

ROYAUME DU MAROC

OFFICE MAROCAIN DE LA PROPRIETE (19)
INDUSTRIELLE ET COMMERCIALE



المملكة المغربية

المكتب المغربي
للملكية الصناعية والتجارية

(12) FASCICULE DE BREVET

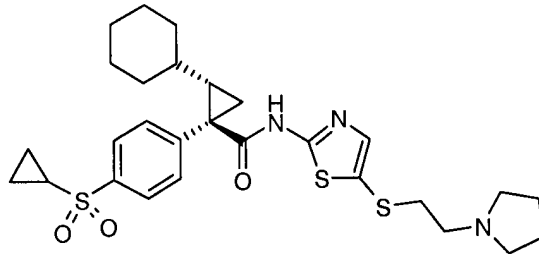
(11) N° de publication : **MA 32902 B1**
(51) Cl. internationale : **C07D 277/46; A61K 31/427;
A61P 3/10**
(43) Date de publication : **01.12.2011**

(21) N° Dépôt : **33945**
(22) Date de Dépôt : **14.06.2011**
(30) Données de Priorité : **19.12.2008 EP 08380341.1 ; 19.02.2009 US 61/153,781**
(86) Données relatives à l'entrée en phase nationale selon le PCT : **PCT/US2009/067603 11.12.2009**
(71) Demandeur(s) : **ELI LILLY AND COMPANY, Lilly Corporate Center Indianapolis Indiana 46285 (US)**
(72) Inventeur(s) : **BUENO MELENDO, Ana, Belen ; AGEJAS-CHICHARRO, Francisco, Javier**
(74) Mandataire : **H & H CONSULTING LAW FIRM**

(54) Titre : **DERIVES D'ARYLCYCLOPROPYLACETAMIDE UTILES COMME ACTIVEURS DE LA GLUCOKINASE**
(57) Abrégé : L'invention porte sur un composé de formule (A) et sur des compositions pharmaceutiques pour le traitement du diabète.

ABREGE

Composé répondant à la formule :



5 et compositions pharmaceutiques pour le traitement du diabète.

01 DEC 2011

**DERIVES D'ARYLCYCLOPROPYLACETAMIDE UTILES COMME
ACTIVATEURS DE LA GLUCOKINASE**

Le diabète est une maladie évolutive qui a une incidence défavorable à la fois sur la longévité et sur la qualité de vie. Les thérapies orales existantes, que ce soit à titre individuel ou en combinaison, n'apporte pas une efficacité adéquate ou soutenue de la diminution du taux de glucose chez les patients souffrant du diabète. Par conséquent, un besoin subsiste de disposer de thérapies perfectionnées pour des diabétiques.

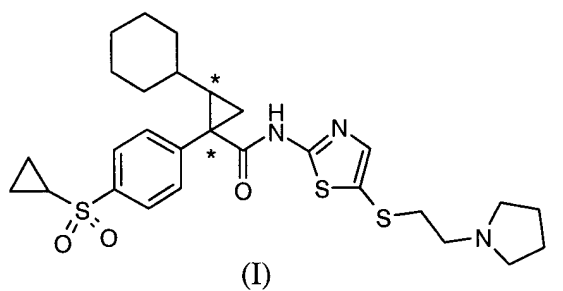
Les activateurs de la glucokinase (GKA) représentent une classe d'agents diminuant le taux de glucose qui agissent principalement pour réduire la glycémie via des actions modulatrices dans les cellules bêta pancréatiques et dans le foie. Un certain nombre de GKA de synthèse ont été révélés pour le traitement du diabète, par exemple comme révélé dans le document WO 04/063179. Toutefois, un besoin subsiste de disposer de GKA donnés en variante à titre de thérapie pour les diabétiques.

Il est bien connu que la glucokinase (GK) est un élément critique pour la médiation de la détection du taux de glucose dans les neurones. Une activation de la glucokinase dans l'hypothalamus atténue la réponse contrarégulatrice à une hypoglycémie induite par l'insuline. Ainsi, une activation de la glucokinase dans le cerveau avec des activateurs de la glucokinase est susceptible de provoquer une augmentation du risque d'hypoglycémie via une diminution de la sécrétion des taux de l'épinéphrine, de la norépinéphrine et du glucagon, à de faibles taux de glucose. Des composés GKA manifestant une perméabilité limitée à la barrière hémato-encéphalique posséderaient un potentiel inférieur de production d'une hypoglycémie sévère.

