



Brevetto europeo No. 2635588

Domanda di brevetto europeo No. 12798525.7

Data di deposito: 16 novembre 2012

Classificazione Internazionale: C07D491/052, A61K31/4188

5 Priorità: Statunitense No. 201161560654P del 16 novembre 2011

Titolo: "IMIDAZOLILIMIDAZOLI CONDENSATI COME COMPOSTI ANTIVIRALI"

Richiedente: Gilead Pharmasset LLC

333 Lakeside Drive

Foster City, CA 94404

10 U.S.A.

Inventori: BACON, Elizabeth, M.

COTTELL, Jeromy, J.

KATANA, Ashley, Anne

KATO, Darryl

15 KRYGOWSKI, Evan, S.

LINK, John, O.

TAYLOR, James

TRAN, Chinh Viet

TREJO MARTIN, Teresa, Alejandra

20 YANG, Zheng-Yu

ZIPFEL, Sheila

\*\*\*\*\*



Descrizione

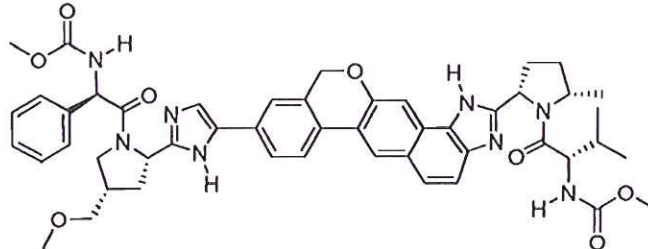
Sfondo

L'epatite C è riconosciuta come una malattia virale cronica del fegato che è caratterizzata da malattia epatica. Sebbene farmaci mirati al fegato siano di ampio uso ed abbiano mostrato efficacia, la tossicità ed altri effetti collaterali hanno limitato la loro utilità. Inibitori del virus dell'epatite C (HCV) sono utili per limitare la comparsa e la progressione dell'infezione da parte di HCV così come in saggi diagnostici per l'HCV.

Vi è la necessità di nuovi agenti terapeutici per l'HCV. In particolare, vi è la necessità di agenti terapeutici per l'HCV che abbiano ampia attività nei confronti di genotipi di HCV (per esempio i genotipi 1a, 1b, 2a, 3a, 4a). Vi è anche una necessità particolare di agenti che siano meno sensibili alla resistenza virale. Le mutazioni di resistenza ad inibitori sono state descritte per NS5A di HCV per i genotipi 1a e 1b in Antimicrobial Agents and Chemotherapy, settembre 2010, volume 54, p. 3641-3650.

RIASSUNTO

La presente invenzione fornisce un composto di formula (I):



o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

La presente invenzione fornisce inoltre una composizione farmaceutica comprendente il composto o un sale farmaceuticamente accettabile come descritto sopra ed almeno un veicolante farmaceuticamente accettabile.

In una forma di realizzazione, la composizione farmaceutica come descritta sopra comprende inoltre un inibitore nucleosidico o nucleotidico della polimerasi NS5B di HCV.



La presente invenzione fornisce inoltre un composto o un sale farmaceuticamente accettabile come descritti sopra per uso in un metodo di trattamento dell'epatite C.

In una forma di realizzazione, viene fornito il composto o un sale farmaceuticamente accettabile per l'uso descritto sopra, in combinazione con un inibitore nucleosidico o nucleotidico della polimerasi NS5B di HCV.

5 In una forma di realizzazione, la composizione comprende almeno un agente terapeutico supplementare per trattare l'HCV. In una forma di realizzazione, l'agente terapeutico viene scelto tra ribavirina, un inibitore della proteasi NS3, un inibitore nucleosidico o nucleotidico della polimerasi NS5B di HCV, un inibitore dell'alfa-glucosidasi 1, un epatoprotettore, un inibitore non nucleosidico di polimerasi dell'HCV, o loro combinazioni. In una forma di realizzazione, la composizione comprende inoltre un inibitore nucleosidico o nucleotidico della polimerasi NS5B di HCV. In una forma  
10 di realizzazione, l'inibitore nucleosidico o nucleotidico della polimerasi NS5B di HCV viene scelto tra ribavirina, viramidina, levovirina, un L-nucleoside, o isatoribina.

In una forma di realizzazione viene fornita una composizione farmaceutica comprendente un composto come qui descritto ed almeno un inibitore nucleosidico o nucleotidico della polimerasi NS5B di HCV, ed almeno un veicolante farmaceuticamente accettabile. In una forma di realizzazione, la composizione comprende inoltre un  
15 interferone, un interferone pegilato, ribavirina o loro combinazioni. In una forma di realizzazione, il composto è il composto esemplificato nell'Esempio PY. In una forma di realizzazione, l'inibitore nucleosidico o nucleotidico della polimerasi NS5B di HCV è sofosbuvir.

In una forma di realizzazione, la presente descrizione fornisce inoltre una composizione farmaceutica comprendente inoltre un interferone o un interferone pegilato.

20 In una forma di realizzazione, la presente descrizione fornisce inoltre una composizione farmaceutica comprendente inoltre un analogo nucleosidico.

In una forma di realizzazione, la presente descrizione fornisce inoltre una composizione farmaceutica in cui il suddetto analogo nucleosidico viene scelto tra ribavirina, viramidina, levovirina, un L-nucleoside, e isatoribina ed il suddetto interferone è interferone  $\alpha$  o interferone  $\alpha$  pegilato.



In una forma di realizzazione, la presente descrizione fornisce inoltre un composto della descrizione per uso in terapia medica (per esempio per uso nell'inibire l'attività di HCV o nel trattare una condizione associata all'attività di HCV).

5 Vengono qui descritti procedimenti di sintesi e nuovi intermedi che sono utili per preparare i composti della descrizione. Alcuni dei composti della descrizione sono utili per preparare altri composti della descrizione.

In un altro aspetto, la descrizione fornisce un composto della descrizione, o un suo sale farmaceuticamente accettabile, per uso nel trattamento profilattico o terapeutico dell'epatite C o di un disturbo associato all'epatite C.

È stato trovato che il composto di formula (I) possiede attività utile nei confronti dei genotipi 1 di HCV. Inoltre il composto di formula (I) ha una potenza significativa nei confronti di varianti resistenti in GT1.

10 Conseguentemente, il composto di formula (I) possiede proprietà farmacologiche vantaggiose che lo rendono ben adatto a soddisfare l'attuale bisogno di agenti per l'HCV con tali proprietà vantaggiose.

In una forma di realizzazione, la descrizione fornisce un composto avente proprietà inibitorie o farmacocinetiche migliorate, comprese attività aumentata contro lo sviluppo di resistenza virale, biodisponibilità orale migliorata, potenza superiore (per esempio nell'inibire l'attività di HCV) o emivita effettiva in vivo estesa. Il composto della descrizione può  
15 avere meno effetti collaterali, regimi di trattamento meno complicati, o può essere attivo per via orale.

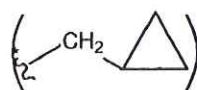
#### Descrizione dettagliata

Verrà ora fatto riferimento in dettaglio ad alcune forme di realizzazione della descrizione, esempi delle quali vengono illustrati nelle strutture e nelle formule di accompagnamento. Anche se la descrizione verrà descritta in  
20 combinazione con le forme di realizzazione elencate, sarà inteso che esse non sono intese limitare la descrizione a quelle forme di realizzazione. Al contrario, la descrizione è intesa coprire tutte le alternative, le modifiche e le forme equivalenti, che possono essere incluse nell'ambito della presente descrizione come definita dalle forme di realizzazione.

#### Composti

25 "Alchile" è un idrocarburo  $C_1-C_{18}$  contenente atomi di carbonio normali, secondari, terziari o ciclici. Esempi sono metile (Me,  $-CH_3$ ), etile (Et,  $-CH_2CH_3$ ), 1-propile (n-Pr, n-propile,  $-CH_2CH_2CH_3$ ), 2-propile (i-Pr, i-propile,  $-CH(CH_3)CH_2CH_3$ ), 1-butile (n-Bu, n-butile,  $-CH_2CH_2CH_2CH_3$ ), 2-metil-1-propile (i-Bu, i-butile,  $-CH_2CH(CH_3)CH_2CH_3$ ), 2-butile (s-

Bu, s-butile,  $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ , 2-metil-2-propile (t-Bu, t-butile,  $-\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1-pentile (n-pentile,  $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 2-pentile ( $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 3-pentile ( $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ ), 2-metil-2-butile ( $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 3-metil-2-butile ( $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 3-metil-1-butile ( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 2-metil-1-butile ( $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 1-esile ( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 2-esile ( $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 3-esile ( $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3)$ ), 2-metil-2-pentile ( $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 3-metil-2-pentile ( $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ ), 4-metil-2-pentile ( $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 3-metil-3-pentile ( $-\text{C}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$ ), 2-metil-3-pentile ( $-\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 2,3-dimetil-2-butile ( $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_3)_2$ ), 3,3-dimetil-2-butile ( $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), e ciclopropilmetile



10 “Alchenile” è idrocarburo  $\text{C}_2\text{-C}_{18}$  contenente atomi di carbonio normali, secondari, terziari o ciclici con almeno un sito di insaturazione, cioè un doppio legame carbonio-carbonio  $\text{sp}^2$ . Esempi includono, ma senza limitazione, etilene o vinile ( $-\text{CH}=\text{CH}_2$ ), allile ( $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ), ciclopentenile ( $-\text{C}_5\text{H}_7$ ) e 5-esenile ( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ).

15 “Alchinile” è un idrocarburo  $\text{C}_2\text{-C}_{18}$  contenente atomi di carbonio normali, secondari, terziari o ciclici con almeno un sito di insaturazione, cioè un triplo legame carbonio-carbonio  $\text{sp}$ . Esempi includono, ma senza limitazione, acetilenico ( $-\text{C}\equiv\text{CH}$ ) e propargile ( $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ).

20 “Alchilene” si riferisce ad un radicale idrocarburico saturo, a catena lineare o ramificata o ciclica di 1-18 atomi di carbonio ed avente due centri radicalici monovalenti derivati dalla rimozione di due atomi di idrogeno dallo stesso atomo di carbonio o da due atomi di carbonio differenti di un alcano progenitore. Tipici radicali alchilene includono, ma senza limitazione, metilene ( $-\text{CH}_2-$ ), 1,2-etile ( $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ), 1,3-propile ( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ), 1,4-butile ( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2-$ ) e simili.

“Alchenilene” si riferisce ad un radicale idrocarburico insaturo, a catena lineare o ramificata o ciclica di 2-18 atomi di carbonio ed avente due centri radicalici monovalenti derivati dalla rimozione di due atomi di idrogeno dallo



stesso atomo di carbonio o da due atomi di carbonio differenti di un alchene progenitore. Tipici radicali alchenilene includono, ma senza limitazione, 1,2-etilene ( $-\text{CH}=\text{CH}-$ ).

5 “Alchinilene” si riferisce ad un radicale idrocarburico insaturo, a catena lineare o ramificata o ciclica di 2-18 atomi di carbonio ed avente due centri radicalici monovalenti derivati dalla rimozione di due atomi di idrogeno dallo stesso atomo di carbonio o da due atomi di carbonio differenti di un alchino progenitore. Tipici radicali alchinilene includono, ma senza limitazione, acetilene ( $-\text{C}\equiv\text{C}-$ ), propargile ( $-\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{C}-$ ) e 4-pentinile ( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{C}\equiv\text{CH}$ ).

I termini “alcossi” o “alchilossi”, come utilizzati qui, si riferiscono ad un gruppo alchile attaccato al gruppo funzionale molecolare progenitore attraverso un atomo di ossigeno.

10 Il termine “alcossicarbonile”, come utilizzato qui, si riferisce ad un gruppo alcossi attaccato al gruppo funzionale molecolare progenitore attraverso un gruppo carbonile.

15 Il termine “cicloalchile”, come utilizzato qui, si riferisce ad un sistema idrocarburico ad anello monociclico saturo avente da tre a sette atomi di carbonio e zero eteroatomi. Esempi rappresentativi di gruppi cicloalchilici includono, ma senza limitazione, ciclopropile, ciclopentile e cicloesile. I gruppi cicloalchilici della presente descrizione sono facoltativamente sostituiti con uno, due, tre, quattro o cinque sostituenti scelti indipendentemente tra alcossi, alchile, arile, ciano, alo, aloalcossi, aloalchile, eterociclice, idrossi, idrossialchile, nitro e  $-\text{NR}^x\text{R}^y$ , in cui l’arile e l’eterociclice sono facoltativamente ulteriormente sostituiti con uno, due, o tre sostituenti scelti indipendentemente tra alcossi, alchile, ciano, alo, aloalcossi, aloalchile, idrossi e nitro.

Il termine “cicloalchilcarbonile”, come utilizzato qui, si riferisce ad un gruppo cicloalchile attaccato al gruppo funzionale molecolare progenitore attraverso un gruppo carbonile.

20 Il termine “cicloalchilossi”, come utilizzato qui, si riferisce ad un gruppo cicloalchile attaccato al gruppo funzionale molecolare progenitore attraverso un atomo di ossigeno.

Il termine “cicloalchilossicarbonile”, come utilizzato qui, si riferisce ad un gruppo cicloalchilossi attaccato al gruppo funzionale molecolare progenitore attraverso un gruppo carbonile.

25 “Arile” significa un radicale idrocarburico aromatico monovalente di 6-20 atomi di carbonio derivato dalla rimozione di un atomo di idrogeno da un singolo atomo di carbonio di un sistema ad anello aromatico progenitore. Tipici




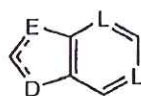
gruppi arile includono, ma senza limitazione, radicali derivati da benzene, benzene sostituito, naftalene, antracene, bifenile, e simili.

5 “Arilalchile” si riferisce ad un radicale alchile aciclico in cui uno degli atomi di idrogeno legati ad un atomo di carbonio, tipicamente un atomo di carbonio terminale o  $sp^3$ , viene sostituito con un radicale arile. Tipici gruppi arilalchile includono, ma senza limitazione, benzile, 2-feniletan-1-ile, naftilmetile, 2-naftiletan-1-ile, naftobenzile, 2-naftofeniletan-1-ile e simili. Il gruppo arilalchile comprende da 6 a 20 atomi di carbonio, per esempio il gruppo alchile, compresi i gruppi alcanile, alchenile o alchinile, del gruppo arilalchile è da 1 a 6 atomi di carbonio ed il gruppo arile è da 5 a 14 atomi di carbonio.

10 “Alchile sostituito”, “arile sostituito” e “arilalchile sostituito” significano rispettivamente alchile, arile ed arilalchile in cui uno o più atomi di idrogeno sono sostituiti ciascuno indipendentemente con un sostituito diverso da idrogeno. Tipici sostituenti includono, ma senza limitazione: alo (per esempio F, Cl, Br, I), -R, -OR, -SR, -NR<sup>2</sup>, -CF<sub>3</sub>, -CCl<sub>3</sub>, -OCF<sub>3</sub>, -CN, -NO<sub>2</sub>, -N(R)C(=O)R, -C(=O)R, -OC(=O)R, -C(O)OR, -C(=O)NRR, -S(=O)R, -S(=O)<sub>2</sub>OR, -S(=O)<sub>2</sub>R, -OS(=O)<sub>2</sub>OR, -S(=O)<sub>2</sub>NRR, e ciascun R è indipendentemente -H, alchile, arile, arilalchile, o eterociclo. Anche i gruppi alchilene, alchenilene ed alchinilene possono essere sostituiti in modo simile.

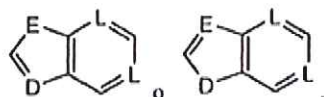
15 Il termine “facoltativamente sostituito” in riferimento ad un gruppo funzionale particolare del composto di formula I, (per esempio un gruppo arile facoltativamente sostituito) si riferisce ad un gruppo funzionale avente 0, 1, 2, o più sostituenti.

Il simbolo “” in una struttura ad anello significa che un legame è un legame singolo o doppio. In un esempio non limitante,



20

può essere



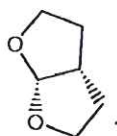
“Aloalchile” come utilizzato qui comprende un gruppo alchile sostituito con uno o più alogeni (per esempio F, Cl, Br, o I). Esempi rappresentativi di aloalchile includono trifluorometile, 2,2,2-trifluoroetile e 2,2,2-trifluoro-1-(trifluorometil)etile.

5 “Eterociclo” o “eterociclile” come utilizzati qui comprendono a titolo di esempio e non di limitazione gli eterocicli descritti in Paquette, Leo A.; Principles of Modern Heterocyclic Chemistry (W.A. Benjamin, New York, 1968), in particolare i capitoli 1, 3, 4, 6, 7 e 9; “The Chemistry of Heterocyclic Compounds, A Series of Monographs” (John Wiley & Sons, New York, dal 1950 al presente), in particolare i volumi 13, 14, 16, 19 e 28; e J. Am. Chem. Soc. (1960) 82:5566. In una forma di realizzazione specifica, “eterociclo” comprende un “carbociclo” come definito qui, in cui uno o  
10 più (per esempio 1, 2, 3 o 4) atomi di carbonio sono stati sostituiti con un eteroatomo (per esempio O, N o S). Il termine eterociclo comprende anche “eteroarile” che è un eterociclo in cui almeno un anello eterociclico è aromatico.

Esempi di eterocicli includono, a titolo di esempio e non di limitazione, piridile, diidropiridile, tetraidropiridile (piperidile), tiazolile, tetraidrotiofenile, tetraidrotiofenile ossidato sullo zolfo, pirimidinile, furanile, tienile, pirrolile, pirazolile, imidazolile, tetrazolile, benzofuranile, tianaftalenile, indolile, indolenile, chinolinile, isochinolinile,  
15 benzimidazolile, piperidinile, 4-piperidonile, pirrolidinile, 2-pirrolidonile, pirrolinile, tetraidrofuranile, tetraidrochinolinile, tetraidroisochinolinile, decaidrochinolinile, ottaidroisochinolinile, azocinile, triazinile, 6H-1,2,5-tiadiazinile, 2H,6H-1,5,2-ditiazinile, tienile, tiantrenile, piranile, isobenzofuranile, cromenile, xantenile, fenossatinile, 2H-pirrolile, isotiazolile, isossazolile, pirazinile, piridazinile, indolizinile, isoindolile, 3H-indolile, 1H-indazolile, purinile, 4H-chinolizinile, ftalazinile, naftiridinile, chinossalinile, chinazolinile, cinnolinile, pteridinile, 4H-carbazolile,  
20 carbazolile, β-carbolinile, fenantridinile, acridinile, pirimidinile, fenantrolinile, fenazinile, fenotiazinile, furazanile, fenossazinile, isocromanile, cromanile, imidazolidinile, imidazolinile, pirazolidinile, pirazolinile, piperazinile, indolinile,



isoindolinile, chinuclidinile, morfolinile, ossazolidinile, benzotriazolile, benzisossazolile, ossindolile, benzossazolinile, isatinoile e bis-tetraidrofuranile:



A titolo di esempio e non di limitazione, gli eterocicli legati attraverso carbonio sono legati nella posizione 2, 3, 4, 5 o 6 di una piridina, nella posizione 3, 4, 5 o 6 di una piridazina, nella posizione 2, 4, 5 o 6 di una pirimidina, nella posizione 2, 3, 5 o 6 di una pirazina, nella posizione 2, 3, 4 o 5 di un furano, di un tetraidrofurano, di un tiofurano, di un tiofene, di un pirrolo o di un tetraidropirrolo, nella posizione 2, 4, o 5 di un ossazolo, di un imidazolo o di un tiazolo, nella posizione 3, 4 o 5 di un isossazolo, di un pirazolo, o di un isotiazolo, nella posizione 2 o 3 di un'aziridina, nella posizione 2, 3 o 4 di un'azetidina, nella posizione 2, 3, 4, 5, 6, 7, o 8 di una chinolina o nella posizione 1, 3, 4, 5, 6, 7, o 8 di un'isochinolina. Ancor più tipicamente, gli eterocicli legati attraverso carbonio includono 2-piridile, 3-piridile, 4-piridile, 5-piridile, 6-piridile, 3-piridazinile, 4-piridazinile, 5-piridazinile, 6-piridazinile, 2-pirimidinile, 4-pirimidinile, 5-pirimidinile, 6-pirimidinile, 2-pirazinile, 3-pirazinile, 5-pirazinile, 6-pirazinile, 2-tiazolile, 4-tiazolile o 5-tiazolile.

A titolo di esempio e non di limitazione, gli eterocicli legati attraverso azoto sono legati nella posizione 1 di un'aziridina, di un'azetidina, di un pirrolo, di una pirrolidina, di una 2-pirrolina, di una 3-pirrolina, di un imidazolo, di un'imidazolidina, di una 2-imidazolina, di una 3-imidazolina, di un pirazolo, di una pirazolina, di una 2-pirazolina, di una 3-pirazolina, di una piperidina, di una piperazina, di un indolo, di un'indolina, di un 1H-indazolo, nella posizione 2 di un isoindolo, o di un'isoindolina, nella posizione 4 di una morfolina e nella posizione 9 di un carbazolo, o di una  $\beta$ -carbolina. Ancor più tipicamente, gli eterocicli legati attraverso azoto includono 1-aziridile, 1-azetedile, 1-pirrolile, 1-imidazolile, 1-pirazolile e 1-piperidinile.

“Carbociclo” si riferisce ad un anello saturo, insaturo o aromatico avente fino a circa 25 atomi di carbonio. Tipicamente, un carbociclo ha circa da 3 a 7 atomi di carbonio come monociclo, circa da 7 a 12 atomi di carbonio come biciclo e fino a circa 25 atomi di carbonio come policiclo. I carbocicli monociclici hanno tipicamente da 3 a 6 atomi anulari, ancor più tipicamente 5 o 6 atomi anulari. I carbocicli biciclici hanno tipicamente da 7 a 12 atomi anulari disposti,



per esempio, come sistema biciclico [4,5], [5,5], [5,6] o [6,6], o da 9 o 10 atomi anulari disposti come sistema biciclico [5,6] o [6,6]. Il termine carbociclo comprende "cicloalchile" che è un carbociclo saturo o insaturo. Esempi di carbocicli monociclici includono ciclopropile, ciclobutile, ciclopentile, 1-ciclopent-1-enile, 1-ciclopent-2-enile, 1-ciclopent-3-enile, cicloesile, 1-cicloes-1-enile, 1-cicloes-2-enile, 1-cicloes-3-enile, fenile, spirile e naftile.

5 Il termine "ammino", come utilizzato qui, si riferisce a  $-NH_2$ .

Il termine "chirale" si riferisce a molecole che hanno la proprietà di non sovrapponibilità al partner ad immagine speculare, mentre il termine "achirale" si riferisce a molecole che sono sovrapponibili al loro partner ad immagine speculare.

10 Il termine "stereoisomeri" si riferisce a composti che hanno composizione chimica identica, ma differiscono in relazione alla disposizione degli atomi o dei gruppi nello spazio.

"Diastereoisomero" si riferisce ad uno stereoisomero con due o più centri di chiralità e le cui molecole non sono immagini speculari l'una dell'altra. I diastereoisomeri hanno proprietà fisiche, per esempio punti di fusione, punti di ebollizione, proprietà spettrali e reattività, differenti. Le miscele di diastereoisomeri possono essere separate sotto procedure analitiche a risoluzione elevata quali elettroforesi e cromatografia.

15 "Enantiomeri" si riferisce a due stereoisomeri di un composto che sono immagini speculari non sovrapponibili l'una dell'altra.

I termini "trattamento" o "trattare", nella misura in cui riguardano una malattia o una condizione, comprendono prevenire che la malattia o la condizione insorgano, inibire la malattia o la condizione, eliminare la malattia o la condizione, e/o attenuare uno o più sintomi della malattia o della condizione.

20 Le definizioni stereochimiche e le convenzioni utilizzate qui seguono in generale McGraw-Hill Dictionary of Chemical Terms (1984), a cura di S. P. Parker, McGraw-Hill Book Company, New York; ed Eliel, E. e Wilen, S., Stereochemistry of Organic Compounds (1994) John Wiley & Sons, Inc., New York. Molti composti organici esistono in forme otticamente attive, cioè hanno la capacità di far ruotare il piano della luce polarizzata in un piano. Nel descrivere un composto otticamente attivo, i prefissi (D e L) o (R e S) vengono utilizzati per indicare la configurazione assoluta della  
25 molecola attorno al/i suo/suoi centro/i chirale/i. I prefissi d e l o (+) e (-) vengono impiegati per indicare il segno della



rotazione del piano della luce polarizzata da parte del composto, con (-) o l che significano che il composto è levogiro. Un composto con prefisso (+) o d è destrogiro. Per una data struttura chimica, questi stereoisomeri sono identici tranne per il fatto che essi sono immagini speculari l'uno dell'altro. Uno stereoisomero specifico può anche essere indicato come enantiomero, ed una miscela di tali isomeri è spesso chiamata miscela enantiomerica. Una miscela 50:50 di enantiomeri viene indicata come miscela racemica o come racemato, che può aver luogo dove non vi è stata alcuna stereoselezione o stereospecificità in una reazione chimica o in un procedimento chimico. I termini "miscela racemica" e "racemato" si riferiscono ad una miscela equimolare di due specie enantiomeriche, prive di attività ottica. La descrizione comprende tutti gli stereoisomeri dei composti qui descritti.

