



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,  
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) **RU** (11) **2 419 615** (13) **C1**

(51) МПК

*C07D 241/08* (2006.01)

*C07D 407/06* (2006.01)

*A61K 31/496* (2006.01)

*A61K 31/495* (2006.01)

*A61K 31/5377* (2006.01)

*A61P 3/10* (2006.01)

*A61P 3/04* (2006.01)

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2009142602/04, 18.04.2008

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
18.04.2008

Приоритет(ы):

(30) Конвенционный приоритет:  
19.04.2007 KR 10-2007-0038462

(45) Опубликовано: 27.05.2011 Бюл. № 15

(56) Список документов, цитированных в отчете о  
поиске: WO 2005123685 A1, 29.12.2005. WO  
2005056003 A1, 23.06.2005. WO 2005121131 A1,  
22.12.2005. WO 2005095343 A1, 13.10.2005. US  
20070049619 A1, 01.03.2007. RU 2243222 C2,  
27.12.2004. RU 2241702 C2, 10.12.2004.

(85) Дата начала рассмотрения заявки РСТ на  
национальной фазе: 19.11.2009

(86) Заявка РСТ:  
KR 2008/002203 (18.04.2008)

(87) Публикация заявки РСТ:  
WO 2008/130151 (30.10.2008)

Адрес для переписки:  
129090, Москва, ул.Б.Спасская, 25, стр.3,  
ООО "Юридическая фирма Городисский и  
Партнеры", пат.пов. Е.Е.Назиной

(72) Автор(ы):

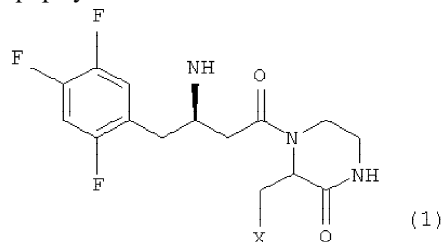
КИМ Хеунг Дзае (KR),  
КВАК Воо Янг (KR),  
ШИН Чанг Йелл (KR),  
КИМ Хадонг (KR),  
МИН Дзонг Пил (KR),  
ПАРК Киунг Дзин (KR),  
ЛИ Дзае Янг (KR),  
ЧОИ Сонг-Хиен (KR),  
ЙООН Тае Хиун (KR),  
КИМ Хае-Сун (KR),  
ДЗАНГ Дзи Миун (KR),  
КИМ Ми-Киунг (KR),  
СОН Моон-Хо (KR),  
КИМ Соон Хое (KR),  
ЙОО Моохи (KR)

(73) Патентообладатель(и):  
ДОНГ-А ФАРМ.КО., ЛТД. (KR)

## (54) ИНГИБИТОР DPP-IV, ВКЛЮЧАЮЩИЙ БЕТА-АМИНОГРУППУ, СПОСОБ ЕГО ПОЛУЧЕНИЯ И СОДЕРЖАЩАЯ ЕГО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ КОМПОЗИЦИЯ ДЛЯ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ЛЕЧЕНИЯ ДИАБЕТА ИЛИ ОЖИРЕНИЯ

(57) Реферат:

Изобретение относится к соединению формулы 1



где X представляет собой OR1, SR1 или NR1R2, где R1 и R2 независимо представляют собой C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> низший алкил, и R1 и R2 в NR1R2 могут образовывать 5-7-членное кольцо, включающее гетероатом О; или к его стереоизомеру, фармацевтически приемлемой соли, гидрату или сольвату. Изобретение также относится к способу его получения и к фармацевтической композиции на его основе, обладающей ингибиторной активностью в отношении DPP-IV. Технический результат -

получены новые соединения, которые могут найти свое применение в медицине для предупреждения или лечения связанных с DPP-

IV заболеваний, таких как диабет или ожирение. 6 н. и 6 з.п. ф-лы, 1 табл., 2 ил.

RU 2 4 1 9 6 1 5 C 1

RU 2 4 1 9 6 1 5 C 1



FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,  
PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** (11) **2 419 615** (13) **C1**

(51) Int. Cl.

*C07D* 241/08 (2006.01)

*C07D* 407/06 (2006.01)

*A61K* 31/496 (2006.01)

*A61K* 31/495 (2006.01)

*A61K* 31/5377 (2006.01)

*A61P* 3/10 (2006.01)

*A61P* 3/04 (2006.01)

## (12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: 2009142602/04, 18.04.2008

(24) Effective date for property rights:  
18.04.2008

Priority:

(30) Priority:  
19.04.2007 KR 10-2007-0038462

(45) Date of publication: 27.05.2011 Bull. 15

(85) Commencement of national phase: 19.11.2009

(86) PCT application:  
KR 2008/002203 (18.04.2008)

(87) PCT publication:  
WO 2008/130151 (30.10.2008)

Mail address:

129090, Moskva, ul.B.Spaskaja, 25, str.3, OOO  
"Juridicheskaja firma Gorodisskij i Partnery",  
pat.pov. E.E.Nazinoj

(72) Inventor(s):

KIM Kheung Dzae (KR),  
KVAK Voo Jang (KR),  
ShIN Chang Jell (KR),  
KIM Khadong (KR),  
MIN Dzong Pil (KR),  
PARK Kiung Dzin (KR),  
LI Dzae Jang (KR),  
ChOI Song-Khien (KR),  
JOON Tae Khiun (KR),  
KIM Khae-Sun (KR),  
DZANG Dzi Miun (KR),  
KIM Mi-Kiung (KR),  
SON Moon-Kho (KR),  
KIM Soon Khoe (KR),  
JOO Mookhi (KR)

(73) Proprietor(s):

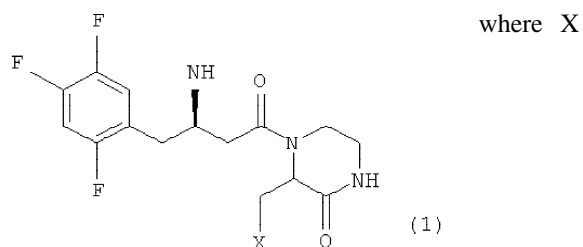
DONG-A FARM.KO., LTD. (KR)

(54) DPP-IV INHIBITOR CONTAINING BETA AMINO GROUP, METHOD FOR MAKING THEREOF AND PHARMACEUTICAL COMPOSITION CONTAINING IT FOR PREVENTION AND TREATMENT OF DIABETES OR OBESITY

(57) Abstract:

FIELD: medicine, pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention refers to a compound of formula



represents OR1, SR1 or NR1R2 where R1 and R2

independently represent C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> lower alkyl, and R1 and R2 in NR1R2 can form a 5-7-members ring including an O heteroatom; or to its stereoisomer, to a pharmaceutically acceptable salt, hydrate or solvate. Besides, the invention refers to a method for making thereof and to a based pharmaceutical composition exhibiting DPP-IV inhibitor activity.

EFFECT: new compounds which can find application in medicine for prevention or treatment of the DPP-IV associated diseases, such as diabetes or obesity are produced.

12 cl, 1 tbl, 2 dwg, 18 ex

## ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ, К КОТОРОЙ ОТНОСИТСЯ ИЗОБРЕТЕНИЕ

Настоящее изобретение относится к гетероциклическому соединению, содержащему бета-аминогруппу, которое обладает превосходной ингибиторной активностью в отношении дипептидилпептидазы-IV (в дальнейшем в настоящем документе обозначаемой как "DPP-IV") и высокой биодоступностью, и к фармацевтической композиции, содержащей указанное гетероциклическое соединение или его фармацевтически приемлемую соль в качестве активного ингредиента.

## УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Фермент дипептидилпептидаза IV, сокращаемый в настоящем документе как DPP-IV (и в других документах как DP-IV, DP-4 или DAP-IV) а также по классификации известный как ЕС. 3.4.14.5, представляет собой сериновую протеазу (Barrett A. J. et al., Arch. Biochem. Biophys., 1995, 247-250), которая отщепляет N-концевой дипептид от пептидов, которые начинаются с последовательности H-Xaa-Pro-Y или H-Xaa-Ala-Y, где Xaa представляет собой любую липофильную аминокислоту, Pro представляет собой пролин и Ala представляет собой аланин (Heins J., et al., Biochim. et Biophys. Acta 1988, 161). DPP-IV широко распространен и встречается в различных тканях млекопитающих, таких как почка, печень и тонкий кишечник (Hegen M. et al., J. Immunol, 1990, 2908-2914). Впервые DPP-IV был идентифицирован как мембраносвязанный белок. Позднее была идентифицирована растворимая форма (Duke-Cohan J. S. et al., J. Biol. Chem., 1995, 14107-14114). Согласно недавно опубликованному исследованию и отчету, было выявлено, что такая растворимая форма DPP-IV обладает той же структурой и функцией, что и мембраносвязанная форма фермента, и она находится в крови без определенного мембраносвязанного домена (Christine D. et al., Eur. J. Biochem., 2000, 5608-5613).

Первоначальный интерес к DPP-IV был сфокусирован на его роли в активации Т-лимфоцитов. DPP-IV, ответственный за активацию Т-лимфоцитов, был конкретно обозначен как CD26. В отчете, в котором показано, что CD26 связывается или взаимодействует с вирусом иммунодефицита человека (HIV) (Gutheil W. G. et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 1994, 6594-6598), было сделано предположение, что ингибиторы DPP-IV могут быть пригодны для лечения СПИД (Doreen M. A. et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 1996, 2745-2748).

В дополнение к ключевой роли участия в иммунной системе основная функция DPP-IV связана с его пептидолитической активностью, как описано выше. В частности, роли DPP-IV уделяется внимание, поскольку было выявлено, что DPP-IV является ключевым ферментом, вовлеченным в деградацию глюкагон-подобного белка-1 (в дальнейшем в настоящем документе обозначаемого как "GLP-1") в тонком кишечнике (Mentlein R. et al., Eur. J. Biochem., 1993, 829-835). GLP-1 представляет собой пептидный гормон из 30 аминокислот, который секретируется L-клетками кишечника в качестве ответа тонкого кишечника на прием пищи (Goke R. et al., J. Biol. Chem., 1993, 19650-19655). Поскольку известно, что GLP-1 оказывает усиливающие эффекты на действие инсулина в отношении контроля уровней глюкозы в крови после приема пищи (Hoist J. J. et al., Diabetes Care, 1996, 580-586), было предположено, что ингибиторы DPP-IV также могут быть подходящим образом использованы для лечения диабета 2 типа. Исходя из этого предположения, была разработана ранняя форма ингибитора DPP-IV, и в некоторых отчетах была продемонстрирована терапевтическая эффективность лекарственного средства в экспериментах на животных (Pauly R. P. et al., Metabolism, 1999, 385-389). Кроме того, у дефицитных по DPP-IV мышей или крыс сохранялась активность GLP-1 и высокие уровни

инсулина, что приводило к снижению уровней глюкозы в крови, и такое генетическое нарушение или мутация гена DPP-IV не оказывала существенного эффекта на выживаемость отдельных животных (Marguet D. et al., Proc. Natl. Acad. Sci., 2000, 6874-6879). Следовательно, было предположено, что DPP-IV является возможным  
 5 сильнодействующим лекарственным средством для лечения диабета 2 типа, что привело к ускоренному исследованию и разработке ингибитора DPP-IV.