Les composés de la présente invention se sont avérés activer la glucokinase à la fois *in vitro* et *in vivo*. Les composés de la présente invention se sont avérés manifester une puissance améliorée par rapport aux GKA existants. Les composés de la présente invention se sont avérés manifester une perméabilité limitée à la barrière hématoencéphalique.

La présente invention concerne des composés qui activent la glucokinase, des compositions pharmaceutiques les contenant à titre d'ingrédient actif, des procédés pour le traitement de troubles associés à un dysfonctionnement de la glucokinase, ainsi que leur utilisation pour le traitement du diabète, en particulier du diabète de type II.

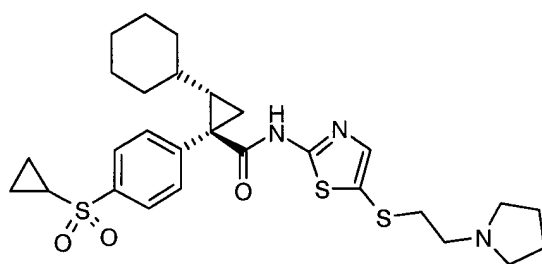
La présente invention procure un composé répondant à la formule :



ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptables.

Un composé de la présente invention possède deux centres stériques (*) et par conséquent quatre stéréo-isomères possibles. L'intention est d'inclure dans le cadre de la présente invention chaque stéréo-isomère ainsi que tous les mélanges racémiques ou diastéréo-isomères, qu'ils soient purs ou partiellement purs.

Un stéréo-isomère préféré d'un composé de la présente invention répond à la formule développée :



La présente invention procure une composition pharmaceutique comprenant un composé de la présente invention, ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptables, et un diluant ou un support pharmaceutiquement acceptable.

La présente invention procure un composé répondant à la formule I, ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptables, à utiliser en thérapie. La présente invention procure également un composé répondant à la formule I, ou

un de ses sels pharmaceutiquement acceptables à utiliser dans le traitement du diabète, en particulier le diabète de type II. Dans un autre aspect de la présente invention, on procure l'utilisation d'un composé répondant à la formule I, ou d'un de ses sels pharmaceutiquement acceptables, pour la préparation d'un médicament destiné au traitement du diabète, en particulier du diabète de type II.

La présente invention procure un procédé pour le traitement du diabète, qui comprend l'administration d'une quantité efficace d'un composé répondant à la formule I, ou d'un de ses sels pharmaceutiquement acceptables, à un être humain ou à un animal qui en manifeste le besoin. La présente invention procure également un procédé pour le traitement du diabète de type II, qui comprend l'administration d'une quantité efficace d'un composé répondant à la formule I, ou d'un de ses sels pharmaceutiquement acceptables, à un être humain ou à un animal qui en manifeste le besoin.

La présente invention procure une composition pharmaceutique à utiliser en thérapie, comprenant un composé de la présente invention, ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptables. La présente invention procure une composition pharmaceutique à utiliser dans le diabète, en particulier dans le diabète de type II, comprenant un composé de la présente invention, ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptables.

Tel qu'on l'utilise en l'occurrence, le terme « sel pharmaceutiquement acceptable » désigne des sels d'un composé de la présente invention qui sont essentiellement non toxiques pour des organismes vivants. De tels sels, ainsi que la méthodologie courante pour les préparer sont bien connus dans la technique. Voir par exemple, P. Stahl, et al., Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties Selection and Use, (VCHA/Wiley-VCH, 2002) ; et J. Pharm. Sci. 66, 2-19 (1977). Un sel pharmaceutiquement acceptable préféré est le chlorhydrate.

Les composés de la présente invention sont de préférence formulés sous la forme de compositions pharmaceutiques qui sont administrées par diverses voies. De manière de loin préférée, lesdites compositions sont destinées à une administration par voie orale. Lesdites compositions pharmaceutiques ainsi que

les procédés pour les préparer sont bien connus dans la technique. Voir par exemple, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (A, Gennaro, et al., eds., 19e édition, Mack Publishing Co., 1995).

5 Dans un autre aspect de l'invention, les composés de la présente invention sont administrés en combinaison avec une ou plusieurs substances actives. Lesdites substances actives englobent par exemple la metformine.

