

TRADUZIONE

Brevetto Europeo n° EP 3259253

Domanda di Brevetto Europeo n° 16751821.6

Depositata in data 16 Febbraio 2016

- 5 Titolo: **“Solfoniluree e composti correlati e utilizzo degli stessi”**
- Titolari: **The University of Queensland**, con sede in St Lucia,
Queensland 4072 / Australia (AU);
- The Provost, Fellows, Foundation Scholars, and the other
members of Board, of the College of the Holy & Undiv. Trinity
of Queen Elizabeth near Dublin**, con sede in College Green,
10 Dublin 2 / Irlanda (IE)

* * *

DESCRIZIONE

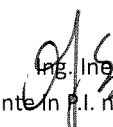
Campo dell'invenzione

- 15 L'invenzione si riferisce al campo del trattamento medico e della diagnosi della patologia. Più in particolare, la presente invenzione si riferisce a solfoniluree innovative e composti correlati e il loro uso nel trattamento o nell'identificazione di una patologia o condizione in risposta alla modulazione di NLRP3 o all'inibizione dell'attivazione di NLRP3 o dei componenti correlati del
- 20 processo infiammatorio.

CONTESTO DELL'INVENZIONE

Qualsiasi riferimento alla tecnica anteriore nel presente contesto non deve essere interpretato come un'ammissione che tale tecnica costituisca conoscenza generale comune in Australia o altrove.

- 25 L'inflammasoma della proteina contenente il dominio della pirina 3


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

(NLRP3) della famiglia dei recettori NOD-simili (NLR), è un componente del processo infiammatorio e la sua attivazione aberrante è patogena nei disturbi ereditari come le sindromi periodiche associate alla criopirina (CAPS) e patologie complesse come la sclerosi multipla, il diabete di tipo 2, il morbo di
5 Alzheimer e l'aterosclerosi.

NLRP3 è una molecola di segnalazione intracellulare che rileva molti fattori derivati da fattori derivati da patogeni, ambientali e derivati dall'ospite. Dopo l'attivazione, NLRP3 si lega alla proteina granello-simile associata all'apoptosi contenente un dominio di attivazione e reclutamento della caspasi
10 (ASC). ASC quindi si polimerizza per formare un grande aggregato noto come granello ASC. L'ASC polimerizzato a sua volta interagisce con la cisteina proteasi caspasi-1 per formare un complesso chiamato inflammasoma. Questo comporta l'attivazione della caspasi-1, che scinde le citochine proinfiammatorie IL-1 β e IL-18 nelle loro forme attive e media un tipo di morte infiammatoria delle
15 cellule nota come pirosi. Il granello ASC può anche reclutare e attivare la caspasi-8, che può elaborare pro-IL-1 β e pro-IL-18 e innescare la morte cellulare apoptotica.

La caspasi-1 scinde pro-IL-1 β e pro-IL-18 nelle loro forme attive, che sono secrete dalla cellula. La caspasi-1 attiva inoltre scinde la gasdermina-D
20 per innescare la pirosi. Attraverso il suo controllo della via della morte delle cellule pirototiche, la caspasi-1 media anche il rilascio di molecole di allarmina come IL-33 e la proteina box 1 del gruppo ad alta mobilità (HMGB1). La caspasi-1 inoltre scinde IL-1R2 intracellulare provocando il suo degrado e permettendo il rilascio di IL-1 α . Nelle cellule umane la caspasi-1 può anche
25 controllare l'elaborazione e la secrezione di IL-37. Numerosi altri substrati della


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

caspasi-1 come i componenti del citoscheletro e la via della glicolisi possono contribuire all'infiammazione dipendente dalla caspasi-1.

I granelli ASC dipendenti da NLRP3 vengono rilasciati nell'ambiente extracellulare dove possono attivare la caspasi-1, indurre l'elaborazione di substrati di caspasi-1 e propagare l'infiammazione.

Le citochine attive derivate dall'attivazione dell'inflammasoma di NLRP3 sono importanti motori dell'infiammazione e interagiscono con altri percorsi delle citochine per modellare la risposta immunitaria alle infezioni e alle lesioni. Ad esempio, la segnalazione di IL-1 β induce la secrezione delle citochine pro-infiammatorie IL-6 e TNF. IL-1 β e IL-18 si sinergizzano con IL-23 per indurre la produzione di IL-17 dalle cellule CD4 Th17 di memoria e dalle cellule T $\gamma\delta$ in assenza di impegno del recettore delle cellule T. IL-18 e IL-12 si sinergizzano anche per indurre la produzione di IFN- γ dalle cellule T di memoria e dalle cellule NK determinando una risposta Th1.

Altri recettori per il riconoscimento di modelli intracellulari (PRR) sono anche in grado di formare inflammasomi. Questi includono altri membri della famiglia NLR come NLRP1 e NLRC4, nonché PRR non NLR come i sensori di DNA doppio filamento (dsDNA) assenti nella proteina 16 inducibile interferone gamma (IFI16) e melanoma 2 (AIM2). L'elaborazione IL-1 β dipendente da NLRP3 può anche essere attivata da un percorso indiretto, non canonico a valle della caspasi-11.

Le patologie CAPS ereditarie della Sindrome di Muckle-Wells (MWS), sindrome autoinfiammatoria fredda familiare e malattia infiammatoria multisistemica a insorgenza neonatale sono causate da mutazioni con guadagno di funzione in NLRP3, definendo così NLRP3 come componente

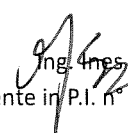
fondamentale del processo infiammatorio. La NLRP3 è stata anche implicata nella patogenesi di una serie di patologie complesse, in particolare i disturbi metabolici come il diabete di tipo 2, l'aterosclerosi, l'obesità e la gotta.

Sta emergendo un ruolo per NLRP3 nelle patologie del sistema nervoso centrale e anche le patologie polmonari sono state influenzate da NLRP3. Inoltre, NLRP3 svolge un ruolo nello sviluppo di patologie del fegato, patologie renali e invecchiamento. Molte di queste associazioni sono state definite usando topi *Nlrp3^{-/-}*, ma vi sono state anche intuizioni sull'attivazione specifica di NLRP3 in queste patologie. Nel diabete di tipo 2, la deposizione di polipeptide amiloide insulare nel pancreas attiva la segnalazione di NLRP3 e IL-1 β , con conseguente morte cellulare e infiammazione.

I trattamenti attuali per le patologie correlate alla NLRP3 includono agenti biologici che colpiscono IL-1. Questi sono l'antagonista ricombinante del recettore IL-1 anakinra, l'anticorpo IL-1 β neutralizzante canakinumab e il recettore IL-1 esca solubile riloncept. Questi approcci si sono dimostrati efficaci nel trattamento della CAPS e questi agenti biologici sono stati utilizzati negli studi clinici per altre malattie associate a IL-1 β .

È stato dimostrato che diverse piccole molecole inibiscono l'inflammasoma di NLRP3. Gliburide inibisce la produzione di IL-1 β a concentrazioni micromolari in risposta all'attivazione di NLRP3 ma non NLRC4 o NLRP1. Altri inibitori della NLRP3 precedentemente caratterizzati includono partenolide, 3,4-metilendiossi- β -nitrostirene e dimetil solfossido (DMSO), sebbene questi agenti abbiano una potenza limitata e non sono specifici.

Alcuni composti contenenti diarilsolfonilurea sono stati identificati come farmaci inibitori del rilascio di citochine (CRID) (Perregaux et al.; J. Pharmacol.

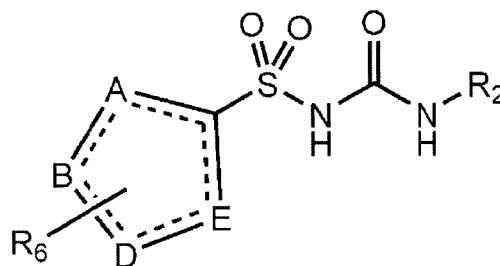

Ing. Francesco Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

Exp. Ther. 299, 187-197, 2001). I CRID sono una classe di composti contenenti diarilsolfonilurea che inibiscono l'elaborazione post-traduzionale di IL-1 β . L'elaborazione post-traduzionale di IL-1 β è accompagnata dall'attivazione della caspasi-1 e dalla morte cellulare. I CRID arrestano i monociti attivati in modo
5 che la caspasi-1 rimanga inattiva e la latenza della membrana plasmatica venga preservata.

È necessario fornire composti con proprietà farmacologiche e/o fisiologiche e/o chimico-fisiche migliorate e/o quelle che forniscono un'alternativa utile ai composti noti.

10 SOMMARIO DELL'INVENZIONE

Secondo un primo aspetto dell'invenzione, viene fornito un composto di formula (II), o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile:

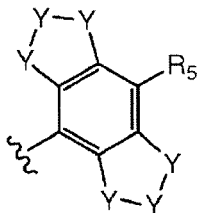


Formula (II)

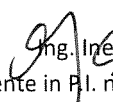
in cui A, B, D ed E sono scelti indipendentemente tra C, N, O, S e Se, ma
15 almeno uno di questi è C e almeno uno di questi è N;
ciascuna linea tratteggiata può rappresentare un legame;
ciascuna incidenza di R₆ è scelta indipendentemente dal gruppo costituito da idrogeno, alogenuro, ciano, alchile C₁-C₆, alchilammino C₁-C₆, alchilidrossi C₁-C₆, cicloalchile C₃-C₆, alchilfenile, fenile, benzile, estere C₁-C₆, alchenile C₂-C₆,
20 trifluoroalchile C₁-C₆ e alcossi C₁-C₆, ciascuno dei quali può essere eventualmente sostituito, a seconda dei casi, in cui ogni sostituito facoltativo è

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

- indipendentemente scelto tra il gruppo costituito da alchile C1-10; cicloalchile C3-6; idrossialchile; alcossi C1-10; alchenile C2-10; alchinile C2-10; srile C6-C12; arilossi; eteroarile; eterocicilile; alogeno; ossidrile; alchile alogenato; ammino; alchilammino; arilammino; acile; amido; CN; NO₂; N₃; CH₂OH; CONH₂;
- 5 CONR₂₄ R₂₅; CO₂R₂₄; CH₂OR₂₄; NHCOR₂₄; NHCO₂R₂₄; alchiltio C1-3; solfato; acido solfonico; esteri di solfonati; acido fosfonico; fosfato; fosfonato; esteri mono, di- o trifosfato; tritile; monometossitritile; R₂₄SO; R₂₄SO₂; CF₃S; CF₃SO₂; e trialchilsilile; in cui R₂₄ e R₂₅ sono scelti ciascuno indipendentemente da H o C1-10 alchile; e
- 10 R₂ è scelto tra un 2,6-dialchilfenile, un 2,6-dialchil-4-alogenofenile, un 2,6-dicicloalchilfenile, un 2,6-dicicloalchil-4-alogenofenile e:



- in cui ciascuna incidenza di Y è scelta indipendentemente da C, N, S e O, che può essere facoltativamente sostituita come appropriato, in cui qualsiasi
- 15 sostituito opzionale è scelto indipendentemente dal gruppo costituito da alchile C1-10; Cicloalchile C3-6; idrossialchile; alcossi C1-10; alchenile C2-10; alchinile C2-10; arile C6-C12; arilossi; eteroarile; eterocicilile; alogeno; ossidrile; alchile alogenato; ammino; alchilammino; arilammino; acile; ammido; CN; NO₂; N₃; CH₂OH; CONH₂; CONR₂₄R₂₅; CO₂R₂₄; CH₂OR₂₄; NHCOR₂₄; NHCO₂R₂₄;
- 20 alchiltio C1-3; solfato; acido solfonico; esteri di solfonati; acido fosfonico; fosfato; fosfonato; esteri mono, di- o trifosfato; tritile; monometossitritile; R₂₄SO; R₂₄SO₂; CF₃S; CF₃SO₂; e trialchilsilile; in cui R₂₄ e R₂₅ sono scelti ciascuno indipendentemente da H o C1-10 alchile; e


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

R₅ è scelto dal gruppo costituito da idrogeno, alogeno, ciano, ammidi, solfonammide, acile, ossidrilie, alchile C₁-C₆, alogenoalchile C₁-C₆, cicloalchile C₃-C₅ e alcossi C₁-C₆, tutti i gruppi possono essere opzionalmente sostituiti, a seconda dei casi, con alcossi, ciano o alcossi C₁-C₆.