Связывание GLP-1 с рецептором в различных тканях приводит к сытости (ощущению наполненности), замедленному опорожнению желудка и ускоренному  
 10 росту бета-клеток поджелудочной железы. Таким образом, постепенно увеличивается количество клинических испытаний лечения диабета 2 посредством внутривенного введения непосредственно GLP-1 (Verdich C. et al., J. Clin. Endocrinol. Metab., 2001, 4382-4389). Время полужизни GLP-1 составляет только 2 мин (Kieffer T. J., et al.,  
 15 Endocrinology, 1995, 3585-3596), так что короткое время полужизни является основным препятствием для прямого применения GLP-1 в качестве лекарственного средства. После этого большим количеством исследовательских групп и институтов было предпринято множество попыток получения производных GLP-1, что привело к разработке и коммерциализации пептида, который способен удлинять короткое время  
 20 полужизни *in vivo* (Deacon C. F., Diabetes, 2004, 2181-2189). Однако такое производное GLP-1 все еще обладает существенным ограничением, состоящим в том, что оно представляет собой инъеклируемый состав. Кроме того, значительный интерес все больше и больше фокусируется на разработке эффективного ингибитора DPP-IV, поскольку активный GLP-1 (7-36) деградируется посредством DPP-IV, а затем  
 25 превращается в неактивный GLP-1 (9-36) только в течение короткого периода времени, например 2 мин.

Начало разработки ингибиторов DPP-IV было сходным с путем развития других ингибиторов. Это значит, что большинство результатов исследований было получено  
 30 для аналогов субстратов. Репрезентативным аналогом субстрата является дипептидное производное, которое было получено в качестве результата раннего исследования, которое проводили на исходном ядре, имеющем структуру, сходную со структурой пролина (Pro), на основании того факта, что DPP-IV обладает выраженной аффинностью к пептиду, содержащему конкретную аминокислоту -  
 35 пролин (Chinnaswamy T. et al., J. Biol. Chem., 1990, 1476-1483). Типичные примеры пролиноподобных структур включают пирролидид и тиазолидид, и производные, содержащие эти соединения с исходными ядрами, обладают обратимой и конкурентной ингибиторной активностью в отношении фермента DPP-IV (Augustyns  
 40 KJL., et al., Eur. J. Med. Chem., 1997, 301-309).

В число результатов таких обширных исследований и разработки входят продолжающиеся эксперименты по механизму действия и эффективности определенных соединений, конкретно Val-Pyr (валин-пирролидид), Ile-Thia (изолейцин-  
 45 тиазолидид) и т.п. В частности, большое внимание уделено Ile-Thia, поскольку структура Val-Pyr оказывает относительно слабую ингибиторную активность на DPP-IV (Hanne B. R., et al., Nat. Struct. Biol., 2003, 19-25), что, по существу, вызвало интенсивное исследование и изучение производных соединения Ile-Thia.

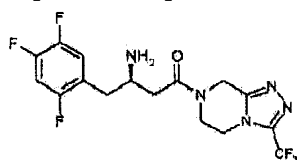
Из производных соединений Ile-Thia, на которых было сосредоточено указанное выше изучение и исследование, и которые были получены, соединение, обладающее  
 50 наиболее выраженной активностью, представляло собой соединение серии тиазолидидов бета-аминокислот, которое попытались получить в Merck & Co., Inc. Однако, согласно результатам фармакодинамических и фармакокинетических

экспериментов, проведенных у крыс, полученное соединение обладало в значительной степени низкой биодоступностью в сочетании с очевидным ограничением в ингибировании ферментативной активности (Jinyou Xu, et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2004, 4759-4762). Следовательно, последующая разработка соединений этого класса  
5 была прервана вследствие существенных недостатков.

В ходе указанного выше исследования в Merck было отмечено, что бета-аминокислота, в дополнение к тиазолидидному исходному ядру, также является ключевым фактором, оказывающим выраженные эффекты на ингибиторную  
10 активность DPP-IV. Это открытие было применено в подходе с заменой тиазолидидного исходного ядра отличающимся соединением исходного ядра (Linda L. B., et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2004, 4763-4766). В таком последовательном исследовании было синтезировано множество производных, имеющих замену тиазолидидного исходного ядра пиперазиновым исходным ядром, с тестированием  
15 эффективности лекарственных средств и фармакодинамическими исследованиями. К сожалению, пиперазиновые производные Merck все еще обладали в значительной степени недостаточной биодоступностью. На основании оптимизации соединения для устранения такого недостатка был разработан продукт МК-0431 (торговая марка: JANUVIA) с модификацией пиперазиновой группы до триазолопиперазиновой группы. Этот продукт в настоящее время доступен в рамках одобрения новых лекарственных  
20 средств US FDA в 2006. Кроме того, после МК-0431, в настоящее время разрабатывается соединение с включением группы diazepanona (семичленное кольцо) (WO 2004037169; WO 2005011581; WO 2006104997; и Bioorg. Med. Chem. Lett, 2007, 49-52).

В частности, согласно статье, опубликованной в журнале (Bioorg. Med. Chem. Lett., 2007, 49-52), было показано, что имидазолон (пятичленное кольцо) и пиперазиносон (шестичленное кольцо) обладают значительно более низкой активностью *in vitro* по сравнению с diazepаноном, что, таким образом, привело к усиленному  
25 сосредоточению внимания на оптимизации diazepанона.

[МК-0431]



В результате множества обширных и интенсивных исследований и экспериментов для решения проблем, описанных выше, и для достижения оптимизации представляющего интерес соединения авторы настоящего изобретения открыли, что  
30 когда в группе пиперазинона сделана замена, включающая гетероатом, модифицированное таким образом соединение не только обладает превосходной ингибиторной активностью в отношении DPP-IV, но также способно достигать значительно повышенной биодоступности по сравнению с общепринятым ингибитором DPP-IV, а затем успешно провели синтез нового гетероциклического  
35 соединения, содержащего бета-аминогруппу. Настоящее изобретение было сделано на основании этих открытий.

## ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

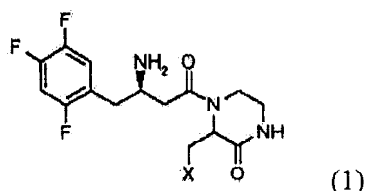
### ТЕХНИЧЕСКАЯ ПРОБЛЕМА

Задачей настоящего изобретения является предоставление гетероциклического соединения, содержащего бета-аминогруппу и обладающего ингибиторной активностью в отношении DPP-IV, или его фармацевтически приемлемой соли, гидрата или сольвата.  
40

Другой задачей настоящего изобретения является предоставление фармацевтической композиции для предупреждения и лечения диабета или ожирения, содержащей в качестве активного ингредиента указанное выше гетероциклическое соединение или его фармацевтически приемлемую соль, гидрат или сольват.

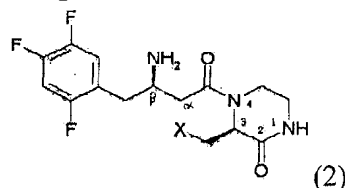
## ТЕХНИЧЕСКОЕ РЕШЕНИЕ

Далее настоящее изобретение описано более подробно. Настоящее изобретение относится к гетероциклическим соединениям с бета-аминогруппой, представленным формулой 1:



где X представляет собой OR<sub>1</sub>, SR<sub>1</sub> или NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>, где R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> независимо представляют собой C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> низший алкил, и R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> в NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub> могут образовывать 5-7-членное кольцо с включением гетероатома O; или к их фармацевтически приемлемой соли.

Предпочтительно, соединение формулы 1 в соответствии с настоящим изобретением включает соединение формулы 2, которое представляет собой стереоизомер, индуцирующий оптическую активность на атоме углерода в 3 положении кольца пиперазинона, и соответствует формуле 2, ниже.



где X является таким, как определено для формулы 1.

Следовательно, соединение формулы 1 может иметь два асимметричных центра. Конкретно, соединение формулы 1, как показано на формуле 2, может иметь асимметричные центры на бета-углероде и на углероде в 3 положении кольца пиперазинона, так что оно может быть представлено в форме одного диастереоизомера, рацемата, рацемической смеси или диастереоизомерной смеси, все из которых относятся к соединению формулы 1 в соответствии с настоящим изобретением.

Кроме того, соединение формулы 1 может частично присутствовать в качестве таутомера. Также в соединении формулы 1 включены отдельные таутомеры, а также их смеси.

Стереоизомерную форму соединения формулы 1 можно получать стереоселективным синтезом в соответствии с общепринятым способом, известным в данной области, с использованием оптически чистого исходного материала или известного реагента.

Предпочтительные примеры содержащего бета-аминогруппу гетероциклического соединения формулы 1 в соответствии с настоящим изобретением могут включать следующие соединения:

1) гидрохлорид (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

2) гидрохлорид (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(метоксиметил)пиперазин-2-она;

3) гидрохлорид (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(этоксиметил)пиперазин-2-она;

4) гидрохлорид (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(изопропоксиметил)пиперазин-2-она;

5) гидрохлорид (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(циклопентилоксиметил)пиперазин-2-она;

6) дигидрохлорид (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-[(диэтиламино)метил]пиперазин-2-она;

7) дигидрохлорид (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-[(этилметиламино)метил]пиперазин-2-она;

8) дигидрохлорид (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(морфолинометил)пиперазин-2-она;

9) гидрохлорид (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутилтиометил)пиперазин-2-она;

10) гидрохлорид (S)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

11) (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-он;

12) тартрат (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

13) цитрат (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

14) фосфат (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

15) ацетат (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

16) малат (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

17) сукцинат (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она; и

18) адипат (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она.

Содержащее бета-аминогруппу гетероциклическое соединение формулы 1 в соответствии с настоящим изобретением включает его фармацевтически приемлемую соль, а также гидрат и сольват, которые можно получать из него.

Фармацевтически приемлемую соль гетероциклического соединения формулы 1 можно получать любым общепринятым способом получения солей, известным в данной области.

Как используют в настоящем документе, термин "фармацевтически приемлемая соль" относится к соли, полученной из фармацевтически приемлемого нетоксичного основания или кислоты, включающих неорганическое или органическое основание и неорганическую или органическую кислоту. Примеры фармацевтически приемлемой соли могут включать соли соединения 1 с неорганическим основанием, например с ионом алюминия, аммония, кальция, меди, трехвалентного железа, двухвалентного железа, лития, магния, манганата, марганца, калия, натрия или цинка. Особенно предпочтительными являются соли аммония, кальция, магния, калия и натрия. Твердая соль может иметь одну или несколько кристаллических структур, или в ином случае она может иметь форму гидрата. Примеры фармацевтически приемлемой



нетоксичной органической соли могут включать соли соединения 1 с первичным, вторичным или третичным амином, замещенным амином, таким как встречающийся в природе замещенный амин, циклическим амином, или основной ионообменной смолой, такой как аргининовая, бетаиновая, кофеиновая, холиновая, N,N'-  
 5 дибензилэтилендиаминовая, диэтиламинавая, 2-диэтиламиноэтаноловая, 2-диметиламиноэтаноловая, этаноламинавая, этилендиаминовая, N-этилморфолиновая, N-этилпиперидиновая, глюкаминавая, глюкозаминавая, гистидиновая, гидабаминавая, изопропиламинавая, лизиновая, метилглюкаминавая,  
 10 морфолиновая, пиперазиновая, пиперидиновая, полиаминовая смола, прокаинном, пурином, теобромином, триэтиламином, триметиламином, трипропиламином и трометамином.

