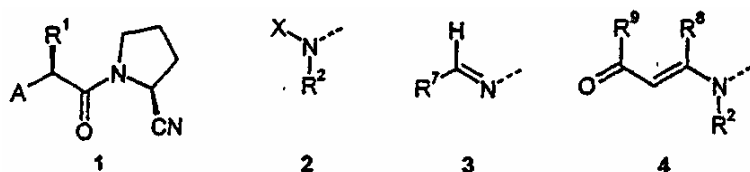


Представлений винахід стосується ряду нових сполук, що є корисними при лікуванні діабету типу 2, погіршення толерантності до глюкози і деяких інших станів.

Фермент дипептидилна пептидаза IV (EC.3.4.14.5, тут використовується абревіатура DP-IV, і також відомі скорочення DPP-IV або DAP-IV) втягнута в регулювання активності ряду гормонів. Одним з таких гормонів є глюкагонподібний пептид 1 (GLP-1), який включений в регулювання рівнів глюкози в крові після їжі і який перетворюється з його активної форми, GLP-1 (5-36), у неактивну GLP-1 (7-36) під дією DP-IV. У випадку діабету типу 2 і погіршення толерантності до глюкози, коли гіперглікемія може приводити до ушкодження тканин, буде корисна дія ендогенного GLP-1. Відповідно, інгібітори DP-IV пропонуються в якості лікарських засобів для лікування діабету типу 2 і погіршення толерантності до глюкози. Наприклад, Demuth et al. (WO97/40832) описують вплив N-ізолейцилпіролідину на рівень глюкози в крові в релевантній тваринній моделі. Однак, ці сполуки не є достатньо активними для використання в якості терапевтичних агентів. Більш ефективні інгібітори DP-IV описуються Jenkins et al. (WO95/15309) і Vitihauser (WO98/19998), але вони є досить нестабільними і мають схильність до циклізації в розчині. Ця нестабільність приводить до складностей одержання і зберігання матеріалу адекватної якості для терапевтичного використання людьми. Тому, залишається потреба на агенти, що інгібують DP-IV *in vivo*, але які є достатньо стабільними при комерційному виготовленні.

Ми розробили ряд похідних, що є хімічно стабільними, але які під дією метаболітичної активності після введення в людину вивільнюють високоактивні інгібітори DP-IV. В літературі такі похідні, зазвичай, називають проліками. Сполуки представленого винаходу є корисними при лікуванні діабету типу 2 і погіршення толерантності до глюкози, також як, і інших станів, в яких інактивування DP-IV активності гормону приводить до терапевтичного ефекту.

Сполуками згідно з винаходом є похідні 1-(2'-аміноацил)-2-ціанопіролідину загальної формули 1:



де А вибирають з груп 2, 3 і 4; Х вибирають з аміноацильної групи, що відповідає одній з природних амінокислот, ацильної групи  $R^3CO$ , групи  $R^4COOC(R^5)(R^6)OCO$ , метоксикарбонілу, етоксикарбонілу і бензилоксикарбонілу;

$R^1$  вибирають з H,  $C_1$ - $C_6$  алкілу,  $(CH_2)_aNH^{W^1}$ ,  $(CH_2)_bCOW^{W^2}$ ,  $(CH_2)_cOW^{W^3}$ ,  $CH(Me)OW^{W^4}$ ,  $(CH_2)_d-C_6H_4-W^5$  і  $(CH_2)_eSW^{W^6}$ , де а є 2-5, b є 1-4, c є 1-2, d є 1-2, e є 1-3,  $W^1$  є  $COW^{W^6}$ ,  $CO_2W^{W^6}$  або  $SO_2W^{W^6}$ ,  $W^2$  є OH,  $NH_2$ ,  $OW^{W^6}$  або  $NHW^{W^6}$ ,  $W^3$  є H або  $W^{W^6}$ ,  $W^4$  є H або  $W^{W^6}$ ,  $W^5$  є H, OH або OMe, і  $W^6$  є  $C_1$ - $C_6$  алкілом, необов'язково, заміщеним фенілом, необов'язково, заміщеним гетероарилом або бензилом, і

$R^2$  вибирають з H і  $(CH_2)_nNH-C_5H_3N-Y$ , де n є 2-4 і Y є H, F, O,  $NO_2$  або CN, або  $R^1$  і  $R^2$  разом є  $-(CH_2)_p-$ , де p є 3 або 4;

$R^3$  вибирають з H,  $C_1$ - $C_6$  алкілу і фенілу;

$R^4$  вибирають з H,  $C_1$ - $C_6$  алкілу, бензилу і необов'язково заміщеного фенілу;

$R^5$  і  $R^6$  кожний, незалежно, вибирають з H і  $C_1$ - $C_6$  алкілу або разом є  $-(CH_2)_m-$ , де m є 4-6;

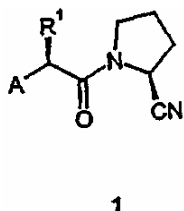
$R^7$  вибирають з піридилу і необов'язково заміщеного фенілу;

$R^8$  вибирають з H і  $C_1$ - $C_3$  алкілу; і

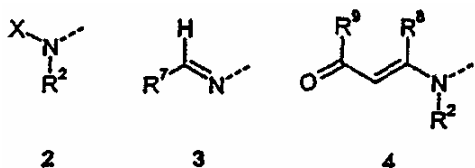
$R^9$  вибирають з H,  $C_1$ - $C_6$  алкілу,  $C_1$ - $C_6$  алкокси і фенілу.

Представлений винахід стосується нових сполук, що зазначені вище, фармацевтичних композицій, в яких, принаймні, один активний інгредієнт є такою сполукою, використання таких композицій для лікування деяких медичних станів і способу лікування в якому сполуки винаходу вводять суб'єкту, що потребує лікування.

В першому аспекті, представлений винахід стосується ряду нових сполук, що є проліками терапевтично корисних інгібіторів DP-IV. Сполуками представленого винаходу є похідні 1-(2'-аміноацил)-2-ціанопіролідину загальної формули 1:



В цій загальній формулі, А є групою, що вибирають з 2, 3 і 4.



Пунктирна лінія показує ковалентний зв'язок, що зв'язує атом азоту А з 1.

Група Х є ацильною або оксикарбонільною групою. Придатними групами є:

(i) аміноацильні групи, що відповідає одній з природних амінокислот аланін (Ala), аргінін (Arg), аспаргін (Asn), аспарагінова кислота (Asp), цистеїн (Cys), глютамін (Gln), глютамінова кислота (Glu), гліцин (Gly), гістидин (His), ізолейцин (Ile), лейцин (Leu), лізин (Lys), метіонін (Met), фенілаланін (Phe), пролін (Pro), серин (Ser), треонін (Thr), триптофан (Trp), тирозин (Tyr) і валін (Val);

(ii) ацильні групи  $R^3CO$ , де  $R^3$  є воднем,  $C_1$ - $C_6$  алкілом або фенілом;

(iii) ацилоксиметиленоксикарбонільні групи  $R^4COOC(R^5)(R^6)OCO$ , де  $R^4$  є воднем,  $C_1$ - $C_6$  алкілом, бензилом або фенілом, який може бути заміщений  $C_1$ - $C_3$  групою, і  $R^5$  і  $R^6$  є кожний, незалежно, воднем або  $C_1$ - $C_6$  алкілом або  $R^5$  і  $R^6$  разом є поліметиленовим фрагментом  $-(CH_2)_m-$ , де  $m$  є 4-6; і

(iv) метоксикарбоніл, етоксикарбоніл і бензилоксикарбоніл.

$R^1$  є залишком природної амінокислоти або її аналогом. Більш специфічно,  $R^1$  вибирають з водню,  $C_1$ - $C_6$  алкілу,  $(CH_2)_aNH^{W^1}$ ,  $(CH_2)_bCOW^{W^2}$ ,  $(CH_2)_cOW^{W^3}$ ,  $CH(M_2)OW^{W^4}$ ,  $(CH_2)_d-C_6H_4-W^{W^5}$  і  $(CH_2)_eSW^{W^6}$ , де  $a$  є 2-5,  $b$  є 1-4,  $c$  є 1 або 2,  $d$  є 1 або 2,  $e$  є 1-3,  $W^1$  є  $COW^{W^6}$ ,  $CO_2W^{W^6}$  або  $SO_2W^{W^6}$ ,  $W^2$  є OH,  $NH_2$ ,  $OW^{W^6}$  або  $NHW^{W^6}$ ,  $W^3$  є H або  $W^{W^6}$ ,  $W^4$  є H або  $W^{W^6}$ ,  $W^5$  є H, OH або OMe, і  $W^6$  є  $C_1$ - $C_6$  алкілом, необов'язково, заміщеним фенілом, необов'язково, заміщеним гетероарилом або бензилом. Придатними необов'язковими замісниками гетероарилу і фенілу є  $C_1$ - $C_3$  алкіл і  $C_1$ - $C_3$  алкокси, також як і атоми фтору або хлору. Можуть бути присутні до двох таких замісників.

