

Il est toujours intéressant de pouvoir suivre, sur la base de documents irréfutables, et en temps réel, comment la compréhension des mécanismes d'apparition d'une pathologie largement répandue, le diabète de type 2, peut conduire à la conception d'un nouveau médicament. Plus intéressant encore, est de suivre comment un industriel se saisit du concept, le traduit en synthèse chimique, et surtout, comment les contraintes inhérentes au processus amènent à faire évoluer cette synthèse jusqu'à aboutir à une autorisation de mise sur le marché dans des conditions respectueuses de l'environnement et économiquement acceptables.

Ce processus, souvent évoqué et rarement décrit, est en soi porteur d'innovations scientifiques comme le montre le dossier qui suit. En effet, optimiser une suite de réactions est plus qu'une œuvre de « tâcheron ». Plus qu'améliorer un processus, un procédé, il faut innover, ce qui exige culture, imagination, créativité, et la capacité à se remettre en cause.

Cette étude est exemplaire à un autre titre. En effet, dans un contexte où les scandales, savamment orchestrés, occultent les mises en perspective, voire les mises en garde, raisonnables, il est important qu'au moins les scientifiques, éventuellement futurs patients, soient clairement informés. À titre d'exemple, les statines, abusivement prescrites sans nécessité contre le « cholestérol », présentent des risques bien connus. Les refuser sans nuance risque d'entraîner de sérieux problèmes sanitaires si la peur et le rejet s'installent dans la population, comme cela a été le cas récemment avec la vaccination.

Le traitement du diabète de type 2, dont sont atteints environ 2,7 millions de personnes en France (soit 4,6 % de la population), pose lui aussi des questions : jusqu'à quel niveau faut-il faire baisser l'hyperglycémie ? Et dans quel ordre introduire les différents antidiabétiques ?

Mercredi 13 février dernier, la Haute Autorité de Santé (HAS) et l'Agence nationale de sécurité du médicament (ANSM) ont publié leurs nouvelles recommandations, destinées aux professionnels de santé, mais également au grand public (vidéo), accessibles sur le site de l'HAS, rappelant le caractère éminemment individuel de la maladie et de sa prise en charge. Ainsi, l'objectif glycémique cible sera adapté par le médecin au profil du patient et évoluera donc au cours du temps. Les mesures hygiéno-diététiques simples doivent être à la base de toute prise en charge (alimentation saine et équilibrée et pratique régulière d'une activité physique ou sportive, même modérée). Le traitement de première intention devra s'appuyer sur les médicaments connus comme la metformine. Une bi-, voire une trithérapie pourra être envisagée sur la base d'une association de metformine et de sulfamide hypoglycémiant. L'insuline reste le traitement de choix lorsque les traitements oraux et non insuliniques ne permettent pas d'atteindre l'objectif glycémique. Les autres traitements seront réservés aux situations dans lesquelles les traitements recommandés en première intention ne peuvent pas être prescrits. Ainsi, le recours aux incrétones est toujours d'actualité, en attendant les résultats des études en cours mesurant leur impact sur la morbi-mortalité cardiovasculaire.

Rose Agnès Jacquesy

# Dipeptidyl peptidase-4 et Januvia<sup>®</sup> : un duo gagnant contre le diabète de type 2

William Erb et Nacim Abermil

**Résumé** La sitagliptine, commercialisée sous l'appellation Januvia<sup>®</sup>, est le premier traitement du diabète de type 2 visant une nouvelle cible thérapeutique : l'enzyme dipeptidyl peptidase-4. Si son efficacité a permis d'améliorer le confort de vie de nombreux patients, son histoire est particulièrement intéressante et riche d'enseignements. Cet article revient sur la découverte de cette molécule et sur les étapes marquantes de son développement.

**Mots-clés** Sitagliptine, Januvia<sup>®</sup>, diabète, dipeptidyl peptidase-4, DPP-4, chimie médicinale, chimie enzymatique, développement de procédés.

**Abstract** **Dipeptidyl peptidase-4 and Januvia<sup>®</sup>: one winning duo against diabetes mellitus**  
Sitagliptin, better known under its trade name Januvia<sup>®</sup>, is the first treatment against diabetes mellitus type 2 to be approved against a new target: the dipeptidyl peptidase 4 enzyme. As a highly potent inhibitor of this enzyme, this treatment helps thousands of patients all around the world. Its history is of particular interest and rich in lessons. This review recalls the story of sitagliptin, its mode of action and the different steps of its commercial manufacturing.

**Keywords** Sitagliptin, Januvia<sup>®</sup>, diabetes mellitus, dipeptidyl peptidase 4, DPP-4, medicinal chemistry, enzymatic reactions, process development.

Faites le test d'employer dans une même phrase les mots « sucre » et « maladie ». L'une des premières associations qui viendra à l'esprit de votre interlocuteur sera probablement diabète (ou carie si vous vous adressez à un dentiste). Et pour cause, car cette maladie, particulièrement répandue dans les pays développés, est justement caractérisée par une mauvaise régulation du taux de sucre dans le corps. Si nous avons tous en tête les injections d'insuline en tant que traitement, cette solution ne s'applique cependant pas à tous les patients et d'autres approches thérapeutiques ont été développées. La sitagliptine s'inscrit dans cette optique et agit selon un nouveau mode d'action. Nous vous proposons ici de revenir sur le diabète, ses causes et effets, et comment la compréhension des mécanismes moléculaires de la maladie a permis l'identification d'un nouveau traitement. Par la suite, nous verrons les différentes phases du développement commercial de la sitagliptine et comment les chimistes ont, par évolutions successives, développé un procédé de synthèse propre et efficace.

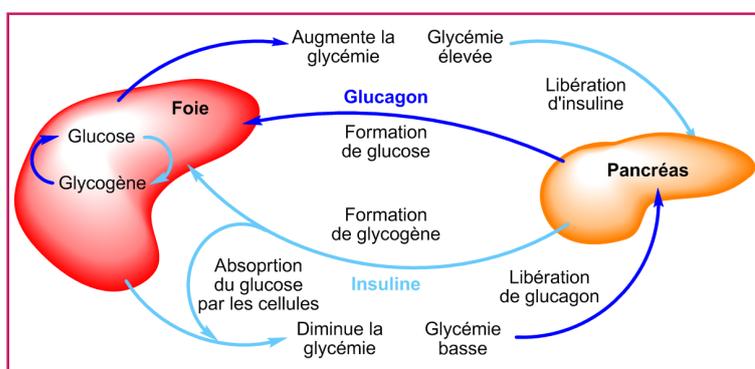


Figure 1 - Mécanisme de régulation de la glycémie.

## La glycémie : régulation et dérégulation

En temps normal, la glycémie (taux de glucose dans le sang) à jeun chez l'Homme est comprise entre 0,7 et 1,0 g/L, taux variant en fonction de l'activité du sujet. Pour éviter l'hypo- et l'hyperglycémie, le corps possède un système de régulation faisant notamment intervenir le foie, le pancréas, le glucagon et l'insuline (deux hormones produites respectivement par les cellules  $\alpha$  et  $\beta$  des îlots de Langerhans dans le pancréas) [1]. Lorsque la glycémie baisse, les cellules  $\alpha$  relarguent du glucagon qui va alors activer la production de glucose à partir de glycogène (la glycogénolyse) et la glycémie remonte (figure 1). Lorsque la glycémie augmente, les cellules  $\beta$  vont émettre de l'insuline, qui va favoriser la glycogénogenèse (formation de glycogène à partir de glucose), diminuer la glycogénolyse et favoriser l'absorption du glucose sanguin par les cellules. Ces trois mécanismes combinés induisent le retour à la normale de la glycémie.

Le dysfonctionnement du système de régulation de la glycémie constitue une maladie, le diabète, qui peut se présenter sous différentes formes, les plus communes étant le diabète insulino-dépendant (type 1), et le diabète non insulino-dépendant (type 2). Le diabète de type 1 est une maladie auto-immune aboutissant à la destruction des cellules  $\beta$ . Le patient diabétique doit alors recourir à des injections d'insuline plusieurs fois par jour de façon à maintenir sa glycémie à un niveau acceptable. Le diabète de type 2 est quant à lui

caractérisé par une résistance de l'organisme à l'insuline. Si cette hormone est toujours produite par le pancréas, son taux normal n'est alors plus suffisant pour contrôler la production/stockage du glucose par le foie et favoriser son absorption par les cellules. Les causes de cette résistance restent encore mal comprises. Il a cependant été prouvé que des métabolites d'acides gras ou d'adipokines (médiateurs chimiques produits par le tissu adipeux) pouvaient jouer un rôle dans la dérégulation des cascades enzymatiques induites par l'insuline [2-3]. L'inactivation de cette dernière par réaction avec le méthylglyoxal a également été évoquée [4].

