

SIB EX4107R

PB63642D1 SM

Traduzione in lingua italiana del Brevetto Europeo

domanda n° **14194866.1**, pubblicazione n° **2899191**

a nome di **Glaxo Group Limited**,

di 980 Great West Road, Brentford, Middlesex TW8 9GS, Regno Unito

* * * * *

"INDAZOLI SOSTITUITI CON OSSAZOLO COME INIBITORI DI CHINASI P13"

DESCRIZIONE

CAMPO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione è rivolta a certe combinazioni di composti nuovi che sono inibitori dell'attività di chinasi, composizioni farmaceutiche comprendenti le combinazioni, e all'uso delle combinazioni nel trattamento di vari disturbi. Più specificamente, i composti della combinazione dell'invenzione sono inibitori dell'attività o funzione della famiglia di fosfoinositide 3'OH chinasi (di seguito PI3-chinasi), per esempio, PI3K δ , PI3K α , PI3K β e/o PI3K γ . Composti che sono inibitori dell'attività o funzione di PI3-chinasi possono essere utili nel trattamento di disturbi come malattie respiratorie incluse asma, malattia polmonare ostruttiva cronica (COPD), e fibrosi polmonare idiopatica; infezioni virali incluse infezioni virali dell'apparato respiratorio e aggravamento virale di malattie respiratorie come asma e COPD; infezioni respiratorie non virali incluse aspergillosi e leishmaniosi; malattie allergiche inclusa rinite allergica e dermatite atopica; malattie autoimmuni inclusa artrite reumatoide a sclerosi multipla; malattie infiammatorie inclusa malattia infiammatoria dell'intestino; malattie cardiovascolari inclusa trombosi e aterosclerosi; processi maligni ematologici; malattie neurodegenerative; pancreatite; malfunzionamento di organi multipli; malattie renali; aggregazione piastrinica; cancro; motilità spermatica; rigetto di trapianto; rigetto di innesto; lesioni polmonari; e dolore incluso dolore associato ad artrite reumatoide o osteoartrite, dolore della schiena, dolore infiammatorio generale, nevralgia post-epatica, neuropatia diabetica, dolore neuropatico infiammatorio (trauma), nevralgia del trigemino e dolore centrale.

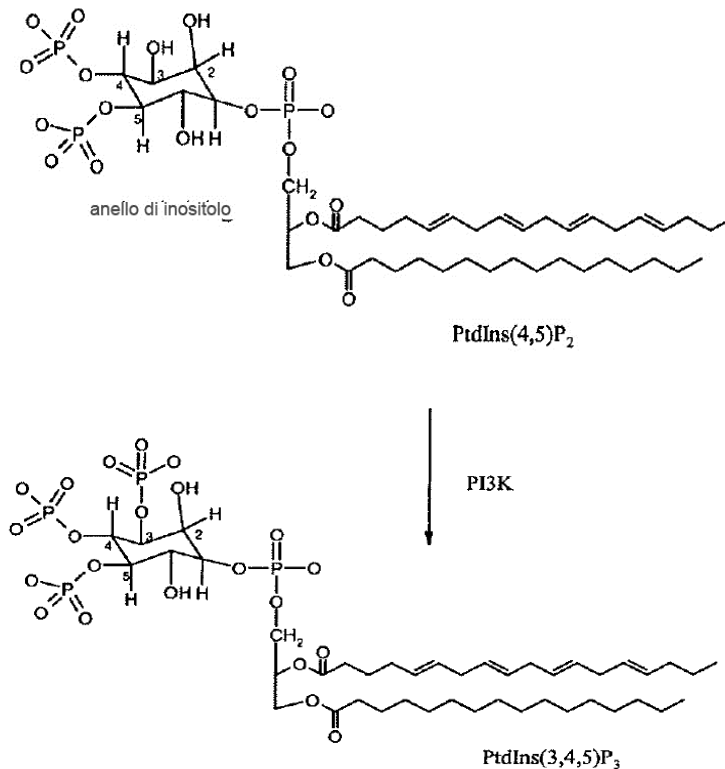
FONDAMENTO DELL'INVENZIONE

Le membrane cellulari rappresentano un grande deposito di secondi messaggeri che possono essere elencati in vari percorsi di trasduzione del segnale. In relazione a funzione e regolazione di enzimi effettori in percorsi di segnalazione di fosfolipidi, PI3-chinasi di classe I (ad es. PI3K δ) generano secondi messaggeri dalle raccolte di fosfolipidi di membrana. PI3Ks di classe I convertono il fosfolipide di membrana PI(4,5)P₂ in PI(3,4,5)P₃, che funge da secondo messaggero. PI e PI(4)P sono anche substrati di PI3K e possono essere fosforilati e convertiti in PI3P e PI(3,4)P₂, rispettivamente. Inoltre, questi fosfoinositidi possono essere convertiti in altri fosfoinositidi da parte di fosfatasi 5'-specifiche e 3'-specifiche. Così, l'attività enzimatica di PI3K risulta direttamente o

indirettamente nella generazione di due sottotipi di 3'-fosfoinositidi che fungono da secondi messaggeri in percorsi di trasduzione del segnale intracellulare (Trends Biochem. Sci. 22(7) p. 267-72 (1997) di Vanhaesebroeck *et al.*; Chem. Rev. 101(8) p. 2365-80 (2001) di Leslie *et al.*; Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 17 p. 615-75 (2001) di Katso *et al.*; e Cell. Mol. Life Sci. 59(5) p. 761-79 (2002) di Toker). Ad oggi, sono state identificate otto PI3Ks di mammifero, divise in tre classi principali (I, II, e III) sulla base di omologia di sequenza, struttura, partner di legame, modalità di attivazione, e preferenza di substrati. *In vitro*, PI3Ks di classe I possono fosforilare fosfatidilinositolo (PI), fosfatidilinositolo-4-fosfato (PI4P), e fosfatidilinositolo-4,5-bisfosfato (PI(4,5)P₂) per produrre fosfatidilinositolo-3-fosfato (PI3P), fosfatidilinositolo-3,4-bisfosfato (PI(3,4)P₂), e fosfatidilinositolo-3,4,5-trisfosfato (PI(3,4,5)P₃), rispettivamente. PI3Ks di classe II possono fosforilare PI e PI4P. PI3Ks di classe III possono fosforilare solo PI (Vanhaesebroeck *et al.* (1997), sopra; Vanhaesebroeck *et al.*, Exp. Cell Res. 253(1) p. 239-54 (1999); e Leslie *et al.* (2001), di cui sopra).

PI3K di classe I è un eterodimero costituito da una subunità catalitica p110 e una subunità regolatrice, e la famiglia è inoltre divisa in enzimi di classe Ia e classe Ib sulla base di partner di regolazione e meccanismo di regolazione. Enzimi di classe Ia consistono di tre subunità catalitiche distinte (p110 α , p110 β , e p110 δ) che dimerizzano con cinque subunità di regolazione distinte (p85 α , p55 α , p50 α , p85 β , e p55 γ), con tutte le subunità catalitiche che sono capaci di interagire con tutte le subunità regolatrici per formare vari eterodimeri. PI3K di classe Ia vengono generalmente attivate in risposta a stimolazione da fattore di crescita di tirosina chinasi recettoriali, tramite interazione dei domini di subunità regolatrice SH2 con specifici residui di tirosina del recettore attivato o proteine adattatrici come IRS-1. Piccole GTPasi (ras come esempio) sono pure implicate nell'attivazione di PI3K in unione con attivazione di tirosina chinasi recettoriale. Sia p110 α che p110 β vengono espresse in maniera costitutiva in tutti i tipi cellulari, mentre l'espressione di p110 δ è più limitata a popolazioni di leucociti e alcune cellule epiteliali. Al contrario, il singolo enzima di classe Ib consiste di una subunità catalitica p110 γ che interagisce con una subunità regolatrice p101. Inoltre, l'enzima di classe Ib viene attivato in risposta a sistemi di recettori accoppiati a proteina G (GPCR) e la sua espressione sembra essere limitata ai leucociti.

Schema A: Conversione di PI(4,5)P₂ a PI(3,4,5)P₃



Come illustrato in schema A di cui sopra, fosfoinositide 3-chinasi (PI3Ks) fosforilano l'ossidrilico del terzo carbonio dell'anello di inositolo. La fosforilazione di fosfoinositidi per generare $\text{PtdIns}(3,4,5)\text{P}_3$, $\text{PtdIns}(3,4)\text{P}_2$ e $\text{PtdIns}(3)\text{P}$, produce secondi messaggeri per vari percorsi di trasduzione del segnale, inclusi quelli essenziali per proliferazione cellulare, differenziazione cellulare, crescita cellulare, dimensione cellulare, sopravvivenza cellulare, apoptosi, adesione, motilità cellulare, migrazione cellulare, chemiotassi, invasione, riarrangiamento del citoscheletro, variazioni di forma cellulare, traffico di vescicole e percorso metabolico (Katso *et al.* (2001), di cui sopra; e Mol. Med. Today 6(9) p. 347-57 (2000) di Stein *et al.*).

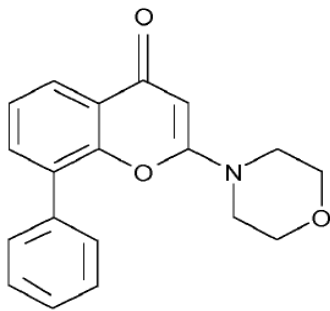
L'attività di PI3-chinasi responsabili della generazione di questi prodotti di segnalazione fosforilati è stata originariamente identificata come associata ad oncoproteine virali e tirosina chinasi recettoriali di fattore di crescita che fosforilano fosfatidilinositolo (PI) e suoi derivati fosforilati al 3'-ossidrilico dell'anello di inositolo (Panayotou *et al.* Trends Cell Biol. 2 p. 358-60 (1992)). Tuttavia, studi biochimici più recenti hanno rivelato che PI3-chinasi di classe I (ad es. classe IA isoforma $\text{PI3K}\delta$) sono enzimi di chinasi a duplice specificità, che

significa che mostrano attività sia di chinasi di lipidi (fosforilazione di fosfoinositidi) sia di proteina chinasi, che si sono dimostrati capaci di fosforilazione di altre proteine come substrati, inclusa auto-fosforilazione come meccanismo di regolazione intramolecolare (EMBO J. 18(5) p. 1292-302 (1999) di Vanhaesebroeck *et al.*). Processi intracellulari in cui PI3Ks svolgono un ruolo essenziale includono soppressione di apoptosi, riorganizzazione dello scheletro di actina, crescita di miociti cardiaci, stimolazione di glicogeno sintetasi da parte di insulina, sensibilizzazione di neutrofilo mediata da $TNF\alpha$ e generazione di superossido, e migrazione ed adesione di leucociti a cellule endoteliali.

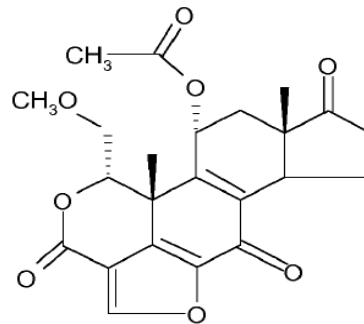
Si ritiene che l'attivazione di PI3-chinasi sia implicata in un'ampia gamma di risposte cellulari inclusa crescita, differenziazione e apoptosi cellulare (Parker, *Current Biology*, 5(6) p. 577-79 (1995); e Yao *et al.* *Science* 267(5206) p. 2003-06 (1995)). Sembra che PI3-chinasi sia implicata in un certo numero di aspetti di attivazione di leucociti. È stato mostrato che una PI3-chinasi associata a p85 è associata fisicamente con il dominio citoplasmatico di CD28, che è una importante molecola co-stimolatrice per l'attivazione di cellule T in risposta ad antigene (Pagès *et al.* *Nature* 369 p. 327-29 (1994); e Rudd, *Immunity* 4 p. 527-34 (1996)). L'attivazione di cellule T attraverso CD28 abbassa la soglia di attivazione da parte di antigene e aumenta l'entità e durata della risposta proliferativa. Questi effetti sono legati ad incrementi nella trascrizione di un certo numero di geni inclusa interleuchina-2 (IL-2), un importante fattore di crescita di cellule T (Fraser *et al.* *Science* 251(4991) p. 313-16 (1991)).

PI3K γ è stata identificata come mediatore di regolazione dipendente da G beta-gamma di attività di JNK, e G Beta-gamma sono subunità di proteine G eterotrimeriche (Lopez-Illasaca *et al.* *J. Biol. Chem.* 273(5) p. 2505-8 (1998)). Recentemente, (Laffargue *et al.* *Immunity* 16(3) p. 441-51 (2002)) è stato descritto che PI3K γ rilascia segnali infiammatori tramite vari recettori accoppiati a G(i) ed è fondamentale per la funzione di mastociti, stimoli nel contesto di leucociti, e immunologia incluse citochine, chemiochine, adenosine, anticorpi, integrine, fattori di aggregazione, fattori di crescita, virus o ormoni per esempio (J. Cell Sci. 114 (Pt 16) p. 2903-10 (2001) di Lawlor *et al.*; Laffargue *et al.* (2002), di cui sopra; e *Curr. Opin. Cell Biol.* 14(2) p. 203-13 (2002) di Stephens *et al.*).

Specifici inibitori contro elementi individuali di una famiglia di enzimi forniscono strumenti preziosi per decifrare le funzioni di ciascun enzima. Due composti, LY294002 e wortmannina (di seguito), sono stati ampiamente usati come inibitori di PI3-chinasi. Questi composti sono inibitori di PI3-chinasi non specifici, perché non distinguono tra i quattro membri delle PI3-chinasi di classe I. Per esempio, i valori di CI_{50} di wortmannina contro ognuna delle varie PI3-chinasi di classe I sono nell'intervallo di 1-10 nM. Similmente, i valori di CI_{50} per LY294002 contro ognuna di queste PI3-chinasi sono di circa 15-20 μ M (Fruman et al. *Ann. Rev. Biochem.* 67 p. 481-507 (1998)), anche di 5-10 μ M su CK2 proteina chinasi e una certa attività di inibizione su fosfolipasi. Wortmannina è un metabolita di funghi che inibisce irreversibilmente l'attività di PI3K legandosi covalentemente al dominio catalitico di questo enzima. L'inibizione di attività di PI3K da parte di wortmannina elimina la successiva risposta cellulare al fattore extracellulare. Per esempio, i neutrofili rispondono alla chemioquina fMet-Leu-Phe (fMLP) stimolando PI3K e sintetizzando $PtdIns(3, 4, 5)P_3$. Questa sintesi è correlata con l'attivazione dell'incremento respiratorio esplosivo implicato nella distruzione di neutrofili di microrganismi invasori. Trattamento di neutrofili con wortmannina previene la risposta esplosiva respiratoria indotta da fMLP (Thelen et al. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91 p. 4960-64 (1994)). Infatti questi esperimenti con wortmannina, come pure altre evidenze sperimentali, mostrano che l'attività di PI3K in cellule della linea emopoietica, particolarmente neutrofili, monociti, e altri tipi di leucociti, è implicata in molte delle risposte immunitarie non di memoria associate con infiammazione acuta e cronica.



LY294002



WORTMANNINA

Sulla base di studi che utilizzano wortmannina, vi è evidenza che la funzione di PI3-chinasi è necessaria anche

per alcuni aspetti della segnalazione dei leucociti attraverso recettori accoppiati a proteine-G (Thelen et al. (1994), sopra). Inoltre, è stato dimostrato che wortmannina e LY294002 bloccano la migrazione dei neutrofilii e il rilascio di superossido.

Si è ora ben compreso che la deregolazione di oncogeni e geni oncosoppressori contribuisce alla formazione di tumori maligni, ad esempio mediante crescita e proliferazione cellulare aumentate o sopravvivenza cellulare aumentata. Si è anche ormai accertato che i percorsi segnalazione mediati dalla famiglia PI3K hanno un ruolo centrale in una serie di processi cellulari tra cui la proliferazione e la sopravvivenza, e la deregolazione di queste vie è un fattore causativo di un ampio spettro di tumori umani e di altre malattie (Katso et al. *Annual Rev. Cell Dev. Biol.* (2001) 17 p. 615-675 e Foster et al. *J. Cell Science* (2003) 116 (15) p. 3037-3040). Proteine PI3K effettrici iniziano percorsi e ramificazioni di segnalazione mediante traslocazione alla membrana plasmatica attraverso un dominio di Pleckstrin Homology conservato (PH), che interagisce specificamente con PtdIns(3,4,5)P₃ (Vanhaesebroeck et al. *Annu. Rev. Biochem.* (2001) 70 p. 535-602). Le proteine effettrici che segnalano attraverso PtdIns(3,4,5)P₃ e domini PH includono serina/treonina (Ser/Thr) chinasi, tirosin-chinasi, Rac o Arf GEFs (fattori di scambio di Guanin-nucleotide) e Arf BPA (proteine che attivano GTPasi).

In cellule B e T PI3K hanno un ruolo importante attraverso l'attivazione della famiglia Tec di proteina tirosina chinasi che comprendono tirosina chinasi Bruton (BTK) in cellule B e chinasi di cellule T inducibile con interleuchina-2 (ITK) in cellule T. Dopo l'attivazione di PI3K, BTK o ITK traslocano alla membrana plasmatica dove vengono successivamente fosforilate dalle chinasi Src. Uno degli obiettivi principali di ITK attivata è fosfolipasi C-gamma (PLC γ 1), che idrolizza PtdIns (4,5)P₂ in Ins(3,4,5)P₃ e avvia un aumento dei livelli di calcio intracellulare e diacilglicerolo (DAG) che può attivare la proteina chinasi C in cellule T attivate.

A differenza della classe IA p110 α e p110 β , p110 δ viene espressa in maniera limitata a tessuto. L'alto livello di espressione in linfociti e tessuti linfoidei suggerisce un ruolo nella segnalazione PI3K-mediata nel sistema immunitario. I topi "dead knock-in" per p110 δ chinasi sono anche vitali e il loro fenotipo è limitato a difetti nella segnalazione immunitaria (Okkenhaug et al. *Science* (2002) 297 p. 1031-4). Questi topi transgenici hanno offerto comprensione della funzione della PI3K δ in segnalazione di cellule B e cellule T. In particolare, p110 δ è

necessaria per la formazione di PtdIns(3,4,5)P₃ a valle di CD28 e/o segnalazione di recettore di cellula T (TCR). Un effetto chiave della segnalazione di PI3K a valle del TCR è l'attivazione di Akt, che fosforila fattori anti-apoptosi così come vari fattori di trascrizione per la produzione di citochine. Di conseguenza, le cellule T con p110 δ inattiva hanno difetti nella proliferazione e secrezione di citochine Th1 e Th2. Attivazione di cellule T tramite CD28 abbassa la soglia per l'attivazione da TCR mediante antigene e aumenta la grandezza e la durata della risposta proliferativa. Questi effetti sono mediati dall'incremento dipendente da PI3K δ della trascrizione di un certo numero di geni tra cui IL2, un importante fattore di crescita di cellule T.

Pertanto, si prevede che gli inibitori di PI3K forniscano un beneficio terapeutico attraverso il loro ruolo nella modulazione di risposte infiammatorie mediate da cellule T associate a malattie respiratorie come asma, COPD e fibrosi cistica. Inoltre, vi è indicazione che terapie dirette a cellule T possano fornire proprietà di risparmio di corticosteroidi (Alexander et al. *Lancet* (1992) 339 p. 324-8), suggerendo che esse possano costituire una terapia utile sia da sola che in combinazione con corticosteroidi per via inalatoria o per via orale in malattie respiratorie. Un inibitore della PI3K può essere utilizzato anche insieme ad altre terapie convenzionali, come ad esempio un beta-agonista a lunga azione (LABA) in asma.

Nel sistema vascolare, PI3K δ è espressa da cellule endoteliali e partecipa nel traffico di neutrofili modulando lo stato proadesivo di queste cellule in risposta a TNF α (Puri et al. *Blood* (2004) 103 (9) p. 3448-56). Un ruolo per PI3K δ in segnalazione indotta da TNF α delle cellule endoteliali è dimostrata dalla inibizione farmacologica della fosforilazione di Akt e attività di PDK1. Inoltre, PI3K δ è implicata nella permeabilità vascolare ed edema di tessuto delle vie respiratorie attraverso il percorso di VEGF (Lee et al. *J. Allergy Clin. Immunol.* (2006) 118 (2) p. 403-9). Queste osservazioni suggeriscono benefici aggiuntivi di inibizione PI3K δ nell'asma mediante la riduzione combinata di stravasamento dei leucociti e permeabilità vascolare associati all'asma. Inoltre, l'attività di PI3K δ è richiesta per la funzione dei mastociti in vitro ed in vivo (Ali et al. *Nature* (2004) 431 p. 1007-11; e Ali et al. *J. Immunol.* (2008) 180 (4) p. 2538-44), suggerendo inoltre che l'inibizione di PI3K dovrebbe essere di beneficio terapeutico per indicazioni allergiche quali asma, rinite allergica e dermatite atopica.

Il ruolo di PI3K δ in proliferazione di cellule B, secrezione di anticorpi, antigene di cellule B e segnalazione del recettore di IL-4, funzione di presentazione di cellule B è anche ben consolidato (Okkenhaug et al. (2002), di cui sopra; Al-Alwan et al. J. Immunol. (2007) 178 (4) p. 2328-35, e Bilancio et al. Blood (2006) 107 (2) p. 642-50) e indica un ruolo in malattie autoimmuni come artrite reumatoide o lupus eritematoso sistemico. Pertanto gli inibitori di PI3K possono anche essere di beneficio per queste indicazioni.

L'inibizione farmacologica di PI3K δ inibisce la chemiotassi dei neutrofilii fMLP-dipendenti su un sistema polarizzato dipendente da integrina a matrice di agarosio rivestito con ICAM (Sadhu et al. J. Immunol. (2003) 170 (5) p. 2647-54). L'inibizione di PI3K δ regola l'attivazione, adesione e migrazione dei neutrofilii senza compromettere la fagocitosi mediata da neutrofilii e l'attività battericida su *Staphylococcus aureus* (Sadhu et al. Biochem. Biophys. Res. Commun. (2003) 308 (4) p. 764-9). Nel complesso, i dati suggeriscono che inibizione di PI3K δ non dovrebbe inibire globalmente le funzioni dei neutrofilii necessarie per la difesa immunitaria innata. Il ruolo di PI3K δ in neutrofilii offre ulteriori possibilità per il trattamento di malattie infiammatorie che coinvolgono rimodellamento tissutale, come COPD o artrite reumatoide.

Inoltre, vi è anche una buona evidenza che gli enzimi PI3K di classe Ia contribuiscono anche alla tumorigenesi in una grande varietà di tumori umani, direttamente o indirettamente (Vivanco e Sawyers, Nature Reviews Cancer (2002) 2 (7) p. 489-501). Ad esempio, l'inibizione di PI3K δ può avere un ruolo terapeutico per il trattamento di malattie maligne ematologiche come leucemia mieloide acuta (Billottet et al. Oncogene (2006) 25 (50) p. 6648-59). Inoltre, mutazioni attivanti entro p110 α (gene PIK3CA) sono state associate con vari altri tumori, quali quelli del colon e della mammella e del polmone (Samuels et al. Science (2004) 304 (5670) p. 554).

È stato inoltre dimostrato che PI3K è coinvolta nella creazione di sensibilizzazione centrale in condizioni dolorose infiammatorie (Pezet et al. The J. of Neuroscience (2008) 28 (16) p. 4261-4270).

Una vasta gamma di retrovirus e virus basati su DNA attivano il percorso PI3K come un modo per prevenire la morte delle cellule ospite durante l'infezione virale e sfruttando in ultima analisi la macchina di sintesi delle cellule ospiti per la sua replicazione (Virology 344 (1) p. 131-8 (2006) di Vogt *et al.*; e Nat. Rev. Microbiol. 6 (4) p. 265-75 (2008) di Buchkovich *et al.*). Pertanto gli inibitori della PI3K possono avere proprietà anti-virali

oltre a indicazioni più oncolitiche e anti-infiammatorie. Questi effetti antivirali suscitano interessanti prospettive negli aggravamenti infiammatori indotti da virus. Ad esempio, il comune rinovirus umano del raffreddore (HRV) è responsabile di oltre il 50% delle infezioni delle vie respiratorie ma le complicazioni di queste infezioni possono essere significative in alcune popolazioni. Questo è particolarmente vero per le malattie respiratorie come l'asma o la malattia polmonare ostruttiva cronica (COPD). L'infezione rinovirale delle cellule epiteliali porta ad una secrezione di citochine e chemiochine dipendente da PI3K (J. Biol. Chem. (2005) 280 (44) pag. 36952 di Newcomb *et al.*). Questa risposta infiammatoria è correlata con il peggioramento dei sintomi respiratori durante l'infezione. Pertanto gli inibitori di PI3K possono smorzare una risposta immunitaria esagerata ad un virus altrimenti benigno. La maggior parte dei ceppi di HRV infetta le cellule epiteliali bronchiali inizialmente legandosi al recettore ICAM-1. Il complesso HRV-ICAM-1 viene poi ulteriormente internalizzato per endocitosi ed è stato dimostrato che questo evento richiede l'attività di PI3K (J. Immunol. (2008) 180 (2) pag. 870-880 di Lau *et al.*). Pertanto, gli inibitori di PI3K possono anche bloccare le infezioni virali inibendo l'ingresso virale nelle cellule ospiti.

Gli inibitori di PI3K possono essere utili nella riduzione di altri tipi di infezioni respiratorie tra cui l'aspergillosi da infezioni fungine (Mucosal Immunol. (2010) 3 (2) pag. 193-205 di Bonifazi *et al.*). Inoltre, topi carenti di PI3K δ sono più resistenti alle infezioni da parte del parassita protozoo *Leishmania major* (J. Immunol. (2009) 183 (3) pag. 1921-1933 da Liu *et al.*). Presi con gli effetti sulle infezioni virali, queste relazioni suggeriscono che gli inibitori di PI3K possono essere utili per il trattamento di un'ampia varietà di infezioni.

L'inibizione di PI3K ha anche dimostrato di promuovere la differenziazione delle cellule T regolatorie (Proc. Natl. Acad. Sci. USA (2008) 105 (22) pag. 7797-7802 da Sauer *et al.*) suggerendo che gli inibitori di PI3K possono servire a scopi terapeutici in indicazioni autoimmuni o allergiche inducendo una immuno-tolleranza verso auto-antigene o allergene. Recentemente la isoforma di PI3K δ è stata anche legata all'insensibilità a glucocorticoidi indotta dal fumo (Am. J. Respir. Crit. Care Med. (2009) 179 (7) pag. 542-548 di Marwick *et al.*). Questa osservazione suggerisce che i pazienti con COPD, che per il resto reagiscono poco ai corticosteroidi, possono beneficiare della combinazione di un inibitore di PI3K con un corticosteroide.

PI3K è ritenuto coinvolto anche in altre condizioni respiratorie come la fibrosi polmonare idiopatica (IPF). IPF è una malattia da fibrosi con un progressivo declino della funzione polmonare e una aumentata mortalità dovuta all'insufficienza respiratoria. In IPF, i fibrociti circolanti sono diretti al polmone attraverso il recettore di chemiochine CXCR4. PI3K è richiesto sia per la segnalazione che per l'espressione di CXCR4 (Int. J. Biochem. And Cell Biol. (2009) 41 p.1708-1718 di Mehrad *et al.*). Pertanto, riducendo l'espressione di CXCR4 e bloccando la sua funzione di effettore, un inibitore di PI3K dovrebbe inibire il reclutamento di fibrociti al polmone e di conseguenza rallentare il processo fibrotico alla base di IPF, una malattia con necessità altamente insoddisfatta.

Sono stati fatti tentativi per preparare composti che inibiscono l'attività di PI3-chinasi e un certo numero di tali composti sono stati descritti nella tecnica. Tuttavia, in considerazione del numero di risposte patologiche che sono mediate da PI3-chinasi, rimane una necessità continua di inibitori di PI3-chinasi che possono essere utilizzati nel trattamento di una varietà di condizioni.

I presenti inventori hanno scoperto nuovi composti che sono inibitori di attività di chinasi, in particolare attività di PI3-chinasi. I composti che sono inibitori di PI3-chinasi possono essere utili nel trattamento di disturbi associati con inappropriata attività di chinasi, in particolare inappropriata attività di PI3-chinasi, per esempio nel trattamento e prevenzione di disturbi mediati da meccanismi di PI3-chinasi. Tali disturbi includono malattie respiratorie come asma, malattia polmonare cronica ostruttiva (COPD) e fibrosi polmonare idiopatica (IPF); infezioni virali incluse infezioni virali delle vie respiratorie e aggravamenti virali di malattie respiratorie come asma e COPD; infezioni respiratorie non virali incluse aspergillosi e leishmaniosi; malattie allergiche incluse rinite allergica e dermatite atopica; malattie autoimmuni incluse artrite reumatoide e sclerosi multipla, malattie infiammatorie inclusa malattia infiammatoria intestinale; malattie cardiovascolari, tra cui trombosi ed aterosclerosi; tumori ematologici, malattie neurodegenerative, pancreatite, insufficienza multiorgano, malattie renali, aggregazione piastrinica, cancro, motilità degli spermatozoi, rigetto dei trapianti; rigetto di innesto; lesioni polmonari; e dolore incluso il dolore associato ad artrite reumatoide o osteoartrite, dolore alla schiena, dolore infiammatorio generale, nevralgia post-epatica, neuropatia diabetica, dolore neuropatico infiammatorio (trauma),

nevralgia del trigemino e dolore centrale.

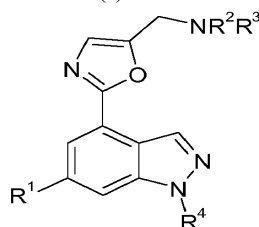
In una realizzazione, i composti della combinazione dell'invenzione possono mostrare selettività per PI3-chinasi rispetto ad altre chinasi.

In un'altra realizzazione, composti della combinazione dell'invenzione possono essere potenti inibitori di PI3K δ .

In un'altra realizzazione, composti della combinazione dell'invenzione possono mostrare selettività per PI3K δ rispetto ad altre PI3-chinasi.

