

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 435 242**

51 Int. Cl.:

C07D 277/46 (2006.01)

A61K 31/427 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.12.2009 E 09768316 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.08.2013 EP 2379517**

54 Título: **Derivados de arilciclopropilacetamida útiles como activadores de glucocinasa**

30 Prioridad:

19.12.2008 EP 08380341

19.02.2009 US 153781 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

17.12.2013

73 Titular/es:

ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)

**Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US**

72 Inventor/es:

**BUENO MELENDO, ANA BELEN y
AGEJAS-CHICHARRO, FRANCISCO JAVIER**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 435 242 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados de arilciclopropilacetamida útiles como activadores de glucocinasa

La diabetes es una enfermedad progresiva que afecta adversamente tanto la longevidad como la calidad de vida. Las terapias orales existentes, bien solas o bien en combinación, no presentan eficacia bajando glucosa adecuada o mantenida en pacientes con diabetes. Consecuentemente, hay una necesidad no satisfecha de terapias mejoradas para pacientes con diabetes.

Los activadores de glucocinasa (GKA) representan una clase de agentes disminuidores de la glucosa que actúan principalmente para bajar la glucosa en sangre por acciones moduladoras en las células β -pancreáticas y en el hígado. Se han divulgado un número de GKA sintéticos para el tratamiento de diabetes, por ejemplo aquellos divulgados en el documento WO 04/063179. Sigue habiendo una necesidad de GKA alternativos como terapia para pacientes con diabetes.

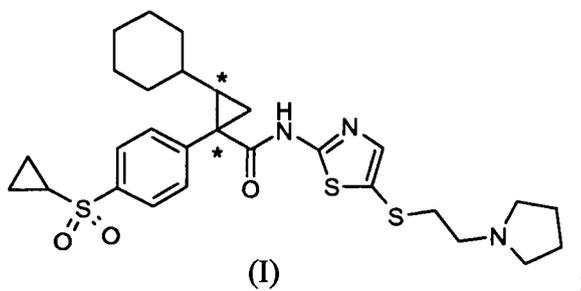
El documento WO 2007/051847 se refiere a tricicloamidas sustituidas para el tratamiento de hiperglucemia y diabetes. El documento WO 2006/058923 se refiere a propionamidas N-heteroaromáticas 2,3-di-sustituidas para el tratamiento de diabetes de tipo II.

Se ha mostrado que Glucocinasa (GK) es crítica para mediación de detección de glucosa en neuronas. La activación de GK en el hipotálamo amortigua la respuesta contrarreguladora a hipoglucemia inducida por insulina. Así, la activación de GK en el cerebro con GKA puede producir un riesgo incrementado de hipoglucemia disminuyendo secreción de epinefrina, norepinefrina y niveles de glucagón a niveles de glucosa bajos. Los compuestos de GKA con permeabilidad a barrera hematoencefálica limitada tendrían un potencial más bajo para producir hipoglucemia grave.

Se ha encontrado que los compuestos de la presente invención activan glucocinasa tanto *in vitro* como *in vivo*. Se ha encontrado que los compuestos de la presente invención presentan potencia incrementada sobre los GKA existentes. Se ha encontrado que los compuestos de la presente invención presentan permeabilidad a la barrera hematoencefálica limitada.

La presente invención se refiere a compuestos que activan glucocinasa, composiciones farmacéuticas que los contienen como un ingrediente activo y a su uso para el tratamiento de diabetes, en particular diabetes tipo II.

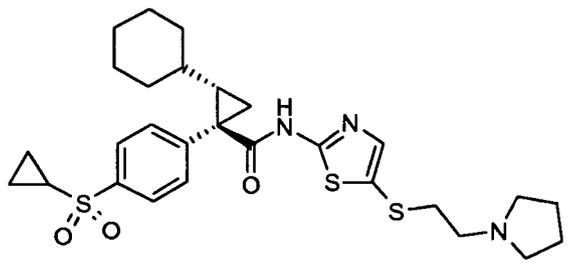
La presente invención proporciona un compuesto de fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Un compuesto de la presente invención tiene dos estereocentros (*) y así cuatro posibles estereoisómeros. Se desea que cada estereoisómero y mezclas racémicas o diastereoméricas, bien puras o bien parcialmente puras, estén incluidas en la presente invención.