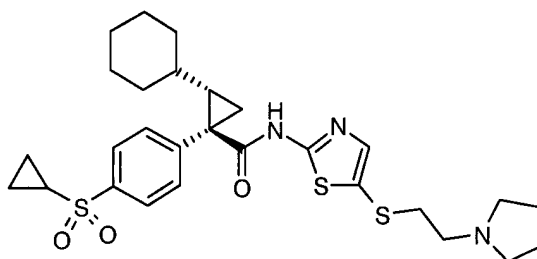
Une administration en combinaison englobe une administration simultanée, séquentielle ou séparée.

10 Les noms des composés pour les exemples ci-après sont générés en utilisant le programme AutoNom 2000.

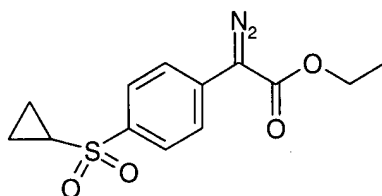
Procédés généraux :

Toutes les réactions sensibles à l'eau ou sensibles à l'air sont mises en œuvre dans des solvants secs sous l'atmosphère d'un gaz de protection. On obtient les spectres de masse (MS) sur un spectromètre Agilent 1100 MSD travaillant dans le mode « electrospray ». On obtient les pouvoirs rotatoires dans du chloroforme sur un polarimètre numérique JASCO DIP-370 à 20 °C avec une raie D du sodium.

20 **Exemple 1 : [5-(2-pyrrolidin-1-yl-éthylsulfanyl)-thiazol-2-yl]-amide de l'acide (1R,2S)-2-cyclohexyl-1-(4-cyclopropanesulfonyl-phényl)-cyclopropane-carboxylique**



25 **A) ester éthylique de l'acide (4-cyclopropanesulfonyl-phényl)-diazacétique**

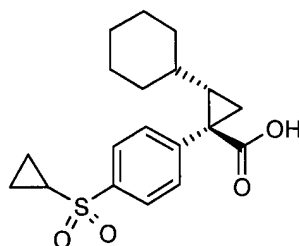


On agite un mélange de l'ester éthylique de l'acide (4-cyclopropanesulfonyl-phényl)-oxo-acétique (250 g, 806 mmol) et d'hydrazide de p-toluènesulfonyle (187g, 984 mmol) dans 1,5 L d'éthanol à la température
5 ambiante jusqu'à ce que l'on obtienne une solution de couleur jaune clair. On ajoute alors à l'acide chlorhydrique concentré (20 mL, 233 mmol), et on chauffe le mélange résultant à reflux pendant 3,5 heures. On élimine les produits volatils pour obtenir une huile de couleur jaune clair, que l'on dissout dans 1,5 L d'acétate d'éthyle. On lave ensuite cette solution avec 1 L d'une solution
10 aqueuse saturée de bicarbonate de sodium, et ensuite avec 1 L d'une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium. On extrait la phase aqueuse en retour dans de l'acétate d'éthyle (2 x 500 ml) et on combine les couches organiques, on sèche sur du sulfate de magnésium et on filtre. On agite convenablement cette solution d'hydrazone (~ 2,1 L, que l'on suppose contenir 363 g du produit
15 intermédiaire d'hydrozone) tout en ajoutant lentement de la triéthylamine (100 mL, 890 mmol). On laisse reposer la solution résultante pendant une nuit au cours de laquelle une certaine quantité du produit solide précipite. On dilue le mélange avec de l'acétate d'éthyle pour obtenir un volume de 3 L, donnant lieu à la formation d'une solution que l'on lave avec 1 L d'eau, et ensuite avec deux
20 portions 500 mL d'eau combinée avec une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium en fonction des nécessités afin de supprimer toute émulsion. On sèche ensuite la phase organique résultante sur du sulfate de sodium, on filtre et on concentre pour obtenir un solide humide que l'on triture avec de l'éther méthyl t-butylque. On filtre la suspension résultante pour obtenir
25 un produit solide de couleur jaune clair que l'on sèche sous vide pour obtenir 155 g du composé sous rubrique. On concentre le filtrat pour obtenir une huile que l'on triture comme indiqué ci-dessus jusqu'à ce que l'on obtienne un produit solide s'écoulant librement. On isole ce produit solide par filtration et on le

sèche pour obtenir une quantité supplémentaire de 10 g du composé sous rubrique. LCMS (m/e) : 295 (M+H).