$R^2$  є воднем або групою  $-(CH_2)_nNH-C_5H_3N-Y$ , де  $n$  є 2-4,  $C_5H_3N$  є дизаміщеним піридилом, і  $Y$  є воднем, атомом галогену, таким як фтор або хлор, нітрогрупою або ціаногрупою.

Альтернативно,  $R^1$  і  $R^2$  разом можуть бути  $-(CH_2)_p-$ , де  $p$  є 3 або 4.

$R^7$  вибирають з піридилу і необов'язково заміщеного фенілу. Придатними необов'язковими замісниками є  $C_1$ - $C_3$  алкіл,  $C_1$ - $C_3$  алкокси, атоми галогену, нітрогрупи, ціаногрупи і карбоксигрупи. Можуть бути присутні до двох таких замісників.

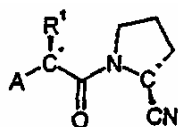
$R^8$  є воднем або  $C_1$ - $C_3$  алкілом.

$R^9$  є воднем,  $C_1$ - $C_6$  алкілом,  $C_1$ - $C_6$  алкокси або фенілом.

В контексті представленого опису, термін "алкіл" стосується розгалужених і нерозгалужених алкільних груп, також як і циклоалкільних груп, наприклад,  $C_1$ - $C_6$  алкілом є метил, етил, ізопропіл, трет-бутил, неопентил і циклогексил. Також, термін "гетероарил" стосується моно циклічних п'яти- і шести-членних ароматичних кілець, що містять від одного до трьох гетеро атомів, що вибирають з азоту, кисню і сірки. Наприклад, гетероарилом є піроліл, піридил, фурил, тієніл, імідазоліл, тіазоліл, ізоксазоліл, тіадіазоліл, піримідил і піразиніл.

Деякі сполуки представленого винаходу мають кислі і основні властивості і тому можуть існувати у вигляді солей. Настільки, що солі є нетоксичними, а інакше є фармацевтично прийнятними, і вони включені в рамки винаходу. Прикладами таких солей є, але не обмежуються, ацетати, гідрохлориди, сульфати, фосфати і бензоати основних солей, і натрієві, калієві і тетаралкіламонієві солі кислих сполук.

При умові, коли  $R^1$  є H, сполуки загальної формули 1 мають два стереогенічні центри (асиметричні атоми вуглецю), показані нижче як  $C^*$ . Стереохімія цих двох позицій є показаною на малюнках. Деякі втілення  $R^1$  і X дозволяють вводити наступні стереогенічні центри, і ці сполуки винаходу можуть існувати у вигляді епімерів, включаючи діастереомери. Всі такі оптичні ізомери, включаючи суміші таких оптичних ізомерів розглядаються в межах цього винаходу.



В переважному втіленні, представлений винахід стосується сполуки загальної формули 1, в якій  $R^1$  є іншим ніж H і  $R^2$ , де присутній, є H. В більш переважному втіленні,  $R^1$  є  $C_1$ - $C_6$  алкілом.

В іншому переважному втіленні, представлений винахід стосується сполуки загальної формули 1, в якій  $R^1$  є H і A вибирають з груп загальних формул 2 і 4 і  $R^2$  є  $-(CH_2)_nNH-C_5H_3N-Y$ . В більш переважному втіленні  $n$  є 2 і Y є CN. В найбільш переважному втіленні, NH група знаходиться в 2-положенні і CN група знаходиться в 5-положенні піридинового кільця.

В іншому переважному втіленні, представлений винахід стосується сполуки загальної формули 1, в якій A є групою загальної формули 2 і X є аміноацильною групою. В одному з більш переважних втілень, X є аміноацильною групою, що відповідає основній амінокислоті, такої як лізин або аргінін, і більш переважно аргінін. В іншому більш переважному втіленні, X є аміноацильною групою, що відповідає гліцину.

В іншому переважному втіленні, представлений винахід стосується сполуки загальної формули 1, в якій A є групою загальної формули 2 і X є групою  $R^4COOC(R^5)(R^6)OCO$ . В одному з більш переважних втілень,  $R^4$  є  $C_1$ - $C_6$  алкілом. В іншому більш переважному втіленні, один з  $R^5$  і  $R^6$  є H і інший є метилом. Більш переважно,  $R^4$  і один з  $R^5$  і  $R^6$  є метилом і інший з  $R^5$  і  $R^6$  є H.

В іншому переважному втіленні, представлений винахід стосується сполуки загальної формули 1, в якій A є групою загальної формули 2 і X є метоксикарбонілом.

В іншому переважному втіленні, представлений винахід стосується сполуки загальної формули 1, в якій A є групою загальної формули 3.

В іншому переважному втіленні, представлений винахід стосується сполуки загальної формули 1, в якій A є групою загальної формули 4. В більш переважному втіленні  $R^8$  є  $C_1$ - $C_3$  алкілом, і більш переважно, є метилом. В іншому більш переважному втіленні,  $R^9$  є  $C_1$ - $C_3$  алкілом або  $C_1$ - $C_3$  алкокси, і більш переважно, є метилом або метокси. Сполуки, що приведені тут далі в більш ніж одному з цих переважних втілень є особливо переважними. Найбільш переважним втіленням представленого винаходу є сполука, яку вибирають з:

(2S)-1-((2'S)-2'-(1''-ацетоксиетоксикарбоніламіно)-3',3'-диметилбутаноїл)піролідін-2-карбонітрил;

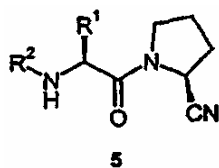
(2S)-1-(N'-(1''-ацетоксиметоксикарбоніл)ізолейцил)піролідін-2-карбонітрил;

(2S)-1-(N'-(метоксикарбоніл)ізолейцил)піролідін-2-карбонітрил;

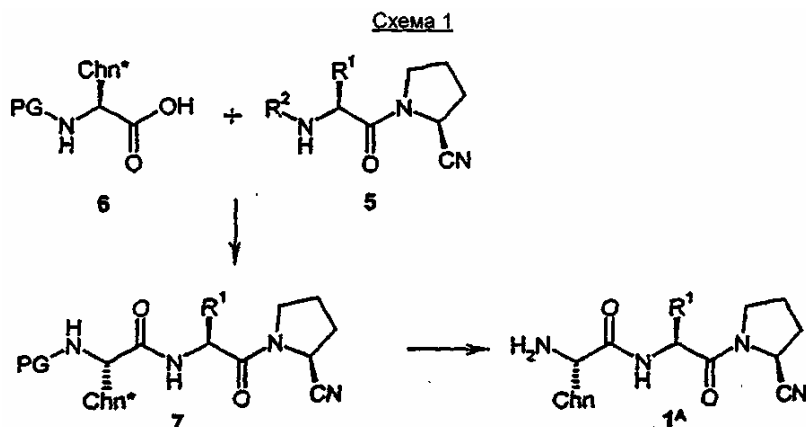
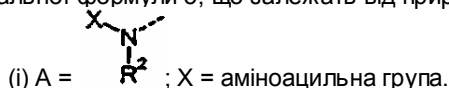
(2S)-1-((N')-(4''-оксопент-2''-ен-2''-іл)ізолейцил)піролідин-2-карбонітрил;  
 (2S)-1-(гліцилізолейцил)піролідин-2-карбонітрил;  
 (2S)-1-(аргінілізолейцил)піролідин-2-карбонітрил;  
 (2S)-1-((2'S)-2'-(ацетоксиметоксикарбоніламіно)-3',3'-диметилбутаноїл)піролідин-2-карбонітрил;  
 (2S)-1-((2'S)-2'-(1''-ацетоксиетоксикарбоніламіно)-2'-циклогексилацетил)піролідин-2-карбонітрил;  
 (2S)-1-((2'S)-2'-(1''-ацетоксиетоксикарбоніламіно)-4',4'-диметилпентаноїл)піролідин-2-карбонітрил;  
 (2S)-1-(N'-(1''-ацетоксиетоксикарбоніл)-O'-трет-бутилсериніл)піролідин-2-карбонітрил;  
 (2S)-1-(N''-(1'-ацетоксиетоксикарбоніл)-N<sup>o</sup>-п-толуолсульфоніллізиніл)піролідин-2-карбонітрил;  
 (2S)-1-(N-(1'-ацетоксиетоксикарбоніл)-N-(2''-(5'''-ціанопіридин-2'''-іламіно)етил)гліциніл)піролідин-2-карбонітрил;

(2S)-1-(N'-(бензилоксикарбоніл)-O'-трет-бутилтреонініл)піролідин-2-карбонітрил;  
 (2S)-1-(S'-трет-бутил-N'-(етилоксикарбоніл)цистеїніл)піролідин-2-карбонітрил;  
 (2S)-1-(N<sup>o</sup>-ацетил-N<sup>a</sup>-бензоїллізиніл)піролідин-2-карбонітрил; і  
 (2S)-1-(N<sup>a</sup>-(ацетил)-N<sup>o</sup>-(бензилоксикарбоніл)орнітиніл)піролідин-2-карбонітрил

Сполуки згідно з представленим винаходом можна одержати використовуючи стандартні методи, що добре відомі спеціалістам в цій галузі. В багатьох випадках, придатним вихідним матеріалом є амін загальної формули 5, в якому R<sup>1</sup> і R<sup>2</sup> мають значення приведені тут вище.