#### Profarmaci

Il termine "profarmaco" come utilizzato qui si riferisce a qualsiasi composto che, quando somministrato ad un sistema biologico, genera un composto della descrizione che inibisce l'attività di HCV ("il composto inibitorio attivo"). Il composto può essere formato dal profarmaco come risultano di: (i) reazione/i chimica/che spontanea/e, (ii) reazione/i chimica/che catalizzata/e da enzima, (iii) fotolisi, e/o (iv) reazione/i chimica/che metabolica/che.

"Gruppo funzionale profarmaco" si riferisce ad un gruppo funzionale labile che si separa dal composto inibitorio attivo durante il metabolismo, sistemicamente, dentro una cellula, mediante idrolisi, scissione enzimatica, o mediante qualche altro procedimento (Bundgaard, Hans, "Design and Application of Prodrugs" in un Textbook of Drug Design and Development (1991), a cura di P. Krosggaard-Larsen e H. Bundgaard, Harwood Academic Publishers, p. 113-191). Enzimi che sono in grado di avere un meccanismo di attivazione enzimatica con i composti profarmaci della descrizione includono, ma senza limitazione, amidasi, esterasi, enzimi microbici, fosfolipasi, cholineterasi e fosfasi. I gruppi funzionali profarmaci possono servire per aumentare la solubilità, l'assorbimento e la lipofilità per ottimizzare il rilascio, la biodisponibilità e l'efficacia del farmaco. Un gruppo funzionale profarmaco può includere un metabolita attivo o il farmaco stesso.

Tipici gruppi funzionali profarmaci includono gli esteri acilossimetilici sensibili o labili all'idrolisi -CH<sub>2</sub>OC(=O)R<sup>99</sup> ed i carbonati acilossimetilici -CH<sub>2</sub>OC(=O)OR<sup>99</sup> in cui R<sup>99</sup> è C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alchile, C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> alchile sostituito, C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub> arile o C<sub>6</sub>-C<sub>20</sub> arile sostituito. L'estere acilossialchilico è stato prima utilizzato come strategia di profarmaci per gli



acidi carbossilici e quindi applicato a fosfati e fosfonati da Farquhar et al. (1983) J. Pharm. Sci. 72:324; anche i Brevetti U.S. No. 4816570, 4968788, 5663159 e 5792756. Successivamente, l'estere acilossialchilico è stato utilizzato per rilasciare acidi fosfonici attraverso le membrane cellulari e per aumentare la biodisponibilità orale. Una variante simile dell'estere acilossialchilico, l'estere alcossicarbonilossialchilico (carbonato), può anch'essa aumentare la biodisponibilità orale come gruppo funzionale profarmaco nei composti delle combinazioni della descrizione. Un estere acilossimetilico esemplificativo è pivaloilossimetossi, (POM)-CH<sub>2</sub>OC(=O)C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>. Un gruppo funzionale profarmaco carbonato di acilossimetile esemplificativo è pivaloilossimetilcarbonato (POC)-CH<sub>2</sub>OC(=O)OC(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>.

Si riporta che esteri arilici di gruppi del fosforo, specialmente esteri fenilici, aumentano la biodisponibilità orale (De Lombaert et al. (1994) J. Med. Chem. 37:498). Sono stati descritti anche esteri fenilici contenenti un estere carbossilico in orto ad un fosfato (Khamnei e Torrence, (1996) J. Med. Chem. 39:4109-4115). Si riporta che esteri benzilici generano acidi fosfonici progenitori. In alcuni casi, sostituenti nella posizione orto o para possono accelerare l'idrolisi. Analoghi benzilici con un fenolo acilato o con un fenolo alchilato potrebbero generare il composto fenolico attraverso l'azione degli enzimi, per esempio esterasi, ossidasi, ecc., che a sua volta subisce scissione al legame C-O benzilico per generare acido fosforico ed un chinone metide intermedio. Esempi di questa classe di profarmaci vengono descritti da Mitchell et al. (1992) J. Chem. Soc. Perkin Trans. II 2345; Glazier WO 91/19721. Sono stati descritti ancora altri profarmaci benzilici contenenti un gruppo contenente un estere carbossilico attaccato al metilene benzilico (Glazier WO 91/19721). Si riporta che profarmaci contenenti tio siano utili per il rilascio intracellulare di farmaci fosfonati. Questi proesteri contengono un gruppo etilico in cui il gruppo tiolico è esterificato con un gruppo acile o combinato con un altro gruppo tiolico per formare un disolfuro. La deesterificazione o la riduzione del disolfuro generano l'intermedio tio libero che successivamente si scinde all'acido fosforico ed episolfuro (Puech et al. (1993) Antiviral Res., 22: 155-174; Benzaria et al. (1996) J. Med. Chem. 39: 4958).

#### Gruppi protettivi

Nel contesto della presente descrizione, gruppi protettivi includono gruppi funzionali profarmaci e gruppi protettivi chimici.



“Gruppo protettivo” si riferisce ad un gruppo funzionale di un composto che maschera o altera le proprietà di un gruppo funzionale o le proprietà del composto nel complesso. Gruppi chimici protettivi e strategie per la protezione/deprotezione sono ben noti nell’arte. Si veda, per esempio, Protective Groups in Organic Chemistry, Theodora W. Greene, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1991. Gruppi protettivi vengono spesso utilizzati per mascherare la reattività di certi gruppi funzionali, per facilitare l’efficienza di reazioni chimiche desiderate, per esempio formando e rompendo legami chimici in un modo ordinato e pianificato. La protezione di gruppi funzionali di un composto altera altre proprietà fisiche oltre alla reattività del gruppo funzionale protetto, quali la polarità, la lipofilità (idrofobicità) ed altre proprietà che possono essere misurate per mezzo di strumenti analitici comuni. Gli intermedi chimicamente protetti possono essi stessi essere biologicamente attivi o inattivi.

I composti protetti possono esibire anche proprietà alterate e, in alcuni casi, ottimizzate in vitro ed in vivo, quali il passaggio attraverso le membrane cellulari e la resistenza alla degradazione o al sequestro enzimatici. In questo ruolo, composti protetti con effetti terapeutici desiderati possono essere indicati come profarmaci. Un’altra funzione di un gruppo protettivo è convertire il farmaco progenitore in un profarmaco, per cui il farmaco progenitore viene rilasciato dopo la conversione del profarmaco in vivo. Poiché i profarmaci attivi possono essere assorbiti più efficacemente rispetto al farmaco progenitore, i profarmaci possono possedere una potenza in vivo superiore rispetto al farmaco progenitore. I gruppi protettivi vengono rimossi in vitro, nel caso di intermedi chimici, o in vivo, nel caso di profarmaci. Con gli intermedi chimici, non è particolarmente importante che i prodotti risultanti dopo la deprotezione, per esempio alcoli, siano fisiologicamente accettabili, sebbene sia generalmente più desiderabile che i prodotti siano farmacologicamente innocui.

I gruppi protettivi sono disponibili, comunemente noti ed utilizzati, e sono facoltativamente utilizzati per impedire reazioni secondarie con il gruppo protetto durante le procedure di sintesi, cioè le vie o i metodi per preparare i composti della descrizione. Per la maggior parte, la decisione riguardo a quali gruppi proteggere, quando farlo, e la natura del gruppo chimico protettivo “PG” sarà dipendente dalla chimica della reazione nei confronti della quale si protegge (per esempio condizioni acide, basiche, ossidative, riduttive o altre) e dalla direzione della sintesi desiderata. I PG non devono essere, ed in generale non sono, uguali se il composto viene sostituito con molteplici PG. In generale, un PG sarà utilizzato



per proteggere gruppi funzionali quali gruppi carbossile, idrossile, tio o ammino ed per impedire così reazioni secondarie o per facilitare diversamente l'efficienza sintetica. L'ordine di deprotezione per dare gruppi deprotetti liberi dipende dalla direzione della sintesi desiderata e dalle condizioni di reazione che si incontrano e può avvenire in qualsiasi ordine come determinato dal tecnico.

5 Vari gruppi funzionali dei composti della descrizione possono essere protetti. Per esempio, gruppi protettivi per gruppi -OH (se idrossile, acido carbossilico, acido fosfonico, o altre funzioni) includono "gruppi formanti eteri o esteri". I gruppi formanti eteri o esteri sono in grado di funzionare come gruppi protettivi chimici negli schemi di sintesi qui esposti. Tuttavia, alcuni gruppi protettivi per idrossile e tio non sono né gruppi formanti eteri né gruppi formanti esteri, come verrà inteso da parte di coloro che sono esperti nell'arte, e sono inclusi con le ammidi, discusse sotto.

10 Un numero molto elevato di gruppi protettivi per idrossile e di gruppi formanti ammidi e le reazioni chimiche di scissione corrispondenti vengono descritti in Protective Groups in Organic Synthesis, Theodora W. Greene (John Wiley & Sons, Inc., New York, 1991, ISBN 0-471-62301-6) ("Greene"). Si vedano anche Kocienski, Philip J.; Protecting Groups (editore Georg Thieme Stoccarda, New York, 1994). In particolare il capitolo 1, Protecting Groups: An Overview, pagine 1-20, il capitolo 2, Hydroxyl Protecting Groups, pagine 21-94, il capitolo 3, Diol Protecting Groups, pagine 95-  
15 117, il capitolo 4, Carboxyl Protecting Groups, pagine 118-154, il capitolo 5, Carbonyl Protecting Groups, pagine 155-184. Per gruppi protettivi per acido carbossilico, acido fosfonico, fosfonato, acido solfonico ed altri gruppi protettivi per acidi si veda Greene come esposto sotto.

A titolo di esempio e non di limitazione, le variabili qui descritte possono sostituenti ricorrenti in alcune forme di realizzazione. Tipicamente, ciascuno di questi può indipendentemente essere presente 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13,  
20 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3, 2, 1, o 0 volte in una data forma di realizzazione. Più tipicamente, ciascuno di questi può indipendentemente essere presente 12 volte o meno in una data forma di realizzazione. Tutte le volte che un composto qui descritto viene sostituito con più di uno dello stesso gruppo indicato, per esempio "R<sup>1</sup>" o "R<sup>3</sup>", allora sarà inteso che i gruppi possono essere uguali o diversi, cioè ciascun gruppo viene scelto indipendentemente. Linee ondulate indicano il sito degli attacchi di legami covalenti ai gruppi, ai gruppi funzionali, o agli atomi adiacenti.



In una forma di realizzazione della descrizione, il composto è in una forma isolata e purificata. Generalmente, il termine "isolato e purificato" significa che il composto è sostanzialmente privo di materiali biologici (per esempio sangue, tessuto, cellule, ecc.). In una forma di realizzazione specifica della descrizione, il termine significa che il composto o il coniugato della descrizione è privo per almeno circa il 50% in peso di materiali biologici; in un'altra forma di realizzazione specifica, il termine significa che il composto o il coniugato della descrizione è privo per almeno circa il 75% in peso di materiali biologici; in un'altra forma di realizzazione specifica, il termine significa che il composto o il coniugato della descrizione è privo per almeno circa il 90% in peso di materiali biologici; in un'altra forma di realizzazione specifica, il termine significa che il composto o il coniugato della descrizione è privo per almeno circa il 98% in peso di materiali biologici; e in un'altra forma di realizzazione, il termine significa che il composto o il coniugato della descrizione è privo per almeno circa il 99% in peso di materiali biologici. In un'altra forma di realizzazione specifica, la descrizione fornisce un composto o un coniugato della descrizione che è stato preparato sinteticamente (per esempio ex vivo).

#### Stereoisomeri

I composti della descrizione possono avere centri chirali, per esempio atomi di carbonio o di fosforo chirali. I composti della descrizione includono così miscele racemiche di tutti gli stereoisomeri, compresi enantiomeri, diastereoisomeri ed atropoisomeri. Inoltre, i composti della descrizione includono isomeri ottici arricchiti o risolti a tutti gli atomi asimmetrici chirali o a qualsiasi di essi. In altre parole, i centri chirali evidenti dalle rappresentazioni vengono forniti come isomeri chirali o miscele racemiche. Le miscele sia racemiche che diastereoisomeriche, così come i singoli isomeri ottici isolati o sintetizzati, sostanzialmente privi del loro partner enantiomerico o diastereoisomerico, sono tutti nell'ambito della descrizione. Le miscele racemiche vengono separate nei loro singoli isomeri sostanzialmente otticamente puri attraverso tecniche ben note quali, per esempio, la separazione di sali diastereoisomerici formati con ausiliari otticamente attivi, per esempio acidi o basi, seguita da una riconversione alle sostanze otticamente attive. Nella maggior parte degli esempi, l'isomero ottico desiderato viene sintetizzato per mezzo di reazioni stereospecifiche che iniziano con lo stereoisomero appropriato del materiale di partenza desiderato.



In certi casi, i composti della descrizione possono esistere anche come isomeri tautomerici. Sebbene possa essere descritto solo un tautomero, tali forme sono tutte contemplate nell'ambito della descrizione. Per esempio, possono esistere tautomeri enamminici per sistemi purinici, pirimidinici, imidazolici, guanidinici, ammidinici e tetrazolici e le loro possibili forme tautomeriche sono tutte nell'ambito della descrizione.

5            Sali e idrati

Esempi di sali fisiologicamente o farmaceuticamente accettabili dei composti della descrizione includono sali derivati da una base appropriata, quale un metallo alcalino (per esempio sodio), un metallo alcalino terroso (per esempio magnesio), ammonio e  $NX_4^+$  (in cui X è  $C_1$ - $C_4$  alchile). I sali fisiologicamente accettabili di un atomo di idrogeno o di un gruppo amminico includono sali di acidi carbossilici organici quali gli acidi acetico, benzoico, lattico, fumarico, tartarico, maleico, malonico, malico, isetionico, lattobionico e succinico; acidi solfonici organici, quali gli acidi metansolfonico, etansolfonico, benzensolfonico e p-toluensolfonico; ed acidi inorganici, quali gli acidi cloridrico, solforico, fosforico e sulfamico. Sali fisiologicamente accettabili di un composto di un gruppo idrossi includono l'anione del suddetto composto in combinazione con un catione adatto quale  $Na^+$  e  $NX_4^+$  (in cui X viene scelto indipendentemente tra H o un gruppo  $C_1$ - $C_4$  alchile).

15            Per uso terapeutico, i sali di principi attivi dei composti della descrizione saranno tipicamente fisiologicamente accettabili, cioè essi saranno sali derivati da un acido o da una base fisiologicamente accettabili. Tuttavia, anche sali di acidi o di basi che non sono fisiologicamente accettabili possono trovare uso, per esempio, nella preparazione o nella purificazione di un composto fisiologicamente accettabile. Tutti i sali, derivati o non derivati da un acido o da una base fisiologicamente accettabili, sono nell'ambito della presente descrizione.

20            I sali metallici tipicamente vengono preparati facendo reagire l'idrossido di un metallo con un composto di questa descrizione. Esempi di sali metallici che vengono preparati in questo modo sono sali contenenti  $Li^+$ ,  $Na^+$  e  $K^+$ . Un sale metallico meno solubile può essere fatto precipitare dalla soluzione di un sale più solubile mediante l'aggiunta del composto metallico adatto.

25            Inoltre, i sali possono essere preparati da aggiunta di acido di certi acidi organici ed inorganici, per esempio HCl, HBr,  $H_2SO_4$ ,  $H_3PO_4$  o acidi solfonici organici, a centri basici, tipicamente ammine, o a gruppi acidi. Infine, si deve



intendere che le composizioni qui comprendono composti della descrizione nella forma loro non ionizzata, così come zwitterionica, e combinazioni con quantità stechiometriche d'acqua come in idrati.

Sono inoltre inclusi nell'ambito di questa descrizione i sali dei composti progenitori con uno o più amminoacidi. Qualsiasi degli amminoacidi naturali o non naturali è adatto, specialmente gli amminoacidi presenti in natura che si trovano come componenti di proteine, sebbene l'amminoacido sia tipicamente uno recante una catena laterale con un gruppo basico o acido, per esempio lisina, arginina oppure acido glutammico, o un gruppo neutro quale glicina, serina, treonina, alanina, isoleucina o leucina.

#### Metodi di inibizione di HCV

Vengono qui descritti metodi per inibire l'attività di HCV comprendenti il passaggio di trattare un campione che si sospetta contenga HCV con un composto o con una composizione della descrizione.

I composti della descrizione possono agire come inibitori di HCV, come intermedi per tali inibitori oppure hanno altre utilità come descritto sotto. Gli inibitori generalmente si legheranno in posizioni sulla superficie o in una cavità del fegato. I composti che si legano nel fegato possono legarsi con vari gradi di reversibilità. Quei composti che si legano sostanzialmente irreversibilmente sono candidati ideali per uso in questo metodo della descrizione. Una volta marcati, i composti che si legano sostanzialmente irreversibilmente sono utili come sonde per il rilevamento dell'HCV. Conseguentemente, vengono qui descritti metodi per rilevare NS3 in un campione che si sospetta contenga HCV comprendente i passaggi di: trattare un campione che si sospetta contenga HCV con una composizione comprendente un composto della descrizione legato ad un marcatore; ed osservare l'effetto del campione sull'attività del tracciante. Marcatori adatti sono ben noti nel campo della diagnostica ed includono radicali liberi stabili, fluorofori, radioisotopi, enzimi, gruppi chemiluminescenti e cromogeni. I composti qui vengono marcati in modo convenzionale utilizzando gruppi funzionali quali idrossile o ammino. All'interno del contesto della descrizione, i campioni che si sospetta contengano HCV includono materiali naturali o prodotti dall'uomo quali organismi viventi; colture tissutali o cellulari; campioni biologici quali campioni di materiale biologico (sangue, siero, urina, fluido cerebrospinale, lacrime, espettorato, saliva, campioni di tessuto, e simili); campioni di laboratorio; campioni di alimenti, acqua, o aria; campioni di prodotti biologici quali estratti di cellule, in particolare cellule ricombinanti che sintetizzano una glicoproteina desiderata; e simili.



Tipicamente si sospetterà che il campione contenga HCV. I campioni possono essere contenuti in qualsiasi mezzo comprese acqua e miscele di solvente organico/acqua. I campioni includono organismi viventi quali l'uomo e materiali prodotti dall'uomo quali colture cellulari.

5 Il passaggio del trattamento della descrizione comprende l'aggiunta del composto della descrizione al campione oppure comprende l'aggiunta di un precursore della composizione al campione. Il passaggio di aggiunta comprende qualsiasi metodo di somministrazione come descritto sopra.

10 Se desiderato, l'attività di HCV dopo l'applicazione del composto può essere osservata mediante qualsiasi metodo, compresi metodi diretti ed indiretti di rilevamento dell'attività di HCV. Metodi quantitativi, qualitativi e semiquantitativi per determinare l'attività di HCV sono tutti contemplati. Tipicamente viene applicato uno dei metodi di analisi descritti sopra, tuttavia è inoltre applicabile qualsiasi altro metodo quale l'osservazione delle proprietà fisiologiche di un organismo vivente.

Molti organismi contengono HCV. I composti di questa descrizione sono utili nel trattamento o nella profilassi di condizioni associate all'attivazione di HCV in animali o nell'uomo.

15 Tuttavia, nello screening di composti in grado di inibire l'attività di HCV dovrebbe essere tenuto a mente che i risultati dei saggi enzimatici non possono sempre essere correlati ai saggi su colture cellulari. Così, un saggio basato su cellule dovrebbe tipicamente essere lo strumento di screening primario.

#### Formulazioni farmaceutiche

20 I composti di questa descrizione sono formulati con veicolanti ed eccipienti convenzionali, che verranno scelti secondo la pratica ordinaria. Le compresse conterranno eccipienti, glidanti, riempitivi, leganti e simili. Formulazioni acquose vengono preparate in forma sterile, e quando intese per il rilascio mediante somministrazione diversa dalla somministrazione orale, saranno generalmente isotoniche. Tutte le formulazioni conterranno facoltativamente eccipienti quali quelli esposti nell'Handbook of Pharmaceutical Excipients (1986). Eccipienti includono acido ascorbico ed altri antiossidanti, agenti chelanti quali EDTA, carboidrati quali destrina, idrossialchilcellulosa, idrossialchilmetilcellulosa, acido stearico e simili. Il pH delle formulazioni varia da circa 3 a circa 11, ma è di solito da circa 7 a 10. Tipicamente, il  
25 composto verrà somministrato in una dose da 0,01 milligrammi a 2 g. In una forma di realizzazione, la dose sarà da circa



10 mg a 450 milligrammi. In un'altra forma di realizzazione, il dosaggio sarà da circa 25 a circa 250 milligrammi. In un'altra forma di realizzazione, il dosaggio sarà circa 50 o 100 mg. In una forma di realizzazione, il dosaggio sarà di circa 100 mg. Viene contemplato che il composto può essere somministrato una volta, due volte o tre volte al giorno.

5 Anche se è possibile che i principi attivi vengano somministrati da soli, può essere preferibile presentarli come formulazioni farmaceutiche. Le formulazioni, per uso sia veterinario sia umano, della descrizione comprendono almeno un principio attivo, come descritto sopra, insieme ad uno o più veicolanti accettabili per questo e facoltativamente altri componenti terapeutici. Il/i veicolante/i deve/devono essere "accettabile/i" nel senso di essere compatibile/i con gli altri componenti della formulazione e fisiologicamente innocuo/i per il ricevente di questa.

10 Le formulazioni includono quelle adatte per le vie di somministrazione precedenti. Le formulazioni possono essere presentate convenientemente in forma di dosaggio unitario e possono essere preparate mediante qualsiasi metodo ben noto nell'arte farmaceutica. Le tecniche e le formulazioni in generale si trovano in Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania). Tali metodi includono il passaggio di mettere il principio attivo in associazione con il veicolante che costituisce uno o più componenti accessori. In generale le formulazioni vengono preparate mettendo in associazione uniformemente ed intimamente il principio attivo con veicolanti liquidi o con  
15 veicolanti solidi finemente suddivisi o con entrambi e quindi, se necessario, formando il prodotto.

Formulazioni della presente descrizione adatte per somministrazione orale possono essere presentate come unità separate quali capsule, cachet o compresse contenenti ciascuna una quantità predeterminata del principio attivo; come polvere o granuli; come soluzione o sospensione in un liquido acquoso o non acquoso; o come emulsione liquida olio in acqua o emulsione liquida acqua in olio. Il principio attivo può anche essere somministrato come bolo, elettuario o pasta.

20 Una compressa viene preparata mediante compressione o stampaggio, facoltativamente con uno o più componenti accessori. Le compresse prodotte per compressione possono essere preparate mediante compressione del principio attivo in una macchina adatta in una forma libera quale polvere o granuli, facoltativamente miscelata con un legante, un lubrificante, un diluente inerte, un conservante, un agente tensioattivo o un disperdente. Le compresse stampate possono essere prodotte in una macchina adatta stampando una miscela del principio attivo polverizzato



inumidito con un diluente liquido inerte. Le compresse possono facoltativamente essere rivestite o incise e facoltativamente vengono formulate in modo tale da fornire un rilascio lento o controllato del principio attivo da esse.

5 Per la somministrazione all'occhio o ad altri tessuti esterni, per esempio la bocca e la pelle, le formulazioni vengono preferibilmente applicate come unguento o crema topici contenenti il/i principio/i attivo/i in una quantità, per esempio, dallo 0,075% al 20% p/p (comprendente il/i principio/i attivo/i in un intervallo tra lo 0,1% ed il 20% in incrementi dello 0,1% p/p come lo 0,6% p/p, lo 0,7% p/p, ecc.), preferibilmente dallo 0,2% al 15% p/p ed il più preferibilmente dallo 0,5% al 10% p/p. Quando formulati in un unguento, i principi attivi possono essere impiegati con una base per unguento paraffinica o miscibile con l'acqua. In alternativa, i principi attivi possono essere formulati in una crema con una base per creme olio in acqua.

10 Se desiderato, la fase acquosa della base per creme può includere, per esempio, almeno il 30% p/p di un polialcol, cioè di un alcol avente due o più gruppi idrossile quali propilenglicole, butan-1,3-diolo, mannitolo, sorbitolo, glicerolo e polietilenglicole (compreso PEG 400) e loro miscele. Le formulazioni topiche possono includere in modo desiderabile un composto che aumenti l'assorbimento o la penetrazione del principio attivo attraverso la pelle o altre aree affette. Esempi di tali potenziatori della penetrazione dermica includono dimetilsolfossido ed analoghi correlati.

15 La fase oleosa delle emulsioni di questa descrizione può essere costituita da componenti noti in un modo noto. Anche se la fase può comprendere solamente un emulsionante (altrimenti noto come emulgente), essa comprende in modo desiderabile una miscela di almeno un emulsionante con un grasso o un olio o sia con un grasso che con un olio. Preferibilmente, un emulsionante idrofilico è incluso insieme ad un emulsionante lipofilico che agisce come stabilizzante. Si preferisce anche includere sia un olio che un grasso. Insieme, lo/gli emulsionante/i con o senza stabilizzante/i  
20 costituisce/ono la cosiddetta cera emulsionante, e la cera insieme all'olio ed al grasso costituiscono la cosiddetta base emulsionante per unguento che forma la fase oleosa dispersa delle formulazioni in crema.

Emulgenti e stabilizzanti le emulsioni adatti per l'uso nella formulazione della descrizione includono Tween® 60, Span® 80, alcol cetostearilico, alcol benzilico, alcol miristico, monostearato di glicerile e laurilsolfato di sodio.