B) acide (1R,2S)-2-cyclohexyl-1-(4-cyclopropanesulfonyl-phényl)-cyclopropanecarboxylique

5



A une solution de vinylcyclohexane (300 mL, 2,72 mol) dans 150 mL de dichlorométhane anhydre, que l'on maintient à une température de 25-30 °C sous l'atmosphère d'un gaz inerte, on ajoute goutte à goutte une solution d'un adduit de bis(acétate d'éthyle) et de tétrakis[N-phthaloyl-(R)-tert-leucinato]dirhodium (120 mg, 84 µmol) dans du vinylcyclohexane (40 mL), tandis que l'on ajoute des portions de l'ester éthylique de l'acide (4-cyclopropanesulfonyl-phényl)-diazo-acétique (169,40 g, 575,5 mmol). On règle la vitesse d'addition pour maintenir une température interne 40 °C. L'addition est complète après approximativement 1,5 heure et on agite le mélange réactionnel pendant 2 heures supplémentaires à une température de 30 °C. On élimine ensuite les produits volatils sous vide pour obtenir de l'ester éthylique de l'acide (1R,2S)-2-cyclohexyl-1-(4-cyclopropanesulfonyl-phényl)-cyclopropanecarboxylique brut sous la forme d'une huile visqueuse de couleur marron (218 g, 579 mmol) ce que l'on dissout dans 1,1 L de méthanol pour obtenir une solution de couleur jaune-marron à laquelle on ajoute lentement une solution aqueuse d'hydroxyde de sodium 5 N (500 mL, 2,5 mmol). On agite ensuite la suspension résultante à 50 °C pendant 1 heure. Pendant ce temps, on obtient la formation d'une solution. On élimine le méthanol sous vide et on ajoute 1 L d'acétate d'éthyle. On acidifie le mélange résultant par addition d'approximativement 550 mL d'acide chlorhydrique aqueux à 5 % et on sépare les deux couches. On extrait ensuite la couche aqueuse dans deux portions de 500 mL d'acétate d'éthyle. On combine les phases organiques on les lave avec

10

15

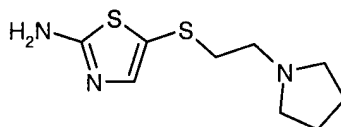
20

25

500 mL d'une solution aqueuse saturée de chlorure de sodium, on sèche sur du sulfate de magnésium, on filtre et on concentre pour obtenir un produit solide humide de couleur jaune pâle. On dissout ensuite cette matière dans 1 L de méthanol. On ajoute ensuite de l'eau (1 L) à la solution agitée pendant un laps
5 de temps de 1,5 heure. On agite la suspension résultante à la température ambiante pendant 30 minutes et ensuite on filtre. On lave le tampon de filtration avec un mélange méthanol/eau dans le rapport 1:1 et on sèche pour obtenir le composé sous rubrique sous la forme de cristaux de couleur jaune pâle (166 g). Masse exacte MS calculée 349,14735 ; trouvée 349,14679 (Agilent 1100 LC-
10 TOF en utilisant une ionisation par "electrospray") ; $[\alpha]_D^{20} = -31^\circ$.

On détermine l'excès énantiomère de l'acide comme s'élevant à 97,7 % par comparaison des intégrales pour les deux pics correspondant aux énantiomères à l'étape séparée par chromatographie chirale sur une colonne AD-H (150 mm) éluée à 35 °C avec de l'éthanol à 10 % dans de l'hexane
15 contenant de l'acide trifluoroacétique à 0,05 %.

C) 5-(2-pyrrolidin-1-yl-éthylsulfanyl)-thiazol-2-ylamine



On ajoute du thiirane (550 mL, 9,2 mol) à un mélange de pyrrolidine (543
20 mL, 6,57 mol) dans 2,5 L de dioxane anhydre sous l'atmosphère d'un gaz inerte. La température s'élève lentement et on refroidit le mélange réactionnel dans un bain de glace lorsque la température interne atteint 54 °C. Une fois que la température a chuté jusqu'à 45 °C, on retire le bain de glace et on chauffe le mélange réactionnel jusqu'à 60 °C. Après 3 heures, on refroidit le mélange
25 jusqu'à la température ambiante et on le concentre sous vide. On soumet ensuite le résidu à une distillation sous une pression de 6 mm Hg, et on récolte une fraction possédant un point d'ébullition de 50 °C pour obtenir du 2-pyrrolidin-1-yl-éthanethiol sous la forme d'une huile incolore (643 g). MS (m/e) : 132 (M+H).