5 Secondo un secondo aspetto dell'invenzione, viene fornita una composizione farmaceutica comprendente un composto del primo aspetto, o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile, e un veicolo, diluente e/o eccipiente farmaceuticamente accettabili.

10 Un quarto aspetto dell'invenzione prevede un composto del primo aspetto, o un suo sale o solvato farmaceuticamente efficace, o la composizione farmaceutica del secondo aspetto da utilizzare nel trattamento o nella prevenzione di una patologia, disturbo o condizione.

15 Un quinto aspetto dell'invenzione prevede l'uso di un composto del primo aspetto, o un suo sale o solvato farmaceuticamente efficace, nella fabbricazione di un medicamento per il trattamento o la prevenzione di una patologia, disturbo o condizione.

In una forma di realizzazione, la patologia, il disturbo o la condizione sono sensibili all'inibizione dell'attivazione dell'inflammasoma di NLRP3.

20 In forme di realizzazione specifiche non limitative degli aspetti di cui sopra, la patologia, disturbo o condizione è una patologia, disturbo o condizione del sistema immunitario, del sistema cardiovascolare, del sistema endocrino, del tratto gastrointestinale, del sistema renale, del sistema respiratorio, il sistema nervoso centrale, è un cancro o altra malattia maligna e/o è causato/a da o associato/a a un patogeno.

25 In un sesto aspetto dell'invenzione viene fornito un composto del primo

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n. USBM-041R

aspetto, o un suo sale o solvato farmaceuticamente efficace, o la composizione farmaceutica del secondo aspetto da usare nella diagnosi di una patologia, disturbo o condizione in un mammifero inclusa la fase di somministrazione di un composto marcato dell'invenzione, o di un suo sale o solvato farmaceuticamente efficace, al mammifero o a un campione biologico ottenuto dal mammifero per facilitare la diagnosi della patologia, del disturbo o della condizione nel mammifero.

Le varie caratteristiche e forme di realizzazione della presente invenzione, menzionate nelle singole sezioni precedenti, si applicano, se del caso, ad altre sezioni, *mutatis mutandis*. Di conseguenza, le funzionalità specificate in una sezione possono essere combinate con le funzionalità specificate in altre sezioni, a seconda dei casi.

Ulteriori caratteristiche e i vantaggi della presente invenzione diventeranno evidenti dalla seguente descrizione dettagliata.

15 **BREVE DESCRIZIONE DEI DISEGNI**

Affinché l'invenzione possa essere facilmente compresa e messa in pratica, le forme di realizzazione preferite verranno ora descritte a titolo di esempio con riferimento alle figure allegate in cui:

Le FIGURE da 1A a 1C sono una serie di rappresentazioni grafiche delle concentrazioni plasmatiche di una solfonilurea nota (MCC950) a seguito di diversi livelli di dosaggio nei topi; e

Le FIGURE da 2A a 2C sono una serie di rappresentazioni grafiche delle concentrazioni plasmatiche di una solfonilurea della presente invenzione (MCC7840) a seguito di diversi livelli di dosaggio nei topi.

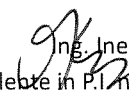
25 **DESCRIZIONE DETTAGLIATA**

Fig. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n. USBM-041R

La presente invenzione si basa, almeno in parte, sulla constatazione che alcune solfoniluree e composti correlati hanno proprietà vantaggiose e mostrano attività utili nell'inibizione dell'attivazione dell'inflammasoma di NLRP3 e/o inibizione dell'IL-1 β e/o IL-17 e/o IL-18, e/o IL-1 α , e/o IL-37, e/o IL-33, nonché interferire con o modulare l'attività delle cellule T helper come Th17. In particolare, i composti dell'invenzione sono utili nel trattamento di una vasta gamma di disturbi in cui il processo di infiammazione, o l'inflammasoma di NLRP3 e/o IL-1 β e/o IL-17 e/o IL-18, e/o le cellule IL-1 α e/o IL-37 e/o IL-33 e/o Th17 svolgono un ruolo.

Le prove da pazienti CAPS umani e modelli di topo di CAPS hanno portato i presenti inventori a credere che l'inibizione della NLRP3 sarà un trattamento superiore rispetto ai biologici IL-1, poiché l'inibizione di tutti i processi dipendenti dalla NLRP3 sarà più efficace dell'inibizione di un singolo processo dipendente da NLRP3, come segnalazione IL-1.

Gli individui affetti da CAPS mostrano secrezione disregolata sia di IL-1 β sia di IL-18, e i pazienti affetti da CAPS trattati con farmaci biologici anti-IL-1 hanno una patologia residua. Sintomi come la crescita eccessiva ossea e la deformità articolare non sono prevenuti dai farmaci biologici a base di IL-1. Inoltre, i sintomi che coinvolgono il sistema nervoso centrale come la perdita dell'udito sono difficili da controllare usando i farmaci biologici a base di IL-1, che sembrano penetrare male nel sistema nervoso centrale. Gli studi condotti su modelli di topo di CAPS indicano che la carenza di segnalazione IL-1 o IL-18 da sola è insufficiente per bloccare l'infiammazione sistemica, in particolare negli animali più anziani. In un modello grave di CAPS, solo una completa perdita della segnalazione di caspasi-1 ha salvato completamente dalla

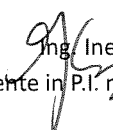

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

patologia.

L'inibizione specifica di NLRP3 da parte dei composti contenenti solfonurea, come quelli del primo aspetto, può bloccare tutti i processi a valle di NLRP3, compresa la formazione di granelli ASC e l'attivazione di caspasi-8 e caspasi-1. Di conseguenza, l'inibizione di NLRP3 bloccherà tutti i processi dipendenti dalla caspasi-1 come il trattamento e la secrezione di IL-1 β , IL-18 e IL-37, la scissione del gasdermide D, la pirosi e il rilascio di IL-1 α , IL-33 e HMGB. Inoltre, il rilascio extracellulare dipendente da NLRP3 dei granelli ASC sarà bloccato e sarà impedita la scissione di pro-IL-1 β e pro-IL-18 dipendente da caspasi-8 e la morte cellulare apoptotica. Pertanto, l'inibizione specifica di NLRP3 da parte dei composti del primo aspetto impedirà molteplici segnali infiammatori a valle e dovrebbe pertanto dimostrare una terapia antinfiammatoria più efficace del solo blocco di IL-1.

Il blocco del farmaco biologico anti-IL-1 di IL-1 derivato da fonti indipendenti da NLRP3, come IL-1 prodotto da altri inflammasomi (ad esempio NLRC4, NLRP1, NLRP6, AIM2) e IL-1 generato da questi ultimi percorsi può essere importante per la difesa dell'ospite contro i patogeni. Ad esempio, i pazienti che ricevono antagonisti di IL-1/IL-1R mostrano una maggiore incidenza di infezioni delle vie aeree superiori. L'inibizione specifica di NLRP3 da parte dei presenti composti può quindi esercitare immunosoppressione meno generalizzata rispetto ai farmaci biologici anti-IL-1.

IL-1 β e IL-18, generati dall'asse Nlrp3/caspasi-1, svolgono ruoli fondamentali nel guidare la produzione di IL-17 da parte delle cellule CD4 Th17 e $\gamma\delta$ T. IL-1 β e IL-18 si sinergizzano con IL-23 per indurre la produzione di IL-17 dalle cellule CD4 Th17 di memoria e dalle cellule T $\gamma\delta$ in assenza di impegno di


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

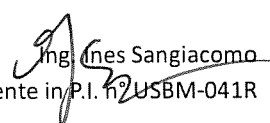
TCR. L'IL-17 guidato dall'IL-1 è stato anche implicato nella psoriasi, nel diabete di tipo I, nell'artrite reumatoide, nel diabete mellito di tipo 2, nell'aterosclerosi, nell'obesità, nella gotta e, recentemente, nell'asma.

In sostanza, ciascuna di queste patologie ha dimostrato di comportare
5 l'attivazione di macrofagi tissutali, cellule dendritiche o microglia cerebrale, guidati da allarmine solubili o dalla fagocitosi frustrata dei metaboliti che si accumulano in modo extracellulare. NLRP3 rileva questi eventi, portando al rilascio di IL-1, innescando l'infiammazione per eliminare il materiale offensivo. La patologia risulterà se questo processo diventa cronico o iperattivato, il che
10 spiega perché è stato dimostrato che così tante malattie coinvolgono NLRP3. Gli inibitori che agiscono per prevenire l'attivazione di NLRP3 possono quindi avere utilità nelle patologie causate da IL-17, così come dalle patologie di IL-1.

In questa specifica di brevetto, i termini "comprende", "comprendente", "include", "incluso" o termini simili intendono indicare un'inclusione non
15 esclusiva, tale che un metodo o una composizione che comprende un elenco di gli elementi non includono solo quegli elementi, ma possono anche includere altri elementi non elencati.

Salvo diversamente definito, tutti i termini tecnici e scientifici utilizzati nel presente contesto hanno lo stesso significato come comunemente inteso dagli
20 esperti della tecnica a cui appartiene la presente invenzione.

L'espressione "sale farmaceuticamente accettabile", come utilizzato nel presente contesto, si riferisce a sali che sono tossicologicamente sicuri per la somministrazione sistemica o localizzata come sali preparati da basi o acidi non tossici farmaceuticamente accettabili, inclusi basi inorganiche oppure organiche
25 e acidi inorganici oppure organici. I sali farmaceuticamente accettabili possono


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

essere scelti dal gruppo inclusi alcali e alcali terrosi, ammonio, alluminio, ferro, ammina, glucosammina, cloruro, solfato, solfonato, bisolfato, nitrato, citrato, tartrato, bitarato, fosfato, carbonato, bicarbonato, malato, maleato, napsilato, fumarato, succinato, acetato, benzoato, tereftalato, palmoato, piperazina, pectinato e sali di S-metil metionina e simili.

Il termine "*alchile*" si riferisce a un sostituente alchilico a catena lineare o ramificata contenente, ad esempio, da 1 a circa 12 atomi di carbonio, preferibilmente da 1 a circa 9 atomi di carbonio, più preferibilmente da 1 a circa 6 atomi di carbonio, ancora di più preferibilmente da 1 a circa 4 atomi di carbonio, ancora più preferibilmente da 1 a 2 atomi di carbonio. Esempi di tali sostituenti possono essere scelti dal gruppo costituito da metile, etile, propile, isopropile, n-butile, sec-butile, isobutile, *terz* -butile, pentile, isoamil, 2-metilbutile, 3-metilbutile, esile, eptile, 2-metilpentile, 3-metilpentile, 4-metilpentile, 2-etilbutile, 3-etilbutile, ottile, nonile, decile, undecile, dodecile e simili. Il numero di atomi di carbonio cui si fa riferimento si riferisce alla catena principale del carbonio e alla ramificazione del carbonio ma non include gli atomi di carbonio appartenenti a nessun sostituente, ad esempio gli atomi di carbonio di un sostituente alcossi che si dirama dalla catena principale del carbonio. L'alchile sostituito include l'alchile sostituito con una o più frazioni scelte dal gruppo costituito da alogeno (ad esempio, Cl, F, Br e I); alchile alogenato (*ad esempio* CF_3 , 2-Br-etile, CH_2F , CH_2Cl , CH_2CF_3 o CF_2CF_3); ossidrile; ammino; carbossilato; carbossiammido; alchilamino; arilammino; alcossi; arilossi; nitro; azido; ciano; tio; acido solfonico; solfato; acido fosfonico; fosfato; e fosfonato, nonché quelli descritti nella definizione di "opzionalmente sostituito".

