigar os efeitos anti-diabéticos de uma composição farmacêutica compreendendo o Composto

5 Inventivo da Fórmula 1 como ingrediente ativo, realizou-se o teste de tolerância à glicose oral (OGTT), que mede a capacidade do corpo em metabolizar a glicose dentro de um certo período de tempo.

Para esse fim, animais de laboratório (camundongos C57BL/6) foram mantidos em jejum durante 16 a

10 17 horas antes dos experimentos. O sangue foi coletado das veias de cauda dos animais na manhã do dia do experimento e um nível de glicemia foi medido com um Medidor de Glicemia Ativo Accu-Chek (Roche Diagnostics). A composição farmacêutica com um veículo foi administrada oralmente 30 min antes da 15 administração da glicose (-30 min), seguido da administração oral de uma solução de glicose (2 g/kg/10 mL) após 30 min (0 min). A coleta de sangue foi realizada em momentos específicos – logo antes da administração do fármaco, logo antes da administração da glicose, e 5, 15, 30, 60 e 90 min após a administração da glicose.

20 Como resultado, os Exemplos 1, 3 e 12 apresentaram efeitos superiores de redução da glicemia de 54%, 52% e 62%, respectivamente, a uma dose de 1 mg/Kg, se comparado ao grupo controle (nenhuma administração de uma composição com um veículo). Com base nesses resultados, pode- 25 se ver que o Composto Inventivo da Fórmula 1 pode ser útil ao

tratamento de doenças relacionadas à DPP-IV, incluindo diabetes e obesidade, por causa da alta biodisponibilidade.

**Exemplo Experimental 3: Correlação farmacocinética/farmacodinâmica do inibidor da DPP-IV (atividade da DPP-IV no plasma versus dose do fármaco)**

A fim de averiguar os efeitos anti-diabéticos do Composto Inventivo da Fórmula 1, realizou-se uma avaliação comparativa na atividade inibitória da DPP-IV no plasma entre os Compostos Inventivos e o MK-0431. Camundongos C57BL6 com 10 8 semanas de idade receberam administração oral do MK-0431 e do Composto Inventivo (composto do Exemplo 1) a doses individuais, seguido de administração de glicose a uma dose de 2 g/kg após 1 hora. 10 min depois, o sangue foi coletado dos olhos dos animais. O plasma sanguíneo foi obtido do sangue coletado, e a atividade da 15 DPP-IV no plasma e a concentração do fármaco no plasma foram medidas.

A atividade da DPP-IV no plasma foi obtida medindo-se uma quantidade de AMC fluorescente (7-Amino-4-metilcoumarina) liberada pela ação da DPP-IV após o uso da Gly-Pro-AMC (Bachem, Suíça) como substrato. Para esse fim, 50  $\mu\ell$  20 de plasma foram adicionados a uma solução de reação (100 mM HEPES, pH 7,6, 0,1 mg/mL, 50  $\mu\text{M}$  Gly-Pro-AMC), e uma taxa de liberação de AMC foi calculada a 25  $\square$  por 5 min.

Como resultado, o composto da Fórmula 1 (Exemplo 1) apresentou atividade inibitória de 4 a 5 vezes a uma 25 concentração plasmática de 10 ng/mL, junto com uma  $\text{EC}_{50}$

(concentração efetiva de 50%) e EC<sub>80</sub> (concentração efetiva de 80%) 8 a 9 vezes maior, se comparado ao MK-0431 (vide a Fig. 1).

**Exemplo Experimental 4: Ensaio da DPP-IV**  
***in vivo (duração da atividade inibitória da DPP-IV)***

5 A fim de investigar os efeitos anti-diabéticos do Composto Inventivo da Fórmula 1, a atividade inibitória da DPP-IV no plasma e a duração desta foram avaliadas comparativamente entre o MK-0431 e o Composto Inventivo (Exemplo 1), após a administração dos compostos do fármaco em ratos SD normais.