On ajoute lentement du bicarbonate de sodium (1,232 kg, 14,7 mol) par portions à un mélange de bromhydrate de la 5-bromo-thiazol-2-ylamine (1,53 Kg, 5,87 mol) dans 7,5 L d'isopropanol. On ajoute ensuite du 2-pyrrolidin-1-yl-éthanethiol (1,060 Kg, 8,07 mol) pendant un laps de temps de 15 minutes et on agite le mélange résultant à 60 °C pendant 96 heures. La température s'élève jusqu'à 70 °C pendant 1 heure et on refroidit ensuite le mélange jusqu'à la température ambiante. On élimine la majeure partie de l'isopropanol sous vide et on enrobe pour le résidu dans 4 L d'une solution d'isopropanol/chloroforme (1:9). On ajoute une solution aqueuse saturée de bicarbonate de sodium (4 L) et on agite le mélange résultant pendant 30 minutes. On sépare les couches et on extrait la phase aqueuse dans trois portions de 4 L d'une solution d'isopropanol/chloroforme (1:9). On combine les couches organiques, on les sèche sur du sulfate de sodium, on les filtre et on les concentre sous vide. On triture le résidu résultant avec 3 L d'éther diéthylique, et on élimine par filtration pour obtenir une première portion du composé sous rubrique sous la forme d'un produit solide de couleur jaune pâle (410 g). On concentre le filtrat pour obtenir un produit solide de couleur orange que l'on triture avec 2 L d'éther diéthylique, et on isole sous la forme d'un produit solide de couleur beige, par filtration. On dissout ensuite ce produit solide dans 2 L de méthanol, et on chauffe la solution à 45 °C pendant 30 minutes. Lors du refroidissement jusqu'à la température ambiante, on obtient la formation d'un produit solide. On isole cette matière par filtration, on triture avec de l'éther diéthylique comme indiqué ci-dessus et on sèche sous vide pour obtenir une quantité supplémentaire de 310 g du composé sous rubrique. MS (m/e) : 230 [M+H].

25

D) [5-(2-pyrrolidin-1-yl-éthylsulfanyl)-thiazol-2-yl]-amide de l'acide (1R,2S)-2-cyclohexyl-1-(4-cyclopropanesulfonyl-phényl)-cyclopropanecarboxylique

On ajoute du chlorure d'oxalyle (146,89 mL, 1,69 mol) pendant 15 minutes à une solution agitée de l'acide (1R,2S)-2-cyclohexyl-1-(4-cyclopropanesulfonyl-phényl)-cyclopropanecarboxylique (295,00 g, 0,847 mol) dans 10 mL de dichlorométhane anhydre sous l'atmosphère d'un gaz inerte. On

ajoute ensuite du diméthylformamide (654,61 μ L, 8,5 mmol) en une fois et on agite la solution résultante pendant une nuit. On élimine ensuite les produits volatils sous vide à 40 °C pour obtenir une huile que l'on dissout dans 3 L de dichlorométhane anhydre. On rétablit l'atmosphère de gaz inerte et on refroidit la solution à une température < 5 °C. On ajoute ensuite de la triéthylamine (177 mL 1,27 mol) goutte à goutte pendant 20 minutes, pour laisser subsister une solution de couleur foncée. On ajoute du sulfate de sodium (120,25 g, 0,847 mol), et ensuite de la 5-(2-pyrrolidin-1-yl-éthylsulfanyl)-thiazol-2-ylamine (213,60 g 0,931 mole). La température interne s'élève jusqu'à 20 °C. On agite le mélange réactionnel pendant 10 minutes dans le froid et on laisse ensuite se réchauffer jusqu'à la température ambiante. Après avoir agité pendant une nuit, on verse le mélange réactionnel sur 3 L d'eau. On agite le mélange résultant pendant quelques minutes et on sépare ensuite les deux couches. On extrait la couche aqueuse dans 1 L de dichlorométhane et on combine les solutions de dichlorométhane, on sèche sur du sulfate de magnésium, on filtre et on concentre sous vide à 40 °C. On applique l'huile résultante (556 g) sur des tampons de gel de silice sous la forme d'une solution dans du dichlorométhane. Une élution des tampons avec 1:12:7 ammoniac 2 M dans méthanol / éther méthyl t-butylique / heptane, et ensuite avec 1:19 ammoniac 2 M (dans du méthanol) / acétate d'éthyle permet d'obtenir une mousse de couleur marron (351 g). La cristallisation de 320 g de cette matière dans de l'éther méthyl t-butylique et dans de l'heptane permet d'obtenir le composé sous rubrique (279,4 g) sous la forme d'un produit solide de couleur blanc cassé après séchage pendant 2 jours à une température de 45 °C. LCMS (m/e) : 560 (M+H) : $[\alpha]_D^{20} = -44^\circ$.