Un estereoisómero de un compuesto de la presente invención tiene la fórmula estructural.



La presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención proporciona un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en terapia. La presente invención proporciona también un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de diabetes, en particular de diabetes tipo II. En otro aspecto de la presente invención, se proporciona el uso de un compuesto de fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la elaboración de un medicamento para el tratamiento de diabetes, en particular de diabetes tipo II.

La presente invención proporciona una composición farmacéutica para uso en terapia que comprende un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. La presente invención proporciona una composición farmacéutica para uso en diabetes, en particular diabetes tipo II, que comprende un compuesto de la presente invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Tal como se usa en el presente documento el término “sales farmacéuticamente aceptables” se refiere a sales de un compuesto de la presente invención que son sustancialmente inocuos para organismos vivos. Tales sales y la metodología común para prepararlas se conocen bien en la técnica. Véanse, *por ejemplo*, P. Stahl y cols., Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties Selection and Use, (VCHA/ Wiley-VCH, 2002); y J. Pharm. Sci. 66, 2-19 (1977). Una sal farmacéuticamente aceptable preferida es clorhidrato.

Los compuestos de la presente invención se formulan preferentemente como composiciones farmacéuticas que se administran por diversas vías. Del modo más preferente, tales composiciones son para administración oral. Tales composiciones y procedimientos farmacéuticos para preparar las mismas se conocen bien en la técnica. Véase, *por ejemplo*, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (A. Gennaro y cols., eds., 19ª ed., Mack Publishing Co., 1995).

En un aspecto adicional de la invención los presentes compuestos se administran en combinación con una o más sustancias activas. Tales sustancias activas incluyen por ejemplo metformina.

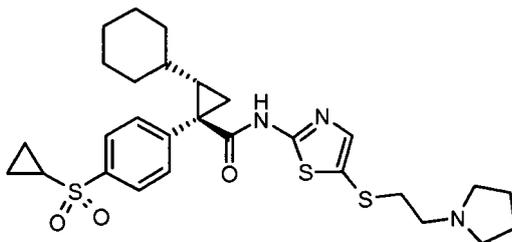
La administración en combinación incluye administración simultánea, secuencial o separada.

Los nombres de los compuestos para el siguiente ejemplo se generan usando AutoNom 2000.

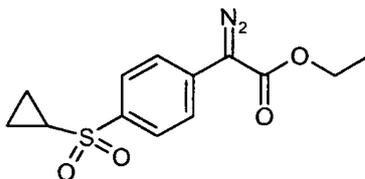
Procedimientos generales:

Todas las reacciones sensibles a agua o a aire se llevan a cabo en disolventes secos en una atmósfera de inerte. Los espectros de masas (EM) se obtienen en un espectrómetro Agilent 1100 MSD que opera en modo electropulverización. Las rotaciones ópticas se obtienen en cloroformo en un polarímetro digital JASCO DIP-370 a 20 °C con una línea D de sodio.

Ejemplo 1: [5-(2-pirrolidin-1-il-etil-sulfanil)-tiazol-2-il]-amida de ácido (1R,2S)-2-ciclohexil-1-(4-ciclopropanosulfonil-fenil)-ciclopropanocarboxílico



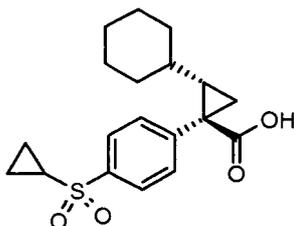
A) éster etílico de ácido (4-ciclopropanosulfonil-fenil)-diazo-acético