25 La scelta di oli o di grassi adatti per la formulazione è basata sull'ottenimento delle proprietà cosmetiche desiderate. La crema dovrebbe preferibilmente essere un prodotto non oleoso, non colorante e lavabile con una



consistenza adeguata per evitare la fuoriuscita da tubi o da altri contenitori. Possono essere utilizzati esteri alchilici monobasici o dibasici a catena lineare o ramificata quali di-isoadipato, stearato di isocetile, diestere propilenglicolico di acidi grassi di noci di cocco, miristato di isopropile, oleato di decile, palmitato di isopropile, stearato di butile, palmitato di 2-etilesile o una miscela di esteri a catena ramificata nota come Crodamol CAP, essendo gli ultimi tre esteri preferiti.

5 Questi possono essere utilizzati da soli o in combinazione in relazione alle proprietà richieste. In alternativa, vengono utilizzati lipidi con punto di fusione elevato quali paraffina bianca molle e/o paraffina liquida o altri oli minerali.

Le formulazioni farmaceutiche secondo la presente descrizione comprendono uno o più composti della descrizione insieme ad uno o più veicolanti o eccipienti farmaceuticamente accettabili e facoltativamente altri agenti terapeutici. Formulazioni farmaceutiche contenenti il principio attivo possono essere in qualsiasi forma adatta per il

10 metodo di somministrazione inteso. Quando utilizzate per uso orale, possono essere preparate, per esempio, compresse, pastiglie, losanghe, sospensioni acquose oppure oleose, polveri o granuli disperdibili, emulsioni, capsule dure o molli, sciroppi o elisir. Composizioni intese per uso orale possono essere preparate secondo qualsiasi metodo noto nell'arte per la produzione di composizioni farmaceutiche e tali composizioni possono contenere uno o più agenti compresi agenti dolcificanti, agenti aromatizzanti, agenti coloranti ed agenti conservanti, allo scopo di fornire una preparazione gradevole

15 al palato. Sono accettabili compresse contenenti il principio attivo in miscela con eccipienti non tossici farmaceuticamente accettabili che sono adatti per la produzione di compresse. Questi eccipienti possono essere, per esempio, diluenti inerti quali carbonato di calcio o di sodio, lattosio, lattosio monoidrato, croscarmellosa sodica, povidone, fosfato di calcio o di sodio; agenti di granulazione e disintegranti quali amido di mais, oppure acido alginico; agenti leganti quali cellulosa, cellulosa microcristallina, amido, gelatina o gomma arabica; ed agenti lubrificanti quali stearato di magnesio, acido

20 stearico o talco. Le compresse possono essere non rivestite o possono essere rivestite mediante tecniche note compresa la microincapsulazione per ritardare la disintegrazione e l'adsorbimento nel tratto gastrointestinale e per fornire quindi un'azione prolungata per un periodo più lungo. Per esempio, può essere impiegato un materiale a rilascio ritardato quale monostearato di glicerile o distearato di glicerile, da solo o con una cera.

Formulazioni per uso orale possono essere presentate anche come capsule di gelatina dura in cui il principio

25 attivo viene miscelato con un diluente solido inerte, per esempio fosfato di calcio o caolino, o come capsule di gelatina



molle in cui il principio attivo viene miscelato con acqua o con un mezzo oleoso, quale olio di arachidi, paraffina liquida oppure olio d'oliva.

Le sospensioni acquose della descrizione contengono i materiali attivi in miscela con eccipienti adatti per la produzione di sospensioni acquose. Tali eccipienti includono un agente di sospensione, quale carbossimetilcellulosa sodica, metilcellulosa, idrossipropilmetilcellulosa, alginato di sodio, polivinilpirrolidone, gomma adragante e gomma arabica, ed agenti disperdenti o umettanti quali fosfatidi presenti in natura (per esempio lecitina), un prodotto di condensazione di un ossido di alchilene con un acido grasso (per esempio stearato di poliossietilene), un prodotto di condensazione dell'ossido di etilene con un alcol alifatico a catena lunga (per esempio eptadecaetilenossicetanololo), un prodotto di condensazione dell'ossido di etilene con un estere parziale derivato da un acido grasso ed un'anidride dell'esitolo (per esempio monooleato di poliossietilensorbitano). La sospensione acquosa può contenere anche uno o più conservanti quali p-idrossibenzoato di etile o di n-propile, uno o più agenti coloranti, uno o più agenti aromatizzanti ed uno o più agenti dolcificanti, quali saccarosio o saccarina.

Sospensioni oleose possono essere formulate sospendendo il principio attivo in un olio vegetale quale olio di arachidi, olio d'oliva, olio di sesamo oppure olio di noci di cocco, o in un olio minerale quale paraffina liquida. Le sospensioni orali possono contenere un agente addensante quale cera d'api, paraffina solida o alcol cetilico. Agenti dolcificanti, come quelli esposti sopra, ed agenti aromatizzanti possono essere aggiunti per fornire una preparazione orale gradevole al palato. Queste composizioni possono essere conservate mediante l'aggiunta di un antiossidante quale acido ascorbico.

Le polveri ed i granuli dispersibili della descrizione adatti per la preparazione di una sospensione acquosa mediante l'aggiunta di acqua forniscono il principio attivo in miscela con un agente disperdente o umidificante, un agente di sospensione, ed uno o più conservanti. Agenti disperdenti o umettanti ed agenti di sospensione adatti sono esemplificati da quelli descritti sopra. Possono anche essere presenti ulteriori eccipienti, per esempio agenti dolcificanti, aromatizzanti e coloranti.

Le composizioni farmaceutiche della descrizione possono anche essere in forma di emulsione olio in acqua. La fase oleosa può essere un olio vegetale quale olio d'oliva oppure olio di arachidi, un olio minerale quale paraffina liquida,



o una loro miscela. Agenti emulsionanti adatti includono gomme presenti in natura, quali gomma arabica e gomma adragante, fosfatidi presenti in natura, quali lecitina di soia, esteri oppure esteri parziali derivati da acidi grassi e da anidridi dell'esitolo, come monooleato di sorbitano e prodotti di condensazione di questi esteri parziali con ossido di etilene, quali monooleato di poliossietilensorbitano. L'emulsione può contenere anche agenti dolcificanti ed aromatizzanti. Possono essere formulati sciroppi ed elisir con agenti dolcificanti, quali glicerolo, sorbitolo o saccarosio. Tali formulazioni possono anche contenere un emolliente, un conservante, un agente aromatizzante o colorante.

Le composizioni farmaceutiche della descrizione possono essere in forma di preparazione sterile iniettabile, quale una sospensione oleosa o acquosa sterile iniettabile. Questa sospensione può essere formulata secondo l'arte nota utilizzando quegli agenti disperdenti o umettanti e quegli agenti di sospensione adatti che sono stati citati sopra. La preparazione sterile iniettabile può anche essere una soluzione o una sospensione sterile iniettabile in un diluente o in un solvente non tossici accettabili per via parenterale, quali una soluzione in 1,3-butandiolo, o preparata come polvere liofilizzata. Tra i veicoli ed i solventi accettabili che possono essere impiegati vi sono acqua, soluzione di Ringer e soluzione isotonica di cloruro di sodio. Inoltre, oli sterili non volatili possono convenzionalmente essere impiegati come solvente o come mezzo sospendente. A questo scopo può essere impiegato qualsiasi olio leggero non volatile compresi monogliceridi o digliceridi sintetici. Inoltre, nella preparazione di iniettabili possono essere utilizzati in modo analogo acidi grassi quali l'acido oleico.

La quantità di principio attivo che può essere combinata con il materiale veicolante per produrre una forma di dosaggio singola varierà in relazione all'ospite trattato e alla particolare modalità di somministrazione. Per esempio, una formulazione a rilascio programmato intesa per la somministrazione orale all'uomo può contenere approssimativamente da 1 a 1000 mg di principio attivo mescolati con una quantità appropriata e conveniente di materiale veicolante che può variare da circa il 5% a circa il 95% delle composizioni totali (peso:peso). La composizione farmaceutica può essere preparata a dare quantità facilmente misurabili per la somministrazione. Per esempio, una soluzione acquosa intesa per infusione endovenosa può contenere da circa 3 a 500 µg del principio attivo per millilitro di soluzione in modo che si possa ottenere un'infusione di un volume adatto ad una velocità di circa 30 ml/h.



Formulazioni adatte per somministrazione all'occhio includono colliri in cui il principio attivo viene disciolto o sospeso in un veicolante adatto, specialmente un solvente acquoso per il principio attivo. In tali formulazioni, il principio attivo è presente preferibilmente ad una concentrazione dallo 0,5% al 20%, vantaggiosamente dallo 0,5% al 10% particolarmente circa dell'1,5% p/p.

5 Formulazioni adatte per somministrazione topica nella bocca includono losanghe comprendenti il principio attivo in una base aromatizzata, solitamente saccarosio e gomma arabica o gomma adragante; pastiglie comprendenti il principio attivo in una base inerte quale gelatina e glicerina, o saccarosio e gomma arabica; e collutori comprendenti il principio attivo in un veicolante liquido adatto.

10 Formulazioni per la somministrazione rettale possono essere presentate come supposta con una base adatta comprendente per esempio burro di cacao o un salicilato.

15 Formulazioni adatte per somministrazione intrapolmonare o nasale hanno una granulometria, per esempio, nell'intervallo da 0,1 a 500 micron (comprese granulometrie in un intervallo tra 0,1 e 500 micron in incrementi in micron quali 0,5, 1, 30 micron, 35 micron, ecc.), che vengono somministrate mediante inalazione rapida attraverso il dotto nasale o mediante inalazione attraverso la bocca in modo tale da raggiungere i sacchi alveolari. Formulazioni adatte includono soluzioni acquose oppure oleose del principio attivo. Formulazioni adatte per somministrazione come aerosol o polvere anidra possono essere preparate secondo metodi convenzionali e possono essere rilasciate con altri agenti terapeutici quali composti utilizzati prima d'ora nel trattamento o nella profilassi di condizioni associate all'attività di HCV.

20 Formulazioni adatte per somministrazione vaginale possono essere presentate come candele vaginali, tamponi, creme, gel, paste, schiume o formulazioni a spruzzo contenenti, oltre al principio attivo, veicolanti che è noto nell'arte che siano appropriati.

Formulazioni adatte per somministrazione parenterale includono soluzioni sterili per iniezione acquose e non acquose che possono contenere antiossidanti, tamponi, batteriostatici e soluti che rendono la formulazione isotonica con il sangue del ricevente desiderato; e sospensioni sterili acquose e non acquose che possono includere agenti di sospensione ed agenti addensanti.



Le formulazioni vengono presentate in contenitori a dose unitaria o a multidose, per esempio fiale e fiale sigillate, e possono essere conservate in una condizione crioessiccata (liofilizzata) richiedendo solo l'aggiunta del veicolante liquido sterile, per esempio acqua per iniezioni, immediatamente prima dell'uso. Soluzioni e sospensioni per iniezione estemporanea vengono preparate da polveri, granuli e compresse sterili del tipo descritto precedentemente. Formulazioni a dosaggio unitario preferite sono quelle contenenti una dose giornaliera o una sottodose unitaria giornaliera, come elencate qui sopra, o una sua frazione appropriata, del principio attivo.

Dovrebbe essere inteso che, oltre ai componenti citati sopra in particolare, le formulazioni di questa descrizione possono includere altri agenti convenzionali nell'arte che tengono conto del tipo di formulazione in questione, per esempio quelle adatte per somministrazione orale possono includere agenti aromatizzanti.

La descrizione fornisce inoltre composizioni veterinarie comprendenti almeno un principio attivo come descritto sopra insieme ad un veicolante veterinario per questo.

Veicolanti veterinari sono materiali utili allo scopo di somministrare la composizione e possono essere materiali solidi, liquidi o gassosi che sono altrimenti inerti o accettabili nell'arte veterinaria e sono compatibili con il principio attivo. Queste composizioni veterinarie possono essere somministrate per via orale, per via parenterale o mediante qualsiasi altra via desiderata.

I composti della descrizione possono anche essere formulati per dare un rilascio controllato del principio attivo per permettere un dosaggio meno frequente o per migliorare il profilo farmacocinetico o di tossicità del principio attivo. Conseguentemente, la descrizione fornisce anche composizioni comprendenti uno o più composti della descrizione formulate per un rilascio prolungato o controllato.

La dose efficace di principio attivo dipende almeno dalla natura della condizione che viene trattata, dalla tossicità, da se il composto viene utilizzato profilatticamente (dosi inferiori), dal metodo di rilascio e dalla formulazione farmaceutica, e sarà determinato dal medico utilizzando studi convenzionali di incremento della dose.

#### Vie di somministrazione

Uno o più composti della descrizione (qui indicati come principi attivi) vengono somministrati mediante qualsiasi via appropriata alla condizione da trattare. Vie adatte includono orale, rettale, nasale, topica (compresse buccale



e sublinguale), vaginale e parenterale (comprese sottocutanea, intramuscolare, endovenosa, intradermica, intratecale ed epidurale) e simili. Sarà apprezzato che la via preferita può variare, per esempio, con la condizione del ricevente. Un vantaggio dei composti di questa descrizione è che essi sono biodisponibili per via orale e possono essere somministrati per via orale.

5           Terapia di combinazione per HCV

In un'altra forma di realizzazione, esempi non limitanti di combinazioni adatte includono combinazioni del composto di formula (I) con uno o più interferoni, ribavirina o suoi analoghi, inibitori della proteasi NS3 di HCV, inibitori dell'alfa-glucosidasi 1, epatoprotettori, inibitori nucleosidici o nucleotidici della polimerasi NS5B di HCV, inibitori non nucleosidici della polimerasi NS5B di HCV, inibitori dell'NS5A di HCV, agonisti del TLR-7, inibitori della ciclofillina, 10 inibitori dell'IRES di HCV, potenziatori farmacocinetici, ed altri farmaci oppure agenti terapeutici per il trattamento dell'HCV.

Più specificamente, i composti come qui descritti possono essere combinati con uno o più composti scelti nel gruppo composto da:

15           1) interferoni, per esempio rIFN-alfa 2b pegilato (PEG-Intron), rIFN-alfa 2a pegilato (Pegasys), rIFN-alfa 2b (Intron A), rIFN-alfa 2a (Roferon-A), interferone alfa (MOR-22, OPC-18, Alfaferone, Alfaferone, Multiferon, Subalin), interferone alfacon-1 (Infergen), interferone alfa-n1 (Wellferon), interferone alfa-n3 (Alferon), interferone beta (Avonex, DL-8234), interferone omega (omega DUROS, Biomed 510), albinterferone alfa-2b (Albuferon), IFN-alfa-2b XL, BLX-883 (Locteron), DA-3021, interferone alfa-2b glicosilato (AVI-005), PEG-Infergen, interferone lambda pegilato-1 (IL-29 pegilato) e Belerofon;

20           2) ribavirina e suoi analoghi, per esempio ribavirina (Rebetol, Copegus) e taribavirina (viramidina);

3) inibitori della proteasi NS3 di HCV, per esempio boceprevir (SCH-503034, SCH-7), telaprevir (VX-950), TMC435350, BI-1335, BI-1230, MK-7009, VBY-376, VX-500, GS-9256, GS-9451, BMS-605339, PHX-1766, AS-101, YH-5258, YH-5530, YH-5531, ABT-450, ACH-1625, ITMN-191, MK5172, MK6325 e MK2748;

4) inibitori dell'alfa-glucosidasi 1, per esempio celgosivir (MX-3253), miglitolo e UT-231B;

25           5) epatoprotettori, per esempio emricasan (IDN-6556), ME-3738, GS-9450 (LB-84451), silibinina e MitoQ;



6) inibitori nucleosidici o nucleotidici della polimerasi NS5B di HCV, per esempio R1626, R7128 (R4048), IDX184, IDX-102, BCX-4678, valopicitabina (NM-283), MK-0608, sofosbuvir (GS-7977 (in passato PSI-7977)) e INX-189 (ora BMS986094);

5 7) inibitori non nucleosidici della polimerasi NS5B di HCV, per esempio PF-868554, VCH-759, VCH-916, JTK-652, MK-3281, GS-9190, VBY-708, VCH-222, A848837, ANA-598, GL60667, GL59728, A-63890, A-48773, A-48547, BC-2329, VCH-796 (nesbuvir), GSK625433, BILN-1941, XTL-2125, ABT-072, ABT-333, GS-9669, PSI-7792 e GS-9190;

8) inibitori dell'NS5A di HCV, per esempio AZD-2836 (A-831), BMS-790052, ACH-3102, ACH-2928, MK8325, MK4882, MK8742, PSI-461, IDX719 e A-689;

10 9) agonisti del TLR-7, per esempio imiquimod, 852A, GS-9524, ANA-773, ANA-975, AZD-8848 (DSP-3025) e SM-360320;

10) inibitori della ciclofillina, per esempio DEBIO-025, SCY-635 e NIM811;

11) inibitori dell'IRES di HCV, per esempio MCI-067;

15 12) potenziatori farmacocinetici, per esempio BAS-100, SPI-452, PF-4194477, TMC-41629, GS-9350, GS-9585 e roxitromicina; e

20 13) altri farmaci per il trattamento dell'HCV, per esempio timosina alfa-1 (Zadaxin), nitazoxanide (Alinea, NTZ), BIVN-401 (Virostat), PYN-17 (Altirex), KPE02003002, Actilon (CPG-10101), GS-9525, KRN-7000, Civacir, GI-5005, XTL-6865, BIT225, PTX-111, ITX2865, TT-033i, ANA 971, NOV-205, Tarvacin, EHC-18, VGX-410C, EMZ-702, AVI 4065, BMS-650032, BMS-791325, bavituximab, MDX-1106 (ONO-4538), oglufanide e VX-497 (merimepodib).

Più specificamente, uno o più composti come qui descritti possono essere combinati con uno o più composti scelti nel gruppo composto da inibitori non nucleosidici della polimerasi NS5B di HCV (ABT-072 e ABT-333), inibitori dell'NS5A di HCV (ACH-3102 e ACH-2928) ed inibitori della proteasi NS3 di HCV (ABT-450 e ACH-1625).

25 In ancora un'altra forma di realizzazione, la presente domanda descrive composizioni farmaceutiche comprendenti un composto come qui descritto, o un suo sale farmaceuticamente accettabile, un suo solvato e/o estere, in



combinazione con almeno un agente terapeutico supplementare, ed un veicolante o un eccipiente farmaceuticamente accettabili.

5 Secondo una forma di realizzazione, l'agente terapeutico utilizzato in combinazione con il composto come qui descritto può essere qualsiasi agente avente un effetto terapeutico quando utilizzato in combinazione con il composto come qui descritto. Per esempio, l'agente terapeutico utilizzato in combinazione con il composto può essere interferoni, analoghi della ribavirina, inibitori della proteasi NS3, inibitori della polimerasi NS5B, inibitori dell'alfa-glucosidasi I, epatoprotettori, inibitori non nucleosidici di HCV ed altri farmaci per il trattamento dell'HCV.

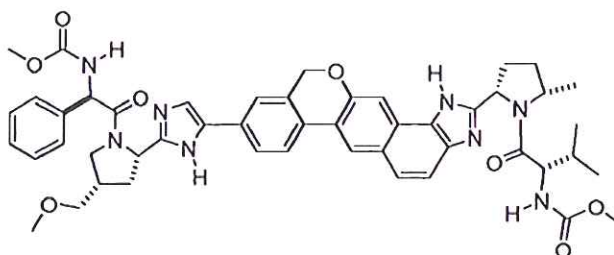
10 In un'altra forma di realizzazione, la presente domanda fornisce composizioni farmaceutiche comprendenti un composto di formula (I), o un suo sale farmaceuticamente accettabile, un suo solvato e/o estere, in combinazione con almeno un agente terapeutico supplementare scelto nel gruppo composto da rIFN-alfa 2b pegilato, rIFN-alfa 2a pegilato, rIFN-alfa 2b, IFN-alfa-2b XL, rIFN-alfa 2a, IFN-alfa consenso, Infergen, Rebif, Locteron, AVI-005, PEG-Infergen, IFN-beta pegilato, interferone alfa orale, Feron, Reaferon, Intermax alfa, rIFN-beta, Infergen + Actimmune, IFN-omega con DUROS, Albuferon, Rebetol, Copegus, levovirina, VX-497, viramidina (taribavirina), A-831, A-689, NM-283, valopicitabina, R1626, PSI-6130 (R1656), HCV-796, BILB 1941, MK-0608, NM-107, R7128, VCH-759, PF-868554, 15 GSK625433, XTL-2125, SCH-503034 (SCH-7), VX-950 (telaprevir), ITMN-191 e BILN-2065, MX-3253 (celgosivir), UT-231B, IDN-6556, ME 3738, MitoQ e LB-84451, derivati benzimidazolici, derivati benzo-1,2,4-tiadiazinici e derivati della fenilalanina, Zadaxin, nitazoxanide (Alinea), BIVN-401 (Virostat), DEBIO-025, VGX-410C, EMZ-702, AVI 4065, bavituximab, oglufanide, PYN-17, KPE02003002, Actilon (CPG-10101), KRN-7000, Civacir, GI-5005, ANA-975 (isatoribina), XTL-6865, ANA 971, NOV-205, Tarvacin, EHC-18 e NIM811 ed un veicolante o un eccipiente 20 farmaceuticamente accettabili.

In ancora un'altra forma di realizzazione, la presente domanda fornisce un agente farmaceutico di combinazione comprendente:

a) una prima composizione farmaceutica comprendente un composto di formula (I) o un suo sale farmaceuticamente accettabile; e

b) una seconda composizione farmaceutica comprendente almeno un agente terapeutico supplementare scelto nel gruppo composto da composti inibenti proteasi di HIV, inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa di HIV, inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa di HIV, inibitori nucleotidici della trascrittasi inversa di HIV, inibitori di integrasi di HIV, inibitori di gp41, inibitori di CXCR-4, inibitori di gp120, inibitori di CCR-5, interferoni, analoghi della ribavirina, inibitori della proteasi NS3, inibitori dell'alfa-glucosidasi 1, epatoprotettori, inibitori non nucleosidici di HCV ed altri farmaci per il trattamento dell'HCV, e loro combinazioni.

In un'altra forma di realizzazione, viene fornita una composizione farmaceutica comprendente un composto di formula (I) come qui descritto ed un inibitore nucleosidico o nucleotidico della polimerasi NS5B di HCV e facoltativamente un interferone o ribavirina. In una forma di realizzazione, il composto è {(2S)-1-[(2S,5S)-2-(9-{2-[(2S,4S)-1-{(2R)-2-[(metossicarbonil)ammino]-2-fenilacetil}-4-(metossimetil)pirrolidin-2-il]-1H-imidazol-5-il}-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-2-il)-5-metilpirrolidin-1-il]-3-metil-1-ossobutan-2-il} carbammato di metile avente la formula:



e l'inibitore è sofosbuvir.

Combinazioni del composto di formula (I) ed ulteriori principi attivi terapeutici possono essere scelti per trattare pazienti infettati con HCV ed altre condizioni quali le infezioni da HIV. Conseguentemente, il composto di formula (I) può essere combinato con uno o più composti utili nel trattamento dell'HIV, per esempio composti inibenti le proteasi di HIV, inibitori non nucleosidici della trascrittasi inversa di HIV, inibitori nucleosidici della trascrittasi inversa di HIV, inibitori nucleotidici della trascrittasi inversa di HIV, inibitori di integrasi di HIV, inibitori di gp41, inibitori di CXCR-4, inibitori di gp120, inibitori di CCR-5, interferoni, analoghi della ribavirina, inibitori della proteasi NS3, inibitori della



polimerasi NS5B, inibitori dell'alfa-glucosidasi 1, epatoprotettori, inibitori non nucleosidici di HCV, ed altri farmaci per il trattamento dell'HCV.