Синтез таких сполук описаний в, наприклад, [Jenkins et al. (WO95/15309), Villhauer (WO98/19998), Ashworth et al. (Bioorg. Med. Chem. Lett. 1996, 6(10), 1163-66) і Li et al. (Arch. Biochem. Biophys. 1995, 323(1), 148-54)]. Сполуки, що не були окремо описані в цих публікаціях можна одержати використовуючи модифіковані методи описані в цих публікаціях. Стадії включають одержання сполук винаходу з сполук загальної формули 5, що залежать від природи групи А.



На Схемі 1 показано одержання цих сполук в дві стадії. Chn\* означає залишок амінокислоти. В залежності від амінокислоти, що використовується, Chn\* може бути H (для гліцину), CH<sub>3</sub> (аланін), (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CH (валін), (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHCH<sub>2</sub> (лейцин), CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH(CH<sub>3</sub>) (ізолейцин), C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub> (фенілаланін), HOOCCH<sub>2</sub> (тирозин), C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>NCH<sub>2</sub> (триптофан), HOOCCH<sub>2</sub> (аспарагінова кислота), HOOCCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> (глутамінова кислота), H<sub>2</sub>NOCCH<sub>2</sub> (аспарагін), H<sub>2</sub>NOCCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> (глутамін), HOCH<sub>2</sub> (серин), CH<sub>3</sub>CH(OH) (треонін), HSCCH<sub>2</sub> (цистеїн), CH<sub>3</sub>SCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> (метіонін), C<sub>3</sub>H<sub>3</sub>N<sub>2</sub>CH<sub>2</sub> (гістидин), H<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub> (лізин) і H<sub>2</sub>NC(NH)(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub> (аргінін). Повинно бути зрозуміло для спеціаліста в хімії пептидів, що деякі з цих згаданих бокових ланцюгів містять функціональні групи, що є реакційно здатними за умов проведення конденсування двох фрагментів. Ці функціональні групи повинні бути захищені використовуючи придатну захисну групу. Такі групи описані в, наприклад, ["Protective Groups in Organic Synthesis", T.W. Greene, Wiley-Interscience, 1981]. Chn\* означає ті ж самі бокові замісники, але з будь якими захисними групами.

Відповідно, PG означає амінозахисну групу.

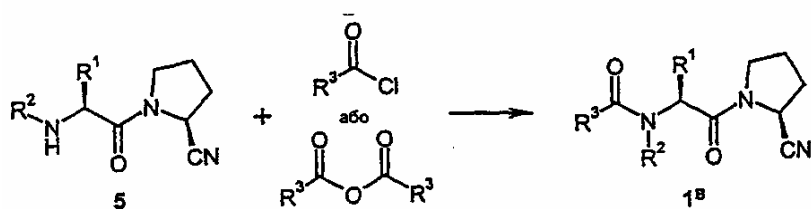
1-(2'-аміноацил)-2-ціанопіролідин 5 можна сконденсувати з прийнятно захищеною амінокислотою 6 одержуючи проміжну сполуку 7 використовуючи різноманітні умови, що добре відомі спеціалістам в хімії пептидів. Зазвичай, два компоненти розчиняють у в прийнятному розчиннику, який є нормальним апротонним розчинником, таким як дихлорметан або диметилформамід або їх суміш, і розчин охолоджують до 0°C або нижче. До розчину додають один або два еквіваленти амінооснови, такої як діізопропілетиламін або диметиламінопіридин. Потім додають конденсуючий агент і суміш перемішують до зникнення вихідних матеріалів, що визначають використовуючи, наприклад, аналітичну тонкошарову хроматографію. Якщо реакція іде повільно, може бути бажано залишити суміш для нагрівання до кімнатної температури для прискорення процесу. Придатним конденсуючими агентами є DCC (дициклогексилкарбодіімід), BOP (гексафторфосфат бензтриазол-1-ілокси)трис(диметиламіно)фосфонію, PyBOP® (гексафторфосфат

(бензтриазол-1-ілокси)трипіролідинфосфонію), PyBroP® (гексафторфосфат бромтрипіролідинфосфонію) і HBTU (гексафторфосфат O-(бензтриазол-1-іл)-N,N,N',N'-тетраметилуронію).

Зняття захисту з проміжної сполуки 7 дає цільову сполуку 1<sup>A</sup> (тобто сполуку загальної формули 1 з A загальної формули 2 і X є аміноацильним залишком).

Замість 6 можна використати придатно захищений пролін одержуючи аналог сполуки X - залишок пролілу. Всі захищені амінокислоти одержували з комерційних джерел.

Схема 2



На Схемі 2 показано одержання цих сполук. Вихідну сполуку 5 обробляють ацилхлоридом або ангідридом в апротонному розчиннику і в присутності аміно основи, такої як описано вище, одержуючи продукт 1<sup>B</sup>. Коли  $R^3=H$  не можна використовувати ацилхлорид або ангідрид. В цьому випадку використовують змішаний ангідрид. Реагент можна одержати загальновідомими способами з мурашиної кислоти і оцтового ангідриду.

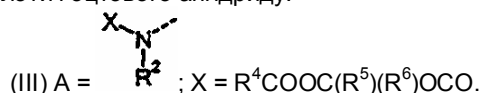
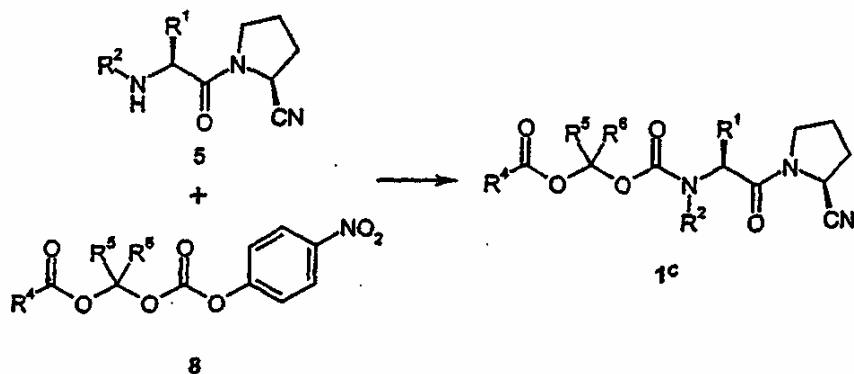


Схема 3



На Схемі 3 показано одержання цих сполук. Вихідну сполуку 5 обробляють п-нітрофенілкарбонатом 8 в апротонному розчиннику і в присутності амінооснови, такої як описано вище, одержуючи продукт 1<sup>C</sup>. Карбонат одержували згідно методики описаної [Alexander et al., J. Med. Chem. 31,318,1988].

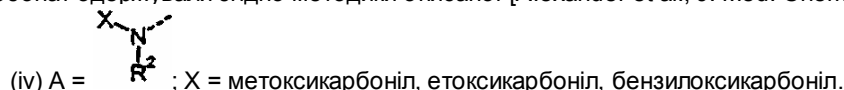
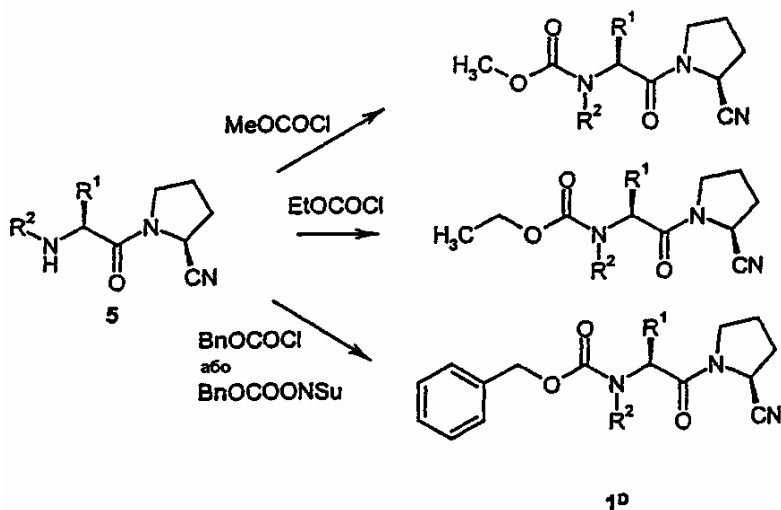


Схема 4



На Схемі 4 показано одержання цих сполук. Вихідну сполуку 5 обробляють хлорформіатом в апротонному розчиннику і в присутності амінооснови, такої як описано вище, одержуючи продукт 1<sup>D</sup>.