Una mezcla de éster etílico del ácido (4-ciclopropanosulfonil-fenil)-oxo-acético (250 g, 806 mmol) y de p-toluenosulfonilhidrazida (187 g, 984 mmol) en 1,5 l de etanol se agita a temperatura ambiente hasta que se obtiene una solución amarilla clara. Se añade después ácido clorhídrico concentrado (20 ml, 233 mmol) y la mezcla resultante se calienta a reflujo durante 3,5 horas. Se retiran compuestos volátiles proporcionando un aceite amarillo claro transparente, que está disuelto en 1,5 l de acetato de etilo. Esta solución se lava después con 1 l de solución de bicarbonato de sodio acuoso saturada, seguida por 1 l de solución de cloruro de sodio acuosa saturada. Las fases acuosas se retroextraen con acetato de etilo (2 x 500 ml) y las fases orgánicas se combinan, se secan sobre sulfato de magnesio y se filtran. Esta solución de hidrazona en bruto (2,1 l, asumido que contiene 363 g de intermedio hidrazona)

se agita bien mientras que se añade lentamente trietilamina (100 ml, 890 mmol). La solución resultante se deja reposar durante toda una noche, tiempo durante el que precipita algún sólido. La mezcla se diluye con acetato de etilo a un volumen de 3 l, proporcionando una solución, que se lava con 1 l de agua, seguida por dos partes de 500 ml de agua combinadas con solución de cloruro de sodio acuosa saturada según sea necesaria disgregando cualesquiera emulsiones. La fase orgánica resultante se seca después sobre sulfato de magnesio, se filtra y se concentra proporcionando un sólido húmedo, que se tritura con éter metil-t-butílico. La suspensión resultante se filtra proporcionando un sólido amarillo claro, que se seca al vacío proporcionando 155 g del compuesto del título. El filtrado se concentra a un aceite, que se tritura como anteriormente hasta que se obtiene un sólido que fluye libremente. Este sólido se aísla por filtración y se seca proporcionando 10 g adicionales del compuesto del título. CLEM (m/e): 295 (M+H).

B) ácido (1R,2S)-2-ciclohexil-1-(4-ciclopropanosulfonil-fenil)-ciclopropanocarboxílico

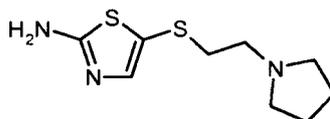


A una solución de vinilciclohexano (300 ml, 2,72 mol) en 150 ml de diclorometano anhidro mantenida a 25-30 °C en una atmósfera inerte se añade una solución de aducto de bis(etilacetato) de tetraquis[N-ftaloil-(R)-terc-leucinato]dirodio (120 mg, 84 mmol) en vinilciclohexano (40 ml) gota a gota, mientras que se añaden partes de éster etílico del ácido (4-ciclopropanosulfonilfenil)-diaz-acético (169,40 g, 575,5 mmol). Las velocidades de adición se ajustan manteniendo una temperatura interna de 40 °C. La adición se completa después de aproximadamente 1,5 horas y la mezcla de reacción se agita durante unas 2 horas adicionales a 30 °C. Los productos volátiles se eliminan después a vacío proporcionando éster etílico del ácido (1R,2S)-2-ciclohexil-1-(4-ciclopropanosulfonil-fenil)-ciclopropanocarboxílico como un aceite marrón viscoso (218 g, 579 mmol) que se disuelve en 1,1 l de metanol proporcionando una solución amarillo-marrón, a la que se añade lentamente solución de hidróxido de sodio 5 N (500 ml, 2,5 mmol). La suspensión resultante se agita después a 50 °C durante 1 hora, tiempo durante el que se forma una solución. El metanol se retira al vacío y se añade 1 l de acetato de etilo. La mezcla resultante se acidifica por la adición de aproximadamente 550 ml de ácido clorhídrico acuoso al 5 % y las dos fases acuosas se separan. La fase acuosa se extrae después con dos partes de 500 ml de acetato de etilo. Las fases orgánicas se combinan, se lavan con 500 ml de solución de ácido clorhídrico, se secan sobre sulfato de magnesio, se filtran y se concentran proporcionando un sólido amarillo pálido húmedo. Este material se disuelve después en 1 l de metanol. Se añade después agua (1 l) a la solución agitada durante el curso de 1,5 horas. La suspensión resultante se agita a temperatura ambiente durante 30 minutos y después se filtra. El lecho corto de filtro se lava con metanol/agua 1:1 y se seca proporcionando el compuesto del título como cristales amarillo pálido (166 g). Masa exacta de EM calculada 349,14735; hallada 349,14679 (Agilent 1100 LC-TOF usando ionización por electropulverización);