SOMMARIO DELL'INVENZIONE

L'invenzione è rivolta a certe combinazioni di composti nuovi. Specificamente, l'invenzione è rivolta a combinazioni comprendenti un composto di formula (I)



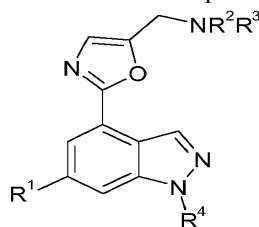
(I)

in cui R¹, R², R³ e R⁴ sono come definiti di seguito, o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme a uno o più di altri agenti terapeuticamente attivi.

I composti sono inibitori di attività di chinasi, in particolare attività di PI3-chinasi. Composti che sono inibitori di PI3-chinasi possono essere utili nel trattamento di disturbi associati con attività inappropriata di PI3-chinasi, come asma e malattia polmonare ostruttiva cronica (COPD). Di conseguenza, l'invenzione è inoltre rivolta a composizioni farmaceutiche comprendenti una combinazione di un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme a un altro agente terapeuticamente attivo. L'invenzione è inoltre rivolta a una combinazione comprendente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme a uno o più di altri agenti terapeuticamente attivi per uso nell'inibire l'attività di PI3-chinasi e trattamento di disturbi associati con essa. La descrizione è inoltre rivolta a procedimenti per la preparazione dei composti della combinazione dell'invenzione.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

In una realizzazione, l'invenzione è rivolta a combinazioni comprendenti un composto di formula (I):



(I)

in cui

R^1 è eteroarile biciclico a 9 o 10 termini in cui l'eteroarile biciclico a 9 o 10 termini contiene da uno a tre eteroatomi scelti indipendentemente da ossigeno e azoto ed è opzionalmente sostituito con C_{1-6} alchile, C_3 -cicloalchile, alogeno, -CN o -NHSO₂R⁵, o

piridinile opzionalmente sostituito con uno o due sostituenti scelti indipendentemente da C_{1-6} alchile, -OR⁶, alogeno e -NHSO₂R⁷;

R^2 e R^3 , insieme all'atomo di azoto a cui sono attaccati, sono uniti per formare un eterociclile a 6 o 7 termini in cui l'eterociclile a 6 o 7 termini opzionalmente contiene un atomo di ossigeno o un altro atomo di azoto ed è opzionalmente sostituito con uno o due sostituenti scelti indipendentemente da C_{1-6} alchile;

R^4 è idrogeno o metile;

R^6 è idrogeno o C_{1-4} alchile; e

R^5 e R^7 sono ciascuno indipendentemente C_{1-6} alchile, o fenile opzionalmente sostituito con uno o due sostituenti scelti indipendentemente da alogeno;

o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme a uno o più di altri agenti terapeuticamente attivi.

In una realizzazione, R^1 è eteroarile biciclico a 9 termini in cui l'eteroarile biciclico a 9 termini contiene uno o due atomi di azoto, o piridinile opzionalmente sostituito con uno o due sostituenti scelti indipendentemente da -OR⁶ e -NHSO₂R⁷. In un'altra realizzazione, R^1 è eteroarile biciclico a 9 o 10 termini in cui l'eteroarile biciclico a 9 o 10 termini contiene da uno a tre eteroatomi scelti indipendentemente da ossigeno e azoto ed è opzionalmente

sostituito con C₁₋₆alchile, C₃₋₆cicloalchile, alogeno, -CN o -NHSO₂R⁵. In un'altra realizzazione, R¹ è eteroarile biciclico a 9 o 10 termini in cui l'eteroarile biciclico a 9 o 10 termini contiene uno o due atomi di azoto ed è opzionalmente sostituito con C₁₋₆alchile o alogeno. In un'altra realizzazione, R¹ è eteroarile biciclico a 9 termini in cui l'eteroarile biciclico a 9 termini contiene uno o due atomi di azoto. In un'altra realizzazione, R¹ è indolile, per esempio 1H-indol-4-ile. In un'altra realizzazione, R¹ è piridinile opzionalmente sostituito con uno o due sostituenti scelti indipendentemente da C₁₋₆alchile, -OR⁶, alogeno e -NHSO₂R⁷. In un'altra realizzazione, R¹ è piridinile opzionalmente sostituito con uno o due sostituenti scelti indipendentemente da -OR⁶ e -NHSO₂R⁷. In un'altra realizzazione, R¹ è piridinile sostituito con -OR⁶ e -NHSO₂R⁷.

In una realizzazione, R² e R³, insieme all'atomo di azoto a cui sono attaccati, sono uniti per formare un eterociclile a 6 termini in cui l'eterociclile a 6 termini opzionalmente contiene un atomo di ossigeno o un altro atomo di azoto ed è opzionalmente sostituito con uno o due sostituenti scelti indipendentemente da C₁₋₆alchile. In un'altra realizzazione, R² e R³, insieme all'atomo di azoto a cui sono attaccati, sono uniti per formare un eterociclile a 6 termini in cui l'eterociclile a 6 termini opzionalmente contiene un atomo di ossigeno o un altro atomo di azoto ed è sostituito con uno o due sostituenti scelti indipendentemente da C₁₋₄alchile, per esempio metile. In un'altra realizzazione, R² e R³, insieme all'atomo di azoto a cui sono attaccati, sono uniti per formare un eterociclile a 6 termini in cui l'eterociclile a 6 termini contiene un atomo di ossigeno ed è opzionalmente sostituito con uno o due sostituenti scelti indipendentemente da C₁₋₄alchile, per esempio metile. In un'altra realizzazione, R² e R³, insieme all'atomo di azoto a cui sono attaccati, sono uniti per formare un eterociclile a 6 termini in cui l'eterociclile a 6 termini contiene un atomo di ossigeno ed è sostituito con uno o due sostituenti scelti indipendentemente da C₁₋₆alchile. In un'altra realizzazione, R² e R³, insieme all'atomo di azoto a cui sono attaccati, sono uniti per formare un eterociclile a 6 termini in cui l'eterociclile a 6 termini contiene un altro atomo di azoto ed è opzionalmente sostituito con C₁₋₄alchile, per esempio isopropile. In un'altra realizzazione, R² e R³, insieme all'atomo di azoto a cui sono attaccati, sono uniti per formare un eterociclile a 6 termini in cui l'eterociclile a 6 termini contiene un altro atomo di azoto ed è sostituito con C₁₋₄alchile, per esempio isopropile.

In una realizzazione, R⁴ è idrogeno.

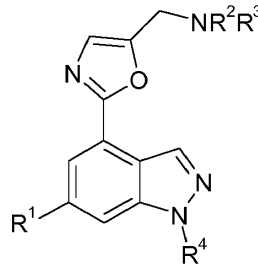
In una realizzazione, R^5 è C_{1-4} alchile come metile.

In una realizzazione, R^6 è C_{1-4} alchile come metile.

In una realizzazione, R^7 è C_{1-6} alchile. In un'altra realizzazione, R^7 è C_{1-4} alchile come metile. In un'altra realizzazione, R^7 è fenile opzionalmente sostituito con uno o due sostituenti scelti indipendentemente da alogeno, per esempio fluoro.

Resta inteso che la presente invenzione copre tutte le combinazioni di gruppi sostituenti descritti qui sopra.

In una realizzazione, l'invenzione è rivolta a combinazioni comprendenti un composto di formula (IA)



(IA)

in cui

R^1 è piridinile opzionalmente sostituito con uno o due sostituenti scelti indipendentemente da $-OR^6$ e $-NHSO_2R^7$; R^2 e R^3 , insieme all'atomo di azoto a cui sono attaccati, sono uniti per formare un eterociclile a 6 termini in cui l'eterociclile a 6 termini contiene un atomo di ossigeno ed è opzionalmente sostituito con uno o due sostituenti scelti indipendentemente da C_{1-4} alchile;

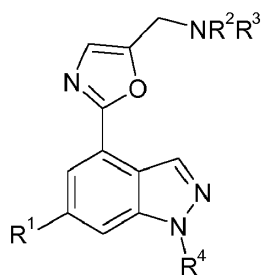
R^4 è idrogeno;

R^6 è C_{1-4} alchile; e

R^7 è C_{1-4} alchile;

o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme a uno o più di altri agenti terapeuticamente attivi.

In un'altra realizzazione, l'invenzione è rivolta a combinazioni comprendenti un composto di formula (IB)



(IA)

in cui

R¹ è indolile;

R² e R³, insieme all'atomo di azoto a cui sono attaccati, sono uniti per formare un eterociclile a 6 termini in cui l'eterociclile a 6 termini contiene un altro atomo di azoto ed è opzionalmente sostituito con C₁₋₄alchile; e

R⁴ è idrogeno;

o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme a uno o più di altri agenti terapeuticamente attivi.

Composti della combinazione dell'invenzione includono i composti di Esempi 1 fino a 9 e loro sali accettabili farmaceuticamente.

In una realizzazione, il composto della combinazione dell'invenzione è:

N-[5-[4-(5-[[*(2R,6S)*-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide;

N-[5-[4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide;

N-[5-[4-(5-[[*(2R,6S)*-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]-2,4-difluorobenzensolfonammide;

2,4-difluoro-*N*-[5-[4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]benzensolfonammide;

4-(5-[[*(2R,6S)*-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-ossazol-2-il)-6-(*1H*-indol-4-il)-1*H*-indazolo;

6-(*1H*-indol-4-il)-4-(5-[[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil]-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo;

6-(1*H*-indol-4-il)-4-[5-(4-morfolinilmetil)-1,3-ossazol-2-il]-1*H*-indazolo;

N-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil}metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide;

6-(1*H*-indol-4-il)-4-[5-(1-piperazinilmetil)-1,3-ossazol-2-il]-1*H*-indazolo;

o un loro sale accettabile farmaceuticamente.

In un'altra realizzazione, il composto della combinazione dell'invenzione è:

N-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil}metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide;

N-[5-[4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide;

N-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil}metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]-2,4-difluorobenzensolfonammide;

2,4-difluoro-*N*-[5-[4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]benzensolfonammide;

4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil}metil}-1,3-ossazol-2-il)-6-(1*H*-indol-4-il)-1*H*-indazolo;

6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo;

6-(1*H*-indol-4-il)-4-[5-(4-morfolinilmetil)-1,3-ossazol-2-il]-1*H*-indazolo;

o un loro sale accettabile farmaceuticamente.

In un'altra realizzazione, il composto della combinazione dell'invenzione è:

N-[5-[4-(5-{{[2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide;

o un suo sale.

In un'altra realizzazione, il composto della combinazione dell'invenzione è:

N-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil}metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide;

o un suo sale accettabile farmaceuticamente.

In un'altra realizzazione, il composto della combinazione dell'invenzione è:

N-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil}metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide (*R*)-mandelato.

In un'altra realizzazione, il composto della combinazione dell'invenzione è:

N-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil}metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide.

In un'altra realizzazione, il composto della combinazione dell'invenzione è:

6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo;

o un suo sale accettabile farmaceuticamente.

In un'altra realizzazione, il composto della combinazione dell'invenzione è:

6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo cloridrato.

In un'altra realizzazione, il composto della combinazione dell'invenzione è:

6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo.

Termini e definizioni

"Alchile" si riferisce ad una catena idrocarburica satura avente il numero specificato di atomi componenti. Per esempio, C₁₋₆alchile si riferisce ad un gruppo alchilico avente da 1 fino a 6 atomi componenti, per esempio da 1 fino a 4 atomi componenti. Gruppi alchilici possono essere lineari o ramificati. Gruppi alchilici ramificati rappresentativi hanno una, due o tre ramificazioni. Alchile include metile, etile, propile (n-propile e isopropile), butile (n-butile, isobutile, e t-butile), pentile (n-pentile, isopentile, e neopentile), ed esile.

"Cicloalchile" si riferisce ad un anello idrocarburico saturo avente il numero specificato di atomi componenti. Gruppi cicloalchilici sono sistemi ad anello monociclico. Per esempio, C₃₋₆ cicloalchile si riferisce ad un gruppo cicloalchilico avente da 3 a 6 atomi componenti. In una realizzazione, i gruppi cicloalchilici hanno 3 o 4 atomi componenti. In un'altra realizzazione, i gruppi cicloalchilici hanno 5 o 6 atomi componenti. Cicloalchile include ciclopropile, ciclobutile, ciclopentile, e cicloesile.

"Enantiomericamente arricchito" si riferisce a prodotti il cui eccesso enantiomerico è maggiore di zero. Per esempio, enantiomericamente arricchito si riferisce a prodotti il cui eccesso enantiomerico è maggiore del 50% ee, maggiore del 75% ee, e maggiore del 90% ee.

"Eccesso enantiomerico" o **"ee"** è l'eccesso di un enantiomero rispetto all'altro espresso come percentuale. Come risultato, poiché entrambi gli enantiomeri sono presenti in quantità uguali in una miscela racemica, l'eccesso enantiomerico è zero (0% ee). Tuttavia, se un enantiomero veniva arricchito in modo che costituisse il 95% del prodotto, allora l'eccesso enantiomerico sarebbe di 90% ee (la quantità dell'enantiomero arricchito, 95%, meno la quantità dell'altro enantiomero, 5%).

"Enantiomericamente puro" si riferisce a prodotti il cui eccesso enantiomerico è 99% ee o più.

"Emivita" (o "emivite") si riferisce al tempo richiesto perché la metà di una quantità di una sostanza venga convertita in un'altra specie chimicamente distinta *in vitro* o *in vivo*.

"Alogeno" si riferisce al radicale di alogeno fluoro, cloro, bromo, o iodio.

"Eteroarile", se non definito diversamente, si riferisce ad gruppo aromatico contenente da 1 a 3 eteroatomi come atomi componenti. Gruppi eteroarilico contenenti più di un eteroatomo possono contenere eteroatomi differenti. Gruppi eteroarilici possono essere opzionalmente sostituiti come definito nella presente. I gruppi eteroarilici nella presente sono sistemi ad anello biciclici condensati. Gli anelli eteroarilici biciclici hanno 9 o 10 atomi componenti. Eteroarile biciclico include indolile, isoindolile, indolizinile, benzofuranile, isobenzofuranile, indazolile, benzimidazolile, pirrolopiridinile, pirazolopiridinile, pirrolopirimidinile, chinolile, isochinolinile, chinossalinile, chinazolinile, cinnolinile, benzopiranile, benzossazolile, furopiridinile e naftiridinile.

"Eteroatomo" si riferisce ad un atomo di azoto, zolfo, o ossigeno.

"Eterociclile", a meno che definito diversamente, si riferisce ad un anello saturo o insaturo contenente 1 o 2 eteroatomi come atomi componenti nell'anello. Tuttavia, anelli eterociclici non sono aromatici. In certe realizzazioni, eterociclile è saturo. In altre realizzazioni, eterociclile è insaturo ma non aromatico. Gruppi di eterociclile contenenti più di un eteroatomo possono contenere eteroatomi differenti. Gruppi di eterociclile possono essere opzionalmente sostituiti con uno o più sostituenti come definito nella presente. I gruppi

eterociclici nella presente sono sistemi ad anello monociclico aventi 6 o 7 atomi componenti. Eterocicli monociclico include piperidinile, piperazinile, morfolinile e esaidro-1,4-ossazepinile.

"Atomi componenti" si riferisce all'atomo o atomi che formano una catena o anello. Dove è presente più di un atomo componente in una catena e all'interno di un anello, ciascun atomo componente è covalentemente legato ad un atomo componente adiacente nella catena o anello. Atomi che costituiscono un gruppo sostituito su una catena o anello non sono atomi componenti nella catena o anello.

"Opzionalmente sostituito" indica che un gruppo, come eteroarile, può essere non sostituito o sostituito con uno o più sostituenti come definiti nella presente.

"Sostituito" in riferimento ad un gruppo indica che un atomo di idrogeno attaccato ad un atomo componente all'interno di un gruppo è sostituito. Va compreso che il termine "sostituito" include la condizione implicita che tale sostituzione sia secondo la valenza ammessa dell'atomo sostituito e del sostituito e che la sostituzione risulti in un composto stabile (cioè uno che non subisce spontaneamente trasformazione come mediante riarrangiamento, ciclizzazione, o eliminazione). In certe realizzazioni, un singolo atomo può essere sostituito con più di un sostituito purché tale sostituzione sia secondo la valenza permessa dell'atomo. Sostituiti adatti sono definiti nella presente per ciascun gruppo sostituito o opzionalmente sostituito.

"Accettabile farmaceuticamente" si riferisce a quei composti, sali, materiali, composizioni, e forme di dosaggio che sono, nel campo del giudizio medico ragionevole, adatti per l'uso a contatto con i tessuti di esseri umani ed animali senza eccessiva tossicità, irritazione, o altro problema o complicazione, commisurato ad un ragionevole rapporto rischi/benefici.

Come usati nella presente i simboli e convenzioni usati in questi procedimenti, schemi ed esempi sono coerenti con quelli usati nella letteratura scientifica contemporanea, per esempio, il *Journal of the American Chemical Society* o il *Journal of Biological Chemistry*. Abbreviazioni standard a singola lettera o tre lettere vengono generalmente usate per indicare residui amminoacidici, che si assume siano nella configurazione L a meno che riportato diversamente. A meno che indicato diversamente, tutti i materiali di partenza sono stati ottenuti da fornitori commerciali e usati senza ulteriore purificazione. Specificamente, le seguenti abbreviazioni possono

essere usate negli esempi e in tutta la descrizione.

DCM	Diclorometano
DMF	Dimetilformammide
DMPU	1,3-Dimetil-3,4,5,6-tetraidro-2-(1H)-pirimidinone
DMSO	Dimetilsolfossido
EtOAc	Etil acetato
g	Grammi
h	ora(e)
HPLC	Cromatografia liquida ad alte prestazioni
LCMS	Cromatografia liquida spettrometria di massa
L	Litro
M	Molare
MDAP	HPLC preparativa automatizzata guidata da massa
Me	Metile
MeCN	Acetonitrile
MeOH	Metanolo
mg	Milligrammi
Min.	Minuti
ml	Millilitri
mmole	Millimoli
Rt	Tempo di ritenzione
RT	Temperatura ambiente
SCX	Scambio cationico forte
SPE	Estrazione in fase solida
TFA	Acido trifluoroacetico

THF	Tetraidrofurano
UPLC	Cromatografia liquida a prestazioni ultra-elevate
UV	Ultravioletto

Tutti i riferimenti a salamoia sono ad una soluzione acquosa satura di NaCl.

Inclusi nel campo dei composti della combinazione dell'invenzione sono tutti i solvati (inclusi gli idrati), complessi, forme polimorfe, profarmaci, derivati radiomarcati, stereoisomeri e isomeri ottici dei composti di formula (I) e loro sali accettabili farmaceuticamente.

I composti della combinazione dell'invenzione possono esistere in forma solida o liquida. Allo stato solido, i composti della combinazione dell'invenzione possono esistere in forma cristallina o non cristallina, o come loro miscela. Per composti della combinazione dell'invenzione che sono in forma cristallina, il tecnico esperto si renderà conto del fatto che si possono formare solvati accettabili farmaceuticamente in cui molecole di solvente sono incorporate nel reticolo cristallino durante la cristallizzazione. Solvati possono coinvolgere solventi non acquosi come etanolo, isopropanolo, DMSO, acido acetico, etanolamina, e EtOAc, o possono comprendere acqua come solvente che è incorporato nel reticolo cristallino. Solvati in cui acqua è il solvente che è incorporato nel reticolo cristallino vengono tipicamente chiamati "idrati". Idrati includono idrati stechiometrici ed anche composizioni contenenti quantità variabili di acqua. L'invenzione include tutti questi solvati.

Il tecnico esperto sarà inoltre apprezzare che certi composti della combinazione dell'invenzione che esistono in forma cristallina, compresi i vari solvati degli stessi, possono mostrare polimorfismo (cioè la capacità di trovarsi in diverse strutture cristalline). Queste diverse forme cristalline sono generalmente note come "polimorfi". L'invenzione include tutti tali polimorfi. Polimorfi hanno la stessa composizione chimica ma differiscono nell'impaccamento, disposizione geometrica, e altre proprietà descrittive dello stato solido cristallino. Polimorfi, quindi, possono avere diverse proprietà fisiche quali la forma, la densità, la durezza, deformabilità, la stabilità e le proprietà di dissoluzione. Polimorfi tipicamente mostrano punti di fusione, spettri IR e figure di diffrazione di raggi X da polvere differenti, che possono essere usati per l'identificazione. Il tecnico del ramo apprezzerà che differenti polimorfi possono essere prodotti, ad esempio, modificando o regolando le condizioni di reazione o

reagenti, usati nella fabbricazione del composto. Per esempio, variazioni di temperatura, pressione, o solvente possono risultare in polimorfi. Inoltre, un polimorfo può spontaneamente convertirsi ad un altro polimorfo in determinate condizioni.

In un aspetto, la presente invenzione fornisce una combinazione comprendente N -[5-[4-(5-{\{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide o un suo sale accettabile farmaceuticamente in forma cristallina.

In una realizzazione, la presente invenzione fornisce una combinazione comprendente N -[5-[4-(5-{\{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide in forma cristallina.

In un'altra realizzazione, la presente invenzione fornisce una combinazione comprendente N -[5-[4-(5-{\{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide cristallina caratterizzata dal fatto di fornire una figura XRPD (diffrazione di raggi X da polveri) avente picchi ($^{\circ}2\theta$) a circa 4,5, circa 11,7 e/o circa 12,9.

In un'altra realizzazione, la presente invenzione fornisce una combinazione comprendente N -[5-[4-(5-{\{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide cristallina caratterizzata dal fatto di fornire una figura XRPD comprendente picchi sostanzialmente come riportati in Tabella 2.

In un'altra realizzazione, la presente invenzione fornisce una combinazione comprendente N -[5-[4-(5-{\{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide cristallina caratterizzata dal fatto di fornire una figura XRPD sostanzialmente secondo Figura 2.

In un altro aspetto, la presente invenzione fornisce una combinazione comprendente 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{\{4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo o un suo sale accettabile farmaceuticamente in forma cristallina.

In una realizzazione, la presente invenzione fornisce una combinazione comprendente 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{\{4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo cloridrato in forma cristallina.

In un'altra realizzazione, la presente invenzione fornisce una combinazione comprendente 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo cloridrato cristallino caratterizzato dal fatto di fornire una figura XRPD (diffrazione di raggi X da polveri) avente picchi ($^{\circ}2\theta$) a circa 5,2, circa 10,3 e/o circa 12,8.

In un'altra realizzazione, la presente invenzione fornisce una combinazione comprendente 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo cloridrato cristallino caratterizzato dal fatto di fornire una figura XRPD comprendente picchi sostanzialmente come riportati in Tabella 1.

In un'altra realizzazione, la presente invenzione fornisce una combinazione comprendente 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo cloridrato cristallino caratterizzato dal fatto di fornire una figura XRPD sostanzialmente secondo Figura 1.

Quando nella presente è indicato che c'è un picco in una figura XRPD ad un dato valore, si intende tipicamente che il picco rientra in $\pm 0,2$ del valore riportato.

L'invenzione comprende anche combinazioni comprendenti composti marcati con isotopi, che sono identici ai composti di formula (I) e loro sali accettabili farmaceuticamente, eccetto per il fatto che uno o più atomi sono sostituiti da un atomo avente una massa atomica o numero di massa differente dalla massa atomica o numero di massa più comunemente trovati in natura. Esempi di isotopi che possono essere incorporati nei composti dell'invenzione includono isotopi di idrogeno, carbonio, azoto, ossigeno e fluoro, come ^2H , ^3H , ^{11}C , ^{14}C e ^{18}F .

I composti secondo la formula (I) possono contenere uno o più centri asimmetrici (anche indicati come centro chirale) e possono, pertanto esistere come singoli enantiomeri, diastereomeri, o altre forme stereoisomeriche, o come loro miscele. Centri chirali, come atomi di carbonio chirali, possono anche essere presenti in un sostituente come un gruppo alchilico. Qualora la stereochimica di un centro chirale presente in formula (I), o in qualsiasi struttura chimica illustrata nella presente, non è specificata la struttura è destinata a comprendere qualsiasi stereoisomero e tutte le loro miscele. Così, i composti secondo la formula (I) contenenti uno o più centri chirali possono essere utilizzati come miscele racemiche, miscele enantiomericamente arricchite, o come singoli stereoisomeri enantiomericamente puri.

Stereoisomeri individuali di un composto secondo la formula (I) che contengono uno o più centri asimmetrici possono essere risolti mediante metodi noti agli esperti nella tecnica. Ad esempio, tale risoluzione può essere effettuata (1) mediante formazione di sali diastereomeri, complessi o altri derivati; (2) per reazione selettiva con un reagente specifico per stereoisomero, ad esempio per ossidazione enzimatica o riduzione; o (3) mediante cromatografia gas-liquida o liquida in un ambiente chirale, per esempio, su un supporto chirale come silice con un ligando legato chirale o in presenza di un solvente chirale. Il tecnico del ramo apprezzerà che dove lo stereoisomero desiderato viene convertito in un'altra entità chimica mediante una delle procedure di separazione sopra descritte, un ulteriore passo è necessario per liberare la forma desiderata. In alternativa, stereoisomeri specifici possono essere sintetizzati mediante sintesi asimmetrica utilizzando reagenti otticamente attivi, substrati, catalizzatori o solventi, oppure convertendo un enantiomero all'altro mediante trasformazione asimmetrica.

I composti secondo la formula (I) possono anche contenere centri di asimmetria geometrica. Qualora la stereochimica di un centro di asimmetria geometrica presente in formula (I), o in qualsiasi struttura chimica illustrata nella presente, non è specificata, la struttura è destinata a comprendere l'isomero geometrico trans, l'isomero geometrico cis, e tutte le loro miscele. Analogamente, tutte le forme tautomeriche sono comprese anch'esse nella formula (I) se tali tautomeri sono in equilibrio o prevalentemente in una forma.

Si deve comprendere che i riferimenti nel presente documento a composti di formula (I) e loro sali riguarda i composti di formula (I) come acidi liberi o basi libere, o come sali, ad esempio come sali accettabili farmaceuticamente. Così, in una realizzazione, l'invenzione è diretta a combinazioni comprendenti composti di formula (I) come acido libero o base libera. In un'altra realizzazione, la descrizione è diretta a composti di formula (I) e loro sali. In una ulteriore realizzazione, l'invenzione è diretta a combinazioni comprendenti composti di formula (I) e loro sali accettabili farmaceuticamente.

Il tecnico esperto apprezzerà che possono essere preparati sali accettabili farmaceuticamente dei composti secondo la formula (I). Infatti, in certe realizzazioni dell'invenzione, sali accettabili farmaceuticamente dei composti secondo la formula (I) possono essere preferiti rispetto alla rispettiva base libera o acido libero perché

tali sali possono conferire maggiore stabilità e solubilità alla molecola facilitando così la formulazione in forma di dosaggio. Di conseguenza, l'invenzione si riferisce inoltre a combinazioni comprendenti composti di formula (I) e loro sali accettabili farmaceuticamente.

Come qui utilizzato, il termine "sali accettabili farmaceuticamente" si riferisce a sali che mantengono l'attività biologica desiderata del composto in oggetto e presentano minimi effetti indesiderati tossicologici. Questi sali accettabili farmaceuticamente possono essere preparati *in situ* durante l'isolamento e la purificazione finale del composto, o separatamente facendo reagire il composto purificato nella sua forma di acido libero o base libera, o un sale non accettabile farmaceuticamente, con una base o acido adatti, rispettivamente.

Sali e solvati aventi controioni o solventi associati non accettabili farmaceuticamente sono, per esempio, per uso come intermedi nella preparazione di altri composti di formula (I) e loro sali accettabili farmaceuticamente. Pertanto una realizzazione della descrizione comprende i composti di formula (I) e loro sali.

In certe realizzazioni, i composti secondo la formula (I) possono contenere un gruppo funzionale acido. Adatti sali accettabili farmaceuticamente includono sali di tali gruppi funzionali acidi. Sali rappresentativi includono i sali metallici accettabili farmaceuticamente come sali di sodio, potassio, litio, calcio, magnesio, alluminio, e zinco; carbonati e bicarbonati di un catione di metallo accettabile farmaceuticamente come sodio, potassio, litio, calcio, magnesio, alluminio, e zinco; ammine organiche accettabili farmaceuticamente primarie, secondarie, e terziarie comprese ammine alifatiche, ammine aromatiche, diammine alifatiche, e idrossi alchilammine come metilammina, etilammina, 2-idrossietilammina, dietilammina, TEA, etilendiammina, etanolammina, dietanolammina, e cicloesilammina.

In certe realizzazioni, i composti secondo la formula (I) possono contenere un gruppo funzionale basico e sono quindi capaci di formare sali di addizione con acidi accettabili farmaceuticamente mediante trattamento con un acido adatto. Acidi adatti includono acidi inorganici accettabili farmaceuticamente e acidi organici accettabili farmaceuticamente. Sali di addizione con acidi rappresentativi accettabili farmaceuticamente includono cloridrato, bromidrato, nitrato, metilnitrato, solfato, bisolfato, solfammato, fosfato, acetato, idrossiacetato, fenilacetato, propionato, butirrato, isobutirrato, pentanoato, maleato, idrossimaleato, acrilato, fumarato, malato,

tartrato, citrato, salicilato, p-amminosalicilato, glicolato, lattato, eptanoato, ftalato, ossalato, succinato, benzoato, o-acetossibenzoato, clorobenzoato, metilbenzoato, dinitrobenzoato, idrossibenzoato, metossibenzoato, naftoato, idrossinaftoato, mandelato, tannato, formiato, stearato, ascorbato, palmitato, oleato, piruvato, pamoato, malonato, laurato, glutarato, glutammato, estolato, metansolfonato (mesilato), etansolfonato (esilato), 2-idrossietansolfonato, benzensolfonato (besilato), p-amminobenzenzolfonato, p-toluensolfonato (tosilato), e naftalene 2-solfonato. In una realizzazione, il sale di addizione accettabile farmaceuticamente è un cloridrato. In un'altra realizzazione, il sale di addizione accettabile farmaceuticamente è un mandelato come lo (*R*)-mandelato.

