

TRADUZIONE DEL BREVETTO EUROPEO

No. **2 867 240**

a nome: Poxel

di nazionalità: francese

a: 69007 Lyon/FRANCIA

dal titolo: **Derivati di tienopiridone come attivatori della AMPK**

- - - - -

**Descrizione**

L'invenzione si riferisce a composti che sono attivatori diretti della AMPK (protein chinasi attivata da AMP) e al loro uso nel trattamento di disturbi regolati dalla attivazione della AMPK. Per esempio, i composti secondo l'invenzione sono utili per il trattamento di diabete, sindrome metabolica, obesità, malattie del fegato, steatosi epatica, malattia non alcolica del fegato grasso (NAFLD), steatoepatite non alcolica (NASH), fibrosi epatica, dislipidemia, ipertrigliceridemia, iper-colesterolemia, infiammazione, cancro, malattie cardiovascolari, aterosclerosi, ipertensione, retinopatie o neuropatie.

**Antefatto e introduzione all'invenzione**

La AMPK è ben conosciuta come un sensore e regolatore dell'omeostasi energetica cellulare. L'attivazione allosterica di questa chinasi causata dall'au-

mento dei livelli di AMP si verifica negli stati di esaurimento di energia cellulare. La risultante fosforilazione serina/treonina di enzimi bersaglio porta ad un adattamento del metabolismo cellulare allo stato di bassa energia. L'effetto netto di attivazione della AMPK ha indotto cambiamenti nell'inibizione di processi che consumano ATP e l'attivazione di pathway di generazione di ATP, e quindi la rigenerazione delle riserve di ATP. Esempi di substrati AMPK includono acetil-CoA carbossilasi (ACC) e HMG-CoA reduttasi. La fosforilazione e quindi l'inibizione della ACC porta alla riduzione simultanea delle sintesi degli acidi grassi (che consuma ATP) e l'aumento della ossidazione degli acidi grassi (che genera ATP). La fosforilazione e la conseguente inibizione della HMG-CoA reduttasi porta ad una diminuzione della sintesi del colesterolo. Altri substrati della AMPK includono lipasi ormone-sensibile, glicerolo-3-fosfato aciltransferasi, malonil-CoA decarbossilasi.

La AMPK è anche coinvolta nella regolazione del metabolismo del fegato. Una elevata produzione di glucosio da parte del fegato è una delle principali cause di iperglicemia a digiuno nel diabete di tipo 2 (T2D). La gluconeogenesi nel fegato è regolata da diversi enzimi quali fosfoenolpiruvato carbossichinasi

(PEPCK) e glucosio-6-fosfatasi-G6Pase. L'attivazione della AMPK sopprime la trascrizione di questi geni in cellule di epatoma.

L'attivazione della AMPK regola anche verso il basso la gluconeogenesi agendo su una qualche altra espressione dei geni. Questi effetti possono essere dovuti alla sua capacità di sotto-regolare fattori di trascrizione chiave come SREBP-1c, ChREBP, o HNF-4alfa o per dirigere coattivatori trascrizionali fosforilati, come p300 orTORC2.

La AMPK è considerata come un candidato per l'assorbimento di glucosio muscolo scheletrico indotto da contrazione perché viene attivata in parallelo con elevazione in AMP e una riduzione nella provvista energetica di creatina fosfato. Inoltre, l'attivazione indotta da Aicar della AMPK aumenta l'assorbimento del glucosio in concomitanza con la fusione del trasportatore 4 (GLUT4) glucosio con la membrana plasmatica. La sovra-espressione di una subunità morta di alfa2 chinasi nel muscolo scheletrico abolisce AICAR, ma in parte ostacola l'assorbimento del glucosio stimolato da una contrazione. Questi risultati suggeriscono che i percorsi aggiuntivi mediano l'assorbimento del glucosio indotto da contrazione, mentre è chiaro che AMPK media gli effetti di AICAR

sull'assorbimento del glucosio.

Nonostante studi approfonditi su stimoli a monte che attivano la AMPK, risulta carente l'indagine sul substrato (o sui substrati) a valle dell'assorbimento del glucosio mediato da AMPK. Rapporti più recenti hanno rivelato che il substrato Akt di 160kDa (AS160) è un importante substrato a valle di Akt che è coinvolto nell'assorbimento del glucosio stimolato da insulina. In aggiunta all'insulina, la contrazione e l'attivazione della AMPK da parte di AICAR sono associati ad un aumento della fosforilazione di AS160 nel muscolo scheletrico di roditori. La fosforilazione di AS160 è compromessa o abolita nel muscolo scheletrico di topi AMPK  $\alpha 2$  knockout,  $\alpha 3$  knockout, e  $\alpha 2$ -chinasi morti in risposta al trattamento di AICAR. Questo avvalorava i risultati di una compromissione dell'assorbimento del glucosio stimolato da AICAR nel muscolo scheletrico di tali topi. Pertanto, AS160 sembra essere un bersaglio a valle della AMPK nel mediare l'assorbimento del glucosio nel muscolo scheletrico.

Nel loro insieme, tutti questi effetti metabolici provano che AMPK sopprime la gluconeogenesi epatica e la produzione di lipidi, mentre diminuisce la deposizione di lipidi epatici attraverso una maggiore ossidazione dei lipidi, migliorando così i profili

glucidici e lipidici in T2D.

Più di recente, il coinvolgimento della AMPK nella regolazione del metabolismo non solo cellulare, ma anche di tutto il metabolismo energetico del corpo, è diventato evidente. È stato dimostrato che l'ormone leptina derivato da adipocita porta ad una stimolazione della AMPK e quindi ad un aumento della ossidazione degli acidi grassi nel muscolo scheletrico. L'adiponectina, un altro ormone derivato da adipociti che porta ad un miglioramento dei carboidrati e al metabolismo dei lipidi, ha dimostrato di stimolare la AMPK nel fegato e nei muscoli scheletrici. L'attivazione della AMPK in queste circostanze sembra indipendente dall'aumento dei livelli di AMP cellulare, ma piuttosto a causa di fosforilazione da parte di una o più chinasi a monte ancora da identificare.

Sulla base della conoscenze delle conseguenze suddette dell'attivazione della AMPK, effetti benefici profondi sarebbero attesi dall'attivazione *in vivo* della AMPK. Nel fegato, ci si aspetta una diminuita espressione di enzimi gluconeogenici per ridurre la produzione epatica di glucosio e migliorare l'omeostasi del glucosio nel complesso; ci si dovrebbe attendere che sia l'inibizione diretta e/o la ridotta espressione di enzimi chiave nel metabolismo

lipidico debbano aumentare l'assorbimento del glucosio e l'ossidazione degli acidi grassi e assorbimento con conseguente miglioramento della omeostasi del glucosio e, a causa di una riduzione dell'accumulo dei trigliceridi intra-miociti, per una migliore azione dell'insulina. Infine, l'aumento del dispendio energetico dovrebbe portare ad una diminuzione del peso corporeo. Ci si aspetta che la combinazione di questi effetti nella sindrome metabolica riduca in modo significativo il rischio di sviluppare malattie cardiovascolari.

Diversi studi su roditori supportano questa ipotesi. Fino a poco tempo fa, la maggior parte degli studi *in vivo* si riferiva all'attivatore della AMPK AICAR, una cellula precursore permeabile di ZMP. ZMP, un analogo strutturale di AMP, funge come un imitatore di AMP intracellulare e, quando accumulato a livelli sufficientemente elevati, è in grado di stimolare l'attività della AMPK. Tuttavia, ZMP agisce anche come un imitatore di AMP nella regolazione di altri enzimi, e non è quindi uno specifico attivatore della AMPK. Diversi studi *in vivo* hanno dimostrato gli effetti benefici di entrambe le somministrazioni di AICAR acute e croniche in modelli di obesità e diabete di tipo 2 di roditori. Ad esempio, 7 settima-

ne di somministrazione di AICAR in ratti obesi Zucker (fa/fa) porta ad una riduzione dei trigliceridi plasmatici e acidi grassi liberi, un aumento del colesterolo HDL, e una normalizzazione del metabolismo del glucosio valutato mediante un test di tolleranza al glucosio orale (Minokoshi Y. et al. "Leptin stimulates fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase", Nature, 415, 339, -2002)). In entrambi i topi ob/ob e db/db, 8 giorni di somministrazione di AICAR riducono il glucosio nel sangue del 35% (Halseth AE et al. "Acute and chronic treatment of ob/ob e db/db mice with AICAR decreases blood glucose concentrations", Biochem. Biophys. Res. Comm., 294, 798 (2002)). Oltre a AICAR, si è constatato che il farmaco per il diabete metformina può attivare AMPK *in vivo* ad alte concentrazioni, anche se deve essere determinato in quale misura la sua azione antidiabetica si basi su questa attivazione. Come con la leptina e l'adiponectina, l'effetto stimolante della metformina è indiretta attraverso l'attivazione di una chinasi a monte. Più recentemente, è stata descritta una piccola molecola attivatrice della AMPK. Questo attivatore diretto della AMPK, chiamato A-769662, è un tienopiridone e induce *in vivo* una diminuzione dei livelli plasmatici di glucosio e trigli-

ceridi.

Oltre all'intervento farmacologico, diversi modelli di topi transgenici sono stati sviluppati negli ultimi anni, e i primi risultati stanno diventando disponibili. L'espressione della AMPK dominante negativo nel muscolo scheletrico di topi transgenici ha dimostrato l'effetto di AICAR sulla stimolazione del trasporto di glucosio dipende dalla attivazione della AMPK, e quindi probabilmente non è causato da effetti non specifici di ZMP. Studi simili in altri tessuti contribuiranno a definire ulteriormente le conseguenze di attivazione della AMPK. Si prevede che l'attivazione farmacologica della AMPK avrà benefici nella sindrome metabolica con migliore metabolismo glucidico e lipidico e riduzione del peso corporeo. Al fine di qualificare un paziente come avente una sindrome metabolica, tre dei seguenti cinque criteri devono essere soddisfatti:

1) pressione sanguigna elevata (superiore a 130/85 mmHg),

2) glicemia a digiuno al di sopra 110 mg/dl,

3) obesità addominale superiore a 40" (uomini) o 35" (le donne) di circonferenza della vita

e cambiamenti dei lipidi nel sangue come definiti da

4) aumento dei trigliceridi al di sopra di 150 mg/dl o

5) riduzione del colesterolo HDL al di sotto di 40 mg/dl (uomini) o 50 mg/dl (donne).

Pertanto, gli effetti combinati che possono essere raggiunti attraverso l'attivazione della AMPK in un paziente che è qualificato come avente sindrome metabolica potrebbero suscitare l'interesse di questo obiettivo.

La stimolazione della AMPK ha dimostrato di stimolare l'espressione di proteine di disaccoppiamento 3 (UCP3) muscolo scheletrico e potrebbe quindi essere un modo per evitare danni da specie reattive dell'ossigeno. La NO sintasi endoteliale (eNOS) ha dimostrato di essere attivata attraverso la fosforilazione mediata da AMPK, pertanto l'attivazione della AMPK può essere utilizzata per migliorare i sistemi circolatori locali.

La AMPK ha un ruolo nella regolazione del pathway di mTOR. mTOR è una serina/treonina chinasi ed è un regolatore chiave della sintesi proteica. Per inibire la crescita delle cellule e proteggere le cellule da apoptosi indotta da fame di glucosio, AMPK fosforila TSC2 in Thr-1227 e in Ser-1345, aumentando l'attività dei complessi TSC1 e TSC-2 per inibire m-

TOR. Inoltre, l'AMPK inibisce l'azione di mTOR per fosforilazione in Thr-2446. Così, la AMPK indirettamente e direttamente inibisce l'attività di mTOR per limitare la sintesi proteica. La AMPK può anche essere un obiettivo terapeutico per molti tumori che hanno attivazione costitutiva del pathway di segnalazione PI3K-Akt. Il trattamento di varie linee cellulari tumorali di AICAR ha attenuato la proliferazione cellulare in studi sia *in vitro* che *in vivo*. Due rapporti collegano il trattamento con la metformina, con un minor rischio di cancro nei pazienti diabetici.