Когда соединение по настоящему изобретению является основанием, его соль можно получать из фармацевтически приемлемых нетоксичных кислот, включающих  
 15 неорганические и органические кислоты. Примеры кислоты могут включать уксусную кислоту, бензолсульфоновую кислоту, бензойную кислоту, камфорсульфоновую кислоту, лимонную кислоту, этансульфоновую кислоту, фумаровую кислоту, глюконовую кислоту, глутаминовую кислоту, бромисто-водородную кислоту,  
 20 хлористо-водородную кислоту, изетионовую кислоту, молочную кислоту, малеиновую кислоту, яблочную кислоту, миндальную кислоту, метансульфоновую кислоту, муциновую кислоту, азотную кислоту, памовую кислоту, пантотеновую кислоту, фосфорную кислоту, янтарную кислоту, серную кислоту, винно-каменную кислоту, п-толуолсульфоновую кислоту и адипиновую кислоту. Особенно предпочтительными  
 25 являются уксусная, лимонная, хлористо-водородная, яблочная, фосфорная, янтарная, винно-каменная и адипиновая кислоты.

Когда в настоящем документе представлено соединение формулы 1, этот термин включает его фармацевтически приемлемую соль.

Как используют в настоящем документе, термин "гидрат" означает соединение формулы 1 или его фармацевтически приемлемую соль, которые дополнительно  
 30 включают стехиометрическое или нестехиометрическое количество воды, связанной с ними посредством нековалентных межмолекулярных сил. Гидрат может содержать более 1 эквивалента воды, как правило, от 1 до 5 эквивалентов воды. Гидрат можно  
 35 получать кристаллизацией соединения формулы 1 или его фармацевтически приемлемой соли в воде или содержащем воду растворителе.

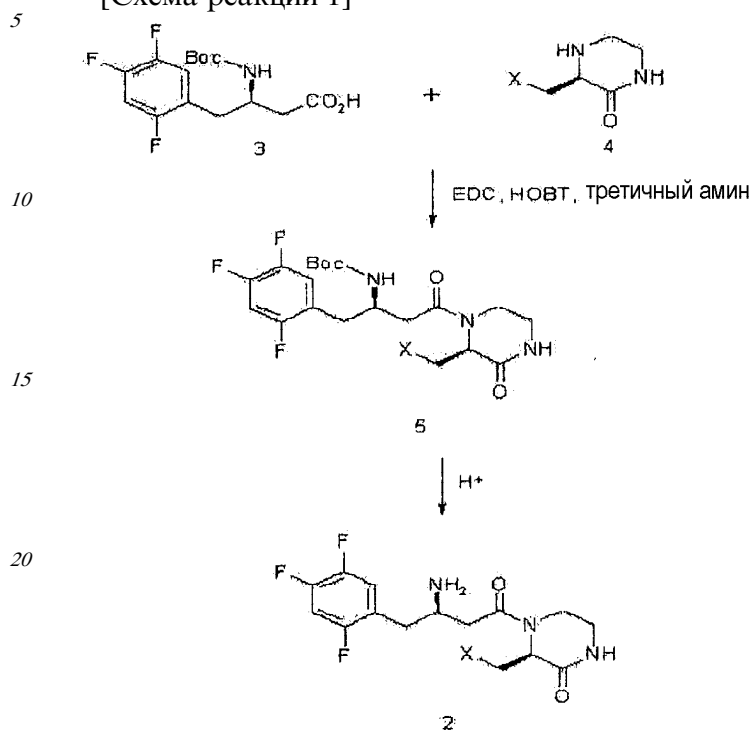
Как используют в настоящем документе, термин "сольват" означает соединение формулы 1 или его соль, которые дополнительно включают стехиометрическое или  
 40 нестехиометрическое количество растворителя, связанного с ними посредством нековалентных межмолекулярных сил. Предпочтительные растворители являются летучими, нетоксичными и/или приемлемыми для введения человеку. Например, могут быть упомянуты этанол, метанол, пропанол, метиленхлорид и т.д.

В соответствии с другим аспектом настоящего изобретения предусмотрен способ  
 45 получения гетероциклического соединения с бета-аминогруппой, представленного формулой 1, или его фармацевтически приемлемой соли.

Настоящее изобретение, как показано на схеме реакции 1, ниже, включает способ получения гетероциклического соединения, представленного формулой 2,  
 50 включающий: 1) реакцию соединения формулы 3, имеющего бета-аминогруппу, с замещенным гетероциклическим соединением формулы 4 в присутствии 1-гидроксibenзотриазола (HOBt), 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (EDC) и третичного амина с получением, таким образом, соединения формулы 5,

имеющего пептидную связь, и 2) реакцию соединения формулы 5 в присутствии кислоты с получением гетероциклического соединения формулы 2, имеющего бета-аминогруппу.

[Схема реакции 1]



где X является таким, как определено для формулы 1.

Например, промежуточное соединение формулы 5 можно получать реакцией соединения формулы 3 и соединения формулы 4 обычным путем в растворителе, таком как N,N-диметилформамид (DMF) или дихлорметан, в присутствии связывающего реагента, такого как 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимид (EDC) или 1-гидроксibenзотриазол (HOBT), и основания, такого как диизопропилэтиламин или триэтиламин, при температуре от 0°C до комнатной температуры в течение от 3 до 48 часов.

Для предотвращения участия соединения в пептидизации атом азота промежуточного соединения формулы 5, которое получено пептидизацией, защищают защитной группой. Требуемое гетероциклическое соединение формулы 2, имеющее бета-аминогруппу, можно получить удалением защитной группы посредством реакции снятия защитной группы. Следовательно, поскольку защитная группа представляет собой Boc, удаление защитной группы можно проводить в кислых условиях, как правило, с использованием смеси трифторуксусная кислота/дихлорметан, смеси этилацетат/хлористо-водородная кислота, смеси хлористо-водородная кислота/дихлорметан или смеси метанол/хлористо-водородная кислота, при температуре от 0°C до комнатной температуры в течение от 1 до 24 часов.

Если необходимо, соединение формулы 2, полученное реакцией пептидной связи и удалением защитной группы, можно очищать от нежелательных побочных продуктов любым общепринятым способом, таким как перекристаллизация, порошкование, препаративная тонкослойная хроматография, флэш-хроматография на силикагеле (см. W.C. Still et al., J. Org. Chem., 43, 2923 (1978)) или ВЭЖХ. Соединение, очищенное посредством ВЭЖХ, можно выделять в качестве соответствующей его соли. Соединение формулы 5 также можно очищать аналогичным образом.

В настоящем изобретении смесь стереоизомеров соединения формулы 1 получают с использованием смеси стереоизомеров в качестве исходного материала, и полученную смесь разделяют на отдельные стереоизомеры с получением, таким образом, соединения формулы 1. Кроме того, каждый стереоизомер соединения формулы 1 можно получать с использованием каждого стереоизомера в качестве исходного материала. Выделение стереоизомера можно проводить общепринятой колоночной хроматографией или перекристаллизацией.

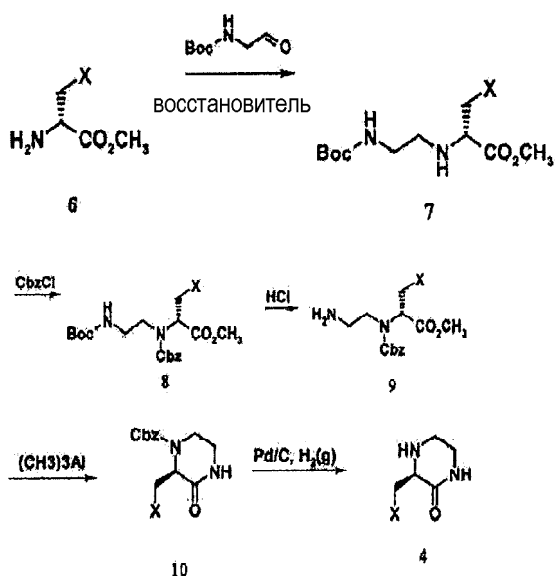
При получении соединения формулы 2 соединение формулы 3, используемое в схеме реакции 1, является коммерчески доступным, или его можно легко получать любым способом, известным в данной области.

При получении соединения формулы 2 соединение формулы 4, используемое в схеме реакции 1, можно получать в соответствии с синтетическим каскадом схемы реакции 2 и схемы реакции 3.

В схеме реакции 2 соединение 6 может быть коммерчески доступным, или оно может не быть коммерчески доступным, в зависимости от заместителя X, так что соединение 6 является коммерчески доступным, или его можно легко получить любым способом, известным в данной области, например способом, представленным на схеме реакции 3, ниже.

На схеме реакции 2 соединение 4, используемое для получения соединения по настоящему изобретению, можно получать из соединения 6. Конкретно, соединение 6 подвергают реакции с N-бутилоксикарбонил-2-аминоацетальдегидом в присутствии восстановителя с получением соединения 7, из которого затем получают соединение 8, имеющее вторичный амин, защищенный бензилоксикарбонилем (Cbz), с последующим удалением защитной группы с получением, таким образом, соединения 9, где бутилоксикарбонил (Boc) удален. Затем соединение 9 подвергают циклизации с использованием триметилалюминия (или смеси диизопропилэтиламин/этанол, смеси гидрокарбонат натрия/метанол и т.д.) с получением соединения 10, за которой следует удаление защитной группы Cbz с получением соединения 4. Примеры восстановителя, который можно использовать для получения соединения 7 из соединения 6, могут включать цианоборгидрид натрия, триацетоксиборгидрид натрия, боргидрид натрия и т.п.