In una realizzazione, l'invenzione fornisce una combinazione comprendente un composto che è:

N-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide;

o un suo sale accettabile farmaceuticamente.

In un'altra realizzazione, l'invenzione fornisce una combinazione comprendente un composto che è:

6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{{4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo;

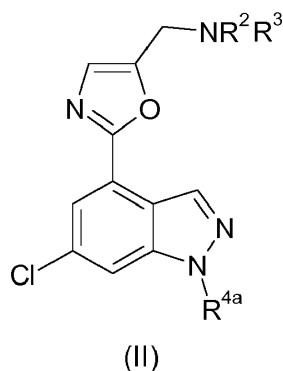
o un suo sale accettabile farmaceuticamente.

Preparazione dei composti

I composti delle combinazioni dell'invenzione possono essere preparati mediante vari metodi, inclusa chimica standard. Qualsiasi variabile definita precedentemente continuerà ad avere il significato definito precedentemente se non indicato diversamente. Metodi sintetici generali illustrativi sono riportati di seguito e poi composti specifici delle combinazioni dell'invenzione vengono preparati nella sezione degli Esempi.

Procedimento A

Composti di formula (I), in cui R^1 , R^2 , R^3 e R^4 sono come definiti sopra, o loro sali, possono essere preparati da composti di formula (II)

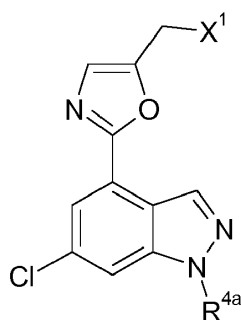


in cui R^2 e R^3 sono come definiti sopra e R^{4a} è metile o un gruppo protettivo adatto come benzensolfonile, mediante trattamento con un adatto acido boronico o estere boronato come 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-1H-indolo (disponibile in commercio), in presenza di un catalizzatore di palladio adatto come cloro[2'-(dimetilammino)-2-bifenilil]palladio-(1*R*,4*S*)-biciclo[2.2.1]ept-2-il[(1*S*,4*R*)-biciclo[2.2.1]ept-2-il]fosfano, in un solvente adatto come una miscela di 1,4-diossano e acqua in un rapporto adatto, per esempio circa 4:1, in presenza di una base adatta come bicarbonato di sodio, e ad una temperatura adatta come da circa 80°C fino a circa 150°C, per esempio circa 120°C.

Il gruppo R^1 introdotto tramite l'acido boronico o estere boronato può essere protetto con un gruppo protettivo adatto come un gruppo *terz*-butildimetilsililico e può essere necessario un altro passaggio di deprotezione, per esempio trattamento con un fluoruro adatto come tetra-*n*-butilammonio fluoruro, in un solvente adatto come tetraidrofurano, e ad una temperatura adatta come temperatura ambiente, per esempio circa 20°C.

Se necessario, per composti di formula (II) in cui R^{4a} è un gruppo protettivo adatto, il gruppo protettivo come benzensolfonile può essere successivamente rimosso mediante trattamento con una base inorganica acquosa adatta come idrossido di sodio acquoso, in un solvente adatto come isopropanolo, e ad una temperatura adatta come temperatura ambiente, per esempio circa 20°C.

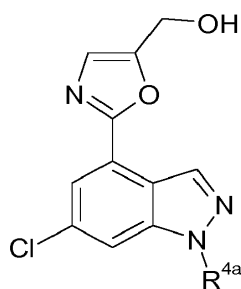
Composti di formula (II), in cui R^2 , R^3 e R^{4a} sono come definiti sopra, possono essere preparati da composti di formula (III)



(III)

in cui R^{4a} è come definito sopra e X^1 è un gruppo uscente adatto come Br, mediante trattamento con un'ammina di formula HNR^2R^3 , in cui R^2 e R^3 sono come definiti sopra, in un solvente adatto come diclorometano, e ad una temperatura adatta come temperatura ambiente, per esempio circa 20°C .

Composti di formula (III), in cui R^{4a} è come definito sopra e X^1 è Br, possono essere preparati da composti di formula (IV)

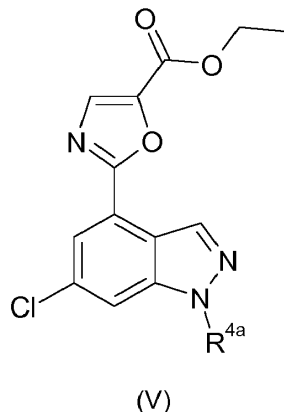


(IV)

in cui R^{4a} è come definito sopra, mediante trattamento con un agente bromurante adatto come tetrabromuro di carbonio e una fosfina adatta come trifenilfosfina, in un solvente adatto come diclorometano, e ad una temperatura adatta come da circa 0°C fino a circa 50°C , per esempio circa 0°C riscaldando a circa 20°C dopo l'aggiunta.

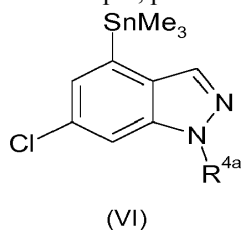
Oppure, alternativamente, composti di formula (III), in cui R^{4a} è come definito sopra e X^1 è Br, possono essere preparati da composti di formula (IV) in cui R^{4a} è come definito sopra, mediante trattamento con un agente bromurante adatto come trifenilfosfina dibromuro, in un solvente adatto come diclorometano, e ad una temperatura adatta come da circa 0°C fino a circa 50°C , per esempio circa 0°C .

Composti di formula (IV), in cui R^{4a} è come definito sopra, possono essere preparati da composti di formula (V)



in cui R^{4a} è come definito sopra, mediante trattamento con un agente riducente adatto come diisobutilalluminio idruro, in un solvente adatto come tetraidrofurano, e ad una temperatura adatta come da circa -50°C fino a circa 0°C , per esempio circa 0°C .

Composti di formula (V), in cui R^{4a} è come definito sopra, possono essere preparati da composti di formula (VI)

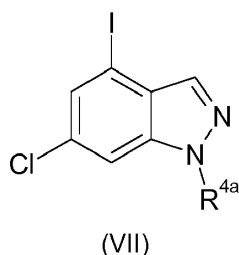


in cui R^{4a} è come definito sopra, mediante trattamento con un adatto alogenuro come etil 2-cloro-1,3-ossazolo-5-carbossilato (disponibile in commercio), in presenza di un catalizzatore di palladio adatto come tetrakis(trifenilfosfina)palladio (0), in un solvente adatto come *N,N*-dimetilformammide, in presenza di un adatto ioduro come sodio ioduro, e sotto irraggiamento con microonde ad una temperatura adatta come da circa 80°C fino a circa 150°C , per esempio circa 100°C .

Oppure, alternativamente, composti di formula (V), in cui R^{4a} è come definito sopra, possono essere preparati da composti di formula (VII) come definiti di seguito, mediante trattamento con un adatto stannano come esametildistagno, in presenza di un catalizzatore di palladio adatto come tetrakis(trifenilfosfina)palladio (0) e una base adatta come trietilammina, in un solvente adatto come toluene, e ad una temperatura adatta come da circa

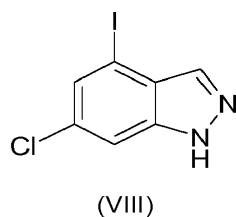
100°C fino a circa 200°C, per esempio circa 120°C, seguito da trattamento con un adatto alogenuro come metil 2-cloro-1,3-ossazolo-5-carbossilato (disponibile in commercio), in presenza di un adatto ioduro come rame (I) ioduro, e un catalizzatore di palladio adatto come tetrakis(trifenilfosfina)palladio (0), in un solvente adatto come 1,3-dimetil-3,4,5,6-tetraidro-2(1H)-pirimidinone, e ad una temperatura adatta come da circa 50°C fino a circa 150°C, per esempio circa 85°C.

Composti di formula (VI), in cui R^{4a} è come definito sopra, possono essere preparati da composti di formula (VII)



in cui R^{4a} è come definito sopra, mediante trattamento con un adatto stannano come esametildistagno, in presenza di un catalizzatore di palladio adatto come tetrakis(trifenilfosfina)palladio (0), in un solvente adatto come xilene, in presenza di una base adatta come trietilammina, e ad una temperatura adatta come da circa 100°C fino a circa 200°C, per esempio circa 150°C.

Composti di formula (VII), in cui R^{4a} è metile, possono essere preparati da composti come il composto di formula (VIII)



mediante metilazione usando una base adatta come sodio idruro, in un solvente adatto come tetraidrofurano, e ad una temperatura adatta come circa 0°C, seguito da aggiunta di un agente alchilante come iodometano e agitando ad una temperatura adatta come temperatura ambiente, per esempio circa 20°C.

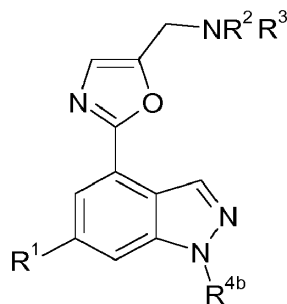
Il composto di formula (VIII) è disponibile in commercio.

Composti di formula (VII), in cui R^{4a} è un gruppo protettivo adatto come benzensolfonile, possono essere preparati dal composto con formula (VIII) come definito sopra, mediante trattamento con una base adatta come sodio idruro in un solvente adatto come *N,N*-dimetilformammide, e ad una temperatura adatta come da circa 0°C fino a circa 20°C, per esempio circa 0°C, seguito da trattamento con un adatto agente di solfonilazione come benzensolfonil cloruro, ad una temperatura adatta come da circa 0°C fino a circa 50°C, per esempio circa 0°C riscaldando a circa 20°C dopo l'aggiunta.

Oppure alternativamente, composti di formula (VII), in cui R^{4a} è un gruppo protettivo adatto come benzensolfonile, possono essere preparati dal composto con formula (VIII) come definito sopra, mediante trattamento con una base adatta, come idrossido di sodio e un adatto catalizzatore a trasferimento di fase come tetra-*n*-butilammonio bisolfato, in un solvente adatto come tetraidrofurano e ad una temperatura adatta come da circa 0°C fino a circa 20°C, per esempio circa 20°C, seguito da trattamento con un adatto agente di solfonilazione come benzensolfonil cloruro, ad una temperatura adatta come da circa 0°C fino a circa 50°C, per esempio circa 25°C.

Procedimento B

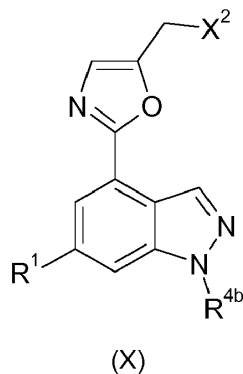
Composti di formula (I), in cui R^1 , R^2 e R^3 sono come definiti sopra e R^4 è idrogeno, o loro sali, possono essere preparati da composti di formula (IX)



(IX)

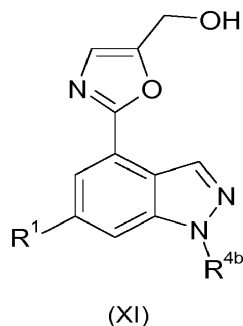
in cui R^1 , R^2 , R^3 sono come definiti sopra e R^{4b} è un gruppo protettivo adatto come benzensolfonile, mediante trattamento con una base inorganica acquosa adatta come idrossido di sodio acquoso, in un solvente adatto come 1,4-diossano, e ad una temperatura adatta come temperatura ambiente, per esempio circa 20°C.

Composti di formula (IX), in cui R^1 , R^2 , R^3 e R^{4b} sono come definiti sopra, possono essere preparati da composti di formula (X)



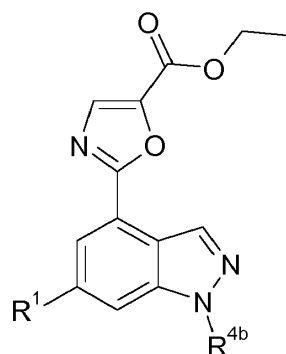
in cui, R^1 e R^{4b} sono come definiti sopra e X^2 è un gruppo uscente adatto come Br, mediante trattamento con un'ammina di formula HNR^2R^3 , in cui R^2 e R^3 sono come definiti sopra, in un solvente adatto come diclorometano, e ad una temperatura adatta come temperatura ambiente, per esempio circa 20°C.

Composti di formula (X), in cui R^1 e R^{4b} sono come definiti sopra e X^2 è Br, possono essere preparati da composti di formula (XI)



in cui R^1 e R^{4b} sono come definiti sopra, mediante trattamento con un agente bromurante adatto come tetrabromuro di carbonio e una fosfina adatta come trifenilfosfina, in un solvente adatto come diclorometano, e ad una temperatura adatta come da circa 0°C fino a circa 50°C, per esempio circa 0°C riscaldando a temperatura ambiente dopo l'aggiunta.

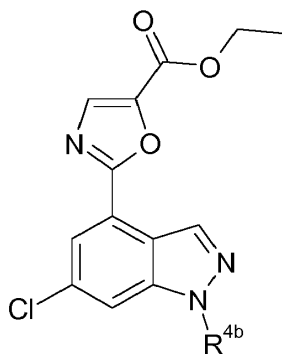
Composti di formula (XI), in cui R^1 e R^{4b} sono come definiti sopra, possono essere preparati da composti di formula (XII)



(XII)

in cui R^1 e R^{4b} sono come definiti sopra, mediante trattamento con un agente riducente adatto come diisobutilalluminio idruro, in un solvente adatto come diclorometano, e ad una temperatura adatta come da circa -50°C fino a circa 0°C , per esempio circa -20°C .

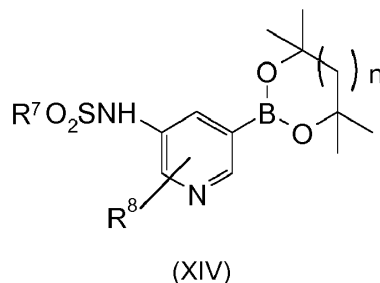
Composti di formula (XII), in cui R^1 e R^{4b} sono come definiti sopra, possono essere preparati da composti di formula (XIII)



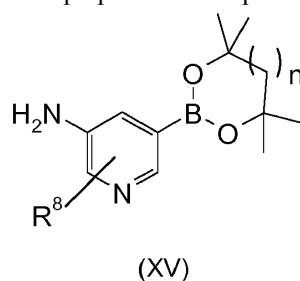
(XIII)

in cui R^{4b} è come definito sopra, mediante trattamento con un adatto acido boronico o estere boronato come acido {1-[(1,1-dimetiletil)(dimetil)silil]-1*H*-indol-4-il}boronico (disponibile in commercio), in presenza di un catalizzatore di palladio adatto come cloro[2'-(dimetilammino)-2-bifenilil]palladio-(1*R*,4*S*)-biciclo[2.2.1]ept-2-il[(1*S*,4*R*)-biciclo[2.2.1]ept-2-il]fosfano, in un solvente adatto come una miscela di 1,4-diossano e acqua in un rapporto adatto, per esempio circa 10:1, in presenza di una base adatta come potassio fosfato tribasico, e ad una temperatura adatta come circa 80°C fino a circa 150°C , per esempio circa 100°C . Alternativamente, questo

procedimento può essere condotto sotto irraggiamento con microonde, e ad una temperatura adatta come da circa 80°C fino a circa 150°C, per esempio circa 120°C.

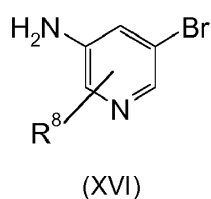


Esteri di boronato di formula (XIV), in cui R^7 è come definito sopra, R^8 è C_{1-6} alchile, $-OR^6$ o alogeno, in cui R^6 è come definito sopra e $n = 0$ o 1 , possono essere preparati da composti di formula (XV)



in cui R^8 è come definito sopra e $n = 0$ o 1 , mediante trattamento con un adatto solfonil cloruro di formula R^7SO_2Cl come metanosolfonil cloruro, in un solvente adatto come piridina, e ad una temperatura adatta come temperatura ambiente, per esempio circa 20°C.

Composti di formula (XV) in cui R^8 è come definito sopra e $n = 0$ o 1 , possono essere preparati da composti di formula (XVI)

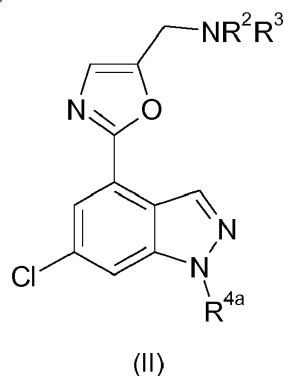


in cui R^8 è come definito sopra, per cui una gamma di analoghi sono disponibili in commercio, mediante trattamento con un adatto borolano come 4,4,4',4',5,5,5',5'-ottametil-2,2'-bi-1,3,2-diossaborolano, in presenza di un catalizzatore di palladio adatto come dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocene]palladio (II) addotto con

diclorometano, in presenza di una base adatta come potassio acetato, in un solvente adatto come 1,4-diossano, e ad una temperatura adatta come da circa 50°C fino a circa 120°C, per esempio circa 80°C.

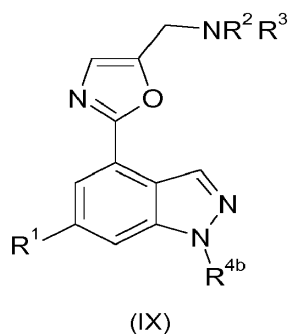
Così, in una realizzazione, la descrizione fornisce un procedimento per preparare un composto della combinazione dell'invenzione comprendente:

a) il far reagire un composto di formula (II)



in cui R² e R³ sono come definiti sopra e R^{4a} è metile o un gruppo protettivo adatto, con un adatto acido boronico o estere boronato, seguito dove necessario da deprotezione; o

b) per un composto di formula (I) in cui R¹, R² e R³ sono come definiti sopra e R⁴ è idrogeno, far reagire un composto di formula (IX)



in cui R¹, R², R³ e R^{4b} sono come definiti sopra, con un'adatta base inorganica acquosa.

Metodi d'uso

I composti della combinazione dell'invenzione sono inibitori di attività di chinasi, in particolare attività di PI3-chinasi. Composti che sono inibitori di PI3-chinasi possono essere utili nel trattamento di disturbi in cui la

patologia è (almeno in parte) attribuibile a inappropriata attività di PI3-chinasi, come asma e malattie polmonari ostruttive croniche (COPD). "Attività inappropriata di PI3-chinasi" si riferisce a qualsiasi attività di PI3-chinasi, che si discosta dalla normale attività di PI3-chinasi prevista in un determinato paziente. PI3-chinasi inappropriata può assumere la forma di, per esempio, un aumento anormale di attività, o un'aberrazione nella temporizzazione e regolazione di attività di PI3-chinasi. Tale attività inappropriata può risultare poi, per esempio, da sovraespressione o mutazione della proteina chinasi che porta ad attivazione inadeguata o non regolata. Pertanto, in un altro aspetto l'invenzione è diretta all'uso nel trattamento di tali disturbi.

Tali disturbi includono malattie respiratorie incluse asma, malattia polmonare cronica ostruttiva (COPD) e fibrosi polmonare idiopatica (IPF); infezioni virali incluse infezioni virali delle vie respiratorie e aggravamenti virali di malattie respiratorie come asma e COPD; infezioni respiratorie non virali incluse aspergillosi e leishmaniosi; malattie allergiche, comprese rinite allergica e dermatite atopica; malattie autoimmuni, tra cui artrite reumatoide e sclerosi multipla; malattie infiammatorie, compresa malattia infiammatoria intestinale; malattie cardiovascolari, tra cui trombosi ed aterosclerosi; tumori ematologici; malattie neurodegenerative; pancreatite; insufficienza multiorgano; malattie renali; aggregazione piastrinica; cancro; motilità degli spermatozoi; rigetto dei trapianti; rigetto di innesti; lesioni polmonari; e dolore incluso dolore associato ad artrite reumatoide o osteoartrite; dolore alla schiena, dolore infiammatorio generale, nevralgia post-epatica, neuropatia diabetica, dolore neuropatico infiammatorio (trauma), nevralgia del trigemino e dolore centrale. In una realizzazione, tali disturbi includono malattie respiratorie incluse asma e malattia polmonare cronica ostruttiva (COPD); malattie allergiche comprese rinite allergica e dermatite atopica; malattie autoimmuni incluse artrite reumatoide e sclerosi multipla; malattie infiammatorie inclusa malattia infiammatoria intestinale; malattie cardiovascolari incluse trombosi ed aterosclerosi; tumori ematologici; malattie neurodegenerative; pancreatite; insufficienza multiorgano; malattie renali; aggregazione piastrinica; cancro; motilità degli spermatozoi; rigetto dei trapianti; rigetto di innesti; lesioni polmonari; e dolore incluso dolore associato ad artrite reumatoide o osteoartrite; dolore alla schiena, dolore infiammatorio generale, nevralgia post-erpetica, neuropatia diabetica, dolore neuropatico infiammatorio (trauma), nevralgia del trigemino e dolore centrale.

Gli usi della descrizione comprendono la somministrazione una quantità sicura ed efficace di un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente ad un paziente in necessità di esso. Realizzazioni individuali della descrizione includono l'uso per trattare uno qualsiasi dei summenzionati disturbi mediante somministrazione di una quantità sicura ed efficace di un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente ad un paziente che ne ha bisogno.

Come usato nella presente, "trattare" in riferimento ad un disturbo significa: (1) migliorare o prevenire la malattia o una o più delle manifestazioni biologiche della malattia, (2) interferire con (a) uno o più punti nella cascata biologica che conduce o è responsabile del disturbo o (b) una o più delle manifestazioni biologiche della malattia, (3) alleviare uno o più dei sintomi o effetti associati al disturbo, o (4) rallentare la progressione della malattia o una o più delle manifestazioni biologiche del disturbo.

Come indicato in precedenza, "trattamento" di un disturbo include la prevenzione del disturbo. Il tecnico esperto si renderà conto che la "prevenzione" non è un termine assoluto. In medicina, "prevenzione" si intende in modo tale da far riferimento alla somministrazione profilattica di un farmaco per diminuire in modo sostanziale la probabilità o la gravità di un disturbo o una sua manifestazione biologica, o ritardare l'insorgenza di tali disturbi o loro manifestazione biologica.

Come qui impiegato "quantità sicura ed efficace", in riferimento ad un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente o altro agente farmaceuticamente attivo significa una quantità del composto sufficiente per trattare la condizione del paziente, ma sufficientemente bassa da evitare gravi effetti collaterali (ad un ragionevole rapporto beneficio/rischio) nell'ambito del giudizio medico ragionevole. Una quantità sicura ed efficace di un composto varierà con il particolare composto scelto (ad esempio in considerazione di potenza, efficacia, ed emivita del composto); la via di somministrazione prescelta; il disturbo da trattare; la gravità del disturbo da trattare; l'età, dimensione, peso, e la condizione fisica del paziente che viene trattato; la storia medica del paziente da trattare; la durata del trattamento; la natura della terapia concomitante; l'effetto terapeutico desiderato; e fattori simili, ma può tuttavia essere regolarmente determinata dal tecnico esperto.

Come usato qui, "paziente" si riferisce ad un essere umano (compresi adulti e bambini) o altro animale. In una

realizzazione, "paziente" si riferisce ad un essere umano.

I composti di formula (I) o loro sali accettabili farmaceuticamente possono essere somministrati attraverso qualsiasi via di somministrazione adatta, comprendente sia la somministrazione sistemica che topica. La somministrazione sistemica include somministrazione orale, somministrazione parenterale, somministrazione transdermica e somministrazione rettale. La somministrazione parenterale si riferisce a vie di somministrazione diverse da enterale o transdermica, ed è tipicamente mediante iniezione o infusione. La somministrazione parenterale include iniezione o infusione endovenosa, intramuscolare, e sottocutanea. La somministrazione topica prevede l'applicazione sulla pelle così come intraoculare, nell'orecchio, intravaginale, somministrazione per via inalatoria e intranasale. Inalazione si riferisce alla somministrazione nei polmoni del paziente sia per inalazione attraverso la bocca sia attraverso i passaggi nasali. In una realizzazione, i composti di formula (I) o loro sali accettabili farmaceuticamente possono essere somministrati oralmente. In un'altra realizzazione, i composti di formula (I) o loro sali accettabili farmaceuticamente possono essere somministrati per inalazione. In una ulteriore realizzazione, i composti di formula (I) o loro sali accettabili farmaceuticamente possono essere somministrati per via intranasale.

I composti di formula (I) o loro sali accettabili farmaceuticamente possono essere somministrati una volta o secondo un regime di dosaggio in cui vengono somministrate una serie di dosi a vari intervalli di tempo per un dato periodo di tempo. Ad esempio, le dosi possono essere somministrate una, due, tre, o quattro volte al giorno. In una realizzazione, una dose viene somministrata una volta al giorno. In un'ulteriore realizzazione, una dose viene somministrata due volte al giorno. Le dosi possono essere somministrate fino ad ottenere l'effetto terapeutico desiderato o indefinitamente per mantenere l'effetto terapeutico desiderato. Adatti regimi di dosaggio per un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente dipendono dalle proprietà farmacocinetiche di quel composto, come l'assorbimento, la distribuzione, ed emivita, che possono essere determinate dal tecnico esperto. Inoltre, regimi di dosaggio adatti, compresa la durata di tali regimi vengono somministrati, per un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente dipendono dalla malattia da trattare, la gravità del disturbo da trattare, l'età e la condizione fisica del paziente che viene trattato, la

storia medica del paziente da trattare, la natura della terapia concomitante, l'effetto terapeutico desiderato, e fattori simili all'interno del conoscenza e competenza del tecnico esperto. Sarà ulteriormente compreso da tali tecnici esperti che regimi di dosaggio idonei possono richiedere un aggiustamento data la risposta individuale del paziente al regime di dosaggio o nel tempo come cambiamento delle esigenze del paziente individuale.

Tipici dosaggi giornalieri possono variare a seconda della particolare via di somministrazione prescelta. Tipici dosaggi giornalieri per somministrazione per via orale variano da 0,001 mg a 50 mg per kg di peso corporeo totale, per esempio da 1 mg a 10 mg per kg di peso corporeo totale. Ad esempio, dosaggi giornalieri per la somministrazione orale possono essere da 0,5 mg a 2 g per paziente, come da 10mg a 1 g per paziente.

Inoltre, i composti di formula (I) possono essere somministrati come profarmaco. Come qui usando, un "profarmaco" di un composto di formula (I) è un derivato funzionale del composto che, alla somministrazione di un paziente, libera infine il composto di formula (I) *in vivo*. La somministrazione di un composto di formula (I) come profarmaco può permettere al tecnico esperto di fare uno o più dei seguenti: (a) modificare l'inizio dell'attività del composto *in vivo*; (b) modificare la durata di azione del composto *in vivo*; (c) modificare il trasporto o la distribuzione del composto *in vivo*; (d) modificare la solubilità del composto *in vivo*; e (e) superare un effetto collaterale o altre difficoltà incontrate con il composto. Derivati funzionali tipici usati per preparare i profarmaci includono modifiche del composto che sono scindibili chimicamente o enzimaticamente *in vivo*. Tali modifiche, che includono la preparazione di fosfati, ammidi, esteri, tioesteri, carbonati e carbammati, sono ben note agli esperti nella tecnica.

In un aspetto, la descrizione fornisce pertanto un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente per uso nel trattare un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi comprendente il somministrare una quantità sicura ed efficace ad un paziente che ne ha bisogno. In una realizzazione, la descrizione fornisce *N*-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide o un suo sale accettabile farmaceuticamente per uso nel trattare un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi comprendente il somministrare una quantità sicura ed efficace ad un paziente che ne ha bisogno. In un'altra realizzazione, la descrizione fornisce *N*-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-

2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide (*R*)-mandelato per uso nel trattare un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi comprendente il somministrare una quantità sicura ed efficace ad un paziente che ne ha bisogno. In un'altra realizzazione, la descrizione fornisce 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo o un suo sale accettabile farmaceuticamente per uso nel trattare un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi comprendente il somministrare una quantità sicura ed efficace ad un paziente che ne ha bisogno. In un'altra realizzazione, la descrizione fornisce 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo cloridrato per uso nel trattare un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi comprendente il somministrare una quantità sicura ed efficace ad un paziente che ne ha bisogno.

In una realizzazione, la malattia mediata da inappropriata attività di PI3-chinasi è scelta dal gruppo costituito da malattie respiratorie (comprese asma, malattia polmonare ostruttiva cronica (COPD) e fibrosi polmonare idiopatica (IPF); infezioni virali (incluse infezioni virali delle vie respiratorie e aggravamenti virali di malattie respiratorie come asma e COPD); infezioni respiratorie non virali (incluse aspergillosi e leishmaniosi); malattie allergiche (comprese rinite allergica e dermatite atopica); malattie autoimmuni (comprese artrite reumatoide e sclerosi multipla); malattie infiammatorie (inclusa malattia infiammatoria intestinale); malattie cardiovascolari (tra cui trombosi ed aterosclerosi); neoplasie ematologiche; malattie neurodegenerative; pancreatite; insufficienza multiorgano; malattie renali; aggregazione piastrinica; cancro; motilità degli spermatozoi; rigetto di trapianto; rigetto di innesto; lesioni polmonari; e dolore (incluso il dolore associato ad artrite reumatoide o osteoartrite; dolore alla schiena; dolore infiammatorio generale; nevralgia post epatica; neuropatia diabetica; dolore neuropatico infiammatorio (trauma); nevralgia del trigemino e dolore centrale).

In una realizzazione, la malattia mediata da inappropriata attività di PI3-chinasi è una malattia respiratoria. In un'altra realizzazione, la malattia mediata da inappropriata attività di PI3-chinasi è asma. In un'altra realizzazione, il disturbo mediato da inappropriata attività di PI3-chinasi è malattia polmonare ostruttiva cronica (COPD). In una ulteriore realizzazione, la malattia mediata da inappropriata attività di PI3-chinasi fibrosi polmonare idiopatica (IPF).

In una realizzazione, la malattia mediata da inappropriata attività di PI3-chinasi è dolore.

In una realizzazione, la presente descrizione fornisce *N*-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide o un suo sale accettabile farmaceuticamente per uso nel trattare una malattia respiratoria comprendente il somministrare una quantità sicura ed efficace ad un paziente che ne ha bisogno.