Оскільки бензилхлорформіат (BnOCOCI) не є дуже стабільним, його можна замінити бензил 1-сукцинімідилкарбонатом (BnOCONSu). Ці і всі інші хлорформіати одержували з комерційних джерел.

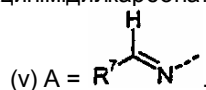
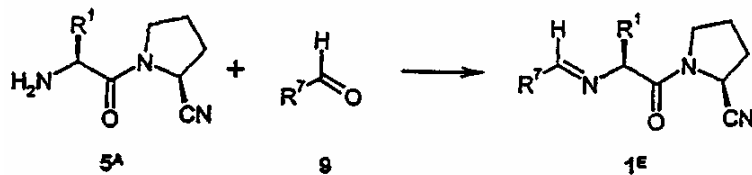


Схема 5



На Схемі 5 показано одержання цих сполук. Вихідна сполука 5<sup>A</sup> (тобто сполуки загальної формули 5 з R<sup>2</sup>H) реагує з альдегідом 9 в присутності кислотного каталізатору, такого як, наприклад, *p*-толуолсульфонова кислота. Реакцію проводять в розчиннику, такому як циклогексан або толуол при підвищеній температурі, такий як температура кипіння розчинника. Безперервно видаляють воду або за допомогою азеотропної відгонки, або використовуючи водопоглинаючий агент, такий як активовані молекулярні сита.

Альдегіди 9 одержують з комерційних джерел.

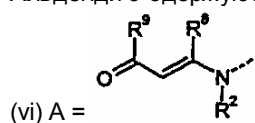
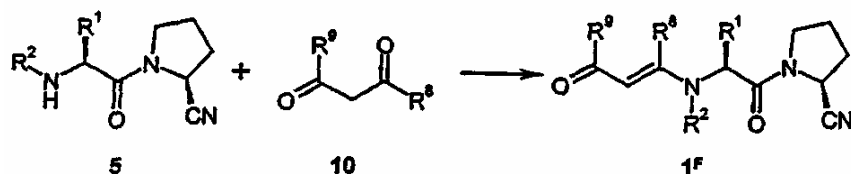


Схема 6

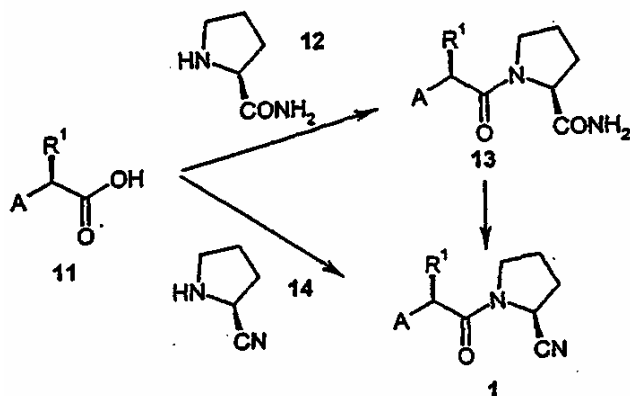


На Схемі 6 показано одержання цих сполук. Вихідна сполука 5 реагує з 1,3-дикарбонільною сполукою 10 в апротонному розчиннику і в присутності амінооснови, як описано вище, при кімнатній температурі.

Дикарбонільні сполуки 10 одержують з комерційних джерел або можна одержати згідно з добре відомими методиками.

Звичайно, можливі і інші синтетичні шляхи. Зазвичай вони відрізняються від описаних вище порядком проведення стадій. Два приклади показані на Схемі 7.

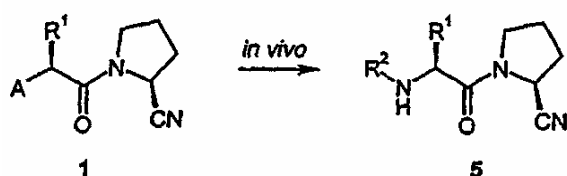
Схема 7



Проміжну сполуку 11 одержують згідно з методиками описаними раніше. Її можна сконденсувати з пролінамідом (12) згідно з методикою описаною на Схемі 1 одержуючи проміжну сполуку 13. Її можна дегідратувати шляхом обробки трифтороцтовим ангідридом одержуючи цільову сполуку. Альтернативно, проміжну сполуку 11 можна сконденсувати з проліннітрилом (14) одержуючи цільові сполуки безпосередньо.

Сполуки загальної формули 1 (сполуки представленого винаходу) метаболізують в тілі до сполук загальної формули 5. Ці метаболіти є інгібіторами DP-IV.

Схема 7



Як обговорювалось раніше, інгібітори DP-IV, як припускають, є корисними при лікуванні деяких медичних станів. Таким чином, сполуки представленого винаходу є корисними при лікуванні цих станів медичних станів. Зокрема, сполуки представленого винаходу є корисними при лікуванні погіршення толерантності до глюкози і діабету типу 2. Вони також можуть бути корисними при лікуванні захворювань, таких як безпліддя в наслідок полікістозного синдрому яєчників. Наступним використанням є лікування недостатності гормону росту, що обумовлює малий зріст, інші медичні стани також включені в рамки цього винаходу.

Для використання при лікуванні цих захворювань, сполуки винаходу зазвичай включають у склад фармацевтичних композицій і формують в залежності від шляху введення. Такі композиції є другим аспектом представленого винаходу. Фармацевтична композиція може містити інші фармацевтично прийнятні ексципієнти, що зазвичай використовуються в цій галузі, такі як наповнювачі, розріджувачі, дисперганти, консерванти, барвники і смакові агенти і їм подібні. Вибір ексципієнтів буде залежати від способу формування композиції і шляху її введення. Композиції можна призначати шляхами, що зазвичай використовуються в цій галузі. Наприклад, композицію можна сформувати у таблетку, капсулу, сироп або порошок для орального введення, у млинець або облатку для сублінгвального або букального введення, у супозиторій для ректального або вагінального введення, у розчин, суспензію або порошок для назального введення, у крем або лосьйон для місцевого введення, у пластр для трансдермального використання або у розчин або суспензію для підшкірного, внутрішньом'язового або внутрішньовенного введення. Форми для ін'єкцій можуть містити інкапсульовані і інші рецептури з контрольованим вивільненням, що відомі в цій галузі для депо призначення. Переважною композицією є таблетка для орального призначення.

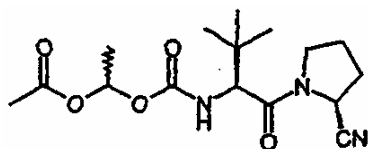
В третьому аспекті, винахід стосується способу лікування інтолерантності глюкози або діабету типу 2, де особі, що потребує такого лікування, призначають терапевтично ефективну кількість сполуки, що описана вище. Режим дозування буде визначати лікар беручи до уваги характеристики пацієнта. Доза буде знаходитися в інтервалі від 1мг до 500мг від одного разу на день до чотирьох разів на день.

Представлений раніше опис надалі описується за допомогою ряду прикладів. Вони приведені з ціллю демонстрації виконання винаходу, але вони не повинні розглядатися як такі, що обмежують рамки винаходу.

#### Приклади

Розчинники і реагенти використовують безпосередньо без попередньої очистки. Структури всіх проміжних сполук було підтверджено за допомогою  $^1\text{H}$  ЯМР. Кінцеві продукти характеризували за допомогою маспектрометрії і/або елементного аналізу.