10 Para esse fim, animais de laboratório (ratos SD) foram mantidos em jejum durante 16 a 17 horas antes dos experimentos. No dia do experimento, os animais em jejum foram anestesiados com éter, seguido de canulação aórtica abdominal. Em seguida, o MK-0431 e o Composto Inventivo (Exemplo 1) 15 foram diluídos a 0,5% MC e administrados a animais. Antes da administração do fármaco (0h) e após períodos de tempo designados após a administração do fármaco, o sangue foi coletado em tubos de heparina de 500  $\mu\text{l}$  previamente preparados e o plasma foi separado. 50  $\mu\text{l}$  de plasma foram adicionados a 20 cada solução de reação (0,1M HEPES, pH 7,6, 0,1 mg/mL, 50  $\mu\text{M}$  Gly-Pro-AMC) e um estudo cinético foi realizado durante 5 min para calcular uma taxa de reação.

Como resultado, constatou-se que o Composto Inventivo, a uma dose de 10 mg/kg, retém 90% ou mais da 25 atividade inibitória da DPP-IV até 24 horas após a administração,

o que constitui uma atividade significativamente superior se considerarmos o fato de que o MK-0431 reteve apenas cerca de 50% da atividade inibitória da DPP-IV após o mesmo período de 24 horas (vide a Fig. 2).

**Exemplo Experimental 5: Experimentos cinéticos *in***

5 **vivo**

De modo a medir a meia-vida *in vivo* do Composto Inventivo da Fórmula 1, ratos SD normais (com 8 semanas de idade) receberam administração oral de MK-0431 e do Composto Inventivo (Exemplos 1, 3 e 12) a uma dose de 10 mg/kg. O sangue foi amostrado 10 da aorta femoral periodicamente e o tempo de retenção *in vivo* do composto original foi medido. Como resultado, o Composto Inventivo apresentou meia-vida *in vivo* superior (T1/2) à do MK-0431.

[Tabela 1]

	Exemplo 1	Exemplo 3	Exemplo 12	MK-0431
T1/2 (hora)	7,9	7,6	5,5	4,8

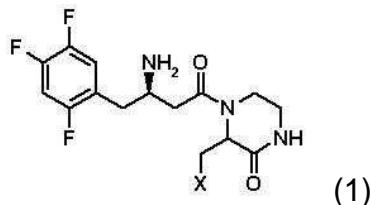
15

**APLICABILIDADE INDUSTRIAL**

Como fica evidente na descrição anterior, a presente invenção possibilita a produção de um composto heterocíclico contendo um grupo beta-amino, que apresenta excelentes efeitos inibitórios sobre a atividade da DPP-IV. Ademais, uma 20 composição farmacêutica compreendendo o mesmo composto da presente invenção como ingrediente ativo apresenta excelente atividade inibitória da DPP-IV e biodisponibilidade, podendo então ser útil à profilaxia ou tratamento de várias doenças consideradas causadas pela DPP-IV, tal como a diabetes e obesidade.

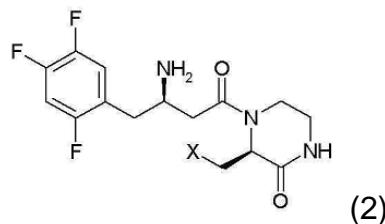
## REIVINDICAÇÕES

1. Composto, **caracterizado** por ser representado pela Fórmula 1:



em que X é OR<sub>1</sub>, SR<sub>1</sub> ou NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>, em que R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> são independentemente alquila inferior C<sub>1</sub> a C<sub>5</sub>, e R<sub>1</sub> e R<sub>2</sub> de NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub> podem formar um anel de 5 a 7 membros com inclusão de um heteroátomo O; ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

2. Composto, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que é representado pela Fórmula 2:



em que X é conforme definido na reivindicação 1; ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo.