$$[\alpha]_D^{20} = -31^\circ$$

Se determina que el exceso enantiomérico del ácido es del 97,7 % por comparación de las integrales para los dos picos que corresponden a los enantiómeros según se separan por cromatografía quiral en una columna AD-H (150 mm) eluída a 35 °C con etanol al 10 % en hexanos que contienen ácido al 0,05 %.

C) 5-(2-pirrolidin-1-il-etilsulfanil)-tiazol-2-ilamina



Se añade tiirano (550 ml, 9,2 mol) a una mezcla de pirrolidina (543 ml, 6,57 mol) en 2,5 l de dioxano anhidro en una atmósfera inerte. La temperatura se eleva lentamente y la mezcla de reacción se enfría en un baño de hielo cuando la temperatura interna alcanza 54 °C. Una vez la temperatura ha caído a 45 °C, el baño de enfriamiento se retira y la mezcla de reacción se calienta a 60 °C. Después de 3 horas, la mezcla se enfría a temperatura ambiente y se concentra al vacío. El residuo se destila a 799,93 pascales (6 mm de Hg) y se recoge una fracción que hierve a 50 °C proporcionando 2-pirrolidin-1-il-etanotiol como un aceite incoloro (643 g). EM (m/e): 132 (M+H).

Se añade lentamente bicarbonato de sodio ((1,232 kg, 14,7 mol) en partes a una mezcla de bromhidrato de 5-bromo-tiazol-2-ilamina (1,53 kg, 5,87 mol) en 7,5 l de isopropanol. Se añade después 2-pirrolidin-1-il-etanotiol (1,060

kg, 8,07 mol) durante 15 minutos y la mezcla resultante se agita a 60 °C durante 96 horas. La temperatura se incrementa a 70 °C durante 1 hora y después la mezcla se enfría a temperatura ambiente. La mayoría del isopropanol se retira al vacío y el residuo se lleva en 4 l de una solución de isopropanol/cloroformo (1:9). Se añade bicarbonato de sodio acuoso (4 l) y la mezcla resultante se agita durante 30 minutos. Las fases se separan y la fase acuosa se extrae con partes de 4 l de una solución de isopropanol/cloroformo (1:9). Las fases orgánicas se combinan, se secan sobre sulfato de sodio anhidro, se filtran y se concentran a vacío. El residuo resultante se tritura con 3 l de éter dietílico y se filtra aparte dando una primera parte del compuesto del título como un sólido amarillo pálido (410 g). El filtrado se concentra a un sólido naranja, que se tritura con 2 l de éter dietílico y se aísla como un sólido beige por filtración. Este sólido se disuelve después en 2 l de metanol y la solución se calienta a 45 °C durante 30 minutos. Tras enfriarse a temperatura ambiente, se forma un sólido. Este material se aísla por filtración, se tritura con éter dietílico como anteriormente y se seca a vacío proporcionando 310 gramos adicionales del compuesto del título. EM (m/e): 230 [M+H]

D) [5-(2-pirrolidin-1-il-etilsulfanil)-tiazol-2-il]-amida de ácido (1R,2S) -2-ciclohexil-1-(4-ciclopropanosulfonil-fenil)-ciclopropanocarboxílico