Приклад 1 - (2S)-1-((2'S)-2'-(1''-Ацетоксietоксикарбон:ламіно)-3',3'-диметилбутаноїл)піролідін-2-карбонітрил

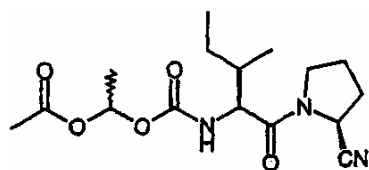


Розчин гідрохлориду (2S)-1-((2'S)-2'-аміно-3',3'-диметилбутаноїл)піролідін-2-карбонітрилу (180мг, 0,73ммоль; одержували згідно Jenkins et al., WO95/15309),  $\alpha$ -ацетоксietил п-нітрофенілкарбонату (220мг, 0,82ммоль; одержували згідно Atexander et al., J. Med. Chem. 31, 318, 1988) і триетиламіну (90мг, 0,90ммоль) в дихлорметані (25мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин. Після цього розчинник видаляли у вакуумі і залишок переносили в етилацетат (70мл). Цей розчин промивали 0,3М  $\text{KHSO}_4$ , нас.  $\text{NaHCO}_3$ , водою і насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) і випарювали. Залишок очищали за допомогою флеш хроматографії (елюент EtOAc:Пет. Ефір 60-80°C; 3:7) одержуючи білу тверду речовину, яку ідентифікували як вказану в заголовку сполуку (170мг, 0,50ммоль, 68%).

МС: - ESI  $\{M+H\}^+ = 340,2$

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,02, 1,03 (9H, 2x), 1,42-1,46 (3H, м), 2,03, 2,05 (3H, 2x), 2,15-2,25 (4H, м), 3,69-3,76 (2H, м), 4,23-4,28 (1H, м), 4,77-4,79 (1H, м), 5,43 (1H, д,  $J=9,5\text{Гц}$ ), 6,73-6,77 (1H, м) м.ч.

Приклад 2 - (2S)-1-(ізолейцил)піролідін-2-карбонітрил



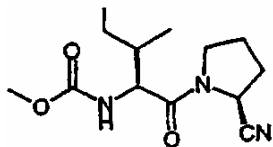
Розчин гідрохлориду (2S)-1-(ізолейцил)піролідін-2-карбонітрилу (500мг, 2,04ммоль; одержували згідно Jenkins et al., WO95/15309),  $\alpha$ -ацетоксietил п-нітрофенілкарбонату (610мг, 2,27ммоль; одержували згідно Alexander et al., J. Med. Chem. 31, 318, 1988) і триетиламіну (250мг, 2,50ммоль) в дихлорметані (40мл)

перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин. Після цього розчинник видаляли у вакуумі і залишок переносили в етилацетат (70мл). Цей розчин промивали 0,3М  $\text{KHSO}_4$ , нас.  $\text{NaHCO}_3$ , водою і насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) і випарювали. Залишок очищали за допомогою флеш хроматографії (елюент EtOAc:Пет. Ефір 60-80°C; 3:7) одержуючи безбарвне масло, яке ідентифікували як вказану в заголовку сполуку (480мг, 1,42ммоль, 70%).

МС: - ESI  $\{M+H\}^+ = 340,0$

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,86-0,89 (6H, м), 0,92-0,97 (1H, м), 1,41-1,45 (3H, м), 1,50-1,80 (2H, м), 2,02 (3H, д,  $J=5,2\text{Гц}$ ), 2,14-2,27 (4H, м), 3,60-3,75 (2H, м), 4,23-4,26 (1H, т,  $J=7,6\text{Гц}$ ), 4,77 (1H, д,  $J=2,3\text{Гц}$ ), 5,30-5,50 (1H, м), 6,73-6,77 (1H, м) м.ч.

Приклад 3 - (2S)-1-(N'-(Метокискарбоніл)ізолейцил)піролідін-2-карбонітрил

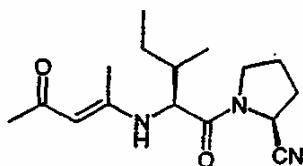


Розчин гідрохлориду (2S)-1-(ізолейцил)піролідін-2-карбонітрилу (300мг, 1,22ммоль; одержували згідно Jenkins et al., WO95/15309), метилхлорформіату (125мг, 1,3ммоль) і триетиламіну (150мг, 1,50ммоль) в дихлорметані (40мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин. Після цього розчинник видаляли у вакуумі і залишок переносили в етилацетат (70мл). Цей розчин промивали 0,3М  $\text{KHSO}_4$ , нас.  $\text{NaHCO}_3$ , водою і насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) і випарювали. Залишок очищали за допомогою флеш хроматографії (EtOAc:Пет. Ефір 60-80°C; 4:6) одержуючи безбарвне масло, яке ідентифікували як вказану в заголовку сполуку (310мг, 1,16ммоль, 95%).

МС: - ESI  $\{M+H\}^+ = 268,2$

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,85-0,95 (6H, м), 1,10-1,25 (1H, м), 1,54-1,77 (2H, м), 2,11-2,26 (4H, м), 3,62 (3H, с), 3,66-3,79 (2H, м), 4,21 (1H, т,  $J=9,2\text{Гц}$ ), 4,74-4,78 (1H, м), 5,30 (1H, д,  $J=9,1\text{Гц}$ ) м.ч.

Приклад 4 - (2S)-1-((N')-(4''-Оксопент-2''-ен-2''-іл)ізолейцил)піролідін-2-карбонітрил

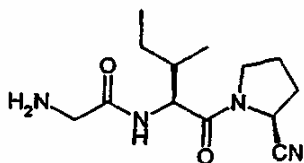


Розчин гідрохлориду (2S)-1-(ізолейцил)піролідін-2-карбонітрилу (150мг, 0,61ммоль; одержували згідно Jenkins et al., WO95/15309), 2,4-пентадіону (68мг, 0,68ммоль) і триетиламіну (75мг, 0,75ммоль) в дихлорметані (25мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин. Після цього розчинник видаляли у вакуумі і залишок переносили в етилацетат (70мл). Цей розчин промивали 0,3М  $\text{KHSO}_4$ , нас.  $\text{NaHCO}_3$ , водою і насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) і випарювали. Залишок очищали за допомогою флеш хроматографії (елюент EtOAc:Пет. Ефір 60-80°C; 7:3) одержуючи безбарвне масло, яке ідентифікували як вказану в заголовку сполуку (85мг, 0,29ммоль, 47%).

МС: - ESI  $\{M+H\}^+ = 292,3$

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  0,87-0,98 (6H, м), 1,19-1,25 (1H, м), 1,61-1,69 (2H, м), 1,84 (3H, с), 1,98 (3H, с), 2,15-2,25 (4H, м), 3,49-3,54 (1H, м), 3,62-3,69 (1H, м), 3,95-3,98 (1H, м), 4,75-4,79 (1H, м), 4,98 (1H, с), 11,09 (1H, д,  $J=8,1\text{Гц}$ ) м.ч.

Приклад 5 - (2S)-1-(Гліцилізолейцил)піролідін-2-карбонітрил



(а) (2S)-1-(ізолейцил)піролідін-2-карбонітрил

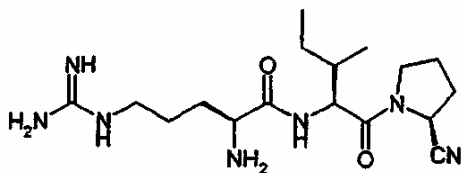
До розчину гемігідрату Вос-ізолейцину (0,96г, 4ммоль) і PyBOP® (2,34г, 4,5ммоль) в дихлорметані (25мл) додавали DIPEA (1,74мл, 10ммоль). До цього розчину додавали твердий гідрохлорид (S)-піролідін-2-карбонітрилу (0,60г, 4,5ммоль) після чого додавали ще одну порцію DIPEA (697мкл, 4ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом 2г. Розчинник видаляли на роторному випаровувачі і залишок переносили в етилацетат. Одержаний розчин промивали 0,3М бісульфатом натрію (2×), насиченим бікарбонатом натрію (2×), водою і насиченим хлоридом натрію. Органічну фазу сушили над безводним сульфатом натрію і розчинник видаляли на роторному випаровувачі. Залишок розчиняли в суміші ТФО (95%) і води (5%). Через 1г більшу частину ТФО і води видаляли при пониженому тиску, і залишок розтирали з ефіром, одержуючи осад. Осад збирали і сушили в вакуумі одержуючи трифторацетатну сіль вказаного в заголовку продукту у вигляді білої твердої речовини; вихід 0,58г (1,8ммоль, 45%).

(б) (2S)-1-(Гліцилізолейцил)піролідін-2-карбонітрил

До розчину Вос-гліцину (0,21г, 1,2ммоль) і PyBOP® (0,62г, 1,2ммоль) в дихлорметані (3мл) додавали DIPEA (522мкл, 3ммоль). До цього розчину додавали продукт Прикладу 5а (0,28г, 0,9ммоль) після чого додавали ще одну порцію DIPEA (157мкл, 0,9ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом ночі.