Le traitement de première intention du diabète de type 2 consiste en un régime amaigrissant associé à une activité physique régulière. Si ces mesures s'avèrent insuffisantes, la prise d'antidiabétiques peut être envisagée. Il en existe plusieurs classes, différenciées par leurs structures et modes d'action (figure 2). Les sulfonylurées et glinides (glipizide et répaglinide) agissent en augmentant la libération d'insuline par le pancréas, tandis que les biguanides (metformine) diminuent la résistance à l'insuline et la néoglucogenèse hépatique. Les thiazolidinediones (pioglitazone ou rosiglitazone) augmentent la sensibilité des cellules à l'insuline. Il est également possible d'employer des inhibiteurs de l' $\alpha$ -glucosidase (miglitol), une enzyme qui libère le glucose à partir des chaînes polysaccharidiques. Enfin, une dernière classe de molécules agit sur une nouvelle cible thérapeutique : les incrétines.

## Les incrétines

Il est connu que la sécrétion d'insuline est plus importante lorsque du glucose est ingéré plutôt qu'injecté par voie intraveineuse, ce qui laisse supposer un mécanisme de régulation plus complexe que celui évoqué précédemment, impliquant le système digestif. Une nouvelle classe d'hormones entre alors en jeu : les incrétines, qui regroupent le GIP et le GLP-1, découvertes respectivement dans les années 1970 et 80 [5]. Le GIP (« glucose-dépendant insulino-tropic polypeptide »), un peptide composé d'une séquence de 42 acides aminés, est produit dans le duodénum et le jéjunum. Ce sont en revanche des cellules de l'intestin grêle et du côlon ascendant qui produisent le GLP-1 (« glucagon-like peptide-1 »). Ces hormones peptidiques sont produites en réponse à l'ingestion de nutriments et sont responsables, *via* divers mécanismes, de « l'effet incrétine » (tableau 1 p. 76).

Comme pour la plupart des régulateurs biologiques, un système de dégradation de ces hormones existe, mettant en jeu une enzyme : la dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4). Cette

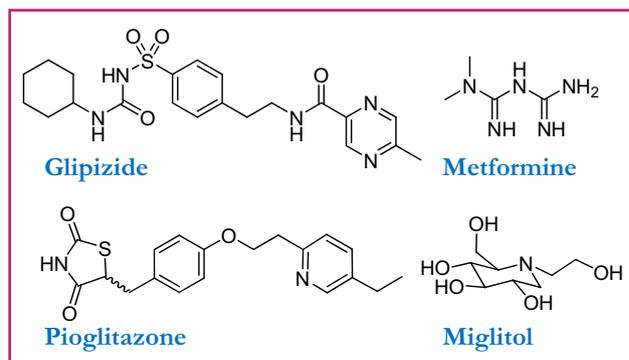


Figure 2 - Molécules employées en traitement du diabète de type 2.

Tableau I - Les effets biologiques des incrétines.

Effet	GIP	GLP-1
Sécrétion d'insuline	↑	↑
Synthèse d'insuline	↑	↑
Sécrétion de glucagon	↑	↓ (indirect)
Prolifération des cellules β	↑	↑
Apoptose des cellules β	↓	↓
Satiété	-	↑
Absorption de glucose par les muscles	-	↑
Production de glucose par le foie	↓ (indirect)	↓ (indirect)

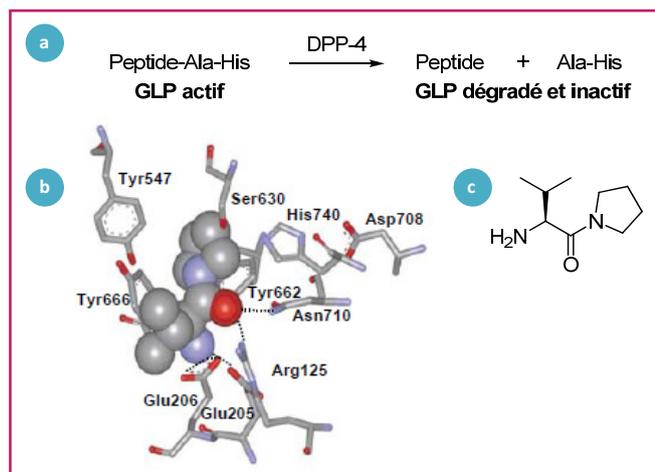


Figure 3 - a) Action de la DPP-4 ; b) Site actif de la DPP-4 incorporant l'inhibiteur ; c) Inhibiteur de la DPP-4.

Reprinted with permission from Macmillan Publishers Ltd: *Nat. Struct. Biol.*, 2002, 10, p. 7. Copyright 2002.

enzyme particulièrement active va cliver les peptides GLP au niveau du motif alanine en position 2, limitant alors leur durée de demi-vie à environ deux minutes (figure 3a). D'un point de vue structurel, le site actif de la DPP-4 contient une triade sérine-asparagine-histidine (Ser630-Asp708-His740) responsable de l'action hydrolytique de l'enzyme, tandis que des résidus tyrosines, valines et tryptamines composent une poche hydrophobique (S1) d'une grande spécificité pour des structures de type proline [6] (figure 3b).

En raison de leur rôle dans la régulation de la glycémie, ces hormones et la DPP-4 ont attiré l'attention des scientifiques pour le développement de nouveaux traitements du diabète de type 2 [7]. Deux approches thérapeutiques ont été envisagées : l'emploi de peptides mimant l'action du GLP-1 mais non dégradables par la DPP-4 (exenatide, liraglutide) [8] et l'inhibition de la DPP-4. Dans ce dernier cas, l'enzyme inactivée ne peut dégrader le GLP-1, alors libre d'exercer son rôle de régulateur de la glycémie de façon prolongée [9]. En fonction de leur structure et de leur mode d'action, il est possible de classer ces inhibiteurs en deux catégories. Les premiers présentent une structure mimant celle du substrat naturel de la DPP-4 (généralement

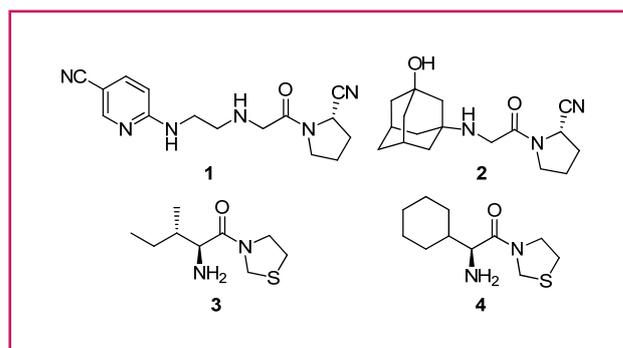


Figure 4 - Inhibiteurs de la DPP-4.

des dérivés d'acides aminés de type proline) et possèdent souvent un groupe capable d'interagir avec le résidu sérine 630 de façon réversible (nitrile, acide boronique) ou non (phosphate). Les seconds présentent des structures diverses ne mimant pas le substrat naturel. La sitagliptine appartient à cette seconde classe.

## La sitagliptine

Initié en 1999, le projet de recherche sur les inhibiteurs de la DPP-4 des laboratoires Merck aboutit en 2004 à la publication de leurs premiers travaux. Notons qu'à cette date, plusieurs molécules mimant le substrat naturel de l'enzyme sont déjà connues, ces dernières incorporant un motif pyrrolidine ou thiazolidine capable d'occuper la poche S1 (figure 4).