In un'altra realizzazione, la presente descrizione fornisce *N*-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide o un suo sale accettabile farmaceuticamente per uso nel trattare asma comprendente il somministrare una quantità sicura ed efficace ad un paziente che ne ha bisogno.

In un'altra realizzazione, la presente descrizione fornisce *N*-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide (*R*)-mandelato per uso nel trattare una malattia respiratoria comprendente il somministrare una quantità sicura ed efficace ad un paziente che ne ha bisogno.

In un'altra realizzazione, la presente descrizione fornisce *N*-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide (*R*)-mandelato per uso nel trattare asma comprendente il somministrare una quantità sicura ed efficace ad un paziente che ne ha bisogno.

In un'altra realizzazione, la presente descrizione fornisce 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo o un suo sale accettabile farmaceuticamente per uso nel trattare una malattia respiratoria comprendente il somministrare una quantità sicura ed efficace ad un paziente che ne ha bisogno.

In un'altra realizzazione, la presente descrizione fornisce 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo o un suo sale accettabile farmaceuticamente per uso nel trattare asma comprendente il somministrare una quantità sicura ed efficace ad un paziente che ne ha bisogno.

In un'altra realizzazione, la presente descrizione fornisce 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo cloridrato per uso nel trattare una malattia respiratoria

comprendente il somministrare una quantità sicura ed efficace ad un paziente che ne ha bisogno.

In un'altra realizzazione, la presente descrizione fornisce 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo cloridrato per uso nel trattare asma comprendente il somministrare una quantità sicura ed efficace ad un paziente che ne ha bisogno.

In un aspetto, la descrizione fornisce un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente per uso in terapia medica. In una realizzazione, la descrizione fornisce *N*-[5-[4-(5-{[(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide o un suo sale accettabile farmaceuticamente per uso in terapia medica. In un'altra realizzazione, la descrizione fornisce *N*-[5-[4-(5-{[(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide (*R*)-mandelato per uso in terapia medica. In un'altra realizzazione, la descrizione fornisce 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo o un suo sale accettabile farmaceuticamente per uso in terapia medica. In un'altra realizzazione, la descrizione fornisce 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo cloridrato per uso in terapia medica.

In un altro aspetto, la descrizione fornisce un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente per uso nel trattamento di un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi. In una realizzazione, la descrizione fornisce *N*-[5-[4-(5-{[(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide o un suo sale accettabile farmaceuticamente per uso nel trattamento di un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi. In un'altra realizzazione, la descrizione fornisce *N*-[5-[4-(5-{[(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide (*R*)-mandelato per uso nel trattamento di un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi. In un'altra realizzazione, la descrizione fornisce 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo o un suo sale accettabile farmaceuticamente per uso nel trattamento di un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi. In un'altra realizzazione, la descrizione fornisce 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo

cloridrato per uso nel trattamento di un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi.

In un altro aspetto, la descrizione fornisce l'uso di un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente nella fabbricazione di un medicamento per uso nel trattamento di un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi. In una realizzazione, la descrizione fornisce l'uso di *N*-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide o un suo sale accettabile farmaceuticamente nella fabbricazione di un medicamento per uso nel trattamento di un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi. In un'altra realizzazione, la descrizione fornisce l'uso di *N*-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide (*R*)-mandelato nella fabbricazione di un medicamento per uso nel trattamento di un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi. In un'altra realizzazione, la descrizione fornisce l'uso di 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo o un suo sale accettabile farmaceuticamente nella fabbricazione di un medicamento per uso nel trattamento di un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi. In un'altra realizzazione, la descrizione fornisce l'uso di 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo cloridrato nella fabbricazione di un medicamento per uso nel trattamento di un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi.

Composizioni

I composti di formula (I) e loro sali accettabili farmaceuticamente verranno normalmente, ma non necessariamente, formulati in composizioni farmaceutiche prima della somministrazione ad un paziente.

Di conseguenza, in un aspetto la descrizione è diretta a composizioni farmaceutiche comprendenti un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente e uno o più eccipienti accettabili farmaceuticamente.

In una realizzazione, la presente descrizione fornisce una composizione farmaceutica comprendente *N*-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e uno o più eccipienti accettabili farmaceuticamente.

In un'altra realizzazione, la presente descrizione fornisce una composizione farmaceutica comprendente *N*-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide (R) mandelato, e uno o più eccipienti accettabili farmaceuticamente.

In un'altra realizzazione, la presente descrizione fornisce una composizione farmaceutica comprendente 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo o un suo sale accettabile farmaceuticamente, e uno o più eccipienti accettabili farmaceuticamente.

In un'altra realizzazione, la presente descrizione fornisce una composizione farmaceutica comprendente 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo cloridrato, e uno o più eccipienti accettabili farmaceuticamente.

In un altro aspetto la descrizione è rivolta a composizioni farmaceutiche comprendenti 0,05 fino a 1000mg di un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente e 0,1 fino a 2g di uno o più eccipienti accettabili farmaceuticamente.

In un altro aspetto la descrizione è rivolta a una composizione farmaceutica per il trattamento o profilassi di un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi comprendente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente.

In una realizzazione, la presente descrizione fornisce una composizione farmaceutica per il trattamento o profilassi di un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi comprendente *N*-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide o un suo sale accettabile farmaceuticamente.

In una realizzazione, la presente descrizione fornisce una composizione farmaceutica per il trattamento o profilassi di un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi comprendente *N*-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide (R) mandelato.

In una realizzazione, la presente descrizione fornisce una composizione farmaceutica per il trattamento o profilassi di un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi comprendente 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-

{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo o un suo sale accettabile farmaceuticamente.

In un'altra realizzazione, la presente descrizione fornisce una composizione farmaceutica per il trattamento o profilassi di un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi comprendente 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo cloridrato.

Le composizioni farmaceutiche della descrizione possono essere preparate e confezionate in forma sfusa in cui una quantità sicura ed efficace di un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente può essere estratta e poi somministrata al paziente, come con polveri o sciroppi. In alternativa, le composizioni farmaceutiche della descrizione possono essere preparate e confezionate in forma di dosaggio unitario in cui ciascuna unità fisicamente distinta contiene un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente. Se preparate in forma di dosaggio unitario, le composizioni farmaceutiche della descrizione possono tipicamente contenere, per esempio, da 0,5 mg a 1 g, o da 1 mg a 700 mg, o da 5 mg a 100 mg di un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente.

Le composizioni farmaceutiche della descrizione contengono generalmente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente.

Come usato nella presente, "eccipiente accettabile farmaceuticamente" significa un materiale, composizione o veicolo accettabile farmaceuticamente, coinvolto nel dare forma o consistenza alla composizione farmaceutica. Ogni eccipiente deve essere compatibile con gli altri ingredienti della composizione farmaceutica quando viene mescolato in modo da evitare le interazioni che ridurrebbero l'efficacia del composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente quando somministrato ad un paziente e interazioni che porterebbero a composizioni farmaceutiche che non sono accettabili farmaceuticamente. Inoltre, ogni eccipiente deve naturalmente essere ad esempio accettabile farmaceuticamente ad es. di purezza sufficientemente elevata.

Il composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente e l'eccipiente o eccipienti accettabili farmaceuticamente saranno tipicamente formulati in una forma di dosaggio adatta per la somministrazione al paziente attraverso la via di somministrazione desiderata. Ad esempio, forme di dosaggio includono quelle adatte per (1) somministrazione orale quali compresse, capsule, compresse, pillole, pastiglie, polveri, sciroppi, elisir,

sospensioni, soluzioni, emulsioni, bustine e capsule; (2) somministrazione parenterale come soluzioni, sospensioni, e polveri sterili per ricostituzione; (3) somministrazione transdermica, come cerotti transdermici; (4) somministrazione rettale come supposte; (5) inalazione come aerosol, soluzioni, e polveri secche; e (6) somministrazione topica come creme, unguenti, lozioni, soluzioni, paste, spray, schiume e gel.

Adatti eccipienti accettabili farmaceuticamente varieranno a seconda della particolare forma di dosaggio prescelta. Inoltre, opportuni eccipienti accettabili farmaceuticamente possono essere scelti per una particolare funzione a cui essi possono servire nella composizione. Per esempio, alcuni eccipienti accettabili farmaceuticamente possono essere scelti per la loro capacità di facilitare la produzione di forme di dosaggio uniformi. Alcuni eccipienti accettabili farmaceuticamente possono essere scelti per la loro capacità di facilitare la produzione di forme di dosaggio stabili. Alcuni eccipienti accettabili farmaceuticamente possono essere scelti per la loro capacità di agevolare lo svolgimento o il trasporto del composto o composti di formula (I) o loro sali accettabili farmaceuticamente, una volta somministrato al paziente da un organo o parte del corpo, ad un altro organo, o parte del corpo. Alcuni eccipienti accettabili farmaceuticamente possono essere scelti per la loro capacità di migliorare l'adeguamento del paziente.

Adatti eccipienti accettabili farmaceuticamente includono i seguenti tipi di eccipienti: diluenti, leganti, cariche, disintegranti, lubrificanti, agenti di scorrevolezza, agenti di granulazione, agenti di rivestimento, agenti umettanti, solventi, co-solventi, agenti di sospensione, emulsionanti, dolcificanti, agenti aromatizzanti, agenti di copertura del sapore, agenti coloranti, antiagglomeranti, umettanti, agenti chelanti, plastificanti, agenti di incremento della viscosità, antiossidanti, conservanti, stabilizzanti, tensioattivi e agenti tamponanti. Il tecnico esperto si renderà conto del fatto che alcuni eccipienti accettabili farmaceuticamente possono servire più di una funzione e possono servire funzioni alternative a seconda della quantità di eccipiente presente nella formulazione e di quali altri eccipienti sono presenti nella formulazione.

Tecnici esperti possiedono le conoscenze ed esperienza nella tecnica per consentire loro di selezionare adatti eccipienti accettabili farmaceuticamente in quantità appropriate per l'uso nell'invenzione. Inoltre, ci sono una serie di risorse che sono disponibili per il tecnico esperto che descrivono eccipienti accettabili

farmaceuticamente e possono essere utili per scegliere adatti eccipienti accettabili farmaceuticamente. Esempi includono Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company), The Handbook of Pharmaceutical Additives (Gower Publishing Limited), e The Handbook of Pharmaceutical Excipients (the American Pharmaceutical Association and the Pharmaceutical Press).

Le composizioni farmaceutiche dell'invenzione vengono preparate con tecniche e metodologie note agli esperti nella tecnica. Alcuni dei metodi comunemente usati nella tecnica sono descritti in Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company).

Pertanto, in un altro aspetto la descrizione è diretta ad un procedimento per la preparazione di una composizione farmaceutica comprendente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente e uno o più eccipienti accettabili farmaceuticamente che comprende la miscelazione degli ingredienti. Una composizione farmaceutica comprendente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente può essere preparata, per esempio, miscelando a temperatura ambiente e pressione atmosferica.

In una realizzazione, i composti di formula (I) o loro sali accettabili farmaceuticamente saranno formulati per somministrazione orale. In un'altra realizzazione, i composti di formula (I) o loro sali accettabili farmaceuticamente saranno formulati per la somministrazione per via inalatoria. In una ulteriore realizzazione, i composti di formula (I) o loro sali accettabili farmaceuticamente saranno formulati per la somministrazione intranasale.

In un aspetto, la descrizione è diretta ad una forma solida di dosaggio orale come una compressa o capsula comprendente una quantità sicura ed efficace di un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente e un diluente o carica. Diluenti e cariche adatti comprendono lattosio, saccarosio, destrosio, mannitolo, sorbitolo, amido (per esempio amido di mais, amido di patata, e amido pregelatinizzato), cellulosa e suoi derivati (ad esempio cellulosa microcristallina), solfato di calcio, e fosfato di calcio bibasico. La forma di dosaggio solida orale può comprendere inoltre un legante. Leganti adatti includono amido (per esempio amido di mais, amido di patata, e amido pregelatinizzato), gelatina, gomma arabica, alginato di sodio, acido alginico, gomma adragante, gomma di guar, povidone, e cellulosa e suoi derivati (ad esempio cellulosa microcristallina).

La forma di dosaggio solida orale può comprendere inoltre un disintegrante. Disintegranti adatti includono crospovidone, sodio amido glicolato, croscarmellosa, acido alginico, e sodio carbossimetil cellulosa. La forma di dosaggio solida orale può comprendere inoltre un lubrificante. Lubrificanti adatti includono acido stearico, stearato di magnesio, stearato di calcio e talco.

Dove appropriato, formulazioni di dosaggio unitario per somministrazione orale possono essere microincapsulate. La composizione può anche essere preparata per prolungare o sostenere il rilascio, come per esempio mediante rivestimento o includendo materiale particellare in polimeri, cera o simili.

I composti di formula (I) o loro sali accettabili farmaceuticamente possono anche essere accoppiati con polimeri solubili come trasportatori di farmaci indirizzabili. Tali polimeri possono includere polivinilpirrolidone, copolimero di pirano, poliidrossipropilmetacrilammide-fenolo, poliidrossietilaspirtammidefenolo, o polietilenossidopolilisina sostituita con residui di palmitoile. Inoltre, i composti di formula (I) o loro sali accettabili farmaceuticamente possono essere accoppiati ad una classe di polimeri biodegradabili utili nella realizzazione di rilascio regolato di un farmaco, per esempio, acido polilattico, polepsilon caprolattone, acido poliidrossibutirrico, poliortoesteri, poliacetali, polidiidropirani, policianoacrilati e copolimeri a blocchi reticolati o anfipatici di idrogel.

In un altro aspetto, la descrizione è diretta ad una forma liquida di dosaggio orale. Liquidi orali come soluzioni, sciroppi ed elisir possono essere preparati in forma di dosaggio unitario in modo che una data quantità contenga una quantità predeterminata di un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente. Sciroppi possono essere preparati sciogliendo il composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente in una soluzione acquosa opportunamente aromatizzata, mentre elisir vengono preparati mediante l'uso di un veicolo alcolico non tossico. Le sospensioni possono essere formulate disperdendo il composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente in un veicolo non tossico. Si possono aggiungere anche solubilizzanti ed emulsionanti come alcoli isostearilici etossilati ed eteri di poliossietilene sorbitolo, conservanti, additivi aromi come essenza di menta piperita o dolcificanti naturali o saccarina o altri dolcificanti artificiali, e simili.

In un altro aspetto, la descrizione è diretta ad una forma di dosaggio adatta per la somministrazione ad un

paziente per inalazione, per esempio, come polvere secca, un aerosol, una sospensione, o una composizione in soluzione. In una realizzazione, la descrizione è rivolta ad una forma di dosaggio adatta per somministrazione ad un paziente mediante inalazione come polvere secca. In un'altra realizzazione, la descrizione è rivolta ad una forma di dosaggio adatta per somministrazione ad un paziente mediante inalazione tramite un nebulizzatore.

Composizioni di polveri secche per il rilascio al polmone per inalazione comprendono tipicamente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente come polvere finemente suddivisa insieme ad uno o più eccipienti accettabili farmaceuticamente come polveri finemente suddivise. Eccipienti accettabili farmaceuticamente particolarmente adatti per l'uso in polveri secche sono noti agli esperti nella tecnica e comprendono lattosio, amido, mannitolo, e mono-, di-, e polisaccaridi. La polvere finemente suddivisa può essere preparata, per esempio, mediante micronizzazione e macinazione. Generalmente, il composto a dimensione ridotta (ad esempio micronizzata) può essere definito da un valore D_{50} di circa 1 fino a circa 10 micron (per esempio come misurato mediante diffrazione laser).

La polvere secca può essere somministrata al paziente attraverso un inalatore per polvere secca a serbatoio (RDPI) avente un idoneo serbatoio per conservare dosi multiple (non misurate) di medicamento in polvere secca. RDPIs tipicamente includono mezzi per il dosaggio di ciascuna dose di farmaco dal serbatoio ad una posizione di rilascio. Ad esempio, i mezzi di misurazione possono comprendere una tazza di misura, che è mobile da una prima posizione in cui la tazza può essere riempita con medicamento dal serbatoio ad una seconda posizione in cui la dose di medicamento viene erogata al paziente per l'inalazione.

In alternativa, la polvere secca può essere presentata in capsule (per esempio gelatina o plastica), cartucce o "blister" per l'uso in un inalatore di polveri secche multi-dose (MDPI). MDPIs sono inalatori in cui il medicamento è incluso all'interno di una confezione multi-dose contenente (o altrimenti portante) dosi multiple definite (o loro parti) di medicamento. Quando la polvere secca viene presentata come una confezione in "blister", essa comprende più "blister" per il contenimento del medicamento in forma di polvere secca. I "blister" sono tipicamente disposti in modo regolare per facilità di rilascio del medicamento da essi. Ad esempio, i "blister" possono essere disposti in modo generalmente circolare su una confezione a "blister" in forma di disco,

o i "blister" possono essere in forma allungata, ad esempio comprendente una striscia o un nastro. Ogni capsula, cartuccia, o "blister" può, per esempio, contenere tra 20 µg-10mg del composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente.

Aerosol possono essere formati sospendendo o sciogliendo un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente in un propellente liquefatto. Propellenti idonei includono idrocarburi alogenati, idrocarburi e altri gas liquefatti. Propellenti rappresentativi includono: triclorofluorometano (propellente 11), dicloromonofluorometano (propellente 12), diclorotetrafluoroetano (propellente 114), tetrafluoroetano (HFA-134a), 1,1-difluoroetano (HFA-152a), difluorometano (HFA-32), pentafluoroetano (HFA-12), eptafluoropropano (HFA-227a), perfluoropropano, perfluorobutano, perfluoropentano, butano, isobutano e pentano. Aerosol comprendenti un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente verranno tipicamente somministrati ad un paziente attraverso un inalatore a dose misurata (MDI). Tali dispositivi sono noti agli esperti nella tecnica.

L'aerosol può contenere ulteriori eccipienti accettabili farmaceuticamente tipicamente utilizzati con MDIs quali tensioattivi, lubrificanti, cosolventi ed altri eccipienti per migliorare la stabilità fisica della formulazione, per migliorare le prestazioni della valvola, per migliorare la solubilità, o per migliorare il sapore.

Viene quindi fornita come un ulteriore aspetto della descrizione una formulazione farmaceutica di aerosol comprendente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente e un fluorocarburo o clorofluorocarburo contenente idrogeno come propellente, eventualmente in combinazione con un tensioattivo e/o cosolvente.

Secondo un altro aspetto della descrizione, viene fornita una formulazione farmaceutica di aerosol in cui il propellente è scelto tra 1,1,1,2-tetrafluoroetano, 1,1,1,2,3,3,3-eptafluoro-n-propano e loro miscele.

Le formulazioni della descrizione possono essere tamponate con l'aggiunta di agenti tamponanti idonei.

Capsule e cartucce per uso in un inalatore o insufflatore, di gelatina ad esempio, possono essere formulate contenenti una miscela in polvere per inalazione di un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente e una base di polvere adatta come lattosio o amido. Ogni capsula o cartuccia può

generalmente contenere da 20 µg a 10 mg del composto di formula (I) o suo sale accettabile farmaceuticamente. In alternativa, il composto di formula (I) o suo sale accettabile farmaceuticamente possono essere presentati senza eccipienti come lattosio.

La proporzione del composto attivo di formula (I) o suo sale accettabile farmaceuticamente nelle composizioni locali secondo la descrizione dipende dal tipo di formulazione esatta da preparare ma generalmente sarà nell'intervallo da 0,001 a 10% in peso. Generalmente, per la maggior parte dei tipi di preparati, la proporzione usata sarà entro l'intervallo di 0,005-1%, per esempio da 0,01 a 0,5%. Tuttavia, in polveri per inalazione o insufflazione la proporzione utilizzata sarà normalmente nell'intervallo da 0,1 a 5%.

Formulazioni in aerosol sono preferibilmente preparate in modo che ciascuna dose misurata o "puff" di aerosol contenga da 20 µg a 10mg, preferibilmente da 20 µg a 2000 µg, più preferibilmente da circa 20 µg a 500 mg di un composto di formula (I). La somministrazione può essere una volta al giorno o più volte al giorno, per esempio 2, 3, 4 o 8 volte, dando per esempio 1, 2 o 3 dosi ogni volta. La dose giornaliera complessiva di un aerosol sarà entro l'intervallo da 100 mg a 10 mg, preferibilmente da 200 mg a 2000 µg. La dose giornaliera complessiva e la dose misurata rilasciata da capsule e cartucce in un inalatore o insufflatore sarà generalmente doppia di quella rilasciata con formulazioni di aerosol.

Nel caso di formulazioni di aerosol in sospensione, la dimensione delle particelle del farmaco particellare (ad esempio, micronizzato) deve essere tale da consentire inalazione sostanzialmente di tutto il farmaco nei polmoni dopo somministrazione della formulazione di aerosol e sarà quindi inferiore a 100 micron, desiderabilmente meno di 20 micron, e in particolare nell'intervallo da 1 a 10 micron, ad esempio da 1 a 5 micron, più preferibilmente da 2 a 3 micron.

Le formulazioni della descrizione possono essere preparate mediante dispersione o dissoluzione del farmaco e un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente nel propellente scelto in un contenitore appropriato, per esempio, con l'aiuto di sonicazione o miscelatore ad alto fattore di taglio. Il procedimento viene preferibilmente effettuato in condizioni di umidità regolata.

La stabilità chimica e fisica e l'accettabilità farmaceutica delle formulazioni di aerosol secondo l'invenzione

possono essere determinate mediante tecniche ben note agli esperti nella tecnica. Così, per esempio, la stabilità chimica dei componenti può essere determinata mediante saggio HPLC, per esempio, dopo prolungato stoccaggio del prodotto. Dati di stabilità fisica possono essere acquisiti mediante altre tecniche analitiche convenzionali quali, ad esempio, mediante prove di tenuta, mediante saggio di mandata di valvole (pesi medi per colpo per attuazione), mediante saggio riproducibilità della dose (ingrediente attivo per erogazione) e analisi della distribuzione di spruzzo.

La stabilità delle formulazioni di aerosol in sospensione secondo l'invenzione può essere misurata mediante tecniche convenzionali, per esempio, misurando la distribuzione della dimensione di flocculazione utilizzando uno strumento di retro-diffusione della luce o misurando la distribuzione granulometrica da cascata a impatto o mediante il procedimento analitico "twin impinger". Come usato qui il riferimento al saggio "twin impinger" significa "Determinazione della deposizione della dose emessa in inalazioni in pressione utilizzando a apparecchio A" come definito in British Pharmacopoeia 1988, pagine A204-207, Appendice XVII C. Tali tecniche consentono di calcolare la "frazione respirabile" delle formulazioni di aerosol. Un metodo utilizzato per calcolare la "frazione respirabile" è in riferimento a "frazione di particelle fini" che è la quantità di ingrediente attivo raccolta nella camera inferiore di collisione per azionamento espressa come percentuale della quantità totale di sostanza attiva erogata per l'azionamento usando il metodo "twin impinger" sopra descritto.

Il termine "inalatore a dose misurata" o MDI significa un'unità comprendente un barattolo, un cappuccio fisso che copre il barattolo e una valvola di dosaggio di formulazione situata nel tappo. Sistemi MDI comprendono un dispositivo adatto di canalizzazione. Idonei dispositivi di canalizzazione comprendono per esempio, un attuatore a valvola e un passaggio cilindrico o a cono attraverso il quale medicamento può essere liberato dal contenitore riempito attraverso la valvola di dosaggio al naso o la bocca di un paziente come un attuatore a boccaglio.

Bombolette MDI comprendono generalmente un contenitore in grado di sopportare la pressione di vapore del propellente utilizzato come una bottiglia di plastica o vetro o rivestito di plastica o preferibilmente una bomboletta di metallo, per esempio, alluminio o sue leghe che può opzionalmente essere anodizzato, rivestito con lacca e/o rivestito di plastica (per esempio WO96/32099 incorporato nella presente per riferimento in cui

parte o tutte le superfici interne sono rivestite con uno o più polimeri di fluorocarbonio opzionalmente in combinazione con uno o più polimeri non-fluorocarburici), il quale contenitore è chiuso con un valvola dosatrice. Il cappuccio può essere fissato sulla bomboletta mediante saldatura ad ultrasuoni, fissaggio a vite o aggraffatura. MDI insegnati nel presente documento possono essere preparati con metodi della tecnica (vedi ad esempio Byron, sopra e WO96/32099). Preferibilmente la bomboletta è dotata di un gruppo a tappo, in cui una valvola dosatrice del farmaco è situata nel tappo, e detto tappo è aggraffato al suo posto.

In una realizzazione dell'invenzione la superficie metallica interna del contenitore è rivestita con un fluoropolimero, più preferibilmente mescolato con un non-fluoropolimero. In un'altra realizzazione dell'invenzione la superficie metallica interna della bomboletta è rivestita con una miscela di polimeri di politetrafluoroetilene (PTFE) e polietereolfone (PES). In un'ulteriore realizzazione dell'invenzione tutta la superficie metallica interna della bomboletta è rivestita con una miscela polimerica di politetrafluoroetilene (PTFE) e polietereolfone (PES).

Le valvole di dosaggio sono progettate per erogare una quantità dosata di formulazione per azionamento e incorporano una guarnizione per impedire fughe di propellente attraverso la valvola. La guarnizione può comprendere qualsiasi materiale adatto elastomerico quale, ad esempio, polietilene a bassa densità, clorobutile, bromobutile, EPDM, gomme di butadiene-acrilonitrile nere e bianche, gomma butilica e neoprene. Valvole adatte sono commercialmente disponibili da produttori ben noti nell'industria dell'aerosol, per esempio, da Valois, Francia (ad es. DF10, DF30, DF60), Bepak plc, UK (ad esempio BK300, BK357) e 3M-Neotech Ltd. UK (ad esempio Spraymiser™).

In varie realizzazioni, i MDIS possono anche essere utilizzati in combinazione con altre strutture, come, senza limitazione, confezioni di sovrainballaggio per la conservazione e contenenti i MDIs, inclusi quelli descritti nei brevetti U.S.A. N. 6.119.853; 6.179.118; 6.315.112; 6.352.152; 6.390.291; e 6.679.374, nonché unità di conteggio di dose quali, ma non limitate a, quelle descritte nel brevetto U.S.A. N. 6.360.739 e 6.431.168.

Convenzionali metodi di produzione di massa e macchine ben noti agli esperti nella tecnica di fabbricazione farmaceutica di aerosol possono essere impiegati per la preparazione di grandi lotti per la produzione

commerciale di bombolette piene. Così, per esempio, in un metodo di fabbricazione di massa per la preparazione di formulazioni di aerosol in sospensione una valvola di dosaggio è aggraffata su una lattina di alluminio per formare una bomboletta vuota. Il medicamento particellare viene aggiunto ad un recipiente di carica e propellente liquefatto e insieme con gli eccipienti opzionali viene riempito a pressione attraverso il recipiente di carica in un recipiente di fabbricazione. La sospensione di farmaco viene miscelata prima del ricircolo ad una macchina di riempimento e una aliquota della sospensione di farmaco viene quindi riempita attraverso la valvola di dosaggio nella bomboletta. In un esempio di un metodo di fabbricazione di massa per la preparazione di formulazioni di aerosol in soluzione, una valvola di dosaggio è aggraffata su una bomboletta di alluminio per formare un contenitore vuoto. Il propellente liquefatto insieme con gli eccipienti opzionali e il farmaco viene disciolto a pressione attraverso il recipiente di carica in un recipiente di fabbricazione.

In un procedimento alternativo, una aliquota della formulazione liquefatta viene aggiunta ad una bomboletta aperta in condizioni che sono sufficientemente fredde da assicurare che la formulazione non si vaporizzi, e poi una valvola di dosaggio viene aggraffata sulla bomboletta.

Tipicamente, in lotti preparati per uso farmaceutico, ogni bomboletta riempita viene pesata per controllo, codificata con un numero di lotto e imballata in un vassoio per la conservazione prima del test di rilascio.

Sospensioni e soluzioni comprendenti un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente possono anche essere somministrate ad un paziente mediante un nebulizzatore. Il solvente o agente di sospensione utilizzati per la nebulizzazione possono essere qualsiasi liquido accettabile farmaceuticamente come acqua, soluzione salina acquosa, alcoli o glicoli, per esempio, etanolo, isopropilalcol, glicerolo, glicole propilenico, glicole polietilenico, ecc. o loro miscele. Soluzioni saline utilizzano sali che mostrano poca o nessuna attività farmacologica dopo la somministrazione. Sia sali organici, come sali di metallo alcalino o di ammonio alogeno, ad esempio, cloruro di sodio, cloruro di potassio sia sali organici, quali sali di potassio, sodio e ammonio o acidi organici, ad esempio, acido ascorbico, acido citrico, acido acetico, acido tartarico, ecc. possono essere utilizzati a questo scopo.

Altri eccipienti accettabili farmaceuticamente possono essere aggiunti alla sospensione o soluzione. Il composto

di formula (I) o suo sale accettabile farmaceuticamente può essere stabilizzato mediante l'aggiunta di un acido inorganico, ad esempio, acido cloridrico, acido nitrico, acido solforico e/o acido fosforico, un acido organico, per esempio, acido ascorbico, acido citrico, acido acetico, e acido tartarico, ecc., un agente complessante come EDTA o acido citrico e suoi sali, o un antiossidante come antiossidanti come la vitamina E o acido ascorbico. Questi possono essere usati da soli o insieme per stabilizzare il composto di formula (I) o suo sale accettabile farmaceuticamente. Si possono aggiungere conservanti come cloruro di benzalconio o acido benzoico e suoi sali. Si può aggiungere un tensioattivo in particolare per migliorare la stabilità fisica delle sospensioni. Questi includono lecitina, disodio diottilfosfosuccinato, acido oleico ed esteri di sorbitano.

In un ulteriore aspetto, la descrizione è rivolta ad una forma di dosaggio adatta per la somministrazione intranasale.