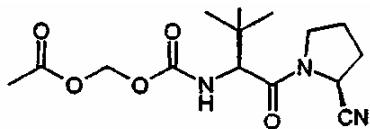
Розчинник видаляли на роторному випаровувачі і залишок переносили в етилацетат. Одержаний розчин промивали 0,3М бісульфатом натрію (2×), насиченим бікарбонатом натрію (2×), водою і насиченим хлоридом натрію. Органічну фазу сушили над безводним сульфатом натрію і розчинник видаляли на роторному випаровувачі. Залишок розчиняли в суміші ТФО (95%) і води (5%) і суміш перемішували протягом ночі. Більшу частину ТФО і води видаляли при пониженому тиску. Залишок очищали за допомогою ВЕРХ з оберненою фазою одержуючи трифторацетатну сіль кінцевого продукту у вигляді білого порошку; вихід 171мг (50%).

Приклад 6 - (2S)-1-(Аргінілізолейцил)піролідін-2-карбонітрил



До розчину Boc-Arg(Mtr)-OH (0,58г, 1,2ммоль) і PyBOP® (0,62г, 1,2ммоль) в дихлорметані (3мл) додавали DIPEA (522мкл, 3ммоль). До цього розчину додавали продукт Прикладу 5а (0,28г, 0,9ммоль) після чого додавали ще одну порцію DIPEA (157мкл, 0,9ммоль). Реакційну суміш перемішували протягом ночі. Розчинник видаляли на роторному випаровувачі, і залишок переносили в етилацетат. Одержаний розчин промивали 0,3М бісульфатом натрію (2×), насиченим бікарбонатом натрію (2×), водою і насиченим хлоридом натрію. Органічну фазу сушили над безводним сульфатом натрію і розчинник видаляли на роторному випаровувачі. Залишок розчиняли в суміші ТФО (95%) і води (5%) і суміш перемішували протягом ночі. Більшу частину ТФО і води видаляли при пониженому тиску і залишок розтирали з ефіром. Ефірний шар декантували і залишок очищали за допомогою ВЕРХ з оберненою фазою одержуючи трифторацетатну сіль кінцевого продукту у вигляді білого порошку; вихід 83мг (19%).

Приклад 7 - (2S)-1-((2'S)-2'-(Ацетоксиметоксикарбоніламіно)-3',3'-диметил-бутаноїл)піролідін-2-карбонітрил

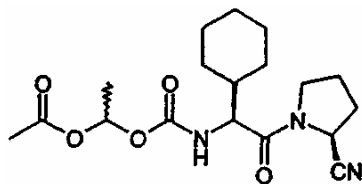


Розчин гідрохлориду (2S)-1-((2'S)-2'-аміно-3',3'-диметилбутаноїл)піролідін-2-карбонітрилу (150мг, 0,61ммоль; одержували згідно Jenkins et al., WO95/15309), ацетоксиметил п-нітрофенілкарбонату (168мг, 0,66ммоль; одержували згідно Ate Alexander et al., J. Med. Chem. 31, 318, 1988) і триетиламіну (70мг, 0,70ммоль) в дихлорметані (25мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин. Після цього розчинник видаляли у вакуумі і залишок переносили в етилацетат (70мл). Цей розчин промивали 0,3М KHSO<sub>4</sub>, нас. NaHCO<sub>3</sub>, водою і насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) і випарювали. Залишок очищали за допомогою флеш хроматографії (елюент EtOAc:Пет. Ефір 60-80°C; 4:6) одержуючи білу тверду речовину, яку ідентифікували як вказану в заголовку сполуку (188мг, 0,58ммоль, 95%).

МС: - ESI {M+H}<sup>+</sup>=326,1

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): δ 1,03 (9H, с), 2,09 (3H, с), 2,16-2,24 (4H, м), 3,72-3,77 (2H, м), 4,25 (1H, д, J=9,6Гц), 4,77-4,80 (1H, м), 5,68 (1H, д), 5,68 (2H, с) м.ч.

Приклад 8 - (2S)-1-((2'S)-2'-(1''-Ацетоксисетоксикарбоніламіно)-2'-циклогексилацетил)піролідін-2-карбонітрил



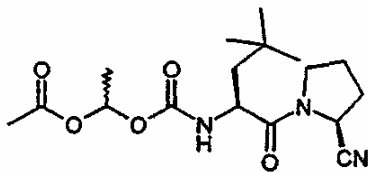
Розчин трифторацетату (2S)-1-((2'S)-2'-аміно-2'-циклогексилацетил)піролідін-2-карбонітрилу (100мг, 0,28ммоль; одержували згідно Jenkins et al., WO95/15309), α-ацетоксисетил п-нітрофенілкарбонату (76мг, 0,29ммоль; одержували згідно Ate Alexander et al., J. Med. Chem. 31, 318, 1988) і триетиламіну (35мг, 0,35ммоль) в дихлорметані (25мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин. Після цього розчинник видаляли у вакуумі і залишок переносили в етилацетат (70мл). Цей розчин промивали 0,3М KHSO<sub>4</sub>, нас. NaHCO<sub>3</sub>, водою і насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) і випарювали. Залишок очищали за допомогою флеш хроматографії (елюент EtOAc:Пет. Ефір 60-80°C; 4:6) одержуючи білу тверду речовину, яку ідентифікували як вказану в заголовку сполуку (43мг, 0,12ммоль, 41%).

МС: - ESI {M+H}<sup>+</sup>=366,2

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): δ 0,97-1,21 (4H, м), 1,40-1,48 (3H, м), 1,67-1,77 (7H, м), 2,02 (3H, д, J=7,8Гц), 2,11-2,26 (4H, м), 3,65-3,73 (2H, м), 4,16-4,22 (1H, м), 4,76 (1H, д, J=4,2Гц), 5,36-5,41 (1H, м), 6,73-6,77 (1H, м) м.ч.

Приклад 9 - (2S)-1-((2'S)-2'-(1''-Ацетоксисетоксикарбоніламіно)-4',4'-диметил-пентаноїл)піролідін-2-карбонітрил



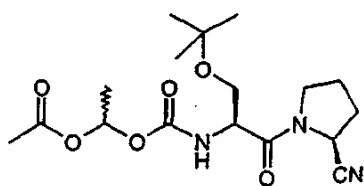


Розчин трифторацетату (2S)-1-((2'S)-2'-аміно-4',4'-диметилпентаноїл)піролідін-2-карбонітрилу (100мг, 0,30ммоль; одержували згідно Jenkins et al., WO95/15309),  $\alpha$ -ацетоксиетил п-нітрофенілкарбонату (87мг, 0,33ммоль; одержували згідно Ate Alexander et al., J. Med. Chem. 31. 318, 1988) і триетиламіну (40мг, 0,40ммоль) в дихлорметані (25мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин. Після цього розчинник видаляли у вакуумі і залишок переносили в етилацетат (70мл). Цей розчин промивали 0,3M KHSO<sub>4</sub>, нас. NaHCO<sub>3</sub>, водою і насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) і випарювали. Залишок очищали за допомогою флеш хроматографії (елюент EtOAc:Пет. Ефір 60-80°C; 4:6) одержуючи білу тверду речовину, яку ідентифікували як вказану в заголовку сполуку (32мг, 0,09ммоль, 31%).

МС: - ESI {M+H}<sup>+</sup>=354,2

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,97, 0,98 (9H, 2 $\times$ c), 1,41-1,43 (3H, м), 1,44-1,62 (2H, м), 2,03 (3H, д, J=2,3Гц), 2,16-2,21 (4H, м), 3,61-3,63 (1H, м), 3,74-3,78 (1H, м), 4,45-4,52 (1H, м), 4,75-4,77 (1H, м), 5,24-5,29 (1H, м), 6,73-6,78 (1H, м) м.ч.

Приклад 10 - (2S)-1-(N<sup>α</sup>-(1''-Ацетоксиетоксикарбоніл)-O'-трет-бутилсериніл)піролідін-2-карбонітрил

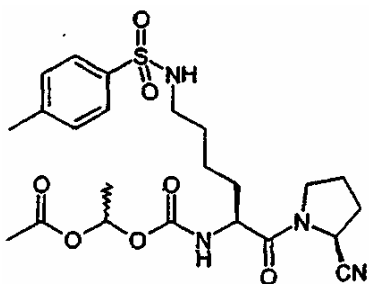


Розчин гідрохлориду (2S)-1-(O'-трет-бутилсериніл)піролідін-2-карбонітрилу (30мг, 0,11ммоль; одержували згідно Jenkins et al., WO95/15309),  $\alpha$ -ацетоксиетил п-нітрофенілкарбонату (32мг, 0,12ммоль; одержували згідно Ate Alexander et al., J. Med. Chem. 31, 318, 1988) і триетиламіну (20мг, 0,20ммоль) в дихлорметані (25мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин. Після цього розчинник видаляли у вакуумі і залишок переносили в етилацетат (70мл). Цей розчин промивали 0,3M KHSO<sub>4</sub>, нас. NaHCO<sub>3</sub>, водою і насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) і випарювали. Залишок очищали за допомогою флеш хроматографії (елюент EtOAc:Пет. Ефір 60-80°C; 4:6) одержуючи білу тверду речовину, яку ідентифікували як вказану в заголовку сполуку (14мг, 0,038ммоль, 35%).