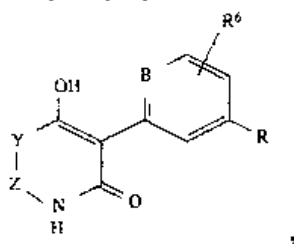
L'attivazione della AMPK da AICAR ha dimostrato di ridurre l'espressione degli enzimi lipogenici FAS e ACC, con conseguente soppressione della proliferazione di cellule tumorali della prostata. Molte cellule tumorali mostrano un marcato aumento del tasso di sintesi di acidi grassi *de novo* correlata con alti livelli di FAS. L'inibizione della FAS sopprime la proliferazione delle cellule tumorali e induce la morte delle cellule. Così, l'attivazione della AMPK e inibizione dell'attività FAS è un obiettivo chiaro per la terapia farmacologica dei tumori.

In alcune pubblicazioni è stato descritto che AICAR, come attivatore della AMPK, esercita effetti anti-infiammatori. È stato osservato che AICAR atte-

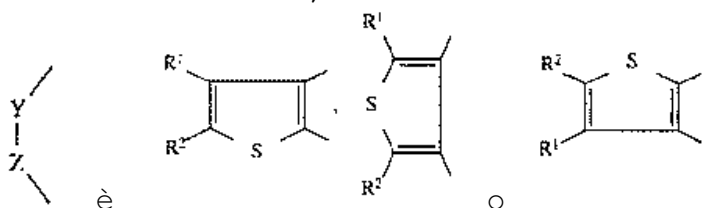
nua la produzione di citochine e mediatori proinfiammatori, AICAR nel modello di ratto in vitro attenua la progressione di EAE limitando l'infiltrazione di leucociti attraverso la barriera ematoencefalica (BBB) ed è stato suggerito di recente che agenti attivanti AMPK agiscono come agenti anti-infiammatori e possono contenere un potenziale terapeutico nella malattia di Krabbe/malattia twitcher (una malattia neurologica ereditaria).

**Tecnica anteriore**

Il documento US 5602144 descrive derivati di tienopiridone della formula

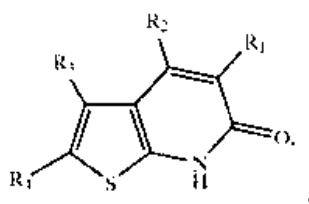


In cui B è CH o N, e



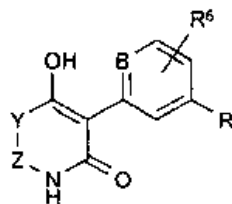
per il trattamento di ischemia cerebrale o schizofrenia.

Il documento US 7119205 descrive derivati di tienopiridoni di formula

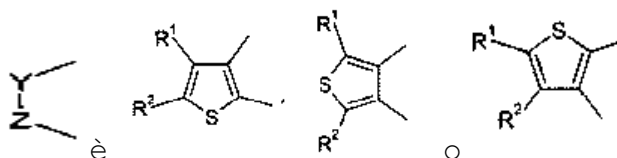


in cui  $R_1$  non è un gruppo arilico né un gruppo eteroarilico, utile per il trattamento del diabete, della obesità come attivatori della AMPK.

Il documento WO2007/019914 descrive derivati di



tienopiridone della formula

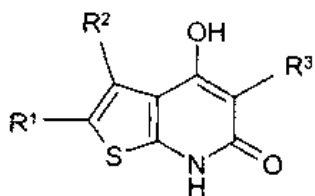


in cui B è CH o N e

utile per il trattamento del diabete, della obesità come attivatori della AMPK.

Il documento WO2009/124636 descrive derivati di

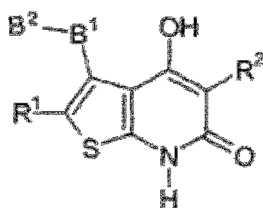
tienopiridoni della formula



in cui  $R^2$  è un gruppo arilico o un gruppo eteroarilico, utile per il trattamento del diabete, della obesità come attivatori della AMPK.

Il documento WO2009/135580 descrive derivati di

tienopiridoni della formula

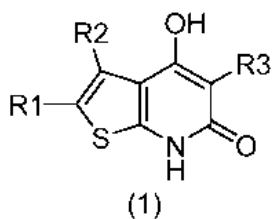


, in cui  $B^1$  e  $B^2$  sono gruppi arilici e

eteroarilici, utile per il trattamento del diabete,,  
obesità come attivatori della AMPK.

### Descrizione dell'invenzione

La presente invenzione descrive composti di formula (1)



caratterizzati dal fatto che:

R1 rappresenta un atomo di idrogeno o un atomo di alogeno;

R2 rappresenta un gruppo indanile o tetralinile, sostituito o meno da uno o più (ad esempio 2, 3, 4, 5, 6 o 7) gruppi scelti tra atomi di alogeno, gruppi alchilici, ossidrile, gruppi alcossilici, ammino, gruppi mono- o di-alchilamminici, gruppi carbossilici, gruppi alchilossicarbonilici, gruppi mono- o di-alchilamminocarbonilici, carbossammide, ciano, alchilsolfonile e gruppi trifluorometilici.

R3 rappresenta un gruppo arilico o eteroarilico, sostituito o meno da uno o più (ad esempio 2, 3, 4 o 5) atomi o gruppi scelti tra atomi di alogeno, gruppi alchilici, ossidrilici, gruppi alcossilici, gruppi aralchilossilici, amminici, gruppi mono- o di-alchilamminici, gruppi carbossilici, gruppi alchilos-

sicarbonilici, gruppi mono- o di-alchilamminocarbo-  
nilici, carbossamide, ciano, alchilsolfonile e gruppi  
trifluorometilici,  
in cui i composti sono come definiti nella rivendica-  
zione 1.

I composti di formula (1) includono anche i loro  
isomeri geometrici, tautomeri, epimeri, enantiomeri,  
stereoisomeri, diastereoisomeri, racemati, sali far-  
maceuticamente accettabili, solvati e loro miscele in  
tutte le proporzioni.

I composti di formula (1) sono attivatori diret-  
ti della AMPK.

I composti di formula (1) sono utili per il  
trattamento di malattie per le quali l'attivazione  
della AMPK ha un effetto positivo sulla salute del  
soggetto. Tra le malattie per le quali il trattamento  
con composti di formula (1) è adatto possono essere  
citati diabete, sindrome metabolica, obesità, malat-  
tie del fegato, steatosi epatica, malattia non alco-  
lica del fegato grasso (NAFLD), steatoepatite non al-  
colica (NASH), fibrosi epatica, dislipidemia, iper-  
trigliceridemia, ipercolesterolemia, infiammazione,  
cancro, malattie cardiovascolari, aterosclerosi,  
ipertensione, retinopatie o neuropatie.

In accordo con la presente invenzione e come qui

usato, i seguenti termini sono definiti con i seguenti significati se non diversamente specificato.

Il termine "gruppo alchilico" indica una catena lineare o ramificata satura con da 1 a 5 atomi di carbonio, come metile, etile, n-propile, iso-propile, n-butile, sec-butile, iso-butile o ter-butile. Preferibilmente, i gruppi alchilici sono catene lineari o ramificate sature di tra 1 e 3 atomi di carbonio, come metile, etile, n-propile o gruppi iso-propile.

Il termine "gruppo arilico" indica un gruppo aromatico C<sub>6</sub>-C<sub>18</sub>, come un gruppo fenilico o un gruppo naftilico, eventualmente sostituito da uno o più atomi o gruppi scelti tra atomi di alogeno, gruppi alchilici, ossidrile (OH), gruppi alchilossilici, ammino (NH<sub>2</sub>), gruppi mono o di-alchilamminici, carbossi (COOH), gruppi alchilossicarbonilici, gruppi mono o di-alchilamminocarbonilici, carbossamide (CONH<sub>2</sub>), ciano (CN), gruppi alchilsolfonilici e tri-fluorometilici (CF<sub>3</sub>). Più specificamente, il gruppo arilico può essere sostituito o meno da atomi di fluoro, cloro, bromo, ossidrile, metossi, etossi, ammino, dimetilammino, dietilammino, metile, etile, n-propile, n-butile, iso-propile, sec-butile, iso-butile, tert-butile, carbossi, metossicarbonile, etossicarbonile, carbossamide, dimetilamminocarbonile, metilaminocar-

bonile, ciano, metilsolfonile, o un gruppo trifluorometilico.

Il termine gruppo "alchilossilico" (o "alcossilico") si riferisce a un gruppo alchilico come sopra definito legato al resto della molecola attraverso un atomo di ossigeno. Tra i gruppi alchilossi possono essere più specificamente citati i gruppi metossilici e i gruppi etossilici.

Il termine "gruppo alchilamminico" si riferisce a un gruppo alchilico come sopra definito legato al resto della molecola attraverso un atomo di azoto. Tra i gruppi alchilamminici possono essere citati i gruppi dimetilamminici e dietilamminici.

Il termine "gruppo alchilossicarbonilico" si riferisce a un gruppo alchilossilico come sopra definito legato al resto della molecola attraverso un gruppo carbonilico.

Il termine "gruppo alchilamminocarbonilico" si riferisce a un gruppo alchilamminico o come sopra definito legato al resto della molecola attraverso un gruppo carbonilico.

Il termine "alchilsolfonile" indica un alchile come sopra definito legato al resto della molecola attraverso un gruppo  $\text{SO}_2$ . Tra i gruppi alchilsolfonilici possono essere citati i gruppi metilsolfonilici

ed etilsolfonilici.

Il termine "atomo di alogeno" indica un atomo scelto tra fluoro, cloro, bromo e iodio.

Il termine "gruppo eteroarilico" indica un gruppo aromatico C<sub>5</sub>-C<sub>18</sub> comprendente uno o più eteroatomi scelti tra azoto, ossigeno e zolfo. Tra i gruppi eteroarilici possono essere citati piridina, pirazina, pirimidina, tiofene, furano, isossazolo, isotiazolo, pirazolo, imidazolo. Tali gruppi possono essere sostituiti da atomi o gruppi scelti tra atomi di alogeno, gruppi alchilici, ossidrile (OH), gruppi alchilossilici, amminici (NH<sub>2</sub>), gruppi mono o di-alchilamminici, carbossilici (COOH), gruppi alchilossicarbonilici, gruppi mono- o di-alchilamminocarbonilici, carbossamide (CONH<sub>2</sub>), ciano (CN), gruppi alchilsolfonilici e trifluorometilici (CF<sub>3</sub>). Più specificamente, il gruppo eteroarilico può essere sostituito o meno con atomi di fluoro, cloro, bromo, ossidrile, metossi, etossi, ammino, dimetilammino, dietilammino, metile, etile, n-propile, n-butile, iso-propile, sec-butile, iso-butile, tert-butile, carbossi, metossicarbonile, etossicarbonile, carbossamide, dimetilamminocarbonile, metilaminocarbonile, ciano, metilsolfonile, o un gruppo trifluorometilico.

"Solvati" dei composti sono adottati nella pre-

sente invenzione per significare adduzioni di molecole di solvente inerte sui composti che si formano a causa della loro reciproca forza di attrazione. Solvati sono, per esempio, mono- o diidrati o alcolati.

Qui descritti sono composti di formula (1) in cui R1 rappresenta un atomo di alogeno, in particolare un atomo di cloro.

Qui descritti sono composti di formula (1), in cui R2 rappresenta un gruppo tetralinilico sostituito o meno da uno o più (ad esempio 2, 3, 4, 5, 6 o 7) gruppi scelti tra atomi di alogeno, gruppi alchilici, ossidrile, gruppi alcossilici, ammino, gruppi mono o di-alchilammino, gruppi carbossilici, gruppi alchilossicarbonilici, gruppi mono- o di-alchilamminocarbonilici, carbossamide, ciano, alchilsolfonile e gruppi trifluorometilici.

Qui descritti sono composti di formula (1), in cui R2 rappresenta un gruppo indanilico sostituito o meno da uno o più (ad esempio 2, 3, 4, 5 o 6) gruppi scelti tra atomi di alogeno, gruppi alchilici, ossidrili, gruppi alcossilici, ammino, gruppi mono o di-alchilamminici, gruppi carbossilici, gruppi alchilossicarbonilici, gruppi mono o di-alchilamminocarbonilici, carbossammide, ciano, alchilsolfonile e gruppi trifluorometilici.

Alcuni composti di formula (1) sono tali che R2 rappresenta un gruppo indanilico o tetralinilico sostituito da 1 o 2 sostituenti, più specificamente R2 rappresenta un gruppo indanilico o tetralinilico non sostituito o sostituito da un gruppo ossidrilico.