Une campagne de criblage à haut débit de la chimiothèque des laboratoires Merck visant à identifier de nouvelles molécules biologiquement actives a montré que le composé **5** possédait une action inhibitrice de la DPP-4 (figure 5) [10]. Bien que d'activité modeste, **5** appartient à

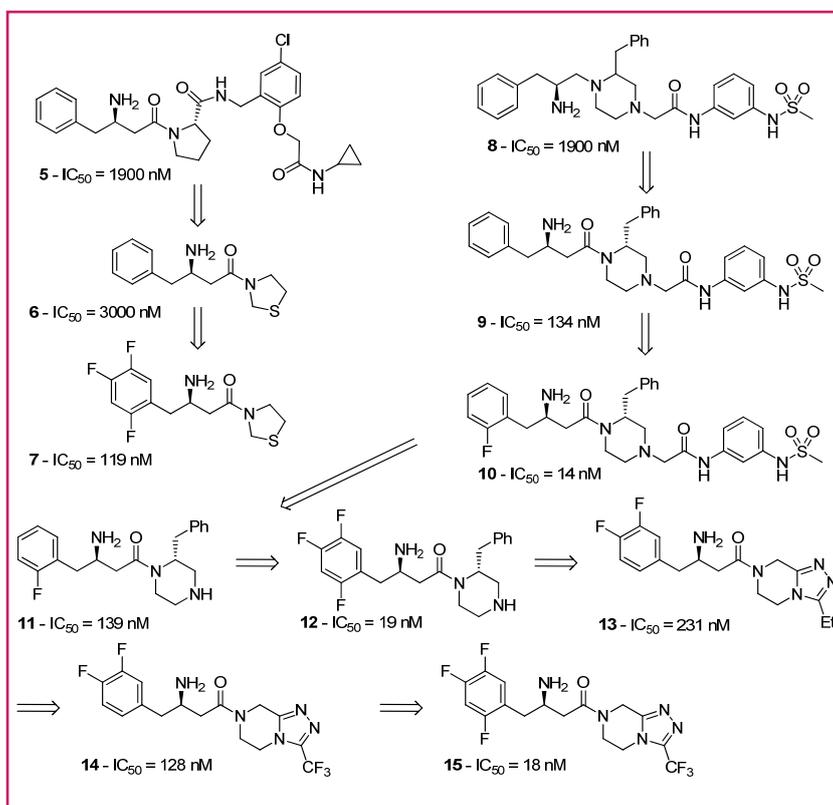


Figure 5 - Optimisation de la sitagliptine.

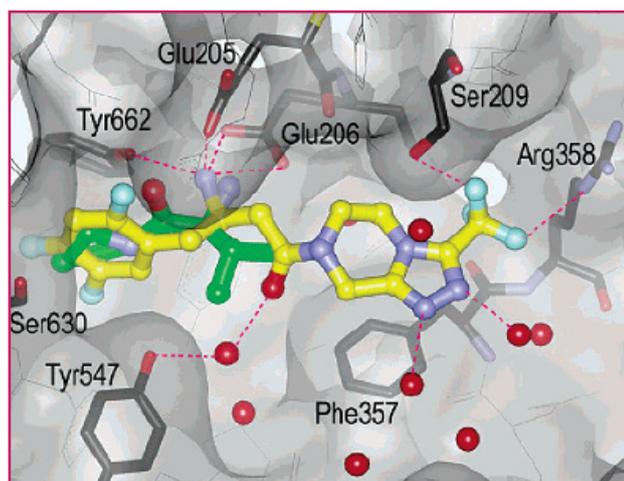


Figure 6 - Interaction de la sitagliptine dans le site actif de la DPP-4. En vert, un analogue du substrat naturel de l'enzyme (Pro-Val). Reprinted with permission from Dooseop K. et coll., *J. Med. Chem.*, 2004, 48, p. 141. Copyright 2004 American Chemical Society.

une nouvelle famille de composés présentant un motif  $\beta$ -aminoamide. Il apparaît rapidement que la partie droite de la molécule peut être remplacée par un cycle thiazolidine sans grande perte d'activité, mais avec une importante simplification structurale (**6**). La variation des substituants sur le cycle aromatique aboutit à **7**, qui possède une bonne bioactivité mais un mauvais profil pharmacocinétique.

Le composé **8** représente la seconde touche du criblage [11]. En se basant sur la structure **6**, le motif  $\beta$ -aminoamide est incorporé à **8** pour former **9**. Cette modification permet un gain d'activité d'un facteur 10 tandis que l'ajout d'un atome de fluor sur le noyau aromatique (**10**) permet de gagner un facteur 10 supplémentaire. La suppression de la partie droite de la molécule et l'introduction de deux atomes de fluor supplémentaires permettent de simplifier la structure tout en gardant une bonne activité biologique avec **12**. La stabilité métabolique est ensuite améliorée en remplaçant le cycle pipérazinile par un motif bicyclique comportant un hétérocycle (**13**) [12]. Finalement, le remplacement du groupe éthyle par un groupe trifluorométhyle et l'ajout d'un atome de fluor en position 2 du cycle aromatique permettent d'accéder à la sitagliptine **15**, particulièrement active et présentant un bon profil pharmacologique.

Un cliché de diffraction de rayons X permet de comprendre les interactions développées par cette molécule dans le site actif de l'enzyme (figure 6). Le groupe tri-2,4,5-fluorophényle occupe la poche hydrophobique S1, tandis que l'amine de configuration (*R*) est impliquée dans quatre liaisons hydrogène avec des résidus tyrosine et glutamate (Tyr662, Glu205, Glu206), expliquant que l'énantiomère (*S*) soit moins actif ( $IC_{50} = 440$  nM). Le groupe trifluorométhyle interagit avec les résidus sérine et arginine (Ser209, Arg358), expliquant ainsi le gain d'activité par rapport au groupe éthyle, et finalement, plusieurs molécules d'eau sont impliquées dans la stabilisation de la sitagliptine dans le site actif. En revanche, cet inhibiteur ne présente pas

d'interaction avec la triade sérine-asparagine-histidine (Ser630, Asp708, His740) responsable de l'action hydrolytique de l'enzyme.

La sitagliptine fait preuve d'un bon profil pharmacocinétique avec une bonne biodisponibilité par voie orale et un temps de demi-vie compris entre 2 et 5 heures en fonction du sujet. Une excellente sélectivité vis-à-vis d'autres peptidases est également observée et est capitale, l'inhibition de ces enzymes étant associée à une toxicité multiviscérale. Les études cliniques en phases II et III ont confirmé les résultats préliminaires obtenus chez les cobayes en permettant un bon contrôle de la glycémie chez les patients souffrant d'un diabète de type 2 [13]. La sitagliptine reçoit donc son autorisation de mise sur le marché en octobre 2006 pour le traitement du diabète de type 2 sous l'appellation Januvia®.

Une fois le principe actif d'un médicament accepté, le laboratoire pharmaceutique doit être en mesure de préparer les quantités de principe actif nécessaires pour satisfaire le marché au travers d'une voie de synthèse dite industrielle. De façon à répondre à un certain nombre d'impératifs (synthèse courte, emploi de solvants de faible dangerosité, réduction des quantités de déchets...), plusieurs générations de synthèses industrielles peuvent se succéder, mettant en jeu des techniques de synthèse de plus en plus innovantes [14]. Nous allons décortiquer ces différentes évolutions, partant de la toute première synthèse médicinale, rapportée en 2004, jusqu'au plus récent développement du procédé, divulgué début 2010.

## La synthèse de chimie médicinale

La synthèse de chimie médicinale débute avec la formation de l' $\alpha$ -aminoester **16** : déprotonation de l'auxiliaire chiral **17** et attaque de l'anion ainsi formé (**18**) sur le bromure de trifluorobenzyle (figure 7). La présence du groupe isopropyle permet de diriger la réaction de substitution pour former **19** où les substituants sont en *trans* l'un par rapport à l'autre. Une séquence d'hydrolyse, protection de l'amine et saponification permet d'accéder à **20** et la chaîne alkyle est allongée par une

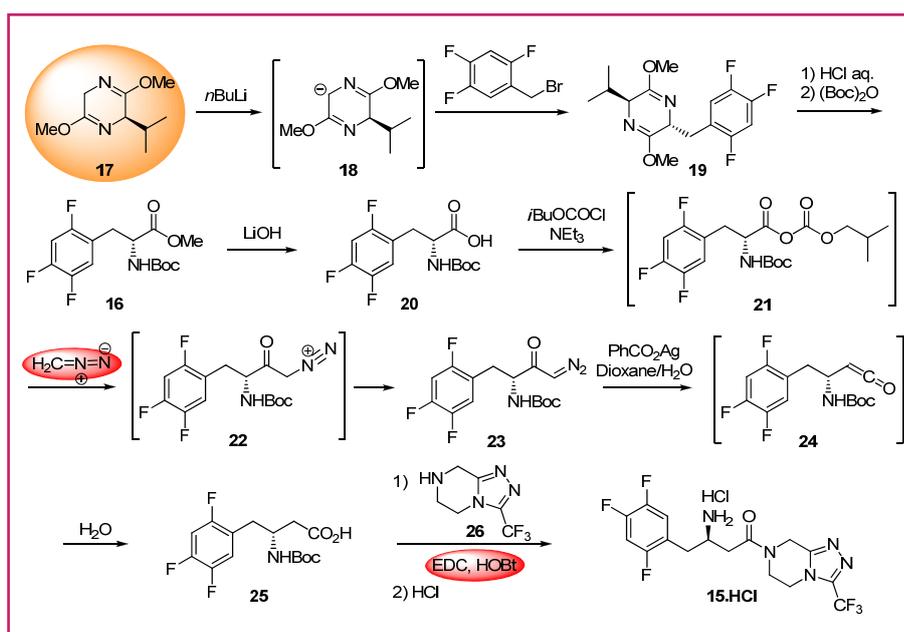


Figure 7 - Synthèse de chimie médicinale.

réaction d'homologation d'Arndt-Eistert. L'acide est activé sous la forme de l'anhydride mixte **21** qui va réagir avec le diazométhane pour donner la diazocétone **23**. En présence d'un sel d'argent, celle-ci subit un réarrangement de Wolf conduisant au cétène **24**, piégé par une molécule d'eau pour former l'acide **25**. Un couplage peptidique avec le triazole **26** réalisé en présence de *N*-(3-diméthylaminopropyl)-*N'*-éthylcarbodiimide hydrochloride (EDC) et d'hydroxybenzotriazole (HOBt) suivi d'une déprotection en milieu acide permet finalement d'isoler l'hydrochlorure de sitagliptine **15.HCl**.