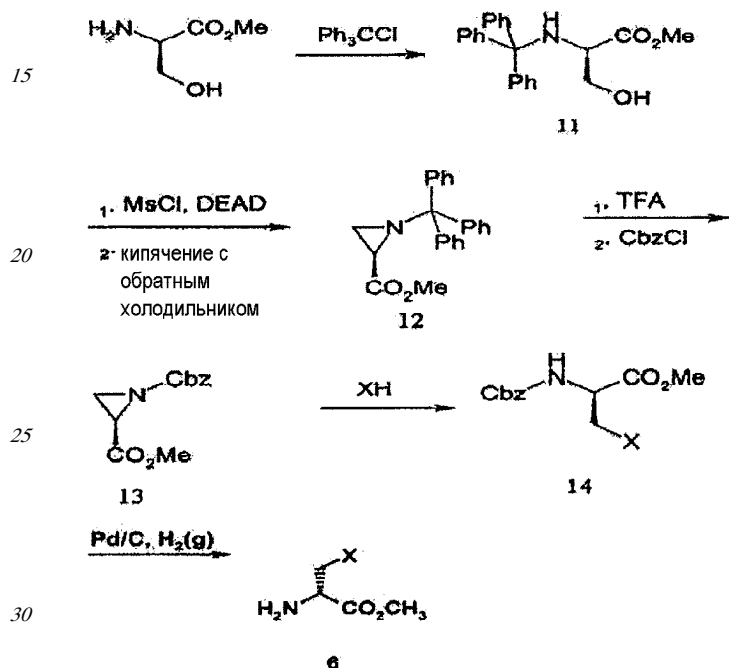
[Схема реакции 2]



где X является таким, как определено в формуле 1.

Когда соединение 6 на схеме реакции 2 не является коммерчески доступным, его можно получать аналогично схеме реакции 3, ниже. Соединение 6, имеющее множество заместителей R1 на схеме реакции 3, получают замещением метилового сложного эфира D-серина тритилхлоридом с получением соединения 11 и заменой гидроксильной группы соединения 11 мезильной группой, с последующим кипячением с обратным холодильником с получением, таким образом, соединения азиридина 12. Затем тритильную группу соединения 12 удаляют с использованием трифторуксусной кислоты, а затем защищают бензилоксикарбонилем (Cbz) с получением соединения 13. Затем соединение 13 подвергают реакции с HX, имеющим множество заместителей R1, с получением соединения 14, с последующим удалением Cbz с получением соединения 6.

[Схема реакции 3]



где X является таким, как определено в формуле 1.

Для облегчения представляющей интерес реакции или избежания образования нежелательного продукта реакции для некоторых из соединений формулы 1 по настоящему изобретению указанные выше условия реакции и последовательности реакции можно варьировать, если желательно.

Как описано выше, соединения формулы 1 по настоящему изобретению, исходные материалы и промежуточные соединения можно синтезировать различными способами, известными в данной области.

В соответствии со следующим аспектом настоящего изобретения предусмотрена фармацевтическая композиция для предупреждения и лечения диабета или ожирения, содержащая соединение формулы 1 или его фармацевтически приемлемую соль в качестве активного ингредиента.

Соединение формулы 1 в соответствии с настоящим изобретением обладает превосходной ингибиторной активностью в отношении DPP-IV. Когда определяли ингибиторную способность соединения формулы 1 в отношении фермента DPP-IV,  $\text{IC}_{50}$ , концентрация лекарственного средства, которая требуется для ингибирования ферментативной реакции DPP-IV на 50%, была практически равна диапазону от 0,5 до 20 нМ, что соответствует более высокой ингибиторной активности в отношении DPP-IV по сравнению с общепринятым ингибитором DPP-IV, для которого

описана IC<sub>50</sub> от нескольких сотен нМ до нескольких тысяч нМ или даже до нескольких десятков тысяч нМ (Jinyou Xu, et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2004, 4759-4762; и Linda L. B., et al., Bioorg. Med. Chem. Lett., 2004, 4763-4766).

Кроме того, соединение формулы 1 в соответствии с настоящим изобретением обладает высокой пероральной толерантностью к глюкозе. Таким образом, в тесте пероральной толерантности к глюкозе (OGTT) было измерено, что соединение формулы 1 обладает эффектами снижения глюкозы в крови более чем на 35%, предпочтительно более чем на 50%, таким образом демонстрируя, что оно обладает более высокой биодоступностью по сравнению с общепринятыми ингибиторами DPP-IV. Кроме того, результаты экспериментов *in vivo*, включающие фармакокинетические/фармакодинамические корреляции, измерение длительности периода ингибиторной активности DPP-IV и эксперименты кинетики *in vivo*, демонстрируют, что соединение по настоящему изобретению обладает более высокой ингибиторной активностью в отношении DPP-IV и биодоступностью.

Таким образом, фармацевтическую композицию, содержащую в качестве активного ингредиента соединение формулы 1, можно эффективно использовать для лечения и предупреждения диабета и ожирения, которые являются репрезентативными заболеваниями, вызываемыми с помощью DPP-IV.

В соответствии с другим аспектом настоящего изобретения предусмотрены применение указанной выше композиции для предупреждения и лечения диабета или ожирения и способ предупреждения и лечения диабета или ожирения, включающий введение эффективного количества указанной выше композиции млекопитающему (включая человека).

Фармацевтическую композицию, содержащую в качестве активного ингредиента соединение формулы 1 или его стереоизомер, фармацевтически приемлемую соль, гидрат или сольват, можно изготавливать в виде следующих пероральных или парентеральных лекарственных форм, не ограничиваясь ими.

Примеры лекарственной формы для перорального введения могут включать таблетки, пилюли, мягкие и твердые капсулы, растворы, суспензии, эмульсии, сиропы, гранулы, эликсиры и т.п. Эти фармацевтические составы могут содержать, в дополнение к указанному выше активному ингредиенту, один или несколько общепринятых разбавителей или эксципиентов, таких как наполнители, разбавители, смачивающие вещества, дезинтегрирующие вещества, вещества, способствующие скольжению, связующие вещества и поверхностно-активные вещества. Примеры дезинтегрирующих веществ могут включать агар, крахмал, альгиновую кислоту или ее натриевую соль, безводный моногидрофосфат кальция и т.п. Примеры веществ, способствующих скольжению, могут включать диоксид кремния, тальк, стеариновую кислоту или их магниевую или кальциевую соль, полиэтиленгликоль и т.п. Примеры связующего вещества могут включать алюмосиликат магния, крахмальную пасту, желатин, трагакант, метилцеллюлозу, карбоксиметилцеллюлозу натрия, поливинилпирролидон, низкозамещенную гидроксипропилцеллюлозу и т.п. Кроме того, фармацевтический состав может содержать разбавители, например лактозу, декстрозу, сахарозу, маннит, сорбит, целлюлозу и/или глицин. Если желательно, состав может дополнительно содержать широко известные шипучие смеси, абсорбенты, красители, вкусовые добавки и подсластители.

Фармацевтическую композицию, содержащую в качестве активного ингредиента соединение формулы 1 или его фармацевтически приемлемую соль, можно вводить парентеральным путем, например посредством суппозитория, подкожной инъекции,

внутривенной инъекции, внутримышечной инъекции или внутригрудной инъекции. Для приготовления композиции по настоящему изобретению в виде препарата для парентерального введения соединение формулы 1 или его фармацевтически приемлемую соль смешивают со стабилизатором или буфером в присутствии воды с получением раствора или суспензии, из которых затем изготавливают единичные лекарственные формы в виде ампул или флаконов.

Композиция может быть стерилизованной и/или она может содержать адъюванты, такие как консерванты, стабилизаторы, гидратирующие вещества, эмульгаторы, соли для контроля осмотического давления и/или буферы, и терапевтически пригодные вещества, и их можно изготавливать в соответствии с общепринятыми способами, такими как смешивание, грануляция и нанесение покрытия.

Если желательно, соединение формулы 1 или фармацевтическую композицию, содержащую его в качестве активного ингредиента, можно вводить в сочетании с другими лекарственными средствами, например противодиабетическими лекарственными средствами.

Когда соединение формулы 1 или фармацевтическую композицию, содержащую его в качестве активного ингредиента, изготавливают в виде стандартной лекарственной формы, соединение формулы 1 применяют предпочтительно в единичной дозе приблизительно от 0,1 до 1,500 мг при пересчете на активный ингредиент. Как будет очевидно специалистам в данной области, эффективную дозу активного соединения в соответствии с настоящим изобретением можно определять в соответствии с назначением врача, в зависимости от различных факторов, таких как масса тела и возраст пациентов, тип и тяжесть заболевания и т.п. Для взрослых эффективная доза активного соединения, как правило, находится в диапазоне приблизительно от 1 до 500 мг/сутки, с учетом частоты и интенсивности введения. В случае внутримышечной или внутривенной инъекции взрослым могут быть пригодными от 5 до 300 мг общей дозы, разделенной на несколько единичных доз, хотя для некоторых пациентов может потребоваться даже более высокая суточная доза.

#### ПРЕИМУЩЕСТВЕННЫЕ ЭФФЕКТЫ

Как конкретно проиллюстрировано в дальнейшем в данном документе, настоящее изобретение относится к гетероциклическому соединению, содержащему бета-аминогруппу и обладающему превосходными ингибиторными эффектами в отношении ферментативной активности DPP-IV. Фармацевтическая композиция, содержащая указанное соединение по настоящему изобретению в качестве активного ингредиента, обладает превосходной ингибиторной активностью в отношении DPP-IV и биодоступностью, и поэтому она может быть пригодной для профилактики или лечения различных заболеваний, считающихся вызываемыми посредством DPP-IV, таких как диабет и ожирение.

#### ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

На фиг.1 представлена корреляция между активностью DPP-IV в плазме и дозой лекарственного средства, полученная для МК-0431 и соединения примера 1; и на фиг.2 показаны результаты измерения и сравнения длительности ингибиторной активности DPP-IV, полученной для МК-0431, и соединения примера 1 у лабораторных крыс.

#### СПОСОБ ОСУЩЕСТВЛЕНИЯ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Далее настоящее изобретение описано более подробно с помощью следующих примеров. Эти примеры предоставлены только для иллюстрации настоящего изобретения, и их не следует истолковывать как ограничивающие объем и сущность

настоящего изобретения.

**Пример 1: получение гидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенилбутаноил)-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она**

**Стадия 1: получение (R)-метил-1-третилазиридин-2-карбоксилата**

200 г гидрохлорида метилового сложного эфира D-серина добавляли к 1,8 л хлороформа, и реакционный раствор охлаждали до 0°C, и затем к нему медленно добавляли 448 мл триэтиламина. В реакционную смесь медленно добавляли 358,4 г тритилхлорида и затем ее перемешивали в течение 1 часа. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры, и к ней добавляли 1 л хлороформа, а затем промывали 2,5 л воды. Органический слой сушили над сульфатом магния и охлаждали до 0°C, а затем к нему последовательно медленно добавляли 484 мл триэтиламина и 15,7 г 4-метиламинопиридина. Реакционную смесь перемешивали в течение 5 мин и к ней медленно добавляли 139 мл сульфонилхлорида метана. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры, перемешивали еще в течение 4 часов, а затем кипятили с обратным холодильником в течение 12 часов. Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры и промывали 4 л воды, а затем 3 л рассола. Органический слой сушили над сульфатом магния и концентрировали до высушивания при пониженном давлении. К полученному осадку добавляли 3 л этанола, а затем его перемешивали. Полученные твердые вещества отфильтровывали с получением 329 г указанного в заголовке соединения.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 7,42-7,49 (м, 6H), 7,18-7,32 (м, 9H), 7,68 (с, 1H), 3,74 (с, 3H), 2,24 (м, 1H), 1,87 (м, 1H) и 1,40 (м, 1H).