Qui descritti sono composti di formula (1) in cui R3 rappresenta un gruppo arilico, in particolare composti di formula (1), in cui R3 rappresenta un gruppo fenilico, sostituito o meno da uno o più (ad esempio 2, 3, 4 o 5) atomi o gruppi scelti tra atomi di alogeno, gruppi alchilici, ossidrile, gruppi alcossilici, gruppi aralchilossilici, ammino, gruppi mono o di-alchilamminici, gruppi carbossilici, gruppi alchilossicarbonilici, gruppi mono o di-alchilamminocarbonilici, carbossammide, ciano, alchilsolfonile e gruppi trifluorometilici.

Anche qui descritti sono composti di formula (1), in cui R3 rappresenta un gruppo piridile, sostituito o meno da uno o più (ad esempio 2, 3 o 4) atomi o gruppi scelti tra atomi di alogeno, gruppi alchilici, ossidrile, gruppi alcossilici, gruppi aralchilossilici, amminici, gruppi mono o di-alchilamminici, gruppi carbossilici, gruppi alchilossicarbonilici, gruppi mono o di-alchilamminocarbonilici, carbossamidici, ciano, alchilsolfonilici e gruppi trifluorome-

tilici.

Il composto di formula (1) può essere tale che R3 rappresenta un gruppo arile o eteroarile sostituito da 1 o 2 sostituenti, preferibilmente da 1 sostituyente.

Più specificamente, il composto di formula (1) può essere tale che R3 rappresenta un gruppo arile o eteroarile, preferibilmente un gruppo fenile o piridile, sostituito o meno da uno o più (ad esempio 2, 3, o 4) atomi o gruppi scelti tra un atomo di alogeno, un gruppo alchilico, alcossilico ed un gruppo ciano.

I composti specifici di formula (1) secondo la presente invenzione possono essere sotto forma di un sale, preferibilmente un sale di sodio o di potassio. In particolare, i composti specifici di formula (1) secondo la presente invenzione possono essere sotto forma di un sale mono-, di- o tri-sodio o potassio.

L'invenzione si riferisce inoltre a e forme cristalline e polimorfe di composti di formula (1) secondo la presente invenzione e i suoi derivati, come descritto sopra.

La presente invenzione è diretta non solo a miscele racemiche di questi composti, ma anche a singoli stereoisomeri e/o diastereoisomeri così o come lo-

ro miscele in tutte le proporzioni.

I composti specifici di formula (1) secondo la presente invenzione sono i seguenti:

2-cloro-4-idrossi-3-indan-5-il-5-fenil-7H-tieno  
[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-5-(4-fluorofenil)-4-idrossi-3-indan-5-il-  
7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-4-idrossi-3-indan-5-il-5-(3-metossifenil)-  
7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-4-idrossi-3-indan-5-il-5-(4-metossifenil)-  
7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

3-(2-cloro-4-idrossi-3-indan-5-il-6-oxo-7H-tieno  
[2,3-b]piridin-5-il)benzotrile

2-cloro-4-idrossi-3-indan-5-il-5-(3-metilfenil)-7H-  
tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-5-(4-fluorofenil)-4-idrossi-3-(4-idrossi-  
indan-5-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-5-(3-fluorofenil)-4-idrossi-3-(4-idrossi-  
indan-5-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-4-idrossi-3-indan-5-il-5-(3-piridil)-7H-  
tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-4-idrossi-3-(4-idrossiindan-5-il)-5-fenil-  
7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-5-(2-fluorofenil)-4-idrossi-3-(4-idrossi-  
indan-5-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-4-idrossi-3-(5-idrossitetralin-6-il)-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

3-(2-cloro-4-idrossi-6-oxo-3-tetralin-6-il-7H-tieno[2,3-b]piridin-5-il)benzonnitrile

2-cloro-4-idrossi-5-(3-piridil)-3-tetralin-6-il-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

trisodio 2-cloro-3-(5-oxidotetralin-6-il)-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridins-4,6-diolato

2-cloro-4-idrossi-5-fenil-3-tetralin-6-il-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-5-(4-fluorofenil)-4-idrossi-3-(5-idrossitetralin-6-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

disodio 2-cloro-3-(5-oxidotetralin-6-il)-6-oxo-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-4-olato

2-cloro-4-idrossi-3-(5-idrossitetralin-6-il)-5-(3-metilfenil)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-4-idrossi-3-(5-idrossitetralin-6-il)-5-(4-metilfenil)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-5-(3-fluorofenil)-4-idrossi-3-(5-idrossitetralin-6-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

sodio 2-cloro-3-(5-idrossitetralin-6-il)-6-oxo-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-4-olato

potassio 2-cloro-3-(5-idrossitetralin-6-il)-6-oxo-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-4-olato.

**Preparazione di composti di formula (1)**

I composti della presente invenzione possono essere preparati in un certo numero di metodi ben noti agli esperti nella tecnica, inclusi, ma senza essere ad essi limitati, quelli descritti di seguito, o attraverso modifiche di questi metodi applicando tecniche standard note agli esperti nella tecnica della sintesi organica. Tutti i processi descritti in associazione con la presente invenzione sono previsti per essere messi in pratica in qualsiasi scala, tra cui il milligrammo, il grammo, il multigrammo, il chilogrammo, il multichilogrammo o a scala industriale commerciale.

Si comprenderà che i composti della presente invenzione possono contenere uno o più atomi di carbonio asimmetrico sostituiti, e possono essere isolati in forme otticamente attive o racemiche. Così, tutte le forme chirali, diastereomeriche, racemiche e tutte le forme isomeriche geometriche di una struttura sono destinate, a meno che la stereochimica specifica o la forma isomerica siano specificamente indicate. È ben noto nella tecnica come preparare tali forme otticamente attive. Ad esempio, le miscele di stereoisomeri possono essere separate con tecniche standard, tra cui, ma senza essere ad essi limitati, la risoluzione di forme racemiche, normali, in fase inversa e cromat-

tografia chirale, formazione preferenziale di sale, ricristallizzazione, e simili, o per sintesi chirale sia da materiali di partenza attivi o mediante sintesi chirale deliberata di centri di riferimento.

Nelle reazioni descritte qui di seguito, può essere necessario proteggere gruppi funzionali reattivi, per esempio ossidrile, ammino, immino, tio o gruppi carbossilici, quando questi sono desiderati nel prodotto finale, per evitare la loro partecipazione indesiderata nelle reazioni. Gruppi di protezione convenzionali possono essere utilizzati in conformità con la prassi normale, ad esempio, si veda T.W. Greene e P. G. M. Wuts in *Protective Groups in Organic Chemistry*, John Wiley e Sons, 1991; J. F. W. McOmie in *Protective Groups in Organic Chemistry*, Plenum Press, 1973.

Alcune reazioni possono essere effettuate in presenza di una base. Non vi è alcuna limitazione particolare sulla natura della base da utilizzare in questa reazione, e qualsiasi base convenzionalmente utilizzata in reazioni di questo tipo può essere ugualmente utilizzata qui, purché non abbia effetti negativi sulle altre parti della molecola. Esempi di basi adatte includono: idrossido di sodio, carbonato di potassio, tertiobutilato di potassio, tertioamila-

to di sodio, trietilammina, esametildisilazide di potassio, idruri di metalli alcalini, come idruro di sodio e idruro di potassio; composti di alchillitio, come metillitio e butillitio; e alcossidi di metalli alcalini, come metossido di sodio e etossido di sodio.

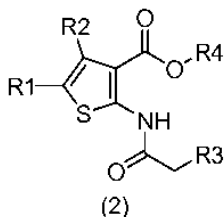
Solitamente, le reazioni vengono condotte in un solvente adatto. Una varietà di solventi possono essere utilizzati a condizione che non abbiano alcun effetto negativo sulla reazione o sui reagenti coinvolti. Esempi di solventi adatti comprendono: idrocarburi, che possono essere idrocarburi aromatici, alifatici o cicloalifatici, quali esano, cicloesano, benzene, toluene e xilene; ammidi quali dimetilformamide; alcoli come etanolo e metanolo ed eteri come dietiletere, diossano e tetraidrofurano.

Le reazioni possono avvenire in un ampio intervallo di temperature. In generale, troviamo conveniente effettuare la reazione a una temperatura da 0°C a 150°C (più preferibilmente da circa temperatura ambiente a 100°C). Il tempo necessario per la reazione può anche variare ampiamente, a seconda di molti fattori, in particolare dalla temperatura di reazione e dalla natura dei reagenti. Tuttavia, a condizione che la reazione venga effettuata nelle condizioni

preferite sopra indicate, un periodo da 3 ore a 20 ore è generalmente sufficiente.

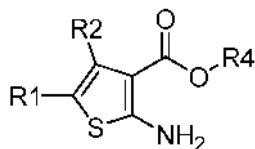
Il composto così preparato può essere recuperato dalla miscela di reazione mediante mezzi convenzionali. Ad esempio, i composti possono essere recuperati mediante distillazione del solvente dalla miscela di reazione o, se necessario, dopo distillazione del solvente dalla miscela di reazione, versando il residuo in acqua seguita da estrazione con un solvente organico immiscibile con acqua e distillazione il solvente dall'estratto. Inoltre, il prodotto può, se desiderato, essere ulteriormente purificato mediante varie tecniche ben note, come ricristallizzazione, riprecipitazione o varie tecniche di cromatografia, in particolare cromatografia su colonna o cromatografia preparativa su strato sottile.

Composti di formula (1) possono essere ottenuti da composti di formula (2)

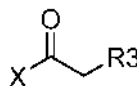


in cui R1, R2 e R3 hanno il significato precedentemente descritto, in cui R4 è metile o etile e una base come, ma senza essere ad essi limitati, esametildisilazide di potassio o idruro di sodio.

Composti di formula (2) possono essere ottenuti dalla reazione tra composti di formula (3) e di composti di formula (4):



(3)



(4)

in cui R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> e R<sub>4</sub> hanno il significato precedentemente descritto in cui X è OH oppure un atomo di alogeno (come Cl o Br).

Quando X è OH, è necessario un agente di accoppiamento carbodiimmidico, come ad esempio, ma non limitato a HBTU (si veda il seguente collegamento internet per una descrizione approfondita: <http://chemicalland21.com/lifescince/phar/HBTU.htm>).

I composti di formula (3) sono facilmente preparati da una persona esperta nel campo da una reazione di Gewald descritta nel Journal Heterocycle Chemistry, vol. 36, pagina 333, 1999.

### **Sali farmaceutici e altre forme**

I composti secondo l'invenzione possono essere utilizzati nella loro forma non salina finale. D'altra parte, la presente invenzione comprende anche l'uso di questi composti in forma di loro sali farmaceuticamente accettabili, che possono essere derivati da vari acidi organici e inorganici e basi mediante

procedimenti noti nella tecnica. Forme di sali farmaceuticamente accettabili dei composti di formula (1) sono per la maggior parte preparate con metodi convenzionali. Se il composto di formula (1) contiene un gruppo carbossilico, un suo sale adatto può essere formato facendo reagire il composto con una base adatta per dare il corrispondente sale di addizione basica. Tali basi sono, per esempio, idrossidi di metalli alcalini, compresi idrossido di potassio, idrossido di sodio e idrossido di litio; idrossidi di metalli alcalino-terrosi, quali idrossido di bario e idrossido di calcio; alcossidi di metalli alcalini, per esempio etossido di potassio e propossido di sodio; e varie basi organiche, come piperidina, dietanolammina e N-metilglutammina. I sali di alluminio dei composti di formula (1) sono altresì inclusi. Nel caso di alcuni composti di formula (1), sali di addizione acida possono essere formati trattando questi composti con acidi organici ed inorganici farmaceuticamente accettabili, per esempio alogenuri di idrogeno, quali acido cloridrico, acido bromidrico o iodidrico, altri acidi minerali e corrispondenti sali, come solfato, nitrato o fosfato e simili, e alchil- e monoarilsolfonati, come etansolfonato, toluensolfonato e benzensolfonato, e altri acidi organici e

corrispondenti sali degli stessi, quali acetato, trifluoroacetato, tartrato, maleato, succinato, citrato, benzoato, salicilato, ascorbato e simili. Pertanto, sali farmaceuticamente accettabili di addizione acida dei composti di formula (1) sono i seguenti: acetato, adipato, alginato, arginato, aspartato, benzoato, benzensolfonato (besilato), bisolfato, bisolfito, bromuro, butirrato, canforato, canforsolfonato, caprilato, cloruro, clorobenzoato, citrato, ciclopentanepropionato, digluconato, diidrogenofosfato, dinitrobenzoate, dodecilsolfato, etansolfonato, fumarato, galacterato (da acido mucico), galacturonato, glucoeptanoato, gluconato, glutammato, glicerofosfato, emisuccinato, emisolfato, eptanoato, esanoato, ippurato, cloridrato, bromidrato, iodidrato, 2-idrossietanesolfonato, ioduro, isetionato, isobutirrato, lattato, lattobionato, malato, maleato, malonato, mandelato, metafosfato, metansolfonato, benzoato di metile, monoidrogenofosfato, 2-naftalensolfonato, nicotinato, nitrato, ossalato, oleato, palmoato, pettinato, persolfato, fenilacetato, 3-fenilpropionato, fosfato, fosfonato, ftalato, ma questo non rappresenta una restrizione.