Formulazioni per la somministrazione al naso possono comprendere formulazioni di aerosol pressurizzate e formulazioni acquose somministrate al naso con pompa pressurizzata. Le formulazioni che sono non pressurizzate e atte ad essere somministrate per via topica alla cavità nasale sono di particolare interesse. Formulazioni adatte contengono acqua come diluente o veicolo per questo scopo. Formulazioni acquose per la somministrazione al polmone o naso possono essere dotate di eccipienti convenzionali quali agenti tamponanti, agenti modificatori di tonicità e simili. Formulazioni acquose possono anche essere somministrate al naso mediante nebulizzazione.

I composti di formula (I) o loro sali accettabili farmaceuticamente possono essere formulati come una formulazione fluida per il rilascio da un distributore di fluido, ad esempio un erogatore di fluido avente un ugello di erogazione o orifizio di distribuzione attraverso il quale una dose misurata della formulazione fluida viene distribuita per applicazione di una forza applicata dall'utente ad un meccanismo a pompa del distributore di fluido. Tali distributori di fluidi sono generalmente dotati di un serbatoio a dosi multiple dosate di formulazione del fluido, le dosi essendo erogabili in seguito ad azionamenti sequenziali della pompa. L'ugello di erogazione o orifizio può essere configurato per l'inserimento nelle narici dell'utilizzatore per erogazione a spruzzo della formulazione fluida nella cavità nasale. Un erogatore di fluido del tipo suddetto è descritto ed illustrato in

WO05/044354, il cui intero contenuto è pertanto incorporato nella presente per riferimento. L'erogatore ha un alloggiamento che alloggia un dispositivo di scarico di fluido avente una pompa di compressione montata su un contenitore per una formulazione contenente fluido. L'alloggiamento ha almeno una leva laterale azionabile con dito che è mobile verso l'interno rispetto al corpo di camma del contenitore verso l'alto nell'alloggiamento per fare sì che la pompa comprima e pompi una dose misurata della formulazione di un fusto di pompa attraverso un ugello nasale del contenitore. In una realizzazione, l'erogatore del fluido è del tipo generale illustrato nelle figure 30-40 di WO05/044354.

Composizioni farmaceutiche adattate per la somministrazione intranasale in cui il vettore è un solido includono una polvere grossolana avente una dimensione delle particelle per esempio nell'intervallo da 20 a 500 micron, che viene somministrata per inalazione rapida attraverso il passaggio nasale da un contenitore della polvere tenuto vicino al naso. Composizioni adatte in cui il vettore è un liquido, per la somministrazione come spray nasale o gocce nasali, includono soluzioni acquose o oleose del composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente.

Composizioni farmaceutiche adattate per la somministrazione transdermica possono essere presentate come cerotti distinti destinati a rimanere in contatto intimo con l'epidermide del paziente per un periodo prolungato di tempo. Ad esempio, l'ingrediente attivo può essere liberato dal cerotto mediante ionoforesi come generalmente descritta in *Pharmaceutical Research*, 3 (6), 318 (1986).

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

Unguenti, creme e gel, possono, per esempio, essere formulati con una base acquosa o oleosa con l'aggiunta di agenti addensanti e/o gelificanti adatti e/o solventi. Tali basi possono quindi, per esempio, includere acqua e/o un olio come paraffina liquida o un olio vegetale come olio di arachidi o olio di ricino, o un solvente come glicole polietilenico. Agenti addensanti e agenti gelificanti che possono essere utilizzati secondo la natura della base includono vaselina, stearato di alluminio, alcool cetostearilico, polietilenglicoli, grasso di lana, cera d'api, carbossipolimetilene e derivati della cellulosa, e/o glicerile monostearato e/o agenti emulsionanti non ionici.

Lozioni possono essere formulate con una base acquosa o oleosa e in generale anche contenere uno o più agenti emulsionanti, agenti stabilizzanti, agenti disperdenti, agenti di sospensione o agenti addensanti.

Polveri per applicazione esterna possono essere formate con l'aiuto di qualsiasi base di polvere adatta, per esempio, talco, lattosio o amido. Gocce possono essere formulate con una base acquosa o non acquosa comprendente inoltre uno o più agenti disperdenti, agenti solubilizzanti, agenti di sospensione o conservanti.

Preparazioni per uso topico possono essere somministrate con una o più applicazioni al giorno alla zona interessata; su aree cutanee si può usare vantaggiosamente un bendaggio occlusivo. L'erogazione continua o prolungata può essere raggiunta con un sistema adesivo a serbatoio.

Per i trattamenti dell'occhio o altri tessuti esterni, ad esempio bocca e pelle, le composizioni possono essere applicate come un unguento o crema topici. Quando formulato in un unguento, il composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente può essere utilizzato con una base di unguento paraffinica o miscibile in acqua. In alternativa, il composto di formula (I) o suo sale accettabile farmaceuticamente può essere formulato in una crema con una crema a base olio-in-acqua o una base acqua-in-olio.

Composizioni farmaceutiche adatte per la somministrazione parenterale includono soluzioni iniettabili sterili acquose e non acquose che possono contenere antiossidanti, tamponi, batteriostatici e soluti che rendono la formulazione isotonica con il sangue del destinatario, e sospensioni sterili acquose e non acquose che possono includere agenti sospendenti e agenti addensanti. Le composizioni possono essere presentate in contenitori monodose o multidose, ad esempio ampolle e fiale sigillate, e possono essere conservate in una condizione essiccata per congelamento (liofilizzata) che richiede solo l'aggiunta del veicolo liquido sterile, ad esempio acqua per preparazioni iniettabili, immediatamente prima dell'uso. Soluzioni e sospensioni per iniezione estemporanee possono essere preparate da polveri sterili, granuli e compresse.

Il composto e formulazioni farmaceutiche secondo la descrizione possono essere usati in combinazione con o includere uno o più di altri agenti terapeutici, per esempio scelti tra agenti antinfiammatori, agenti anticolinergici (in particolare un antagonista del recettore $M_1/M_2/M_3$), agonisti β_2 -adrenergici, agenti anti-infettivi, come ad esempio antibiotici o antivirali, o antistaminici. L'invenzione fornisce pertanto, in un ulteriore aspetto, una

combinazione comprendente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad uno o più di altri agenti terapeuticamente attivi, per esempio scelti tra un agente anti-infiammatorio, come un corticosteroide o un FANS, un agente anticolinergico, un agonista β_2 -adrenergico, un agente anti-infettivo, come un antibiotico o un antivirale, o un antistaminico. Una realizzazione dell'invenzione comprende combinazioni comprendenti un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un agonista del recettore β_2 -adrenergico, e/o un anticolinergico, e/o un inibitore di PDE-4, e/o un antistaminico.

In una realizzazione, l'invenzione comprende una combinazione comprendente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme a uno o più agenti terapeuticamente attivi per uso nel trattare un disturbo mediato da inappropriate P13-attività di chinasi comprendente il somministrare una quantità sicura ed efficace.

Certi composti della combinazione dell'invenzione possono mostrare selettività per PI3K δ rispetto ad altre PI3-chinasi. L'invenzione fornisce pertanto, in un ulteriore aspetto, una combinazione comprendente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente che è selettivo per PI3K δ con un composto o un suo sale accettabile farmaceuticamente che è selettivo per un'altra PI3- chinasi, ad esempio PI3K γ .

Una realizzazione dell'invenzione comprende combinazioni comprendenti uno o due altri agenti terapeutici.

Sarà chiaro ad una persona esperta nella tecnica che, dove appropriato, l'altro ingrediente(i) terapeutico può essere utilizzato in forma di sali, ad esempio come sali di metallo alcalino o ammine o come sali di addizione con acidi, o profarmaci, o come esteri, per esempio esteri alchilici inferiori, o come solvati, idrati per esempio per ottimizzare le caratteristiche di stabilità e/o attività e/o fisiche, quali solubilità, dell'ingrediente terapeutico. Sarà anche chiaro che, eventualmente, gli ingredienti terapeutici possono essere utilizzati in forma otticamente pura.

In una realizzazione, l'invenzione comprende una combinazione comprendente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un agonista di recettore β_2 -adrenergico.

Esempi di agonisti di recettori β_2 -adrenergici comprendono salmeterolo (che può essere un racemato o un singolo enantiomero come l'enantiomero R), salbutamolo (che può essere un racemato o un singolo enantiomero

come l'enantiomero R), formoterolo (che può essere un racemato o un singolo diastereomero come il diastereomero R,R), salmefamolo, fenoterolo, carmoterolo, etanterolo, naminterolo, clenbuterolo, pirbuterolo, flerbuterolo, reproterolo, bambuterolo, indacaterolo, terbutalina e loro sali, ad esempio il sale xinafoato (1-idrossi-2-naftalen carbossilato) di salmeterolo, il sale solfato o base libera di salbutamolo o il sale fumarato di formoterolo. In una realizzazione, sono preferiti agonisti ad azione prolungata di recettore β_2 -adrenergico, per esempio, composti che forniscono broncodilatazione efficace per circa 12 ore o più.

Altri agonisti di recettori β_2 -adrenergici includono quelli descritti in WO 02/066.422, WO 02/070.490, WO 02/076.933, WO 03/024.439, WO 03/072.539, WO 03/091.204, WO 04/016.578, WO 2004/022547, WO 2004/037807, WO 2004/037773, WO 2004/037768, WO 2004/039762, WO 2004/039766, WO01/42193 e WO03/042160.

Esempi di agonisti di recettori β_2 -adrenergici includono:

3-(4-{{6-((2R)-2-idrossi-2-[4-idrossi-3-(idrossimetil)fenil]etil)ammino)esil}ossi}butil)benzensolfonammide;
 3-(3-{{7-((2R)-2-idrossi-2-[4-idrossi-3-idrossimetil)fenil]etil)-ammino)epil}ossi}propil)benzensolfonammide;
 4-{{(1R)-2-[(6-{2-[(2,6-diclorobenzil)ossi]etossi}esil)ammino]-1-idrossietil}-2-(idrossimetil)fenolo};
 4-{{(1R)-2-[(6-{4-[3-(ciclopentilsolfonil)-fenil]butossi}esil)ammino]-1-idrossietil}-2-(idrossimetil)fenolo};
 N-[2-idrossil-5-[(1R)-1-idrossi-2-[[2-4-[[2-(2R)-2-idrossi-2-feniletil]ammino]fenil]etil]-ammino]etil]fenil]formammide;
 N-2{2-[4-(3-fenil-4-metossifenil)aminofenil]etil}-2-idrossi-2-(8-idrossi-2(1H)-chinolinon-5-il)etilammina; e
 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-ammino-2-metil-propossi)-fenilammino]-fenil}-etilammino)-1-idrossi-etil]-8-idrossi-1H-chinolin-2-one.

L'agonista di recettore β_2 -adrenergico può essere in forma di un sale formato con un acido accettabile farmaceuticamente scelto tra acido solforico, cloridrico, fumarico, idrossinaftoico (per esempio 1- o 3-idrossi-2-naftoico), cinnamico, cinnamico sostituito, trifenilacetico, solfammico, solfanilico, naftaleneacrilico, benzoico, 4-metossibenzoico, 2- o 4-idrossibenzoico, 4-clorobenzoico e 4-fenilbenzoico.

Adatti agenti anti-infiammatori includono corticosteroidi. Adatti corticosteroidi che possono essere usati in

combinazione con i composti di formula (I) o loro sali accettabili farmaceuticamente sono quei corticosteroidi orali e inalati e loro pro-farmaci che hanno attività anti-infiammatoria. Esempi includono metil prednisolone, prednisolone, dexametasone, fluticasone propionato, acido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -idrossi-16 α -metil-17 α -[(4-metil-1,3-tiazolo-5-carbonil)ossi]-3-osso-androsta-1,4-diene-17 β -carbotioico S-fluorometilestere, acido 6 α ,9 α -difluoro-17 α -[(2-furanilcarbonil)ossi]-11 β -idrossi-16 α -metil-3-osso-androsta-1,4-diene-17 β -carbotioico S-fluorometilestere (fluticasone furoato), acido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -idrossi-16 α -metil-3-osso-17 α -propionilossi-androsta-1,4-diene-17 β -carbotioico S-(2-osso-tetraidro-furan-3S-il) estere, acido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -idrossi-16 α -metil-3-osso-17 α -(2,2,3,3-tetrameticiclopropilcarbonil)-ossi-androsta-1,4-diene-17 β -carbotioico S-cianometilestere e acido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -idrossi-16 α -metil-17 α -(1-meticiclopropilcarbonil)-ossi-3-osso-androsta-1,4-diene-17 β -carbotioico S-fluorometilestere, esteri di beclometasone (per esempio l'estere 17-propionato o l'estere 17,21-dipropionato), budesonide, flunisolide, esteri di mometasone (per esempio mometasone furoato), triamcinolone acetone, rofleponide, ciclesonide (16 α ,17-[[*(R)*-cicloesilmetilene]bis(ossi)]-11 β ,21-diidrossi-pregna-1,4-diene-3,20-dione), butixocort propionato, RPR-106541, e ST-126. Corticosteroidi preferiti includono fluticasone propionato, acido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -idrossi-16 α -metil-17 α -[(4-metil-1,3-tiazolo-5-carbonil)ossi]-3-osso-androsta-1,4-diene-17 β -carbotioico S-fluorometilestere, acido 6 α ,9 α -difluoro-17 α -[(2-furanilcarbonil)ossi]-11 β -idrossi-16 α -metil-3-osso-androsta-1,4-diene-17 β -carbotioico S-fluorometilestere, acido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -idrossi-16 α -metil-3-osso-17 α -(2,2,3,3-tetrameticiclopropilcarbonil)ossi-androsta-1,4-diene-17 β -carbotioico S-cianometilestere e acido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -idrossi-16 α -metil-17 α -(1-meticiclopropilcarbonil)ossi-3-osso-androsta-1,4-diene-17 β -carbotioico S-fluorometilestere. In una realizzazione il corticosteroide è acido 6 α ,9 α -difluoro-17 α -[(2-furanilcarbonil)ossi]-11 β -idrossi-16 α -metil-3-osso-androsta-1,4-diene-17 β -carbotioico S-fluorometilestere.

Esempi di corticosteroidi possono includere quelli descritti in WO2002/088167, WO2002/100879, WO2002/12265 WO2002/12266, WO2005/005451, WO2005/005452, WO2006/072599 e WO2006/072600.

Composti non steroidei aventi agonismo di glucocorticoidi che possono avere selettività per trans-repressione rispetto a trans-attivazione e che possono essere utili in terapia combinata includono quelli coperti nei seguenti

brevetti: WO03/082827, WO98/54159, WO04/005229, WO04/009017, WO04/018429, WO03/104195, WO03/082787, WO03/082280, WO03/059899, WO03/101932, WO02/02565, WO01/16128, WO00/66590, WO03/086294, WO04/026248, WO03/061651 e WO03/08277. Inoltre, composti non steroidei sono coperti in: WO2006/000401, WO2006/000398 e WO2006/015870.

Esempi di agenti anti-infiammatori includono farmaci anti-infiammatori non steroidei (FANS).

Esempi di FANS includono sodio cromoglicato, nedocromil sodio, inibitori di fosfodiesterasi (PDE) (per esempio, teofillina, inibitori di PDE4 o inibitori misti di PDE3/PDE4), antagonisti di leucotrieni, inibitori della sintesi di leucotrieni (per esempio montelukast), inibitori di iNOS, inibitori di triptasi e elastasi, antagonisti di beta-2 integrina e agonisti o antagonisti del recettore di adenosina (ad es. agonisti di adenosina 2a), antagonisti di citochine (per esempio antagonisti di chemiochine, come un antagonista di CCR3) o inibitori di sintesi di citochine, o inibitori di 5-lipossigenasi. Un iNOS (inibitore di ossido nitrico sintetasi inducibile) è preferibilmente per somministrazione orale. Esempi di inibitori di iNOS includono quelli descritti in WO93/13055, WO98/30537, WO02/50021, WO95/34534 e WO99/62875. Esempi di inibitori di CCR3 includono quelli descritti in WO02/26722.

In una realizzazione, l'invenzione fornisce l'uso dei composti di formula (I) in combinazione con un inibitore di fosfodiesterasi 4 (PDE4), particolarmente nel caso di una formulazione adatta a inalazione. L'inibitore specifico per PDE4 utile in questo aspetto dell'invenzione può essere qualsiasi composto che è noto per inibire l'enzima PDE4 o che si scopre possa agire come inibitore di PDE4, e che sono solo inibitori di PDE4, non composti che inibiscono altri membri della famiglia di PDE, come PDE3 e PDE5, oltre a PDE4.

Composti includono acido *cis*-4-ciano-4-(3-ciclopentilossi-4-metossifenil)cicloesano-1-carbossilico, 2-carbometossi-4-ciano-4-(3-ciclopropilmetossi-4-difluorometossifenil)cicloesano-1-one e *cis*-[4-ciano-4-(3-ciclopropilmetossi-4-difluorometossifenil)cicloesano-1-olo]. Inoltre, acido *cis*-4-ciano-4-[3-(ciclopentilossi)-4-metossifenil]cicloesano-1-carbossilico (noto anche come cilomilast) e suoi sali, esteri, pro-farmaci o forme fisiche, che sono descritti nel brevetto U.S.A. 5.552.438 rilasciato il 3 settembre, 1996; questo brevetto e i composti che descrive sono incorporati nella presente *in toto* per riferimento.

Altri composti includono AWD-12-281 da Elbion (Hofgen, N. et al. 15th EFMC Int Symp Med Chem (Sept 6-10, Edinburgh) 1998, Abst P.98; CAS riferimento No. 247584020-9); un derivato di 9-benziladenina chiamato NCS-613 (INSERM); D-4418 da Chiroscience e Schering-Plough; un inibitore benzodiazepinico di PDE4 identificato come CI-1018 (PD-168787) e attribuito a Pfizer; un derivato di benzodiossolo descritto da Kyowa Hakko in WO99/16766; K-34 da Kyowa Hakko; V-11294A da Napp (Landells, L.J. et al. Eur Resp J [Annu Cong Eur Resp Soc (Sept 19-23, Geneva) 1998] 1998, 12 (Suppl. 28): Abst P2393); roflumilast (N. di riferimento CAS 162401-32-3) e uno ftalazinone (WO99/47505, la cui descrizione è incorporata nella presente per riferimento) da Byk-Gulden; Pumafentrine, (-)-p-[(4aR*,10bS*)-9-etossi-1,2,3,4,4a,10b-esaidro-8-metossi-2-metilbenzo[c][1,6]naftiridin-6-il]-N,N-diisopropilbenzammide che è un inibitore misto di PDE3/PDE4 che è stato preparato e pubblicato da Byk-Gulden, oggi Altana; arofillina in fase di sviluppo da parte di Almirall-Prodesfarma; VM554/UM565 da Vernalis; o T-440 (Tanabe Seiyaku; Fuji, K. et al. J Pharmacol Exp Ther, 1998, 284(1): 162), e T2585.

Altri composti sono descritti nella domanda di brevetto internazionale pubblicata WO04/024728 (Glaxo Group Ltd), WO04/056823 (Glaxo Group Ltd) e WO04/103998 (Glaxo Group Ltd) (ad es. Esempio 399 o 544 ivi descritti). Altri composti sono pure descritti in WO2005/058892, WO2005/090348, WO2005/090353, e WO2005/090354, tutti a nome di Glaxo Group Limited.

Esempi di agenti anticolinergici sono quei composti che agiscono come antagonisti ai recettori muscarinici, in particolare quei composti che sono antagonisti dei recettori M_1 o M_3 , doppi antagonisti dei recettori M_1/M_3 o M_2/M_3 , o pan-antagonisti dei recettori $M_1/M_2/M_3$. Composti illustrativi per somministrazione tramite inalazione includono ipratropio (per esempio, come bromuro, CAS 22254-24-6, venduto con il nome Atrovent), ossitropio (per esempio, come bromuro, CAS 30286-75-0) e tiotropio (per esempio, come bromuro, CAS 136310-93-5, venduto con il nome Spiriva). Pure di interesse sono revatropate (per esempio, come bromidrato, CAS 262586-79-8) e LAS-34273 che è descritto in WO01/04118. Composti illustrativi per somministrazione orale includono pirenzepina (CAS 28797-61-7), darifenacina (CAS 133099-04-4, o CAS 133099-07-7 per il bromidrato venduto con il nome Enablex), oxybutynin (CAS 5633-20-5, venduto con il nome Ditropan), terodiline (CAS 15793-40-

5), tolterodine (CAS 124937-51-5, o CAS 124937-52-6 per il tartrato, venduto con il nome Detrol), otilonio (per esempio, come bromuro, CAS 26095-59-0, venduto con il nome Spasmomen), trospio cloruro (CAS 10405-02-4) e solifenacina (CAS 242478-37-1, o CAS 242478-38-2 per il succinato noto anche come YM-905 e venduto con il nome Vesicare).

Composti aggiuntivi sono descritti in WO 2005/037280, WO 2005/046586 e WO 2005/104745, incorporati nella presente per riferimento. Le presenti combinazioni includono, ma non sono limitate a:

(3-*endo*)-3-(2,2-di-2-tieniletetil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]ottano ioduro;

(3-*endo*)-3-(2-ciano-2,2-difeniletetil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]ottano bromuro;

4-[idrossi(difenil)metil]-1-{2-[(fenilmetil)ossi]etil}-1-azoniabicyclo[2.2.2]ottano bromuro; e

(1*R*,5*S*)-3-(2-ciano-2,2-difeniletetil)-8-metil-8-{2-[(fenilmetil)ossi]etil}-8-azoniabicyclo[3.2.1]ottano bromuro.

Altri agenti anticolinergici includono composti che sono descritti nella domanda di brevetto U.S.A. 60/487981 inclusi, per esempio:

(3-*endo*)-3-(2,2-di-2-tieniletetil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]ottano bromuro;

(3-*endo*)-3-(2,2-difeniletetil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]ottano bromuro;

(3-*endo*)-3-(2,2-difeniletetil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]ottano 4-metilbenzensolfonato;

(3-*endo*)-8,8-dimetil-3-[2-fenil-2-(2-tienil)etenil]-8-azoniabicyclo[3.2.1]ottano bromuro; e/o

(3-*endo*)-8,8-dimetil-3-[2-fenil-2-(2-piridinil)etenil]-8-azoniabicyclo[3.2.1]ottano bromuro.

Altri agenti anticolinergici includono composti che sono descritti nella domanda di brevetto U.S.A. 60/511009 inclusi, per esempio:

(*endo*)-3-(2-metossi-2,2-di-tiofen-2-il-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-bicyclo[3.2.1]ottano ioduro;

3-((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]ott-3-il)-2,2-difenil-propionitrile;

(*endo*)-8-metil-3-(2,2,2-trifenil-etil)-8-aza-bicyclo[3.2.1]ottano;

3-((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]ott-3-il)-2,2-difenil-propionammide;

acido 3-((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]ott-3-il)-2,2-difenil-propionico;

(*endo*)-3-(2-ciano-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-bicyclo[3.2.1]ottano ioduro;

(endo)-3-(2-ciano-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]ottano bromuro;
 3-((*endo*)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]ott-3-il)-2,2-difenil-propan-1-olo;
N-benzil-3-((*endo*)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]ott-3-il)-2,2-difenil-propionammide;
(endo)-3-(2-carbamoil-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]ottano ioduro;
 1-benzil-3-[3-((*endo*)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]ott-3-il)-2,2-difenil-propil]-urea;
 1-etil-3-[3-((*endo*)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]ott-3-il)-2,2-difenil-propil]-urea;
N-[3-((*endo*)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]ott-3-il)-2,2-difenil-propil]-acetammide;
N-[3-((*endo*)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]ott-3-il)-2,2-difenil-propil]-benzammide;
 3-((*endo*)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]ott-3-il)-2,2-di-tiofen-2-il-propionitrile;
(endo)-3-(2-ciano-2,2-di-tiofen-2-il-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]ottano ioduro;
N-[3-((*endo*)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]ott-3-il)-2,2-difenil-propil]-benzensolfonammide;
 [3-((*endo*)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]ott-3-il)-2,2-difenil-propil]-urea;
N-[3-((*endo*)-8-metil-8-aza-biciclo[3.2.1]ott-3-il)-2,2-difenil-propil]-metansolfonammide; e/o
(endo)-3-{2,2-difenil-3-[(1-fenil-metanoil)-ammino]-propil}-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]ottano bromuro.

Altri composti includono:

(endo)-3-(2-metossi-2,2-di-tiofen-2-il-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]ottano ioduro;
(endo)-3-(2-ciano-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]ottano ioduro;
(endo)-3-(2-ciano-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]ottano bromuro;
(endo)-3-(2-carbamoil-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]ottano ioduro;
(endo)-3-(2-ciano-2,2-di-tiofen-2-il-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]ottano ioduro; e/o
(endo)-3-{2,2-difenil-3-[(1-fenil-metanoil)-ammino]-propil}-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]ottano bromuro.

In una realizzazione l'invenzione fornisce una combinazione comprendente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un antagonista H1. Esempi di antagonisti H1 includono, senza limitazione, amexanox, astemizolo, azatadina, azelastina, acrivastina, bromfenirammina, cetirizina, levocetirizina, efletirizina, clorfenirammina, clemastina, ciclizina, carebastina, ciproeptadina, carbinossammina,

descarboetossiloratadina, dossilammina, dimetindene, ebastina, epinastina, efletirizina, fexofenadina, idrossizina, ketotifene, loratadina, levocabastina, mizolastina, mequitazina, mianserin, noberastina, meclizina, norastemizolo, olopatadina, picumast, pirilammina, prometazina, terfenadina, tripeleennammina, temelastina, trimeprazina e triprolidina, particolarmente cetirizina, levocetirizina, efletirizina e fexofenadina. In un'altra realizzazione l'invenzione fornisce una combinazione comprendente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un antagonista H3 (e/o agonista inverso). Esempi di antagonisti H3 includono, per esempio, i composti descritti in WO2004/035556 e in WO2006/045416. Altri antagonisti del recettore di istamina che possono essere usati in combinazione con i composti della presente invenzione includono antagonisti (e/o agonisti inversi) del recettore H4, per esempio, i composti descritti in Jablonowski et al., J. Med. Chem. 46:3957-3960 (2003).

L'invenzione così fornisce, in un altro aspetto, una combinazione comprendente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un inibitore di PDE4.

L'invenzione così fornisce, in un altro aspetto, una combinazione comprendente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un agonista di recettore β 2-adrenergico.

L'invenzione così fornisce, in un altro aspetto, una combinazione comprendente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un corticosteroide.

L'invenzione così fornisce, in un altro aspetto, una combinazione comprendente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un agonista di GR non steroideo.

L'invenzione così fornisce, in un altro aspetto, una combinazione comprendente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un anticolinergico.

L'invenzione così fornisce, in un altro aspetto, una combinazione comprendente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un antistaminico.

L'invenzione così fornisce, in un altro aspetto, una combinazione comprendente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un inibitore di PDE4 e un agonista di recettore β 2-adrenergico.

L'invenzione così fornisce, in un altro aspetto, una combinazione comprendente un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un anticolinergico e un inibitore di PDE-4.

Le combinazioni riportate sopra possono essere presentate convenientemente per uso nella forma di una composizione farmaceutica e così composizioni farmaceutiche comprendenti una combinazione come definita sopra insieme ad un diluente o veicolo accettabile farmaceuticamente rappresentano un altro aspetto dell'invenzione.

I composti individuali di tali combinazioni possono essere somministrati sequenzialmente o simultaneamente in formulazioni farmaceutiche separate o combinate. In una realizzazione, i composti individuali verranno somministrati simultaneamente in una formulazione farmaceutica combinata. Dosi appropriate di agenti terapeutici noti saranno subito evidenti agli esperti nella tecnica.

L'invenzione così fornisce, in un altro aspetto, una composizione farmaceutica comprendente una combinazione di un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un altro agente terapeuticamente attivo.

L'invenzione così fornisce, in un altro aspetto, una composizione farmaceutica comprendente una combinazione di un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un inibitore di PDE4.

L'invenzione così fornisce, in un altro aspetto, una composizione farmaceutica comprendente una combinazione di un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un agonista di recettore β 2-adrenergico.

L'invenzione così fornisce, in un altro aspetto, una composizione farmaceutica comprendente una combinazione di un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un corticosteroide.

L'invenzione così fornisce, in un altro aspetto, una composizione farmaceutica comprendente una combinazione di un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un agonista di GR non steroideo.

L'invenzione così fornisce, in un altro aspetto, una composizione farmaceutica comprendente una combinazione di un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un anticolinergico.

L'invenzione così fornisce, in un altro aspetto, una composizione farmaceutica comprendente una combinazione di un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un antistaminico.

L'invenzione così fornisce, in un altro aspetto, una composizione farmaceutica comprendente una combinazione di un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un inibitore di PDE4 e un agonista di recettore β 2-adrenergico.

L'invenzione così fornisce, in un altro aspetto, una composizione farmaceutica comprendente una combinazione di un composto di formula (I) o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme ad un anticolinergico e un inibitore di PDE4.

La descrizione verrà ora illustrata per mezzo dei seguenti esempi non limitanti.

ESEMPI

I seguenti esempi illustrano la descrizione. Questi esempi non sono destinati a limitare il campo della presente invenzione, ma piuttosto a fornire guida al tecnico esperto per preparare e usare i composti, composizioni e usi della presente invenzione. Mentre sono descritte particolari realizzazioni della presente invenzione, il tecnico esperto comprenderà che vari cambiamenti e modifiche possono essere fatti senza allontanarsi dallo spirito e campo dell'invenzione.

Quando il nome di un fornitore commerciale viene riportato dopo il nome di un composto o un reagente, per esempio "composto X (Aldrich)" o "composto X/Aldrich", questo significa che composto X è ottenibile da un fornitore commerciale, come il fornitore commerciale citato. Se non riferito nella presente il composto o reagente può essere acquistato da un fornitore standard come Sigma Aldrich, Lancaster, Fluorochem, TCI ecc.

I nomi degli Esempi sono stati ottenuti usando un programma di denominazione di composti che abbina la struttura al nome (ad es. ACD/Name Batch v 9.0).

Dettagli sperimentali generali

Metodi di cromatografia liquida spettrometria di massa (LCMS)

Analisi LCMS è stata condotta usando uno dei metodi elencati di seguito.