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n. USBM-041R

Il termine "*alchenile*" si riferisce a gruppi di idrocarburi insaturi lineari o ramificati opzionalmente sostituiti, con da 2 a 12 atomi di carbonio, preferibilmente da 2 a 9 atomi di carbonio, più preferibilmente da 2 a 6 atomi di carbonio e aventi almeno un doppio legame carbonio-carbonio. Dove
5 appropriato, il gruppo alchenilico può avere un numero specificato di atomi di carbonio, ad esempio alchenile C₂-C₆ che include gruppi alchenilici aventi 2, 3, 4, 5 o 6 atomi di carbonio in disposizioni lineari o ramificate. Il numero di atomi di carbonio cui si fa riferimento si riferisce alla catena principale e alla ramificazione del carbonio, ma non include gli atomi di carbonio appartenenti a
10 nessun sostituito. Esempi di tali sostituenti possono essere scelti dal gruppo costituito da etenile, propenile, isopropenile, butenile, s- e t-butenile, pentenile, esenile, ept-1,3-diene, es-1,3-diene, non-1,3,5-triene e simili. L'alchenile sostituito include l'alchenile sostituito con una o più frazioni scelte dal gruppo costituito da alogeno (ad esempio, Cl, F, Br e I); alchile alogenato (*ad esempio*
15 CF₃, 2-Br-etile, CH₂F, CH₂ Cl, CH₂CF₃ o CF₂CF₃); ossidrilico; amminico; carbossilato; carbossammido; alchilamminico; arilamminico; alcossi; arilossi; nitro; azido; ciano; tio; acido solfonico; solfato; acido fosfonico; fosfato; e fosfonato, nonché quelli descritti nella definizione di "opzionalmente sostituito".

Il termine "alcossi" come usato nel presente contesto significa gruppi
20 alchilici a catena lineare o ramificata collegati mediante un atomo di ossigeno (vale a dire -O-alchile), in cui l'alchile è come descritto sopra. In forme di realizzazione specifiche, l'alcossi si riferisce a gruppi collegati all'ossigeno comprendenti da 1 a 10 atomi di carbonio ("alcossi C1-10"). In ulteriori forme di realizzazione, l'alcossi si riferisce a gruppi collegati all'ossigeno comprendenti
25 da 1 a 8 atomi di carbonio ("alcossi C1-8"), da 1 a 6 atomi di carbonio ("alcossi

C1-6"), da 1 a 4 atomi di carbonio ("alcossi C1-4") o da 1 a 3 atomi di carbonio ("alcossi C1-3").

I termini "cicloalchile" e "cicloalchenile" si riferiscono a gruppi di carbonio monociclici, biciclici o triciclici saturi e insaturi opzionalmente sostituiti. Dove
5 appropriato, il gruppo cicloalchile o cicloalchenile può avere un numero specificato di atomi di carbonio, ad esempio cicloalchile o cicloalchenile C₃-C₆ include nel suo ambito un gruppo carbociclico avente 3, 4, 5 o 6 atomi di carbonio. Esempi di tali sostituenti possono essere scelti dal gruppo costituito da ciclopropile, ciclobutile, ciclopentile, ciclopentenile, cicloesile, cicloesenile,
10 cicloesadienile e simili. Il cicloalchile o cicloalchenile alchile sostituito include sostituzioni con una o più frazioni scelte dal gruppo costituito da alogeno (ad esempio, Cl, F, Br e I); alchile alogenato (*ad esempio* CF₃, 2-Br-etile, CH₂F, CH₂ Cl, CH₂CF₃ o CF₂CF₃); ossidrile; ammino; carbossilato; carbossiammido; alchilamino; arilammino; alcossi; arilossi; nitro; azido; ciano; tio; acido solfonico;
15 solfato; acido fosfonico; fosfato; e fosfonato, nonché quelli descritti nella definizione di "opzionalmente sostituito".

Il termine "alchiltio" come usato nel presente contesto indica un gruppo tio con uno o più sostituenti alchilici, in cui l'alchile è definito come sopra.

Il termine "ammino" come usato nel presente contesto indica una
20 porzione rappresentata dalla struttura NR₂₃ e include ammine primarie e ammine secondarie e terziarie sostituite da alchile (vale a dire alchilammino). Pertanto, R₂₃ può rappresentare, ad esempio, due atomi di idrogeno, due frazioni alchiliche o un atomo di idrogeno e una frazione alchilica.

Il termine "arile" si riferisce a un anello di carbonio stabile monociclico,
25 biciclico o triciclico di massimo 8 elementi in ciascun anello, in cui almeno un

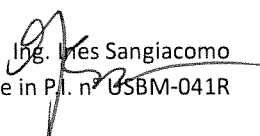
Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

anello è aromatico come definito dalla regola di Hückel $4n + 2$. Il termine include sistemi policiclici comprendenti anelli di carbonio saturi o gruppi eteroarili o eterociclici purché almeno un anello sia arilico, come descritto.

I termini "aralchile" e "arilalchile" come usati nel presente contesto
5 indicano un gruppo arile come sopra definito collegato alla molecola attraverso un gruppo alchilico come sopra definito.

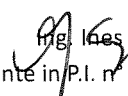
Il termine "eteroarile" si riferisce a un gruppo arile contenente da uno o più atomi (in particolare da uno a quattro) atomi non-carbonio (in particolare N, O o S) o una loro combinazione, a cui il gruppo eteroarile è opzionalmente
10 sostituito in uno o più atomi di carbonio o di azoto. Gli anelli eteroarili possono anche essere fusi con uno o più anelli idrocarburici ciclici, eterociclici, arilici o eteroarili. L'eteroarile include, tuttavia senza limitazioni, eteroarili da 5 elementi aventi un eteroatomo (ad esempio, tiofenici, pirroli, furani); eteroarili da 5
15 elementi aventi due eteroatomi nelle posizioni 1,2 o 1,3 (ad esempio ossazoli, pirazoli, imidazoli, tiazoli, purine); eteroarili da 5 elementi con tre eteroatomi (ad esempio, triazoli, tiadiazoli); eteroarili da 5 elementi con quattro eteroatomi (ad esempio tetrazoli); eteroarili da 6 elementi con un eteroatomo (ad esempio piridina, chinolina, isochinolina, fenantrina, 5,6-cicloptenopiridina); eteroarili da
20 6 elementi con due eteroatomi (ad esempio piridazine, cinnoline, ftalazine, pirazine, pirimidine, chinazoline); eteroarili da 6 elementi con tre eteroatomi (ad esempio 1,3,5-triazina); ed eteroarili da 6 elementi con quattro eteroatomi. "Eteroarile sostituito" indica un eteroarile avente uno o più gruppi non interferenti come sostituenti e inclusi quelli definiti in "opzionalmente sostituito".

"Eterociclice" come usato nel presente contesto si riferisce a un anello
25 non aromatico avente da 5 a 8 atomi nell'anello e di quegli atomi da 1 a 4 sono


Ing. Yves Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

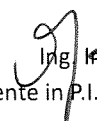
eteroatomi. Gli anelli eterociclici possono anche essere fusi con uno o più anelli idrocarburici ciclici, eterociclici, arilici o eteroarili. L'eterociclico comprende gruppi eterociclici parzialmente e completamente saturi. I sistemi eterociclici possono essere attaccati a un'altra porzione tramite un numero qualsiasi di
5 atomi di carbonio o eteroatomi del radicale e possono essere sia saturi sia insaturi. Esempi non limitativi di eterociclico includono selenocicli C₄-C₆, pirrolidinile, pirrolinile, piranile, piperidinile, piperazinile, morfolinile, tetraidrofuranile, tetraidrotiofenile, pirazolinile, ditiolile, ossatiolile, diossanile, diossinile, ossazinile, azepinile, diazepinile, tiazepinile, ossepinile a tiapinile,
10 imidazolinile, tiomorfolinile e simili.

"Opzionalmente sostituito" in riferimento a un gruppo sostituente si riferisce a gruppi sostituenti opzionalmente sostituiti con uno o più gruppi, ad esempio quelli selezionati dal gruppo costituito da alchile C₁-10 opzionalmente sostituito (ad esempio, alchile C₁-6 opzionalmente sostituito); cicloalchile C₃-6
15 opzionalmente sostituito (ad esempio ciclopropile opzionalmente sostituito); idrossialchile opzionalmente sostituito; alcossi C₁-10 opzionalmente sostituito (ad esempio alcossi C₁-6 opzionalmente sostituito); alchenile C₂-10 opzionalmente sostituito; alchinile C₂-10 opzionalmente sostituito; arile C₆-C₁₂ opzionalmente sostituito; arilossi; eteroarile opzionalmente sostituito; eterocicliche
20 opzionalmente sostituito; alone (ad esempio Cl, F, Br e I); ossidrile; alchile alogenato (ad esempio CF₃, 2-Br-etile, CH₂F, CH₂CF₃ e CF₂CF₃); ammino (ad esempio NH₂, NR₁₂H e NR₁₂R₁₃); alchilamino; arilammino; acile; ammido; CN; NO₂; N₃; CH₂OH; CONH₂; CONR₂₄R₂₅; CO₂R₂₄; CH₂OR₂₄; NHCOR₂₄; NHCO₂R₂₄; alchiltio C₁-3; solfato; acido solfonico; esteri di solfonati come
25 alchile o aralchilsolfonile, incluso metansolfonile; acido fosfonico; fosfato;


Ing. Ives Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

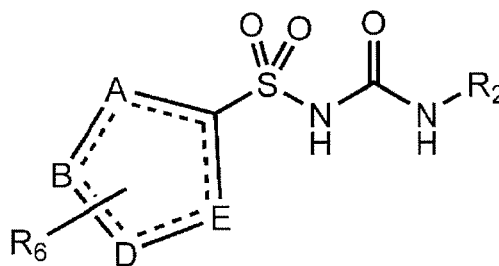
fosfonato; esteri mono, di- o trifosfato; tritile o monometossitritile; R_{24} SO; $R_{24}SO_2$; CF_3S ; e CF_3SO_2 . trialchilsilile come dimetil-t-butilsilile o difenilmethylsilile; e R_{24} e R_{25} sono scelti indipendentemente tra H o alchile C1-10, alchile C1-6 o alchile C1-4 opzionalmente sostituito.

5 Ogni volta che viene indicato un intervallo del numero di atomi in una struttura (ad esempio alchile, alchenile C_1-C_{12} , C_1-C_{10} , C_1-C_9 , C_1-C_6 , C_1-C_4 , o C_2-C_{20} , C_2-C_{12} , C_2-C_{10} , C_2-C_9 , C_2-C_8 , C_2-C_6 , C_2-C_4 , eccetera), è specificamente previsto che può essere utilizzato anche qualsiasi sottointervallo o numero
10 singolo di atomi di carbonio che rientrano nell'intervallo indicato. Pertanto, ad esempio, la recitazione di un intervallo di 1-12 atomi di carbonio (ad esempio C_1-C_{12}), 1-9 atomi di carbonio (ad esempi C_1-C_9), 1-6 atomi di carbonio (ad esempio C_1-C_6), 1-4 atomi di carbonio (ad esempio C_1-C_4), 1-3 atomi di carbonio (ad esempio C_1-C_3), o 2-8 atomi di carbonio (ad esempio C_2-C_8) come
15 utilizzato rispetto a qualsiasi gruppo chimico (ad esempio alchile, eccetera) qui menzionato comprende e descrive in modo specifico 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 e/o 12 carbonio atomi, a seconda dei casi, così come qualsiasi
20 sottointervallo (ad esempio 1-2 atomi di carbonio, 1-3 atomi di carbonio, 1-4 atomi di carbonio, 1-5 atomi di carbonio, 1-6 atomi di carbonio, 1-7 carbonio atomi, 1-8 atomi di carbonio, 1-9 atomi di carbonio, 1-10 atomi di carbonio, 1-11
25 atomi di carbonio, 1-12 atomi di carbonio, 2-3 atomi di carbonio, 2-4 atomi di carbonio, 2-5 atomi di carbonio, 2-6 atomi di carbonio, 2-7 atomi di carbonio, 2-8 atomi di carbonio, 2-9 atomi di carbonio, 2-10 atomi di carbonio, 2-11 atomi di carbonio, 2-12 atomi di carbonio, 3-4 atomi di carbonio, 3- 5 atomi di carbonio, 3-6 atomi di carbonio, 3-7 atomi di carbonio, 3-8 atomi di carbonio, 3-9 atomi di carbonio, 3-10 atomi di carbonio, 3 -11 atomi di carbonio, 3-12 atomi di


Ing. Aless Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

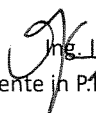
carbonio, 4-5 atomi di carbonio, 4-6 atomi di carbonio, 4-7 atomi di carbonio, 4-8 atomi di carbonio, 4-9 atomi di carbonio, 4-10 atomi di carbonio, 4-11 atomi di carbonio e/o 4-12 atomi di carbonio, ecc., a seconda dei casi).