Dosage de la glucokinase

On exprime l'isoforme humaine de la GK des îlots de Langerhans dans *E.coli* sous la forme d'une protéine de fusion comportant une étiquette (His)₆ et on purifie avec une chromatographie d'affinité aux chélates métalliques, voir par exemple Tiedge et al., Biochem. Biophys. Acta 1337, 175-190, 1997. Après purification, on entrepose l'enzyme dans des quantités aliquotes à des

concentrations de 0,8 mg/ml dans du phosphate de sodium 25 mM, chlorure de sodium 150 mM, imidazole 100 mM, dithiothréitol 1 mM, glycérol à 50 % à une température de -80 °C. On effectue le dosage dans des plaques à fond plat de 96 puits dans un volume d'incubation final de 100 µL. Le mélange d'incubation est constitué par 25 mM d'acide 4-(2-hydroxyéthyl)-1-pipérazineéthanesulfonique (HEPES) (pH7,4), 50 mM de chlorure de potassium, 2,5 mM de chlorure de magnésium, 2 mM de dithiothréitol, 4 U/ml de glucose-6-phosphate déshydrogénase provenant de *Leuconostoc mesenteroides*, 5 mM d'ATP, 1 mM de NAD et par une concentration réglée de glucose. On dissout les composés d'essai dans du diméthylsulfoxyde et on les ajoute ensuite au mélange réactionnel pour obtenir une concentration finale de diméthylsulfoxyde de 10%. On déclenche la réaction par addition de 20 µL de GK et on la met en œuvre pendant 20 minutes à une température de 37 °C. On mesure la quantité de NADH obtenu sous la forme de l'augmentation de l'absorbance à 340 nm en utilisant un lecteur de microplaque. Les valeurs d'absorbants se sont utilisées pour le calcul des valeurs CE₅₀.

L'Exemple 1 active la GK avec une valeur CE₅₀ = 42 ± 42 nM (n=5) à une concentration de glucose de 10 mM. Il augmente également l'activité enzymatique d'une manière qui dépend de la concentration, à des concentrations de glucose inférieures.

Dosage de la glycolyse

On maintient des cellules d'insulinome de rat INS-1E à 37 °C, sous une atmosphère de CO₂ à 5 %, dans des conditions d'humidité de 95 % dans un milieu 1640 auquel on ajoute 11 mM de glucose, du sérum bovin foetal à 5 %, 50 µM de 2-mercaptoéthanol, 1 mM de pyruvate, 10 mM de HEPES et des antibiotiques. Avant le dosage, on soumet les cellules à une trypsinisation, on la transforme en boulettes par centrifugation et on les utilise pour ensemercer des plaques de dosage de culture tissulaire de 96 puits à la densité de 30.000 cellules/puits. On laisse les cellules se fixer et on incube pendant 48 heures à 37 °C, sous une atmosphère de CO₂ à 5 %. Au jour du dosage, on lave les cellules et on les incube dans 200 µL d'un tampon de solution saline équilibrée

d'Earle (EBSS) auquel on ajoute de l'albumine de sérum bovin à 0,1 % (BSA). Après 30 minutes d'incubation, on élimine le tampon et on ajoute aux cellules 100 µL d'un tampon EBSS contenant du BSA à 0,1 %, 8 mM de glucose et le composé. Immédiatement après, on ajoute aux cellules 20 µL du réactif
5 CellTiter 96® AQueous One Solution et on incube les cellules à 37 °C pendant une heure supplémentaire. À la fin de l'incubation, on lit l'absorbance à 490 nm. Les valeurs d'absorbance sont utilisées pour le calcul des valeurs CE₅₀.