Inoltre, i sali di base dei composti secondo l'invenzione includono alluminio, ammonio, calcio,

rame, ferro (III), ferro (II), litio, magnesio, manganese (III), manganese (II), potassio, sodio e zinco sali, ma ciò non è destinato a rappresentare una restrizione. Dei sali summenzionati, la preferenza è data all'ammonio; sali metalli alcalini di sodio e potassio, e alcalino terrosi di calcio e magnesio. Sali dei composti della formula (1) che sono derivati da basi non tossiche organiche farmaceuticamente accettabili comprendono sali di ammine primarie, secondarie e terziarie, ammine sostituite, includendo anche le ammine sostituite presenti in natura, ammine cicliche e resine basiche a scambio ionico, per esempio arginina, betaina, caffeina, cloroprocaina, colina, N,N'-dibenziletilenediammina (benzatina), dicicloesilammina, dietanolammina, dietilammina, 2-dietilamminoetanolo, 2-dimetilamminoetanolo, etanolammina, etilendiammina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucammina, glucosamina, istidina, idrabamina, isopropilammina, lidocaina, lisina, meglummina, N-metil-D-glucammina, morfolina, piperazina, piperidina, resine poliamminiche, procaina, purine, teobromina, trietanolammina, trietilammina, trimetilammina, tripropilammina e tris(idrossimetil)metilammina (trometamina), ma ciò non è destinato a rappresentare una restrizione.

I composti della presente invenzione che contengono gruppi basici contenenti azoto possono essere quaternarizzati con agenti quali alogenuri alchilici(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>), ad esempio metile, etile, isopropile e tert-butilcloruro, bromuro e ioduro; dialchile(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) solfati, ad esempio dimetil, dietil e diamil-solfato; alchil(C<sub>10</sub>-C<sub>16</sub>)alogenuri, ad esempio decil-, dodecil-, lauril- stearyl- e miristil-cloruro, bromuro e ioduro; e arilalchile(C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>) alogenuri, ad esempio benzilcloruro e fenetilbromuro. Entrambi i composti solubili in acqua e in olio secondo l'invenzione possono essere preparati usando tali sali.

I sali farmaceutici sopra citati che sono preferiti includono acetato, trifluoroacetato, besilato, citrato, fumarato, gluconato, emisuccinato, ippurato, cloridrato, bromidrato, isetionato, mandelato, meglumina, nitrato, oleato, fosfonato, pivalato, fosfato di sodio, stearato, solfato, solfosalicilato, tartrato, aurotiomalato, tosilato e trometamina, ma ciò non è destinato a rappresentare una restrizione.

I sali di addizione acida dei composti basici di formula (1) vengono preparati portando la forma di base libera a contatto con una quantità sufficiente dell'acido desiderato, causando la formazione del sale in modo convenzionale. La base libera può essere

rigenerata mettendo la forma di sale in contatto con una base e isolando la base libera in un modo convenzionale. Le forme di base libera differiscono in un certo rispetto dalle loro corrispondenti forme di sale rispetto ad alcune proprietà fisiche, come la solubilità in solventi polari; per gli scopi della presente invenzione, tuttavia, i sali altrimenti corrispondono alle loro rispettive forme di base libera.

Come citato, i sali di addizione basica farmaceuticamente accettabili di composti di formula (1) sono formati con metalli o ammine, come metalli alcalini e metalli alcalino terrosi o ammine organiche. Metalli preferiti sono sodio, potassio, magnesio e calcio. Le ammine organiche preferite sono N,N'-dibenziletilenediammina, cloroprocaina, colina, dietanolammina, etilendiammina, N-metil-D-glucammina e procaina.

I sali di addizione basica di composti acidi secondo l'invenzione vengono preparati portando la forma acida libera in contatto con una quantità sufficiente della base desiderata, causando la formazione del sale in modo convenzionale. L'acido libero può essere rigenerato portando la forma di sale in contatto con un acido e isolando l'acido libero in un modo convenzionale. Le forme di acido libero differi-

scono in un certo rispetto dalle loro corrispondenti forme di sale per quanto riguarda alcune proprietà fisiche, come la solubilità in solventi polari; per gli scopi della presente invenzione, tuttavia, i sali corrispondono altrimenti alle loro rispettive forme di acido libero.

Se un composto secondo l'invenzione contiene più di un gruppo capace di formare sali farmaceuticamente accettabili di questo tipo, l'invenzione comprende anche diversi sali. Tipiche forme di sali multipli includono, per esempio, bitartrato, diacetato, difumarato, dimeglumina, difosfato, sodio e tricloridrato, ma questo non è destinato a rappresentare una restrizione.

Con riferimento a quanto riportato sopra, si può vedere che l'espressione "sale farmaceuticamente accettabile" nel presente contesto si intende un principio attivo che comprende un composto di formula (1) in forma di un suo sale, in particolare se questa forma di sale conferisce migliori proprietà farmacocinetiche sul principio attivo rispetto alla forma libera del principio attivo o di una qualsiasi altra forma di sale del principio attivo utilizzato in precedenza. La forma di sale farmaceuticamente accettabile del principio attivo può anche fornire questo

principio attivo per la prima volta con una proprietà farmacocinetiche desiderata che non ha avuto in precedenza e può anche avere un effetto positivo sulla farmacodinamica di questo principio attivo rispetto alla sua efficacia terapeutica nel corpo.

Composti di formula (1) secondo l'invenzione possono essere chirali a causa della loro struttura molecolare e possono verificarsi conseguenza in varie forme enantiomeriche. Essi possono quindi esistere in forma racemica o in forma otticamente attiva.

Poiché le attività farmacologiche dei racemati o degli stereoisomeri dei composti secondo l'invenzione possono essere diverse, può essere desiderabile utilizzare enantiomeri. In questi casi, il prodotto finale o anche gli intermedi possono essere separati in composti enantiomerici mediante misure chimiche o fisiche note alla persona esperta del ramo o anche impiegati come tali nella sintesi.

Nel caso di ammine racemiche, diastereoisomeri sono formati dalla miscela mediante reazione con un agente di risoluzione otticamente attivo. Esempi di agenti di risoluzione adatti sono acidi otticamente attivi come forme di acido tartarico R ed S, acido diacetiltartarico, acido dibenzoiltartarico, acido mandelico, acido malico, acido lattico, amminoacidi

opportunamente N-protetti (per esempio N-benzoilprolina o N-benzenesolfonilprolina), o i vari acidi canforsolfonici otticamente attivi. Anche vantaggiosa è la risoluzione dell'enantiomero cromatografica con l'aiuto di un agente di risoluzione otticamente attivo (ad esempio dinitrobenzoilfenilglicina, triacetato di cellulosa o altri derivati di carboidrati o polimeri di metacrilato chiralmente derivatizzati immobilizzati su gel di silice). Eluenti adatti per questo scopo sono le miscele di solventi acquosi o alcolici, quali, ad esempio, esano/isopropanolo/acetonitrile, per esempio nel rapporto 82:15:3.

Per la risoluzione chirale dei racemati, possono essere utilizzati i seguenti acidi ed ammine: Come esempi, possono essere utilizzati i seguenti acidi chirali: acido (+)-D-di-O-benzoiltartarico, acido (-)-L-di-O-benzoiltartarico, acido (-)-L-di-O,O'-p-toluile-L-tartarico, acido (+)-D-di-O,O-p-toluile-L-tartarico, acido (R)-(+)-malico, acido (S)-(-)-malico, acido (+)-canforico, acido (-)-canforico, acido R-(-)1,1'-binaftalen-2,2'-diile idrogenofosforico, acido (+)-camfanico, acido (-)-camfanico, acido (S)-(+)-2-fenilpropionico, acido (R)-(+)-2-fenilpropionico, acido D-(-)-mandelico, acido L-(+)-mandelico, acido D-tartarico, acido L-tartarico, o qual-

siasi miscela di questi.

Come esempi, possono essere utilizzate le seguenti ammine chirali: chinina, brucina, (S)-1-(benzilossimetil)propilammina (III), (-)-efedrina, (4S, 5R)-(+)-1,2,2,3,4-tetrametil-5-fenil-1,3-ossazolidina, (R)-1-fenil-2-p-tolilettilammina, (S)-fenilglicino, (-)-N-metilefedrina, (+)-(2S,3R)-4-dimetilammino-3-metil-1,2-difenil-2-butanolo, (S)-fenilglicino, (S)- $\alpha$ -metilbenzilammina o una qualsiasi miscela di questi.

La presente invenzione riguarda anche i composti dell'invenzione per l'uso in un metodo di trattamento di un soggetto, in particolare di trattamento del diabete, sindrome metabolica, obesità, malattie del fegato, steatosi epatica, malattia non alcolica del fegato grasso (NAFLD), steatoepatite non alcolica (NASH), la fibrosi epatica, dislipidemia, ipertrigliceridemia, ipercolesterolemia, l'infiammazione, il cancro, le malattie cardiovascolari, l'aterosclerosi, ipertensione, retinopatie o neuropatie.

In una forma di realizzazione preferita, i composti dell'invenzione sono per l'uso in un metodo di trattamento del diabete, sindrome metabolica, obesità, malattie del fegato, steatosi epatica, malattia non alcolica del fegato grasso (NAFLD), steatoepatite

non alcolica (NASH ), la fibrosi epatica, dislipidemia, ipertrigliceridemia o ipercolesterolemia.

Il termine "cancro" nella presente invenzione comprende il cancro con tumori solido o liquido. In particolare, esso si riferisce a glioblastoma, neuroblastoma, leucemie, cancro prostatico, cancro ovarico, cancro polmonare, cancro mammario, cancri digestivi, in particolare cancro epatico, cancro pancreatico, cancro alla testa e al collo, cancro al colon, linfoma e melanoemi.

L'invenzione si riferisce inoltre, a composizioni farmaceutiche comprendenti almeno un composto secondo all'invenzione e un supporto farmaceuticamente accettabile.

Anche qui descritto è un metodo per trattare malattie regolate mediante attivazione della AMPK, più specificamente il diabete, sindrome metabolica, obesità, malattie del fegato, steatosi epatica, malattia non alcolica del fegato grasso (NAFLD), steatoepatite non alcolica (NASH), fibrosi epatica, dislipidemia, ipertrigliceridemia, ipercolesterolo, infiammazione, cancro, malattie cardiovascolari, aterosclerosi, ipertensione, retinopatie o neuropatie, il metodo comprendente la somministrazione ad un soggetto che ne ha necessità di una quantità efficace di un compo-

sto dell'invenzione.

Anche qui descritto è l'uso dei composti dell'invenzione per la preparazione di una composizione, in particolare per il trattamento di farmaco di diabete, steatosi epatica, malattia non alcolica del fegato grasso (NAFLD), steatoepatite non alcolica (NASH), la fibrosi epatica, dislipidemia, ipertrigliceridemia, ipercolesterolo, l'infiammazione, il cancro, le malattie cardiovascolari, l'aterosclerosi, ipertensione, retinopatie o neuropatie.

La composizione farmaceutica secondo l'invenzione può essere preparata mediante un qualsiasi metodo convenzionale. I composti della presente invenzione possono essere convertiti in un dosaggio adatto qui insieme con almeno un solido, liquido e/o un eccipiente semi-liquido o adiuvante e, se desiderato, in associazione con uno o più altri principi attivi.

Il termine "supporto farmaceuticamente accettabile" si riferisce ad un veicolo, adiuvante, o eccipiente accettabile al soggetto da un punto di vista tossicologico/farmacologico e alla produzione chimica farmaceutica da un punto di vista fisico/chimico riguardo alla composizione, formulazione, stabilità, accettazione per il soggetto e la biodisponibilità.