Concernant la synthèse du triazole **26**, la chloropipérazine **27** réagit tout d'abord avec un excès d'hydrate d'hydrazine à chaud pour former **28**, isolé par cristallisation et filtration (figure 8). Une monoacylation par l'anhydride trifluoroacétique permet ensuite d'obtenir **29**. Placé en présence d'acide polyphosphorique (PPA) à 140 °C, une réaction de cyclisation/déshydratation a lieu pour donner **30**, finalement réduit par hydrogénation catalytique en présence de palladium sur charbon. Ce procédé en quatre étapes permet d'isoler **26** avec un rendement global de 23 %, mais souffre de problèmes liés à l'emploi d'un excès d'hydrate d'hydrazine. Le point éclair de ce composé étant de 96 °C, un contrôle rigoureux des conditions réactionnelles est nécessaire afin de limiter les risques d'explosion. De plus, le composé **28** est susceptible de co-cristalliser avec l'hydrazine, générant alors un solide toxique, potentiellement explosif, qui est ici isolé.

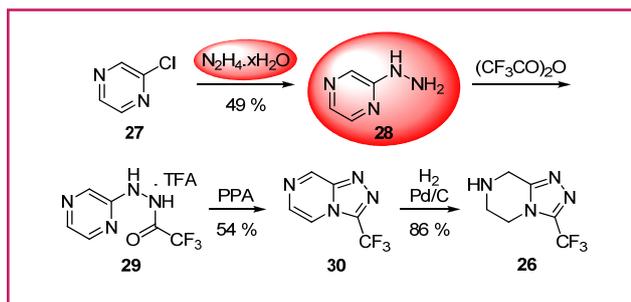


Figure 8 - Formation du triazole **26**.

Si l'approche de chimie médicinale permet de préparer les premiers grammes de sitagliptine pour les essais sur animaux, elle n'est pas transposable à l'échelle industrielle. En effet, bien que l'utilisation d'un auxiliaire chiral permette d'introduire l'amine avec un excellent contrôle diastéréosélectif, sa perte lors du passage de **19** à **16** entraîne une faible économie d'atomes. De plus l'homologation d'Arndt-Eistert met en jeu du diazométhane, à déconseiller en raison de sa toxicité et des risques d'explosion. La synthèse du triazole doit également être modifiée pour limiter les risques d'explosion liés à l'emploi d'hydrate d'hydrazine et à l'isolement de l'intermédiaire **28**.

## La synthèse commerciale

La synthèse commerciale de première génération débute avec la réduction de la fonction cétone de **31** par hydrogénation catalytique énantiosélective en présence d'un complexe de ruthénium (figure 9) [15]. L'ajout d'une quantité catalytique d'acide

bromhydrique (HBr) permet de réduire la charge catalytique à moins de 0,1 % sans perte de rendement ou d'énantiosélectivité, rendant le procédé économiquement plus attractif. L'acide **32** est isolé après saponification avec un rendement de 83 % et un excès énantiomérique (ee) de 94 %. La fonction amine chirale du composé **33** est ensuite introduite en trois étapes : synthèse de l'hydroxamate **34** (couplage peptidique), formation du lactame **35** (réaction de Mitsunobu) et hydrolyse. Un couplage peptidique permet d'accéder à **36**, déprotégé par hydrogénolyse, et un traitement acide conduit finalement au phosphate de sitagliptine **15.H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>**.

Avec un total de huit étapes et un rendement global de 52 % (à partir du β-cétoester **31**), cette synthèse commerciale de première génération permet la préparation des premiers lots de produit pour les études cliniques. Si l'on s'affranchit bien du recours à l'auxiliaire chiral pour introduire le motif β-aminoamide par hydrogénation énantiosélective d'un β-cétoester suivie d'une réaction de Mitsunobu, cette dernière génère cependant une grande quantité de déchets qu'il faut éliminer. La formation de **34** et **36** implique également l'utilisation d'agents de couplage, ce qui va à l'encontre du principe d'économie d'atomes et complique la purification. Le développement d'une nouvelle approche s'avère donc nécessaire.

En parallèle avec le développement de la synthèse de première génération, la voie d'accès au triazole **26** est également améliorée (figure 10a). Désormais, la chloropipérazine **27** est ajoutée à une solution aqueuse d'hydrazine à chaud pour former **28**, extrait par un solvant organique et non plus isolé sous la forme d'un solide toxique et instable. Une double acylation permet ensuite d'obtenir **37** qui, par cyclisation dans le Superphos (une forme hydratée de l'acide polyphosphorique), conduit à **30**. Ce dernier est réduit par hydrogénation et le triazole est finalement isolé sous forme de l'hydrochlorure **26.HCl**. Cette nouvelle synthèse présente donc un certain nombre d'avantages par rapport à la chimie médicinale. L'emploi d'une solution aqueuse d'hydrazine (ne présentant pas de point éclair) permet de limiter les risques d'explosion, tandis que l'intermédiaire toxique **28** n'est plus isolé mais gardé en solution. Sa formation reste cependant délicate, des études calorimétriques ayant montré la présence d'un exotherme à 85 °C. La réaction se déroulant à 65 °C, des précautions particulières doivent être prises pour éviter toute élévation incontrôlée de la température et

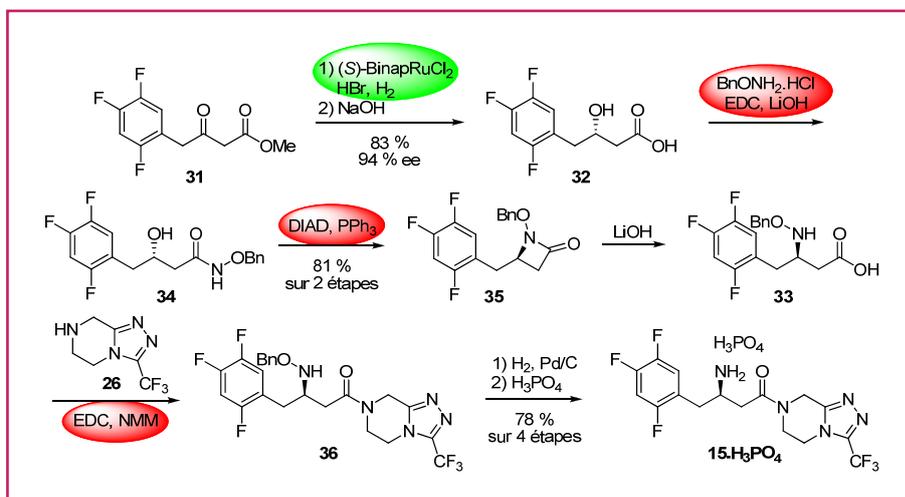
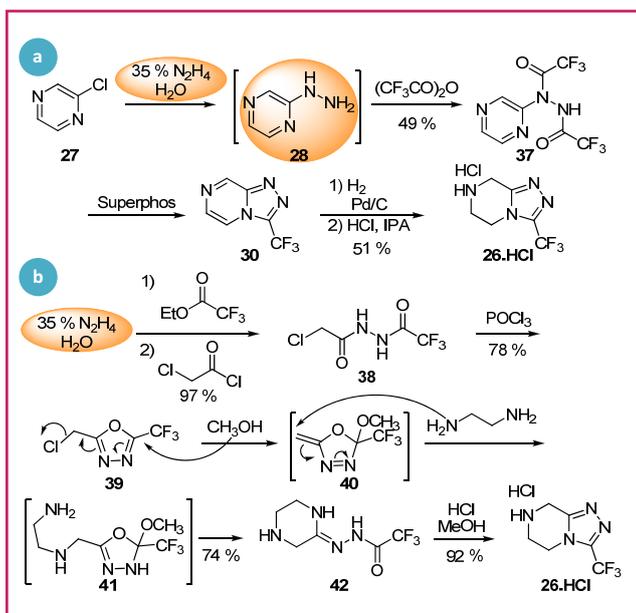


Figure 9 - Synthèse commerciale de première génération.