Se añade cloruro de oxalilo (146,89 ml, 1,69 mol) durante 15 minutos a una solución agitada de ácido (1R,2S)-2-ciclohexil-1-(4-ciclopropanosulfonil-fenil)-ciclopropanocarboxílico (295,00 g, 0,847 mol) en 10 l de diclorometano anhidro en una atmósfera inerte. Se añade después dimetilformamida (654,61 ml, 8,5 mmol) de una vez y la solución resultante se agita durante toda una noche. Los compuestos volátiles se retiran después a vacío a 40 °C proporcionando un aceite, que se disuelve en 3 l de diclorometano anhidro. Se restablece una atmósfera inerte y la solución se enfría a < 5 °C. Se añade después trietilamina (177 ml 1,27 mol) durante 20 minutos, dejando una solución oscura. Se añade sulfato de sodio (120,25 g, 0,847 mol), seguido por 5-(2-pirrolidin-1-il-etilsulfanil)-tiazol-2-ilamina (213,60 g, 0,931 mole). La temperatura interna se eleva a 20 °C. La mezcla de reacción se agita durante 10 minutos en frío y después se deja calentar a temperatura ambiente. Después de agitarse durante toda una noche, la mezcla de reacción se vierte sobre 3 litros de agua. La mezcla resultante se agita durante unos pocos minutos y después se separan las dos fases. La fase acuosa se extrae con 1 l de diclorometano y las soluciones de diclorometano se combinan, se secan sobre MgSO₄, se filtran y se concentran al vacío a 40 °C. El aceite resultante (556 g) se aplica a almohadillas de gel de sílice como una solución de diclorometano. La elución de las almohadillas con amoniaco 2 M en metanol/éter metil-t-butílico/heptano 1:12:7 seguida por amoniaco 2 M en metanol/acetato de etilo 1:19 proporciona una espuma marrón (351 g). La cristalización de 320 g de este material de éter metil-t-butílico y heptano, proporciona el compuesto del título (279,4 g) como un sólido blanquecino después de secar durante 2 días a 45 °C. CLEM (m/e): 560 (M+H); $[\alpha]_D^{20} = -44^\circ$.

Ensayo de glucocinasa

La isoforma de GK de isleta humana se expresa en *E. coli* como proteína de fusión marcada con (His)₆ y se purifica con cromatografía de afinidad por quelato metálico, véase por ejemplo Tiedge y cols., Biochem. Biophys. Acta 1337, 175-190, 1997. Después de purificación la enzima se almacena en alícuotas a concentración de 0,8 mg/ml en fosfato de sodio 25 mM, cloruro de sodio 150 mM, imidazol 100 mM, ditiotreitól 1 mM, glicerol al 50 % a -80 °C. El ensayo se lleva a cabo en placas de 96 pocillos de fondo plano en un volumen de incubación final de 100 ml. La mezcla de incubación consiste en ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfónico (HEPES) (pH 7,4) 25 mM, cloruro de potasio 50 mM, cloruro de magnesio 2,5 mM, ditiotreitól 2 mM, 4 U/ml de glucosa-fosfato deshidrogenasa de *Leuconostoc mesenteroides*, ATP 5 mM, NAD 1 mM y una concentración ajustada de glucosa. Los compuestos de prueba se disuelven en dimetilsulfóxido y después se añaden a la mezcla de reacción dando la concentración de dimetilsulfóxido final del 10 %. La reacción se inicia por adición de 20 ml de GK y funciona durante 20 minutos a 37 °C. La cantidad de NADH formado se mide como un incremento en absorbancia a 340 nm usando un lector de microplaca. Los valores de absorbancia se usan para cálculos de CE₅₀.

El ejemplo 1 activó GK con una CE₅₀= 42 ± 42 nM (n = 5) a glucosa 10 mM. Está incrementada también la actividad enzimática en una manera dependiente de concentración a concentraciones más bajas de glucosa.

Ensayo de glucólisis

Las células de insulinoma INS-1E de rata se mantienen a 37 °C, CO₂ al 5 %, humedad al 95 % en medio 1640 suplementado con glucosa 11 mM, suero fetal bovino al 5 %, 2-mercaptoetanol 50 mM, piruvato 1 mM, HEPES 10 mM y antibióticos. Antes del ensayo, las células se tripsinizan, se sedimentan por centrifugación y se siembran en placas de ensayo de cultivo de tejidos de 96 pocillos a la densidad de 30.000 células/pocillo. Se deja a las células unirse e incubarse durante 48 horas a 37 °C, CO₂ al 5 %. En el día de ensayo, las células se lavan con y se incuban en 200 ml de Solución de Sal Equilibrada de Earle (EBSS) suplementada con

Seroalbúmina Bovina (BSA) al 0,1 %. Después de incubación de 30 minutos, el tampón se retira y se añaden a las células 100 µl de tampón EBSS conteniendo BSA al 0,1 %, glucosa 8 mM y el compuesto se añade a las células. Inmediatamente después, se añaden 20 µl de un Reactivo de Solución Acuosa de CellTiter 96® a las células y las células se incuban a 37 °C durante una hora adicional. Al final de la incubación se lee la absorbancia a 490 nm. Los valores de absorbancia se usan para cálculos de CE₅₀.