Il termine "vettore", "adiuvante", o "eccipien-

te" si riferisce a qualsiasi sostanza, non di per sé un agente terapeutico, che viene aggiunta ad una composizione farmaceutica da utilizzare come veicolo, adiuvante e/o diluente per il rilascio di un agente terapeutico ad un soggetto per migliorarne le proprietà di trattamento o conservazione o per consentire o facilitare la formazione di una unità di dosaggio della composizione in un articolo discreto. Le composizioni farmaceutiche dell'invenzione, singolarmente o in combinazione, possono comprendere uno o più agenti o veicoli scelti tra disperdenti, solubilizzanti, stabilizzanti, conservanti, ecc.

Il termine "trattamento" o "trattare" si riferisce alla terapia, la prevenzione e la profilassi di una malattia che può essere potenzialmente regolata dall'attivazione della AMPK, in particolare diabete, sindrome metabolica, obesità, malattie del fegato, steatosi epatica, malattia non alcolica del fegato grasso (NAFLD), steatoepatite non alcolica (NASH), la fibrosi epatica, dislipidemia, ipertrigliceridemia, ipercolesterolemia, l'infiammazione, il cancro, le malattie cardiovascolari, l'aterosclerosi, ipertensione, retinopatie o neuropatie.

Il trattamento prevede la somministrazione di un composto o di una composizione farmaceutica ad un

soggetto avente una malattia dichiarata per curare, ritardare o rallentare la progressione, migliorando così la condizione dei pazienti. Il trattamento può essere anche somministrato a soggetti sani che sono a rischio di sviluppare un disturbo, in particolare diabete, sindrome metabolica, obesità, malattie del fegato, steatosi epatica, malattia non alcolica del fegato grasso (NAFLD), non steatoepatite alcolica (NASH), fibrosi epatica, dislipidemia, ipertrigliceridemia, ipercolesterolemia, infiammazione, il cancro, malattie cardiovascolari, aterosclerosi, ipertensione, retinopatie o neuropatie.

Nel contesto dell'invenzione, il termine "soggetto" indica un mammifero e più in particolare un uomo. I soggetti da trattare secondo l'invenzione possono essere opportunamente selezionati in base a diversi criteri associati alla malattia come trattamenti con precedenti farmaci, patologie associate, genotipo, esposizione a fattori di rischio, infezione virale, così come qualsiasi altro biomarker pertinente che può essere valutato mediante metodi immunologici, biochimici, enzimatici, chimici, o un metodo di rilevazione degli acidi nucleici. In una particolare forma di realizzazione, il soggetto è un paziente sovrappeso (in particolare, un paziente prediabetico

sovrappeso) o pazienti obesi affetti da dislipidemia aterogena. In effetti, questi pazienti sono a rischio di sviluppare una malattia che può essere potenzialmente regolata dalla attivazione della AMPK, in particolare diabete, sindrome metabolica, obesità, malattie del fegato, steatosi epatica, malattia non alcolica del fegato grasso (NAFLD), steatoepatite non alcolica (NASH), fibrosi epatica, dislipidemie, ipertrigliceridemia, ipercolesterolemia, infiammazione, cancro, malattie cardiovascolari, aterosclerosi, ipertensione, retinopatie o neuropatie.

Composizioni farmaceutiche possono essere somministrate in forma di unità di dosaggio che comprendono una quantità predeterminata di un principio attivo per unità di dosaggio. Tale unità può comprendere, ad esempio, da 0,5 mg a 1 g, preferibilmente da 1 mg a 700 mg, in particolare preferibilmente da 5 mg a 100 mg, di un composto secondo l'invenzione, a seconda della condizione della malattia trattata, il metodo di somministrazione e l'età, il peso e la condizione del paziente, o composizioni farmaceutiche possono essere somministrate in forma di unità di dosaggio che comprendono una quantità predeterminata di ingrediente attivo per unità di dosaggio. Formulazioni di unità di dosaggio preferite sono quelle comprendenti

una dose giornaliera o parte di dosaggio, come indicato sopra, od una corrispondente frazione di principio attivo. Inoltre, le composizioni farmaceutiche di questo tipo possono essere preparati utilizzando un processo che è generalmente noto nella tecnica farmaceutica.

Il rapporto tra i composti dell'invenzione ed il supporto farmaceuticamente accettabile può essere compreso in un ampio intervallo. In particolare, questo rapporto può essere compreso tra 5/95 (p/p) e 95/5 (p/p), preferibilmente tra 10/90 (p/p) e 90/10 (p/p), in particolare tra 10/90 (p/p) e 50/50 (p/p).

Composizioni farmaceutiche possono essere adattate per la somministrazione tramite qualsiasi metodo adatto desiderato, ad esempio metodi per via orale (compresa la buccale o sublinguale), rettale, nasale, topica (compresa la via buccale, sublinguale o transdermica), vaginale o parenterale (includendo la via sottocutanea, intramuscolare, endovenosa o intradermica). Tali composizioni possono essere preparate utilizzando tutti i processi noti nella tecnica farmaceutica, ad esempio, combinando il principio attivo con uno o più eccipienti o uno o più adiuvanti.

Formulazioni farmaceutiche adatte per la somministrazione orale possono essere somministrate come

unità separate, come ad esempio, capsule o compresse; polveri o granuli; soluzioni o sospensioni in liquidi acquosi o non acquosi; schiume alimentari o alimenti in schiuma; emulsioni liquide olio-in-acqua o emulsioni liquide acqua-in-olio.

Così, ad esempio, in caso di somministrazione orale sotto forma di compressa o capsula, i principi attivi possono essere combinati con un eccipiente inerte orale, non tossico e farmaceuticamente accettabile, come, ad esempio, etanolo, glicerolo, acqua e simili. Polveri sono preparate mediante lo sminuzzamento di composto, ad una dimensione fine adatta e mescolandola con un eccipiente farmaceutico sminuzzato in modo simile, come, ad esempio, un carboidrato commestibile, come, ad esempio, amido o mannitolo. Un aroma, un conservante, un disperdente e un colorante possono essere ugualmente presenti.

La capsule sono prodotte preparando una miscela di polveri come descritta sopra e riempiendo con essa gusci formati di gelatina. Glidanti e lubrificanti, come, per esempio, acido silicico alta dispersione, talco, stearato di magnesio, stearato di calcio o polietilenglicol in forma solida, possono essere aggiunti alla miscela di polvere prima dell'operazione di riempimento. Un disintegrante o un solubilizzante,

come agar-agar, carbonato di calcio o carbonato di sodio, possono altresì essere aggiunti per migliorare la disponibilità del farmaco dopo che la capsula era stata assunta.

Inoltre, se desiderato o necessario, opportuni leganti, lubrificanti e disinteganti così come coloranti possono altresì essere incorporati nella miscela. Leganti adatti comprendono amido, gelatina, zuccheri naturali, quali, ad esempio, glucosio o beta-lattosio, dolcificanti a base di mais, gomme naturali e sintetiche, quali, ad esempio, acacia, gomma adragante o alginato di sodio, carbossimetilcellulosa, polietilenglicole, cere, e simili. I lubrificanti usati in queste forme di dosaggio includono oleato di sodio, stearato di sodio, stearato di magnesio, sodio benzoato, sodio acetato, sodio cloruro e simili. I disintegranti comprendono, senza essere ad essi limitati, amido, metilcellulosa, agar, bentonite, gomma xantana e simili. Le compresse sono formulate, per esempio, preparando una miscela di polveri, granulando o pressando a secco la miscela, aggiungendo un lubrificante e un disgregante e premendo l'intera miscela a dare compresse. Una miscela di polveri viene preparata miscelando il composto sminuzzato in modo adeguato con un diluente o una base, come descritto

sopra, e facoltativamente con un legante, come, per esempio, carbossimetilcellulosa, alginato, gelatina o polivinilpirrolidone, un ritardante di dissoluzione, quali, ad esempio, paraffina, un acceleratore di assorbimento, quali, ad esempio, un sale quaternario, e/o assorbente, come ad esempio bentonite, caolino o fosfato bicalcico. La miscela in polvere può essere granulata bagnando con un legante, come, ad esempio, sciroppo, pasta di amido, mucillagine di acadia o soluzioni di cellulosa o materiali polimerici e premendo attraverso un setaccio. In alternativa alla granulazione, la miscela di polveri può essere eseguita attraverso una macchina comprimitrice, dando grumi di forma non uniforme che sono rotti fino a formare granuli. I granuli possono essere lubrificati mediante aggiunta di acido stearico, un sale stearato, talco o olio minerale per impedire l'attaccamento agli stampi di formatura della compressa. La miscela lubrificata viene poi pressata a dare compresse. I composti secondo l'invenzione possono anche essere combinati con un eccipiente inerte a flusso libero e poi pressati direttamente a dare compresse senza effettuare la granulazione o fasi di pressatura a secco. Uno strato protettivo trasparente o opaco costituito da uno strato di tenuta di gommalacca, uno strato di zucche-

ro o di materiale polimerico e uno strato lucido di cera possono essere presenti. Coloranti possono essere aggiunti a questi rivestimenti per essere in grado di distinguere tra diverse unità di dosaggio.

I liquidi orali, quali, per esempio, soluzioni, sciroppi ed elisir, possono essere preparati in forma di unità di dosaggio in modo che una data quantità comprenda una quantità pre-specificata dei composti. Gli sciroppi possono essere preparati sciogliendo il composto in una soluzione acquosa con un aroma adeguato, mentre gli elisir sono preparati utilizzando un veicolo alcolico non tossico. Le sospensioni possono essere formulate mediante dispersione del composto in un veicolo non tossico. Solubilizzanti ed emulsionanti, come, ad esempio, alcoli etossilati isostearilici ed eteri di sorbitolo poliossietilenico, conservanti, additivi aromatici quali, ad esempio, olio di menta piperita o dolcificanti naturali o la saccarina o altri dolcificanti artificiali e simili, possono pure essere aggiunti.

Le formulazioni di unità di dosaggio per la somministrazione orale possono, se desiderato, essere incapsulati in microcapsule. La formulazione può anche essere preparata in modo tale che il rilascio sia esteso o ritardato, quali, ad esempio, per rivesti-

mento o incorporamento di materiale particellare in polimeri, cera e simili.

I composti secondo l'invenzione possono anche essere somministrati sotto forma di sistemi di liposomi, quali, ad esempio, piccole vescicole unilamellari, grandi vescicole unilamellari e vescicole multilamellari. I liposomi possono essere formati da vari fosfolipidi, come, per esempio, colesterolo, stearylammina o fosfatidilcolina.

I composti secondo l'invenzione possono anche essere forniti usando anticorpi monoclonali come vettori individuali a cui sono accoppiati molecole di composto. I composti possono anche essere accoppiati a polimeri solubili come veicoli di farmaci mirati.

Tali polimeri possono comprendere polivinilpirrolidone, copolimero pirano, poliidrossipropilmetacrilammidofenolo, poliidrossietilaspirtamidofenolo o polilisina ossido di polietilene, sostituito da radicali di palmitoile. I composti possono inoltre essere accoppiati ad una classe di polimeri biodegradabili che sono adatti per realizzare un rilascio controllato di un medicamento, per esempio l'acido polilattico, poli-epsilon-caprolattone, acido poliidrossibutirrico, poliortoesteri, poliacetali, polidiidrossipirani, policianoacrilati e copolimeri a blocchi re-

ticolati o anfipatici di idrogel.

Composizioni farmaceutiche adatte per la somministrazione transdermica possono essere somministrate come cataplasmi indipendenti per un contatto ravvicinato esteso, con l'epidermide del destinatario. Così, per esempio, il principio attivo può essere trasportato dal cataplasma per ionoforesi, come descritto in termini generali in *Pharmaceutical Research*, 3 (6), 318 (1986).

Composizioni farmaceutiche adattate per la somministrazione topica possono essere formulate come unguenti, creme, sospensioni, lozioni, polveri, soluzioni, paste, gel, spray, aerosol o oli.

Per il trattamento degli occhi o altri tessuti esterni, ad esempio, bocca e pelle, le composizioni vengono preferibilmente applicate come unguento topico o crema. Nel caso di una formulazione per dare un unguento, il principio attivo può essere impiegato sia con una base di crema paraffinica o miscibile con acqua. In alternativa, il principio attivo può essere formulato per dare una crema a base di crema olio-in-acqua o una base di acqua-in-olio.