Figure 10 - Synthèses du triazole **26.HCl**.

l'emballage de la réaction. Une nouvelle approche est alors envisagée (figure 10b). Dans un premier temps, l'hydrazine en solution aqueuse réagit séquentiellement avec le trifluoroacétate d'éthyle et le chlorure de chloroacétyle pour former le bishydrazide **38**, déshydraté par l'oxychlorure de phosphore pour conduire à l'oxadiazole **39** [16]. Sa réaction avec le méthanol permet d'accéder à l'intermédiaire **40** sur lequel s'additionne l'éthylènediamine pour donner **41**. L'attaque intramoléculaire de la seconde amine permet l'ouverture du cycle et mène à **42**. En présence de HCl dans le méthanol, la cyclisation/déshydratation a finalement lieu pour former directement le sel du triazole **26.HCl**.

Cette nouvelle synthèse permet d'accéder au triazole attendu avec un rendement global doublé (54 %) et présente plusieurs avantages par rapport aux approches précédentes. La solution aqueuse d'hydrazine est le réactif limitant lors de la formation de **38**, impliquant sa consommation totale et donc l'absence de déchet d'hydrazine à traiter. L'ensemble des réactifs est bon marché et si le nombre d'étapes est le même que précédemment, le nombre d'opérations est réduit (un traitement aqueux au lieu de deux, un échange de solvant au lieu de trois), conduisant à un bien meilleur facteur environnemental (68 au lieu de 373) [17].

La synthèse commerciale de première génération mettait en jeu l'hydrogénation asymétrique d'un  $\beta$ -cétoster pour former le  $\beta$ -hydroxyester chiral **32**, par la suite transformé en amine. Une approche plus efficace serait de former directement cette amine par la réduction asymétrique d'un motif adéquat, tel un  $\beta$ -énamo amide (facilement accessible par réaction d'un  $\beta$ -cétoster avec l'acétate d'ammonium) [18]. Dans un premier temps, une voie d'accès rapide à **43**, précurseur de l'hydrogénation catalytique, doit être développée (figure 11) [19]. Afin de ne pas utiliser d'agents de couplage, les chercheurs décident d'employer l'acide de Meldrum : bon agent acylant, il est facilement décarboxylable et permet la formation d'amides dans des conditions douces. Tout d'abord, l'acide **44** est converti en son anhydride mixte par réaction avec le chlorure de pivaloyle en présence d'un excès de base. L'anhydride réagit alors *in situ* avec l'acide de Meldrum pour former l'adduit **45**, stable en solution

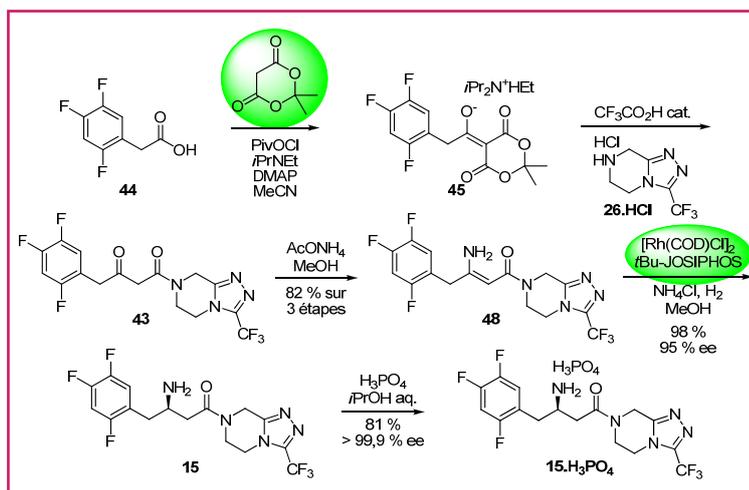
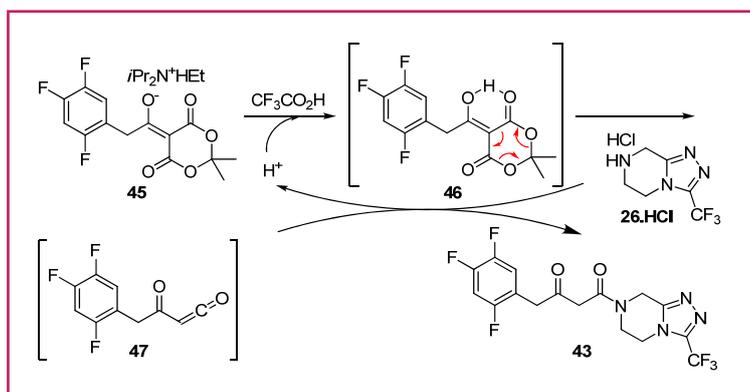


Figure 11 - Synthèse commerciale de seconde génération.

sous sa forme énolate. Ce dernier ne pouvant être isolé, il est envisagé d'enchaîner directement l'étape de formation de l'amide **43**.

Les premiers essais révèlent que s'il est possible d'ajouter directement le sel du triazole **26.HCl** à la solution de **45**, la séquence décarboxylation/formation de l'amide est lente avec une conversion plafonnant à 80 %. En revanche, la diminution de la quantité de base initialement introduite de 3,0 à 2,1 équivalents permet à la décarboxylation d'atteindre 97 % de conversion à 70 °C. La séquence s'avère donc particulièrement sensible à la quantité de base introduite. En présence de moins de 1,9 éq. de base, la formation de l'adduit **45** est lente et souffre de mauvais rendement, tandis que la décarboxylation est rapide. En revanche, si l'emploi de plus de 2,2 éq. de base permet de former **45** avec un excellent rendement, la décarboxylation est ralentie et n'atteint jamais un bon taux de conversion.

La solution consiste à employer un excès de base lors de la formation de **45** et à ajouter 0,3 éq. d'acide trifluoroacétique juste avant celle de **43**. Le pH du milieu réactionnel est alors suffisamment abaissé pour engager la décarboxylation en transformant seulement une faible quantité de **45** en son énol instable **46** (figure 12). Ce dernier subit une réaction de décarboxylation conduisant au cétène **47** avec libération de  $\text{CO}_2$  et d'acétone [20]. Le cétène réagit avec **26** pour former l'amide **43** tout en libérant un proton qui va engager un nouveau cycle catalytique. Il est ainsi possible d'obtenir environ 90 % de **43** en solution, et l'ajout d'acétate d'ammonium et de méthanol conduit finalement à l'énamide **48**. Ce procédé

Figure 12 - Mécanisme de formation de **43**.

extrêmement robuste permet ainsi d'isoler **48** directement par filtration du milieu réactionnel avec un rendement global de 82 % sur trois étapes et une excellente pureté (99,6 %).

L'énamide **48** est ensuite engagé dans l'étape d'hydrogénation asymétrique (collaboration Merck/Solvias, *figure 11*). Une étude extensive des conditions réactionnelles révèle que 5 % du système  $[Rh(COD)Cl]_2/tBuJOSIPHOS$  dans le méthanol à 50 °C sous une pression de 7 bar donnent les meilleurs résultats (conversion et énantiosélectivité). Ils s'avèrent cependant peu reproductibles, variant de 82 % à 99 % de conversion pour 89 à 95 % d'excès énantiomérique en fonction des lots d'énamide [21]. L'analyse de différents lots révèle alors des pH variant entre 10,5 et 13,5, les meilleurs résultats lors de l'hydrogénation étant obtenus pour les lots présentant les pH les plus bas. Des expériences de contrôle montrent que ces variations de pH, et donc de résultats, dépendent de la quantité résiduelle de chlorure d'ammonium provenant de la formation de **48**. L'ajout d'une quantité catalytique de chlorure d'ammonium lors de l'hydrogénation permet alors d'assurer la reproductibilité des résultats quel que soit le pH du lot d'énamide. Finalement, de façon à assurer la viabilité du procédé à l'échelle industrielle, la quantité de catalyseur est réduite à 0,15 % en augmentant la pression d'hydrogène à 17 bar sans perte de rendement ou de sélectivité (resp. 98 et 95 %). Après hydrogénation, un absorbant (qui va retenir la quasi-totalité du catalyseur dissous) est ajouté au milieu réactionnel et l'amine **15** est isolée par cristallisation avec un rendement de 84 % et un excès énantiomérique amélioré (> 99,9 %). L'amine est finalement transformée en son phosphate avec un rendement de 81 %. Le passage direct de **43** à **15** par hydrogénation en présence d'un catalyseur à base de ruthénium et de salicylate d'ammonium est également possible avec un rendement de 91 % et 99,5 % de ee [22].