Più specificamente, il composto di formula (I) può essere combinato con uno o più composti scelti nel gruppo composto da 1) inibitori della proteasi di HIV, per esempio amprenavir, atazanavir, fosamprenavir, indinavir, lopinavir, 5 ritonavir, lopinavir + ritonavir, nelfinavir, saquinavir, tipranavir, brecanavir, darunavir, TMC-126, TMC-114, mozenavir (DMP-450), JE-2147 (AG1776), AG1859, DG35, L-756423, RO0334649, KNI-272, DPC-681, DPC-684 e GW640385X, DG17, PPL-100, 2) un inibitore non nucleosidico della trascrittasi inversa di HIV, per esempio capravirina, emivirina, delaviridina, efavirenz, nevirapina, (+)-calanolide A, etravirina, GW5634, DPC-083, DPC-961, DPC-963, MIV-150 e TMC-120, TMC-278 (rilpivirina), efavirenz, BILR 355 BS, VRX 840773, UK-453,061, RDEA806, 3) un inibitore 10 nucleosidico della trascrittasi inversa di HIV, per esempio zidovudina, emtricitabina, didanosina, stavudina, zalcitabina, lamivudina, abacavir, amdoxovir, elvucitabina, alovudina, MIV-210, racivir ( $\pm$ -FTC), D-d4FC, emtricitabina, fosfazide, fozivudina tidoxil, fosalvudina tidoxil, apricitibina (AVX754), amdoxovir, KP-1461, abacavir + lamivudina, abacavir + lamivudina + zidovudina, zidovudina + lamivudina, 4) un inibitore nucleotidico della trascrittasi inversa di HIV, per esempio tenofovir, fumarato di tenofovir disoproxil + emtricitabina, fumarato di tenofovir disoproxil + emtricitabina + 15 efavirenz ed adefovir, 5) un inibitore dell'integrasi di HIV, per esempio curcumina, derivati della curcumina, acido cicorico, derivati dell'acido cicorico, acido 3,5-dicaffeoilchinico, derivati dell'acido 3,5-dicaffeoilchinico, acido aurintricarbossilico, derivati dell'acido aurintricarbossilico, estere fenilico dell'acido caffeico, derivati dell'estere fenilico dell'acido caffeico, tirfostina, derivati della tirfostina, quercetina, derivati della quercetina, S-1360, zintevir (AR-177), L-870812 e L-870810, MK-0518 (raltegravir), BMS-707035, MK-2048, BA-011, BMS-538158, 20 GSK364735C, 6) un inibitore di gp41, per esempio enfuvirtide, sifuvirtide, FB006M, TRI-1144, SPC3, DES6, Locus gp41, CovX e REP 9, 7) un inibitore di CXCR-4, per esempio AMD-070, 8) un inibitore dell'ingresso, per esempio SP01A, TNX-355, 9) un inibitore di gp120, per esempio BMS-488043 e BlockAide/CR, 10) un inibitore della G6PD e dell'NADH-ossidasi, per esempio Immunitin, 10) un inibitore di CCR-5, per esempio aplaviroc, vicriviroc, INCB9471, PRO-140, INCB15050, PF-232798, CCR5mAb004 e maraviroc, 11) un interferone, per esempio rIFN-alfa 2b pegilato, 25 rIFN-alfa 2a pegilato, rIFN-alfa 2b, IFN-alfa-2b XL, rIFN-alfa 2a, IFN-alfa consenso, Infergen, Rebif, Locteron, AVI-



005, PEG-Infergen, IFN-beta pegilato, interferone alfa orale, Feron, Reaferon, Intermax alfa, rIFN-beta, Infergen + Actimmune, IFN-omega con DUROS ed Albuferon, 12) analoghi della ribavirina, per esempio Rebetol, Copegus, levovirina, VX-497 e viramidina (taribavirina) 13) inibitori di NS5a, per esempio A-831, A-689 e BMS-790052, 14) inibitori della polimerasi NS5B, per esempio NM-283, valopicitabina, R1626, PSI-6130 (R1656), HCV-796, BILB 1941, 5 MK-0608, NM-107, R7128, VCH-759, PF-868554, GSK625433 e XTL-2125, 15) inibitori della proteasi NS3, per esempio SCH-503034 (SCH-7), VX-950 (telaprevir), ITMN-191 e BILN-2065, 16) inibitori dell'alfa-glucosidasi 1, per esempio MX-3253 (celgosivir) e UT-231B, 17) epatoprotettori, per esempio IDN-6556, ME 3738, MitoQ e LB-84451, 18) inibitori non nucleosidici di HCV, per esempio derivati benzimidazolici, derivati benzo-1,2,4-tiadiazinici e derivati della fenilalanina, 19) altri farmaci per il trattamento dell'epatite C, per esempio Zadaxin, nitazoxanide (Alinea), BIVN- 10 401 (Virostat), DEBIO-025, VGX-410C, EMZ-702, AVI 4065, bavituximab, oglufanide, PYN-17, KPE02003002, Actilon (CPG-10101), KRN-7000, Civacir, GI-5005, ANA-975 (isatoribina), XTL-6865, ANA 971, NOV-205, Tarvacin, EHC-18 e NIM811, 19) potenziatori farmacocinetici, per esempio BAS-100 e SPI452, 20) inibitori della RNasi H, per esempio ODN-93 e ODN-112, 21) altri agenti anti-HIV, per esempio VGV-1, PA-457 (bevirimat), Ampligen, HRG214, Cytolin, Polymun, VGX-410, KD247, AMZ 0026, CYT 99007, A-221 HIV, BAY 50-4798, MDX010 (iplimumab), 15 PBS119, ALG889 e PA-1050040.

Viene contemplato che il secondo agente terapeutico verrà somministrato in un modo che è noto nell'arte ed il dosaggio può essere scelto da parte di un esperto nell'arte. Per esempio, il secondo agente può essere somministrato in una dose da circa 0,01 milligrammi a circa 2 g al giorno.

#### Metaboliti dei composti

20 Rientrano nell'ambito di questa descrizione anche i prodotti metabolici in vivo dei composti qui descritti. Tali prodotti possono risultare, per esempio, dall'ossidazione, dalla riduzione, dall'idrolisi, dall'ammidazione, dall'esterificazione e simili del composto somministrato, principalmente a causa di processi enzimatici. Conseguentemente, la descrizione comprende composti prodotti da un procedimento comprendente il mettere a contatto un composto di questa descrizione con un mammifero per un periodo di tempo sufficiente a dare un suo prodotto 25 metabolico. Tali prodotti vengono tipicamente identificati preparando un composto della descrizione radiomarcato (per



esempio C<sup>14</sup> o H<sup>3</sup>), somministrandolo per via parenterale in una dose rilevabile (per esempio superiore a circa 0,5 mg/kg) ad un animale quale ratto, topo, cavia, scimmia, o all'uomo, concedendo un tempo sufficiente perché avvenga il metabolismo (tipicamente da circa 30 secondi a 30 ore) ed isolando i suoi prodotti di conversione dall'urina, dal sangue o da altri campioni biologici. Questi prodotti vengono isolati facilmente poiché essi sono marcati (altri sono isolati mediante l'uso di anticorpi in grado di legare gli epitopi che permangono nel metabolita). Le strutture dei metaboliti vengono determinate in modo convenzionale, per esempio mediante analisi MS o NMR. Generalmente, l'analisi dei metaboliti viene effettuata nello stesso modo di studi di metabolismo dei farmaci convenzionali ben noti a coloro che sono esperti nell'arte. I prodotti di conversione, a condizione che essi non siano altrimenti trovati in vivo, sono utili in saggi diagnostici per il dosaggio terapeutico dei composti della descrizione anche se essi non possiedono attività inibitoria di HCV di per sé.

Metodi per determinare la stabilità di composti in secrezioni gastrointestinali surrogate sono noti.

Metodi esemplificativi per preparare i composti

La descrizione riguarda anche metodi per preparare le composizioni della descrizione. Le composizioni vengono preparate mediante qualsiasi delle tecniche di sintesi organica applicabili. Molte di tali tecniche sono ben note nell'arte. Tuttavia, molte delle tecniche note sono elaborate in Compendium of Organic Synthetic Methods (John Wiley & Sons, New York), Vol. 1, Ian T. Harrison e Shuyen Harrison, 1971; Vol. 2, Ian T. Harrison e Shuyen Harrison, 1974; Vol. 3, Louis S. Hegedus e Leroy Wade, 1977; Vol. 4, Leroy G. Wade, Jr., 1980; Vol. 5, Leroy G. Wade, Jr., 1984; e Vol. 6, Michael B. Smith; così come in March, J., Advanced Organic Chemistry, terza edizione, (John Wiley & Sons, New York, 1985), Comprehensive Organic Synthesis. Selectivity, Strategy & Efficiency in Modern Organic Chemistry, in 9 volumi, editore capo Barry M. Trost (Pergamon Press, New York, ristampa del 1993). Altri metodi adatti per preparare i composti della descrizione vengono descritti nella domanda di brevetto internazionale numero di pubblicazione WO 2006/020276.

Un certo numero di metodi esemplificativi per la preparazione delle composizioni della descrizione viene fornito negli Schemi e negli Esempi sotto. Si intende che questi metodi illustrino la natura di tali preparazioni e non sono intesi limitare l'ambito dei metodi applicabili.



In generale, le condizioni di reazione quali temperatura, tempo di reazione, solventi, procedure di lavorazione, e simili, saranno quelle comuni nell'arte per la reazione particolare da eseguire. Il materiale di riferimento citato, insieme al materiale ivi citato, contiene descrizioni dettagliate di tali condizioni. Tipicamente le temperature saranno da -100°C a 200°C, i solventi saranno aprotici o protici ed i tempi di reazione saranno da 10 secondi a 10 giorni. La lavorazione  
5 consiste tipicamente della neutralizzazione di qualsiasi reagente che non ha reagito seguita dalla ripartizione tra un sistema a strati acquoso/organico (estrazione) e dalla separazione dello strato contenente il prodotto.

Le reazioni di ossidazione e di riduzione vengono condotte tipicamente a temperature vicine a temperatura ambiente (circa 20°C), sebbene per le riduzioni con idruri metallici frequentemente la temperatura sia ridotta da 0°C a -100°C, i solventi sono tipicamente aprotici per le riduzioni e possono essere protici o aprotici per le ossidazioni. I tempi  
10 di reazione vengono regolati per ottenere le conversioni desiderate.

Le reazioni di condensazione vengono condotte tipicamente a temperature vicine a temperatura ambiente, sebbene per condensazioni non all'equilibrio, a controllo cinetico siano anche comuni temperature ridotte (da 0°C a -100°C). I solventi possono essere protici (comuni in reazioni all'equilibrio) o aprotici (comuni in reazioni a controllo cinetico).

15 Tecniche sintetiche standard quali la rimozione azeotropica di sottoprodotti di reazione e l'uso di condizioni di reazione anidre (per esempio ambienti di gas inerte) sono comuni nell'arte e verranno applicate quando applicabili.

I termini "trattato", "trattare", "trattamento" e simili, quando utilizzati in relazione ad un'operazione chimica di sintesi, significano mettere a contatto, miscelare, far reagire, lasciar reagire, portare a contatto, ed altri termini comuni nell'arte per indicare che una o più entità chimiche vengono trattate in modo tale da convertirle ad una o più altre entità  
20 chimiche. Questo significa che "trattare il composto uno con il composto due" è sinonimo di "permettere al composto uno di reagire con il composto due", "mettere a contatto il composto uno con il composto due", "far reagire il composto uno con il composto due", ed altre espressioni comuni nell'arte della sintesi organica per indicare ragionevolmente che il composto uno è stato "trattato", "fatto reagire", "lasciato reagire", ecc. con il composto due. Per esempio, trattamento  
25 indica il modo ragionevole ed usuale in cui sostanze chimiche organiche vengono fatte reagire. Concentrazioni (da 0,01M a 10M, tipicamente da 0,1M a 1M), temperature (da -100°C a 250°C, tipicamente da -78°C a 150°C, più tipicamente da



5 -78°C a 100°C, ancor più tipicamente da 0°C a 100°C), contenitori di reazione (tipicamente di vetro, di plastica, di metallo), solventi, pressioni, atmosfere (tipicamente aria per reazioni non sensibili all'ossigeno e all'acqua o azoto o argon per quelle sensibili all'ossigeno o all'acqua), ecc. normali vengono intesi se non indicato diversamente. La conoscenza di reazioni simili note nell'arte della sintesi organica viene utilizzata nel selezionare le condizioni e l'apparecchio per il "trattamento" in un dato procedimento. In particolare, una persona esperta nell'arte della sintesi organica seleziona le condizioni e l'apparecchio ragionevolmente attesi effettuare con successo le reazioni chimiche dei procedimenti descritti in base alla conoscenza nell'arte.

10 Modifiche di ciascuno degli Schemi e negli Esempi esemplificativi (di seguito "Schemi esemplificativi") conducono a vari analoghi degli specifici materiali esemplificativi prodotti. Le suddette citazioni che descrivono metodi di sintesi organica adatti sono applicabili a tali modifiche.

15 In ciascuno degli Schemi esemplificativi può essere vantaggioso separare i prodotti della reazione l'uno dall'altro e/o dai materiali di partenza. I prodotti desiderati di ciascun passaggio o serie di passaggi vengono separati e/o purificati (di seguito separati) al grado di omogeneità desiderato mediante tecniche comuni nell'arte. Tipicamente tali separazioni implicano estrazione multifase, cristallizzazione da un solvente o da una miscela di solventi, distillazione, sublimazione, o cromatografia. La cromatografia può implicare numerosi metodi compresi, per esempio: cromatografia in fase inversa ed in fase normale; esclusione dimensionale; scambio ionico; metodi ed apparecchio per cromatografia liquida a pressione elevata, media e bassa; analitica in piccola scala; letto mobile simulato (SMB) e cromatografia su strato sottile o spesso preparativa, così come tecniche di cromatografia su strato sottile in piccola scala e flash.

20 Un'altra classe di metodi di separazione implica il trattamento di una miscela con un reagente scelto per legarsi ad un prodotto desiderato, ad un materiale di partenza che non ha reagito, ad un sottoprodotto di reazione, o simili o per renderli altrimenti separabili. Tali reagenti includono adsorbenti o assorbenti quali carbone attivo, setacci molecolari, mezzi di scambio ionico, o simili. In alternativa, i reagenti possono essere acidi nel caso di un materiale basico, basi nel caso di un materiale acido, reagenti leganti quali anticorpi, proteine di legame, agenti chelanti selettivi quali eteri corona, reagenti per estrazione ionica liquido/liquido (LIX), o simili.



La selezione di metodi di separazione appropriati dipende dalla natura dei materiali coinvolti. Per esempio, il punto di ebollizione ed il peso molecolare nella distillazione e nella sublimazione, la presenza o l'assenza di gruppi funzionali polari nella cromatografia, la stabilità dei materiali in mezzi acidi e basici nell'estrazione multifase, e simili. Un esperto nell'arte applicherà le tecniche con le quali è più probabile ottenere la separazione desiderata.

5 Un singolo stereoisomero, per esempio un enantiomero sostanzialmente privo del suo stereoisomero, può essere ottenuto mediante risoluzione della miscela racemica utilizzando un metodo quale la formazione di diastereoisomeri utilizzando agenti risolvitori otticamente attivi (Stereochemistry of Carbon Compounds, (1962) da E. L. Eliel, McGraw Hill; Lochmuller, C. H., (1975) J. Chromatogr., 113, (3) 283-302). Miscele racemiche dei composti chirali della  
10 descrizione possono essere separate ed isolate mediante qualsiasi metodo adatto, compresi: (1) formazione di sali diastereoisomerici ionici con composti chirali e separazione mediante cristallizzazione frazionata o altri metodi, (2) formazione di composti diastereoisomerici con reagenti derivatizzanti chirali, separazione dei diastereoisomeri e conversione negli stereoisomeri puri, e (3) separazione degli stereoisomeri sostanzialmente puri o arricchiti direttamente in condizioni chirali.

15 Secondo il metodo (1), sali diastereoisomerici possono essere formati mediante la reazione di basi chirali enantiomericamente pure quali brucina, chinina, efedrina, stricnina,  $\alpha$ -metil- $\beta$ -fenilettilammina (amfetamina) e simili con composti asimmetrici recanti funzionalità acida, quali un acido carbossilico ed un acido solfonico. I sali diastereoisomerici possono essere indotti a separarsi mediante cristallizzazione frazionata o cromatografia ionica. Per la separazione degli isomeri ottici di composti amminici, l'aggiunta di un acido carbossilico o solfonico chirale, quale acido canforsolfonico, acido tartarico, acido mandelico, o acido lattico, può portare alla formazione dei sali diastereoisomerici.

20 In alternativa, secondo il metodo (2), il substrato da risolvere viene fatto reagire con un enantiomero di un composto chirale per formare una coppia diastereoisomerica (Eliel, E. e Wilen, S. (1994) Stereochemistry of Organic Compounds, John Wiley & Sons, Inc., p. 322). Composti diastereoisomerici possono essere formati facendo reagire composti asimmetrici con reagenti derivatizzanti chirali enantiomericamente puri, quali derivati del mentile, cui seguono la separazione dei diastereoisomeri e l'idrolisi per dare il substrato enantiomericamente arricchito libero. Un metodo per  
25 determinare la purezza ottica implica la preparazione di esteri chirali, quali un estere mentilico, per esempio cloroformiato



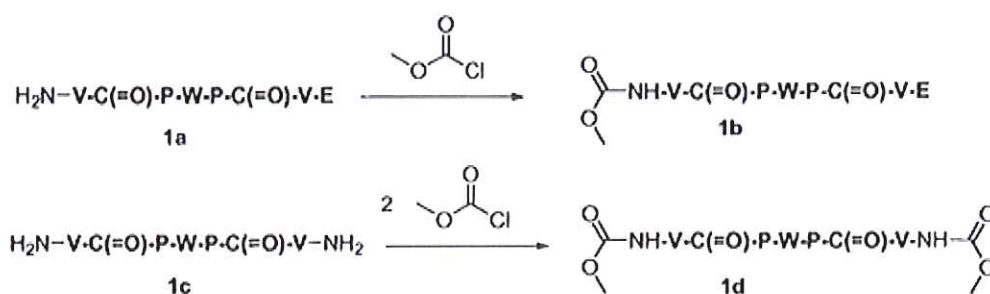
di (-)mentile, in presenza di una base, o un estere di Mosher, acetato di  $\alpha$ -metossi- $\alpha$ -(trifluorometil)fenile (Jacob III. (1982) *J. Org. Chem.* 47:4165), della miscela racemica ed analizzare lo spettro NMR per la presenza dei due diastereoisomeri atropoisomerici. Diastereoisomeri stabili di composti atropoisomerici possono essere separati ed isolati mediante cromatografia in fase normale ed inversa seguendo metodi per la separazione di naftilisochinoline atropoisomeriche (Hoye, T., WO 96/15111). Secondo il metodo (3), una miscela racemica di due enantiomeri può essere separata mediante cromatografia utilizzando una fase stazionaria chirale (Chiral Liquid Chromatography (1989) W. J. Lough, Ed. Chapman e Hall, New York; Okamoto, (1990) *J. of Chromatogr.* 513:375-378). Enantiomeri arricchiti o purificati possono essere distinti mediante metodi utilizzati per distinguere altre molecole chirali con atomi di carbonio asimmetrici, quali la rotazione ottica ed il dicroismo circolare.

10 Schemi ed Esempi

Aspetti generali di questi metodi esemplificativi vengono qui descritti sotto e negli Esempi. Ciascuno dei prodotti dei seguenti procedimenti viene facoltativamente separato, isolato e/o purificato prima del suo uso nei procedimenti successivi.

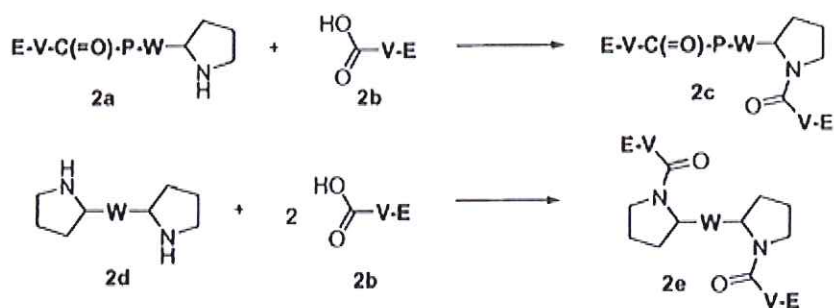
Viene qui fornito un certo numero di metodi esemplificativi per la preparazione dei composti della descrizione, per esempio negli Esempi sotto. Si intende che questi metodi illustrino la natura di tali preparazioni e non sono intesi limitare l'ambito dei metodi applicabili. Alcuni composti della descrizione possono essere utilizzati come intermedi per la preparazione di altri composti della descrizione. Nei metodi esemplificativi qui descritti, il frammento E-V- può anche essere scritto come R9-. PG rappresenta un gruppo protettivo comune per il dato gruppo funzionale al quale è attaccato. L'installazione e la rimozione del gruppo protettivo possono essere eseguite utilizzando tecniche standard, quali quelle descritte in Wuts, P. G. M., Greene, T. *Protective Groups in Organic Synthesis*, quarta ed.; John Wiley & Sons, Inc.: Hoboken, New Jersey, 2007.

**Schema 1. Sintesi rappresentativa di E-V-C(=O)-P-W-P-C(=O)-V-E**



Lo Schema 1 mostra una sintesi generale di una molecola E-V-C(=O)-P-W-P-C(=O)-V-E della descrizione in cui, a fini informativi, E è metossicarbonilammino. Il trattamento di 1a o di 1c rispettivamente con uno o due equivalenti di cloroformiato di metile in condizioni basiche (per esempio idrossido di sodio) fornisce la molecola 1b o 1d.

**Schema 2. Sintesi rappresentativa di E-V-C(=O)-P-W-P-C(=O)-V-E**



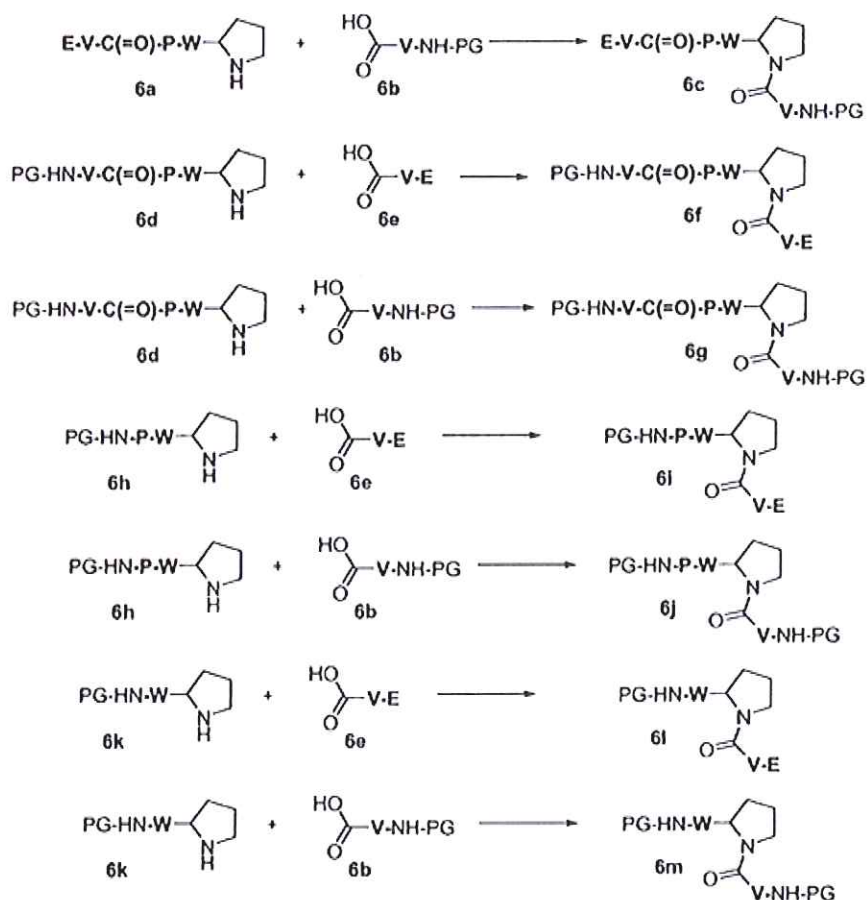
5

Lo Schema 2 mostra una sintesi generale di una molecola E-V-C(=O)-P-W-P-C(=O)-V-E della descrizione in cui, a fini informativi, P è pirrolidina. L'accoppiamento dell'ammina 2a con l'acido 2b viene condotto utilizzando un



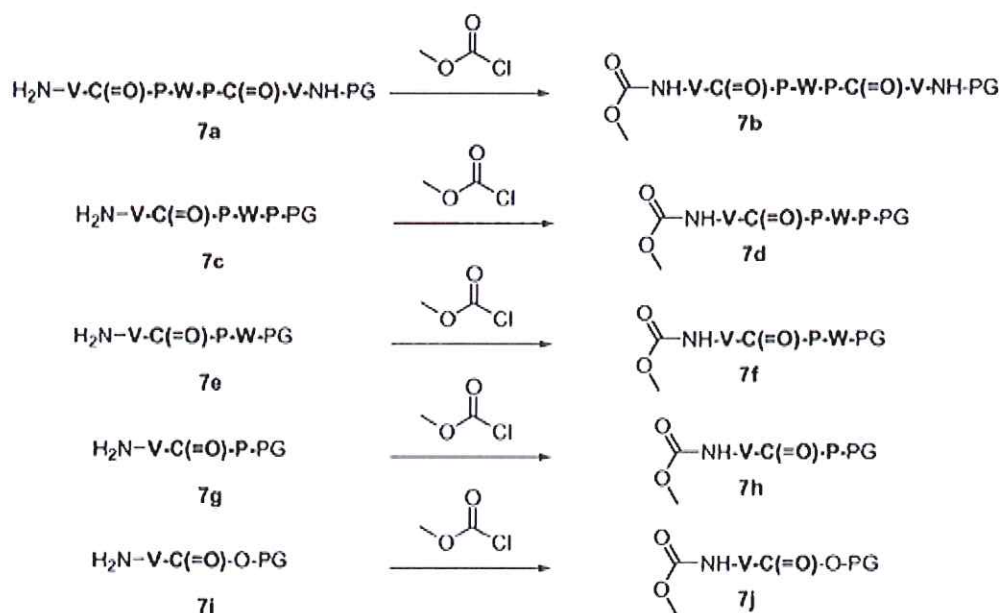
reagente per accoppiamento peptidico (per esempio HATU) a dare 2c. In alternativa, l'ammina 2d viene accoppiata con due equivalenti di 2b in condizioni simili a dare 2e.