L'Exemple 1 stimule le métabolisme du glucose dans les cellules d'insulinome du rat INS1-E (valeur moyenne CE₅₀ = 579 ± 139 nM, n=4).

10 Ainsi, les composés de la présente invention s'avèrent activer la GK *in vitro*.

Test de la tolérance au glucose par voie orale (OGTT)

On maintient des rats mâles de souche Wistar d'un poids de 225-250 g
15 dans des conditions d'alimentation ordinaire et dans des conditions de vie et de cycle de lumière normales. Pour l'étude, on prive les rats de nourriture pendant une nuit avant de mesurer leur poids exact et on les répartit au hasard par groupes de poids similaires (n=4 par groupe). On met le composé en suspension dans un mélange de 1:1 de solutol/éthanol dans un dispositif sous
20 la forme d'un bain à ultrasons (jusqu'à 10 % du volume total). On dilue ensuite la suspension obtenue avec 9 volumes d'une solution de sorbitol aqueux à 10 % et on administre le composé par voie orale à des doses de 1, 3, 6, 10, 20 et 30 mg/kg. On administre aux rats un bol de glucose par voie orale de 2 g/kg après l'administration du composé. On prélève du sang via un saignement de la
25 queue à des intervalles de 0, 15, 30, 60, 90 et 120 minutes après l'administration du glucose. On place le sang prélevé dans des tubes d'acide éthylènediaminetétracétique (EDTA) à raison d'un volume de 400 µL par échantillon et on maintient les échantillons sur de la glace. On isole le plasma et on entrepose à une température de -20 °C jusqu'à l'analyse des échantillons
30 concernant le taux de glucose et l'exposition du composé. On calcule l'aire sous la courbe de glucose plasmatique (AUC glucose) pour chaque groupe et on utilise la diminution du pourcentage dans la valeur AUC glucose par rapport au

groupe témoin comme mesure de l'efficacité du composé à réduire le taux de glucose plasmatique.

L'Exemple 1 diminue le taux de glucose plasmatique d'une manière qui dépend de la dose à des taux de glucose à la fois dans des conditions de jeûne et postprandiales. On observe une diminution maximale de la valeur AUC glucose par rapport au groupe témoin non traité avec la dose élevée (30 mg/kg) et la diminution représente une diminution de 42 %. Une interpolation des données indique que l'on obtient une diminution de la valeur AUC glucose s'élevant à 20 % à une concentration moyenne du composé de 99 ng/ml (179 nM) dans le plasma, ce qui correspond à une dose du composé de 6,9 mg/kg.

Ainsi, les composés de la présente invention s'avèrent activer la GK *in vivo*.

Perméabilité à la barrière hémato-encéphalique

On prépare une solution de réserve du composé dans du diméthylsulfoxyde à une concentration de 10 mM. On prépare ensuite une solution de dose à une concentration de 1 mM par dilution de 100 µL de la solution de réserve avec 900 µL de propylèneglycol. On administre la dose sous la forme d'un bol par voie intraveineuse (IV) de (2,2 mL/kg) via la veine caudale via six souris mâles CF-1 (d'approximativement 23 g) pour une dose cible de 2,17 µmol/kg. On euthanasie les souris en utilisant à la fois du CO₂ et une luxation cervicale. On sacrifie trois souris 5 minutes après la dose et trois autres souris 60 minutes après la dose. On prélève du sang auprès de chaque animal par ponction cardiaque et on prépare le plasma en utilisant de l'EDTA sodique, on transfère le sang dans des tubes d'échantillonnage en polypropylène et on le congèle immédiatement en utilisant de la neige carbonique. On récolte les cerveaux complets à partir de chaque animal et on les soumet à dissection médiale, chaque moitié étant transférée dans des tubes d'échantillonnage en polypropylène et immédiatement congelée en utilisant la neige carbonique. On prépare des échantillons de plasma à des fins d'analyse par précipitation de protéines en utilisant deux parties de solvant d'extraction (tétrahydrofurane à 10 % dans de l'acétonitrile) pour une partie de plasma et

en mélangeant avec un mélangeur à tourbillonnement. Pour le tissu cérébral, on part de l'hypothèse que 1 mg de tissu cérébral \approx un volume de 1 μ L et on ajoute deux parties de solvant d'extraction pour une partie de tissus. On homogénéise directement les échantillons en utilisant un homogénéisateur broyeur vibrant de cellules aux ultrasons. On prépare des normes d'étalonnage en ensemencant des concentrations connues du composé dans du plasma de souris blanc et en traitant ensuite à la manière des échantillons de plasma. On centrifuge tous les échantillons 6000 RCF pendant 5 minutes. On transfère une quantité aliquote du produit surnageant de chaque échantillon à une plaque en polypropylène de 96 puits et on ferme de manière hermétique pour l'analyse par LC-MS/MS.