Cette nouvelle route s'avère donc particulièrement efficace et a été développée avec succès à l'échelle industrielle. Ainsi, à partir de l'acide **44**, une suite de trois réactions en un seul pot permet d'accéder à la déhydrositagliptine **48**, isolée par filtration, avec un rendement de 82 % et une excellente pureté. Une hydrogénation asymétrique permet ensuite de former l'amine chirale avec un rendement de 98 % et un ee de 95 % (augmenté à plus de 99,9 % par cristallisation). Le phosphate de sitagliptine **15.H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>** est quant à lui produit avec une excellente pureté et un rendement global de 65 %, tout en s'affranchissant des couplages peptidiques initialement requis. Ces améliorations permettent de plus une importante réduction de la quantité de déchets : là où la synthèse de première génération en générait 250 kilos pour produire 1 kg de sitagliptine, ce nouveau procédé n'en crée plus que 50. En récompense de ces améliorations, l'industrie pharmaceutique décerne à Merck l'ICHEME Award d'AstraZeneca en 2005 et le President Green Chemistry Award en 2006.

Une dernière amélioration, apportée en 2010 par les chercheurs de Merck et de Codexis, est basée sur la synthèse directe de la sitagliptine **15** à partir du  $\beta$ -cétoamide **43** en s'affranchissant de l'hydrogénation métallo-catalysée. Ces transformations peuvent en effet présenter plusieurs inconvénients pour l'industrie pharmaceutique : travail à hautes pressions, emploi et recyclage de catalyseurs coûteux

et parfois problèmes de stéréosélectivité nécessitant une recristallisation. Enfin, le respect des taux limites d'impuretés métalliques dans le produit final impose généralement une étape de purification. La synthèse de deuxième génération de la sitagliptine ne fait pas exception et est ainsi impactée par plusieurs des problèmes évoqués. Si le recours à la catalyse organométallique (ou à l'organocatalyse) est souvent l'un des premiers choix du chimiste pour effectuer des transformations asymétriques, la biocatalyse doit également être considérée avec intérêt [23]. Les rendements et sélectivités peuvent en effet être excellents et de nombreuses entreprises ont ainsi recours à des enzymes dans des procédés industriels [17, 24]. Cependant, le point fort des enzymes peut également s'avérer être l'un de leurs grands défauts : la sélectivité. Il est en effet possible qu'il n'existe aucune enzyme pour catalyser une réaction sur un substrat précis et il faut alors avoir recours à l'ingénierie d'enzymes. Il s'agit de modifier leur structure afin de moduler leur activité, par évolution directe, mutagenèse (dirigée ou non), assistée (ou non) par modélisation moléculaire [25].

Les chercheurs de Merck et Codexis ont pensé qu'une transaminase (catalysant la réaction entre un acide aminé et un acide  $\alpha$ -carbonyle, *figure 13a*) pourrait permettre la transformation voulue (**43** en **15**) [26]. Ce type d'enzymes est compatible avec peu de substrats, ceux-ci présentant rarement un groupe plus encombrant qu'un méthyle en  $\alpha$  de la cétone. Le composé **43**, avec ses substituants de grande taille, représente un véritable challenge d'optimisation. La transaminase AT-117 a été choisie comme point de départ et modélisée sur ordinateur avec l'acétophénone **49** comme substrat (*figure 13b*). Le site actif consiste ainsi en deux poches : une grande, capable d'accueillir un groupe de type phényle, et une petite, accueillant le groupe méthyle.

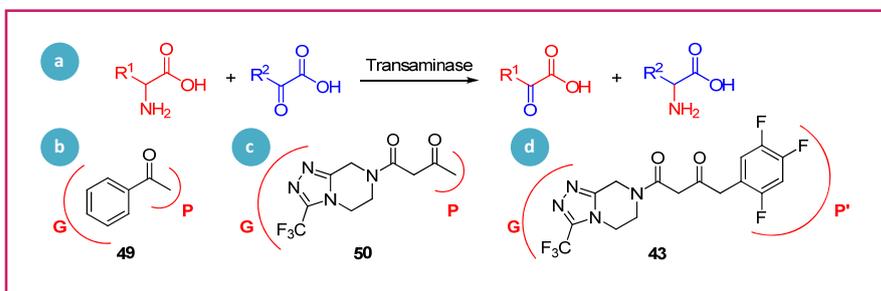


Figure 13 - a) Mode d'action d'une transaminase ; b) Substrat type d'une transaminase, les substituants de la cétone remplissent les deux poches du site actif : grande (G) et petite (P) ; c) Substrat **50** employé pour la modification de la grande poche ; d)  $\beta$ -cétoamide **43** employée pour la modification de la petite poche.

La modification de l'enzyme a été effectuée en plusieurs temps en commençant par la grande poche avec l'emploi du substrat modèle **50**. Au regard de la taille des substituants de la cétone, cette molécule est un bon intermédiaire entre l'acétophénone (substrat type) et le  $\beta$ -cétoamide **43** (substrat cible). Il est donc possible d'employer **50** afin de réaliser l'agrandissement sélectif de la grande poche sans toucher à la petite. Une première série de mutations est réalisée sur la transaminase pour que la grande poche puisse accueillir le groupe triazolopyrazine. La petite poche est ensuite agrandie afin de s'accommoder du groupe trifluorobenzyle. Ainsi, après douze mutations, une enzyme montre une très bonne activité pour l'amination réductrice asymétrique de **43** en **15** en présence d'isopropylamine (en tant que donneur de  $NH_2$ ). Bien qu'active, l'enzyme ainsi obtenue ne peut être employée

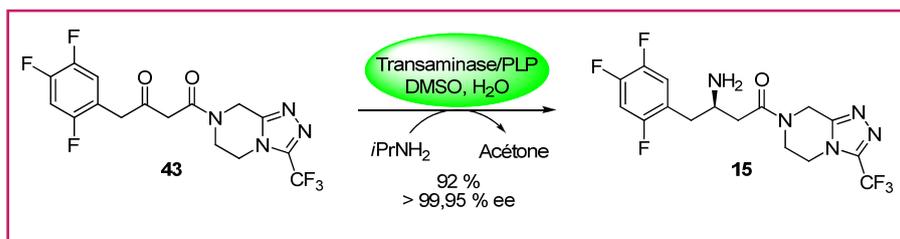
Figure 14 - Synthèse biocatalytique de **15**.

Tableau II - Comparaison des différentes synthèses de la sitagliptine.

	1 <sup>ère</sup> génération	2 <sup>e</sup> génération	2 <sup>e</sup> génération bis
Nombre d'étapes	9	3	3
Rendement global	45 %	63 %	75 %
Introduction de l'amine chirale	Hydrogénation de cétone Réaction de Mitsunobu	Hydrogénation d'énamine	Amination réductrice enzymatique de cétone
ee avant recristallisation	90,8 %	95 %	> 99,95 %
Déchets (par kg de sitagliptine)	250 kg	50 kg	40,5 kg

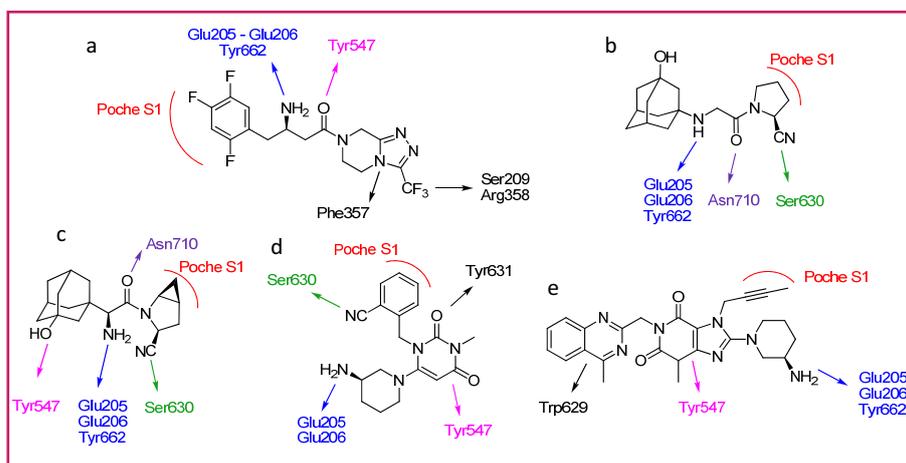


Figure 15 - Inhibiteurs commercialisés de la DPP-4 et leurs principales interactions : sitagliptine (a) ; vildagliptine (b) ; saxagliptine (c) ; alogliptine (d) ; linagliptine (e).

en l'état dans une installation industrielle au regard des conditions réactionnelles spécifiques mises en œuvre (forte concentration en substrats, co-solvants, températures). Quinze nouvelles mutations plus tard, une enzyme présentant une activité accrue et une excellente stabilité est obtenue. Si la première série de mutations a principalement modifié le site actif de l'enzyme pour optimiser son activité, les suivantes visent à améliorer sa stabilité. Il est en effet supposé que l'enzyme ne soit active que sous la forme d'un dimère et que les mutations générées améliorent sa cohésion et donc sa stabilité.