**Schema 6. Sintesi rappresentativa di  $R^1\text{-V}\cdot\text{C}(=\text{O})\text{-P}\cdot\text{R}^2$**



Lo Schema 6 mostra una sintesi generale di un intermedio  $R^1\text{-V-C(=O)-P-R}^2$  in cui, a fini informativi, P è pirrolidina,  $R^1$  è un gruppo generico che viene descritto come -E o come gruppo protettivo per ammine, ed  $R^2$  è un gruppo generico che viene descritto come -W-P-C(=O)-V-E, -W-P-C(=O)-V-NH-PG, -W-P-NH-PG, o -W-NH-PG. L'accoppiamento dell'ammina 6a (o 6d, 6h, 6k) con l'acido 6b o 6e viene condotto utilizzando un reagente per accoppiamento peptidico (per esempio HATU) a dare rispettivamente 6c (o 6f, 6g, 6i, 6j, 6l, 6m).

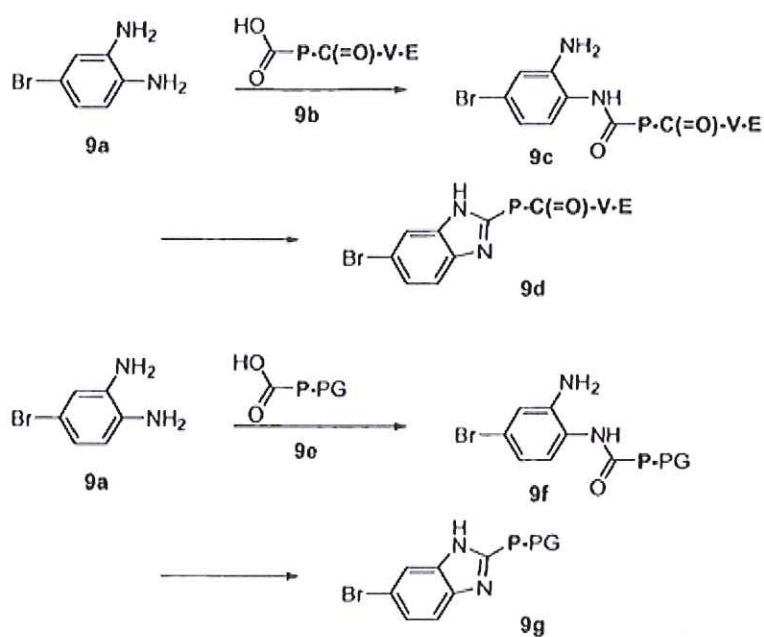
**Schema 7. Sintesi rappresentativa di E-V-C(=O)-R<sup>1</sup>**



Lo Schema 7 mostra una sintesi generale di un intermedio E-V-C(=O)-R<sup>1</sup> in cui, a fini informativi, E è metossicarbonilammino ed R<sup>1</sup> è un gruppo generico che viene descritto come -P-W-P-C(=O)-V-NH-PG, -P-W-P-PG, -P-W-PG, -P-PG, o -O-PG. Il trattamento di 7a (o 7c, 7e, 7g, 7i) con cloroformiato di metile in condizioni basiche (per esempio idrossido di sodio) fornisce la molecola 7b (o 7d, 7f, 7h, 7j).



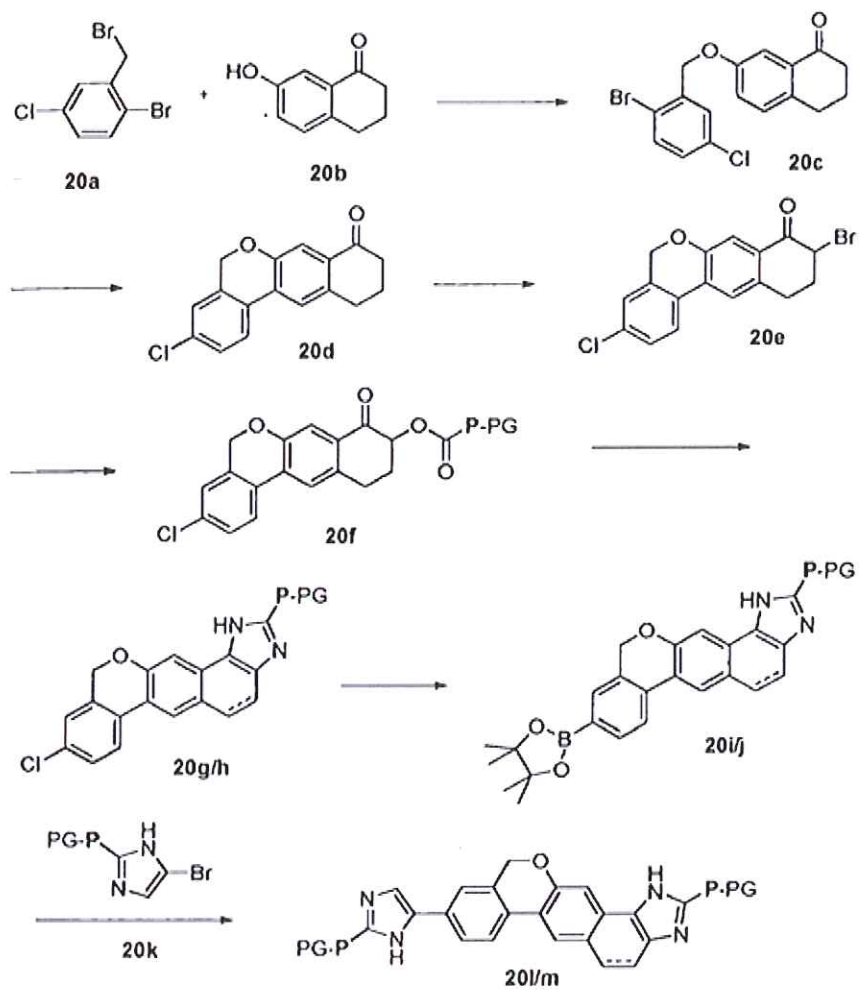
**Schema 9. Sintesi rappresentativa di R<sup>1</sup>-P-R<sup>2</sup>**



Lo Schema 9 mostra una sintesi generale di un intermedio R<sup>1</sup>-P-R<sup>2</sup> in cui, a fini informativi, R<sup>1</sup> è -C(=O)-V-E o un gruppo protettivo ed R<sup>2</sup> è un benzimidazolo sostituito. La formazione del benzimidazolo viene condotta mediante accoppiamento dell'acido 9b o 9e con un'arilammina 9a, utilizzando un reagente per accoppiamento peptidico quale HATU, a dare 9c o 9d. La ciclizzazione dell'ammide in presenza un acido (quale acido acetico) fornisce la molecola contenente benzimidazolo 9d o 9g.

La formazione di benzimidazoli multipli viene condotta nello stesso modo, a partire da una bis-diammina a dare il bis-benzimidazolo corrispondente.

**Schema 20. Sintesi rappresentativa di R<sup>1</sup>-P-W-P-R<sup>2</sup>**



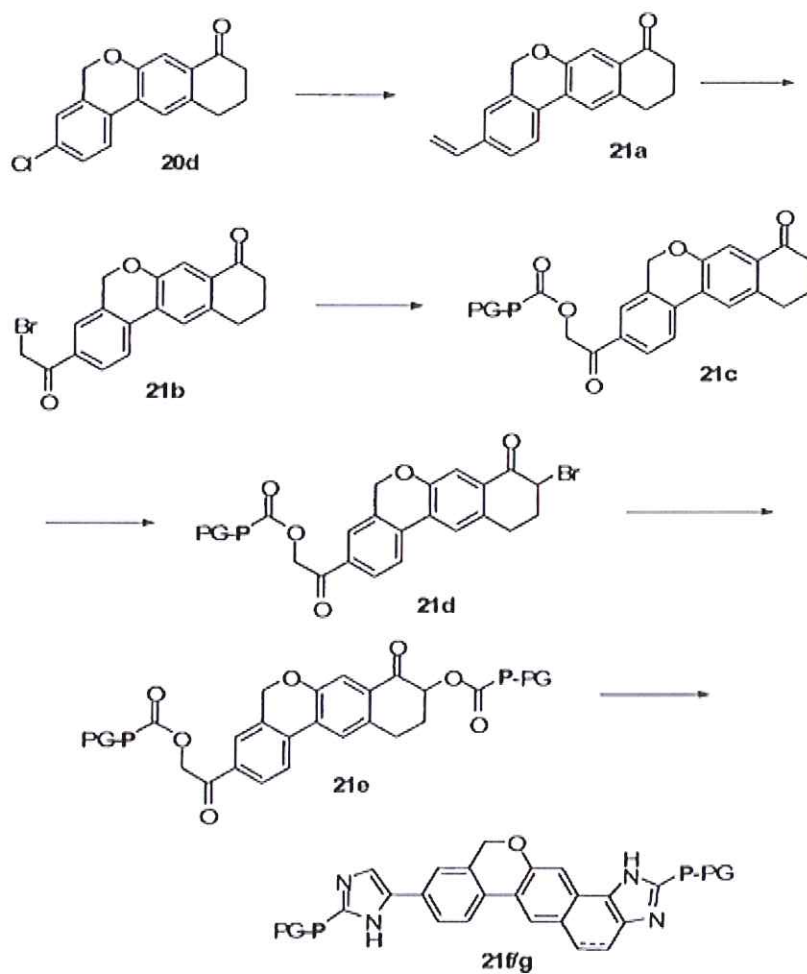


Lo Schema 20 mostra una sintesi generale di un intermedio R<sup>1</sup>-P-W-P-R<sup>2</sup> della descrizione in cui, a fini informativi, R<sup>1</sup> ed R<sup>2</sup> sono gruppi protettivi indipendenti e W è un'unità a due anelli aromatici costruita attraverso una ciclizzazione mediata da metalli di transizione. L'alchilazione del fenolo 20b con un bromuro alchilico, quale 20a, fornisce l'etere 20c. La ciclizzazione degli anelli aromatici in presenza di un catalizzatore al palladio fornisce il composto 20d. Il trattamento di 20d con CuBR<sup>2</sup> fornisce l' $\alpha$ -alochetone 20e, che fornisce 20f a seguito dell'aggiunta di un acido in condizioni basiche (per esempio Et<sub>3</sub>N). La reazione di 20f con un'ammina o con un sale di un'ammina (per esempio acetato d'ammonio) fornisce la molecola contenente imidazolo 20g. L'ossidazione di 20g, 20i, o 20l può essere condotta mediante riscaldamento in presenza di MnO<sub>2</sub> a dare rispettivamente 20h, 20j, o 20m. La conversione di 20g o 20h con un catalizzatore al palladio, quale Pd<sub>2</sub>dba<sub>3</sub> e X-Phos, ed una fonte di boro quale bis(pinacolato)diboro fornisce l'estere boronico

20i o 20j. l'estere boronico è accoppiato con un appropriato partner di accoppiamento (per esempio 20k) utilizzando un catalizzatore al palladio, quale Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub> o PdCl<sub>2</sub>(dppf), a dare 20l o 20m. Per ciascuna reazione di accoppiamento incrociato mediata da metalli di transizione, i ruoli del nucleofilo e dell'elettrofilo possono essere invertiti a dare lo stesso prodotto di accoppiamento. Altri accoppiamenti incrociati mediati da metalli di transizione che permettono la costruzione di W, ma impiegano partner di accoppiamento e reagenti alternativi, includono, ma senza limitazione, gli accoppiamenti di Negishi, di Kumada, di Stille e di Ullman. Per la preparazione di gruppi W contenenti due anelli aromatici alternativi, questo Schema generale può essere applicato attraverso la scelta appropriata dei reagenti di partenza.



**Schema 21. Sintesi rappresentativa di R<sup>1</sup>-P-W-P-R<sup>1</sup>**

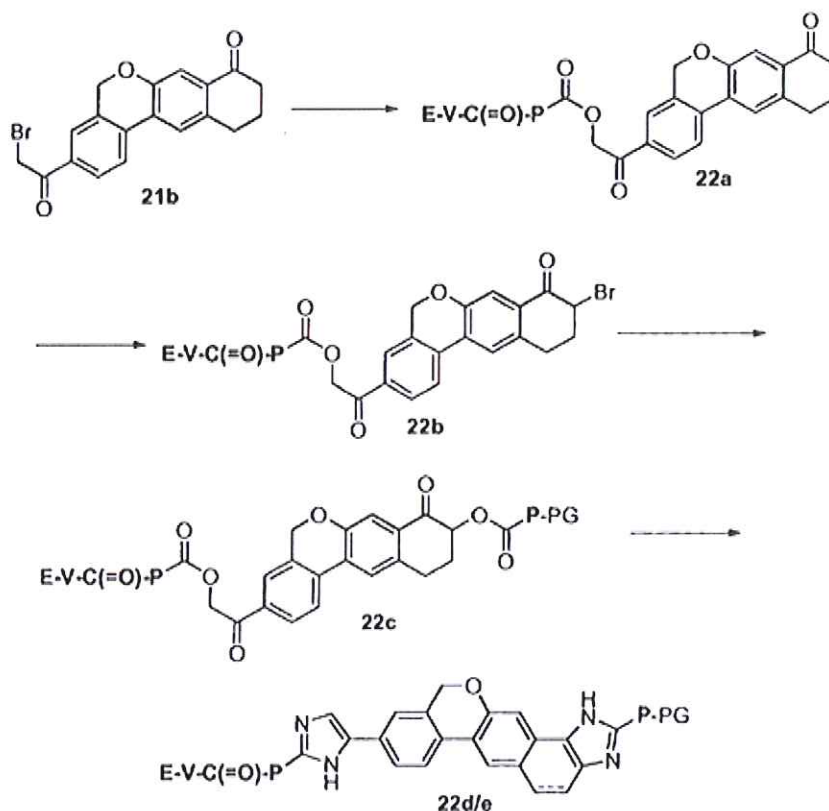




Lo Schema 21 mostra una sintesi generale di un intermedio  $R^1$ -P-W-P- $R^2$  della descrizione in cui, a fini informativi,  $R^1$  ed  $R^2$  sono gruppi protettivi indipendenti e W è un'unità a due anelli aromatici costruita attraverso una ciclizzazione mediata da metalli di transizione. Il trattamento di 20d con un reagente vinilico attivato (per esempio viniltrifluoroborato di potassio) in presenza di un catalizzatore al palladio (per esempio acetato di palladio e S-Phos) fornisce il composto vinilico 21a. La conversione nell' $\alpha$ -alochetone corrispondente può essere condotta mediante bromurazione con N-bromosuccinimide, seguita dall'ossidazione con  $MnO_2$ . La sostituzione dell' $\alpha$ -alochetone procede mediante l'aggiunta di un acido in condizioni basiche (per esempio  $Et_3N$ ). La bromurazione di 21d procede a seguito di un trattamento con tribromuro di piridinio, ed è seguita dall'aggiunta di un secondo acido in condizioni basiche a dare il diestere 21e. La reazione di 21e con un'ammina o con un sale di un'ammina (per esempio acetato d'ammonio) fornisce la molecola contenente imidazolo 21f. L'ossidazione di 21f può essere condotta in presenza di  $MnO_2$  a dare 21 g.



**Schema 22. Sintesi rappresentativa di E-V-C(=O)-P-W-P-R**

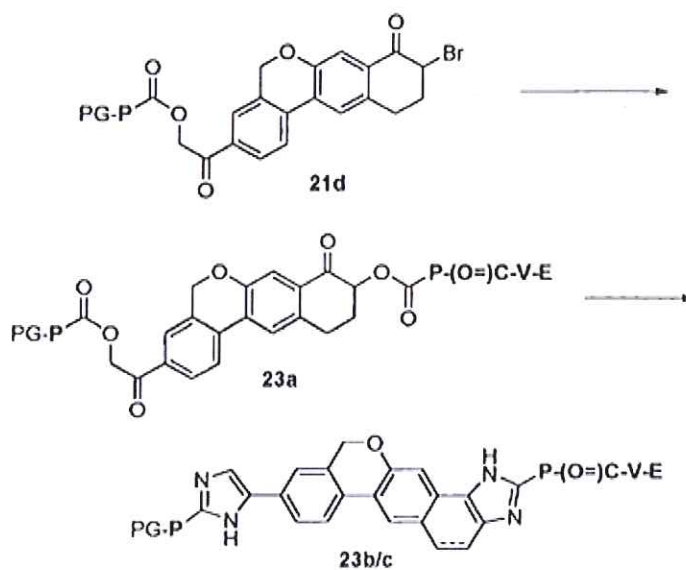


Lo Schema 22 mostra una sintesi generale di un intermedio E-V-C(=O)-P-W-P-R della descrizione in cui, a fini informativi, R è un gruppo protettivo e W è un'unità a due anelli aromatici. La sostituzione dell' $\alpha$ -alochetone **21b** procede mediante l'aggiunta di un acido in condizioni basiche (per esempio  $\text{Et}_3\text{N}$ ). La bromurazione di **22b** procede a seguito di un trattamento con tribromuro di piridinio, ed è seguita dell'aggiunta di un secondo acido in condizioni basiche a dare il



diestere 22c. La reazione di 22c con un'ammina o con un sale di un'ammina (per esempio acetato d'ammonio) fornisce la molecola contenente imidazolo 22d. L'ossidazione di 22d può essere condotta in presenza di  $MnO_2$  a dare 22e.

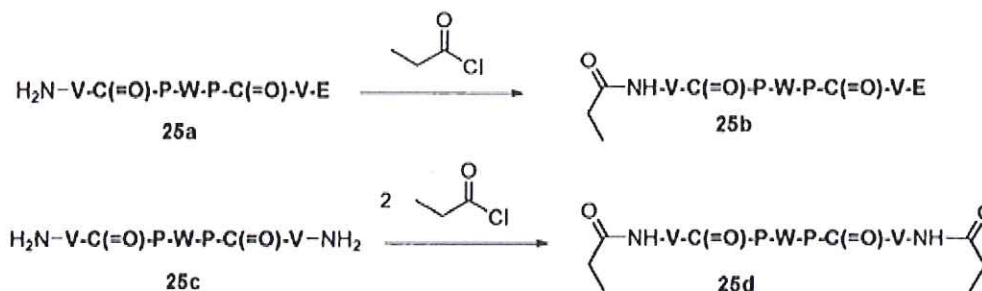
**Schema 23. Sintesi rappresentativa di R-P-W-P-C(=O)-V-E**



Lo Schema 23 mostra una sintesi generale di un intermedio E-V-C(=O)-P-W-P-R della descrizione in cui, a fini informativi, R è un gruppo protettivo e W è un'unità a due anelli aromatici. La sostituzione dell' $\alpha$ -alochetone 21d procede mediante l'aggiunta di un acido in condizioni basiche (per esempio  $Et_3N$ ). La reazione di 23a con un'ammina o con un sale di un'ammina (per esempio acetato d'ammonio) fornisce la molecola contenente imidazolo 23b. L'ossidazione di 23b può essere condotta in presenza di  $MnO_2$  a dare 23c.

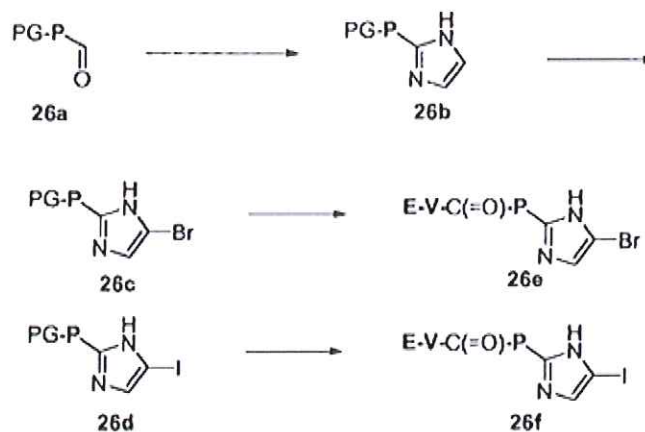


**Schema 25. Sintesi rappresentativa di E-V-C(=O)-P-W-P-C(=O)-V-E**



Lo Schema 25 mostra una sintesi generale di una molecola E-V-C(=O)-P-W-P-C(=O)-V-E della descrizione in cui, a fini informativi, E è etilcarbonilammino. Il trattamento di 25a o 25c rispettivamente con uno o due equivalenti di cloruro di propionile in condizioni basiche (per esempio idrossido di sodio) fornisce la molecola 25b o 25d.

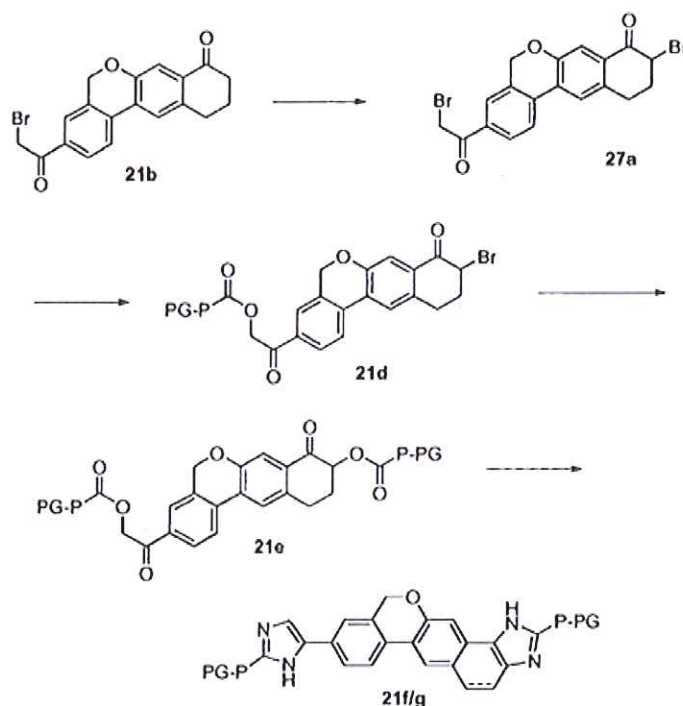
**Schema 26. Sintesi rappresentativa di E-V-C(=O)-P-R e di R<sup>1</sup>-P-R**





Lo Schema 26 mostra una sintesi generale di una molecola E-V-C(=O)-P-R ed R<sup>1</sup>-P-R della descrizione in cui, a fini informativi, R è un aloimidazolo. Il trattamento dell'aldeide 26a con glicosale, in presenza di idrossido d'ammonio, fornisce l'imidazolo 26b. Il trattamento con N-bromosuccinammide o con iodio fornisce rispettivamente l'aloimidazolo corrispondente 26c e 26d. La separazione dal composto bis-alogenato corrispondente può essere condotta mediante cromatografia HPLC preparativa. La conversione del bis-aloimidazolo al mono-aloimidazolo può anche essere condotta in seguito a riscaldamento in presenza di solfito di sodio. Una funzionalizzazione ulteriore del gruppo P può essere condotta dopo la rimozione del gruppo protettivo e l'accoppiamento con un acido appropriato (E-V-C(=O)-OH).

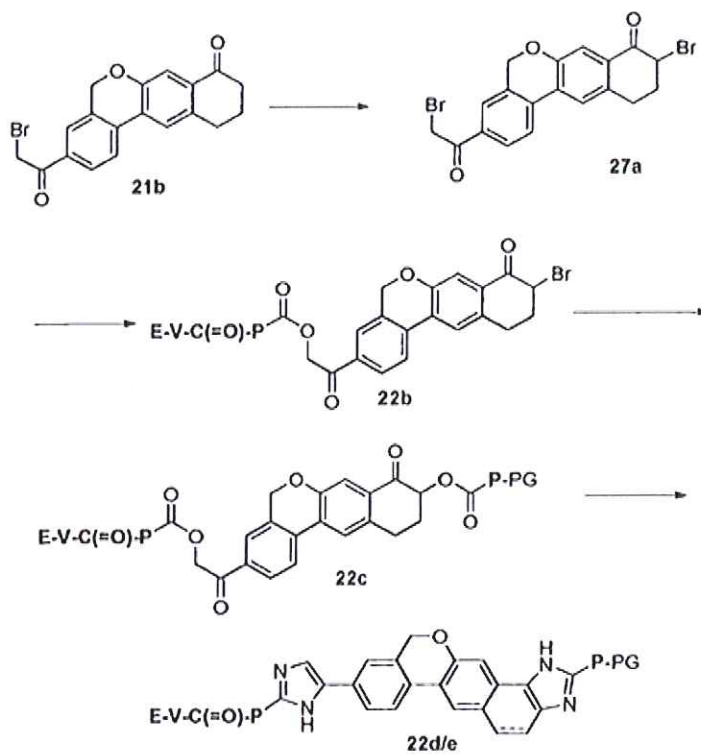
**Schema 27. Sintesi rappresentativa di R<sup>1</sup>-P-W-P-R<sup>2</sup>**





Lo Schema 27 mostra una sintesi generale alternativa di un intermedio  $R^1$ -P-W-P- $R^2$  dell'invenzione in cui, a fini informativi,  $R^1$  ed  $R^2$  sono gruppi protettivi indipendenti e W è un'unità a due anelli aromatici costruita attraverso una ciclizzazione mediata da metalli di transizione. La bromurazione di 21b con un agente bromurante (cioè tribromuro di piridinio) fornisce il dibromuro 27a. La sostituzione del bromuro primario procede quindi mediante l'aggiunta di un acido in condizioni basiche (per esempio  $K_2CO_3$ ) a dare 21d. La conversione a 21f o 21g può essere condotta seguendo i metodi descritti nello Schema 21.