МС: - ESI {M+H}<sup>+</sup>=370,1

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1,11-1,15 (9H, м), 1,41-1,45 (3H, м), 2,04 (3H, д, J=4,9Гц), 2,10-2,15 (2H, м), 3,43-3,62 (5H, м), 3,90-4,00 (1H, м), 4,50-4,65 (1H, м), 4,73 (1H, д, J=5,2Гц), 5,45-5,72 (1H, м), 6,76-6,79 (1H, м) м.ч.

Приклад 11 - (2S)-1-(N<sup>α</sup>-(1'-Ацетоксиетоксикарбоніл)-N<sup>ω</sup>-п-толуолсульфоніллізиніл)піролідін-2-карбонітрил

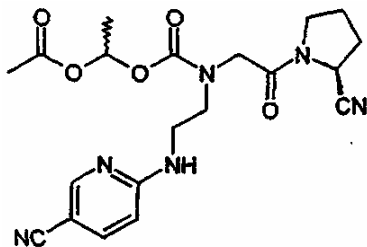


Розчин трифторацетату (2S)-1-(N<sup>α</sup>-п-толуолсульфоніллізиніл)піролідін-2-карбонітрилу (100мг, 0,20ммоль; одержували згідно Jenkins et al., WO95/15309),  $\alpha$ -ацетоксиетил п-нітрофенілкарбонату (61мг, 0,23ммоль; одержували згідно Ate Alexander et al., J. Med. Chem. 31, 318, 1988) і триетиламіну (30мг, 0,30ммоль) в дихлорметані (25мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин. Після цього розчинник видаляли у вакуумі і залишок переносили в етилацетат (70мл). Цей розчин промивали 0,3M KHSO<sub>4</sub>, нас. NaHCO<sub>3</sub>, водою і насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) і випарювали. Залишок очищали за допомогою флеш хроматографії (елюент EtOAc:Пет. Ефір 60-80°C; 7:3) одержуючи білу тверду речовину, яку ідентифікували як вказану в заголовку сполуку (51мг, 0,10ммоль, 49%).

МС: - ESI {M+H}<sup>+</sup>=509,0

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  1,41-1,48 (6H, м), 1,51-1,69 (2H, м), 2,05 (3H, д, J=18,3Гц), 2,12-2,28 (5H, м), 2,41 (3H, с), 2,86-2,93 (2H, м), 3,63-3,64 (2H, м), 4,38-4,42 (1H, м), 4,72-4,73 (1H, м), 4,74-4,79, 5,10-5,20 (1H, 2 $\times$ м), 5,54-5,62 (1H, м), 6,74-6,79 (1H, м), 7,29 (2H, д, J=7,7Гц), 7,71 (2H, д, J=8,4Гц) м.ч.

Приклад 12 - (2S)-1-(N<sup>α</sup>-(1'-Ацетоксиетоксикарбоніл)-N<sup>ω</sup>-(2''-(5'''-ціанопіридин-2'''-іламіно)етил)гліциніл)піролідін-2-карбонітрил

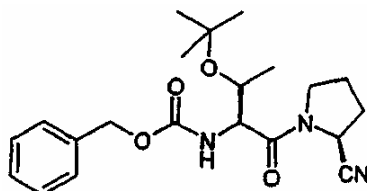


Розчин біс(трифторацетату) 1-([2-[(5-ціанопіридин-2-іл)аміно]етил]аміно)ацетил-2-ціано-(5)-піролідину (100мг, 0,19ммоль; одержували згідно Villhauer et al., WO98/19998),  $\alpha$ -ацетоксиетил п-нітрофенілкарбонату (56мг, 0,21ммоль; одержували згідно Alexander et al., J. Med. Chem. 31. 318, 1988) і триетиламіну (50мг, 0,50ммоль) в дихлорметані (25мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин. Після цього розчинник видаляли у вакуумі і залишок переносили в етилацетат (70мл). Цей розчин промивали 0,3М  $\text{KHSO}_4$ , нас.  $\text{NaHCO}_3$ , водою і насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) і випарювали. Залишок очищали за допомогою флеш хроматографії (елюент EtOAc:Пет. Ефір 60-80°C; 9:1) одержуючи білу тверду речовину, яку ідентифікували як вказану в заголовку сполуку (13мг, 0,03ммоль, 16%).

МС: - ESI  $\{M+H\}^+ = 429,2$

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,21-1,32 (3H, м), 1,40-1,46 (1H, м), 1,99-2,05 (4H, м), 2,17-2,31 (4H, м), 3,50-3,63 (6H, м), 4,40-4,50 (1H, м), 4,77 (1H, д,  $J=5,9\text{Гц}$ ), 6,45-6,49 (1H, м), 6,68-6,77 (1H, м), 7,44-7,48 (1H, м), 8,32 (1H, с) м.ч.

Приклад 13 - (2S)-1-(N'-(Бензилоксикарбоніл)-O'-трет-бутилтреонініл)-піролідин-2-карбонітрил

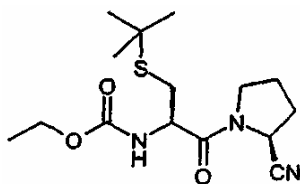


Розчин гідрохлориду (2S)-1-(O'-трет-бутилтреонініл)піролідин-2-карбонітрилу (35мг, 0,12ммоль; одержували згідно Jenkins et al., WO95/15309), бензилхлорформіату (32мг, 0,13ммоль) і триетиламіну (24мг, 0,24ммоль) в дихлорметані (25мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин. Після цього розчинник видаляли у вакуумі і залишок переносили в етилацетат (70мл). Цей розчин промивали 0,3М  $\text{KHSO}_4$ , нас.  $\text{NaHCO}_3$ , водою і насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) і випарювали. Залишок очищали за допомогою флеш хроматографії (елюент: хлороформ:метанол; 98:2) одержуючи білу тверду речовину, яку ідентифікували як вказану в заголовку сполуку (47мг, 0,12ммоль, 100%).

МС: - ESI  $\{M+H\}^+ = 388,3$

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,10-1,30 (3H, м), 1,18 (9H, с), 2,00-2,45 (4H, м), 3,55-3,70 (1H, м), 3,85-4,00 (2H, м), 4,30-4,40 (1H, м), 4,70-4,80 (1H, м), 5,07 (2H, с), 5,75 (1H, д,  $J=8,15\text{Гц}$ ), 7,20-7,45 (5H, м) м.ч.

Приклад 14 - (2S)-1-(S'-трет-Бутил-N'-(етилоксикарбоніл)цистеїніл)піролідин-2-карбонітрил

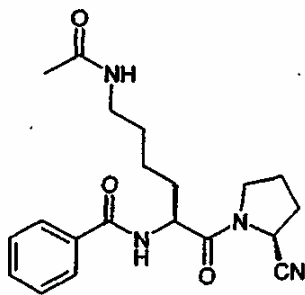


Розчин трифторацетату (2S)-1-(5'-трет-бутилцистеїніл)піролідин-2-карбонітрилу (1000мг, 0,27ммоль; одержували згідно Jenkins et al., WO95/15309), етилхлорформіату (35мг, 0,32ммоль) і триетиламіну (50мг, 0,50ммоль) в дихлорметані (25мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин. Після цього розчинник видаляли у вакуумі і залишок переносили в етилацетат (70мл). Цей розчин промивали 0,3М  $\text{KHSO}_4$ , нас.  $\text{NaHCO}_3$ , водою і насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) і випарювали. Залишок очищали за допомогою флеш хроматографії (елюент EtOAc:Пет. Ефір 60-80°C; 8:2) одержуючи білу тверду речовину, яку ідентифікували як вказану в заголовку сполуку (30мг, 0,092ммоль, 35%).