Composizioni farmaceutiche adatte per applicazione topica per l'occhio includono collirio, in cui il principio attivo viene disciolto o sospeso in un

adatto veicolo, in particolare un solvente acquoso.

Composizioni farmaceutiche adatte per l'applicazione topica in bocca comprendono losanghe, pastiglie e collutori.

Composizioni farmaceutiche adatte per la somministrazione rettale possono essere somministrate sotto forma di supposte o clisteri.

Composizioni farmaceutiche adatte per la somministrazione nasale in cui la sostanza del veicolo è un solido, comprendono una polvere grossolana avente una dimensione delle particelle, per esempio, nell'intervallo 20-500 micron, che viene somministrato nel modo in cui viene assunto tabacco da fiuto, cioè mediante una rapida inalazione attraverso i passaggi nasali da un contenitore contenente la polvere tenuta vicino al naso. Formulazioni adatte per la somministrazione come spray nasale o gocce per il naso con un liquido come sostanza di veicolo, comprendono soluzioni di principi attivi in acqua o olio.

Composizioni farmaceutiche adatte per la somministrazione per inalazione comprendono polveri o nebbie finemente particolate, che possono essere generati da vari tipi di distributori in pressione con aerosol, nebulizzatori o insufflatori.

Composizioni farmaceutiche adatte per la sommi-

nistrazione vaginale possono essere somministrati come ovuli, tamponi, creme, gel, paste, schiume o formulazioni spray.

Composizioni farmaceutiche adatte per la somministrazione parenterale comprendono soluzioni per iniezione sterili acquose e non acquose comprendenti antiossidanti, tamponi, batteriostatici e soluti, per mezzo dei quali la formulazione è resa isotonica con il sangue del ricevente da trattare; e sospensioni sterili acquose e non acquose, che possono prevedere mezzi di sospensione e addensanti. Le formulazioni possono essere somministrate in dose singola o con contenitori multidose, per esempio ampolle e fiale sigillate, e conservati allo stato secco per congelamento (liofilizzato), in modo che sia necessaria solo l'aggiunta del veicolo liquido sterile, ad esempio acqua per iniezione, immediatamente prima dell'uso.

Soluzioni per iniezione e sospensioni preparate secondo la ricetta possono essere preparate da polveri sterili, granuli e compresse.

Va da sé che, in aggiunta ai precedenti costituenti particolarmente citati, le composizioni possono anche comprendere altri agenti usuali nella tecnica rispetto al particolare tipo di formulazione; così, ad esempio, formulazioni adatte per la sommini-

strazione orale possono comprendere aromatizzanti.

Una quantità terapeuticamente efficace di un composto della presente invenzione dipende da una serie di fattori, tra cui, ad esempio, l'età e il peso dell'uomo o animale, la precisa condizione della malattia che richiede il trattamento, e la sua gravità, la natura della formulazione e il modo di somministrazione, e in ultima analisi, è determinata dal medico o veterinario curante. Tuttavia, una quantità efficace di un composto secondo l'invenzione è generalmente compresa fra 0,1 e 100 mg/kg di peso corporeo del ricevente (mammifero) al giorno e particolarmente tipicamente nella gamma da 1 a 10 mg/kg di corpo di peso al giorno. Così, la quantità effettiva al giorno per un mammifero adulto di 70 kg è di solito tra 70 e 700 mg, in cui tale importo può essere somministrato in una singola dose al giorno o abitualmente in una serie di dosi parziali (come, ad esempio, due, tre, quattro, cinque o sei) al giorno, in modo che la dose giornaliera totale sia la stessa. Una quantità efficace di un suo sale o solvato o un derivato fisiologicamente funzionale dello stesso può essere determinata come frazione della quantità efficace del composto secondo l'invenzione per sé. Si può presumere che dosi simili siano adatte per il tratta-

mento di altre condizioni di cui sopra.

I seguenti esempi illustrano l'invenzione senza, tuttavia, limitarla. I materiali di partenza utilizzati sono prodotti noti o prodotti preparati secondo procedimenti noti. Le percentuali sono espresse in peso, salvo diversamente indicato.

### **Esempi**

I composti sono stati caratterizzati in particolare attraverso le seguenti tecniche analitiche:

- spettri NMR sono stati acquisiti con uno spettrometro NMR 300 MHz Bruker Avance DPX;
- masse (MS) sono state determinate mediante HPLC accoppiato ad un rilevatore di massa Agilent 1100 Series.

#### Esempio 1:

#### **2-cloro-4-idrossi-3-indan-5-il-5-(4-metossifenil)-7h-tieno [2,3-b] piridin-6-one**

Fase 1: 1-(indan-5-il)-etanone (10 g, 62,4 mmoli) è stato sciolto in toluene (200 mL) seguito da acido acetico (3,57 mL, 62,4 mmoli), acetato di ammonio (12,03 g, 156 mmoli) e etil 2-cianoacetato (160 mL 1503 mmol). La miscela di reazione è stata bollita per 10 h. Dopo raffreddamento, è stata aggiunta acqua ed è stata eseguita l'estrazione di acetato di etile (3X200 mL). Fasi organiche sono state riunite e lava-

te con salamoia, essiccate su solfato di sodio. Dopo la rimozione del solvente, il prodotto grezzo è stato purificato su silice (acetato di eptano/etile 60/40) ottenendo 13 g (44%) di un olio.

LC/MS: purezza 54%, M-1 = 254

Fase 2: il di composto Fase 1 (10,4 g, 22 mmol) è stato disciolto in etanolo (100 ml). Morfolina (2,3 mL, 26,4 mmol) e zolfo (1,7 g, 6,6 mmol) sono stati aggiunti alla miscela di reazione e il tutto a riflusso per 20 h. Dopo raffreddamento, la miscela di reazione è stata filtrata ed i solidi risciacquati con acqua. Lo strato acquoso è stato estratto con etere, lavato con salamoia ed essiccato su solfato di sodio. La rimozione del solvente offriva 4,3 g (68%) di un olio bruno. NMR <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): 0,95 (t, 3H); 2,03 (m, 2H); 2,86 (m, 4H); 2,97 (q, 2H); 6,12 (s, 1H); 6,99 (d, 1H); 7,10 (s, 1H); 7,15 (dd, 1H); 7,36 (bs, 2H)

Fase 3: il composto di Fase 2 (8,98 g, 31,2 mmol) è stato sciolto in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 mL). N-clorosuccinimide (4,17 g, 31,2 mmol) è stato aggiunto lentamente e la reazione è stata agitata a 20°C per 1 ora. È stata aggiunta l'acqua. Lo strato acquoso è stato estratto con acetato di etile (3x100 ml) e gli strati organici riuniti sono stati lavati con salamoia ed essiccato su solfato di sodio. Dopo la rimozione del

solvente, il prodotto grezzo è stato purificato su silice (eptano/AcOEt 95/5) ottenendo 5,9 g (47%) del prodotto atteso. LC/MS: purezza 80%,  $M + 1 = 322$

Fase 4: il composto di Fase 3 (1,6 g, 4,3 mmol) e carbonato di potassio (893 mg, 6,5 mmol) in tetraidrofurano (20 ml) sono stati aggiunti a 4-metossifenilacetilcloruro (0,66 ml, 4,3 mmol). La miscela di reazione è stata agitata per 18h a 20°C. Si aggiunge acqua e viene eseguita l'estrazione di etere (3x100 mL). Gli strati organici riuniti sono stati lavati con salamoia ed essiccati su solfato di sodio. Dopo la rimozione del solvente, il prodotto grezzo è stato purificato su silice (eptano/etere 80/20) offrendo 886 mg (43,9%) del prodotto atteso.

LC/MS: purezza 98,1%,  $M-1 = 468,0$

Fase 5: Per bis potassio (trimetilsilil) ammido (1,50 g, 7,5 mmol in THF (20 ml)) è stato aggiunto il composto di Fase 4 (884 mg, 1,9 mmoli) e la miscela di reazione venne agitata per 30 minuti a 10°C. La miscela di reazione è stata versata in una miscela di HCl 1N/ghiaccio ed estratta con acetato di etile (3 x 100 mL). Gli strati organici riuniti sono stati lavati con salamoia ed essiccati su solfato di sodio. Dopo la rimozione del solvente, il solido grezzo è stato versato in una miscela di eptano/etere. Dopo fil-

trazione, 77 mg (6%) del composto atteso è stato ottenuto. LC: RT 5,49 min, purezza 93,1% MS: M-1 = 422  
NMR <sup>1</sup>H (DMSO-d6): 2,02 (m, 2H); 2,87 (m, 4H); 3,74 (s, 3H); 6,88 (dd, 2H); 7,09 (dd, 1H); 7,12 (dd, 2H); 7,19-7,24 (m, 3H); 9,28 (bs, 1H)

Esempio 2:

**2-cloro-4-idrossi-3-(4-idrossiindan-5-il)-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one**

Fase 1: 2,3-diidro-1H-inden-4-olo (9,9 g, 73,8 mmoli) è stato sciolto in anidride acetica (13,92 ml, 148 mmoli) e la miscela di reazione è stata scaldata a riflusso per 3h. Dopo raffreddamento, il solvente è stato allontanato sotto pressione ridotta ottenendo 12 g (92%) di un olio. NMR <sup>1</sup>H (DMSO-d6): 2,00 (m, 2H); 2,27 (s, 3H); 2,70 (dd, 2H); 2,91 (dd, 2H); 6,87 (d, 1H); 7,11-7,19 (m, 2H)

Fase 2: il composto di Fase 1 (12 g, 68.1 mmol) e cloruro di alluminio (10 g, 74,9 mmol) sono stati aggiunti a 1,2-diclorobenzene (70 mL). La miscela di reazione è stata riscaldata 18 ore a 100°C. La miscela è stata versata in ghiaccio/acqua/HCl 3N ed estratta con cloroformio (3x200 mL). Strati organici riuniti sono essiccati su solfato di sodio. Dopo la rimozione del solvente, il prodotto grezzo è stato purificato su silice (cicloesano, quindi diclorometa-

no) ottenendo 7,3 g (61%) di un olio incolore.

LC/MS: purezza 99%,  $M + 1 = 177$

Fase 3: il composto di Fase 2 (7,3 g, 41,4 mmol), iodometano (5,18 mL, 83 mmol), e carbonato di cesio (16,20 g, 49,7 mmol) sono stati aggiunti ad acetone (40 mL). La miscela di reazione è stata sottoposta ad agitazione per una notte a temperatura ambiente. Si aggiunge acqua ed è stato eseguito l'estrazione di etilacetato (3x100 mL). Strati organici riuniti sono stati essiccati sopra solfato di sodio. Dopo la rimozione del solvente, il prodotto grezzo è stato purificato su silice (diclorometano) ottenendo 7,3 g (94%) di un olio incolore. NMR  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ ): 2,10 (m, 2H); 2,50 (m, 3H); 2,85 (dd, 2H); 2,95 (dd, 2H); 3,80 (s, 3H); 7,10 (d, 1H); 7,40 (d, 1H).