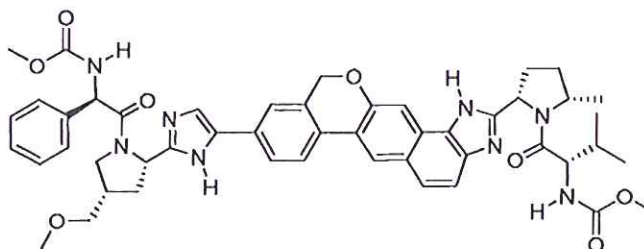
**Schema 28. Sintesi rappresentativa di E-V-C(=O)-P-W-P-R**



Lo Schema 28 mostra una sintesi generale alternativa di un intermedio E-V-C(=O)-P-W-P-R in cui, a fini informativi, R è un gruppo protettivo e W è un'unità a due anelli aromatici. La bromurazione di 21b con un agente bromurante (cioè tribromuro di piridinio) fornisce il dibromuro 27a. La sostituzione del bromuro primario procede quindi mediante l'aggiunta di un acido in condizioni basiche (per esempio  $K_2CO_3$ ) a dare 22d. La conversione a 22d o 22e può essere condotta seguendo i metodi descritti nello Schema 22.

Forme di realizzazione specifiche

In una forma di realizzazione la descrizione fornisce un composto di formula:



o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

La descrizione sarà ora illustrata dai seguenti Esempi non limitanti. Le seguenti abbreviazioni vengono utilizzate in ogni parte della descrizione, compresi gli Esempi.

(aq)	Acquoso
(g)	Gas
(s)	Solido
°C	Gradi Celsius
Ac	Acetato
ACN	Acetonitrile
apprx	Approssimato
Bis-pinB/(Bpin) <sub>2</sub> /(pinB) <sub>2</sub>	Bis(pinacolato)diboro



BOC/Boc	tert-Butossicarbonile
calc	Calcolato
CC <sub>50</sub>	Concentrazione di citotossicità al 50%
COMU	1-[(1-(Ciano-2-etossi-2-ossoetilideneaminoossi)dimetilamminomorfolino)]uronio esafluorofosfato
d	Doppietto
dba	Dibenzalacetone
DCM	Diclorometano
dd	Doppietto di doppietti
ddd	Doppietto di doppi doppietti
DIPEA/DIEA	N,N-Diisopropilettilammina
DMA	N,N-Dimetilacetammide
DMAP	4-Dimetilamminopiridina
DME	Dimetossietano
DMEM	Mezzo minimo essenziale di Eagle
DMF	Dimetilformammide
DMSO/dmso	Dimetilsolfossido
dppf	1,1'-bis(Difenilfosfanil)ferrocene
dt	Doppietto di tripletti
EC <sub>50</sub>	Concentrazione efficace emimassimale
ESI	Ionizzazione elettrospray
Et	Etile
est.	Esterno



FBS	Siero bovino fetale
g	Grammo
HATU	2-(1H-7-Azabenzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio metanamminio
HPLC	Cromatografia liquida a pressione elevata
h	Ora
Hz	Hertz
J	Costante di accoppiamento
LC-MS	Spettrometria di massa associata a cromatografia liquida
M	Molare
m	Multipletto
m/z	Rapporto della massa rispetto alla carica
M+	Picco di massa
Me	Metile
mg	Milligrammo
MHz	Megahertz
min	Minuto
ml	Millilitro
mmol	Millimole
Moc	Metossicarbonile
MS	Spettrometria di massa
MTBE	Metil-tert-butiletere
N	Normale



NADPH	Nicotinammide adenin dinucleotide fosfato
NBS	N-Bromosuccinimide
NMM	N-Metilmorfolina
NMR	Risonanza magnetica nucleare
o/n	Per una notte
Papp	Permeabilità apparente
PBS	Sistema tampone con fosfato
Pd/C	Palladio su carbone
Ph	Fenile
Phg/PhGly	Fenilglicina
Piv	Pivalato
Pro	Prolina
pir	Piridina
q	Quartetto
qd	Quartetto di doppietti
quant	Quantitativo
quint	Quintetto
t.a./T.A.	Temperatura ambiente
s	Singoletto
SPhos	2-Dicicloesilfosfino-2',6'-dimetossibifenile
t	Tripletto
t-Bu	tert-Butile

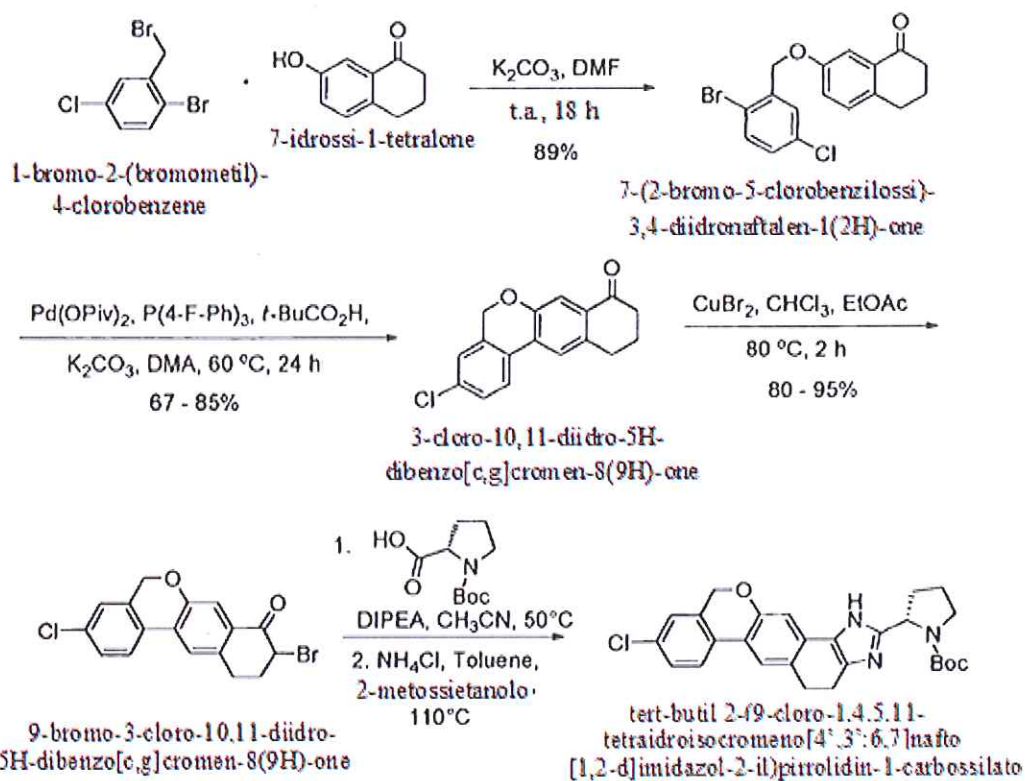


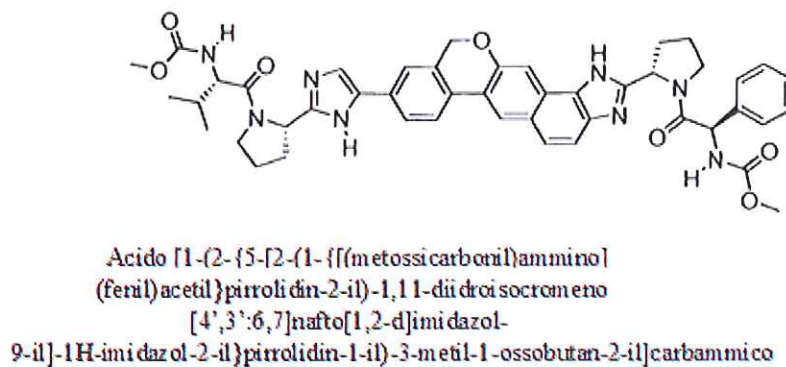
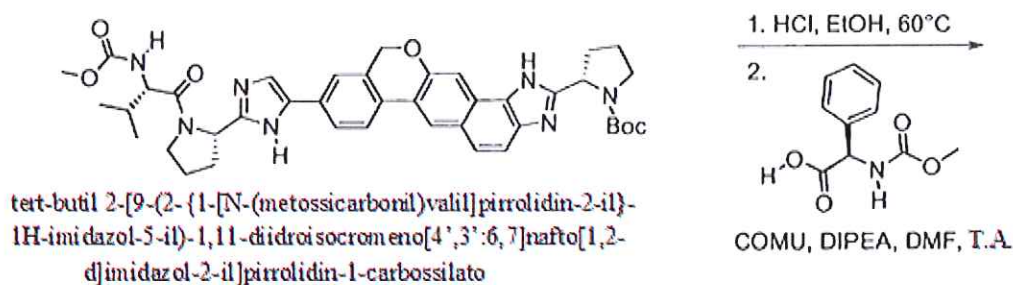
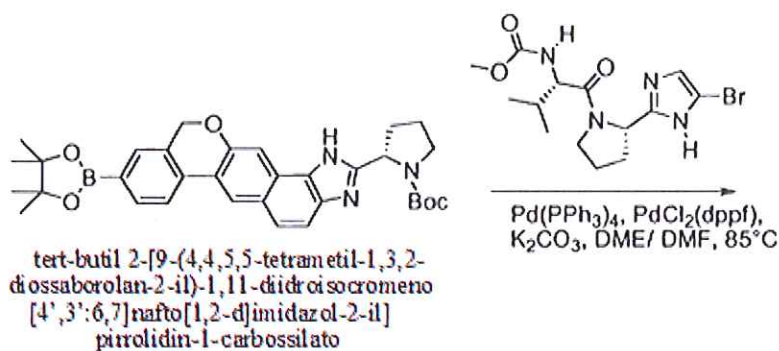
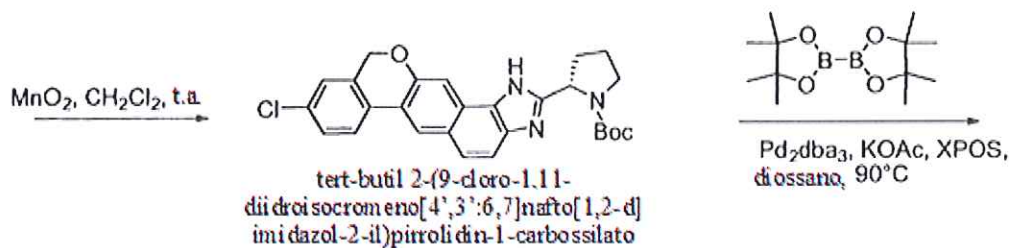
TEMPO	(2,2,6,6-Tetrametilpiperidin-1-il)ossile
Tf	Trifluorometansolfonato
TFA	Acido trifluoroacetico
THF	Tetraidrofurano
Thr	Treonina
TLC	Cromatografia su strato sottile
tol.	Toluene
UV	Ultravioletto
Val	valina
p/v	Peso rispetto al volume
p/p	Peso rispetto al peso
X-Phos/XPOS/Xphos	2-Dicicloesilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenile
$\delta$	Spostamento chimico
$\mu\text{g}$	Microgrammo
$\mu\text{l}$	Microlitro



Esempi

Esempio LQ (riferimento)







7-(2-Bromo-5-clorobenzilossi)-3,4-diidronaftalen-1(2H)-one

Ad una soluzione mantenuta in agitazione di 7-idrossi-1-tetralone (13,9 g, 85,7 mmol) e 1-bromo-2-(bromometil)-4-clorobenzene (25,6 g, 90,0 mmol) in dimetilformammide (850 ml) è stato aggiunto carbonato di potassio (24 g, 172 mmol). La reazione è stata agitata sotto argon per 18 h quindi diluita con acetato di etile (1 l). Le fasi organiche sono state lavate tre volte con acqua ed una volta con una soluzione salina satura. Lo strato organico è stato quindi essiccato su solfato di magnesio, filtrato e concentrato. All'olio risultante è stato aggiunto metanolo (500 ml) e la sospensione è stata agitata per trenta minuti. 7-(2-Bromo-5-clorobenzilossi)-3,4-diidronaftalen-1(2H)-one (27,8 g, resa dell'89%) è stato isolato mediante filtrazione.

3-Cloro-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one

Ad un pallone da 1 l contenente pivalato di palladio(II) (1,18 g, 3,8 mmol), tri(4-fluorofenil)fosfina (1,20 g, 3,8 mmol), acido pivalico (2,33 g, 22,8 mmol) e carbonato di potassio (31,8 g, 228 mmol) è stata aggiunta una soluzione di 7-(2-bromo-5-clorobenzilossi)-3,4-diidronaftalen-1(2H)-one (27,8 g, 76,2 mmol) in dimetilacetammide (380 ml). Il pallone è stato svuotato e riempito nuovamente con argon 5 volte e quindi agitato sotto argon a 60°C per 24 h. La reazione è stata raffreddata a temperatura ambiente e diluita con MTBE e con acqua. La miscela bifasica risultante è stata agitata per 3 h e filtrata attraverso Celite, risciacquata con MTBE. Lo strato organico del filtrato è stato separato e quindi lavato due volte con acqua ed una volta con una soluzione salina satura. Le fasi organiche sono state quindi essiccate con solfato di magnesio, filtrate, concentrate e purificate mediante cromatografia flash su colonna (esani/DCM) a dare 3-cloro-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one (14,4 g, 67% di resa) come solido biancastro.

9-Bromo-3-cloro-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one

Ad una miscela di 3-cloro-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one (14,8 g, 52 mmol) in cloroformio (50 ml) ed acetato di etile (50 ml) è stato aggiunto bromuro di rame(II) (24,3 g, 104 mmol). La reazione è stata scaldata a 80°C per 2 h e quindi raffreddata a temperatura ambiente. La miscela è stata diluita con diclorometano e lavata due volte con una soluzione 5:1 di cloruro d'ammonio acquoso saturo e idrossido d'ammonio acquoso (~38%) e lavata una volta con acqua. Lo strato organico è stato essiccato su solfato di magnesio, filtrato e concentrato a dare 9-bromo-3-cloro-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one (18,5 g, resa >95%) con purezza >95%.



Nota: Questa reazione non è sempre così pulita. Qualche volta vi è bromurazione eccessiva e qualche volta rimane materiale di partenza significativo. Queste impurezze possono essere rimosse mediante cromatografia flash su colonna.

tert-Butil 2-(9-cloro-1,4,5,11-tetraidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-2-il)pirrolidin-1-carbossilato

5 Ad una soluzione di acido (1R)-2-(tert-butossicarbonil)ciclopentancarbossilico (10,17 g, 47,25 mmol) e 9-bromo-3-cloro-10,11-diidro-6H-nafto[2,3-c]cromen-8(9H)-one (5,7 mg, 15,7 mmol) in acetonitrile (50 ml) è stata aggiunta diisopropiletilammina (11,11 ml, 64 mmol). La reazione è stata agitata a 50°C per 4 h ed è stata quindi diluita con acetato di etile. Le fasi organiche sono state lavate con acqua e con una soluzione salina satura, essiccate (MgSO<sub>4</sub>) e concentrate. Il residuo grezzo risultante è stato purificato mediante cromatografia flash a dare (2S)-1-tert-butil 2-(3-cloro-8-osso-8,9,10,11-tetraidro-5H-nafto[c,g]cromen-9-il)pirrolidin-1,2-dicarbossilato (4,52 g, 58%). Ad una soluzione di 10 (2S)-1-tert-butil 2-(3-cloro-8-osso-8,9,10,11-tetraidro-6H-nafto[2,3-c]cromen-9-il)pirrolidin-1,2-dicarbossilato (3,27 mg, 6,56 mmol) in una miscela di toluene (11 ml) e 2-metossietanolo (0,7 ml) è stato aggiunto acetato d'ammonio (5,06 g, 65,6 mmol). La miscela di reazione è stata scaldata a 110°C per 3 h, raffreddata a temperatura ambiente e diluita con acetato di etile. Le fasi organiche sono state lavate con acqua e con una soluzione salina satura, essiccate (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e concentrate. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash a dare tert-butil 2-(9-cloro-1,4,5,11-tetraidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-2-il)pirrolidin-1-carbossilato (1,95 g, 61%). LC-MS-ESI<sup>+</sup>: calcolato per C<sub>27</sub>H<sub>28</sub>CIN<sub>3</sub>O<sub>3,42</sub>: 477,98; osservato [M+1]<sup>+</sup>: 478,47.

tert-Butil 2-(9-cloro-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-2-il)pirrolidin-1-carbossilato

20 Ad una soluzione di tert-butil 2-(9-cloro-1,4,5,11-tetraidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-2-il)pirrolidin-1-carbossilato (1,9 g, 3,96 mmol) in diclorometano (35 ml) è stato aggiunto ossido di manganese(IV) (17 g, 198 mmol). La miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 18 h, diluita con acetato di etile. Le fasi organiche sono state lavate con acqua e con una soluzione salina satura, essiccate (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e concentrate. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash a dare tert-butil 2-(9-cloro-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-2-il)pirrolidin-1-carbossilato (1,52 g, 81%). LC-MS-ESI<sup>+</sup>: calcolato per C<sub>27</sub>H<sub>26</sub>CIN<sub>3</sub>O<sub>3,42</sub>: 475,9; osservato [M+1]<sup>+</sup>: 476,45.

tert-Butil 2-[9-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-2-il]pirrolidin-1-carbossilato

Una miscela degassata di tert-butil 2-(9-cloro-1,1-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-2-il)pirrolidin-1-carbossilato (1,52 g, 3,17 mmol), bis(pinacolato)diboro (1,21 g, 4,75 mmol), acetato di potassio (934 mg, 9,52 mmol), tris(dibenzilidenacetone)palladio (116 mg, 0,13 mmol) e 2-dicicloesilfosfino-2',4',6'-tri-i-propil-1,1'-bifenile (121 mg, 0,08 mmol) in 1,4-diossano (16 ml) è stata scaldata a 90°C per 1,5 h, raffreddata a temperatura ambiente e diluita con acetato di etile. Le fasi organiche sono state lavate con acqua e con una soluzione salina satura, essiccate (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e concentrate. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash a dare tert-butil 2-[9-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-2-il]pirrolidin-1-carbossilato (1,7 g, 94%).

tert-Butil 2-[9-(2-{1-[N-(metossicarbonil)valil]pirrolidin-2-il}-1H-imidazol-5-il)-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-2-il]pirrolidin-1-carbossilato

Ad una soluzione di metil (S)-1-((S)-2-(5-bromo-1H-imidazol-2-il)pirrolidin-1-il)-3-metil-1-ossobutan-2-ilcarbammato (1,48 g, 3,97 mmol), tert-butil 2-[9-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-2-il]pirrolidin-1-carbossilato (1,88 g, 1,48 mmol), tetrakis(trifenilfosfina)palladio(0) (191 mg, 0,16 mmol) e dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocene]palladio(II) (242 mg, 0,33 mmol) in una miscela di 1,2-dimetossietano (37,0 ml) e dimetilformammide (6 ml) è stata aggiunta una soluzione di carbonato di potassio (2M in acqua, 5 ml, 9,93 mmol). La miscela risultante è stata degassata e quindi scaldata a 85°C sotto argon per 18 h. Dopo raffreddamento fino a temperatura ambiente, la reazione è stata diluita con acetato di etile. Le fasi organiche sono state lavate con acqua e con una soluzione salina satura, essiccate (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e concentrate. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia flash a dare tert-butil 2-[9-(2-{1-[N-(metossicarbonil)valil]pirrolidin-2-il}-1H-imidazol-5-il)-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-2-il]pirrolidin-1-carbossilato (1,45 mg, 59%). LC-MS-ESI<sup>+</sup>: calcolato per C<sub>41</sub>H<sub>47</sub>N<sub>7</sub>O<sub>6</sub> 733,86; osservato [M+]<sup>+</sup>: 734,87.

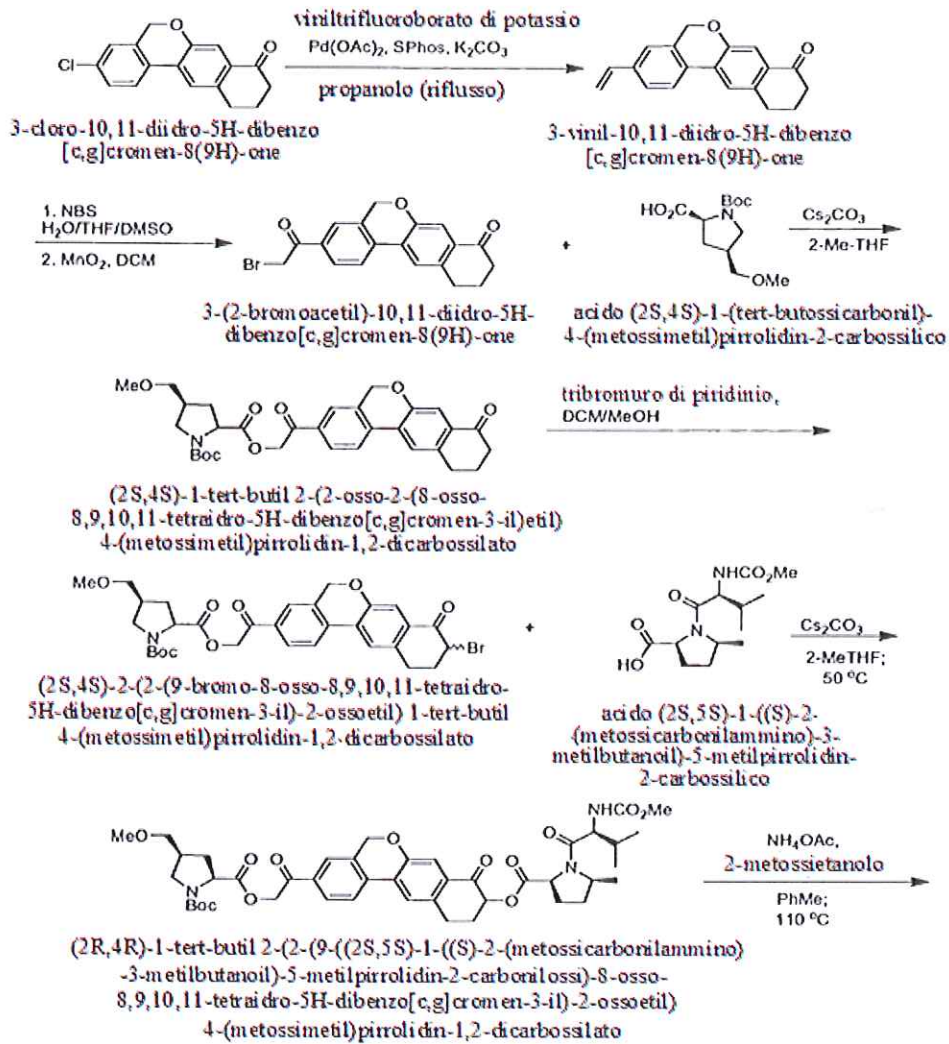


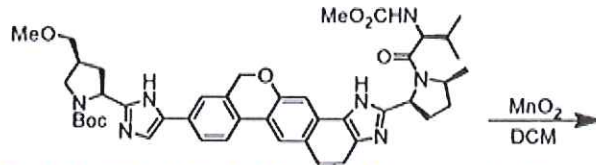
Acido [1-(2-{5-[2-(1-{{(metossicarbonil)ammino}(fenil)acetil}pirrolidin-2-il)-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-9-il]-1H-imidazol-2-il}pirrolidin-1-il)-3-metil-1-ossobutan-2-il]carbammico

5 Una soluzione di tert-butil 2-[9-(2-{1-[N-(metossicarbonil)valil]pirrolidin-2-il}-1H-imidazol-5-il)-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-2-il]pirrolidin-1-carbossilato (462 mg, 0,63 mmol), etanolo (6 ml) e HCl concentrato (2 ml) è stata scaldata a 60°C per 1 h. La reazione è stata concentrata ed il materiale grezzo è stato disciolto in DCM (6 ml). Questa soluzione è stata concentrata ed a questo materiale è stata aggiunta una soluzione di acido (R)-2-(metossicarbonilammino)-2-fenilacetico (172 mg, 0,82 mmol) e COMU (311 mg, 073 mmol) in DMF (6 ml).  
10 Alla soluzione risultante è stata aggiunta diisopropiletilammina (330 µl, 1,89 mmol). Dopo agitazione per 18 h a temperatura ambiente, la reazione è stata diluita con acetato di etile, lavata con acqua e con una soluzione salina satura, essiccata (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), concentrata e purificata mediante HPLC preparativa in fase inversa (Gemini, ACN dal 15% a 45%/H<sub>2</sub>O + TFA allo 0,1%). Le frazioni del prodotto sono state liofilizzate a dare acido [1-(2-{5-[2-(1-{{(metossicarbonil)ammino}(fenil)acetil}pirrolidin-2-il)-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-9-il]-1H-imidazol-2-il}pirrolidin-1-il)-3-metil-1-ossobutan-2-il]carbammico (231 mg, 45%). LC-MS-ESI<sup>+</sup>: calcolato per  
15 C<sub>46</sub>H<sub>48</sub>N<sub>8</sub>O<sub>7</sub>: 824,92; osservato [M+1]<sup>+</sup>: 826,00.