Secondo un primo aspetto dell'invenzione, viene fornito un composto di
5 formula (II), o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile:



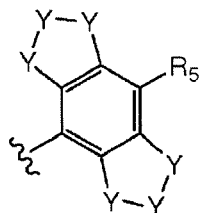
Formula (II)

in cui A, B, D ed E sono scelti indipendentemente tra C, N, O, S e Se, ma
almeno uno di questi è C e almeno uno di questi è N;
ciascuna linea tratteggiata può rappresentare un legame;
10 ciascuna incidenza di R₆ è scelta indipendentemente dal gruppo costituito da
idrogeno, alogenuro, ciano, alchile C₁-C₆, alchilammino C₁-C₆, alchilidrossi C₁-
C₆, cicloalchile C₃-C₆, alchilfenile, fenile, benzile, estere C₁-C₆, alchenile C₂-C₆,
trifluoroalchile C₁-C₆ e alcossi C₁-C₆, ciascuno dei quali può essere
eventualmente sostituito, a seconda dei casi, in cui ogni sostituyente facoltativo è
15 indipendentemente scelto tra il gruppo costituito da alchile C₁-10; cicloalchile
C₃-6; idrossialchile; alcossi C₁-10; alchenile C₂-10; alchinile C₂-10; arile C₆-
C₁₂; arilossi; eteroarile; eterociclice; alogeno; ossidrile; alchile alogenato;
ammino; alchilammino; arilammino; acile; amido; CN; NO₂; N₃; CH₂OH; CONH₂;
CONR₂₄ R₂₅; CO₂R₂₄; CH₂OR₂₄; NHCOR₂₄; NHCO₂R₂₄; alchiltio C₁-3; solfato;
20 acido solfonico; esteri di solfonati; acido fosfonico; fosfato; fosfonato; esteri
mono, di- o trifosfato; tritile; monometossitritile; R₂₄SO; R₂₄SO₂; CF₃S; CF₃SO₂;


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

e trialchilsilile; in cui R_{24} e R_{25} sono scelti ciascuno indipendentemente da H o C1-10 alchile; e

R_2 è scelto tra un 2,6-dialchilfenile, un 2,6-dialchil-4-alogenofenile, un 2,6-dicicloalchilfenile, un 2,6-dicicloalchil-4-alogenofenile e:



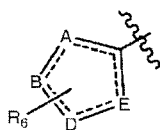
5

in cui ciascuna incidenza di Y è scelta indipendentemente da C, N, S e O, che può essere facoltativamente sostituita come appropriato, in cui qualsiasi sostituente opzionale è scelto indipendentemente dal gruppo costituito da

10 alchile C1-10; Cicloalchile C3-6; idrossialchile; alcossi C1-10; alchenile C2-10; alchinile C2-10; arile C6-C12; arilossi; eteroarile; eterociclile; alogeno; ossidrile; alchile alogenato; ammino; alchilammino; arilammino; acile; ammido; CN; NO₂; N₃; CH₂OH; CONH₂; CONR₂₄R₂₅; CO₂R₂₄; CH₂OR₂₄; NHCOR₂₄; NHCO₂R₂₄; alchiltio C1-3; solfato; acido solfonico; esteri di solfonati; acido fosfonico; fosfato; fosfonato; esteri mono, di- o trifosfato; tritile; monometossitritile; R₂₄SO;
15 R₂₄SO₂; CF₃S; CF₃SO₂; e trialchilsilile; in cui R_{24} e R_{25} sono scelti ciascuno indipendentemente da H o C1-10 alchile; e

R_5 è scelto dal gruppo costituito da idrogeno, alogeno, ciano, ammido, solfonammide, acile, ossidrile, alchile C₁-C₆, alogenoalchile C₁-C₆, cicloalchile C₃-C₅ e alcossi C₁-C₆, tutti i gruppi possono essere opzionalmente sostituiti, a
20 seconda dei casi, con alcossi, ciano o alcossi C₁-C₆.

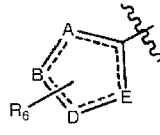
In determinate forme di realizzazione,




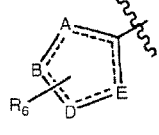
Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

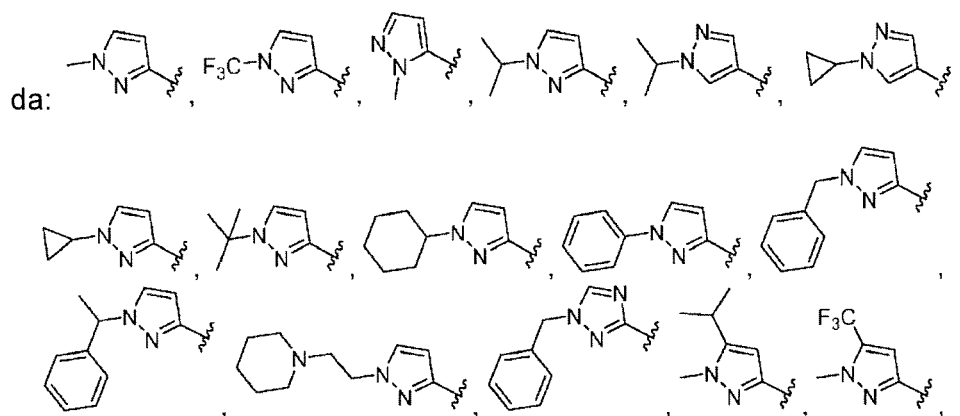
è scelto dal gruppo costituito da pirazolo, pirrolidina, pirrolo, triazolo, tetrazolo e imidazolo, tutti i quali possono essere opzionalmente sostituiti come appropriato.

In una forma di realizzazione, A, B, D ed E formano un anello comprendente almeno due atomi di azoto dell'anello e ciascuno dei quali anelli possono essere opzionalmente sostituiti.

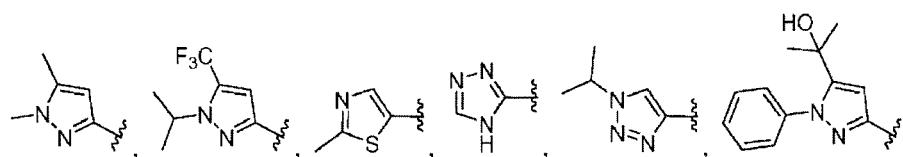
In una forma di realizzazione,  è selezionato dal gruppo costituito da tetrazolo, imidazolo, pirrolidina, pirrolo, pirazolo e triazolo, ciascuno dei quali può essere opzionalmente sostituito.

10 In una forma di realizzazione,  comprende un selenociclo. R_2 può essere un indacene.

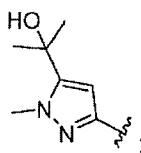
In una forma di realizzazione,  è scelto dal gruppo costituito



Ing. Alex Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

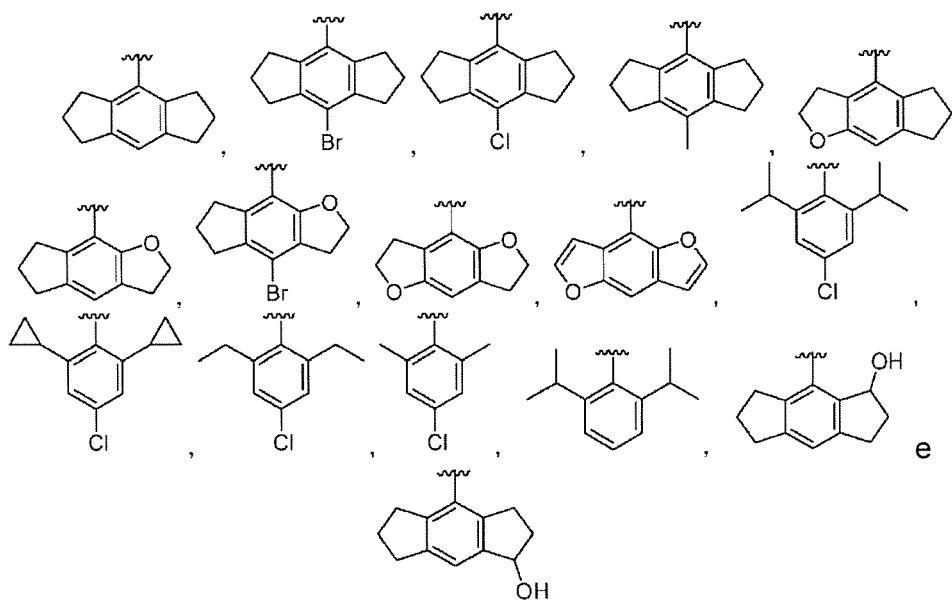


e



e per ciascuno di tali gruppi, R_2 può essere scelto indipendentemente

5 dal gruppo costituito da:

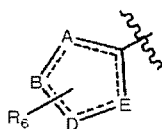


10 Opportunamente, ciascuna incidenza di Y è un atomo di carbonio e R_5 è idrogeno o alogeno.

Preferibilmente, R_2 è scelto tra un indacene sostituito o idrogenato, un 2,6-dialchilfenile, un 2,6-dialchil-4-alogenofenile, un 2,6-dicicloalchilfenile, e un 2,6-dicicloalchil-4-alogenofenile.

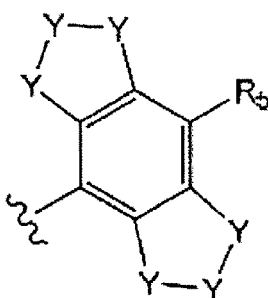
15 In determinate forme di realizzazione preferite e in combinazione con qualsiasi gruppo

Fig. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R



descritto per una qualsiasi delle formule del primo aspetto, R_2 è scelto tra esaidroindacene, 2,6-diisopropilfenile, 2,6-diisopropil-4-clorofenile, 2,6-diciclopropilfenile e 2,6-diciclopropil-4-clorofenile.

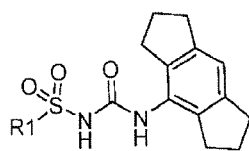
5 In una forma di realizzazione, R_2 è



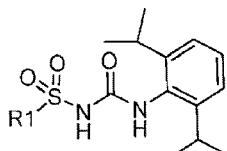
in cui ciascun Y è CH e R_5 è H o alogeno, preferibilmente R_5 è H.