On effectue l'analyse MS/MS en utilisant un spectromètre de masse de type triple quadripôle Sciex API 4000 équipé d'une source de turbopulvérisation ionique. On effectue la chromatographie liquide à haute performance en utilisant une colonne analytique Phenomenex Hyrdro RP (100 x 2,0 mm, 4 μ) que l'on chauffe à 50 °C et que l'on met en service à un débit constant de 0,6 mL/minute. On utilise un gradient de phase mobile constitué par une phase mobile initiale de 60:40 solution aqueuse de formiate d'ammonium 5 mM : formiate d'ammonium 5 mM dans du méthanol avec un temps de maintien de 1 minute suivi d'un gradient linéaire de 2 minutes jusqu'à 10:90 solution aqueuse de formiate d'ammonium 5 mM : formiate d'ammonium 5 mM dans du méthanol avec un temps de maintien final de 1 minute. On évacue l'effluent de la colonne vers le dispositif de récolte de déchets entre un laps de temps de 0 à 2,8 minutes avant de le diriger dans le spectromètre de masse pendant un laps de temps de 2,8 à 4,0 minutes, les transitions MS/MS surveillées s'élevant à 560/84. On procède à une quantification du composé dans les échantillons d'essai par comparaison des valeurs d'aires maximales par rapport à une équation quadratique compensée $1/x^2$, qui dérivent des concentrations nominales des normes d'étalonnage et de leurs aires maximales respectives. On détermine les limites supérieures et inférieures de la quantification via les récupérations calculées en retour des normes d'étalonnage qui dépassent +/- 20 % de la théorie. On corrige les concentrations en de tissu cérébral pour la

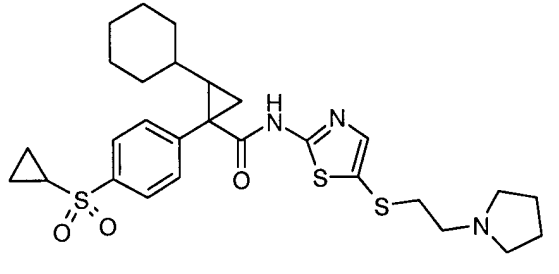
contribution du plasma en utilisant un facteur décrit dans la littérature de 16 μ L de plasma/g de cerveau de souris.

La perméabilité de la barrière hémato-encéphalique in vivo de l'Exemple 1 donne lieu à un rapport moyen cerveau/plasma s'élevant à 0,17 cinq minutes après la dose et à un taux cervical total moyen de 0,539 nmol/g à ce moment.

Les composés de la présente invention se sont avérés posséder une perméabilité limitée à la barrière hémato-encéphalique et représentent ainsi un potentiel limité pour l'hypoglycémie sévère.

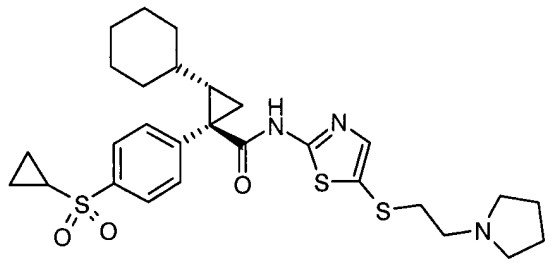
REVENDEICATIONS

1. Composé répondant à la formule :



5 ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptables.

2. Composé selon la revendication 1 répondant à la formule :



ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptables.

10

3. Composition pharmaceutique comprenant un composé selon la revendication 1 ou 2, ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptables, et un diluant ou un support pharmaceutiquement acceptable.

15

4. Composé selon la revendication 1 ou 2, ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptables, à utiliser en thérapie.

5. Composé selon la revendication 1 ou 2, ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptables, à utiliser dans le traitement du diabète.

20

6. Composé selon la revendication 5, ou un de ses sels pharmaceutiquement acceptables, à utiliser dans le traitement du diabète de type II.