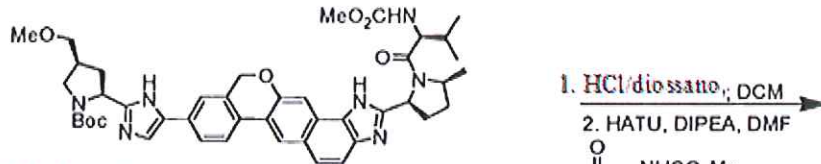


Esempio OF (riferimento)





tert-butil (2S,4S)-2-[5-(2-((2S,5S)-1-[N-(metossicarbonil)-L-valil]-5-metilpirrolidin-2-il)-1,4,5,11-tetraidrosocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-9-il)-1H-imidazol-2-il]-4-(metossimetil)pirrolidin-1-carbossilato

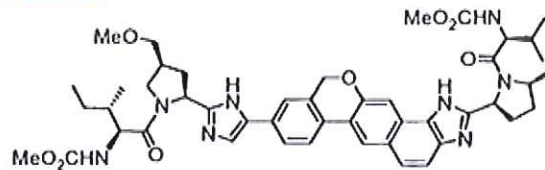


tert-butil (2S,4S)-2-[5-(2-((2S,5S)-1-[N-(metossicarbonil)-L-valil]-5-metilpirrolidin-2-il)-1,11-diidrosocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-9-il)-1H-imidazol-2-il]-4-(metossimetil)pirrolidin-1-carbossilato

1. HCl/dioossano, DCM  
2. HATU, DIPEA, DMF

MeO2CHN  
HO  
NHCO2Me

acido (2S,3S)-2-(metossicarbonilammino)-3-metilpentanoico



metil ((2S,3S)-1-[(2S,4S)-2-(5-(2-((2S,5S)-1-((2S)-2-(metossicarbonilammino)-3-metilbutanoil)-5-metilpirrolidin-2-il)-1,11-diidrosocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-9-il)-1H-imidazol-2-il)-4-(metossimetil)pirrolidin-1-il]-3-metil-1-ossopentan-2-il]carbamato

3-Vinil-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one

Un pallone da 500 ml a fondo tondo a 3 colli essiccato in forno è stato raffreddato sotto Ar, quindi caricato con 3-cloro-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one (12,0 g, 42,1 mmol), viniltrifluoroborato di potassio (8,47 g, 6,32 mmol), Pd(OAc)<sub>2</sub> (473 mg, 2,11 mmol), SPhos (1,74 g, 4,25 mmol), K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (17,5 g, 126 mmol) e propanolo anidro

(120 ml). La miscela di reazione è stata spruzzata con Ar per 16 min, quindi scaldata a riflusso per 5,5 h. Dopo il completamento, la miscela di reazione è stata raffreddata a temperatura ambiente e concentrata a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato sospeso in DCM, quindi lavato con H<sub>2</sub>O e con una soluzione salina satura. La soluzione organica è stata essiccata su MgSO<sub>4</sub>, filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il residuo risultante è stato ulteriormente purificato attraverso uno strato di silice, eluendo con DCM a dare 3-vinil-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one (10,2 g, 87%).

3-(2-Bromoacetil)-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one

3-Vinil-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one (9,98 g, 36,1 mmol) è stato disciolto in una soluzione mantenuta in agitazione di THF (70 ml), DMSO (70 ml) e H<sub>2</sub>O (35 ml). NBS (6,75 g, 37,9 mmol) è stata aggiunta in una singola porzione e la miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 33 min. Dopo il completamento, il mezzo di reazione è stato diluito con EtOAc e lavato due volte con H<sub>2</sub>O ed una volta con una soluzione salina satura. La fase organica è stata essiccata su MgSO<sub>4</sub>, filtrata e concentrata a pressione ridotta. La bromidrina grezza risultante è stata sospesa in DCM (200 ml) e trattata con MnO<sub>2</sub> attivato (62,7 g, 722 mmol). Dopo agitazione per 15 h a temperatura ambiente, la miscela di reazione è stata filtrata su Celite e la parte solida del filtrato è stata risciacquata diverse volte con DCM. Il filtrato combinato (~400 ml) è stato trattato con MeOH (~100 ml) e la miscela è stata gradualmente concentrata a pressione ridotta, inducendo un materiale solido a precipitare dalla soluzione. Quando il volume del liquido ha raggiunto ~200 ml, il solido è stato separato per filtrazione e risciacquato con MeOH. La sequenza concentrazione/precipitazione/filtrazione/risciacquo è stata eseguita ancora 2x, risultando nella raccolta di 3 lotti di 3-(2-bromoacetil)-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one polverizzato (7,49 g, 56% per 2 passaggi).

(4S)-1-tert-Butil 2-(2-osso-2-(8-osso-8,9,10,11-tetraidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-3-il)etil) 4-(metossimetil)pirrolidin-1,2-dicarbossilato

3-(2-Bromoacetil)-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one (7,47 g, 20,1 mmol) ed acido (2S,4S)-1-(tert-butossicarbonil)-4-(metossimetil)pirrolidin-2-carbossilico (5,22 g, 20,1 mmol) sono stati sospesi in 2-Me-THF (75 ml) e trattati con Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3,27 g, 10,1 mmol). Dopo agitazione per 4 ore a temperatura ambiente, la miscela di reazione è stata diluita con DCM. Lo strato organico è stato lavato con H<sub>2</sub>O. Lo strato acquoso è stato quindi estratto di nuovo 2x



con DCM. Le fasi organiche combinate sono state essiccate su  $MgSO_4$ , filtrate e concentrate a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di silice (EtOAc dal 10% al 50%/DCM) a dare (4S)-1-tert-butil 2-(2-osso-2-(8-osso-8,9,10,11-tetraidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-3-il)etil) 4-(metossimetil)pirrolidin-1,2-dicarbossilato (7,73 g, 70%).

5 (2S,4S)-2-(2-(9-Bromo-8-osso-8,9,10,11-tetraidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-3-il)-2-ossoetil) 1-tert-butil 4-(metossimetil)pirrolidin-1,2-dicarbossilato

(4S)-1-tert-Butil 2-(2-osso-2-(8-osso-8,9,10,11-tetraidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-3-il)etil) 4-(metossimetil)pirrolidin-1,2-dicarbossilato (7,66 g, 13,9 mmol) è stato disciolto in una soluzione di DCM (100 ml) e MeOH (40 ml), quindi trattato con tribromuro di piridinio (4,90 g, 15,3 mmol). Dopo aver agitato a temperatura ambiente per 1,75 h, la miscela di reazione è stata diluita con DCM e lavata consecutivamente con HCl al 10%, con  $NaHCO_3$  acquoso saturo e con una soluzione salina satura. La fase organica è stata essiccata su  $MgSO_4$ , filtrata e concentrata a pressione ridotta ed il materiale grezzo è stato portato avanti senza ulteriore purificazione.

10 (2R,4R)-1-tert-Butil 2-(2-(9-((2S,5S)-1-((S)-2-(metossicarbonilammino)-3-metilbutanoil)-5-metilpirrolidin-2-carbonilossi)-8-osso-8,9,10,11-tetraidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-3-il)-2-ossoetil) 4-(metossimetil)pirrolidin-1,2-dicarbossilato

15 (2S,4S)-2-(2-(9-Bromo-8-osso-8,9,10,11-tetraidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-3-il)-2-ossoetil) 1-tert-butil 4-(metossimetil)pirrolidin-1,2-dicarbossilato (8,76 g, 13,94 mmol) è stato trattato con una soluzione di acido (2S,5S)-1-((S)-2-(metossicarbonilammino)-3-metilbutanoil)-5-metilpirrolidin-2-carbossilico (6,85 g, 23,92 mmol) in 2-Me-THF (70 ml) e  $Cs_2CO_3$  (3,63 g, 11,15 mmol). La miscela di reazione mantenuta in agitazione è stata scaldata a  $50^\circ C$  per 20 h, quindi raffreddata a temperatura ambiente e diluita con EtOAc. La fase organica è stata lavata con  $H_2O$  e con una soluzione salina satura, quindi essiccata su  $MgSO_4$ , filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di silice (MeOH dallo 0% al 30%/EtOAc) a dare (2R,4R)-1-tert-butil 2-(2-(9-((2S,5S)-1-((S)-2-(metossicarbonilammino)-3-metilbutanoil)-5-metilpirrolidin-2-carbonilossi)-8-osso-8,9,10,11-tetraidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-3-il)-2-ossoetil) 4-(metossimetil)pirrolidin-1,2-dicarbossilato (10,47 g, 90%).

tert-Butil (2S,4S)-2-[5-(2-((2S,5S)-1-[N-(metossicarbonil)-L-valil]-5-metilpirrolidin-2-il))-1,4,5,11-tetraidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-9-il)-1H-imidazol-2-il]-4-(metossimetil)pirrolidin-1-carbossilato

(2R,4R)-1-tert-Butil 2-(2-(9-((2S,5S)-1-((S)-2-(metossicarbonilammino)-3-metilbutanoil)-5-metilpirrolidin-2-carbonilossi)-8-osso-8,9,10,11-tetraidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-3-il)-2-ossoetil) 4-(metossimetil)pirrolidin-1,2-dicarbossilato (10,47 g, 12,56 mmol) e NH<sub>4</sub>OAc (50,9 g, 660 mmol) sono stati sospesi in una soluzione di PhMe/2-metossietanolo 10:1 (132 ml). La miscela di reazione mantenuta in agitazione è stata scaldata a 110°C per 4,5 h, quindi raffreddata a temperatura ambiente e diluita con EtOAc. La fase organica è stata lavata 3x con NaHCO<sub>3</sub> acquoso saturo, quindi essiccata su MgSO<sub>4</sub>, filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il residuo grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di silice (MeOH dallo 0% al 30%/EtOAc) a dare tert-butil (2S,4S)-2-[5-(2-((2S,5S)-1-[N-(metossicarbonil)-L-valil]-5-metilpirrolidin-2-il))-1,4,5,11-tetraidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-9-il)-1H-imidazol-2-il]-4-(metossimetil)pirrolidin-1-carbossilato (8,33 g, 84%).

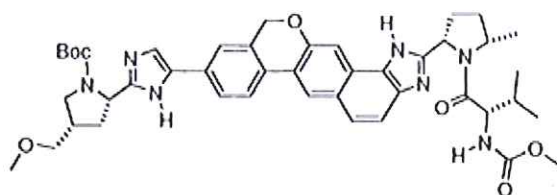
tert-Butil (2S,4S)-2-[5-(2-((2S,5S)-1-[N-(metossicarbonil)-L-valil]-5-metilpirrolidin-2-il))-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-9-il)-1H-imidazol-2-il]-4-(metossimetil)pirrolidin-1-carbossilato

tert-Butil (2S,4S)-2-[5-(2-((2S,5S)-1-[N-(metossicarbonil)-L-valil]-5-metilpirrolidin-2-il))-1,4,5,11-tetraidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-9-il)-1H-imidazol-2-il]-4-(metossimetil)pirrolidin-1-carbossilato (8,33 g, 1,049 mmol) è stato sospeso in DCM ed è stato aggiunto MnO<sub>2</sub> attivato (55,0 g, 630 mmol) in una singola porzione. Dopo 13 h, è stato aggiunto MeOH (200 ml) e l'impasto è stato filtrato su Celite. La parte solida del filtrato è stata lavata con MeOH (600 ml) ed il filtrato è stato concentrato a pressione ridotta. Il materiale grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di silice (MeOH dallo 0% al 45%/EtOAc) a dare tert-butil (2S,4S)-2-[5-(2-((2S,5S)-1-[N-(metossicarbonil)-L-valil]-5-metilpirrolidin-2-il))-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-9-il)-1H-imidazol-2-il]-4-(metossimetil)pirrolidin-1-carbossilato (4,85 g, 58%).

Metil            {(2S,3S)-1-[(2S,4S)-2-(5-{2-[(2S,5S)-1-{(2S)-2-[(metossicarbonil)ammino]-3-metilbutanoil}-5-metilpirrolidin-2-il]-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-9-il}-1H-imidazol-2-il)-4-(metossimetil)pirrolidin-1-il]-3-metil-1-ossopentan-2-il} carbammato

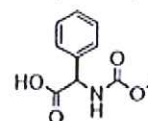
5           tert-Butil           (2S,4S)-2-[5-(2-{(2S,5S)-1-[N-(metossicarbonil)-L-valil]-5-metilpirrolidin-2-il]-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-9-il)-1H-imidazol-2-il]-4-(metossimetil)pirrolidin-1-carbossilato (179 mg, 0,226 mmol) è stato disciolto in DCM (4 ml) ed è stato aggiunto HCl (4,0M in diossano, 1 ml). La miscela di reazione è stata agitata per 1 h a temperatura ambiente quindi concentrata a pressione ridotta. Il residuo risultante è stato trattato con acido (2S,3S)-2-(metossicarbonilammino)-3-metilpentanoico (51 mg, 0,27 mmol), HATU (95 mg, 0,25 mmol), DMF (2 ml) e DIPEA (0,39 ml, 2,3 mmol). Dopo agitazione per 6 min, la reazione è stata spenta con H<sub>2</sub>O, filtrata e purificata  
10           mediante HPLC in fase inversa a dare metil {(2S,3S)-1-[(2S,4S)-2-(5-{2-[(2S,5S)-1-{(2S)-2-[(metossicarbonil)ammino]-3-metilbutanoil}-5-metilpirrolidin-2-il]-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-9-il}-1H-imidazol-2-il)-4-(metossimetil)pirrolidin-1-il]-3-metil-1-ossopentan-2-il} carbammato (116 mg, 59%). MS (ESI) m/z 864 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H-NMR (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 8,57 (d, J=14,7 Hz, 1H), 8,45 (s, 1H), 8,20 (d, J=14,4 Hz, 1H), 8,15-7,98 (m, 2H), 7,91 (dd, J=21,8, 14,1 Hz, 2H), 7,85-7,69 (m, 2H), 7,69-7,48 (m, 2H), 5,42-5,12 (m, 5H), 4,34 (dd, J=22,3, 13,7 Hz, 1H), 4,30-4,10  
15           (m, 2H), 3,87-3,73 (m, 1H), 3,73-3,63 (m, 7H), 3,62-3,48 (m, 2H), 3,48-3,38 (m, 4H), 3,35 (s, 3H), 2,95-2,70 (m, 1H), 2,70-2,55 (m, 2H), 2,55-2,20 (m, 2H), 2,20-1,91 (m, 3H), 1,77 (d, J=42,0 Hz, 1H), 1,65 (d, J=6,6 Hz, 3H), 1,43 (t, J=24,6 Hz, 1H), 1,28 (d, J=6,2 Hz, 1H), 1,23-1,01 (m, 3H), 0,98 (d, J=6,6 Hz, 3H), 0,90 (dd, J=13,1, 5,9 Hz, 10H).

Esempio PY

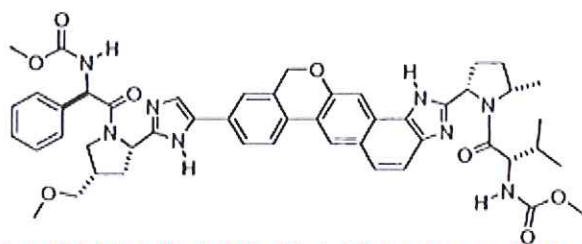


tert-butil (2S,4S)-2-[5-(2-((2S,5S)-1-[N-(metossicarbonil)-L-valil]-5-metilpirrolidin-2-il)-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-9-il)-1H-imidazol-2-il]-4-(metossimetil)pirrolidin-1-carbossilato

1. HCl  
2. COMU, DIPEA, DMF



acido (R)-2-(metossicarbonilammino)-2-fenilacetico



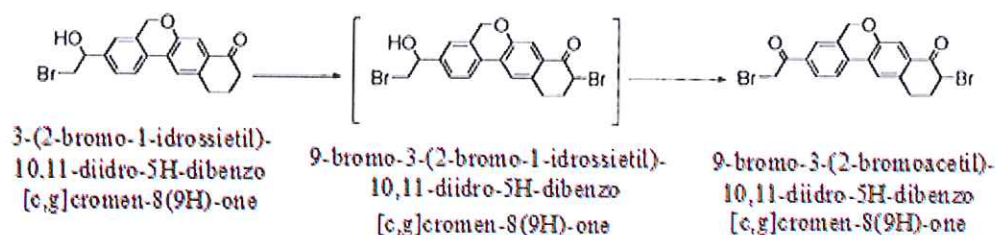
metil {(2S)-1-[(2S,5S)-2-(9-{2-[(2S,4S)-1-[(2R)-2-[(metossicarbonil)ammino]-2-fenilacetil]-4-(metossimetil)pirrolidin-2-il]-1H-imidazol-5-il)-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-2-il)-5-metilpirrolidin-1-il]-3-metil-1-ossobutan-2-il} carbammato

Metil {(2S)-1-[(2S,5S)-2-(9-{2-[(2S,4S)-1-[(2R)-2-[(metossicarbonil)ammino]-2-fenilacetil]-4-(metossimetil)pirrolidin-2-il]-1H-imidazol-5-il)-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-2-il)-5-metilpirrolidin-1-il]-3-metil-1-ossobutan-2-il} carbammato

- 5 Una soluzione di tert-butil (2S,4S)-2-[5-(2-((2S,5S)-1-[N-(metossicarbonil)-L-valil]-5-metilpirrolidin-2-il)-1,11-diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-9-il)-1H-imidazol-2-il]-4-(metossimetil)pirrolidin-1-carbossilato (150 mg, 0,19 mmol) in HCl 1,25N in EtOH (3 ml) è stata agitata per una notte quindi scaldata a 50°C per 3 h. La reazione

5 è stata concentrata ed il materiale grezzo è stato disciolto in DMF (2 ml). A questa soluzione è stata aggiunta una soluzione di acido (R)-2-(metossicarbonilammino)-2-fenilacetico (52 mg, 0,25 mmol) e COMU (90 mg, 0,21 mmol). Alla soluzione risultante è stata aggiunta diisopropiletilammina (0,099 ml, 0,57 mmol). Dopo agitazione per 2 h a temperatura ambiente, la reazione è stata spenta con HCl 1N (0,200 ml) e purificata mediante HPLC. Dopo la liofilizzazione, il sale di TFA è stato disciolto in EtOAc e lavato con NaHCO<sub>3</sub> saturo. La fase organica è stata essiccata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e concentrata. La base libera è stata quindi disciolta in MeCN/H<sub>2</sub>O e liofilizzata a dare metil {(2S)-1-[(2S,5S)-2-(9-{2-[(2S,4S)-1-{(2R)-2-[(metossicarbonil)ammino]-2-fenilacetil}-4-(metossimetil)pirrolidin-2-il]-1H-imidazol-5-il}-1,11-
 10 diidroisocromeno[4',3':6,7]nafto[1,2-d]imidazol-2-il)-5-metilpirrolidin-1-il]-3-metil-1-ossobutan-2-il]carbammato (65 mg, 39%). LC-MS-ESI<sup>+</sup>: calcolato per C<sub>49</sub>H<sub>54</sub>N<sub>8</sub>O<sub>8</sub>: 882,4; osservato [M+1]<sup>+</sup>: 884,1. Picchi diagnostici nell'NMR: <sup>1</sup>H-NMR (CD<sub>3</sub>OD): 8,28 (s, 1H), 8,21 (s, 1H), 8,04 (s, 1H), 7,91-7,01 (m, 10H), 3,62 (s, 3H), 3,34 (s, 3H), 3,23 (s, 3H), 1,56 (d, 3H), 1,03 (d, 3H), 0,94 (d, 3H).

Esempio PY-1



9-Bromo-3-(2-bromoacetil)-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one

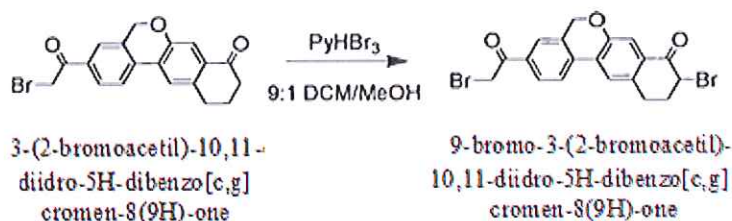
15 A 3-(2-bromo-1-idrossietil)-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one (20,3 g, 54,4 mmol) in DCM (365 ml) sono stati aggiunti MeOH (22 ml) e tribromuro di piridinio (18,24 g, 57,0 mmol). Dopo 2 h, è stata aggiunta acqua (100 ml) e, dopo aver brevemente agitando, gli strati sono stati separati e lo strato organico inferiore è stato raccolto. Lo strato organico è stato quindi lavato con HCl 1M (100 ml) e lo strato organico inferiore contenente 9-bromo-3-(2-bromo-1-idrossietil)-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one è stato raccolto. <sup>1</sup>H-NMR a 400 MHz (CDCl<sub>3</sub>) 7,75 (d,
 20 J=8,1 Hz, 1H), 7,68 (s, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,42 (d, J=7,5 Hz, 1H), 7,24 (s, 1H), 5,13 (s, 2H), 4,99-4,96 (m, 1H), 4,73 (dd,



J=4,1,4,1 Hz, 1H), 3,69-3,66 (m, 1H), 3,58-3,53 (m, 1H), 3,35-3,27 (m, 1H), 2,96-2,90 (m, 1H), 2,58-2,44 (m, 2H), C-OH non osservato.

A 9-bromo-3-(2-bromo-1-idrossietil)-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one (approssimativamente 54,4 mmol) in DCM (365 ml) sono stati aggiunti bicarbonato di sodio (5,45 g), bromuro di sodio (6,14 g), TEMPO (16,55 mg) ed acqua (60 ml). La soluzione è stata raffreddata tra 0-5°C ed è stata aggiunta candeggina al 6% (91,5 ml). Dopo 1 h, è stato aggiunto alcol isopropilico (20 ml) e la miscela di reazione è stata lasciata riscaldare a temperatura ambiente. L'agitazione è stata fermata, gli strati sono stati separati e lo strato organico inferiore è stato raccolto e concentrato rimuovendo approssimativamente 345 g di solvente. L'impasto è stato filtrato ed il residuo solido è stato lavato con 50 ml di acqua e quindi con 50 ml di DCM (preraffreddato a 5°C). I solidi sono stati raccolti ed essiccati sottovuoto per ottenere 9-bromo-3-(2-bromoacetil)-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one (18,6 g, resa del 76%). <sup>1</sup>H-NMR a 400 MHz (CDCl<sub>3</sub>) δ 8,03-8,01 (m, 1H), 7,85 (d, J=8,2 Hz, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 5,19 (s, 2H), 4,74 (dd, J=4,1,4,1 Hz, 1H), 4,45 (s, 2H), 3,37-3,29 (m, 1H), 2,99-2,92 (m, 1H), 2,59-2,46 (m, 2H); <sup>13</sup>C-NMR a 100 MHz (CDCl<sub>3</sub>) δ 190,4, 189,6, 154,2, 136,6, 134,1, 133,9, 132,9, 131,8, 129,3, 127,2, 125,6, 124,2, 123,3, 117,0, 68,1, 49,9, 31,8, 30,4, 25,5.

15 Esempio PY-2

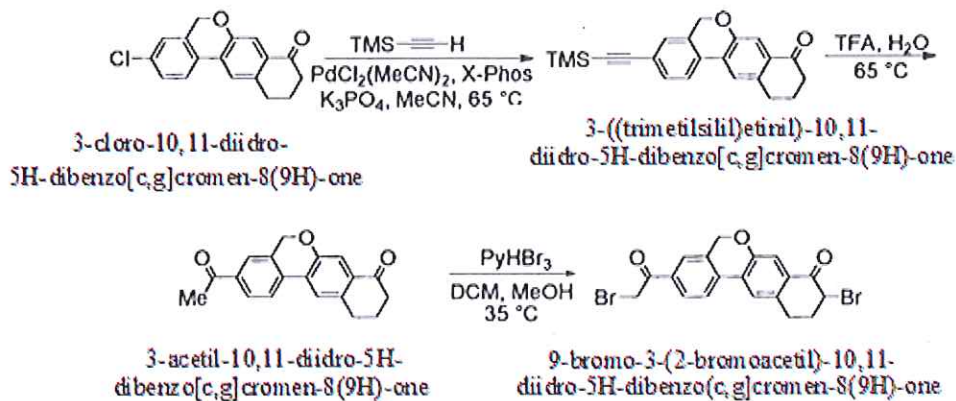


9-Bromo-3-(2-bromoacetil)-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one

Una miscela di 3-(2-bromoacetil)-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one (2,58 g, 6,95 mmol), tribromuro di piridinio (2,56 g, 8,0 mmol), diclorometano (22 ml) e metanolo (2,5 ml) è stata agitata a circa 20°C per 3 h

per ottenere un impasto. Il prodotto precipitato è stato filtrato, lavato con diclorometano (10 ml) ed essiccato in una stufa sottovuoto a 40°C a dare 9-bromo-3-(2-bromoacetil)-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one (2,62 g, resa dell'84%). <sup>1</sup>H-NMR a 400 MHz (CDCl<sub>3</sub>) δ 8,03-8,01 (m, 1H), 7,85 (d, J=8,2 Hz, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 5,19 (s, 2H), 4,74 (dd, J=4,1,4,1 Hz, 1H), 4,45 (s, 2H), 3,37-3,29 (m, 1H), 2,99-2,92 (m, 1H), 2,59-2,46 (m, 2H).