**Стадия 2: Получение (R)-1-бензил-2-метилазиридин-1,2-дикарбоксилата**

328,4 г (R)-метил-1-третилазиридин-2-карбоксилата растворяли в 1,4 л хлороформа и реакционный раствор охлаждали до 0°C, а затем к нему медленно добавляли 462 мл трифторуксусной кислоты. Реакционную смесь перемешивали в течение 1 часа, и затем к ней добавляли 2 л воды, и затем перемешивали в течение 10 мин и удаляли органический слой. Водный слой нейтрализовывали гидрокарбонатом натрия и использовали в последующих реакциях без дальнейшей очистки.

К водному слою добавляли 2 л диэтилового эфира и 120,5 г гидрокарбоната натрия, и реакционный раствор охлаждали до 0°C, а затем к нему медленно по каплям добавляли 165 мл бензилхлорформиата. Реакционную смесь перемешивали в течение еще 2 часов и водный слой удаляли. Органический слой сушили над сульфатом магния, концентрировали и сушили при пониженном давлении, и очищали колоночной хроматографией, с получением, таким образом, 108,5 г указанного в заголовке соединения.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, DMSO): 7,32-7,36 (м, 5H), 5,13 (с, 2H), 3,09 (д.д. J=3,2, 5,4 Гц, 1H), 2,58 (д.д. J=1,2, 3,2 Гц, 1H) и 2,47 (д.д. J=1,2, 5,4 Гц, 1H).

**Стадия 3: получение метилового сложного эфира (R)-2-амино-3-трет-бутоксипропана**

1,1 г (R)-1-бензил-2-метилазиридин-1,2-дикарбоксилата растворяли в 11 мл хлороформа и затем к нему добавляли 18 мл трет-бутанола. К реакционной смеси медленно по каплям добавляли 1,2 мл BF<sub>3</sub>OEt<sub>2</sub>, а затем перемешивали в течение 12 часов. Реакцию завершали добавлением в реакционную смесь 2 л воды. Затем органический слой отделяли и сушили над сульфатом магния, концентрировали и сушили при пониженном давлении, а затем использовали в последующих реакциях без дальнейшей очистки.

Полученный осадок растворяли в 10 мл метанола, и затем к нему добавляли 740 мг

смеси палладий/углерод в 2 мл этилацетата, после этого барботировали водородом в течение 1 часа при внешнем атмосферном давлении. Реакционную смесь фильтровали и сушили при пониженном давлении с получением 736 мг указанного в заголовке соединения.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 4,21 (м, 1H), 3,82 (с, 3H), 3,74-3,88 (м, 2H) и 1,20 (с, 9H)

**Стадия 4: получение метилового сложного эфира (R)-3-трет-бутокси-2-(2-(трет-бутоксикарбониламино)этиламино)пропионовой кислоты**

736 мг метилового сложного эфира (R)-2-амино-3-трет-бутоксипропана, полученного на стадии 3, растворяли в 14 мл дихлорметана, и к нему медленно добавляли 6335 мг N-трет-бутоксикарбонил-2-аминоацетальдегида метанола. Реакционную смесь охлаждали до 0°C, а затем постепенно добавляли 1,2 мл триэтиламина и 1,78 г триацетоксиборгидрида натрия. Реакционную смесь нагревали до комнатной температуры, а затем перемешивали в течение 12 часов. Для завершения реакции добавляли насыщенный раствор гидрокарбоната натрия и органический слой промывали 10 мл воды и рассола, концентрировали и сушили при пониженном давлении. Полученный осадок очищали колоночной хроматографией с получением, таким образом, 355 мг указанного в заголовке соединения.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 5,10 (м, 1H), 3,71 (с, 3H), 3,56 (м, 2H), 3,40 (м, 1H), 3,15-3,28 (м, 2H), 2,81 (м, 1H), 2,67 (м, 1H), 1,42 (с, 9H) и 1,13 (с, 9H)

**Стадия 5: получение метилового сложного эфира (R)-2-((бензилоксикарбонил)(2-трет-бутоксикарбониламино)этил)амино)-3-трет-бутоксипропионовой кислоты**

355 мг метилового сложного эфира (R)-3-трет-бутокси-2-(2-(трет-бутоксикарбониламино)этиламино)пропионовой кислоты, полученного на стадии 4, растворяли в 11 мл тетрагидрофурана, и реакционную смесь охлаждали до 0°C и затем к ней добавляли 187 мг гидрокарбоната натрия. К этой смеси медленно по каплям добавляли 192 мкл бензилхлорформиата и реакционную смесь нагревали до комнатной температуры. Через 12 часов реакционную смесь сушили при пониженном давлении, а затем добавляли 10 мл этилацетата и органический слой промывали 10 мл воды. Органический слой сушили над сульфатом магния, сушили при пониженном давлении и очищали колоночной хроматографией, с получением, таким образом, 410 мг указанного в заголовке соединения.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CDCl<sub>3</sub>): 7,36-7,25 (м, 5H), 5,82-5,72 (м, 1H), 5,17-5,03 (м, 2H), 4,15 (м, 1H), 3,98 (м, 1H), 3,81 (м, 1H), 3,73 (с, 3H), 3,60 (м, 1H), 3,42-3,28 (м, 3H), 1,40 (с, 9H) и 1,14 (с, 9H).

**Стадия 6: получение (R)-бензил 2-(трет-бутоксиметил)-3-оксопиперазин-1-карбоксилата**

410 мг метилового сложного эфира (R)-2-((бензилоксикарбонил)(2-трет-бутоксикарбониламино)этил)амино)-3-трет-бутоксипропионовой кислоты, полученного на стадии 5, растворяли в 10 мл метанола и реакционную смесь охлаждали до 0°C, и к ней медленно добавляли 4 мл смеси 2-N-хлористо-водородная кислота/диэтиловый эфир, а затем перемешивали в течение 3 часов. Реакционную смесь сушили при пониженном давлении и использовали в последующих реакциях без дальнейшей очистки.

Полученный осадок растворяли в 10 мл дихлорметана и реакционную смесь охлаждали до 0°C, а затем к ней медленно добавляли 152 мкл триэтиламина. К этой смеси медленно добавляли 1,1 мл триметилалюминия (2,0 М раствор в толуоле), и реакционную смесь нагревали до комнатной температуры, а затем перемешивали в течение 12 часов. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и для завершения реакции



добавляли насыщенный водный раствор хлорида аммония. К реакционной смеси добавляли 10 мл этилацетата, и затем ее промывали 10 мл рассола. Органический слой сушили над сульфатом магния и сушили при пониженном давлении. Полученный осадок очищали колоночной хроматографией с получением 103 мг указанного в заголовке соединения.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 7,34-7,25 (м, 5H), 6,27 (м, 1H), 5,14 (м, 2H), 4,57 (м, 1H), 4,19 (м, 1H), 4,08 (м, 1H), 3,94 (м, 1H), 3,74 (м, 1H), 3,64 (м, 1H), 3,42 (м, 1H), 3,29 (м, 1H) и 1,09 (с, 9H)

#### **Стадия 7: получение (R)-(3-трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она**

103 мг (R)-бензил-2-(трет-бутоксиметил)-3-оксопиперазин-1-карбоксилата, полученного на стадии 6, растворяли в 2 мл метанола и затем к нему добавляли 50 мг смеси палладий/углерод в 1 мл этилацетата, а затем барботировали водородом в течение 1 часа при обычном атмосферном давлении. Реакционную смесь фильтровали и сушили при пониженном давлении с получением 58 мг указанного в заголовке соединения.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 6,41 (шир.с, 1H), 3,76 (м, 3H), 3,63 (м, 1H), 3,52 (м, 1H), 3,42 (м, 1H), 3,28 (м, 1H), 3,16 (м, 1H), 2,95 (м, 1H), 2,45 (шир.с, 1H) и 1,17 (с, 9H).

#### **Стадия 8: получение трет-бутил-(R)-4-[(R)-2-(трет-бутоксиметил)-3-оксопиперазин-1-ил]-4-оксо-1-(2,4,5-трифторфенил)бутан-2-илкарбамата**

104 мг (3R)-трет-бутоксикарбониламино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутановой кислоты и 58 мг (R)-(3-трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она добавляли к 4 мл N,N-диметилформамида, и затем к нему добавляли 63 мг 1-гидроксibenзотриазола (НОВТ) и 217 мкл диизопропилэтиламина. Реакционную смесь охлаждали до 0°C и к ней добавляли 78 мг 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (EDC), а затем перемешивали при комнатной температуре в течение 12 часов. Реакционную смесь разбавляли 10 мл этилацетата и промывали два раза рассолом. Органический слой сушили над сульфатом магния и концентрировали. Полученный осадок очищали колоночной хроматографией с получением 97 мг указанного в заголовке соединения.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CDCl}_3$ ): 7,03 (м, 1H), 6,88 (м, 1H), 5,97 (м, 1H), 5,48 (м, 1H), 4,16-4,07 (м, 1H), 4,02-3,91 (м, 1H), 3,74 (м, 2H), 3,37 (м, 2H), 3,24 (м, 1H), 2,92 (м, 2H), 2,80 (м, 1H), 2,59 (м, 2H), 1,34 (д, 9H) и 1,13 (с, 9H)

#### **Стадия 9: получение гидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она**

97 мг трет-бутил-(R)-4-[(R)-2-(трет-бутоксиметил)-3-оксопиперазин-1-ил]-4-оксо-1-(2,4,5-трифторфенил)бутан-2-илкарбамата, полученного на стадии 8, растворяли в 3 мл метанола, а затем добавляли 2 мл смеси 2N хлористо-водородная кислота/диэтиловый эфир и перемешивали при комнатной температуре в течение 3 часов. Реакционную смесь концентрировали и сушили при пониженном давлении с получением 64 мг указанного в заголовке соединения в виде пенистого твердого вещества.