Dans les conditions optimales, la sitagliptine **15** est produite en une étape à partir de **43** avec un rendement de 92 % et un excès énantiomérique supérieur à 99,95 % (figure 14). Notons qu'un traitement acide comme précédemment décrit permet d'accéder au phosphate de sitagliptine **15.H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>**. Ce procédé présente donc de nombreux avantages par rapport à l'hydrogénation métallo-catalysée : de meilleurs rendements et énantiosélectivité, plus de métaux à éliminer/recycler et une plus grande facilité de mise en œuvre. Pour cette amélioration, Merck et Codexis ont reçu le Greener Reaction Conditions Award en 2010.

## Rendements et impact environnemental

Depuis la toute première synthèse de la sitagliptine et la voie industrielle actuellement suivie, de très nombreuses améliorations ont été apportées (tableau II). La première synthèse commerciale s'affranchit de l'emploi d'un auxiliaire chiral en introduisant pour la première fois une hydrogénation asymétrique permettant de former l'amine chirale. Elle reste cependant assez longue (9 étapes) et met en jeu des agents de couplage peptidiques générant de nombreux déchets. La synthèse de seconde génération permet de réduire drastiquement la quantité de déchets par une synthèse courte (3 étapes) et sans agents de couplage. L'emploi d'une réduction asymétrique métallo-catalysée en fin de synthèse impose cependant une étape supplémentaire de traitement pour éliminer les traces de métal du produit final. Une recristallisation est de plus nécessaire afin d'améliorer la pureté optique. Le recours à la biocatalyse permet finalement d'éliminer ces derniers inconvénients :

plus besoin de métaux coûteux (à l'achat et au recyclage) ni de matériel spécifique pour réaliser l'hydrogénation sous pression. L'amine chirale étant obtenue directement avec un excellent excès énantiomérique, la recristallisation n'est plus nécessaire. Le rendement global s'en voit ainsi amélioré, tandis que la quantité de déchets est encore réduite.

## Autres inhibiteurs de la DPP-4

Il existe actuellement quatre autres inhibiteurs de la DPP-4 disponibles sur le marché (figure 15). Nous retrouvons des mimes du substrat naturel possédant un noyau pyrrolidine (remplissant la poche hydrophobe S1), substitué en position 2 par un groupe nitrile (interagissant de façon réversible avec la sérine 630) avec la vildagliptine (Galvus<sup>®</sup>, Novartis) et la saxagliptine (Onglyza<sup>®</sup>, Astra-Zeneca, BMS) [9c]. Le groupe adamantyle permet d'améliorer la stabilité chimique de ces molécules en limitant une réaction parasite de cyclisation, encore ralentie par une substitution supplémentaire sur le cycle pyrrolidine dans le cas de la saxagliptine. L'hydroxyle présent sur le cycle adamantyle permet quant à lui d'améliorer la stabilité métabolique.

L'alogliptine (laboratoire Takeda) est issue d'un programme de design moléculaire assisté par ordinateur [27]. Une première molécule est modélisée et sa structure optimisée afin d'engendrer un certain nombre d'interactions dans le site actif de la DPP-4. La molécule ainsi obtenue se révèle biologiquement active, mais fait preuve d'un mauvais profil pharmacocinétique. Parmi les différents dérivés préparés, c'est finalement l'alogliptine qui présente le meilleur profil pharmacologique et qui est commercialisée sous l'appellation Nesina<sup>®</sup>.

Une campagne de criblage de chimiothèques permet d'identifier une molécule possédant un noyau xanthine comme inhibiteur potentiel de la DPP-4. Par la suite, la variation systématique des substituants a abouti à la découverte de la linagliptine (Tradjenta<sup>®</sup>, Boehringer Ingelheim) comme le composé le plus actif [28]. On retrouve ici le motif aminopipéridine

lié à un hétérocycle, tout comme pour l'alogliptine, et donc les mêmes types d'interactions. De nombreux inhibiteurs de la DPP-4 sont également brevetés par différentes entreprises, avec des structures généralement proches de celles présentées dans la figure 15 [29].

## Conclusion

La découverte des incrétines, de la dipeptidyl peptidase-4 et de leurs rôles respectifs dans la régulation de la glycémie a ouvert de grandes opportunités pour le traitement du diabète de type 2. Initié en 1999, le programme de recherche des laboratoires Merck a rapidement abouti à la découverte de la sitagliptine (en 2004), et sa mise sur le marché en 2006 en fit le premier inhibiteur de la DPP-4 approuvé, améliorant le confort de vie de nombreux patients de par le monde. L'histoire de la sitagliptine a été marquée par une série d'améliorations apportées à sa synthèse, récompensées à plusieurs reprises par de prestigieux prix dans le domaine de la chimie verte. Une réussite qui illustre parfaitement l'intérêt du partage des connaissances interdisciplinaires (biologie, biochimie et chimie) et inter-entreprises. La collaboration entre les chercheurs de Merck et Solvias a ainsi permis le développement de l'hydrogénation asymétrique d'énamines, tandis que l'expertise des chercheurs de Codexis a été mise à profit pour générer une nouvelle transaminase selon une séquence de 29 mutations.