Fase 4: il composto di Fase 3 (7,3 g, 38,4 mmol) ed etil 2-cianoacetato (6,14 mL, 57,6 mmol) sono stati aggiunti acido acetico (60 mL). Esametildisilazano è stato aggiunto lentamente e la miscela di reazione è stata riscaldata a 50°C per una notte. Dopo raffreddamento, è stata aggiunta acqua e la miscela di reazione è stata estratta con etilacetato (3x100 mL). Strati organici riuniti sono stati lavati due volte con salamoia ed essiccati su solfato di sodio. Dopo la rimozione del solvente, sono stati ottenuti 11,1 g

(98%) di olio marrone. LC/MS: purezza 97%, M-1 = 270

Fase 5: il composto di Fase 4 (10,9 g, 38,2 mmol), zolfo (3,06 g, 96 mmol), e morfolina (4,01 mL, 45,8 mmol) sono stati aggiunti a etanolo (160 ml). La miscela di reazione è stata scaldata a riflusso per 7h. Dopo raffreddamento, la miscela di reazione è stata filtrata e il solvente rimosso sotto pressione ridotta. Il prodotto grezzo è stato purificato su silice (eptano/etilacetato 95/5) ottenendo 7,4 g (61%) di un olio bruno. LC/MS: purezza 99%, M + 1 = 318

Fase 6: il composto di Fase 5 (7,32 g, 22,83 mmoli) è stato sciolto in cloroformio (70 ml) e N-clorosuccinimide (3,11 g, 22,83 mmoli). Dopo 1h a -5°C, la miscela di reazione viene lavata con acqua ed essiccata su solfato di sodio. Dopo la rimozione del solvente, il prodotto grezzo è stato purificato su silice (eptano/AcOEt 90/10 a 85:15) ottenendo 7,22 g (89%) di un solido arancione. LC/MS: purezza 99%, M-1 = 350

Fase 7: il composto di Fase 6 (500 mg, 1,41 mmoli) è stato sciolto in tetraidrofurano (10 mL). Carbonato di cesio (917 mg, 2,81 mmol) e fenilacetilcloreuro (0,23 mL, 1,69 mmol) sono stati aggiunti e la miscela di reazione è stata sottoposta ad agitazione per 20h a temperatura ambiente. Si aggiunge acqua ed

è stato eseguita l'estrazione di etilacetato (2x15 mL). Strati organici combinati sono stati lavati con salamoia ed essiccati su solfato di sodio. Dopo la rimozione del solvente, si ottengono 629 mg (93%) di un olio giallo. LC/MS: purezza 98%, M-1 = 468

Fase 8: Ad una soluzione di bis potassio (trime-tilsilil)ammide (1102 mg, 5,25 mmoli) in tetraidrofurano (5 mL) si aggiunge una soluzione del composto di Fase 7 (629 mg, 1,31 mmoli) in tetraidrofurano (5 mL). La miscela di reazione è stata sottoposta ad agitazione per 30 minuti a 20°C. Una miscela di acqua (15 mL) e acido acetico (5 ml) è stata aggiunta e la miscela di reazione è stata estratta con etilacetato (3x15 mL). Gli strati organici combinati sono stati lavati con salamoia ed essiccati su solfato di sodio. Dopo la rimozione del solvente, il prodotto grezzo è stato purificato su silice (ettani/etilacetato 60/40) ottenendo 323 mg (56%) di un solido rosso.

LC/MS: purezza 95,5%, M + 1 = 424

Fase 9: Metionina (324 mg, 2,17 mmoli) è stata sciolta in acido metansolfonico ed è stato aggiunto il composto di Fase 8 (323 mg, 0,72 mmol). La miscela di reazione è stata sottoposta ad agitazione 20 h a 20°C. La miscela di reazione è stata versata a gocce in acqua ghiacciata. È stata eseguita l'estrazione

con acetato di etile (3x10 ml). Strati organici combinati sono stati lavati con salamoia ed essiccati su solfato di sodio. Dopo la rimozione del solvente, il prodotto grezzo è stato purificato su silice (acetato di eptano/etile 50/50) ottenendo 137 mg di un solido. Questo è stato bollito in acqua ottenendo 53 mg (18%) di un solido marrone chiaro. LC: RT = 4,73; purezza 99% MS: M+1 = 410,2

NMR <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): 1,99 (m, 2H); 2,80 (m, 4H); 6,72 (dd, 1H); 6,89 (dd, 1H); 7,18-7,34 (m, 5H); 8,59 (bs, 1H); 9,14 (bs, 1H); 11,54 (bs, 1H)

I seguenti composti nella Tabella (1) possono essere ottenuti in modo analogo.

N°	Nome	MS
3	2-cloro-4-idrossi-3-indan-5-il-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one	392 (M-1)
4	2-cloro-5-(4-fluorofenil)-4-idrossi-3-indan-5-il-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one	410 (M-1)
5	2-cloro-4-idrossi-3-indan-5-il-5-(3-metossifenil)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one	422 (M-1)
<b>6</b>	3-(2-cloro-4-idrossi-3-indan-5-il-6-oxo-7H-tieno[2,3-b]piridin-5-il)benzotrile	417 (M-1)
7	2-cloro-4-idrossi-3-indan-5-il-5-(m-tolil)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one	406 (M-1)
8	2-cloro-5-(4-fluorofenil)-4-idrossi-3-(4-idrossiindan-5-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one	428 (M+1)

9	2-cloro-5-(3-fluorofenil)-4-idrossi-3-(4-idrossiindan-5-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one	428 (M+1)
10	2-cloro-4-idrossi-3-indan-5-il-5-(3-piridil)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one	395 (M+1)
11	2-cloro-5-(2-fluorofenil)-4-idrossi-3-(4-idrossiindan-5-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one	428 (M+1)

Esempio 12:

**2-cloro-4-idrossi-3-(5-idrossitetralin-6-il)-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one**

Fase 1: 5,6,7,8-tetraidronaftalen-1-olo (50.85 g, 340 mmoli) è stato sciolto in anidride acetica (500 ml) e trietilammina (56,8 ml, 408 mmoli) alla miscela di reazione. Il tutto è stato posto a riflusso per 2 ore. La miscela di reazione viene raffreddata a temperatura ambiente ed il solvente è stato rimosso sotto pressione ridotta. Il liquido residuo grezzo viene sciolto in acetato di etile (500 mL) e lo strato organico è stato lavato più volte con acqua e salamoia. Lo strato organico viene quindi essiccato su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtrato, concentrato sotto pressione ridotta per dare un olio scuro (65,4 g; resa 91%) LC: 4,94 min

Fase 2: Il cloruro di alluminio (45,1 g, 338 mmoli) è stato sciolto in 1,2-diclorobenzene (250 ml) poi è stato aggiunto il composto di Fase 1 (65,4 g,

308 mmol) in 1,2-diclorobenzene (250 ml). La miscela di reazione è stata scaldata a 100°C per 17 h. La miscela di reazione è stata raffreddata con un bagno freddo e HCl 6N (80 mL) è stato aggiunto goccia a goccia. La miscela è stata filtrata su soluzione organica di celite. La soluzione organica stata lavata diverse volte con acqua e poi essiccata su solfato di sodio e filtrata. Il solvente è stato rimosso sotto pressione ridotta per dare un olio scuro. L'olio è stato purificato su silice (cicloesano poi cicloesano/diclorometano 1/1) per dare un solido giallo (60 g; resa 91%). LC/MS: purezza 98%, M + 1 = 191

Fase 3: Il composto di Fase 2 (13,63 g, 70,2 mmoli) è stato sciolto in acetone (200 ml) e carbonato di cesio (23.11 g, 70.9 mmol) e iodometano (4,41 ml, 70,9 mmoli) sono stati aggiunti alla miscela di reazione. Dopo 15 h di agitazione a TA, è stato aggiunto iodometano addizionale (0,2 eq). 2 ore più tardi, la miscela di reazione viene filtrata su un tampone di celite e il solvente rimosso sotto pressione ridotta. L'olio residuo è stato purificato su silice (cicloesano/AcOEt 95/5) producendo un olio giallo (12,6g; resa 84%) LC/MS: purezza 96%, M+1=205.

Fase 4: il composto di Fase 3 (12,56 g, 59,0 mmoli) è stato sciolto in toluene (150 ml). Etil 2-

cianoacetato (7,56 ml, 70,8 mmoli), acetato di ammonio (7,74 g, 100 mmoli) e acido acetico (2.70 ml, 47.2 mmol) sono stati aggiunti alla miscela di reazione. Il tutto a riflusso durante la notte. Il solvente è stato rimosso sotto pressione ridotta e l'olio grezzo residuo disciolto in acetato di etile (300 mL). Lo strato organico viene lavato con acqua e con soluzione salina quindi essiccato su solfato di sodio, filtrato e concentrato sotto pressione ridotta per dare un olio. Questo è stato purificato su silice (Eptano/acetato di etile 95/5) fornendo un olio verde (14.7g; resa 76%). LC/MS: purezza 91%, M + 1 = 300.

Fase 5: Il composto di Fase 4 (14,69 g, 49,1 mmol), morfolina (5,13 ml, 58,9 mmoli), zolfo (3,78 g, 14,72 mmoli) sono stati mescolati in etanolo (200 ml) e il tutto è stato riscaldato a 80°C per una notte. La miscela di reazione viene filtrata su un tampone di celite e il solvente rimosso sotto pressione ridotta lasciando un solido marrone. Questo è stato purificato su silice (ettani a ettani/acetato di etile 90/10 a ettani/acetato di etile 80/20). È stato raccolto un giallo solido (12,4g; resa 74%).

LC/MS: purezza 97%, M + 1 = 332

Fase 6: il composto di Fase 5 (4,4 g, 13,28 mmoli) è stato sciolto in cloroformio (100 ml) e N-

clorosuccinimide (1,81 g, 13,28 mmoli) è stata aggiunta, a  $-5^{\circ}\text{C}$ , alla miscela di reazione. La miscela di reazione è stata poi agitata per 2 ore a  $5^{\circ}\text{C}$ . Dopo di che, la miscela di reazione è stata lavata con acqua, essiccata su solfato di sodio, filtrata ed il solvente allontanato sotto pressione ridotta offrendo un olio viola. Questo olio è stato purificato su silice (acetato di eptano/etile 95/5 al 85/15). È stato recuperato un olio di arancio (3,5 g; resa 70%).

LC/MS: purezza 97,5%,  $M+1 = 366$

Fase 7: il composto di Fase 6 (119 g, 325 mmol) e carbonato di cesio (212 g, 650mmol) sono stati accusati in THF (1600 ml) per dare una sospensione rosso. Fenilacetilcloruro (53,0 mL, 390 mmol) è stato aggiunto goccia a goccia e la miscela di reazione è stata posta sotto agitazione a temperatura ambiente per 20 ore. La miscela di reazione è stata versata su acqua/ghiaccio ed estratta con acetato di etile. La fase organica è stata lavata con soluzione di bicarbonato di sodio e salamoia. Dopo la rimozione del solvente, il greggio residuo è stato purificato su silice (diclorometano) ottenendo un olio viola (153,1 g; resa 97%). LC/MS: purezza 99%,  $M+1 = 484$

Fase 8: bispotassio (trimetilsilil)ammide (6,76 g, 33,9 mmol) è stata sospesa in tetraidrofurano (60

ml) ed una soluzione del composto di Fase 7 (4,1 g, 8,47 mmoli) in tetraidrofurano (20 ml) è stata aggiunta goccia a goccia. Dopo 30 minuti, la miscela di reazione viene raffreddata a  $-5^{\circ}\text{C}$  e acido acetico (15 ml) è stato aggiunto goccia a goccia. La miscela di reazione è stata diluita con acqua (100 mL) ed estratta con acetato di etile. La fase organica viene essiccata su solfato di sodio, filtrata e concentrata a secchezza. L'olio greggio residuo è stato purificato su silice (cicloesano/etilacetato 70/30) ottenendo un solido marrone (2,05 g; resa 55%).