Metodo A:

Strumentazione LCMS consiste in quanto segue:

Colonna: Acquity UPLC BEH C₁₈ 1,7µm 2,1mm x 50mm, forno della colonna impostato a 40 gradi centigradi

Solvente A: Acqua 0,1% acido formico + 10mM Acetato d'ammonio

Solvente B: MeCN: Acqua 95:5 + 0,05% acido formico

Volume d'iniezione: 0,5µl

Tecnica d'iniezione: parziale sovra-riempimento della serpentina

Rivelazione UV: 220 fino a 330 nm

Regime di campionamento UV: 40 punti al secondo

Intervallo di scansione MS: 100 fino a 1000 amu

Regime di scansione MS: 0,2 secondi di scansione con un ritardo inter-scansione di 0,1 secondi

Funzione di scansione MS: Elettrospray con commutazione positivo-negativo

Tempo di ciclo: 2 minuti e 30 secondi

Gradiente:

Tempo	Portata ml/min	%A	%B
0	1	97	3
0,1	1	97	3
1,4	1	0	100
1,9	1	0	100
2	1	97	3

Metodo B:

L'analisi HPLC è stata condotta su una colonna Sunfire C18 (30mm x 4,6mm d.i. 3,5µm diametro di impaccamento) a 30 gradi centigradi.

Solvente A = soluzione allo 0,1% v/v di acido formico in Acqua.

Solvente B = soluzione allo 0,1% v/v di acido formico in acetonitrile.

Il gradiente impiegato era:

Tempo (min)	Portata (ml/min)	% A	% B
0	3	97	3
0,1	3	97	3
4,2	3	0	100
4,8	3	0	100
4,9	3	97	3
5,0	3	97	3

La rivelazione UV era un segnale mediato da lunghezza d'onda di 210nm fino a 350nm e spettri di massa sono stati registrati su uno spettrometro di massa usando ionizzazione per elettrospray in modalità positiva e negativa a scansione alternata.

Metodo C:

L'analisi HPLC è stata condotta su un Phenomenex Luma C18(2) (50mm x 2mm d.i. 3µm diametro di impaccamento, o equivalente convalidato) a 40 gradi centigradi.

Solvente A = soluzione allo 0,05% v/v di TFA in Acqua.

Solvente B = soluzione allo 0,05% v/v di TFA in Acetonitrile.

Il gradiente impiegato era:

Tempo (min)	Portata (ml/min)	% A	% B
0	1	100	0
8	1	5	95

Tempo (min)	Portata (ml/min)	% A	% B
8,01	1	100	0

La lunghezza d'onda di rivelazione UV era dipendente da analita e spettri di massa sono stati registrati su uno spettrometro di massa usando elettrospray a ioni positivi.

Metodo D:

L'analisi HPLC è stata condotta su un Phenomenex Luma C18(2) (50mm x 2mm d.i. 3µm diametro di impaccamento, o equivalente convalidato) a 60 gradi centigradi.

Solvente A = soluzione allo 0,05% v/v di TFA in Acqua.

Solvente B = soluzione allo 0,05% v/v di TFA in Acetonitrile.

Il gradiente impiegato era:

Tempo (min)	Portata (ml/min)	% A	% B
0	1,5	100	0
2,5	1,5	5	95
2,7	1,5	5	95
2,9	1,5	100	0

La lunghezza d'onda di rivelazione UV era dipendente da analita e spettri di massa sono stati registrati su uno spettrometro di massa usando elettrospray a ioni positivi.

Metodi di HPLC preparativa automatizzata guidata da massa

I metodi per la HPLC preparativa automatizzata guidata da massa usati per la purificazione dei composti sono descritti di seguito:

Metodo A - Altro pH

Dettagli della colonna: Colonna Waters_XBRIDGE Prep C18 5µm OBD (30 x 150 mm)

I solventi impiegati erano:

A=10 mM Bicarbonato d'ammonio in acqua regolato a pH 10 con soluzione acquosa di ammoniaca

B= Acetontrile + 0,1 % ammoniaca acquosa

La raccolta era innescata da uv, ms o una combinazione dei due. La rivelazione UV era un segnale mediato da lunghezza d'onda di 210nm fino a 350nm. Gli spettri di massa sono stati registrati su uno spettrometro di massa usando una ionizzazione per elettrospray in modalità positiva e negativa a scansione alternata.

Metodo B - basso pH

Dettagli della colonna: colonna SUNFIRE C18 (30 x 150 mm id 5 uM diametro di impaccamento)

I solventi impiegati erano:

A=soluzione allo 0,1% v/v di acido formico in Acqua.

B= soluzione allo 0,1% v/v di acido formico in Acetonitrile.

La raccolta era innescata da uv, ms o una combinazione dei due. La rivelazione UV era un segnale mediato da lunghezza d'onda di 210nm fino a 350nm. Gli spettri di massa sono stati registrati su uno spettrometro di massa usando una ionizzazione per elettrospray in modalità positiva e negativa a scansione alternata.

Metodo C

Dettagli della colonna: colonna XBRIDGE Shield RP18 (100 x 19mm, 5 uM diametro di impaccamento)

I solventi impiegati erano:

A=10 mM Bicarbonato d'ammonio in acqua regolato a pH 10 con soluzione acquosa di ammoniaca

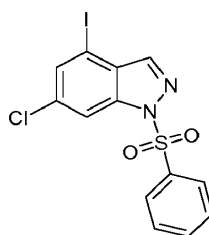
B= Metanolo

La raccolta era innescata da uv, ms o una combinazione dei due. La rivelazione UV era un segnale mediato da lunghezza d'onda di 210nm fino a 350nm. Gli spettri di massa sono stati registrati su uno spettrometro di massa usando una ionizzazione per elettrospray in modalità positiva e negativa a scansione alternata.

Intermedi ed Esempi

Intermedio 1

6-Cloro-4-iodo-1-(fenilsolfonil)-1H-indazolo



Metodo A

6-Cloro-4-iodo-1*H*-indazolo (30 g, 108 mmoli, disponibile da Sinova) è stato sciolto in *N,N*-dimetilformammide (300 ml) e raffreddato in un bagno di acqua ghiacciata sotto azoto. Sodio idruro (5,17 g, 129 mmoli) è stato aggiunto in porzioni, mantenendo la temperatura al di sotto di 10°C. Dopo aggiunta completa la miscela di reazione è stata agitata per 20 minuti poi benzonsolfonil cloruro (16,5 ml, 129 mmoli) è stato aggiunto a gocce in 15 minuti. La reazione è stata lasciata riscaldare a RT durante la notte poi versata su acqua ghiacciata (2 L). Il prodotto precipitato è stato raccolto per filtrazione, lavato con acqua (circa 400 ml) e seccato in una stufa da vuoto durante la notte per dare il composto del titolo (43,3 g).

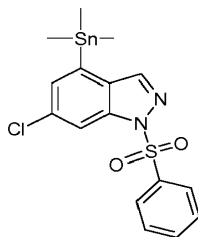
LCMS (Metodo A): Rt 1,38 minuti, MH⁺419.

Metodo B

Ad una soluzione agitata di 6-cloro-4-iodo-1*H*-indazolo (633,6 g) in THF (5,7L) è stato aggiunto idrossido di sodio (227,4 g) seguito da tetra-*n*-butilammonio bisolfato (38,0 g) a 20±3°C, sotto un'atmosfera di azoto. La miscela è stata agitata a 20±3°C per 1 h 3 min, poi benzonsolfonil cloruro (319 ml) è stato aggiunto ad un regime tale da mantenere la temperatura interna a <25°C. Benzonsolfonil cloruro residuo è stato risciacquato nel recipiente con THF (630 mL), poi la miscela agitata per 1 h 10 min. La miscela è stata raffreddata a <5°C e acqua (12,7 L) aggiunta ad un regime tale da mantenere la temperatura interna al di sotto di 5±3°C, poi la miscela agitata a 0-5°C per 1 h 20 min. I solidi sono stati raccolti mediante filtrazione sotto vuoto, lavati con acqua (2x 1,9 L), essiccati per aspirazione poi ancora seccati sotto vuoto con una corrente di azoto a 40°C±3°C durante la notte per dare il composto del titolo (780,8 g).

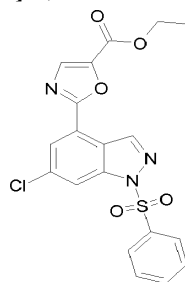
LCMS (Metodo C): Rt 6,28 min, MH⁺ 419.

Intermedio 2

6-Cloro-1-(fenilsolfonil)-4-(trimetilstannanil)-1H-indazolo

6-Cloro-4-iodo-1-(fenilsolfonil)-1H-indazolo (30 g, 71,7 mmoli), tetrakis(trifenilfosfina)palladio(0) (8,1 g, 7,01 mmoli), xilene (200 ml), trietilammina (19,98 ml, 143 mmoli) e esametildistagno (21,8 ml, 105 mmoli) sono stati riscaldati a 150°C per 2 h. La miscela di reazione è stata filtrata calda attraverso Celite, lavando con altro xilene e il solvente è stato evaporato sotto vuoto. Il residuo è stato triturato con cicloesano e il precipitato raccolto per filtrazione e seccato in una stufa da vuoto per dare il composto del titolo (14,4 g).

LCMS (Metodo A): Rt 1,51 minuti, MH⁺ 457.

Intermedio 3a**Etil 2-[6-cloro-1-(fenilsolfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-ossazolo-5-carbossilato**

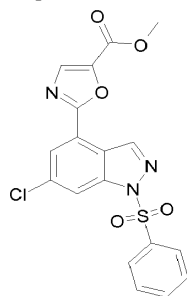
In 4 lotti, tetrakis(trifenilfosfina)palladio(0) (3,37 g, 2,92 mmoli), etil 2-cloro-1,3-ossazolo-5-carbossilato (6,65 g, 37,9 mmoli, disponibile da Apollo Scientific) e rame(I) ioduro (1,11 g, 5,83 mmoli) sono stati aggiunti ad una soluzione di 6-cloro-1-(fenilsolfonil)-4-(trimetilstannanil)-1H-indazolo (13,28 g, 29,2 mmoli) in *N,N*-dimetilformammide (52 ml). In 3 dei lotti, tetrakis(trifenilfosfina)palladio(0) (1,03 g, 0,89 mmoli), etil 2-cloro-1,3-ossazolo-5-carbossilato (2,03 g, 11,59 mmoli) e rame(I) ioduro (0,34 g, 1,78 mmoli) sono stati aggiunti ad una soluzione di 6-cloro-1-(fenilsolfonil)-4-(trimetilstannanil)-1H-indazolo (4,06 g, 8,91 mmoli) in *N,N*-dimetilformammide (16 ml). In nel quarto lotto, tetrakis(trifenilfosfina)palladio(0) (0,28 g, 0,24 mmoli), etil 2-

cloro-1,3-ossazolo-5-carbossilato (0,55 g, 3,14 mmoli) e rame(I) ioduro (0,09 g, 0,48 mmoli) sono stati aggiunti ad una soluzione di 6-cloro-1-(fenilsolfonil)-4-(trimetilstannanil)-1*H*-indazolo (1,10 g, 2,42 mmoli) in *N,N*-dimetilformammide (4 ml). Ogni lotto è stato riscaldato e agitato a 100°C sotto irraggiamento con microonde per 30 min. Le miscele sono state lasciate riscaldare a RT e il prodotto precipitato combinato sospeso in etere dietilico e raccolto per filtrazione, lavando con altro etere dietilico poi essiccando in una stufa da vuoto per 72 h. Approssimativamente 5,2 g del solido risultante è stato sciolto in diclorometano e fatto passare attraverso Celite, eluendo con altro diclorometano. Il solvente è stato evaporato *sotto vuoto* per dare il composto del titolo come un solido arancione chiaro (4,95 g).

LCMS (Metodo A): Rt 1,38 minuti, MH⁺ 432.

Intermedio 3b

Metil 2-[6-cloro-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazol-4-il]-1,3-ossazolo-5-carbossilato



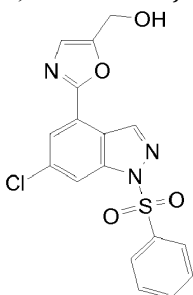
Ad una soluzione agitata di 6-cloro-4-iodo-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazolo (549,8 g) in toluene (1,43 L) è stata aggiunta trietilammina (380 ml) a 20±3°C sotto un'atmosfera di azoto. Esametildistagno (385 ml) in toluene (825 ml) è stato aggiunto, seguito da toluene (275 ml) poi tetrakis(trifenilfosfina) palladio (0) (154,7 g). La miscela di reazione è stata riscaldata a 120°C e agitata a questa temperatura per 3 h. La miscela è stata lasciata raffreddare a 20±3°C, filtrata, poi lavata con toluene (4,95 L). Il filtrato è stato trasferito ad un recipiente pulito attraverso un filtro in linea da 5µm Dominick Hunter, risciacquando con altro toluene (550 ml). Il lotto è stato poi lavato con soluzione acquosa al 50% di KF (5,5 L), la sospensione acquosa filtrata e il filtrato ricombinato con la fase organica. La fase acquosa è stata separata e quella organica lavata in successione con 50% KF acquoso (5,5 L), seguito da acqua (5,5 L). Lo strato organico è stato diluito con DMPU (2,75 L) poi concentrato mediante

distillazione sotto vuoto a circa 5,4 volumi. Alla risultante soluzione è stato aggiunto rame (I) ioduro (25,5 g) seguito da metil 2-cloro-1,3-ossazolo-5-carbossilato (279 g, disponibile da Apollo Scientific) a $20\pm 3^\circ\text{C}$. La soluzione è stata degassata tramite vuoto e spurgando con azoto (x3). Tetrakis(trifenilfosfina) palladio (0) (78 g) è stato aggiunto, la miscela degassata (x3) e poi riscaldata a $85-90^\circ\text{C}$ per 10 h. La miscela è stata diluita con DMSO (13,75 L) e raffreddata a $20\pm 3^\circ\text{C}$, poi acqua (2,75 L) aggiunta in porzioni di circa 1 volume in circa 15 minuti fino ad iniziare la cristallizzazione. La risultante sospensione è stata fatta maturare a $20^\circ\text{C}\pm 3^\circ\text{C}$ per 1,5 h. I solidi sono stati raccolti mediante filtrazione sotto vuoto, lavati con acqua (2x 2,75 L), essiccati per aspirazione e poi ancora seccati *sotto vuoto* con una corrente di azoto a $45^\circ\text{C}\pm 5^\circ\text{C}$ durante la notte per dare il composto del titolo (341,1 g).

LCMS (Metodo C): Rt 6,08 minuti, MH^+418

Intermedio 4

{2-[6-Cloro-1-(fenilsolfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-ossazol-5-il}metanolo



Metodo A

Una soluzione di etil 2-[6-cloro-1-(fenilsolfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-ossazolo-5-carbossilato (5,11 g, 11,8 mmoli) in diclorometano (80 ml) è stata raffreddata a -25°C in un pallone a fondo sferico seccato in stufa. Diisobutilalluminio idruro (25 ml, 37,5 mmoli, soluzione 1,5M in toluene) è stato aggiunto a gocce e la reazione agitata a -20°C per 3 h. Una soluzione acquosa al 10% di potassio sodio tartrato (80 ml) è stata aggiunta e la miscela di reazione agitata per 5 min. Il solido precipitato è stato filtrato e ripartito tra etil acetato (500 ml) e acqua (500 ml). Gli strati sono stati separati e quello acquoso lavato con altro etil acetato (3x 150 ml). Gli strati organici combinati sono stati seccati e evaporati *sotto vuoto* per dare il composto del titolo come un solido giallo

(1,1 g).

LCMS (Metodo A): Rt 1,09 minuti, MH⁺ 390.

Il restante filtrato è stato per lo più concentrato *sotto vuoto* e il residuo ripartito tra etil acetato (500 ml) e acqua (500 ml). Gli strati sono stati separati e quello acquoso estratto con altro etil acetato (3x 150 ml). Gli strati organici combinati sono stati lavati con acqua (2x 150 ml), seccati su solfato di sodio anidro e evaporati per dare il composto del titolo come un solido giallo (1,9 g).

LCMS (Metodo A): Rt 1,09 minuti, MH⁺ 390.

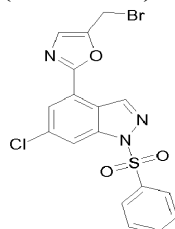
Metodo B

Ad una soluzione di etil 2-[6-cloro-1-(fenilsolfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-ossazolo-5-carbossilato (1,15 g) in THF (17,25 ml), agitata sotto azoto in un bagno di ghiaccio è stata aggiunta una soluzione di diisobutilalluminio idruro (5,08 ml, 5,64 mmoli) in toluene. La miscela di reazione è stata agitata a 0°C per 2 h. Sodio solfato decaidrato (2,5 g) è stato aggiunto, la miscela agitata a RT per 1 h, poi filtrata, lavata con THF (2x 5 volumi) e concentrata a pressione ridotta per dare il composto del titolo (0,98 g).

LCMS (Metodo D): Rt 2,20 minuti, MH⁺ 390.

Intermedio 5

4-[5-(Bromometil)-1,3-ossazol-2-il]-6-cloro-1-(fenilsolfonil)-1H-indazolo



Metodo A

{2-[6-Cloro-1-(fenilsolfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-ossazol-5-il}metanolo (1,626 g, 4,17 mmoli) è stato sciolto in diclorometano anidro (20 ml) e tetrabromuro di carbonio (2,77 g, 8,34 mmoli) aggiunto. La miscela di reazione è stata raffreddata a 0°C e una soluzione di trifenilfosfina (2,188 g, 8,34 mmoli) in diclorometano (20 ml) aggiunta a gocce. Dopo aver lasciato riscaldare a RT e agitando per altre 3 h, il solvente è stato parzialmente rimosso *sotto*

vuoto e la soluzione purificata direttamente mediante cromatografia su gel di silice, eluendo con 0-100% etil acetato in diclorometano. Le frazioni appropriate sono state combinate per dare il composto del titolo come un solido color crema (1,16 g).

LCMS (Metodo B): Rt 3,70 minuti, MH⁺ 454.

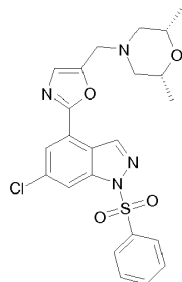
Metodo B

Trifenilfosfina dibromuro (20,60 g, 48,8 mmoli) è stato aggiunto ad una sospensione di {2-[6-cloro-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazol-4-il]-1,3-ossazol-5-il} metanolo (9,06 g, 23,2 mmoli) in diclorometano (181 ml) a 0°C. La miscela di reazione è stata agitata a 0°C fino a completamento. Acqua (91 ml) e soluzione satura di bicarbonato di sodio (91 ml) sono stati aggiunti e la miscela agitata, poi separata. Lo strato acquoso è stato estratto con altro diclorometano (45 ml) e gli strati organici combinati e lavati con acqua (91 ml). Gli strati sono stati separati e quello organico concentrato ad essiccazione poi ridisciolto in metanolo (136 ml). Dopo aver agitato per 30 minuti la risultante sospensione bianca è stata filtrata e il solido seccato sotto vuoto per dare il composto del titolo come un solido biancastro (9,58 g).

LCMS (Metodo D): Rt 2,57min, MH⁺ 452/454.

Intermedio 6a

6-Cloro-4-(5-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-ossazol-2-il)-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazolo



4-[5-(Bromometil)-1,3-ossazol-2-il]-6-cloro-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazolo (0,580 g, 1,28 mmoli) è stato sciolto in diclorometano (5 ml) e (2*R*, 6*S*)-2,6-dimetilmorfolina (0,317 ml, 2,56 mmoli) aggiunta. La miscela di reazione è stata agitata a RT per 3 h poi il solvente rimosso sotto una corrente di azoto. Il risultante solido giallo è stato sciolto in diclorometano (5 ml) e lavato con acqua (2x 2,5 ml). Gli strati sono stati separati (fritta idrofobica) e

quelli organici evaporati *sotto vuoto* per dare il composto del titolo come un solido giallo chiaro (0,60 g).

LCMS (Metodo A): Rt 0,86 minuti, MH⁺ 487.

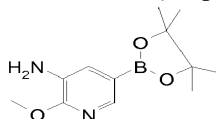
¹H NMR (400MHz, Cloroformio-d) δ (ppm) 8,93 (d, $J = 1,0$ Hz, 1 H), 8,33 (dd, $J = 1,0, 1,5$ Hz, 1 H), 8,04 - 8,00 (m, 2 H), 7,98 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 7,62 (tt, $J = 1,5, 7,5$ Hz, 1 H), 7,51 (t, $J = 7,5$ Hz, 2 H), 7,15 (s, 1 H), 3,67 (s, 2 H), 3,75 - 3,66 (m, 2 H), 2,79 - 2,72 (m, 2 H), 1,86 (dd, $J = 10,5, 11,0$ Hz, 2 H), 1,16 (d, $J = 6,5$ Hz, 6 H).

Usando l'ammina appropriata è stato preparato in maniera simile:

Numero Intermedio	Nome	struttura	Ammina	LC/MS R _t min	LC/MS MH ⁺
6b	6-cloro-4-(5-{[4-(1-metil-etil)-1-pipera-zinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1-(fenil-solfonil)-1H-indazolo		1-(1-metil-etil)piperazina	0,77	500

Intermedio 7

2-(Metilossi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-3-piridinammina



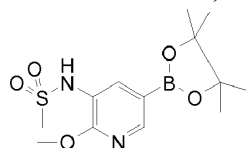
A 5-bromo-2-(metilossi)-3-piridinammina (18,93 g, 93 mmoli, disponibile da Asymchem International) in un pallone a fondo sferico da 1 L è stato aggiunto 1,4-diossano spurgato con azoto (500 ml) seguito da 4,4,4',4',5,5,5',5'-ottametil-2,2'-bi-1,3,2-diossaborolano (47,4 g, 186 mmoli), potassio acetato (27,5 g, 280 mmoli) e dicloro{1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocene}palladio (II) addotto con diclorometano (7,61 g, 9,32 mmoli). La miscela è stata poi agitata a 80°C sotto azoto per 2 h. La miscela di reazione è stata lasciata raffreddare poi ripartita tra etil acetato e acqua e filtrata attraverso un pannello di Celite. Lo strato acquoso è stato estratto ancora con etil acetato (2X) e gli strati organici combinati lavati con acqua, salamoia e seccati su solfato di magnesio durante la notte. La miscela è stata filtrata e il filtrato concentrato *sotto vuoto* per dare un solido marrone scuro.

Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice, eluendo in 0-50% etil acetato/diclorometano. Le frazioni appropriate sono state combinate e evaporate ad essiccazione e il residuo triturato con cicloesano. Il risultante solido è stato filtrato e seccato *sotto vuoto* per dare il composto del titolo come un solido rosa chiaro (11,1 g).

LCMS (Metodo A) Rt 0,91 minuti, MH⁺ 251.

Intermedio 8

N-[2-(Metilossi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-3-piridinil]metansolfonammide

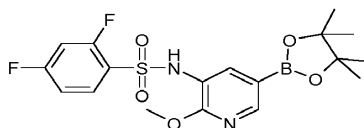


Ad una soluzione di 2-(metilossi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-3-piridinammina (0,5 g, 1,999 mmoli) in piridina (5 ml) è stato aggiunto metanosolfonil cloruro (0,309 ml, 4,00 mmoli) e la miscela agitata a 20 °C per 18 ore poi il solvente è stato rimosso sotto vuoto. Il residuo è stato ripartito tra soluzione satura di bicarbonato di sodio (10 ml) e diclorometano (20 ml), separato tramite frittata idrofobica e purificato mediante cromatografia su gel di silice, eluendo con un gradiente di diclorometano e metanolo per dare il composto del titolo come un solido marrone (0,46g).

LCMS (Metodo A): Rt 0,98 minuti, MH⁺ 329.

Intermedio 9

2,4-Difluoro-N-[2-(metilossi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-3-piridinil]benzensolfonammide



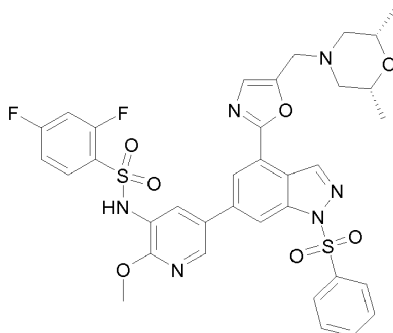
Ad una soluzione agitata di 2-(metilossi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-3-piridinammina (3 g, 12,00 mmoli) in piridina (12 ml), 2,4-difluorobenzensolfonil cloruro (1,774 ml, 13,19 mmoli) è stato aggiunto e la miscela di reazione agitata a RT per 2 h. 2 N cloruro di idrogeno (aq) (20 ml) e diclorometano (20 ml) sono

stati aggiunti e gli strati separati. Lo strato acquoso è stato lavato con altro diclorometano (2x 15 ml) e gli strati organici combinati, seccati (fritta idrofobica) e evaporati *sotto vuoto* per dare un olio marrone. C'era ancora un poco di piridina nella miscela di reazione così 2M cloruro di idrogeno (aq) e diclorometano (15 ml) sono stati aggiunti per estrarre ancora una volta. Il solvente è stato rimosso *sotto vuoto* per dare il composto del titolo come un solido arancione (4,3g).

LCMS (Metodo A): Rt 1,20 min, MH⁺ 427 [NB. Osservato anche Rt 0,73 min, MH⁺ 345 coerente con acido boronico (prodotto di idrolisi dovuto a eluente di HPLC)].

Intermedio 10

***N*-[5-[4-(5-[[*(2R,6S)*-2,6-Dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-ossazol-2-il)-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]-2,4-difluorobenzensulfonammide**



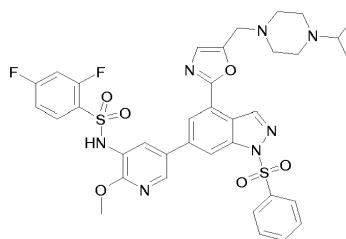
Ad una soluzione di 6-cloro-4-(5-[[*(2R,6S)*-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil]-1,3-ossazol-2-il)-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazolo (0,2 g, 0,411 mmoli) e 2,4-difluoro-*N*-[2-(metossi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-3-piridinil]benzensulfonammide (0,228mg, 0,534 mmoli) in 1,4-diossano (2 ml) è stato aggiunto cloro[2'-(dimetilammino)-2-bifenilil]palladio-1(*1R,4S*)-biciclo[2.2.1]ept-2-il[(*1S,4R*)-biciclo[2.2.1]ept-2-il]fosfano (11,5 mg, 0,021 mmoli), potassio fosfato tribasico (0,262 g, 1,23 mmoli) e acqua (0,2 ml). La miscela di reazione è stata riscaldata a 120°C con agitazione per 3 h sotto irraggiamento con microonde, poi filtrata attraverso una SPE di silice, eluendo con metanolo. Il solvente è stato rimosso e il residuo ripartito tra diclorometano (5 ml) e acqua (5 ml). Gli strati sono stati separati e quello acquoso estratto con altro diclorometano (2x 2,5 ml). Gli strati organici combinati sono stati concentrati sotto una corrente di azoto e il residuo disciolto in DMSO e alcune

gocce di diclorometano (3 ml) e purificato mediante MDAP (metodo A) in 3 iniezioni. Le frazioni appropriate sono state evaporate *sotto vuoto* per dare il composto del titolo come un solido marrone chiaro (0,105 g).

LCMS (Metodo A): Rt 0,93 minuti, MH⁺751.

Intermedio 11

2,4-Difluoro-N-[5-[4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1-(fenilsolfonil)-1H-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]benzensolfonammide

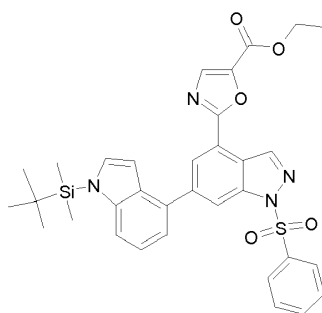


Ad una soluzione di 6-cloro-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1-(fenilsolfonil)-1H-indazolo (0,2 g, 0,40 mmoli) e 2,4-difluoro-N-[2-(metossi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-3-piridinil]benzensolfonammide (0,222 g, 0,52 mmoli) in 1,4-diossano (2 ml) è stato aggiunto cloro[2'-(dimetilammino)-2-bifenilil]palladio-1(1*R*,4*S*)-biciclo[2.2.1]ept-2-il[(1*S*,4*R*)-biciclo[2.2.1]ept-2-il]fosfano (11,2 g, 0,020 mmoli), potassio fosfato tribasico (0,255 g, 1,20 mmoli) e acqua (0,2 ml). La miscela di reazione è stata riscaldata a 120°C con agitazione per 3 h sotto irraggiamento con microonde poi filtrata attraverso una SPE di silice, eluendo con metanolo. Il solvente è stato rimosso *sotto vuoto* e il residuo ripartito tra diclorometano (5 ml) e acqua (5 ml). Gli strati sono stati separati e quello acquoso estratto con altro diclorometano (2x 2 ml). Gli strati organici combinati sono stati concentrati sotto una corrente di azoto e il residuo purificato usando cromatografia su gel di silice, eluendo con 0-25% metanolo in diclorometano. Le frazioni appropriate sono state evaporate *sotto vuoto* per dare il composto del titolo come un solido marrone (0,081 g).

LCMS (Metodo A): Rt 0,85 minuti, MH⁺764.

Intermedio 12

Etil 2-[6-{1-[(1,1-dimetiletil)(dimetil)silil]-1H-indol-4-il}-1-(fenilsolfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-ossazolo-5-carbossilato

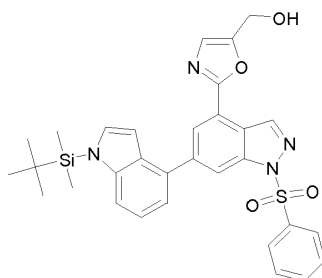


Ad una soluzione di etil 2-[6-cloro-1-(fenilsolfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-ossazolo-5-carbossilato (1,5 g, 3,47 mmoli) in 1,4-diossano (15 ml) e acqua (1,5 ml) è stato aggiunto acido {1-[(1,1-dimetiletil)(dimetil)silil]-1H-indol-4-il}boronico (1,243 g, 4,52 mmoli, disponibile da Combi-Blocks Inc.), cloro[2'-(dimetilammino)-2-bifenilil]palladio-1(1*R*,4*S*)-biciclo[2.2.1]ept-2-il[(1*S*,4*R*)-biciclo[2.2.1]ept-2-il]fosfano (0,097 g, 0,174 mmoli) e potassio fosfato tribasico (2,212 g, 10,42 mmoli). La miscela di reazione è stata riscaldata a 100°C per 3 h, il solvente rimosso *sotto vuoto* e il residuo ripartito tra diclorometano (20 ml) e acqua (10 ml). Soluzione satura di cloruro di sodio (100 ml) è stata aggiunta e la fase organica separata e seccata su solfato di sodio anidro. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su gel di silice, eluendo con un gradiente di cicloesano e etil acetato. Le frazioni desiderate sono state concentrate per dare il composto del titolo come un solido bianco (0,846 g), che secondo LCMS conteneva un poco di materiale di partenza non reagito.