3. Composto, de acordo com a reivindicação 1, **caracterizado** pelo fato de que é selecionado a partir do grupo que consiste em:

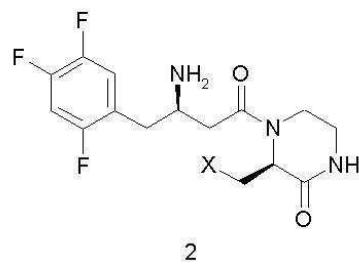
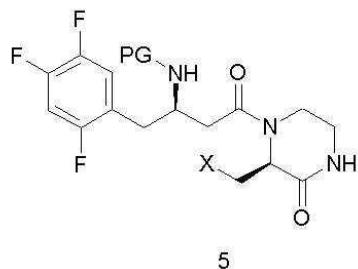
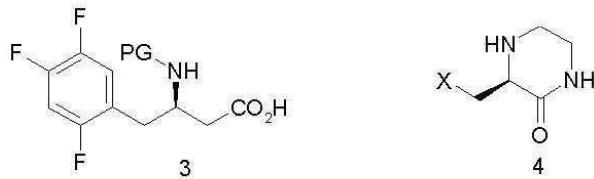
- 1) cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(metoximetil)piperazin-2-ona;
- 2) cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(etoximetil)piperazin-2-ona;
- 3) cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(isopropoximetil)piperazin-2-ona;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

- 5) cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(ciclopentiloximetil)piperazin-2-ona;
- 6) dicloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(dietilamino)metil]piperazin-2-ona;
- 7) dicloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(etilmethylamino)metil]piperazin-2-ona;
- 8) dicloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(morfolinometil)piperazin-2-ona;
- 9) cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butiltiometil)piperazin-2-ona;
- 10) cloridrato 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) tartarato 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;
- 17) succinato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona; e
- 18) adipato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona.

4. Método para preparação de um composto representado pela Fórmula 2 conforme definido na reivindicação 2, **caracterizado** por compreender:

1) reagir um composto da Fórmula 3 contendo um grupo beta amino com um composto heterocíclico substituído da Fórmula 4 na presença de 1-hidroxibenzotriazol (HOBT), 1-etyl-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) e amina terciária para, dessa forma, preparar um composto da Fórmula 5, e

2) tratar o composto da Fórmula 5 obtido pela etapa (1) com um ácido para preparar um composto de Fórmula 2:



em que X é OR1, SR1 ou NR1R2, em que R1 e R2 são independentemente alquila inferior C1 a C5, e R1 e R2 de NR1R2 podem formar um anel de 5 a 7 membros com inclusão de um heteroátomo O.

5. Composição farmacêutica para a prevenção e tratamento da diabetes ou obesidade, **caracterizada** por compreender um composto conforme definido na reivindicação 1 representado pela Fórmula 1 ou um sal farmaceuticamente aceitável do mesmo como ingrediente ativo.

6. Composição, de acordo com a reivindicação 5, **caracterizada** pelo fato de que o composto é selecionado a partir do grupo que consiste em:

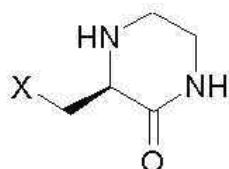
- 1) cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona;
- 2) cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(etoximetil)piperazin-2-ona;
- 3) cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(isopropoximetil)piperazin-2-ona;
- 4) cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(metoximetil)piperazin-2-ona;
- 5) cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(ciclopentiloximetil)piperazin-2-ona;
- 6) dicloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(dietilamino)metil]piperazin-2-ona;
- 7) dicloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-[(etilmethylamino)metil]piperazin-2-ona;
- 8) dicloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(morfolinometil)piperazin-2-ona;
- 9) cloridrato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butiltiometil)piperazin-2-ona;
- 10) cloridrato 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) tartarato 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;
- 17) succinato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona; e
- 18) adipato de (R)-4-[(R)-3-amino-4-(2,4,5-trifluorofenil)butanoil]-3-(t-butoximetil)piperazin-2-ona.