LC/MS: purezza 99%,  $M + 1 = 428$

Fase 9: il composto di Fase 8 (2,05 g, 4,63 mmoli) è stato sciolto in acido metansolfonico (30 mL) e metionina (2,074 g, 13,90 mmoli) è stata aggiunta alla miscela di reazione. Dopo agitazione per una notte, la miscela di reazione viene versata su acqua/ghiaccio. È stata eseguita l'estrazione con acetato di etile e la fase organica è stata lavata con acqua, soluzione di bicarbonato di sodio e con salamoia. La soluzione organica viene anidrificata su solfato di sodio, filtrata e portata a secchezza. Il grezzo residuo solido è stato purificato su silice (cicloesano/etilacetato 70/30) ottenendo un solido biancastro (1,67 g; 72% di resa). LC: 5,23 min; pu-

rezza 99%. MS: M+1 =424

NMR <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): 1,77 (m, 4H); 2,63 (m, 2H); 2,74 (m, 2H); 6,63 (d, 1H); 6,90 (d, 1H); 7,24-7,41 (m, 5H); 8,24 (bs, 1H); 9,27 (bs, 1H); 11,62 (bs, 1H)

Esempio 13:

**2-cloro-4-idrossi-5-(3-piridil)-3-tetralin-6-il-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one**

Fase 1: 1-(5,6,7,8-tetraidronaftalen-2-il)etano-  
ne (20 g, 115 mmol), etil 2-cianoacetato (14,66 mL, 138 mmol), morfolina (20.08 mL, 230 mmol), e 14,72 g di zolfo sono stati aggiunti in etanolo (115 mL) per dare una sospensione gialla. La miscela di reazione è stata scaldata a riflusso 20 h a 90°C. Dopo raffreddamento, la miscela di reazione è stata filtrata e il solvente rimosso sotto pressione ridotta. L'olio marrone grezzo viene sciolto in acetato di etile, lavato con HCl 1N, la soluzione salina è essiccata due volte su solfato di sodio. Dopo la rimozione del solvente, il grezzo è stato purificato su silice (diclorometano/cicloesano 40/60) ottenendo 9,6 g (28%) di un olio giallo. LC/MS: purezza 84%, M+1 = 302

Fase 2: il composto di Fase 1 (9,2 g, 30,5 mmol) è stato disciolto in cloroformio (400 mL). Dopo raffreddamento a -5°C, è stata aggiunta N-clorosuccinimide (4,08 g) e la miscela di reazione è stata

sottoposta ad agitazione per 3 ore. La miscela di reazione è stata purificata su silice (etano/etilacetato 80/20) ottenendo 2,9 g (28%) di un olio bruno. NMR <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): 0,75 (t, 3H); 1,75 (m, 4H); 2,50 (m, 4H); 3,80 (q, 2H); 6,70 (s, 1H); 6,80 (d, 1H); 7,00 (d, 1H); 7,50 (bs, 1H)

Fase 3: 3-(carbossimetil)piridinio cloruro (538 mg, 3,10 mmol) e ossalildicloruro (0,788 mL, 9,31 mmol) e una goccia di dimetilformammide sono stati sciolti in diclorometano (3 mL). Dopo 2 ore, il solvente è stato rimosso ed è stata aggiunta dimetilformammide (4 mL), seguita da carbonato di potassio (1,28 g, 9,3 mmol) e il composto di Fase 2 (1,04 g, 3,10 mmoli) in dimetilformammide (8 mL). La miscela di reazione è stata sottoposta ad agitazione per una notte e versata in acqua ghiacciata. Un'estrazione di acetato di etile è stata eseguita e lo strato organico è stato lavato due volte con salamoia ed essiccato su solfato di sodio. Un olio marrone (1,25 g, 89%) è stato recuperato dopo la rimozione del solvente.

LC/MS: purezza 96%, M + 1 = 455

Fase 4: bis potassio (trimetilsilil)ammide (2,2 g, 11 mmoli) è stata sciolta in tetraidrofurano (5 mL) e una soluzione del composto di Fase 3 (1,25 g, 2,75 mmoli) è stata aggiunta in tetraidrofurano (9

mL). Dopo 30 minuti, è stata aggiunta una miscela di acqua/acido acetico (fino a pH 4) ed è stata eseguita un'estrazione di etilacetato. Lo strato organico è stato lavato due volte con salamoia ed essiccato su solfato di sodio. Dopo la rimozione del solvente, è stato ottenuto un solido bruno (0,62 g; 55%).

LC: 4.15 min, purezza 99%, MS: M+1= 409

NMR <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): 1,76 (m,4H); 2,74 (m,4H); 7,06 (m,3H); 7,34 (dd,1H); 7,75 (d,1H) 8,38 (d,1H); 8,51 (s,1H)

#### Esempio 14

#### **sodio 2-cloro-3-(5-idrossitetralin-6-il)-6-oxo-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-4-olato**

Fase 1: 2-cloro-4-idrossi-3- (5-idrossitetralin-6-il)-5-fenil-7H-tieno[2,3-b] piridin-6-one (4,0 g, 9,44 mmoli) è stato sciolto in una miscela di metanolo/tetraidrofurano (25 ml/25 ml). La soluzione di sodio metossido (30% in metanolo) (1,75 mL, 9,44 mmol) è stata lentamente aggiunta seguita da acqua (15 ml). Solventi organici sono stati rimossi sotto pressione ridotta. La soluzione acquosa rimanente è stata liofilizzata per dare un solido grigio (4,80 g, 100%, composto cristallizzato con 4 molecole d'acqua).

LC: 5,06 min, purezza 99%, MS: M+1 =424

NMR <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>): 1,70 (m, 4H); 2,61 (m,4H); 6,54 (d, 1H); 6,89 (d, 1H); 7,04 (dd, 1H); 7,18 (dd, 2H); 7,40

(d, 2H)

I seguenti composti nella Tabella (2) possono essere ottenuti in modo analogo.

N°	Nome	MS
15	3-(2-cloro-4-idrossi-6-oxo-3-tetralin-6-il-7H-tieno[2,3-b]piridin-5-il)benzotrile	433 (M+1)
16	trisodio 2-cloro-3-(5-oxidotetralin-6-il)-5-fe-nil-tieno[2,3- b]piridine-4,6-diolato	424 (M+1)
17	2-cloro-4-idrossi-5-fenil-3-tetralin-6-il-7H-tieno[2,3- b]piridin-6-one	408 (M+1)
18	2-cloro-5-(4-fluorofenil)-4-idrossi-3-(5-idros-sitetralin-6-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one	442 (M+1)
19	disodio 2-cloro-3-(5-oxidotetralin-6-il)-6-oxo-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-4-olato	424 (M+1)
20	2-cloro-4-idrossi-3-(5-idrossitetralin-6-il)-5-(m-tolil)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one	438 (M+1)
21	2-cloro-4-idrossi-3-(5-idrossitetralin-6-il)-5-(p-tolil)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one	438 (M+1)
22	2-cloro-5-(3-fluorofenil)-4-idrossi-3-(5-idros-sitetralin-6-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one	442 (M+1)
23	potassio 2-cloro-3-(5-idrossitetralin-6-il)-6-oxo-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-4-olato	424 (M+1)

### Saggi biologici

Attività enzimatica

Il seguente test biologico permette la determi-

nazione della efficacia di composti di formula (I) sulla proteina AMPK.

Le attività enzimatiche della AMPK sono state analizzati utilizzando una tecnologia Delfia. Le attività enzimatiche della AMPK sono state effettuate in piastre di microtitolazione in presenza di un substrato peptidico sintetico (AMARAASAAALARRR, il peptide "AMARA") ed attivatori in diluizioni seriali. Le reazioni sono state avviate con l'aggiunta della AMPK. L'attività enzimatica è stata determinata utilizzando un anticorpo anti-fosfoserina per misurare la quantità di fosfato incorporato nel AMARAA.

N°: Numero della molecola

Attività: Rapporto tra la % del controllo (attività basale) del composto di formula (1) a 30 µM e la % di controllo (attività basale) di AMP (substrato naturale) a 200 µM.

A <110%, 110% <B <130%, C>130%

I risultati sono riportati nella Tabella 3 che segue.

Tabella (3):

N°	attività		N°	attività		N°	attività
1	C		8	C		16	B
2	B		9	C		17	A
3	B		10	A		18	B
4	B		11	B		19	C

5	C		12	C		20	C
6	C		13	C		21	C
7	C		15	B			

- attività *in vivo*:

Il seguente test biologico permette la determinazione della efficacia di composti di formula (I) sul controllo della glicemia su un modello farmaceutico animale.

Tutti gli esperimenti sugli animali sono stati eseguiti secondo le linee guida europee per la cura degli animali (ETS123).

Topi Ob/ob da CERJ (53940 Le Genest-Saint-Isle, Francia) sono stati trattati per via orale con composti di formula (1) BID durante 8 giorni. A quel momento, un campione di sangue è stato raccolto e la concentrazione di glucosio è stata determinata utilizzando il kit diagnostico ABX.

I risultati sono espressi come percentuale di variazione della glicemia rispetto ad un gruppo di animali di controllo.

Numero del composto	Dose	variazione % della glicemia
12	150 mg/kg	-27
19	150 mg/kg	-41
Composto 136 dI WO2009/124636	150 mg/kg	-3

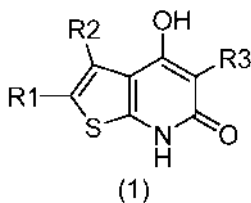
Composto 202 DI W02009/124636	150 mg/kg	-12
----------------------------------	-----------	-----

Composti di formula (1) dimostrano chiaramente la loro efficacia nel controllo della glicemia in un modello animale diabetico. Inoltre, composti di formula (1) dimostrano chiaramente la superiorità su composti della tecnica precedente nel controllo della glicemia in un modello di animale diabetico.

- - - - -

#### RIVENDICAZIONI

1. Composto di formula (1)



caratterizzato dal fatto che:

R1 rappresenta un atomo di idrogeno o un atomo di alogeno;

R2 rappresenta un gruppo indanilico o tetralinico sostituito o meno da uno o più gruppi scelti tra atomi di alogeno, gruppi alchilici, ossidrilici, gruppi alcossi, ammino, gruppi mono o di-alchilamminici, gruppi carbossilici, gruppi alchilossicarbonilici, gruppi mono o di-alchilamminocarbonile, carbossamide, ciano, alchilsolfonile e gruppi trifluorometilici;

R3 rappresenta un gruppo arile o eteroarile, sostituito o meno da uno o più atomi o gruppi scelti tra atomi di alogeno, gruppi alchilici, ossidrili, gruppi alcossilici, gruppi aralchilossilici, ammino, gruppi mono o di-alchilamminici, gruppi carbossilici, gruppi alchilossicarbonilici, gruppi mono o di-alchilamminocarbonilici, carbossamide, ciano, alchilsolfonile e gruppi trifluorometilici; o un isomero geometrico, tautomero, epimero, enantiomero, stereoisomero, diastereoisomero, racemato, un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile, che viene selezionato dal gruppo costituito da:

2-cloro-4-idrossi-3-indan-5-il-5-fenil-7H-tieno  
[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-5-(4-fluorofenil)-4-idrossi-3-indan-5-il-  
7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-4-idrossi-3-indan-5-il-5-(3-metossifenil)-  
7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-4-idrossi-3-indan-5-il-5-(4-metossifenil)-  
7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

3-(2-cloro-4-idrossi-3-indan-5-il-6-oxo-7H-tieno-  
[2,3-b]piridin-5-il)benzotrile

2-cloro-4-idrossi-3-indan-5-il-5-(3-metilfenil)-7H-  
tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-5-(4-fluorofenil)-4-idrossi-3-(4-idrossi-

indan-5-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-5-(3-fluorofenil)-4-idrossi-3-(4-idrossi-indan-5-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-4-idrossi-3-indan-5-il-5-(3-piridil)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-4-idrossi-3-(4-idrossiindan-5-il)-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-5-(2-fluorofenil)-4-idrossi-3-(4-idrossi-indan-5-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-4-idrossi-3-(5-idrossitetralin-6-il)-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

3-(2-cloro-4-idrossi-6-oxo-3-tetralin-6-il-7H-tieno[2,3-b]piridin-5-il)benzotrile

2-cloro-4-idrossi-5-(3-piridil)-3-tetralin-6-il-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

trisodio 2-cloro-3-(5-oxidotetralin-6-il)-5-fenil-tieno[2,3-b]piridin-4,6-diolato

2-cloro-4-idrossi-5-fenil-3-tetralin-6-il-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-5-(4-fluorofenil)-4-idrossi-3-(5-idrossitetralin-6-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

disodio 2-cloro-3-(5-oxidotetralin-6-il)-6-oxo-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-4-olato

2-cloro-4-idrossi-3-(5-idrossitetralin-6-il)-5-(3-metilfenil)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-4-idrossi-3-(5-idrossitetralin-6-il)-5-(4-metilfenil)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-one

2-cloro-5-(3-fluorofenil)-4-idrossi-3-(5-idrossitetralin-6-il)-7H-tieno[2,3-b]piridin-6-One

sodio 2-cloro-3-(5-idrossitetralin-6-il)-6-oxo-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-4-olato

potassio 2-cloro-3-(5-idrossitetralin-6-il)-6-oxo-5-fenil-7H-tieno[2,3-b]piridin-4-olato.

2. Composizione farmaceutica comprendente almeno un composto secondo la rivendicazione 1 e un supporto farmaceuticamente accettabile.

3. Composto secondo la rivendicazione 1, per l'uso nel trattamento del diabete, sindrome metabolica, obesità, malattie del fegato, steatosi epatica, malattia non alcolica del fegato grasso (NAFLD), steatoepatite non alcolica (NASH), fibrosi epatica, dislipidemia, ipertrigliceridemia, ipercolesterolemia, l'infiammazione, il cancro, le malattie cardiovascolari, aterosclerosi, ipertensione, retinopatie o neuropatie.

---

PER TRADUZIONE CONFORME AL TESTO ORIGINALE

Titan Patents & Trademarks s.r.l.