In particolari forme di realizzazione, il composto di formula (II) può essere scelto tra un composto di formula (Ia), (Ib) e (Ic), o un suo sale o solvato

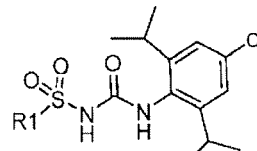
10 farmaceuticamente accettabile:



formula (Ia)

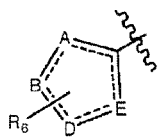


formula (Ib)



formula (Ic)

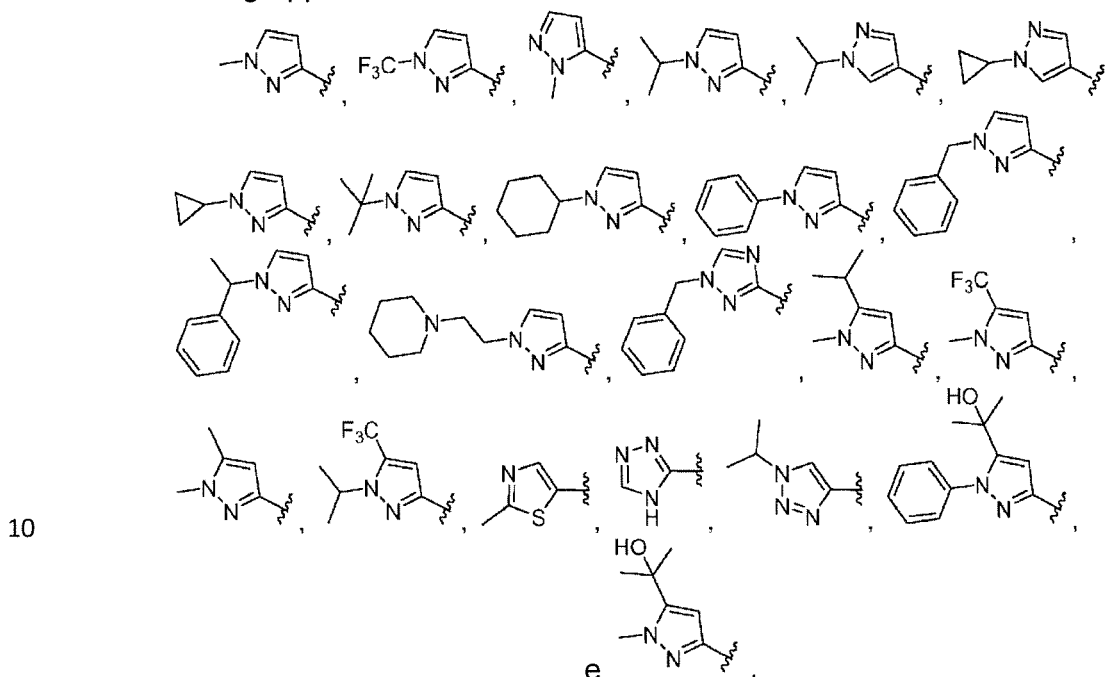
in cui R_1 è



15 e in cui A, B, D, E e R_6 sono come precedentemente descritto per qualsiasi forma di realizzazione di formula (II).

In una forma di realizzazione del composto di formula (Ia), (Ib) e (Ic), R₁ è scelto dal gruppo costituito da pirazolo, pirrolidina, pirrolo, triazolo, tetrazolo e imidazolo, tutti i quali possono essere opzionalmente sostituiti come appropriato.

5 In una forma di realizzazione del composto di formula (Ia), (Ib) e (Ic), R₁ è scelto dal gruppo costituito da:



In una forma di realizzazione preferita del composto di formula (II), almeno due tra A, B, D ed E sono N.

15 In una forma di realizzazione del composto di formula (II), A, B, D ed E sono scelti tra N e C.

In una ulteriore forma di realizzazione del composto di formula (II), A è C e almeno due tra B, D ed E sono N.

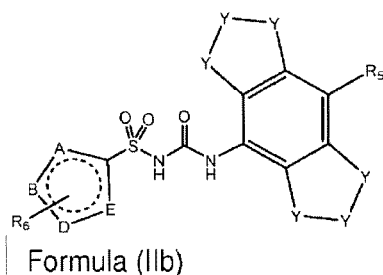
In una forma di realizzazione, A, B, D ed E formano un anello scelto tra un pirazolo, un imidazolo, un triazolo e un tetrazolo.

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

Preferibilmente, A, B, D ed E formano un anello scelto tra un anello di pirazolo o di imidazolo, in maniera massimamente preferita un anello di pirazolo.

In una forma di realizzazione, A, B, D ed E possono comprendere un
5 selenociclo.

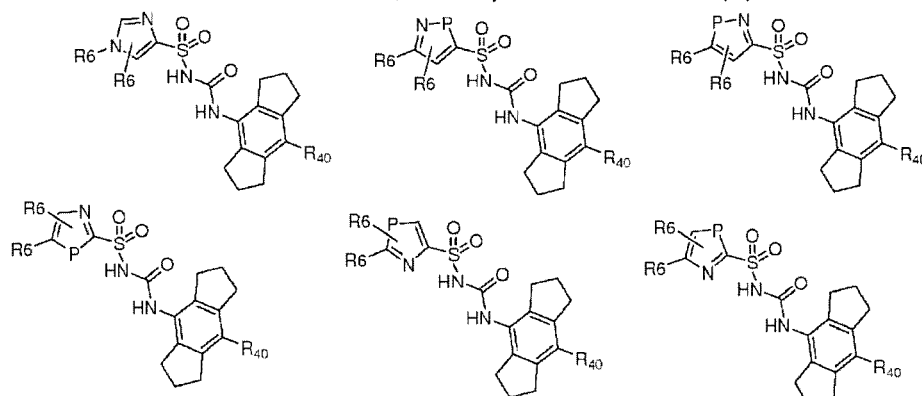
In una forma di realizzazione, il composto di formula (II) può essere scelto tra un composto di formula (IIb), o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile:



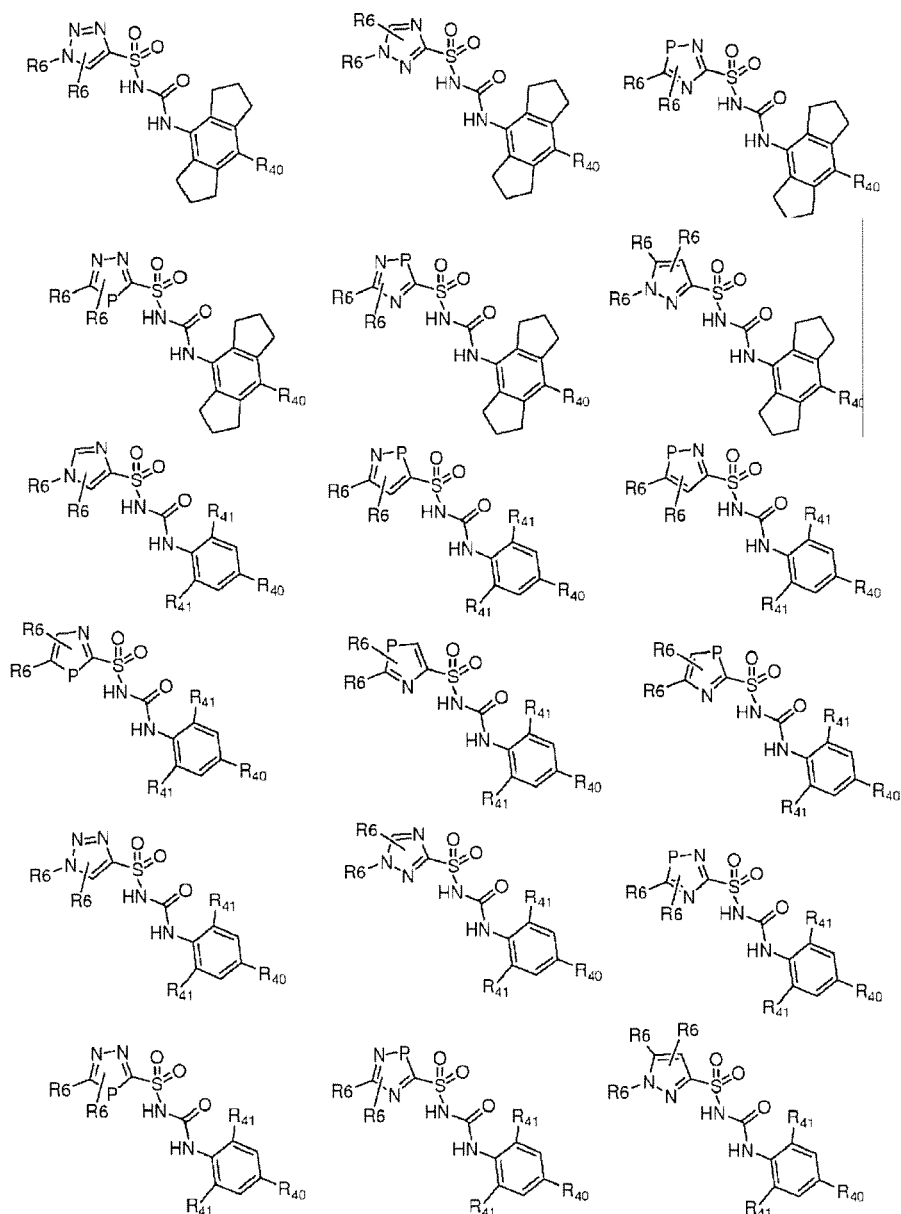
in cui Y, R₅ e R₆ sono come precedentemente definito; e

A, B, D ed E sono scelti tra N e C e almeno due tra A, B, D ed E sono N.

In una forma di realizzazione, il composto di formula (II) è scelto tra:



Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R



5

in cui R_{40} è scelto tra H, alchile C_1-C_6 e alogeno;

R_{41} è scelto tra alchile e cicloalchile;

ciascuna incidenza di P è indipendentemente scelta tra C, O o S; e

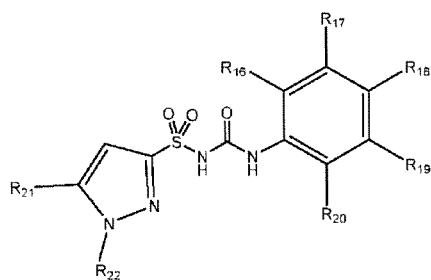
10 ciascuna incidenza di R_6 , quando presente, è indipendentemente scelta tra quei gruppi definiti per la formula (II).

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

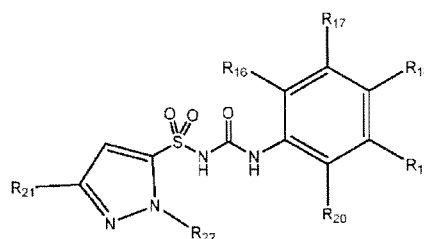
Si comprenderà che la porzione R_6 che si estende dal centro di ciascun anello può rappresentare un gruppo legato agli atomi di carbonio dell'anello o eteroatomi dell'anello, come appropriato prendendo in considerazione la valenza, o potrebbe non essere presente.

- 5 In una forma di realizzazione di formula (II), R_6 è alchile C_1-C_6 o alchilidrossi C_1-C_6 .

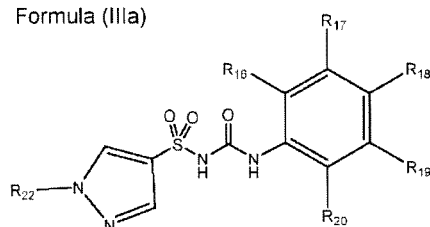
In una forma di realizzazione, il composto del primo aspetto può essere scelto tra un composto di formula (IIIa), (IIIb) o (IIIc), o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile:



Formula (IIIa)



Formula (IIIb)



Formula (IIIc)

10

in cui:

R_{21} è scelto tra H, alchile, peralogenoalchile o idrossialchile;

R_{22} è scelto tra H, alchile, peralogenoalchile, cicloalchile C_3-C_6 , fenile o benzile;

R_{18} è H o alogeno;

15 R_{16} e R_{17} , insieme agli atomi di carbonio a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile;

R_{19} e R_{20} , insieme agli atomi di carbonio a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile;

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n. 12058BM-041R

a condizione che R_{21} e R_{22} non siano entrambi H;

o in cui:

R_{21} è scelto tra H, alchile, peralogenoalchile o idrossilalchile;

R_{22} è scelto tra H, alchile, peralogenoalchile, cicloalchile C_3-C_6 , fenile o benzile;

5 R_{16} e R_{20} sono alchile C_{1-6} o cicloalchile C_{3-5} ;

R_{17} e R_{19} sono H;

R_{18} è H o alogeno; e

a condizione che R_{21} e R_{22} non siano entrambi H.

In una forma di realizzazione preferita dei composti di formula (IIIa), (IIIb)

10 e (IIIc):

R_{21} è scelto tra H, alchile, peralogenoalchile o idrossilalchile; preferibilmente peralogenoalchile o idrossilalchile C_{1-6} ;

R_{22} è scelto tra H, alchile, peralogenoalchile, cicloalchile C_3-C_6 , fenile o benzile;

15 R_{16} e R_{17} , insieme agli atomi a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile;

R_{19} e R_{20} , insieme agli atomi a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile;

R_{18} è H o alogeno, preferibilmente R_{18} è H; e

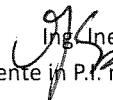
a condizione che R_{21} e R_{22} non siano entrambi H.