El ejemplo 1 estimula metabolismo de glucosa en células INSI-E de insulinoma de ratas (CE_{50} promedio = 579 ± 139 nM, $n = 4$).

Así, se muestra que los compuestos de la presente invención activan GK *in vitro*.

Prueba de tolerancia a glucosa oral (OGTT)

5 Ratas Wistar macho en un peso de 225-250 g, se mantienen en dieta regular y con ciclo de luz normal y condiciones normales. Para el estudio, las ratas se someten a ayuno durante toda una noche antes de que se midan sus pesos exactos y se distribuyen de forma aleatoria en grupos de pesos similares ($n = 4$ por grupo). Los compuestos se suspenden en una mezcla 1:1 de soluto/etanol en un sonicador de baño (10 % del volumen total). La suspensión obtenida se diluye después con 9 volúmenes de solución de soluto acuosa al 10 % y los compuestos se administran oralmente a 1, 3, 6, 10, 20 y 30 mg/kg oralmente. Se da a las ratas un bolo de glucosa oral de 2 g/kg 2 horas después de administración del compuesto. La sangre se recoge por medio de sangrado del rabo a 0, 15, 30, 60, 90 y 120 minutos tras la administración de glucosa. La sangre recogida se sitúa dentro de tubos de ácido etilendiaminetetraacético (EDTA) a volumen de 400 μ l por muestra y las muestras se mantienen en hielo. El plasma se aísla y almacena a -20 °C hasta que las muestras se analizan para glucosa y exposición al compuesto. El área bajo la curva de glucosa de plasma (AUC de glucosa) se calcula para cada grupo y la disminución en porcentaje en la AUC de glucosa frente al grupo control se usa como una medida de eficacia del compuesto disminuyendo glucosa en plasma.

El ejemplo 1 disminuye glucosa en plasma en una manera dosodependiente tanto en niveles de glucosa en ayuno como en niveles de glucosa postprandiales. Se observa una disminución máxima de AUC de glucosa frente al grupo control no tratado con la dosis alta (30 mg/kg) y representa un decrecimiento del 42 %. La interpolación de los datos mostró que tuvo lugar una disminución de AUC de glucosa del 20 % a una concentración de compuesto promedio de 99 ng/ml (179 nM) en plasma, correspondiente a dosis de compuesto de 6,9 mg/kg.

Así, se muestra que los compuestos de la presente invención activan GK *in vivo*.

Permeabilidad a barrera hematoencefálica

25 Una solución de compuesto de reserva se prepara en dimetilsulfóxido a 10 mM. Una solución de dosis se prepara después a 1 mM diluyendo 100 μ l de la reserva con 900 μ l de propilenglicol. La dosis se administra como un bolo intravenoso IV (2,2 ml/kg) por medio de la vena del rabo dentro de seis ratones CF-1 machos (aproximadamente 23 g) para una dosis objetivo de 2,17 μ moles/kg. Los ratones se someten a eutanasia usando tanto CO_2 como dislocación cervical. Se sacrifican tres ratones 5 minutos tras la dosis y tres ratones 60 minutos tras la dosis. La sangre se recoge de cada animal por medio de punción cardíaca y el plasma se prepara usando EDTA de sodio, se transfiere dentro de tubos de muestra de polipropileno e inmediatamente se congela usando hielo seco. Se recoge cerebro completo de cada animal y se biseca medialmente, transfiriéndose cada mitad dentro de tubos de muestra de polipropileno e inmediatamente se congelan usando hielo seco. Se preparan muestras de plasma para análisis por precipitación de proteína usando dos partes de disolvente de extracción (tetrahidrofurano al 10 % en acetonitrilo) para una parte de plasma y mezclando con un mezclador de vórtex. Para el tejido cerebral, se asume que 1 mg de tejido cerebral \approx 1 μ l de volumen y se añaden dos partes de disolvente de extracción a una parte de tejido. Las muestras se homogeneizan inmediatamente usando un desmembrador celular ultrasónico. Se preparan estándares de calibración añadiendo concentraciones conocidas de compuesto en plasma de ratón en blanco y después se tratan como muestras de plasma. Todas las muestras se centrifugan a 6000 RCF durante 5 minutos. Una alícuota de sobrenadante de cada muestra se transfiere a una placa de 96 pocillos de polipropileno y se sella para análisis por CL-EM/EM.