## Références

- [1] Devlin T.M., *Textbook of biochemistry with clinical correlations*, Wiley-Liss, 2010, Chap. 15.
- [2] Morino K., Petersen K.F., Shulman G.I., Molecular mechanisms of insulin resistance in humans and their potential links with mitochondrial dysfunction, *Diabetes*, 2006, 55(Suppl. 2), p. S9.
- [3] Hotamisligil G.S., Peraldi P., Budavari A., Ellis R., White M.F., Spiegelman B.M., IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity in TNF- $\alpha$ - and obesity-induced insulin resistance, *Science*, 1996, 271, p. 665.
- [4] Jia X., Olson D.J.H., Ross A.R.S., Wu L., Structural and functional changes in human insulin induced by methylglyoxal, *The FASEB Journal*, 2006, 20, p. 1555; Potier P., Sasaki A., Bakala J., Garcia-Alvarez M.C., Franck G., Nhiri N., Wang Q., Ermolenko L., Nguéfeu Y., Calvo F., Gautier J.F., Nouveaux aspects du diabète, *Ann. Pharm. Fr.*, 2005, 63, p. 371; Marcoux E., Diabètes : le rôle du méthylglyoxal mis à jour, *L'Act. Chim.*, 2005, 290-291, p. 290.
- [5] Daniel J.D., The biology of incretin hormones, *Cell Met.*, 2006, 3, p. 153; Kim W., Egan J.M., The role of incretins in glucose homeostasis and diabetes treatment, *Pharmacol. Rev.*, 2008, 60, p. 470.
- [6] Oefner C., D'Arcy A., Mac Sweeney A., Pierau S., Gardiner R., Dale G.E., High-resolution structure of human apo dipeptidyl peptidase IV/CD26 and its complex with 1-[(2-[(5-iodopyridin-2-yl)amino]-ethyl)amino]-acetyl]-2-cyano-(S)-pyrrolidine, *Acta Crystallogr. D*, 2003, 59, p. 1206.
- [7] Drucker D.J., Nauck M.A., The incretin system: glucagon-like peptide-1 receptor agonists and dipeptidyl peptidase-4 inhibitors in type 2 diabetes, *The Lancet*, 2006, 368, p. 1696; Kendall D.M., Cuddihy R.M., Bergenstal R.M., Clinical application of incretin-based therapy: therapeutic potential, patient selection and clinical use, *Eur. J. Int. Med.*, 2009, 20(Suppl. 2), p. S329.
- [8] Shyangdan D., Royle P., Clar C., Sharma P., Waugh N., Glucagon-like peptide analogues for type 2 diabetes mellitus: systematic review and meta-analysis, *BMC Endocr. Disord.*, 2010, 10, p. 20.
- [9] (a) Green B.D., Flatt P.R., Bailey C.J., Dipeptidyl peptidase IV (DPP IV) inhibitors: a newly emerging drug class for the treatment of type 2 diabetes, *Diabet. Vasc. Dis. Res.*, 2006, 3, p. 159; (b) Idris I., Donnelly R., Dipeptidyl peptidase-IV inhibitors: a major new class of oral antidiabetic drug, *Diabetes Obes. Metab.*, 2007, 9, p. 153; (c) Peters J.-U., 11 years of cyanopyrrolidines as DPP-IV inhibitors, *Curr. Top. Med. Chem.*, 2007, 7, p. 579.
- [10] Xu J., Ok H.O., Gonzalez E.J., Colwell Jr L.F., Habulihaz B., He H., Leiting B., Lyons K.A., Marsilio F., Patel R.A., Wu J.K., Thornberry N.A., Weber A.E., Parmee E.R., Discovery of potent and selective  $\beta$ -homophenylalanine based dipeptidyl peptidase IV inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2004, 14, p. 4759.
- [11] Brockunier L.L., He J., Colwell Jr L.F., Habulihaz B., He H., Leiting B., Lyons K.A., Marsilio F., Patel R.A., Teffera Y., Wu J.K., Thornberry N.A., Weber A.E., Parmee E.R., Substituted piperazines as novel dipeptidyl peptidase IV inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2004, 14, p. 4763.
- [12] Kim D., Wang L., Beconi M., Eiermann G.J., Fisher M.H., He H., Hickey G.J., Kowalchick J.E., Leiting B., Lyons K., Marsilio F., McCann M.E., Patel R.A., Petrov A., Scapin G., Patel S.B., Roy R.S., Wu J.K., Wyvratt M.J., Zhang B.B., Zhu L., Thornberry N.A., Weber A.E., (2R)-4-oxo-4-[3-(trifluoromethyl)-5,6-dihydro[1,2,4]triazolo[4,3-a]pyrazin-7(8H)-yl]-1-(2,4,5-trifluorophenyl)butan-2-amine: a potent, orally active dipeptidyl peptidase IV inhibitor for the treatment of type 2 diabetes, *J. Med. Chem.*, 2004, 48, p. 141.
- [13] Williams-Herman D., Engel S., Round E., Johnson J., Golm G., Guo H., Musser B., Davies M., Kaufman K., Goldstein B., Safety and tolerability of sitagliptin in clinical studies: a pooled analysis of data from 10,246 patients with type 2 diabetes, *BMC Endocr. Disord.*, 2010, 10, p. 7.
- [14] Pour un autre exemple d'optimisation de synthèse industrielle, voir : Erb W., Chausset-Boissarie L., Viagra<sup>®</sup>, les clés du succès, *L'Act. Chim.*, 2009, 333, p. 42.
- [15] Hansen K.B., Balsells J., Dreher S., Hsiao Y., Kubryk M., Palucki M., Rivera N., Steinhuebel D., Armstrong J.D., Askin D., Grabowski E.J.J., First generation process for the preparation of the DPP-IV inhibitor sitagliptin, *Org. Process Res. Dev.*, 2005, 9, p. 634.
- [16] Balsells J., DiMichele L., Liu J., Kubryk M., Hansen K., Armstrong J.D., Synthesis of [1,2,4]triazolo[4,3- $\alpha$ ]piperazines via highly reactive chloromethylxodiazoles, *Org. Lett.*, 2005, 7, p. 1039.
- [17] Wenda S., Illner S., Mell A., Kragl U., Industrial biotechnology: the future of green chemistry?, *Green Chem.*, 2011, 13, p. 3007.
- [18] Hsiao Y., Rivera N.R., Rosner T., Krska S.W., Njolito E., Wang F., Sun Y., Armstrong J.D., Grabowski E.J.J., Tillyer R.D., Spindler F., Malan C., Highly efficient synthesis of  $\beta$ -amino acid derivatives via asymmetric hydrogenation of unprotected enamines, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126, p. 9918.
- [19] Hansen K.B., Hsiao Y., Xu F., Rivera N., Clausen A., Kubryk M., Krska S., Rosner T., Simmons B., Balsells J., Ikemoto N., Sun Y., Spindler F., Malan C., Grabowski E.J.J., Armstrong J.D., Highly efficient asymmetric synthesis of sitagliptin, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, 131, p. 8798.
- [20] Xu F., Armstrong J.D., Zhou G.X., Simmons B., Hughes D., Ge Z., Grabowski E.J.J., Mechanistic evidence for an  $\alpha$ -oxoketene pathway in the formation of  $\beta$ -ketoamides/esters via Meldrum's acid adducts, *J. Am. Chem. Soc.*, 2004, 126, p. 13002.
- [21] Clausen A.M., Dziadul B., Cappuccio K.L., Kaba M., Starbuck C., Hsiao Y., Dowling T.M., Identification of ammonium chloride as an effective promoter of the asymmetric hydrogenation of a  $\beta$ -enamine amide, *Org. Process Res. Dev.*, 2006, 10, p. 723.
- [22] Steinhuebel D., Sun Y., Matsumura K., Sayo N., Saito T., Direct asymmetric reductive amination, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, 131, p. 11316.
- [23] Davis B.G., Boyer V., Biocatalysis and enzymes in organic synthesis, *Nat. Prod. Rep.*, 2001, 18, p. 618; Drauz K., Waldmann H., *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis: A Comprehensive Handbook*, Weinheim, 1995.
- [24] Schmid A., Dordick J.S., Hauer B., Kiener A., Wubbolts M., Witholt B., Industrial biocatalysis today and tomorrow, *Nature*, 2001, 409, p. 258; Franssen M.C.R., Kircher M., Wohlgemuth R., Industrial biotechnology in the chemical and pharmaceutical industries, in *Industrial Biotechnology, Sustainable Growth and Economic Success*, W. Soetaert, E.J. Vandamme (eds), Wiley-VCH, 2010.
- [25] Hult K., Berglund P., Engineered enzymes for improved organic synthesis, *Curr. Op. Biotech.*, 2003, 14, p. 395; Bloom J.D., Meyer M.M., Meinhold P., Otey C.R., MacMillan D., Arnold F.H., Evolving strategies for enzyme engineering, *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 2005, 15, p. 447; Petrounia I.P., Arnold F.H., Designed evolution of enzymatic properties, *Curr. Op. Biotech.*, 2000, 11, p. 325.
- [26] Savile C.K., Janey J.M., Mundorff E.C., Moore J.C., Tam S., Jarvis W.R., Colbeck J.C., Krebber A., Fleitz F.J., Brands J., Devine P.N., Huisman G.W., Hughes G.J., Biocatalytic asymmetric synthesis of chiral amines from ketones applied to sitagliptin manufacture, *Science*, 2010, 329, p. 305.
- [27] Feng J., Zhang Z., Wallace M.B., Stafford J.A., Kaldor S.W., Kassel D.B., Navre M., Shi L., Skene R.J., Asakawa T., Takeuchi K., Xu R., Webb D.R., Gwaltney S.L., Discovery of alogliptin: a potent, selective, bioavailable, and efficacious inhibitor of dipeptidyl peptidase IV, *J. Med. Chem.*, 2007, 50, p. 2297.
- [28] Eckhardt M., Langkopf E., Mark M., Tadayon M., Thomas L., Nar H., Pfrengle W., Guth B., Lotz R., Sieger P., Fuchs H., Himmelsbach F., 8-(3-(R)-aminopiperidin-1-yl)-7-but-2-ynyl-3-methyl-1-(4-methyl-quinazolin-2-ylmethyl)-3,7-dihydropurine-2,6-dione (BI 1356), a highly potent, selective, long-acting, and orally bioavailable DPP-4 inhibitor for the treatment of type 2 diabetes, *J. Med. Chem.*, 2007, 50, p. 6450.
- [29] Mendieta L., Tarrago T., Giralt E., Recent patents of dipeptidyl peptidase IV inhibitors, *Exp. Op. Ther. Pat.*, 2011, 21, p. 1693.



W. Erb

**William Erb** (auteur correspondant)

est attaché temporaire d'enseignement et de recherche au Laboratoire de Chimie Organique, ESPCI Paris-Tech\*.

**Nacim Abermil**

est post-doctorant à la School of Chemical Sciences, Nouvelle-Zélande\*\*.



N. Abermil

\* Laboratoire de Chimie Organique, ESPCI ParisTech, CNRS, 10 rue Vauquelin, F-75231 Paris Cedex 05.

Courriel : w.erb@exchem.fr

\*\* School of Chemical Sciences, The University of Auckland, 23 Symonds street, Auckland Central (Nouvelle-Zélande).

Courriel : nabe466@aucklanduni.ac.nz