$^1\text{H}$  ЯМР (400 МГц,  $\text{CD}_3\text{OD}$ ): 7,37 (м, 1H), 7,23 (м, 1H), 4,80 (м, 1H), 4,59-4,40 (м, 1H), 3,93 (м, 1H), 3,90-3,83 (м, 2H), 3,70 (м, 1H), 3,38 (м, 2H), 3,27 (м, 1H), 3,07 (м, 2H), 2,89-2,66 (м, 2H), 1,18 (с, 3H), и 1,11 (с, 6H)

Mass (M+1): 402

#### **Пример 2: получение гидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(метоксиметил)пиперазин-2-она**

Вместо трет-бутанола стадии 3 примера 1 использовали метанол, и затем

синтезировали 40 мг указанного в заголовке соединения аналогично стадиям с 4 по 9 примера 1.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 7,34 (м, 1H), 7,23 (м, 1H), 4,82 (м, 1H), 4,62-4,46 (м, 1H), 3,92 (м, 1H), 3,87-3,82 (м, 2H), 3,66 (м, 1H), 3,35 (м, 2H), 3,24 (м, 1H), 3,04 (м, 2H), 2,94-2,72 (м, 2H) и 3,27 (с, 3H)

Mass (M+1): 360

**Пример 3: получение гидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(этоксиметил)пиперазин-2-она**

Вместо трет-бутанола стадии 3 примера 1 использовали этанол, и затем синтезировали 66 мг указанного в заголовке соединения аналогично стадиям с 4 по 9 примера 1.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 7,38 (м, 1H), 7,23 (м, 1H), 4,83 (м, 1H), 4,54-4,44 (м, 1H), 3,98 (м, 1H), 3,93-3,82 (м, 2H), 3,71 (м, 1H), 3,53 (м, 2H), 3,36 (м, 2H), 3,26 (м, 1H), 3,07 (м, 2H), 2,90-2,70 (м, 2H) и 1,11 (т, 3H)

Mass (M+1): 374

**Пример 4: получение гидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(изопропоксиметил)пиперазин-2-она**

Вместо трет-бутанола стадии 3 примера 1 использовали изопропанол, и синтезировали 69 мг указанного в заголовке соединения аналогично стадиям с 4 по 9 примера 1.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 7,38 (м, 1H), 7,23 (м, 1H), 4,86 (м, 1H), 4,62-4,43 (м, 1H), 3,96 (м, 1H), 3,90-3,87 (м, 2H), 3,77 (м, 1H), 3,69 (м, 1H), 3,44 (м, 2H), 3,26 (м, 1H), 3,08 (м, 2H), 2,95-2,69 (м, 2H) и 1,15 (м, 6H)

Mass (M+1): 388

**Пример 5: получение гидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(циклопентилоксиметил)пиперазин-2-она**

Вместо трет-бутанола стадии 3 примера 1 использовали циклопентанол, и синтезировали 51 мг указанного в заголовке соединения аналогично стадиям с 4 по 9 примера 1.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 7,38 (м, 1H), 7,23 (м, 1H), 4,82 (м, 1H), 4,61-4,42 (м, 1H), 3,93 (м, 1H), 3,90-3,82 (м, 2H), 3,67 (м, 1H), 3,40 (м, 1H), 3,36 (м, 2H), 3,25 (м, 1H), 3,08 (м, 2H), 3,01-2,62 (м, 2H) и 1,67-1,50 (м, 8H)

Mass (M+1): 414

**Пример 6: получение дигидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-[(диэтиламино)метил]пиперазин-2-она**

Вместо трет-бутанола добавляли диэтиламин и вместо добавления BF<sub>3</sub>OEt<sub>2</sub> проводили кипячение с обратным холодильником на стадии 3 примера 1, и синтезировали 68 мг указанного в заголовке соединения аналогично стадиям с 4 по 9 примера 1.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 7,41 (м, 1H), 7,24 (м, 1H), 5,21 (м, 1H), 3,59-3,53 (м, 2H), 3,53-3,50 (м, 4H), 3,43-3,37 (м, 4H), 3,35 (м, 2H), 3,09 (м, 2H), 2,97-2,81 (м, 2H) и 1,37 (м, 6H)

Mass (M+1): 401

**Пример 7: получение дигидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-[(этилметиламино)метил]пиперазин-2-она**

Вместо трет-бутанола добавляли этилметиламин и вместо добавления BF<sub>3</sub>OEt<sub>2</sub> проводили кипячение с обратным холодильником на стадии 3 примера 1, и затем

синтезировали 67 мг указанного в заголовке соединения аналогично стадиям с 4 по 9 примера 1.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 7,42 (м, 1H), 7,24 (м, 1H), 5,22 (м, 1H), 4,08-3,87 (м, 2H), 3,86-3,75 (м, 2H), 3,68-3,57 (м, 2H), 3,56-3,33 (м, 4H), 3,09 (м, 2H), 3,02-2,81 (м, 5H), и 1,38 (м, 3H)

Mass (M+1): 387

**Пример 8: получение дигидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(морфолинометил)пиперазин-2-она**

Вместо трет-бутанола добавляли морфолин и вместо добавления BF<sub>3</sub>OEt<sub>2</sub> проводили кипячение с обратным холодильником на стадии 3 примера 1, и затем синтезировали 27 мг указанного в заголовке соединения аналогично стадиям с 4 по 9 примера 1.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 7,37 (м, 1H), 7,23 (м, 1H), 5,32 (м, 1H), 4,12-3,98 (м, 4H), 3,97-3,77 (м, 4H), 3,74-3,52 (м, 4H), 3,48-3,39 (м, 2H), 3,14-2,91 (м, 4H) и 2,86-2,72 (м, 2H)

Mass (M+1): 415

**Пример 9: получение гидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутилтиометил)пиперазин-2-она**

Вместо трет-бутанола использовали трет-бутилтиол на стадии 3 примера 1, и затем синтезировали 25 мг указанного в заголовке соединения аналогично стадиям с 4 по 9 примера 1.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 7,34 (м, 1H), 7,25 (м, 1H), 5,04 (м, 1H), 4,60 (с, 1H), 4,60-4,41 (м, 1H), 3,86 (м, 2H), 3,70 (м, 1H), 3,40 (м, 2H), 3,25 (м, 1H), 3,05 (м, 2H), 2,95 (м, 1H), 2,81 (м, 2H), и 1,26 (с, 9H)

Mass (M+1): 418

**Пример 10: Получение гидрохлорида (S)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она**

Вместо гидрохлорида метилового сложного эфира D-серина использовали гидрохлорид метилового сложного эфира L-серина на стадии 1 примера 1, и затем синтезировали 31 мг указанного в заголовке соединения аналогично стадиям с 2 по 9 примера 1.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 7,34 (м, 1H), 7,24 (м, 1H), 4,79 (м, 1H), 4,580-4,40 (м, 1H), 3,96 (м, 1H), 3,86-3,74 (м, 2H), 3,70 (м, 1H), 3,36 (м, 2H), 3,19 (м, 1H), 3,05-2,86 (м, 3H), 2,67 (м, 1H), 1,15 (с, 4H) и 1,03 (с, 5H)

Mass (M+1): 402

**Пример 11: получение (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она**

60 мг соединения, полученного по примеру 1, добавляли к 10 мл 5% водного раствора гидрокарбоната натрия, и смесь экстрагировали два раза 10 мл смешанного раствора дихлорметан/2-пропанол (4/1 (об./об.)). Органический слой сушили при пониженном давлении с получением 55 мг указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 7,27 (м, 1H), 7,14 (м, 1H), 4,56-4,39 (м, 1H), 3,96-3,81 (м, 3H), 3,70 (м, 1H), 3,46 (м, 1H), 3,43-3,32 (м, 1H), 2,83-2,65 (м, 3H), 2,58-2,40 (м, 2H), 1,16 (с, 3H) и 1,11 (с, 6H)

Mass (M+1): 402

**Пример 12: получение тартрата (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она**

55 мг соединения, полученного по примеру 11, растворяли в 0,56 мл ацетона и затем к нему медленно добавляли раствор 26 мг L-винно-каменной кислоты в 0,35 мл смеси этанол/вода (9/1 (об./об.)), а затем перемешивали в течение 30 мин. К этой смеси добавляли 0,56 мл 2-пропанола, а затем перемешивали в течение 10 мин и фильтровали с получением 77 мг указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 7,38 (м, 1H), 7,22 (м, 1H), 4,80 (м, 1H), 4,59-4,40 (м, 1H), 4,40 (с, 2H), 3,93 (м, 1H), 3,90-3,83 (м, 2H), 3,70 (м, 1H), 3,38 (м, 2H), 3,27 (м, 1H), 3,07 (м, 2H), 2,89-2,66 (м, 2H), 1,15 (с, 3H) и 1,11 (с, 6H)

Mass (M+1): 402

**Пример 13: получение цитрата (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она**

496 мг соединения, полученного по примеру 11, растворяли в 2 мл этанола и затем к нему медленно добавляли раствор 273 мг безводной лимонной кислоты в 1 мл воды, а затем перемешивали в течение 30 мин. Реакционную смесь концентрировали и затем к ней добавляли 2 мл этилацетата и 1 мл 2-пропанола при перемешивании. К этой смеси добавляли 15 мл гексана, а затем перемешивали в течение 10 мин и фильтровали с получением 637 мг указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 7,34 (м, 1H), 7,22 (м, 1H), 4,81 (м, 1H), 4,58-4,40 (м, 1H), 3,94 (м, 1H), 3,87 (м, 2H), 3,70 (м, 1H), 3,36 (м, 2H), 3,25 (м, 1H), 3,03 (м, 2H), 2,94-2,70 (м, 4H), 1,18 (с, 3H) и 1,12 (с, 6H)

Mass (M+1): 402

**Пример 14: получение фосфата (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она**

501 мг соединения, полученного по примеру 11, растворяли в 3 мл 2-пропанола и затем к нему медленно добавляли 84 мкл 85% водного раствора фосфорной кислоты при перемешивании в течение 30 мин. К нему добавляли 3 мл 2-пропанола, и полученную смесь перемешивали в течение 10 мин и фильтровали с получением 100 мг указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 7,33 (м, 1H), 7,19 (м, 1H), 4,81 (м, 1H), 4,58-4,41 (м, 1H), 3,94 (м, 1H), 3,85 (м, 2H), 3,65 (м, 1H), 3,37 (м, 2H), 3,22 (м, 1H), 2,95 (м, 2H), 2,69 (м, 2H), 1,17 (с, 3H), и 1,12 (с, 6H)

Mass (M+1): 402

**Пример 15: получение ацетата (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она**

500 мг соединения, полученного по примеру 11, растворяли в 3 мл этилацетата и к нему медленно добавляли раствор 74,5 мг уксусной кислоты в 1 мл этилацетата, а затем перемешивали в течение 30 мин. Реакционную смесь концентрировали и затем к ней добавляли 2 мл этилацетата и 1 мл 2-пропанола, а затем перемешивали. К этой смеси добавляли 15 мл гексана, и полученную смесь перемешивали в течение 10 мин и фильтровали с получением 495 мг указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 7,32 (м, 1H), 7,20 (м, 1H), 4,79 (м, 1H), 4,60-4,40 (м, 1H), 3,94 (м, 1H), 3,87 (м, 2H), 3,70 (м, 1H), 3,34 (м, 2H), 3,24 (м, 1H), 2,90 (м, 2H), 2,76-2,58 (м, 2H), 1,94 (с, 3H), 1,17 (с, 3H) и 1,12 (с, 6H)