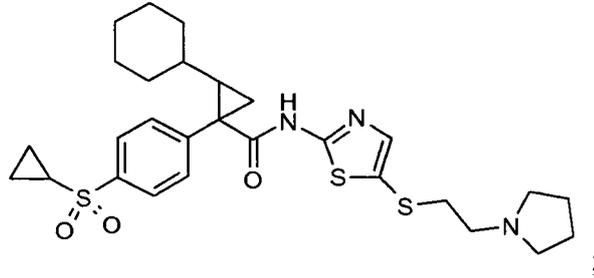
40 EM/EM se lleva a cabo usando un espectrómetro de masas cuadrupolar triple Sciex API 4000 equipado con una fuente de pulverización iónica turbo. La cromatografía líquida de alta resolución se lleva a cabo usando una columna analítica Phenomenex Hydro RP (100 x 2,0 mm, 4 μ) calentada a 50 °C y operada a una velocidad de flujo constante de 0,6 ml/minuto. Se usa un gradiente de fase móvil que consiste en una fase móvil inicial de formiato de amonio acuoso 5 mM:formiato de amonio en metanol 5 mM 60:40 con un tiempo de retención de 1 minuto seguido por un gradiente de 2 minutos a formiato de amonio acuoso 5 mM:formiato de amonio en metanol 5 mM 10:90 con un tiempo final de retención de 1 minuto. El efluente de columna se desvía a desechos a partir de 0-2,8 minutos y después se dirige dentro del espectrómetro de masas desde 2,8-4,0 minutos. Las transiciones de EM/EM monitorizadas son 560/84. La cuantificación de compuesto en las muestras de prueba se logra comparando los valores de área de picos a una ecuación cuadrática ponderada $1/x^2$ derivada de las concentraciones nominales de los estándares de calibración y sus áreas de pico respectivas. Los Límites Superior e Inferior de Cuantificación se determinan por recuperaciones obtenidas por cálculo regresivo de estándares de calibración que exceden ± 20 % de la teoría. Las concentraciones de tejidos cerebrales se corrigen por contribución de plasma usando un factor de la bibliografía de 16 μ l de plasma/gramos de cerebro de ratón.

55 La permeabilidad de la barrera hematoencefálica *in vivo* de Ejemplo 1 dio como resultado una proporción de cerebro/plasma promedio de 0,17 cinco minutos después de la dosis y un nivel cerebral total promedio de 0,539 nmol/g en ese momento.

Los compuestos de la presente invención han estado mostrando tener permeabilidad a barrera hematoencefálica limitada y así proporcionar potencial limitado para hipoglucemia grave.

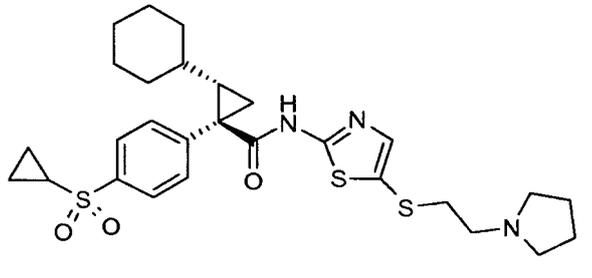
REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 de la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptables.

10 4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en terapia.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de diabetes.

15 6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en el tratamiento de diabetes tipo II.