МС: - ESI  $\{M+H\}^+ = 328,1$

$^1\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  1,18 (3H, т,  $J=7\text{Гц}$ ), 1,30 (9H, с), 2,17-2,24 (4H, ш м), 2,82-2,85 (2H, м), 3,70-3,82 (2H, ш м), 4,05-4,09 (2H, м), 4,48-4,53 (1H, м), 4,74-4,77 (1H, м), 5,41-5,44 (1H, м) м.ч..

Приклад 15 - (2S)-1-(N<sup>ω</sup>-Ацетил-N<sup>α</sup>-бензоїллізініл)піролідин-2-карбонітрил

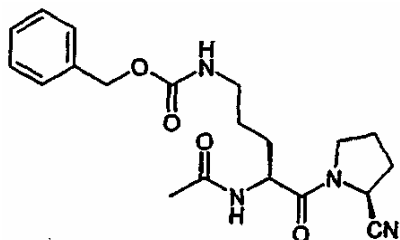


Розчин трифторацетату (2S)-1-(N<sup>o</sup>-ацетиллізиніл)піролідін-2-карбонітрилу (100мг, 0,22ммоль; одержували згідно Jenkins et al., WO95/15309), бензоїлхлориду (343мг, 0,24ммоль) і триетиламіну (45мг, 0,45ммоль) в дихлорметані (25мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин. Після цього розчинник видаляли у вакуумі і залишок переносили в етилацетат (70мл). Цей розчин промивали 0,3М KHSO<sub>4</sub>, нас. NaHCO<sub>3</sub>, водою і насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) і випарювали. Залишок очищали за допомогою флеш хроматографії (елюент хлороформ: метанол; 97:3) одержуючи білу тверду речовину, яку ідентифікували як вказану в заголовку сполуку (83мг, 0,22ммоль, 100%).

МС: - ESI {M+H}<sup>+</sup>=387,6

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): δ 1,56-1,78 (4H, ш м), 1,94 (3H, с), 2,12-2,20 (4H, ш м), 3,21-3,23 (2H, м), 3,59-3,72 (2H, м), 4,65-4,69 (2H, м), 5,07 (2H, с), 5,18-5,21 (1H, м), 6,69-6,72 (1H, м), 7,24-7,34 (5H, м) м.ч.

Приклад 16 - (2S)-1-(N<sup>o</sup>-(Ацетил)-N<sup>o</sup>-бензилоксикарбоніл)орнітиніл)-піролідін-2-карбонітрил



Розчин трифторацетату (2S)-1-(N<sup>o</sup>-(бензилоксикарбоніл)орнітиніл)піролідін-2-карбонітрилу (100мг, 0,23ммоль; одержували згідно Jenkins et al., WO95/15309), ацетилхлориду (20мг, 0,26ммоль) і триетиламіну (50мг, 0,50ммоль) в дихлорметані (25мл) перемішували при кімнатній температурі протягом 18 годин. Після цього розчинник видаляли у вакуумі і залишок переносили в етилацетат (70мл). Цей розчин промивали 0,3М KHSO<sub>4</sub>, нас. NaHCO<sub>3</sub>, водою і насиченим водним розчином хлориду натрію, сушили (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) і випарювали. Залишок очищали за допомогою флеш хроматографії (елюент хлороформ:метанол; 97:3) одержуючи білу тверду речовину, яку ідентифікували як вказану в заголовку сполуку (49мг, 0,13ммоль, 55%).

МС: - ESI {M+H}<sup>+</sup>=371,2

<sup>1</sup>H ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): δ 1,30-1,65 (4H, м), 1,75-1,95 (2H, м), 1,90 (3H, с), 2,10-2,40 (4H, м), 3,10-3,30 (2H, м), 3,65-3,90 (2H, м), 4,70-4,90 (2H, м), 5,90-6,00 (1H, м), 7,30-7,50 (4H, м), 7,70-7,80 (2H, м) м.ч.

Приклад 17 - In vitro inhibitory activity vs. DP-IV

Досліджували сполук попередніх прикладів на інгібування DP-IV згідно з методом описаним Ashworth et al. (Bioorg. Med. Chem. Lett. 1996, 6(10), 1163-66). Не спостерігалось інгібуючої активності до 10мкМ, з чого випливає, що проліки винаходу є, в принаймні, 1000 разів менш активними ніж інгібітори, похідними яких вони є. Відповідно, можна припустити, що будь яка активність in vivo є наслідком біоперетворення у вихідні інгібітори.

Приклад 18 - In vivo активність на моделі толерантності до глюкози

Активність сполук досліджували на самицях щурів Zucker Fatty віком 10-20 неділь. Тварин не годували протягом ночі і потім їм вводили тестуємі сполуки (10мг/кг) у вигляді розчину для орального введення за допомогою зонду. Через одну годину відбирали зразки крові (200мкл) з хвостової вени для встановлення основного рівня глюкози (t=0), потім тваринам давали орально глюкозу (1г/кг як 40% ваг/об розчин). Відбирали зразки крові t=10, 20, 30, 60 і 120 хвилин. Рівень глюкози визначали використовуючи ферментне дослідження. Результати приведені в Таблиці нижче.

Сполука	Рівень глюкози в крові (мг/дл); значення±SE, n=4					
	t=0	t=10	t=20	t=30	t=60	t=120
Розчинник	95,1±7,36	151,6±8,12	164,3±10,7	153,2±7,8	153,4±7,8	122,4±7,0
Приклад 2	80,2±4,2	122,2±7,8	117,8±4,8	104,4±5,6	117,6±6,7	111,3±12,1
Приклад 3	86,4±3,4	175,1±3,8	148,5±23,2	136,7±16,9	120,6±8,3	101,9±4,5
Приклад 5	80,5±1,4	141,3±14,5	134,2±10,3	129,2±8,2	114,6±8,1	121,2±5,8
Порівняння	91,4±5,2	125,8±8,9	110,0±21,5	110,9±4,4	112,2±7,5	108,7±8,9

Сполукою для порівняння у приведених вище експериментах була сполука Прикладу 11 WO 95/15309. Це вихідна сполука для проліків Прикладів 2-6 представленого винаходу.

З представлених вище результатів зрозуміло, що проліки ефективні при зменшенні гіперглікемії, що викликана глюкозою, але вони не завжди є такими ж ефективними як порівняльна сполука на перших етапах дослідження. Це було очікуваним для проліків, що перетворюються з високим виходом у вихідний

лікарський засіб. Результати перших етапів дослідження є наслідком метаболічного перетворення циркулюючого пролікарського засобу.

В окремих експериментах тестуємі сполуки вводили в тих же самих дозах (10мг/кг) але з 12 годин до орального введення глюкози. Результати приведені нижче.

Сполука	Рівень глюкози в крові (мг/дл); значення $\pm$ SE, n=4						
	t=0	t=10	t=20	t=30	t=60	t=120	AUC
Розчинник	84,2 $\pm$ 3,7	145,5 $\pm$ 6,6	134,3 $\pm$ 8,0	127,2 $\pm$ 10,1	122,9 $\pm$ 8,7	112,2 $\pm$ 8,6	4556 $\pm$ 458
Приклад 1	83,7 $\pm$ 3,8	113,5 $\pm$ 10,8	111,3 $\pm$ 9,9	91,9 $\pm$ 11,8	99,3 $\pm$ 10,0	116,9 $\pm$ 14,4	2430 $\pm$ 591

AUC (площина під кривою концентрація-час) є значно зменшеним, показує що проліки мають значну антигіперглікемічну активність протягом 12 годин.

Приведені вище результати демонструють, що сполуки представленого винаходу проявляють антигіперглікемічну активність після орального призначення в відповідних тваринних моделях неприйняття глюкози. Крім того, як і очікувалось, вони є ефективними при лікуванні погіршення толерантності до глюкози у людей і діабету типу 2. Крім того, *in vivo* результати підтвердили, що проліки перетворюються у активні інгібітори DP-IV, і що вони можуть бути корисні при лікуванні всіх інших патологій, для яких пропонуються такі інгібітори в якості терапевтичних агентів.

Приклад 19 - Фармацевтичні рецептури

19A - 50мг Таблетки

Таблетки, що містять 50мг сполуки Прикладу 1, одержували наступним чином:

Сполука Прикладу 154,5г

Кукурудзяний крохмаль 53,5г

Гідроксипропілцелюлоза 13,5г

Кальцій карбоксиметилцелюлоза 11,0г

Стеарат магнію 2,0г

Лактоза 165,5г

Загалом 400,0г

Матеріали змішували і потім пресували одержуючи 2000 таблеток по 200мг, кожна містила 50мг сполуки Прикладу 1.

Сполуки Прикладів 2, 3 і 5 формували окремо у відповідні таблетки тим же самим способом. Сполуки прикладів 4 і 6-16 формували окремо подібним чином в таблетки, що містять 100мг відповідної сполуки.