Mass (M+1): 402

**Пример 16: получение малата (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-**

**3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она**

498 мг соединения, полученного по примеру 11, растворяли в 4 мл ацетона и к нему медленно добавляли раствор 166 мг L-яблочной кислоты в 1 мл ацетона, а затем перемешивали в течение 30 мин. Реакционную смесь концентрировали и затем к ней добавляли 2 мл этилацетата и 1 мл 2-пропанола, а затем перемешивали. К этой смеси добавляли 15 мл гексана, и полученную смесь перемешивали в течение 10 мин и фильтровали с получением 506 мг указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 7,34 (м, 1H), 7,21 (м, 1H), 4,80 (м, 1H), 4,58-4,39 (м, 1H), 4,26 (м, 1H), 3,94 (м, 1H), 3,84 (м, 2H), 3,71 (м, 1H), 3,36 (м, 2H), 3,22 (м, 1H), 3,02 (м, 2H), 2,82-2,63 (м, 3H), 2,50 (м, 1H), 1,17 (с, 3H) и 1,12 (с, 6H)

Mass (M+1): 402

**Пример 17: получение сукцината (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она**

498 мг соединения, полученного по примеру 11, растворяли в 3 мл ацетона и затем к нему медленно добавляли раствор 147 мг янтарной кислоты в 2 мл смеси ацетон/вода (20/1 (об./об.)), а затем перемешивали в течение 30 мин. Реакционную смесь концентрировали до высушивания при пониженном давлении с получением 596 мг указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 7,34 (м, 1H), 7,21 (м, 1H), 4,81 (м, 1H), 4,58-4,40 (м, 1H), 3,95 (м, 1H), 3,85 (м, 2H), 3,70 (м, 1H), 3,36 (м, 2H), 3,25 (м, 1H), 2,92 (м, 2H), 2,81-2,64 (м, 2H), 2,51 (с, 4H), 1,18 (с, 3H) и 1,12 (с, 6H)

Mass (M+1): 402

**Пример 18: Получение адипата (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она**

503 мг соединения, полученного по примеру 11, растворяли в 4 мл этилацетата и к затем к нему медленно добавляли раствор 183 мг адипиновой кислоты в 3 мл смеси ацетон/вода (30/1 (об./об.)), а затем перемешивали в течение 30 мин. Реакционную смесь концентрировали и к ней добавляли 2 мл этилацетата и 1 мл 2-пропанола, а затем перемешивали. К этой смеси добавляли 15 мл гексана, и полученную смесь перемешивали в течение 10 мин и фильтровали с получением 336 мг указанного в заголовке соединения в виде твердого вещества.

<sup>1</sup>H ЯМР (400 МГц, CD<sub>3</sub>OD): 7,32 (м, 1H), 7,19 (м, 1H), 4,80 (м, 1H), 4,56-4,40 (м, 1H), 3,94 (м, 1H), 3,87 (м, 2H), 3,70 (м, 1H), 3,35 (м, 2H), 3,25 (м, 1H), 2,92 (м, 2H), 2,83-2,58 (м, 2H), 2,25 (м, 4H), 1,63 (м, 4H), 1,21 (с, 3H) и 1,12 (с, 6H)

Mass (M+1): 402

**Экспериментальный пример 1: анализ ингибиторной активности DPP-IV**

Для исследования ингибиторной способности DPP-IV соединений формулы 1 согласно изобретению, полученных по примерам 1-18, проводили следующие эксперименты.

DPP-IV, известную как сериновая протеаза, приобретали от R & D Systems. МК-0431 в качестве контроля получали в соответствии со способом, описанным в J. Med. Chem., 2005, 48, 141-151. Для оценки лекарственной эффективности соединений формулы 1 согласно изобретению измеряли связывающую активность синтетических ингибиторов DPP-IV с использованием флуорогенного субстрата Gly-Pro-АМС. Ферментативную реакцию проводили при 25°C в буферном растворе, содержащем 25 мМ Tris/HCl (pH 8,0) с использованием 50 мкМ Gly-Pro-АМС относительно 100 нг/мл DPP-IV с различными концентрациями ингибитора. IC<sub>50</sub>, которая представляет

собой константу ингибирования для ингибитора, получали измерением флуоресценции спектрофотометром после ферментативной реакции в течение 1 часа с последующим вычислением концентрации ингибитора, которая требуется для ингибирования ферментативной реакции DPP-IV на 50%. Спектрофотометр представлял собой спектрофотометр Tecan SpectraFluor с длиной волны возбуждения 360 нм и длиной волны испускания 465 нм. В результате  $IC_{50}$ , измеренная в качестве способности соединения формулы 1 ингибировать активность DPP-IV, находилась в диапазоне от 0,5 до 20 нМ (таблица 1: ингибиторная активность в отношении DPP-IV человека *in vitro*). Из этого результата можно видеть, что соединение по изобретению формулы 1 обладает превосходной ингибиторной активностью в отношении DPP-IV, по сравнению со значением  $IC_{50}$ , описанным для коммерчески доступного JANUVIA или общепринятых ингибирующих DPP-IV соединений (находящимся в диапазоне от нескольких сотен нМ до нескольких тысяч нМ).

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

### Экспериментальный пример 2: пероральный тест толерантности к глюкозе (OGTT)

Для исследования противодиабетических эффектов фармацевтической композиции, содержащей в качестве активного ингредиента соединение по изобретению формулы 1, проводили пероральный тест толерантности к глюкозе (OGTT), посредством которого измеряют способность организма метаболизировать глюкозу в течение данного периода времени.

Для этой цели лабораторных животных (мышей C57BL/6) подвергали голоданию в течение от 16 до 17 часов перед экспериментами. Кровь собирали из хвостовых вен животных утром в день эксперимента и измеряли уровень глюкозы в крови с помощью Accu-Chek Active Blood Glucose Meter (Roche Diagnostics). Фармацевтическую композицию с носителем вводили перорально за 30 мин до введения глюкозы (-30 мин), а затем перорально вводили раствор глюкозы (2 г/кг/10 мл) через 30 мин (0 мин). Сбор крови проводили в указанные моменты времени - непосредственно перед введением лекарственного средства, непосредственно перед введением глюкозы и через 5, 15, 30, 60 и 90 мин после введения глюкозы.

В результате примеры 1, 3 и 12 обладали наиболее высокими эффектами снижения

глюкозы в крови, составляющими 54%, 52% и 62%, соответственно, в дозе 1 мг/кг, по сравнению с контрольной группой (без введения композиции с носителем). Из этих результатов можно видеть, что соединение по изобретению формулы 1 может быть

5 подходящим для лечения связанных с DPP-IV заболеваний, включающих диабет и ожирение, вследствие высокой биодоступности.

**Экспериментальный пример 3: фармакокинетическая/фармакодинамическая корреляция ингибитора DPP-IV (активность DPP-IV в плазме относительно дозы лекарственного средства)**

10 Для выявления противодиабетических эффектов соединения по изобретению формулы 1 проводили сравнительную оценку ингибиторной активности в отношении DPP-IV между соединениями по изобретению и МК-0431. Мышам в возрасте 8 недель C57BL6 перорально вводили МК-0431 и соединение по изобретению (соединение примера 1) в индивидуальных дозах, а затем вводили глюкозу в дозе 2 г/кг

15 через 1 час. Через 10 мин кровь собирали через глаза животных. Из собранной крови получали плазму крови и измеряли активность DPP-IV в плазме и концентрацию лекарственного средства в плазме.

Активность DPP-IV в плазме определяли посредством измерения количества флуоресцентного АМС (7-амино-4-метилкумарина), высвобожденного под действием DPP-IV при использовании в качестве субстрата Gly-Pro-АМС (Bachem, Switzerland). Для этой цели к реакционному раствору добавляли 50 мкл плазмы (100

20 мМ HEPES, pH 7,6, 0,1 мг/мл, 50 мкМ Gly-Pro-АМС) и вычисляли скорость высвобождения АМС при 25°C в течение 5 мин.

25 В результате соединения формулы 1 (пример 1) обладало от 4 до 5 раз более высокой ингибиторной активностью при концентрации в плазме 10 нг/мл и от 8 до 9 раз превышающей EC<sub>50</sub> (50% эффективной концентрацией) и EC<sub>80</sub> (80% эффективной концентрацией), по сравнению с МК-0431 (см. фиг.1).

**Экспериментальный пример 4: анализ DPP-IV *in vivo* (длительность ингибиторной активности в отношении DPP-IV)**

30 Для исследования противодиабетических эффектов соединения по изобретению формулы 1 проводили сравнительную оценку ингибиторной активности в отношении DPP-IV в плазме и ее длительности между МК-0431 и соединением по изобретению (пример 1), после введения лекарственных соединений нормальным

35 крысам SD.

Для этой цели лабораторных животных (крыс SD) подвергали голоданию в течение от 16 до 17 часов перед экспериментами. В день эксперимента голодным животным проводили анестезию эфиром, а затем канюлирование абдоминального отдела аорты. Затем МК-0431 и соединение по изобретению (пример 1) разбавляли до 0,5% МС и вводили животным. Перед введением лекарственного средства (0 ч) и через указанные

40 периоды времени после введения лекарственного средства кровь собирали в предварительно подготовленные 500-мкл пробирки с гепарином и отделяли плазму. В каждый реакционный раствор добавляли 50 мкл плазмы (0,1 М HEPES, pH 7,6, 0,1

45 мг/мл, 50 мкМ Gly-Pro-АМС) и проводили исследование кинетики в течение 5 мин для вычисления скорости реакции.

В результате было выявлено, что соединение по изобретению в дозе 10 мг/кг сохраняет 90% или более ингибиторной активности в отношении DPP-IV до 24 часов

50 после введения, что является значительно более высокой активностью с учетом того факта, что МК-0431 сохранял только 50% ингибиторной активности в отношении DPP-IV после того же периода, составляющего 24 часа (см. фиг.2).

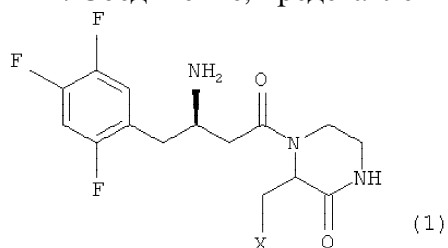
**Экспериментальный пример 5: кинетические эксперименты *in vivo***

Для измерения времени полужизни *in vivo* соединения по изобретению формулы 1 нормальным крысам SD (в возрасте 8 недель) перорально вводили МК-0431 и соединение по изобретению (примеры 1, 3 и 12) в дозе 10 мг/кг. Периодически проводили забор крови из бедренного отдела аорты и измеряли время удерживания исходного соединения *in vivo*. В результате соединение по изобретению обладало более высоким временем полужизни *in vivo* (T1/2) относительно времени полужизни МК-0431.

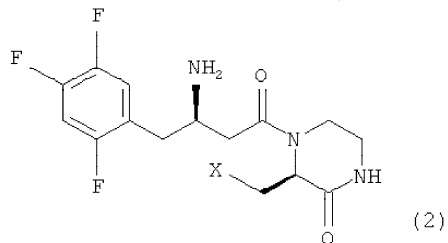
Таблица 1				
	Пример 1	Пример 3	Пример 12	МК-0431
T1/2 (час)	7,9	7,6	5,5	4,8

**ПРОМЫШЛЕННАЯ ПРИМЕНИМОСТЬ**

Как очевидно из приведенного выше описания, настоящее изобретение обеспечивает продукцию гетероциклического соединения, содержащего бета-аминогруппу, которое обладает превосходными ингибиторными эффектами на активность DPP-IV. Кроме того, фармацевтическая композиция, содержащая указанное соединение по настоящему изобретению в качестве активного ингредиента, обладает превосходной ингибиторной активностью в отношении DPP-IV и биодоступностью, и поэтому она может быть пригодна для предупреждения или лечения различных заболеваний, считающихся вызываемыми посредством DPP-IV, таких как диабет и ожирение.