LCMS (Metodo A): Rt 1,71 minuti, MH⁺627 (e Rt 1,39 min, MH⁺ 432 coerente con etil 2-[6-{1-[(1,1-dimetiletil)(dimetil)silil]-1H-indol-4-il}-1-(fenilsolfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-ossazolo-5-carbossilato).

Intermedio 13

{2-[6-{1-[(1,1-Dimetiletil)(dimetil)silil]-1H-indol-4-il}-1-(fenilsolfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-ossazol-5-il}metanolo

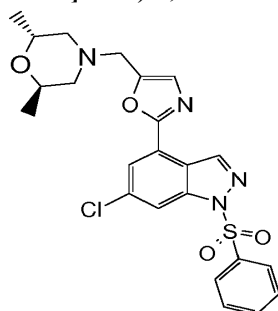


Ad una soluzione di etil 2-[6-{1-[(1,1-dimetiletil)(dimetil)silil]-1*H*-indol-4-il}-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazol-4-il]-1,3-ossazolo-5-carbossilato (contenente una impurezza coerente con etil 2-[6-cloro-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazol-4-il]-1,3-ossazolo-5-carbossilato)(0,84 g) in diclorometano (10 ml) a -20°C è stato aggiunto diisobutilalluminio idruro (2,68 ml, 2,68 mmoli, 1 M in esani). La miscela di reazione è stata agitata a -20°C per 2 h poi soluzione di cloruro d'ammonio al 10% (10 ml) aggiunta. La miscela è stata agitata per 5 min poi estratta con diclorometano (10 ml), gli strati separati (fritta idrofobica) e quello organico purificato mediante cromatografia su gel di silice, eluendo con un gradiente di cicloesano e etil acetato. Le frazioni desiderate sono state concentrate per dare il composto del titolo come un solido giallo chiaro (0,36 g), che secondo LCMS conteneva una impurezza coerente con 2-[6-cloro-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazol-4-il]-1,3-ossazol-5-il}metanolo.

LCMS (Metodo A): Rt 1,55 minuti, MH⁺ 585 (e Rt 1,11 minuti, MH⁺ 390 coerente con impurezza di {2-[6-cloro-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazol-4-il]-1,3-ossazol-5-il}metanolo).

Intermedio 14

6-Cloro-4-(5-[(2*R*,6*R*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-ossazol-2-il)-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazolo



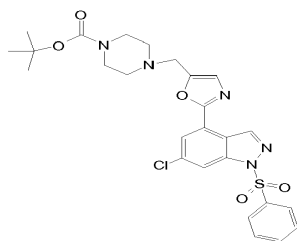
Ad una soluzione di 4-[5-(bromometil)-1,3-ossazol-2-il]-6-cloro-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazolo (750 mg, 1,657 mmoli) in diclorometano (50 mL) agitata all'aria a temperatura ambiente, è stata aggiunta 2,6-dimetilmorfolina assoluta (191 mg, 1,657 mmoli, disponibile da Aldrich come una miscela di isomeri). La miscela di reazione è stata agitata a 20 °C per 20 ore. Le sostanze volatili sono state rimosse usando un evaporatore rotante poi il materiale grezzo è stato pre-adsorbito su Fluorosil™ e purificato mediante cromatografia su colonna su silice (100g) usando un gradiente di 0-100% etil acetato-cicloesano in 60 minuti. Sono stati isolati due diastereomeri. Frazioni appropriate sono state combinate e evaporate sotto vuoto per dare il composto del titolo come un olio

giallo (226 mg).

¹H NMR confermava la struttura come isomero trans. ¹H NMR (400MHz, Cloroformio-d) δ (ppm) 8,92 (d, *J* = 1,0 Hz, 1 H), 8,32 (dd, *J* = 1,0, 1,5 Hz, 1 H), 8,04 - 8,00 (m, 2 H), 7,97 (d, *J* = 1,5 Hz, 1 H), 7,62 (tt, *J* = 1,5, 7,5 Hz, 1 H), 7,54 - 7,48 (m, 2 H), 7,13 (s, 1 H), 4,08 - 3,99 (m, *J* = 3,5, 6,0, 6,5, 6,5, 6,5 Hz, 2 H), 3,66 (d, *J* = 14,5 Hz, 1 H), 3,61 (d, *J* = 14,5 Hz, 1 H), 2,56 (dd, *J* = 3,0, 10,5 Hz, 2 H), 2,23 (dd, *J* = 6,0, 10,5 Hz, 2 H), 1,24 (d, *J* = 6,5 Hz, 6 H).

Intermedio 15

1,1-Dimetiletil 4-({2-[6-cloro-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazol-4-il]-1,3-ossazol-5-il} metil)-1-piperazin-carbossilato

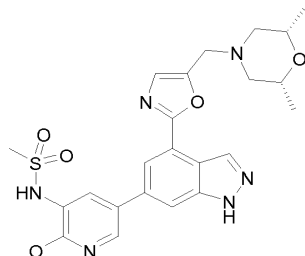


1,1-Dimetiletil 1-piperazincarbossilato (185 mg, 0,994 mmoli) è stato sciolto in 1ml di DCM e trietilammina (0,185 mL, 1,325 mmoli) è stata aggiunta a gocce. La miscela è stata agitata per 1 h, poi concentrata *sotto vuoto* per dare un solido giallo. Questo è stato sciolto in acqua/DCM (1:1, 50ml) e la fase organica è stata raccolta poi concentrata *sotto vuoto* per dare il composto del titolo come una gomma gialla (347mg).

LCMS (Metodo A) Rt 1,16 min (insufficiente ionizzazione, (M+MeCN)⁺ 599 osservata).

Esempio 1

N-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-Dimetil-4-morfolinil} metil)-1,3-ossazol-2-il]-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide



Metodo A

Ad una soluzione di 6-cloro-4-(5-{{(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil}metil}-1,3-ossazol-2-il)-1-(fenilsolfonil)-1H-indazolo (0,20 g, 0,411 mmoli) e N-[2-(metossi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-3-piridil]metansolfonammide (0,175 g, 0,534 mmoli) in 1,4-diossano (2 ml) è stato aggiunto cloro[2'-(dimetilammino)-2-bifenilil]palladio-1(1R,4S)-biciclo[2.2.1]ept-2-il[(1S,4R)-biciclo[2.2.1]ept-2-il]fosfano (11,5 mg, 0,021 mmoli), potassio fosfato tribasico (0,262 g, 1,23 mmoli) e acqua (0,2 ml). La miscela di reazione è stata riscaldata e agitata a 120°C sotto irraggiamento con microonde per 1 h. Si è aggiunto altro cloro[2'-(dimetilammino)-2-bifenilil]palladio-1(1R,4S)-biciclo[2.2.1]ept-2-il[(1S,4R)-biciclo[2.2.1]ept-2-il]fosfano (11,5 mg, 0,021 mmoli) e potassio fosfato tribasico (80 mg) e la reazione riscaldata a 120°C sotto irraggiamento con microonde per 1 h. Altro potassio fosfato tribasico (80 mg) è stato aggiunto e la reazione riscaldata nelle stesse condizioni per ancora 1 h. La miscela di reazione è stata filtrata attraverso una SPE di silice e eluita con metanolo. Il solvente è stato rimosso *sotto vuoto* e il residuo ripartito tra diclorometano (5 ml) e acqua (5 ml). Gli strati sono stati separati e quello acquoso estratto con altro diclorometano (2x 2 ml). Gli strati organici combinati sono stati concentrati sotto una corrente di azoto e il residuo disciolto in MeOH:DMSO (3ml, 1:1, v/v) e purificato mediante MDAP (metodo A) in 3 iniezioni. Le frazioni appropriate sono state combinate e concentrate per dare un solido bianco che è stato sciolto in MeOH:DMSO (1ml, 1:1, v/v) e inoltre purificato mediante MDAP (metodo B). Le frazioni appropriate sono state basificate a pH 6 con soluzione satura di bicarbonato di sodio ed estratte con etil acetato (2x 25 ml). Gli strati organici combinati sono stati seccati e evaporati *sotto vuoto* per dare un solido bianco che è stato inoltre seccato sotto azoto a 40°C per 3 h per dare il composto del titolo come un solido bianco (26 mg).

LCMS (Metodo A): Rt 0,53 minuti, MH⁺513.

Metodo B

N-[2-(Metilossi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-3-piridinil]metansolfonammide (101 g, 308 mmoli), 6-cloro-4-(5-{{(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil}metil}-1,3-ossazol-2-il)-1-(fenilsolfonil)-1H-indazolo (83,3 g, 154 mmoli) e bicarbonato di sodio (38,8 g, 462 mmoli) sono stati sospesi in 1,4-diossano (1840 ml) e

acqua (460 ml) sotto azoto e riscaldati a 80°C. Cloro[2'-(dimetilammino)-2-bifenilil]palladio-1(1*R*,4*S*)-bicyclo[2.2.1]ept-2-il[(1*S*,4*R*)-bicyclo[2.2.1]ept-2-il]fosfano (8,63 g, 15,40 mmoli) è stato aggiunto e la miscela agitata durante la notte a 80°C.

La miscela di reazione è stata raffreddata a 45°C, idrossido di sodio 2M aq, (770 ml, 1540 mmoli) aggiunto e la reazione riscaldata a 45 °C per 4 ore. La miscela è stata raffreddata a RT e diluita con acqua (610 mL). Diclorometano (920 mL) è stato aggiunto, e la miscela è stata filtrata due volte attraverso Celite (lavata con 200 mL 1,4-diossano/DCM 2:1 ogni volta). Le fasi sono state separate, e quella acquosa lavata con 1,4-diossano/DCM 2:1 (500 mL). La fase acquosa è stata neutralizzata con acido cloridrico a pH 7 ed estratta con 1,4-diossano/DCM 2:1 (1 L), poi 1,4 diossano/DCM 1:1 (2x500 mL). Gli strati organici sono stati lavati con salamoia (500 mL), e filtrati attraverso Celite (lavata con 200 mL 1,4 diossano/DCM 2:1), e evaporati per dare un solido nero scuro, che è stato purificato in 4 lotti:

Lotto 1: 28g sono stati sciolti in Toluene/Etanolo/Ammoniaca 80:20:2 (100 mL) e purificato mediante cromatografia su colonna (colonna di silice da 1,5 kg), eluendo con Toluene/Etanolo/Ammoniaca 80:20:2 per dare il composto del titolo come un solido biancastro (14,78 g).

Lotto 2: 30g sono stati sciolti in metanolo e mescolato con Fluorisil. Il solvente è stato poi rimosso mediante evaporazione e il solido purificato mediante cromatografia su colonna (colonna di silice da 1,5 kg, modulo di iniezione per campione solido), eluendo con Toluene/Etanolo/Ammoniaca 80:20:2 per dare il composto del titolo come un solido biancastro (9,44 g).

Lotto 3: 31g sono stati sciolti in Toluene/Etanolo/Ammoniaca 80:20:2 (100 mL) e purificati mediante cromatografia su colonna (colonna di silice da 1,5 kg), eluendo con Toluene/Etanolo/Ammoniaca 80:20:2 per dare il composto del titolo come un solido biancastro (17 g).

Lotto 4: 29g sono stati sciolti in Toluene/Etanolo/Ammoniaca 80:20:2 (100 mL) e purificati mediante cromatografia su colonna (colonna di silice da 1,5 kg), eluendo con Toluene/Etanolo/Ammoniaca 80:20:2 per dare il composto del titolo come un solido biancastro (21 g).

Le frazioni mescolate dalle 4 colonne sono state combinate e evaporate per dare 19 g che sono stati sciolti in 200

mL di Toluene/Etano/Ammoniac 80:20:2 (+ altri 4ml di 0,88 NH₃ per aiutare la solubilità) poi purificati mediante cromatografia su colonna (colonna di silice da 1,5 kg), eluendo con Toluene/Etano/Ammoniac 80:20:2 per dare il composto del titolo come un solido biancastro (6,1 g).

Tutti i lotti puri sono stati combinati (68 g) e ricristallizzati da etano/ (1200 mL). La sospensione è stata riscaldata a riflusso e si formava una soluzione. La risultante soluzione è stata poi raffreddata a temperatura ambiente durante la notte. Il risultante solido è stato poi raccolto per filtrazione, lavato appena con etano/ e seccato sotto vuoto per dare il composto del titolo come un solido biancastro (56 g). Questo materiale è stato ricristallizzato nuovamente da etano/ (1100 mL). La sospensione è stata riscaldata a riflusso e si formava una soluzione. La risultante soluzione è stata poi raffreddata a temperatura ambiente durante la notte con agitazione. Il risultante solido è stato raccolto per filtrazione e lavato appena con etano/. Il solido è stato seccato sotto vuoto a 60°C per 5 ore per dare il composto del titolo come un solido biancastro (45,51 g).

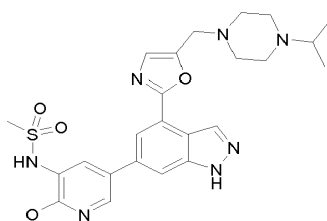
LCMS (Metodo A): Rt 0,61 minuti, MH⁺ 513.

Il filtrato dalle due ricristallizzazioni è stato evaporato per dare ~23 g di un residuo solido che è stato sciolto in 200 mL di Toluene/Etano/Ammoniac 80:20:2 (+ altri 4ml di 0,88 NH₃ per aiutare la solubilità) poi purificato mediante cromatografia su colonna (colonna di silice da 1,5 kg), eluendo con Toluene/Etano/Ammoniac 80:20:2 per dare un'altra raccolta del composto del titolo come un solido biancastro (18,5 g). Questo solido è stato poi ricristallizzato da etano/ (370 mL). La sospensione è stata riscaldata a riflusso poi la risultante soluzione agitata per 20 minuti prima di essere lasciata raffreddare a temperatura ambiente naturalmente durante la notte. Il solido è stato poi seccato sotto vuoto a 65°C durante la notte per dare il composto del titolo come un solido biancastro (11,90 g).

LCMS (Metodo A): Rt 0,62 minuti, MH⁺ 513.

Esempio 2

***N*-[5-[4-(5-{[4-(1-Metiletil)-1-piperazinil]metil)-1,3-ossazol-2-il]-1H-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide**

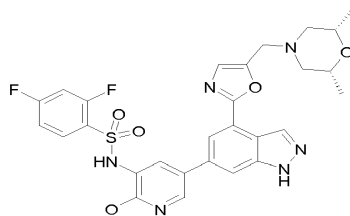


Ad una soluzione di 6-cloro-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazolo (200 mg, 0,400 mmoli) e *N*-[2-(metossi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-3-piridinil]metansolfonammide (171 mg, 0,520 mmoli) in 1,4-diossano (2 ml) è stato aggiunto cloro[2'-(dimetilammino)-2-bifenilil]palladio-1(1*R*,4*S*)-biciclo[2.2.1]ept-2-il[(1*S*,4*R*)-biciclo[2.2.1]ept-2-il]fosfano (11,2 mg, 0,020 mmoli), potassio fosfato tribasico (255 mg, 1,20 mmoli) e acqua (0,2 ml). La miscela di reazione è stata riscaldata e agitata a 120°C sotto irraggiamento con microonde per 3 h. La miscela di reazione è stata filtrata attraverso una SPE di silice e eluita con metanolo. Il solvente è stato rimosso *sotto vuoto* e il residuo ripartito tra diclorometano (5 ml) e acqua (5 ml). Gli strati sono stati separati e quello acquoso estratto con altro diclorometano (2x 2 ml). Gli strati organici combinati sono stati concentrati sotto una corrente di azoto e il residuo disciolto in MeOH:DMSO (2ml, 1:1, v/v) e purificato mediante MDAP (metodo A) in 2 iniezioni. Le frazioni appropriate sono state combinate e concentrate e il residuo disciolto in MeOH:DMSO (1 ml, 1:1, v/v) e inoltre purificato mediante MDAP (metodo B). Le frazioni appropriate sono state basificate a pH 7 con soluzione satura di bicarbonato di sodio ed estratte con diclorometano (2x 20 ml). Gli strati organici combinati sono stati seccati (fritta idrofobica) e concentrati per dare il composto del titolo come un solido bianco (22 mg).

LCMS (Metodo A): Rt 0,51 minuti, MH^+ 526.

Esempio 3

***N*-[5-[4-(5-{[(2*R*,6*S*)-2,6-Dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]-2,4-difluorobenzensolfonammide**

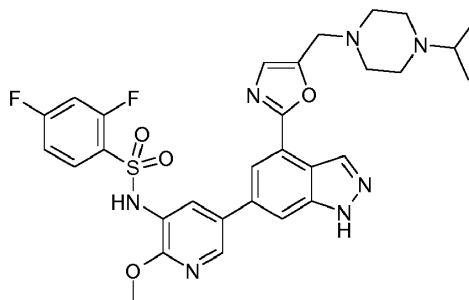


N-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil}metil}-1,3-ossazol-2-il)-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]-2,4-difluorobenzosulfonammide (105 mg, 0,140 mmoli) è stata sospesa in isopropanolo (2 ml) e 2M idrossido di sodio (aq) (0,699 ml, 1,399 mmoli) aggiunto. La miscela di reazione è stata agitata a RT per 2 h, il solvente rimosso sotto una corrente di azoto e il residuo disciolto in acqua (1 ml) e acidificato a pH 6 mediante aggiunta di 2M cloruro di idrogeno (aq) (si formava un precipitato nero). La sospensione è stata estratta con diclorometano (3x 2 ml) e gli strati organici combinati seccati per dare un solido marrone. Questo è stato combinato con il precipitato nero che rimaneva insolubile nell'estrazione, disciolto in MeOH:DMSO (1 ml, 1:1, v/v) e purificato mediante MDAP (metodo A). Le frazioni appropriate sono state concentrate *sotto vuoto* per dare il composto del titolo come un solido bianco (20 mg).

LCMS (Metodo A): Rt 0,69 minuti, MH⁺611.

Esempio 4

2,4-Difluoro-*N*-[5-[4-(5-{{4-(1-metiletil)-1-piperazinil}metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]benzosulfonammide



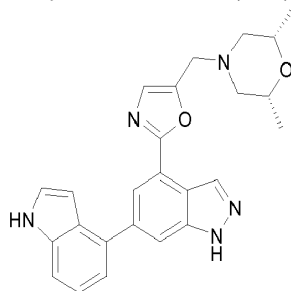
2,4-Difluoro-*N*-[5-[4-(5-{{4-(1-metiletil)-1-piperazinil}metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]benzosulfonammide (81 mg, 0,106 mmoli) è stata sospesa in isopropanolo (2 ml) e 2M idrossido di sodio (aq) (0,53 ml, 1,060 mmoli) è stato aggiunto. La miscela di reazione è stata agitata a RT per 2 h, il solvente rimosso e il residuo disciolto in acqua (1 ml) e acidificato a pH 6 mediante aggiunta di 2M cloruro di idrogeno (aq). La risultante sospensione è stata estratta con diclorometano (3x 2 ml), lo strato organico separato (fritta idrofobica) e concentrato *sotto vuoto* per dare un solido marrone che è stato disciolto in MeOH:DMSO (1ml, 1:1, v/v) e purificato mediante MDAP (metodo A). Le frazioni appropriate sono state

concentrate *sotto vuoto* per dare il composto del titolo come un solido bianco (45 mg).

LCMS (Metodo A): Rt 0,65 minuti, MH⁺ 624.

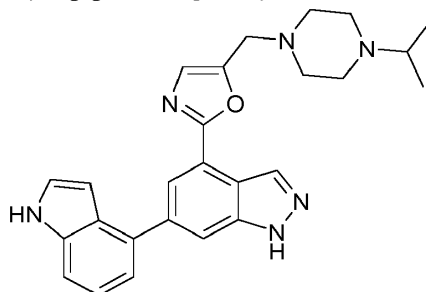
Esempio 5

4-(5-{{(2R,6S)-2,6-Dimetil-4-morfolinil}metil}-1,3-ossazol-2-il)-6-(1H-indol-4-il)-1H-indazolo



Ad una soluzione di 6-cloro-4-(5-{{(2R,6S)-2,6-dimetil-4-morfolinil}metil}-1,3-ossazol-2-il)-1-(fenilsolfonil)-1H-indazolo (50 mg, 0,103 mmoli) in 1,4-diossano (1,5 ml) e acqua (0,15 ml) è stato aggiunto acido {1-[1,1-dimetiletil](dimetil)silil}-1H-indol-4-il}boronico (37 mg, 0,133 mmoli), cloro[2'-(dimetilammino)-2-bifenilil]palladio-(1R,4S)-biciclo[2.2.1]ept-2-il[(1S,4R)-biciclo[2.2.1]ept-2-il]fosfano (5,75 mg, 10,27 μmoli) e potassio fosfato tribasico (65 mg, 0,308 mmoli). La miscela di reazione è stata riscaldata sotto irraggiamento con microonde a 100°C per 40 min. Il solvente è stato rimosso e il residuo disciolto in 10% metanolo in diclorometano (2 ml) e purificato mediante cromatografia su gel di silice, eluendo con un gradiente di cicloesano e etil acetato. Le frazioni appropriate sono state concentrate per dare una gomma marrone che è stata trattata direttamente con tetra-*n*-butilammonio fluoruro (0,2 ml, 0,2 mmoli, 1M in tetraidrofurano) e lasciata riposare a 20°C per 18 h. Il solvente è stato rimosso e il residuo disciolto in 1,4-diossano (1 ml) e trattato con 2M idrossido di sodio (1 ml) e lasciato riposare a 20°C per 48 h. Il solvente è stato rimosso e il residuo triturato con 10% metanolo in diclorometano poi purificato mediante cromatografia su gel di silice, eluendo con un gradiente di diclorometano e metanolo per dare un solido marrone chiaro che è stato inoltre purificato mediante SCX SPE (1 g), eluendo con 0,5M ammoniaca in 1,4-diossano. Il solvente è stato rimosso e il residuo inoltre purificato mediante MDAP per dare il composto del titolo come un solido bianco (14 mg).

LCMS (Metodo A): Rt 0,70 minuti, MH⁺ 428.

Esempio 6**6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo**Metodo A

6-Cloro-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazolo (97 mg, 0,194 mmoli), 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-1*H*-indolo (61,3 mg, 0,252 mmoli, disponibile da Frontier Scientific Europe), cloro[2'-(dimetilammino)-2-bifenilil]palladio-(1*R*,4*S*)-biciclo[2.2.1]ept-2-il[(1*S*,4*R*)-biciclo[2.2.1]ept-2-il]fosfano (10,87 mg, 0,019 mmoli) e potassio fosfato tribasico (124 mg, 0,582 mmoli) sono stati sciolti in 1,4-diossano (1 ml) e acqua (0,1 ml) e riscaldati in un dispositivo a microonde Biotage Initiator a 100°C per 30 min. Si è aggiunto altro 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-1*H*-indolo (61,3 mg, 0,252 mmoli) e cloro[2'-(dimetilammino)-2-bifenilil]palladio-(1*R*,4*S*)-biciclo[2.2.1]ept-2-il[(1*S*,4*R*)-biciclo[2.2.1]ept-2-il]fosfano (5 mg) e la reazione riscaldata a 110°C per 30 min, poi 140°C per 30 min. Il solvente è stato rimosso *sotto vuoto* e il residuo purificato mediante cromatografia su gel di silice, eluendo con 0-25% metanolo in diclorometano. Le frazioni appropriate sono state combinate e concentrate per dare un solido marrone che è stato sciolto in MeOH:DMSO (1ml, 1:1, v/v) e purificato mediante MDAP (metodo A). Le frazioni appropriate sono state concentrate *sotto vuoto* per dare il composto del titolo come un solido bianco (30 mg).

LCMS (Metodo A): Rt 0,57 minuti, MH⁺ 441.

Metodo B

6-Cloro-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazolo (75,17 g, 150 mmoli), 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-1*H*-indolo (73,1 g, 301 mmoli), bicarbonato di sodio (37,9 g, 451 mmoli), e cloro[2'-(dimetilammino)-2-bifenilil]palladio-(1*R*,4*S*)-biciclo[2.2.1]ept-2-il[(1*S*,4*R*)-

biciclo[2.2.1]ept-2-il]fosfano (8,43 g, 15,03 mmoli) sono stati sospesi in 1,4-diossano spurgato con azoto (1200 mL) e acqua (300 mL). Il recipiente di reazione è stato posto sotto vuoto e azoto alternativamente cinque volte con agitazione dall'alto, poi infine posto sotto un'atmosfera di azoto e riscaldato a 120°C per 2,5 h.

La miscela di reazione è stata raffreddata a 45°C e poi trattata con 2M idrossido di sodio acquoso (376 mL, 752 mmoli). Dopo aver agitato a 45°C durante la notte (13h), la miscela è stata raffreddata a RT e DCM (600 ml) e acqua (400 ml) sono stati aggiunti. Gli strati sono stati separati e quello acquoso ri-estratto con DCM:1,4-diossano (1:1). Salamoia è stata aggiunta e la miscela filtrata attraverso Celite, lavando con DCM:1,4-diossano (1:1). Gli strati sono stati separati e 2M HCl (1000 ml) aggiunto a quello organico. La miscela è stata nuovamente filtrata attraverso Celite lavando con 500 ml 2M HCl mantenendo i lavaggi separati. Gli strati filtrati sono stati poi separati e lo strato organico è stato lavato con i lavaggi acidi dal Celite. Gli strati sono stati separati e quelli acquosi acidi combinati. Questo è stato poi retro-lavato con 2x500 ml di DCM; ogni lavaggio richiedeva una filtrazione su Celite. Lo strato acquoso acido è stato poi sottoposto ad una filtrazione finale attraverso Celite lavando il pannello di Celite con 150 ml di 2M HCl.

Lo strato acquoso acido è stato trasferito ad un beaker (5000 ml) e con agitazione vigorosa 2M NaOH è stato aggiunto per rendere basica la miscela a pH 10-11. La miscela è stata poi estratta usando 1,4-diossano:DCM (1:1) (5 x 500 ml). Gli strati organici combinati sono stati lavati con salamoia, seccati su solfato di magnesio, filtrati e evaporati per dare una schiuma marrone scura che è stata seccata *sotto vuoto* a 50°C durante la notte.

Questo materiale è stato separato in tre lotti e ognuno è stato purificato mediante cromatografia su colonna in fase inversa (3x colonna da 1,9 kg C18), caricando in DMF/TFA (1:1, 30 ml) poi eluendo con 3-40% MeCN in Acqua + 0,25% TFA (Note: colonne 2 & 3 usavano un gradiente differente partendo con 10% MeCN).

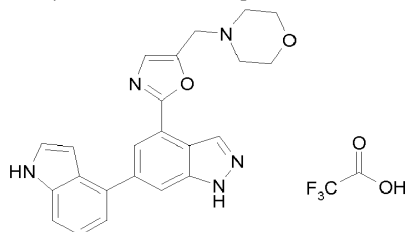
Frazioni appropriate sono state combinate, l'acetonitrile rimosso *sotto vuoto* e lo strato acquoso acido basificato a pH 10 per aggiunta di soluzione acquosa satura di carbonato di sodio alla soluzione agitata. Il risultante solido è stato raccolto per filtrazione, lavato con acqua poi seccato *sotto vuoto* a 65°C durante la notte per dare il composto del titolo (28,82 g) come una schiuma marrone chiara.

LCMS (Metodo A): Rt 0,68 minuti, MH⁺ 441.

^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 13,41 (s largo, 1 H), 11,35 (s largo, 1 H), 8,59 (s largo, 1 H), 8,07 (d, J = 1,5 Hz, 1 H), 7,90 (s largo, 1 H), 7,51 - 7,44 (m, 2 H), 7,32 (s, 1 H), 7,27 - 7,21 (m, 2 H), 6,61 - 6,58 (m, 1 H), 3,73 (s largo, 2 H), 2,64 - 2,36 (m, 9 H), 0,97 - 0,90 (m, 6 H)

Esempio 7

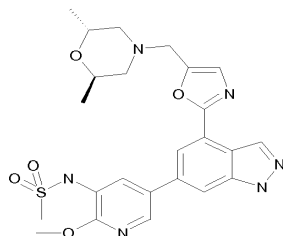
6-(1*H*-indol-4-il)-4-[5-(4-morfolinilmetil)-1,3-ossazol-2-il]-1*H*-indazolo trifluoroacetato



Ad una soluzione di {2-[6-{1-[(1,1-dimetiletil)(dimetil)silil]-1*H*-indol-4-il}-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazol-4-il]-1,3-ossazol-5-il}metanolo (contenente una impurezza coerente con 2-[6-cloro-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazol-4-il]-1,3-ossazol-5-il}metanolo) (350 mg) in diclorometano (10 ml) è stato aggiunto tetrabromuro di carbonio (397 mg, 1,197 mmoli). La miscela di reazione è stata raffreddata a 0°C e trifenilfosfina (314 mg, 1,197 mmoli) come una soluzione in diclorometano (2 ml) è stata aggiunta a gocce. La miscela di reazione è stata lasciata riscaldare a RT poi il solvente parzialmente rimosso e la soluzione purificata direttamente mediante cromatografia su gel di silice, eluendo con un gradiente di diclorometano e etil acetato. Le frazioni desiderate sono state concentrate per dare un solido marrone (37 mg).