7. Uso de uma composição farmacêutica compreendendo o composto conforme definido em qualquer uma das reivindicações 1 a 3, **caracterizado** por ser na preparação de um medicamento para a prevenção e tratamento da diabetes ou obesidade.

8. Método, de acordo com a reivindicação 4, **caracterizado** pelo fato de que o PG é Boc.

9. Composto, **caracterizado** por ser representado pela Fórmula 4, usado para preparar um composto de Fórmula 2 conforme definido na reivindicação 2:



(4)

em que X é OR1, SR1 ou NR1R2, em que R1 e R2 são independentemente alquila inferior C<sub>1</sub> a C<sub>5</sub>, e R1 e R2 de NR1R2 podem formar um anel de 5 a 7 membros com inclusão de um heteroátomo O.

10. Composto, de acordo com a reivindicação 10, **caracterizado**

pelo fato de que o X é selecionado a partir do grupo consistindo em tert-butóxi, metóxi, etóxi, isopropóxi, ciclopentilóxi, dietilamino, etilmetilamino, morfolino e tert-butiltio.

11. Composto, de acordo com a reivindicação 10, **caracterizado** pelo fato de que o X é tert-butóxi.

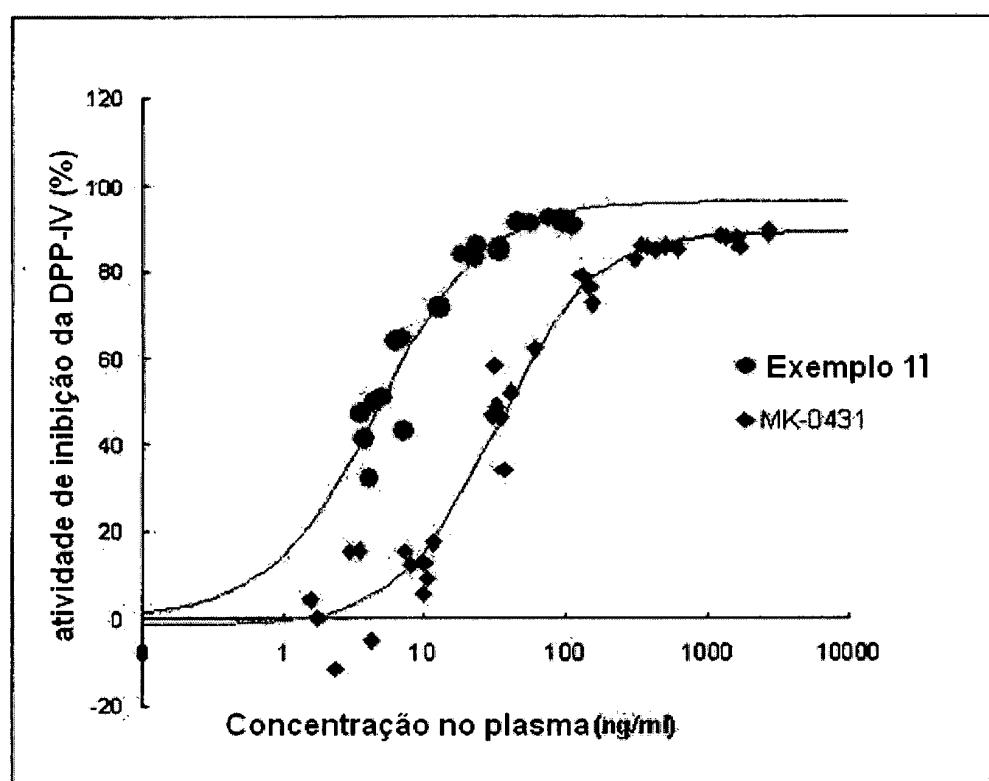
**Fig. 1**

Fig. 2