20 In un'altra forma di realizzazione preferita dei composti di formula (IIIa), (IIIb) e (IIIc):

R_{21} è scelto tra H, alchile, peralogenoalchile o idrossilalchile; preferibilmente peralogenoalchile o idrossilalchile C_{1-6} ;

R_{22} è scelto tra H, alchile, peralogenoalchile, cicloalchile C_3-C_6 , fenile e benzile;

25 R_{16} e R_{20} sono alchile C_{1-6} , preferibilmente isopropile;

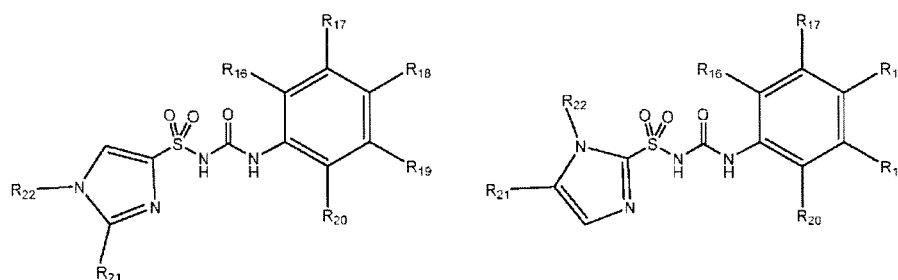

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

R₁₇ e R₁₉ sono H;

R₁₈ è H o alogeno; preferibilmente R₁₈ è H o Cl; e

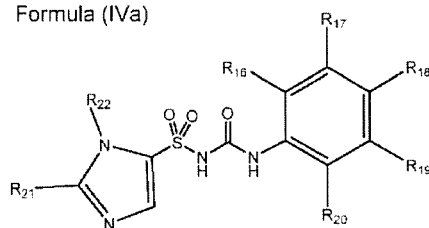
a condizione che R₂₁ e R₂₂ non siano entrambi H.

In una forma di realizzazione, il composto del primo aspetto può essere
5 scelto tra un composto di formula (IVa), (IVb) o (IVc), o un suo sale o solvato
farmaceuticamente accettabile:



Formula (IVa)

Formula (IVb)



Formula (IVc)

in cui:

R₂₁ e R₂₂ sono scelti tra H, alchile, peralogenoalchile, idrossilalchile, cicloalchile
C₃-C₆, fenile e benzile;

10 R₁₈ è H o alogeno;

R₁₆ e R₁₇, insieme agli atomi di carbonio a cui sono attaccati formano un anello
di ciclopentile;

R₁₉ e R₂₀, insieme agli atomi di carbonio a cui sono attaccati formano un anello
di ciclopentile;

15 a condizione che R₂₁ e R₂₂ non siano entrambi H;

o in cui:

R₂₁ e R₂₂ sono scelti tra H, alchile, peralogenoalchile, idrossilalchile, cicloalchile

C₃-C₆, fenile e benzile; preferibilmente in cui il peralogenoalchile e l'idrossilalchile sono peralogenoalchile e idrossilalchile C₁₋₆;

R₁₆ e R₂₀ sono alchile C₁₋₆ o cicloalchile C₃₋₅;

R₁₇ e R₁₉ sono H;

5 R₁₈ è H o alogeno; e

a condizione che R₂₁ e R₂₂ non siano entrambi H.

In una forma di realizzazione preferita dei composti di formula (IVa), (IVb) e (IVc):

R₂₁ e R₂₂ sono scelti tra H, alchile, peralogenoalchile, idrossilalchile, cicloalchile

10 C₃-C₆, fenile e benzile; preferibilmente il peralogenoalchile e l'idrossilalchile sono peralogenoalchile e idrossilalchile C₁₋₆;

R₁₆ e R₁₇, insieme agli atomi a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile;

15 R₁₉ e R₂₀, insieme agli atomi a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile;

R₁₈ è H o alogeno; preferibilmente R₁₈ è H; e

a condizione che R₂₁ e R₂₂ non siano entrambi H.

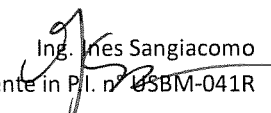
In un'altra forma di realizzazione preferita dei composti di formula (IVa), (IVb) e (IVc):

20 R₂₁ e R₂₂ sono scelti tra H, alchile, peralogenoalchile, idrossilalchile, cicloalchile C₃-C₆, fenile e benzile; preferibilmente il peralogenoalchile e l'idrossilalchile sono peralogenoalchile e idrossilalchile C₁₋₆;

R₁₆ e R₂₀ sono alchile C₁₋₆, preferibilmente isopropile;

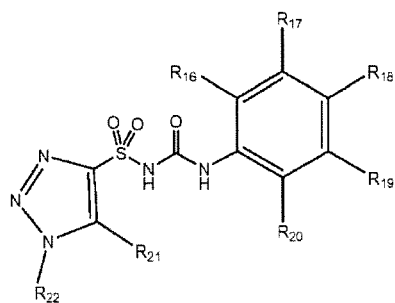
R₁₇ e R₁₉ sono H;

25 R₁₈ è H o alogeno; preferibilmente R₁₈ è H o Cl;

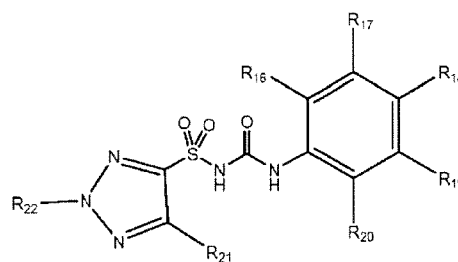
Ing.  Francesco Sangiacomo
Consulente in P.I. n° 45BM-041R

a condizione che R_{21} e R_{22} non siano entrambi H.

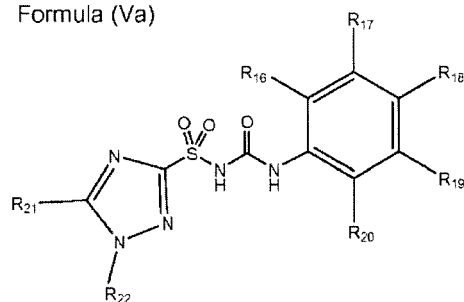
In una forma di realizzazione, il composto del primo aspetto può essere scelto tra un composto di formula (Va), (Vb) o (Vc), o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile:



Formula (Va)



Formula (Vb)



Formula (Vc)

5

in cui:

R_{21} e R_{22} sono scelti tra H, alchile, peralogenoalchile, idrossilalchile, cicloalchile C_3-C_6 , fenile e benzile;

R_{18} è H o alogeno;

10 R_{16} e R_{17} , insieme agli atomi di carbonio a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile;

R_{19} e R_{20} , insieme agli atomi di carbonio a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile;

a condizione che R_{21} e R_{22} non siano entrambi H;

o in cui:

15 R_{21} e R_{22} sono scelti tra H, alchile, peralogenoalchile, idrossilalchile, cicloalchile

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

C₃-C₆, fenile e benzile;

R₁₆ e R₂₀ sono alchile C₁₋₆ o cicloalchile C₃₋₅;

R₁₇ e R₁₉ sono H;

R₁₈ è H o alogeno; e

5 a condizione che R₂₁ e R₂₂ non siano entrambi H.

In una forma di realizzazione preferita dei composti di formula (Va), (Vb) e (Vc):

R₂₁ e R₂₂ sono scelti tra H, alchile, peralogenoalchile, idrossilalchile, cicloalchile C₃-C₆, fenile e benzile; preferibilmente il peralogenoalchile e l'idrossilalchile

10 sono peralogenoalchile e idrossilalchile C₁₋₆;

R₁₆ e R₁₇, insieme agli atomi a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile;

R₁₉ e R₂₀, insieme agli atomi a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile;

15 R₁₈ è H o alogeno; preferibilmente R₁₈ è H; e

a condizione che R₂₁ e R₂₂ non siano entrambi H.

In un'altra forma di realizzazione preferita dei composti di formula (Va), (Vb) e (Vc):

R₂₁ e R₂₂ sono scelti tra H, alchile, peralogenoalchile, idrossilalchile, cicloalchile

20 C₃-C₆, fenile e benzile; preferibilmente il peralogenoalchile e l'idrossilalchile sono peralogenoalchile e idrossilalchile C₁₋₆;

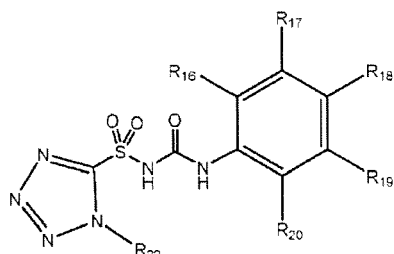
R₁₆ e R₂₀ sono alchile C₁₋₆, preferibilmente isopropile;

R₁₇ e R₁₉ sono H;

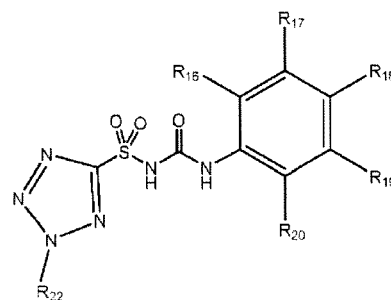
R₁₈ è H o alogeno; preferibilmente R₁₈ è H o Cl; e

25 a condizione che R₂₁ e R₂₂ non siano entrambi H.

In una forma di realizzazione, il composto del primo aspetto può essere scelto tra un composto di formula (VIa), (VIb), o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile:



Formula (VIa)



Formula (VIb)

in cui:

- 5 R₂₂ è scelto tra alchile, peralogenoalchile, cicloalchile C₃-C₆, fenile e benzile;
R₁₈ è H o alogeno;
R₁₆ e R₁₇, insieme agli atomi di carbonio a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile;
R₁₉ e R₂₀, insieme agli atomi di carbonio a cui sono attaccati formano un anello
10 di ciclopentile;
o in cui:
R₂₂ è scelto tra alchile, peralogenoalchile, cicloalchile C₃-C₆, fenile e benzile;
R₁₆ e R₂₀ sono alchile C₁₋₆ o cicloalchile C₃₋₅; preferibilmente isopropile o ciclopentile;
15 R₁₇ e R₁₉ sono H; e
R₁₈ è H o alogeno.

In una forma di realizzazione preferita dei composti di formula (VIa), (VIb)

:

- R₂₂ è scelto tra alchile, peralogenoalchile, idrossilalchile, cicloalchile C₃-C₆,
20 fenile e benzile; preferibilmente il peralogenoalchile e idrossilalchile sono peralogenoalchile e idrossilalchile C₁₋₆;

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.V. n° USBM-041R

R₁₆ e R₁₇, insieme agli atomi a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile;

R₁₉ e R₂₀, insieme agli atomi a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile; e

5 R₁₈ è H o alogeno; preferibilmente R₁₈ è H.

In un'altra forma di realizzazione preferita dei composti di formula (VIa), (VIb):

R₂₂ è scelto tra alchile, peralogenoalchile, idrossilalchile, cicloalchile C₃-C₆, fenile e benzile; preferibilmente il peralogenoalchile e idrossilalchile sono
10 peralogenoalchile e idrossilalchile C₁₋₆;

R₁₆ e R₂₀ sono alchile C₁₋₆, preferibilmente isopropile;

R₁₇ e R₁₉ sono H; e

R₁₈ è H o alogeno; preferibilmente R₁₈ è H o Cl.

I composti del primo aspetto, e in particolare quelli delle formule da (II) a
15 (VI), offrono una gamma di benefici inaspettati rispetto a quelle solfoniluree della tecnica nota, i cui benefici possono essere scelti tra: Stabilità microsomiale migliorata; Permeabilità migliorata; Responsabilità Pgp ridotta; Riduzione del legame con le proteine plasmatiche; Emivita aumentata; Biodisponibilità orale migliorata; AUC migliorata; Cmax migliorata; Inibizione del
20 Cyp ridotta; Migliore inibizione dell'attivazione dell'inflammasoma di NLRP3; e solubilità migliorata. La solubilità e alcuni altri miglioramenti possono essere visti in particolare in un ambiente acquoso.