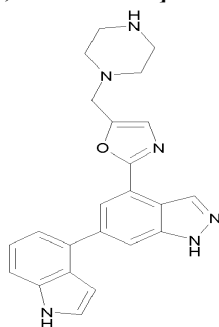
Ad una soluzione del solido (30 mg, 0,056 mmoli) in diclorometano (5 ml) è stata aggiunta morfolina (9,8 mg, 0,112 mmoli) e la miscela agitata a 20°C per 18 h. Il solvente è stato rimosso e il residuo disciolto in 1,4-diossano (2 ml) e soluzione 2M di idrossido di sodio (1 ml, 2,0 mmoli) aggiunta. La miscela di reazione è stata agitata a 20°C per 18 h poi il solvente rimosso e il residuo triturato con 10% metanolo in diclorometano (1 ml) e purificato mediante cromatografia su gel di silice, eluendo con un gradiente di diclorometano e diclorometano + 1% ammoniaca in metanolo. Le frazioni desiderate sono state concentrate e purificate mediante MDAP per dare il composto del titolo come un solido marrone (3 mg).

LCMS (Metodo A): Rt 0,65 minuti, MH^+ 400.

Esempio 8***N*-[5-[4-(5-{{(2*R*,6*R*)-2,6-Dimetil-4-morfolinil}metil)-1,3-ossazol-2-il]-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide**

Ad una soluzione di 6-cloro-4-(5-{{(2*R*,6*R*)-2,6-dimetil-4-morfolinil}metil}-1,3-ossazol-2-il)-1-(fenilsolfonil)-1*H*-indazolo (109,5 mg, 0,225 mmoli), *N*-[2-(metilossi)-5-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-3-piridinil]metansolfonammide (148 mg, 0,450 mmoli) e bicarbonato di sodio (56,7 mg, 0,675 mmoli) in 1,4-diossano (5 mL) e acqua (1,5mL) agitata all'aria a temperatura ambiente è stato aggiunto catalizzatore solido Solvias (12,60 mg, 0,022 mmoli). La miscela di reazione è stata agitata a 120 °C per 2 ore. Dopo questo tempo, è stata aggiunta soluzione di idrossido di sodio (2*N*, 0,5 mL) e la miscela di reazione lasciata agitare a temperatura ambiente per due ore. Dopo raffreddamento, la miscela di reazione è stata fatta passare attraverso una cartuccia di Celite (10g) e lavata con etil acetato. La risultante soluzione è stata evaporata e il residuo grezzo purificato mediante MDAP (Metodo C). Frazioni appropriate sono state combinate e concentrate *sotto vuoto* per dare il composto del titolo (43 mg).

LCMS (Metodo A) Rt 0,63 minuti, MH⁺ 513.

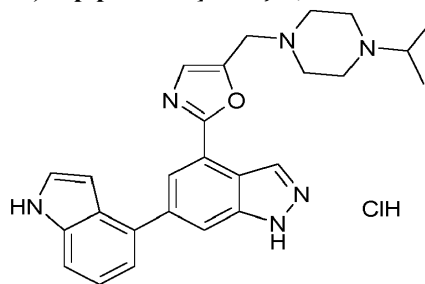
Esempio 9**6-(1*H*-Indol-4-il)-4-[5-(1-piperazinilmetil)-1,3-ossazol-2-il]-1*H*-indazolo**

1,1-Dimetiletil 4-({2-[6-cloro-1-(fenilsolfonil)-1H-indazol-4-il]-1,3-ossazol-5-il}metil)-1-piperazincarbossilato (303mg, 0,543 mmoli), 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-1H-indolo (172 mg, 0,706 mmoli, disponibile da Frontier Scientific), cloro[2'-(dimetilammino)-2-bifenilil]palladio-(1*R*,4*S*)-biciclo[2.2.1]ept-2-il[(1*S*,4*R*)-biciclo[2.2.1]ept-2-il]fosfano (1:1) (30 mg, 0,054 mmoli, disponibile da Fluka) e tripotassio fosfato (346 mg, 1,629 mmoli) sono stati sciolti in 1,4-Diossano (10 mL) e acqua (2,5 mL). Il recipiente di reazione è stato sigillato e riscaldato in dispositivo a microonde Biotage Initiator a 150 °C per 30 min. 2M NaOH acquoso (5 ml) è stato poi aggiunto e la miscela agitata per 2 ore. È stata aggiunta un'altra porzione di 2M NaOH acquoso (3ml) e l'agitazione proseguita fino a quando la deprotezione appariva completa secondo analisi LCMS. DCM è stato poi aggiunto e la miscela è stata fatta passare attraverso un separatore di fasi. La fase organica è stata raccolta. La fase acquosa è stata retro-estratta con DCM poi le fasi organiche sono state combinate e evaporate per dare un olio marrone. Questo è stato sciolto in 5ml di 4M HCl in 1,4 diossano e lasciato agitare. La miscela è stata concentrata *sotto vuoto* e il risultante solido ripartito tra DCM e 2M HCl acquoso. La fase acquosa è stata basificata con 2M NaOH acquoso, poi lavata con DCM. La fase organica è stata concentrata *sotto vuoto*, poi il residuo disciolto in 2ml DMSO/MeOH (1:1) e purificato mediante MDAP (Metodo A). Combinando le frazioni appropriate e concentrando mediante spurgo sotto azoto a 40°C, si otteneva il composto del titolo (43mg).

LCMS (Metodo A) Rt 0,62 minuti, MH⁺ 399.

Esempio 10

6-(1*H*-Indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo cloridrato



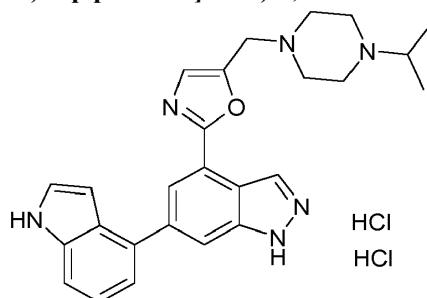
Una soluzione di 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo in tetraidrofurano (THF) (7,5 mL) è stata riscaldata a 60°C sotto azoto. Acido cloridrico 2M in etere dietilico

(0,567 mL, 1,135 mmoli) e tetraidrofurano (THF) (0,5 mL) sono stati mescolati e aggiunti tramite imbuto per aggiunte. La soluzione è stata agitata a 60°C per 30 minuti prima di essere lentamente raffreddata a RT. Dopo aver agitato a RT per altri 30 minuti il solido è stato filtrato, poi ricombinato con i liquidi e evaporato ad essiccazione. THF (10 mL) è stato aggiunto e l'impasto liquido è stato sottoposto a cicli da RT a riflusso 3 volte (30 minuti di attesa a temperatura superiore/inferiore). La sospensione è stata agitata a RT per un'ora poi filtrata sotto vuoto e il risultante solido seccato in una stufa da vuoto a 50°C durante la notte per dare il composto del titolo come un solido biancastro (322 mg).

LCMS (Metodo A): Rt 0,66 minuti, MH^+ 441, 1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 13,53 (s, 1 H), 11,44 (s largo, 1 H), 10,20 (s largo, 1 H), 8,61 (s, 1 H), 8,08 (s, 1 H), 7,92 (s, 1 H), 7,52 - 7,46 (m, 2 H), 7,41 (s, 1 H), 7,28 - 7,19 (m, 2 H), 6,60 (s largo, 1 H), 3,87 (s, 2 H), 3,41 - 3,32 (m, 3 H⁺, coperto da H₂O), 3,10 - 2,93 (m, 4 H), 2,71 - 2,58 (m, 2 H), 1,23 (d, J = 6,5 Hz, 6 H).

Esempio 11

6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-([4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil)-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo dicloridrato



6-(1*H*-Indol-4-il)-4-(5-([4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil)-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo (19,4 mg, 0,044 mmoli) è stato sciolto in tetraidrofurano (THF) (0,5 ml) e 4M HCl in diossano (0,022 ml, 0,088 mmoli) aggiunto. La miscela è stata agitata a RT per 2 h, poi il precipitato color crema formato è stato filtrato e seccato in una stufa da vuoto durante la notte per dare il composto del titolo come un solido beige (15,5 mg).

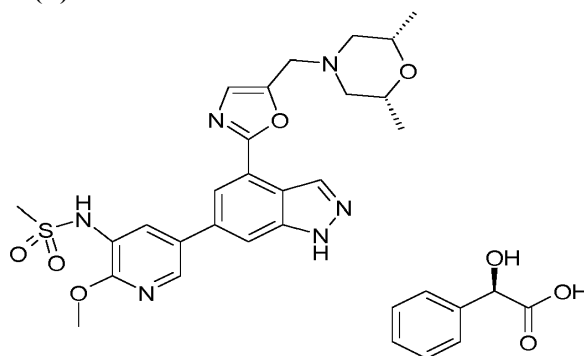
LCMS (Metodo A): Rt 0,65 minuti, MH^+ 441.

1H NMR (600MHz, DMSO- d_6) δ = 13,47 (s largo, 1 H), 11,38 (s largo, 1 H), 10,17 (s largo, 1 H), 8,66 (s, 1 H), 8,13 (s, 1 H), 7,93 (s, 1 H), 7,51 (s largo, 1 H), 7,49 (dt, J = 1,0, 7,5 Hz, 1 H), 7,47 (t, J = 3,0 Hz, 1 H), 7,25 (t, J

= 7,0 Hz, 1 H), 7,23 (dd, $J = 1,5, 7,0$ Hz, 1 H), 6,60 (ddd, $J = 1,0, 2,0, 3,0$ Hz, 1 H), 4,17 (s largo, 2 H), 3,50 - 3,39 (m, 3 H), 3,35 - 3,25 (m, 2 H), 3,22 - 3,11 (m, 2 H), 2,99 - 2,76 (m, 2 H), 1,24 (d, $J = 6,5$ Hz, 6 H).

Esempio 12

***N*-[5-[4-(5-{{[(2*R*,6*S*)-2,6-Dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide (*R*)-mandelato**



Metodo A

N-[5-[4-(5-{{[(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide (113 mg, 0,220 mmoli) è stata sospesa in acqua (18 ml) e acido (*R*)-mandelico (soluzione 0,33M in acqua, 735 μ l, 0,242 mmoli) è stato aggiunto. La miscela è stata agitata a RT durante la notte poi concentrata e seccata in una stufa da vuoto a 50°C durante la notte per dare il composto del titolo come un solido bianco (133 mg).

LCMS (Metodo A): Rt 0,60 minuti, MH+ 513.

^1H NMR (400MHz, DMSO- d_6) δ = 13,53 (s largo, 1 H), 9,43 (s, 1 H), 8,58 (s, 1 H), 8,43 (d, $J = 2,5$ Hz, 1 H), 7,99 (d, $J = 2,5$ Hz, 1 H), 7,93 (d, $J = 1,5$ Hz, 1 H), 7,89 (s, 1 H), 7,36 (s, 1 H), 7,43 - 7,24 (m, 5 H), 5,01 (s, 1 H), 3,99 (s, 3 H), 3,75 (s, 2 H), 3,63 - 3,52 (m, 2 H), 3,11 (s, 3 H), 2,81 (d, $J = 10,5$ Hz, 2 H), 1,78 (t, $J = 10,5$ Hz, 2 H), 1,04 (d, $J = 6,5$ Hz, 6 H).

Nota - mandelato presente solo ad un rapporto molare di 0,8.

Metodo B

N-[5-[4-(5-{{[(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-

piridinil]metansolfonammide (3,17 mg) è stata sospesa in 5% destrosio/acqua (3 ml). Si è aggiunta una soluzione acquosa di 100 mg/ml di acido (R)-mandelico (10 μ l) e la miscela agitata per 45 min per dare il composto del titolo come una soluzione limpida.

ESPERIMENTI SU POLIMORFISMO

Esempio 10

Diffrazione di raggi X da polveri (XRPD)

I dati sono stati acquisiti su un diffrattometro per polveri PANalytical X'Pert Pro, modello PW3040/60, numero di serie DI1850 usando un rivelatore X'Celerator. Le condizioni di acquisizione erano: radiazione: Cu $K\alpha$, tensione al generatore: 40 kV, corrente del generatore: 45 mA, angolo di inizio: 2,0 $^{\circ}2\theta$, angolo finale: 40,0 $^{\circ}2\theta$, dimensione del gradino: 0,0167 $^{\circ}2\theta$, tempo per gradino: 31,75 secondi. Il campione è stato preparato montando pochi milligrammi di campione su lastrine di *wafers* di Si (sfondo zero), risultando in uno strato sottile di polvere.

I dati di diffrazione di raggi X da polveri (XRPD) sono mostrati in Figura 1.

Picchi caratteristici per la forma allo stato solido sono riassunti in Tabella 1 con distanze reticolari calcolate. Le posizioni dei picchi sono state misurate usando il software Highscore.

$2\theta / ^{\circ}$	d-spazio / Å
5,2	17,0
10,3	8,6
12,8	6,9
14,8	6,0
15,1	5,9
15,6	5,7
16,8	5,3
17,2	5,2

2 θ / °	d-spazio / Å
18,3	4,9
19,6	4,5
20,9	4,2
21,3	4,2
21,7	4,1
23,2	3,8
24,0	3,7
24,9	3,6
26,0	3,4
27,1	3,3
27,5	3,2
28,2	3,2
28,5	3,1

Tabella 1

Esempio 1

Diffrazione di raggi X da polveri (XRPD)

I dati sono stati acquisiti usando un metodo simile a quello descritto sopra.

I dati di diffrazione di raggi X da polveri (XRPD) sono mostrati in Figura 2.

Picchi caratteristici per la forma allo stato solido sono riassunti in Tabella 2 con distanze reticolari calcolate. Le posizioni dei picchi sono state misurate usando il software Highscore.

$2\theta / ^\circ$	d-spazio / Å
4,5	19,8
6,3	13,9
7,8	11,3
8,8	10,1
9,9	8,9
10,4	8,5
10,7	8,3
11,3	7,8
11,7	7,5
12,2	7,3
12,9	6,9
14,0	6,3
14,5	6,1
15,2	5,8
15,4	5,7
16,1	5,5
16,5	5,4
16,8	5,3
17,7	5,0
17,9	5,0

2 θ / °	d-spazio / Å
18,5	4,8
19,0	4,7
20,7	4,3
21,4	4,1
22,4	4,0
22,6	3,9
23,4	3,8
23,7	3,8
24,9	3,6
25,4	3,5
25,7	3,5

Tabella 2

DATI BIOLOGICI

Saggi di PI3K Alfa, Beta, Delta e Gamma

Principio del saggio

La lettura del saggio sfrutta il legame specifico e ad alta affinità di PIP3 ad un dominio di omologia di pleckstrina (PH) isolato nella generazione di un segnale. In breve, il prodotto PIP3 viene rivelato dallo spostamento di PIP3 biotinilato da un complesso a trasferimento di energia costituito da anticorpo monoclonale anti-GST marcato con europio (Eu), un dominio PH marcato con GST, biotina-PIP3 e Streptavidina-APC. Eccitazione di Eu porta ad un trasferimento di energia ad APC e una emissione di fluorescenza sensibilizzata a 665nm. PIP3 formato da attività di PI3-chinasi compete per il sito di legame del dominio PH, risultante in una perdita di trasferimento di energia e una diminuzione del segnale.

Protocollo del saggio

Composti solidi vengono tipicamente piastrati con 0,1 µl di 100% DMSO in tutti i pozzetti (eccetto colonna 6 e 18) di una piastra Greiner a basso volume con 384 pozzetti con fondo a "v". I composti vengono diluiti in serie (4 volte in 100% DMSO) attraverso la piastra dalla colonna 1 alla colonna 12 e dalla colonna 13 alla colonna 24 e lasciando colonna 6 e 18 contenenti solo DMSO per ottenere 11 concentrazioni per ciascun composto di prova. I saggi vengono eseguiti usando kit di PI3-chinasi specifici da Millipore (Cat #33-001). Il kit di saggio comprende i seguenti componenti:

- Tampone di reazione 4x PI3K (Contiene 200mM HEPES pH 7, 600mM NaCl, 40mM MgCl₂, <1% colato (p/v), <1% Chaps (p/v), 0,05% Sodio Azide (p/v))
- PIP2 (1mM)
- 3xBiotina PIP3 (50µM)
- Miscela di rivelazione C (Contiene 267mM KF)
- Miscela di rivelazione A (Contiene 60µg/ml streptavidina-APC)
- Miscela di rivelazione B (Contiene 36µg/ml Europio-anti-GST(Anti-GST-K) e 90µg/ml GST-GRP1-PH-dominio e 1mM DTT)
- Soluzione di arresto (Contiene 150mM EDTA)

Aggiungere manualmente 3µl di Tampone di reazione (contiene 1mM DTT) solo alla colonna 18 per controllo di inibizione al 100% (nessuna attività)

Aggiungere manualmente 3µl di soluzione di enzima 2X a tutti i pozzetti eccetto colonna 18. Preincubare con composto per 15 minuti.

Aggiungere manualmente 3µl di soluzione di substrato 2X a tutti i pozzetti (colonna 6 rappresenta controllo di inibizione a 0%)

Lasciar riposare la piastra per 1 h (schermare dalla luce) (solo nel caso di gamma è richiesta una incubazione di 50 min)

Aggiungere manualmente 3µl di soluzione di arresto/rivelazione a tutti i pozzetti

Lasciar riposare la piastra per 1 ora (schermare dalla luce)

Il saggio viene letto usando il BMG Rubystar e i dati dei rapporti vengono utilizzati per calcolare curve a 11 punti.

NB La soluzione di substrato (concentrazioni) differisce per ciascuna isoforma (vedi sotto)

Alfa

Soluzione di substrato 2x contenente 500 μ M ATP, 16 μ M PIP2 e 0,030 μ M 3X biotina-PIP3.

Beta

Soluzione di substrato 2x contenente 800 μ M ATP, 16 μ M PIP2 e 0,030 μ M 3X biotina-PIP3.

Delta

Soluzione di substrato 2x contenente 160 μ M ATP, 10 μ M PIP2 e 0,030 μ M 3X biotina-PIP3.

Gamma

Soluzione di substrato 2x contenente 30 μ M ATP, 16 μ M PIP2 e 0,030 μ M 3X biotina-PIP3.

Metodo di analisi

I dati sono stati elaborati attraverso l'algoritmo di interpolazione a curva logistica a 4 parametri XC50 in "Activity Base".

Normalizzare a % di inibizione tra i controlli alto e basso (0% e 100% di inibizione rispettivamente)

Interpolazione di modulo primario: variano la pendenza, gli asintoti Min e Max

Interpolazioni di moduli secondari: (1) fissare asintoto Min, (2) fissare asintoto Max, (3) fissare asintoti Min e Max

Interpolazione della curva QC: pXC50 95% CL rapporto >10

-20 < asintoto Min < 20

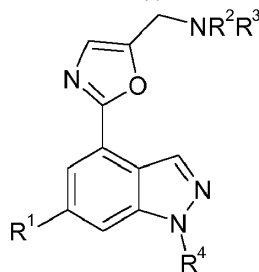
80 < asintoto Max < 120

I composti di Esempi 1 fino a 10 e 12 sono stati provati in uno o più dei saggi di PI3K Alfa, Beta, Delta e/o Gamma di cui sopra o saggi simili e si è osservato che avevano una pCI₅₀ media nel saggio di PI3K Delta di almeno 7 o maggiore.

I composti e sali di almeno Esempi 1, 2, 5 fino a 10 e 12 risultavano avere una selettività di almeno dieci volte per PI3K Delta rispetto a PI3K Alfa, Beta e/o Gamma.

RIVENDICAZIONI

1. Combinazione comprendente un composto di formula (I):



(I)

in cui

R^1 è eteroarile biciclico a 9 o 10 termini in cui l'eteroarile biciclico a 9 o 10 termini contiene da uno a tre eteroatomi scelti indipendentemente da ossigeno e azoto ed è opzionalmente sostituito con C_{1-6} alchile, C_3 -cicloalchile, alogeno, -CN o -NHSO₂R⁵, o

piridinile opzionalmente sostituito con uno o due sostituenti scelti indipendentemente da C_{1-6} alchile, -OR⁶, alogeno e -NHSO₂R⁷;

R^2 e R^3 , insieme all'atomo di azoto a cui sono attaccati, sono uniti per formare un eterociclile a 6 o 7 termini in cui l'eterociclile a 6 o 7 termini opzionalmente contiene un atomo di ossigeno o un altro atomo di azoto ed è opzionalmente sostituito con uno o due sostituenti scelti indipendentemente da C_{1-6} alchile;

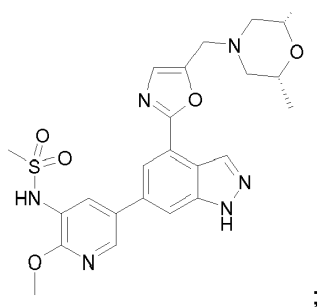
R^4 è idrogeno o metile;

R^6 è idrogeno o C_{1-4} alchile; e

R^5 e R^7 sono ciascuno indipendentemente C_{1-6} alchile, o fenile opzionalmente sostituito con uno o due sostituenti scelti indipendentemente da alogeno;

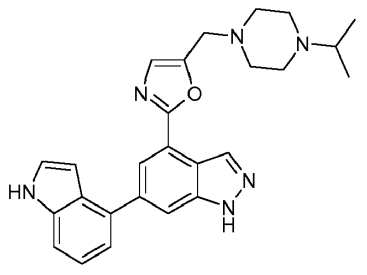
o un suo sale accettabile farmaceuticamente insieme a uno o più di altri agenti terapeuticamente attivi.

2. Combinazione secondo la rivendicazione 1 in cui il composto di formula (I) è: *N*-[5-[4-(5-[(2*R*,6*S*)-2,6-dimetil-4-morfolinil]metil)-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazol-6-il]-2-(metilossi)-3-piridinil]metansolfonammide



o un suo sale accettabile farmaceuticamente.

3. Combinazione secondo la rivendicazione 1 in cui il composto di formula (I) è: 6-(1*H*-indol-4-il)-4-(5-{{[4-(1-metiletil)-1-piperazinil]metil}}-1,3-ossazol-2-il)-1*H*-indazolo



o un suo sale accettabile farmaceuticamente.

4. Combinazione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti in cui l'uno o più di altri agenti terapeuticamente attivi è un agente anti-infiammatorio, un agente anticolinergico, un agonista del recettore β_2 -adrenergico, un agente anti-infettivo o un antistaminico.

5. Combinazione secondo la rivendicazione 4 in cui l'agente anti-infiammatorio è un corticosteroide o un FANS.

6. Combinazione secondo la rivendicazione 5 in cui l'agente anti-infiammatorio è un corticosteroide.

7. Combinazione secondo la rivendicazione 6 in cui il corticosteroide è fluticasone furoato.

8. Combinazione secondo la rivendicazione 4 in cui l'agente anti-infettivo è un antibiotico o antivirale.

9. Composizione farmaceutica comprendente una combinazione di un composto di formula (I) come definito nella rivendicazione 1, o un suo sale accettabile farmaceuticamente, insieme a un altro agente terapeuticamente attivo.

10. Combinazione come definita in una qualsiasi delle rivendicazioni 1 fino a 8 per uso in terapia medica.

- 11.** Combinazione come definita in una qualsiasi delle rivendicazioni 1 fino a 8 per uso nel trattamento di un disturbo mediato da attività inappropriata di PI3-chinasi.
- 12.** Uso di una combinazione come definita in una qualsiasi delle rivendicazioni 1 fino a 8 nella fabbricazione di un medicamento per uso nel trattamento di un disturbo mediato da inappropriata attività di PI3-chinasi.
- 13.** Combinazione per uso secondo la rivendicazione 11 in cui il disturbo mediato da inappropriata attività di PI3-chinasi è una malattia respiratoria, un'infezione virale, un'infezione respiratoria non virale, una malattia allergica, una malattia autoimmune, un disturbo infiammatorio, una malattia cardiovascolare, una neoplasia ematologica, una malattia neurodegenerativa, pancreatite, insufficienza di organi multipli, malattia renale, aggregazione piastrinica, cancro, motilità degli spermatozoi, rigetto di trapianto, rigetto di innesto, lesione polmonare, o dolore.
- 14.** Combinazione per uso secondo la rivendicazione 11 in cui il disturbo mediato da inappropriata attività di PI3-chinasi è asma, malattia polmonare ostruttiva cronica (COPD), fibrosi polmonare idiopatica (IPF), infezioni virali delle vie respiratorie, aggravamento virale di malattie respiratorie, aspergillosi, leishmaniosi, rinite allergica, dermatite atopica, artrite reumatoide, sclerosi multipla, malattia infiammatoria dell'intestino, trombosi, aterosclerosi, neoplasia ematologica, malattia neurodegenerativa, pancreatite, malfunzionamento di organi multipli, malattia renale, aggregazione piastrinica, cancro, motilità spermatica, rigetto di trapianto, rigetto di innesto, lesione polmonare, dolore associato ad artrite reumatoide o osteoartrite, dolore alla schiena, dolore infiammatorio generale, nevralgia post-epatica, neuropatia diabetica, dolore neuropatico infiammatorio (trauma), nevralgia del trigemino e dolore centrale.
- 15.** Combinazione per uso secondo la rivendicazione 11 in cui il disturbo mediato da inappropriata attività di PI3-chinasi è asma.
- 16.** Combinazione per uso secondo la rivendicazione 11 in cui il disturbo mediato da inappropriata attività di PI3-chinasi è COPD.

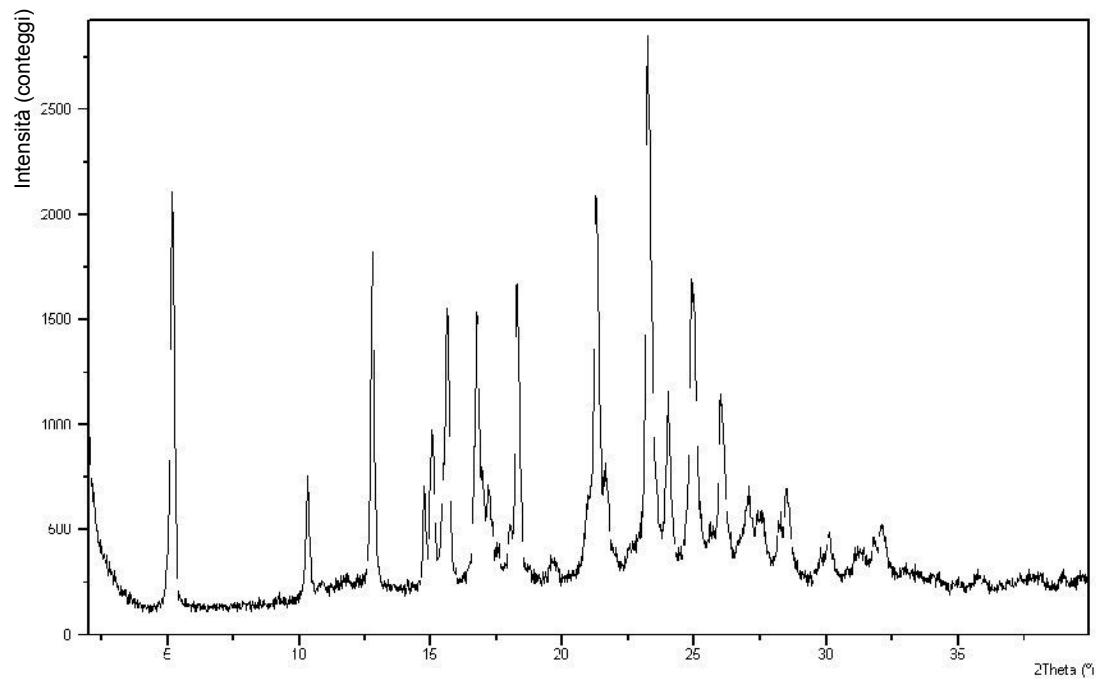


Figura 1

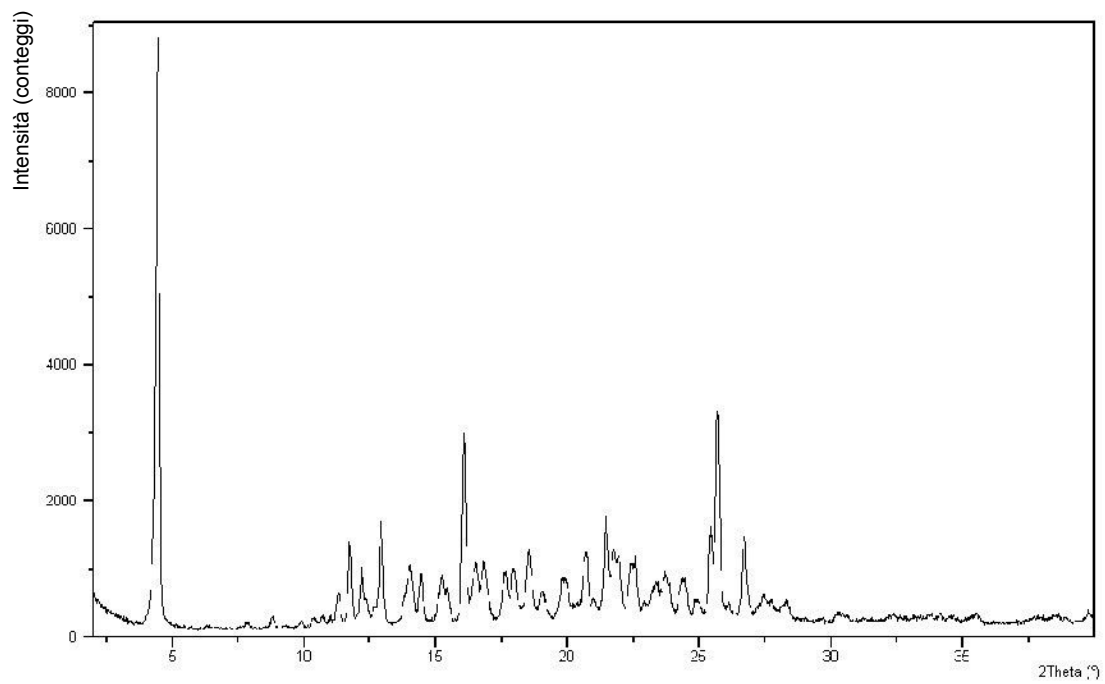


Figura 2