5 Esempio PY-3



#### 3-((Trimetilsilil)etilil)-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one

Un pallone da 300 ml munito di un agitatore sulla sommità e di un condensatore a refluxo in atmosfera di azoto è stato caricato con 3-cloro-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one (10,0 g, 35,12 mmol), fosfato tripotassico anidro polverizzato (22,4 g, 105,4 mmol), XPhos (1,34 g, 2,81 mmol) e PdCl<sub>2</sub>(MeCN)<sub>2</sub> (364 mg, 1,40 mmol). È stato aggiunto acetonitrile (140 ml) seguito da TMSacetilene (18 ml, 141 mmol). La miscela è stata scaldata a 65°C. Dopo 6 h, la reazione è stata ritenuta completa e la miscela è stata raffreddata a 20°C. La miscela è stata filtrata attraverso un imbuto di vetro sinterizzato ed il filtrato è stato lavato con acetonitrile. Il filtrato è stato concentrato a circa 150 ml a pressione ridotta ed estratto con eptano (50 ml, 3x100 ml). N-Acetilcisteina (15 g) è stata aggiunta alla fase in acetonitrile e la miscela è stata agitata per 5 h a 45°C. La miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, filtrata attraverso un imbuto di vetro sinterizzato ed il filtrato è stato lavato con acetonitrile. Il filtrato è stato concentrato a circa 120 ml a



pressione ridotta. È stata aggiunta acqua (120 ml) e la miscela è stata agitata per 40 min a 45°C e quindi raffreddata a temperatura ambiente. Dopo 30 min la miscela è stata filtrata attraverso un imbuto di vetro sinterizzato a dare 3-((trimetilsilil)etinitil)-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one (4,07 g, resa del 33,4%) come solido giallo: <sup>1</sup>H-NMR a 400 MHz (CDCl<sub>3</sub>) δ 7,65 (d, J=8,1 Hz, 1H), 7,60 (s, 1H), 7,55 (s, 1H), 7,47 (dd, J=8,1, 1,4 Hz, 1H), 7,27 (s, 1H), 5,06 (s, 2H), 2,95 (t, J=6,1 Hz, 2H), 2,67-2,59 (m, 2H), 2,18-2,08 (m, 2H), 0,26 (s, 9H).

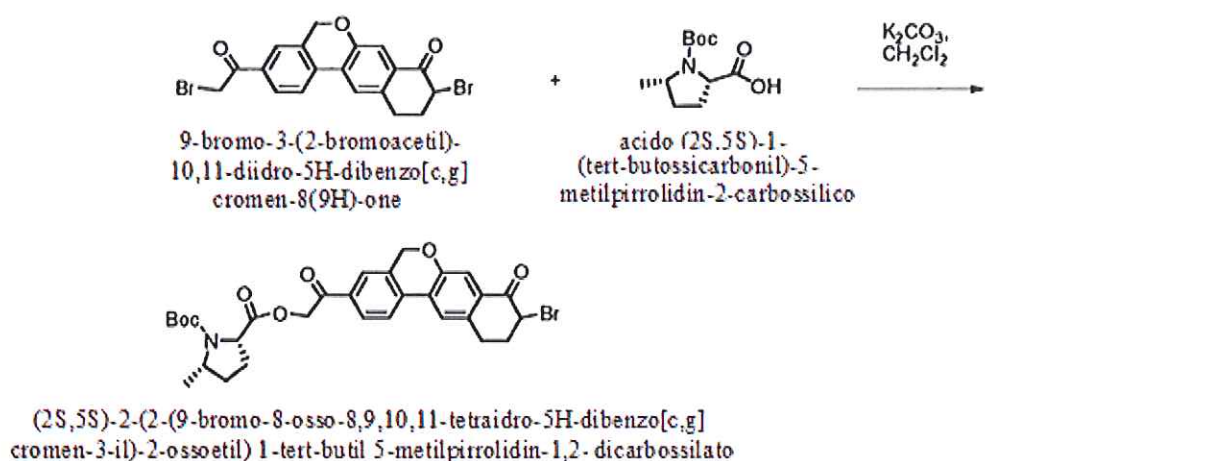
#### 3-Acetil-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one

Una fiala da 20 ml con barra agitatrice è stata caricata con 3-((trimetilsilil)etinitil)-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one (850 mg, 2,44 mmol) ed acido formico (9,8 ml). La soluzione è stata scaldata a 65°C. Dopo 3 h, la reazione è stata ritenuta completa. La miscela è stata concentrata a pressione ridotta; il residuo risultante è stato ripreso con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e caricato su una cartuccia di gel di silice preimpaccata da 25 g. Il prodotto è stato purificato mediante cromatografia su una colonna di gel di silice preimpaccata da 80 g eluendo con un gradiente di solvente di EtOAc dal 5% all'85%/esani. Le frazioni contenenti il prodotto sono state combinate e concentrate a dare 3-acetil-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one (616 mg, 86%): <sup>1</sup>H-NMR a 400 MHz (CDCl<sub>3</sub>) δ 8,00-7,94 (m, 1H), 7,81 (d, J=8,2 Hz, 1H), 7,77 (s, 1H), 7,64 (s, 2H), 5,16 (s, 2H), 2,98 (t, J=6,1 Hz, 2H), 2,69-2,64 (m, 2H), 2,63 (s, 3H), 2,21-2,09 (m, 2H).

#### 9-Bromo-3-(2-bromoacetil)-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one

Una fiala da 20 ml con una barra agitatrice è stata caricata con 3-acetil-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one (100 mg, 0,366 mmol), CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH 9:1 (3,4 ml) e tribromuro di piridinio (246 mg, 0,769 mmol). La soluzione è stata scaldata a 35°C. Dopo 30 min, la reazione è stata ritenuta completa. La miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, diluita con EtOAc (50 ml) e lavata consecutivamente con Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>3</sub> acquoso saturo (20 ml), con NaHCO<sub>3</sub> acquoso al 2% (20 ml), con acqua (20 ml) e con una soluzione salina satura (10 ml). La fase organica è stata essiccata su MgSO<sub>4</sub>, filtrata e concentrata a pressione ridotta risultando in 9-bromo-3-(2-bromoacetil)-10,11-diidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one (68 mg, 41%): <sup>1</sup>H-NMR a 400 MHz (CDCl<sub>3</sub>) δ 8,03-8,01 (m, 1H), 7,85 (d, J=8,2 Hz, 1H), 7,82 (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,67 (s, 1H), 5,19 (s, 2H), 4,74 (dd, J=4,1,4,1 Hz, 1H), 4,45 (s, 2H), 3,37-3,29 (m, 1H), 2,99-2,92 (m, 1H), 2,59-2,46 (m, 2H).

## Esempio PY-4



(2S,5S)-2-(2-(9-Bromo-8-osso-8,9,10,11-tetraidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-3-il)-2-ossoetil) 1-tert-butil 5-metilpirrolidin-1,2-dicarbossilato

- 5 9-Bromo-3-(2-bromoacetyl)-10,11-dihydro-5H-dibenzo[c,g]cromen-8(9H)-one (1,43 g, 3,17 mmol) è stato trattato con una soluzione di acido (2S,5S)-1-(tert-butossicarbonil)-5-metilpirrolidin-2-carbossilico (800 mg, 3,49 mmol) in diclorometano (14 ml) e  $K_2CO_3$  (658 mg, 1,18 mmol). La miscela di reazione mantenuta in agitazione è stata agitata a temperatura ambiente e diluita con  $CH_2Cl_2$  ed estratta 3x. La fase organica è stata lavata con una soluzione salina satura, quindi essiccata su  $MgSO_4$ , filtrata e concentrata a pressione ridotta a dare ((2S,5S)-2-(2-(9-bromo-8-osso-8,9,10,11-tetraidro-5H-dibenzo[c,g]cromen-3-il)-2-ossoetil) 1-tert-butil 5-metilpirrolidin-1,2-dicarbossilato (1,61 g, 84%).
- 10

Questa sintesi può essere utilizzata per preparare una varietà dei composti qui descritti, compreso il composto esemplificato in PY.



#### Saggi biologici

Effetto di proteine del siero sulla potenza del replicone: saggi su repliconi vengono condotti in terreno di coltura cellulare normale (DMEM + FBS al 10%) arricchito con concentrazioni fisiologiche di albumina sierica umana (40 mg/ml) o  $\alpha$ -glicoproteina acida (1 mg/ml). Le EC<sub>50</sub> in presenza di proteine sieriche umane sono confrontate con l'EC<sub>50</sub> in mezzo normale per determinare di quante volte si sposta la potenza.

Citotossicità verso cellule MT-4: cellule MT4 vengono trattate con diluizioni seriali di composti per un periodo di cinque giorni. La vitalità cellulare viene misurata alla fine del periodo di trattamento utilizzando il saggio Promega CellTiter-Glo e viene eseguita una regressione non lineare per calcolare la CC<sub>50</sub>.

Concentrazione del composto associata alle cellule all'EC<sub>50</sub>: colture di Huh-luc vengono incubate con il composto a concentrazioni uguali all'EC<sub>50</sub>. A momenti molteplici (0-72 ore), le cellule vengono lavate 2x con mezzo freddo ed estratte con acetonitrile all'85%; ad ogni momento verrà estratto anche un campione del mezzo. Le cellule ed i mezzi estratti vengono analizzati mediante LC-MS/MS per determinare la concentrazione molare dei composti in ciascuna frazione. Composti rappresentativi della descrizione hanno mostrato attività.

Solubilità e stabilità: la solubilità viene determinata prelevando un'aliquota di soluzione stock 10mM in DMSO e preparando il composto ad una concentrazione finale di 100 $\mu$ M in soluzioni dei mezzi di prova (PBS, pH 7,4 e HCl 0,1N, pH 1,5) con una concentrazione totale di DMSO dell'1%. Le soluzioni dei mezzi di prova vengono incubate a temperatura ambiente con agitazione per 1 h. Le soluzioni verranno quindi centrifugate ed i sovrantanti recuperati vengono saggiati mediante HPLC/UV. La solubilità verrà calcolata confrontando la quantità di composto rilevata nella soluzione di prova definita in confronto alla quantità rilevata in DMSO alla stessa concentrazione. Verrà anche determinata la stabilità dei composti dopo un'ora di incubazione con PBS a 37°C.

Stabilità in epatociti umani, di cane e di ratto criopreservati: ciascun composto viene incubato fino ad 1 h in sospensioni di epatociti (100  $\mu$ l, 80.000 cellule per pozzetto) a 37°C. Epatociti criopreservati vengono ricostituiti in un terreno privo di siero di incubazione. La sospensione viene trasferita in piastre da 96 pozzetti (50  $\mu$ l/pozzetto). I composti sono diluiti a 2 $\mu$ M nel mezzo di incubazione e quindi vengono aggiunti a sospensioni di epatociti per cominciare l'incubazione. I campioni vengono prelevati 0, 10, 30 e 60 min dopo l'inizio dell'incubazione e la reazione verrà spenta



5 con una miscela consistente di acido formico allo 0,3% in acetonitrile al 90%/acqua al 10%. La concentrazione del composto in ciascun campione viene analizzata utilizzando LC-MS/MS. L'emivita della scomparsa del composto nella sospensione di epatociti viene determinata interpolando i dati di concentrazione-tempo con un'equazione esponenziale monofasica. I dati verranno anche incrementati in scala per rappresentare l'eliminazione epatica intrinseca e/o l'eliminazione epatica totale.

10 Stabilità nella frazione epatica S9 da uomo, cane e ratto: ciascun composto viene incubato fino ad un'ora in sospensione di S9 (500 µl, 3 mg di proteina/ml) a 37°C (n = 3). I composti vengono aggiunti alla sospensione di S9 per cominciare l'incubazione. I campioni vengono prelevati 0, 10, 30 e 60 min dopo l'inizio dell'incubazione. La concentrazione del composto in ciascun campione viene analizzata utilizzando LC-MS/MS. L'emivita della scomparsa del composto nella sospensione di S9 viene determinata interpolando i dati di concentrazione-tempo con un'equazione esponenziale monofasica.

15 Permeabilità alle Caco-2: composti vengono saggiati attraverso un servizio a contratto (Absorption Systems, Exton, Pennsylvania). I composti vengono forniti all'assegnatario in modo cieco. Verrà misurata la permeabilità sia in avanti (da A a B) che inversa (da B ad A). Monostrati di Caco-2 vengono fatti crescere fino alla confluenza su membrane microporose di policarbonato rivestite di collagene, in piastre TRANSWELL® di Costar a 12 pozzetti. I composti vengono somministrati sul lato apicale per la permeabilità in avanti (da A a B) e vengono trattati sul lato basolaterale per la permeabilità inversa (da B ad A). Le cellule vengono incubate a 37°C con CO<sub>2</sub> al 5% in un incubatore umidificato. All'inizio dell'incubazione e 1 h e 2 h dopo l'incubazione, un'aliquota di 200 µl viene prelevata dalla camera ricevente e sostituita con tampone di saggio fresco. La concentrazione del composto in ciascun campione viene determinata con LC-MS/MS. Viene calcolata la permeabilità apparente, Papp.

25 Legame alle proteine plasmatiche: il legame alle proteine plasmatiche viene misurato mediante dialisi all'equilibrio. Ciascun composto viene iniettato in plasma bianco ad una concentrazione finale di 2µM. Il plasma addizionato ed il tampone fosfato vengono posti su lati opposti del celle per dialisi assemblate, che verranno quindi fatte ruotare lentamente in un bagno d'acqua a 37°C. Alla fine dell'incubazione, viene determinata la concentrazione del composto nel plasma e nel tampone fosfato. La percentuale non legata viene calcolata utilizzando l'equazione seguente:



$$\% \text{ non legata} = 100 \cdot \left( \frac{C_f}{C_b + C_f} \right)$$

in cui  $C_f$  e  $C_b$  sono concentrazioni libere e legate determinate rispettivamente come concentrazioni successive alla dialisi nel tampone e nel plasma.

5 Profilo in CYP450: ciascun composto viene incubato con ciascuno di 5 enzimi CYP450 umani ricombinanti, compresi CYP1A2, CYP2C9, CYP3A4, CYP2D6 e CYP2C19 in presenza ed in assenza di NADPH. Dalla miscela di incubazione verranno prelevati campioni seriali all'inizio dell'incubazione e 5, 15, 30, 45 e 60 minuti dopo l'inizio dell'incubazione. La concentrazione del composto nella miscela di incubazione viene determinata mediante LC-MS/MS. La percentuale del composto rimanente dopo l'incubazione a ciascun momento viene calcolata per confronto con il campionamento all'inizio dell'incubazione.

10 Stabilità in plasma di ratto, di cane, di scimmia e umano: i composti saranno incubati fino a 2 h nel plasma (di ratto, di cane, di scimmia o umano) a 37°C. I composti vengono aggiunti al plasma alle concentrazioni finali di 1 e 10 µg/ml. Aliquote vengono prelevate 0, 5, 15, 30, 60 e 120 minuti dopo l'aggiunta del composto. La concentrazione dei composti e dei metaboliti principali a ciascun momento vengono misurati mediante LC-MS/MS.

15 Valutazione dell'attività anti-HCV basata su cellule: la potenza antivirale ( $EC_{50}$ ) è stata determinata utilizzando una saggio basato sulla luciferasi di Renilla (RLuc) del replicone dell'HCV reporter. Per eseguire il saggio per JFH-1 di genotipo 1 e 2a, cellule HCV 1a RLuc con replicone stabili (ospitanti un replicone H77 del genotipo dicistronico 1a che codifica un reporter di RLuc), cellule HCV 1b RLuc con replicone stabili (ospitanti un replicone Con1 del genotipo dicistronico 1b che codifica un reporter di RLuc), o cellule HCV JFH di 2a-1 RLuc con replicone stabili (ospitanti un replicone JFH-1 del genotipo dicistronico 2a che codifica un reporter di RLuc; con L31 presente in NS5A) sono stati  
20 distribuiti in piastre da 384 pozzetti per saggi di  $EC_{50}$ . Per eseguire il saggio per il genotipo 2a (con M31 presente in NS5A) o 2b, vengono forniti repliconi chimerici JFH-1 del genotipo 2a di NS5A che codifica un reporter di RLuc-Neo e rispettivamente il gene di NS5A del ceppo J6 del genotipo 2a o gene di NS5A del ceppo MD2b-1 del genotipo 2b (entrambi con M31 presente), sono stati trasfettati in modo temporaneo (t) in cellule Huh-Lunet oppure sono stati stabiliti



5 come cellule con replicone replicanti stabilmente (s). Entrambe le cellule sono state distribuite in piastre da 384 pozzetti per saggi di  $EC_{50}$ . Per eseguire il saggio per i genotipi 3 e 4, repliconi chimerici Con1 del genotipo 1b di NS5A che codificano un reporter di Pi-RLuc e rispettivamente il gene di NS5A del ceppo S52 del genotipo 3a o il gene di NS5A del ceppo ED43 del genotipo 4a, sono state trasfettate in modo temporaneo (t) in cellule Huh-Lunet, che sono state  
10 successivamente distribuite in piastre da 384 pozzetti. I composti sono stati disciolti in DMSO ad una concentrazione di 10mM e diluiti in DMSO manualmente o utilizzando uno strumento per la pipettatura automatizzata. I composti diluiti 3 serialmente volte sono stati miscelati manualmente con terreni di coltura cellulare e sono stati aggiunti alle cellule seminate o aggiunti direttamente alle cellule utilizzando uno strumento automatizzato. DMSO è stato utilizzato come controllo negativo (solvente; nessuna inibizione) e l'inibitore della proteasi ITMN-191 è stato incluso ad una  
15 concentrazione  $> 100 \times EC_{50}$  come controllo positivo. Dopo 72 h, le cellule sono state lisate e l'attività della luciferasi di Renilla è stata quantificata come raccomandato dal produttore (Promega-Madison, Wisconsin). La regressione non lineare è stata eseguita per calcolare i valori di  $EC_{50}$ .

Per determinare la potenza antivirale ( $EC_{50}$ ) nei confronti di mutanti resistenti, mutazioni di resistenza, comprese M28T, Q30R, Q30H, L31M, e Y93C in NS5A del genotipo 1a e Y93H in NS5A del genotipo 1b, sono stati introdotte  
20 singolarmente in o repliconi Pi-Rluc di 1a o Pi-Rluc di 1b mediante mutagenesi sito-diretta. RNA del replicone di ciascun mutante resistente è stato trasfettato in modo temporaneo in cellule cured-51 derivate da Huh-7 e la potenza antivirale è stata determinata su queste cellule trasfettate come descritto sopra.

Gli intervalli di  $EC_{50}$  per il genotipo 1a, Q30R di 1a, e JFH di 2a sono i seguenti: A  $\geq 44nM$ , B = da 1nM a 43,99nM, C  $< 1nM$ . Gli intervalli di  $EC_{50}$  per il genotipo 2a J6, 2b, 3a e 4a sono i seguenti: A  $\geq 5nM$ , B = da 1nM a 4,99nM, C  $< 1nM$ . Gli intervalli di  $EC_{50}$  per il genotipo J6 di 2a, 2b e 4a corrispondono al saggio di cellule trasfettate in  
25 modo temporaneo (t). Se questi dati non sono disponibili, viene fornito l'intervallo di  $EC_{50}$  per le cellule stabilmente replicanti (s).

Studi farmacocinetici con dose singola IV e PO in ratti SD: la farmacocinetica di composti scelti è stata caratterizzata in ratti Sprague-Dawley (SD) maschio (250-300 g). In questo studio, due gruppi di ratti SD non sofisticati  
di razza pura (N=3 per gruppo, a digiuno per una notte) hanno ricevuto il composto scelto come infusione endovenosa



(IV) (1 mg/kg nel corso di 30 min) attraverso la vena giugulare o mediante somministrazione orale con sonda (2 mg/kg). Il veicolo di dosaggio per la via endovenosa (IV) era etanolo al 5%, polietilenglicole 400 (PEG 400) al 35% ed acqua al 60% pH a 2,0. Il veicolo di dosaggio orale era etanolo al 5%, PEG 400 al 55% e tampone citrato a pH 2,2 al 40%.

5 Campioni seriali di sangue (approssimativamente 0,3 ml ciascuno) sono stati raccolti dalla vena giugulare o da un'altra vena adatta a momenti specificati. Per il gruppo dell'infusione IV, i campioni di sangue sono stati prelevati prima della somministrazione e 0,25, 0,48, 0,58, 0,75, 1, 5, 3, 6, 8, 12 e 24 ore dopo l'inizio dell'infusione. Per il gruppo orale, i campioni di sangue sono stati prelevati prima della somministrazione e 0,25, 0,50, 1, 2, 4, 6, 8, 12 e 24 ore dopo il trattamento. I campioni di sangue sono stati prelevati in provette Vacutainer™ contenenti EDTA-K<sub>3</sub> come anticoagulante e sono stati centrifugati ad approssimativamente 4°C per ottenere il plasma. I campioni di plasma sono stati conservati a  
10 -20°C fino all'analisi mediante LC-MS/MS.

Un metodo bioanalitico che utilizza la cromatografia liquida a pressione elevata accoppiato alla spettrometria di massa tandem (LC-MS/MS) è stato sviluppato per l'analisi del composto scelto nel plasma di ratto. Il rilevamento è stato eseguito utilizzando il monitoraggio della reazione selezionata (SRM); ioni rappresentanti la specie precorritrice (M+H)<sup>+</sup> sono stati scelti in quadrupolo 1 (Q1) e fatti collidere con gas argon nella cella di collisione (Q2) per generare un prodotto  
15 ionico specifico che è stato successivamente monitorato mediante il quadrupolo 3 (Q3). La curva standard e campioni per il controllo di qualità sono stati preparati in plasma di ratto maschio e trattati nello stesso modo dei campioni di prova per generare dati quantitativi.

Parametri farmacocinetici sono stati generati utilizzando l'analisi farmacocinetica non compartimentale (Phoenix WinNonlin, versione 6.3). Ai valori sotto il limite inferiore di quantificazione (LLOQ) è stato assegnato un  
20 valore di zero se precedenti alla somministrazione ed in seguito sono stati trattati come assente. L'area sotto la curva (AUC) è stata calcolata utilizzando la regola del trapezoide lineare. La biodisponibilità orale (%F) è stata determinata mediante il confronto dell'area sotto la curva (AUC) del composto e/o di un metabolita generato nel plasma dopo la somministrazione orale con quella generata dopo la somministrazione endovenosa.

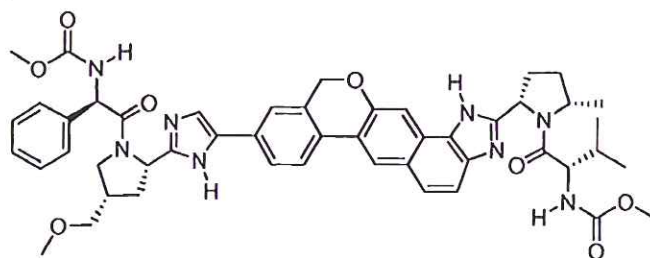


#	Esempio No.	1b (nM)	1a	Q30R di 1a	JFH di 2a	J6 di 2a	2b	3a	4a	1a (nM)	Q30R di 1a (nM)	JFH di 2a (nM)	J6 di 2a (t) (nM)	J6 di 2a (s) (nM)	2b (t) (nM)	2b (s) (nM)	3a (nM)	4a (t) (nM)	4a (s) (nM)	%F nel ratto
599	PY	0,009	C	C	C	C	C	C	C	0,012	0,013	0,006	0,009	0,098	0,007	0,030	0,017		0,018	27,7



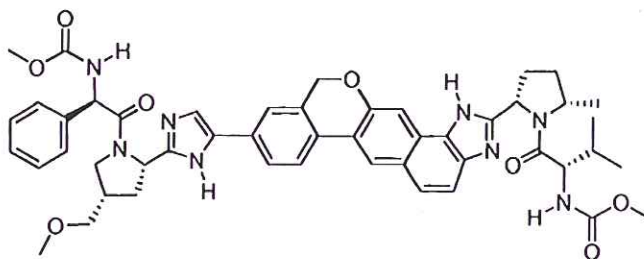
## RIVENDICAZIONI

1. Un composto di formula:



5 o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

2. Un composto di formula:



3. Una composizione farmaceutica comprendente il composto o un sale farmaceuticamente accettabile come descritto nella rivendicazione 1 ed almeno un veicolante farmaceuticamente accettabile.

10 4. Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 3, comprendente inoltre un inibitore nucleosidico o nucleotidico della polimerasi NS5B di HCV.

5. Composto o sale farmaceuticamente accettabile come descritto nella rivendicazione 1 per uso in un metodo di trattamento dell'epatite C.

15 6. Composto o sale farmaceuticamente accettabile per l'uso secondo la rivendicazione 5, in combinazione con un inibitore nucleosidico o nucleotidico della polimerasi NS5B di HCV.



7. Una composizione farmaceutica comprendente il composto come descritto nella rivendicazione 2 ed almeno un veicolante farmaceuticamente accettabile.

8. Composizione farmaceutica secondo la rivendicazione 7, comprendente inoltre un inibitore nucleosidico o nucleotidico della polimerasi NS5B di HCV.

5 9. Composto come descritto nella rivendicazione 2 per uso in un metodo di trattamento dell'epatite C.

10. Composto per l'uso secondo la rivendicazione 9, in combinazione con un inibitore nucleosidico o nucleotidico della polimerasi NS5B di HCV.

10

Il sottoscritto dichiara che la presente traduzione è conforme al testo originale.

15