In una forma di realizzazione, i composti del primo aspetto offrono caratteristiche farmacocinetiche migliorate. CRID3, una solfonilurea nota, ha
25 un'emivita di 3,2 ore (topo) che può portare a livelli sostanziali dal dosaggio QD

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

o BD quando il t1/2 viene estrapolato all'uomo. I composti del primo aspetto possono differire, ad esempio, nel loro legame con le proteine, nel metabolismo e nella disponibilità orale.

In particolare è stato scoperto che i composti del primo aspetto, in particolare quelli in cui A, B, D ed E formano un eteroarile di azoto da 5 elementi, ad esempio un anello di pirazolo, sono meno labili dal punto di vista metabolico e/o hanno proprietà farmacocinetiche migliorate su furani e tiofeni altrimenti strutturalmente simili visti nella tecnica nota.

In una forma di realizzazione, i composti del primo aspetto hanno un tPSA inferiore a 90 \AA^2 .

È un vantaggio dei presenti composti del primo aspetto che possono dimostrare una superficie polare significativamente ridotta rispetto alle solfoniluree della tecnica nota, come CRID3.

In un'ulteriore forma di realizzazione, i composti del primo aspetto hanno un tPSA inferiore a 90 \AA^2 e un peso molecolare inferiore a 405.

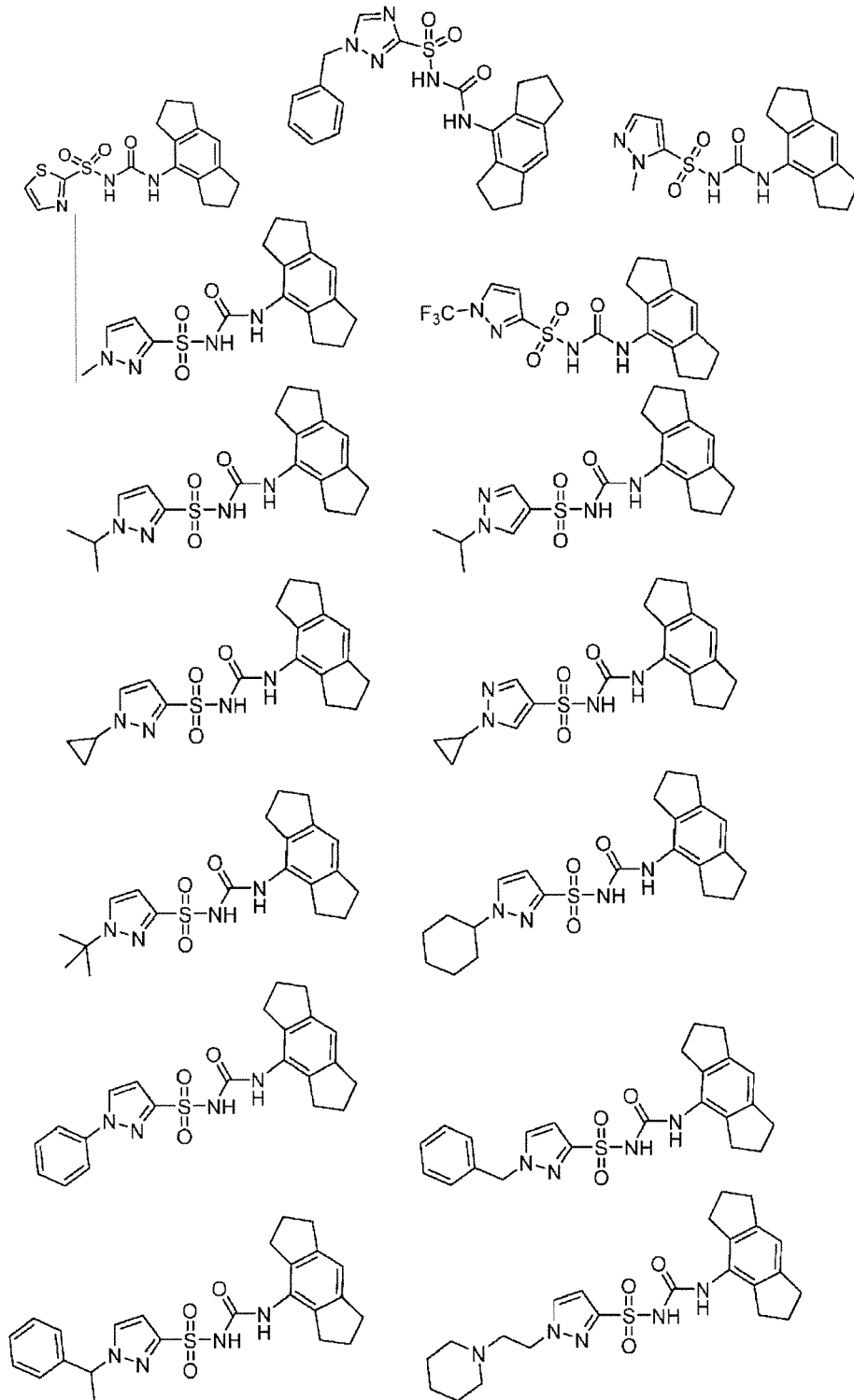
L'assenza di un gruppo di alcol terziario, in alcune forme di realizzazione, aumenta la concentrazione plasmatica e aiuta a ridurre sia il PM sia la superficie polare, migliorando in tal modo la penetrazione della barriera emato-encefalica.

In una qualsiasi delle forme di realizzazione descritte per il composto del primo aspetto, inclusi i composti di formula da (I) a (VI), uno o più idrogeni dei sostituenti o sostituzioni opzionali su di essi possono essere deuterati.

Analoghi deuterati dei composti dell'invenzione possono presentare una maggiore stabilità metabolica a causa dell'effetto isotopico cinetico.

In una forma di realizzazione, il composto del primo aspetto è scelto dal

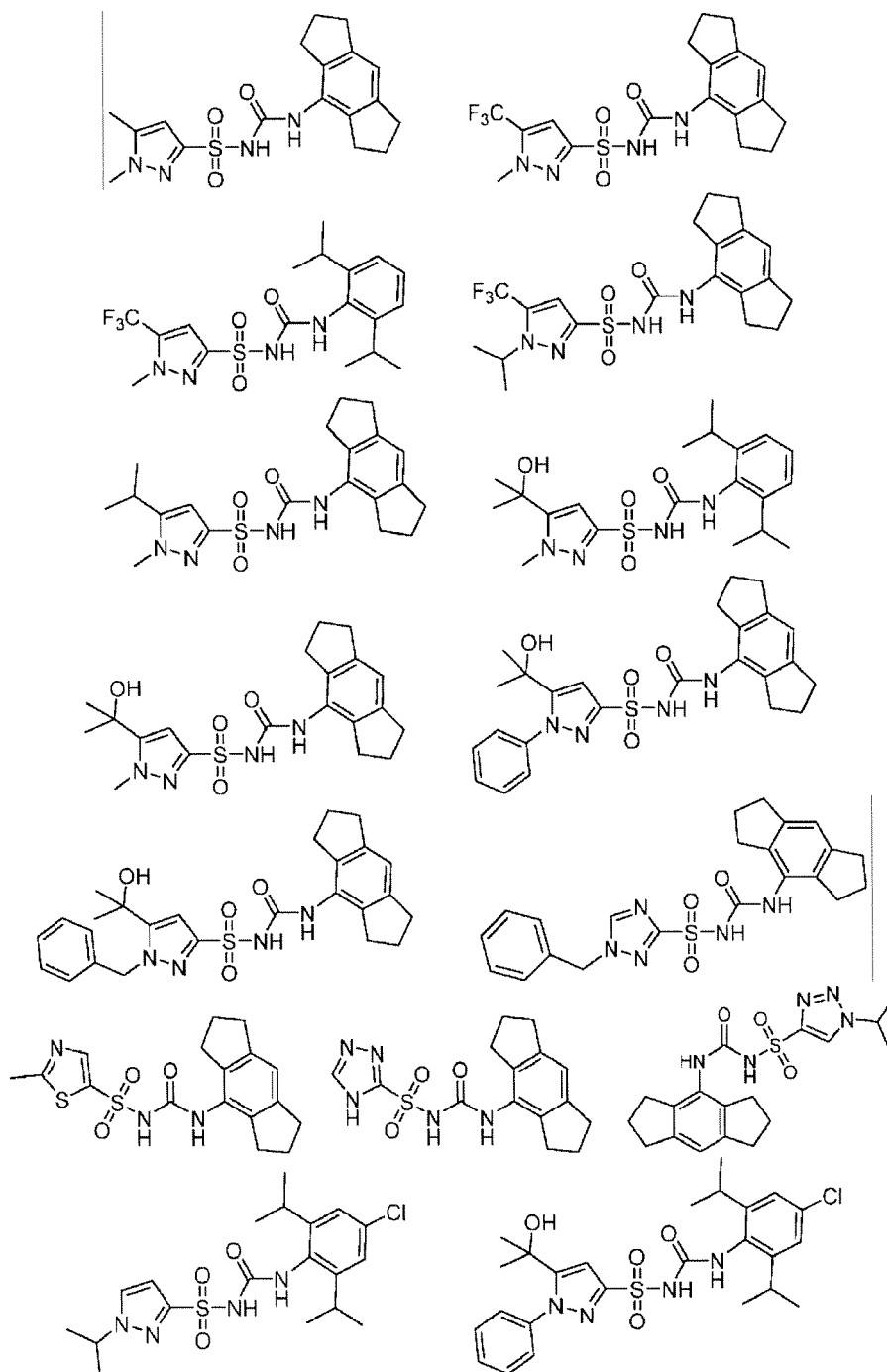
gruppo costituito da:



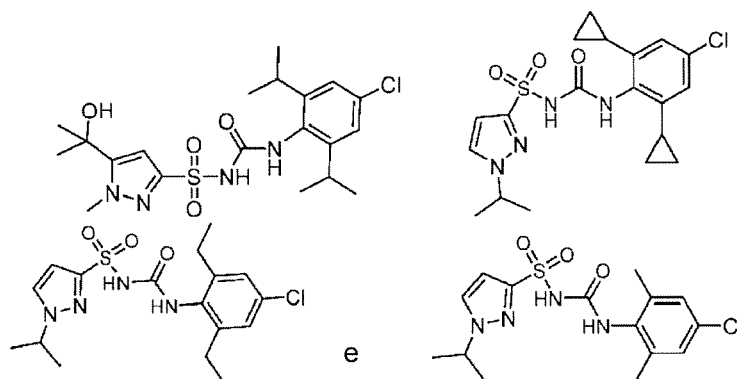
5

Ing. Ives Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

5



Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.A. n° USBM-041R



In determinate forme di realizzazione, i composti del primo aspetto possono presentare proprietà migliorate rispetto ai farmaci anti-diabete noti.

5 Si ritiene che i farmaci noti non mirino alla NLRP3 in misura terapeuticamente significativa e quindi sarebbe necessario utilizzare dosi molto elevate per avere un effetto significativo sull'infiammasoma di NLRP3. I composti del primo aspetto mostrano proprietà vantaggiosamente migliorate in una significativa riduzione dell'IC₅₀ rispetto all'infiammasoma di NLRP3 e
10 inoltre hanno i benefici, non realizzati dai farmaci per il diabete esistenti e altri farmaci, associati all'inibizione di NLRP3 come una migliore guarigione delle ferite e altri vantaggi qui descritti.

In una o più forme di realizzazione del primo aspetto e in relazione a uno o più dei composti di formula da (I) a (VI), il composto è un inibitore
15 dell'attivazione dell'infiammasoma di NLRP3.

Pertanto, si comprenderà che la presente invenzione prevede solfoniluree e farmaci correlati che presentano valori significativamente inferiori di IC₅₀ di NLRP3 nel dosaggio basato su cellule usando HMDM (si veda la sezione sperimentale per i protocolli) rispetto ai composti noti. I farmaci per il
20 diabete attualmente noti non sono potenti inibitori dell'infiammasoma di NLRP3 a dosi terapeutiche e per raggiungere tale inibizione richiederebbe un dosaggio

al di fuori dei livelli raccomandati. I presenti composti consentono di utilizzare dosi più basse e pertanto limitano il rischio di effetti tossici.