**Формула изобретения****1. Соединение, представленное формулой 1**

где X представляет собой OR1, SRI или NR1R2, где R1 и R2 независимо представляют собой C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> низший алкил, и R1 и R2 в NR1R2 могут образовывать 5-7-членное кольцо, включающее гетероатом O; или его стереоизомер, фармацевтически приемлемая соль, гидрат или сольват.

**2. Соединение по п.1, где соединение представлено формулой 2**

где X является таким, как определено в п.1, или его стереоизомер, фармацевтически приемлемая соль, гидрат или сольват.

**3. Соединение по п.1, где соединение выбрано из группы, состоящей из:**

- 1) гидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(метоксиметил)пиперазин-2-она;
- 2) гидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-



(этоксиметил)пиперазин-2-она;

3) гидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(изопропоксиметил)пиперазин-2-она;

4) гидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

5) гидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(циклопентилоксиметил)пиперазин-2-она;

6) дигидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-[(диэтиламино)метил]пиперазин-2-она;

7) дигидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-[(этилметиламино)метил]пиперазин-2-она;

8) дигидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(морфолинометил)пиперазин-2-она;

9) гидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутилтиометил)пиперазин-2-она;

10) гидрохлорида (S)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

11) (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-он;

12) тартрата (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

13) цитрата (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

14) фосфата (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

15) ацетата (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

16) малата (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

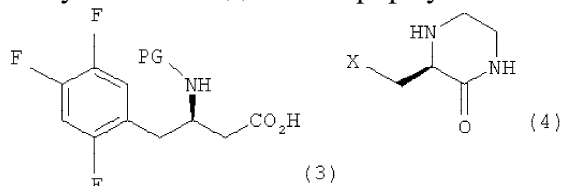
17) сукцината (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она и

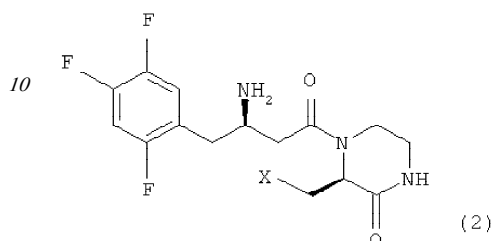
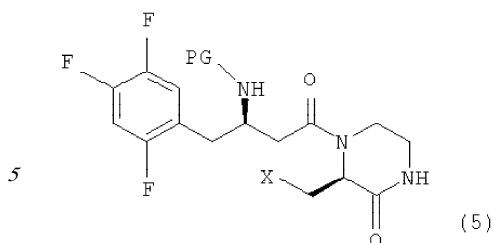
18) адипата (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она.

4. Способ получения соединения, представленного формулой 2 по п.2, включающий:

1) реакцию соединения формулы 3, имеющего бета-аминогруппу с замещенным гетероциклическим соединением формулы 4, в присутствии 1-гидроксibenзотриазола (НОВТ), 1-этил-3-(3-диметиламинопропил)карбодиимида (EDC) и третичного амина с получением таким образом соединения формулы 5, и

2) обработку соединения формулы 5, полученного на стадии (1), кислотой с получением соединения формулы 2





15 где X представляет собой OR<sub>1</sub>, SR<sub>1</sub> или NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>, где R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> независимо представляют собой C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> низший алкил, и R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> в NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub> могут образовывать 5-7-членное кольцо, включающее гетероатом O.

20 5. Фармацевтическая композиция для предупреждения и лечения диабета или ожирения, содержащая соединение по п.1, представленное формулой 1, или его стереоизомер, фармацевтически приемлемую соль, гидрат или сольват в качестве активного ингредиента.

6. Композиция по п.5, где соединение выбрано из группы, состоящей из:

25 1) гидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

2) гидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(этоксиметил)пиперазин-2-она;

30 3) гидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(изопропоксиметил)пиперазин-2-она;

4) гидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(метоксиметил)пиперазин-2-она;

35 5) гидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(циклопентилоксиметил)пиперазин-2-она;

6) дигидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-[(диэтиламино)метил]пиперазин-2-она;

7) дигидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-[(этилметиламино)метил]пиперазин-2-она;

40 8) дигидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(морфолинометил)пиперазин-2-она;

9) гидрохлорида (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутилтиометил)пиперазин-2-она;

45 10) гидрохлорида (S)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

11) (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-он;

50 12) тартрата (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

13) цитрата (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

14) фосфата (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-

бутоксиметил)пиперазин-2-она;

15) ацетата (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

16) малата (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она;

17) сукцината (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она и

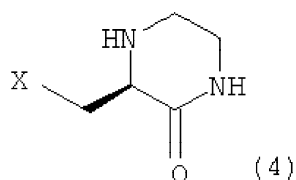
18) адипата (R)-4-[(R)-3-амино-4-(2,4,5-трифторфенил)бутаноил]-3-(трет-бутоксиметил)пиперазин-2-она.

7. Способ предупреждения и лечения диабета или ожирения, включающий введение эффективного количества композиции, содержащей соединение по любому из пп.1-3, млекопитающему, нуждающемуся в этом.

8. Применение фармацевтической композиции, содержащей соединение по любому из пп.1-3, для получения лекарственного средства для предупреждения и лечения диабета или ожирения.

9. Способ по п.4, где PG означает Вос.

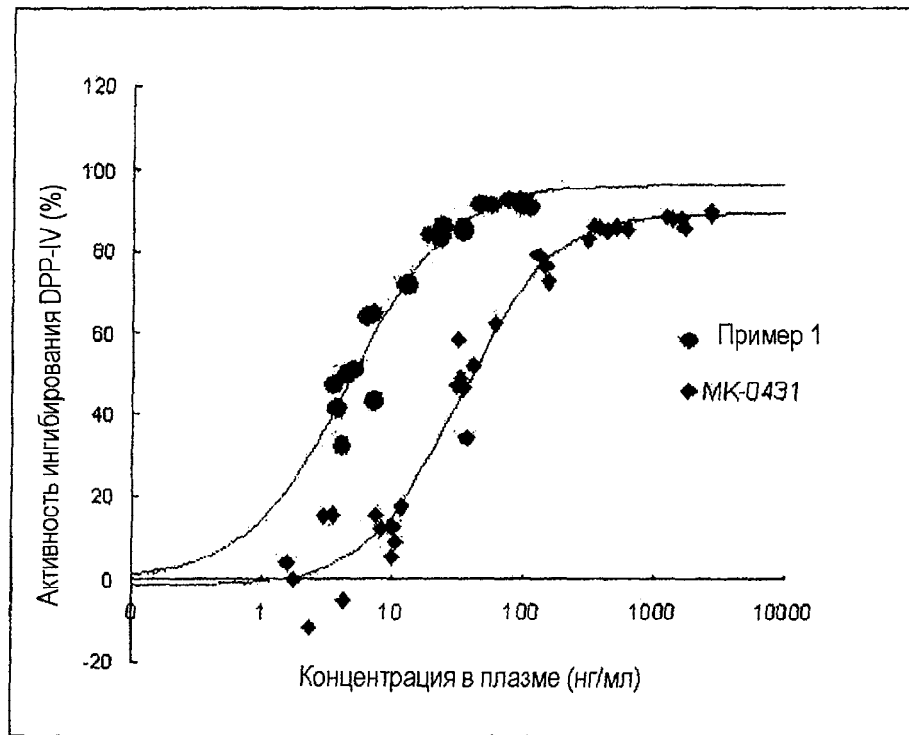
10. Соединение, представленное формулой 4, предназначенное для получения соединения формулы 2 по п.2



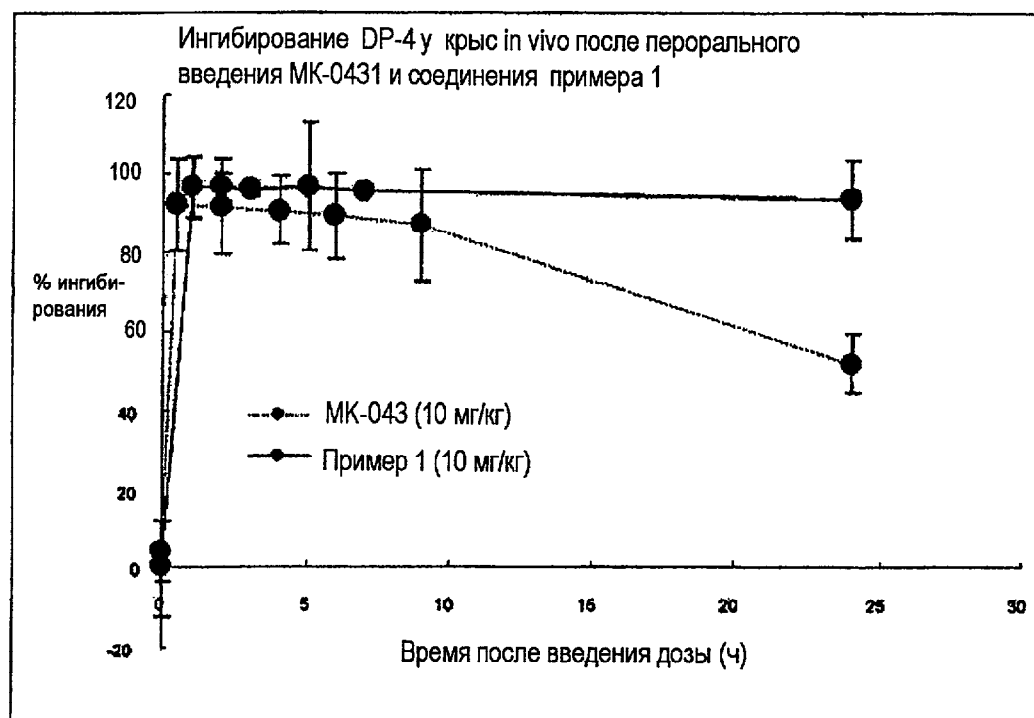
где X означает OR<sub>1</sub>, SR<sub>1</sub> или NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub>, где R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> независимо представляют собой C<sub>1</sub>-C<sub>5</sub> низший алкил, и R<sub>1</sub> и R<sub>2</sub> в NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub> могут образовывать 5-7-членное кольцо, включающее гетероатом O.

11. Соединение по п.10, где X выбирают из группы, состоящей из трет-бутоксигруппы, метокси, этокси, изопропокси, циклопентилокси, диэтиламино, этилметиламино, морфолино и трет-бутилтио.

12. Соединение по п.10, где X означает трет-бутоксигруппу.



ФИГ. 1



ФИГ. 2