In un'ulteriore forma di realizzazione, uno o più dei composti del primo aspetto possono essere utili come composti fotosensibili che possono essere applicati in una gamma di usi incluso tuttavia senza limitazioni al rilascio di
5 insulina.

In alcune forme di realizzazione dell'invenzione uno o più composti del primo aspetto possono essere appropriati per l'uso come sonde, come sonde di fotoaffinità, o come intermedi reattivi che possono essere modificati
10 direttamente o mediante una porzione di collegamento a dare sonde fluorescenti biotinilate o di fotoaffinità.

Si comprenderà che i composti del primo aspetto possono essere modificati o derivati mediante mezzi ben compresi nella tecnica per consentire il collegamento con una molecola come la biotina, un gruppo fluorescente o una
15 marcatura di fotoaffinità.

In una forma di realizzazione, in cui il composto del primo aspetto, incluso qualsiasi composto di formula (I) a (VI), ha un pirazolo attaccato all'atomo di zolfo della solfonilurea, quindi il pirazolo non è sostituito con un arile o gruppo eteroarile.

20 In generale, alchilazione, acilazione o altre modificazioni lipofile di uno o più eteroatomi di un composto, come un'ammina libera o un residuo di acido carbossilico, possono ridurre la polarità e consentire il passaggio del composto nelle cellule. Esempi di gruppi sostituenti che possono sostituire uno o più atomi di idrogeno su una porzione di ammina libera e/o di acido carbossilico
25 includono, tuttavia senza limitazioni, i seguenti: arile; steroidi; carboidrati (inclusi

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

gli zuccheri); 1,2-diacilglicerolo; alcoli; acile (incluso l'acile inferiore); alchile (incluso alchile inferiore); estere solfonato (incluso alchile o arilalchilsolfonile, come metansolfonile e benzile, in cui il gruppo fenile è opzionalmente sostituito con uno o più sostituenti come previsto nella definizione di un arile qui fornita);
5 arilsolfonile opzionalmente sostituito; lipidi (inclusi i fosfolipidi); fosfatidilcoline; fosfocolina; residui o derivati di amminoacidi; residui o derivati di aminoacidi acilici; peptidi; colesteroli; o altri gruppi di partenza farmaceuticamente accettabili che, quando somministrati in vivo, forniscono l'ammina libera. Ognuna di queste frazioni può essere usata in combinazione con gli agenti attivi
10 descritti per ottenere l'effetto desiderato.

In alcune forme di realizzazione, sono forniti composti con uno o più centri chirali. Sebbene le miscele racemiche di composti dell'invenzione possono essere attive, selettive e biodisponibili, anche gli isomeri isolati possono essere interessanti.

15 I composti del primo aspetto possono contenere centri chirali, che possono essere di configurazione (R) o (S), o che possono comprendere una loro miscela. Di conseguenza, la presente invenzione include anche stereoisomeri dei composti qui descritti, ove applicabile, singolarmente o
20 miscelati in qualsiasi proporzione. Gli stereoisomeri possono includere, a titolo esemplificativo, enantiomeri, diastereomeri, miscele racemiche e loro combinazioni. Tali stereoisomeri possono essere preparati e separati usando tecniche tradizionali, sia facendo reagire materiali di partenza enantiomerici, sia separando isomeri di composti della presente invenzione. Gli isomeri possono
25 includere isomeri geometrici. Esempi di isomeri geometrici includono, tuttavia senza limitazione, isomeri cis o isomeri trans attraverso un doppio legame. Altri

Ing. Pres Sangiacomo
Consulente in P.I. n. USBM-041R

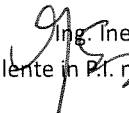
isomeri sono contemplati tra i composti della presente invenzione. Gli isomeri possono essere utilizzati in forma pura o in miscela con altri isomeri dei composti qui descritti.

Sono noti nell'arte vari metodi per preparare forme otticamente attive e determinare l'attività. Tali metodi includono test standard qui descritti e altri test simili che sono ben noti nella tecnica. Esempi di metodi che possono essere utilizzati per ottenere isomeri ottici dei composti secondo la presente invenzione includono quanto segue:

- i) separazione fisica dei cristalli per cui i cristalli macroscopici dei singoli enantiomeri vengono separati manualmente. Questa tecnica può essere utilizzata in particolare quando esistono cristalli di enantiomeri separati (vale a dire, il materiale è un conglomerato) e i cristalli sono visivamente distinti;
- ii) cristallizzazione simultanea per cui i singoli enantiomeri sono cristallizzati separatamente da una soluzione del racemato, possibile solo se quest'ultimo è un conglomerato allo stato solido;
- iii) risoluzioni enzimatiche in base alle quali la separazione parziale o completa di un racemato in virtù di diverse velocità di reazione per gli enantiomeri con un enzima;
- iv) sintesi enzimatica asimmetrica, una tecnica sintetica in base alla quale almeno una fase della sintesi utilizza una reazione enzimatica per ottenere un precursore sintetico enantiomericamente puro o arricchito dell'enantiomero desiderato;
- v) sintesi chimica asimmetrica mediante la quale l'enantiomero desiderato viene sintetizzato da un precursore achirale in condizioni che producono asimmetria (vale a dire chiralità) nel prodotto, che può essere ottenuta utilizzando

Ing. Ives Sangiacomo
Consulente in P.I. n. USBM-041R

- catalizzatori chirali o ausiliari chirali;
- vi) separazioni di diastereomeri per cui un composto racemico viene fatto reagire con un reagente enantiomericamente puro (ausiliario chirale) che converte i singoli enantiomeri in diastereomeri. I diastereomeri risultanti vengono quindi separati mediante cromatografia o cristallizzazione in virtù delle loro differenze strutturali ora più distinte e gli ausiliari chirali successivamente rimossi per ottenere l'enantiomero desiderato;
- vii) trasformazioni asimmetriche di primo e secondo ordine per cui i diastereomeri dal racemato equilibrato si equilibrano per produrre una preponderanza in soluzione del diastereomero dall'enantiomero desiderato o dove la cristallizzazione preferenziale del diastereomero dall'enantiomero desiderato perturba l'equilibrio tale che alla fine in linea di principio tutto l'equilibrio il materiale viene convertito nel diastereomero cristallino dall'enantiomero desiderato. L'enantiomero desiderato viene quindi rilasciato dai diastereomeri;
- viii) risoluzioni cinetiche comprendenti una risoluzione parziale o completa di un racemato (o di un'ulteriore risoluzione di un composto parzialmente risolto) in virtù di velocità di reazione disuguali degli enantiomeri con un reagente chirale, non racemico o un catalizzatore in condizioni cinetiche;
- ix) sintesi enantiospecifica da precursori non racemici per cui l'enantiomero desiderato è ottenuto da materiali di partenza non chirali e in cui l'integrità stereochimica non è o è minimamente compromessa nel corso della sintesi;
- x) cromatografia liquida chirale in base alla quale gli enantiomeri di un racemato sono separati in una fase mobile liquida in virtù delle loro diverse interazioni con una fase stazionaria. La fase stazionaria può essere realizzata in materiale


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

chirale oppure la fase mobile può contenere un materiale chirale aggiuntivo per provocare le diverse interazioni;

xi) gascromatografia chirale in base alla quale il racemato viene volatilizzato e gli enantiomeri sono separati in virtù delle loro diverse interazioni nella fase
5 mobile gassosa con una colonna contenente una fase adsorbente chirale non racemica fissa;

xii) estrazione con solventi chirali per cui gli enantiomeri sono separati in virtù della dissoluzione preferenziale di un enantiomero in un particolare solvente chirale; e

10 xiii) trasporto attraverso le membrane chirali per cui un racemato viene posto a contatto con una sottile barriera a membrana. La barriera in genere separa due fluidi miscibili, uno contenente il racemato, e una forza motrice come la concentrazione o la pressione differenziale provoca un trasporto preferenziale attraverso la barriera della membrana. La separazione si verifica a causa della
15 natura chirale non racemica della membrana che consente il passaggio di un solo enantiomero del racemato.

Il composto opzionalmente può essere fornito in una composizione che è arricchita enantiomericamente, come una miscela di enantiomeri in cui un enantiomero è presente in eccesso, in particolare, nella misura del 95% o più,
20 96% o più, 97 % o più, 98% o più, o 99% o più, incluso il 100%.

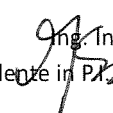
I termini (R), (S), (R, R), (S, S), (R, S) e (S, R) usati nel presente contesto indicano che la composizione contiene una proporzione maggiore dell'isomero nominato del composto in relazione ad altri isomeri. In una forma di realizzazione preferita, questi termini indicano che la composizione contiene
25 almeno il 90% in peso dell'isomero denominato e il 10% in peso o meno

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

dell'uno o più altri isomeri; o più preferibilmente circa il 95% in peso dell'isomero nominato e il 5% o meno dell'uno o più altri isomeri. In alcune forme di realizzazione, la composizione può contenere almeno il 99% in peso dell'isomero denominato e l'1% o meno in peso dell'uno o più altri isomeri, oppure può contenere il 100% in peso dell'isomero denominato e lo 0% in peso di quello di altri isomeri. Queste percentuali si basano sulla quantità totale del composto della presente invenzione presente nella composizione.

I composti del primo aspetto possono essere utilizzati di per sé o sotto forma di estere, ammidi, sale, solvato o isomero farmaceuticamente accettabili, a seconda dei casi. Ad esempio, il composto può essere fornito come sale farmaceuticamente accettabile. Se usato, un sale del composto farmacologico dovrebbe essere accettabile sia dal punto di vista farmacologico che farmaceutico, ma i sali non farmaceuticamente accettabili possono essere convenientemente usati per preparare il composto attivo libero o i suoi sali farmaceuticamente accettabili e non sono esclusi dall'ambito della presente invenzione. Tali sali farmacologicamente e farmaceuticamente accettabili possono essere preparati mediante reazione del farmaco con un acido organico o inorganico, usando metodi standard descritti in dettaglio in letteratura.

Esempi di sali farmaceuticamente accettabili dei composti utili secondo l'invenzione includono sali di addizione con acidi. Sali di acidi non farmaceuticamente accettabili, tuttavia, possono essere utili, ad esempio, nella preparazione e purificazione dei composti. Sali di addizione con acidi adatti secondo la presente invenzione includono acidi organici e inorganici. Sali preferiti includono quelli formati da acidi cloridrico, idrobromico, solforico, fosforico, citrico, tartarico, lattico, piruvico, acetico, succinico, fumarico, maleico,


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.A. USBM-041R

ossalacetico, metansolfonico, etansolfonico, p-toluensolfonico, benzensolfonico e isetionico. Altri sali utili di addizione con acido comprendono acido propionico, acido glicolico, acido ossalico, acido malico, acido malonico, acido benzoico, acido cinnamico, acido mandelico, acido salicilico e simili. Esempi particolari di

5 sali farmaceuticamente accettabili includono, tuttavia senza limitazioni, solfati, piosolfati, bisolfati, solfiti, bisolfiti, fosfati, monoidrogenofosfati, diidrogenofosfati, metafosfati, pirofosfati, cloruri, bromuri, ioduri, acetati, propionati, caprati, decanoati, acetati formati, isobutirradi, caproati, eptanoati, propiolati, ossalati, malonati, succinati, suberati, sebacati, fumarati, maleati,

10 butene-1,4-dioati, esina-1,6-dioati, benzoati, clorobenzoati, metilbenzoati, dinitrobenzoati, idrobenzoati, dinitrobenzoati, idrati metossibenzoati, ftalati, solfonati, xilensolfonati, fenilacetati, fenilpropionato, fenilbutirrato, citrati, lattati, γ -idrossibutirrati, glicolati, tartrati, metansolfonati, propansolfonati, naftalene-1-solfonati, naftalene-1-solfonati, naftalene-1-solfonati,

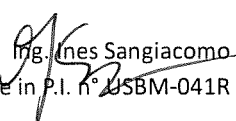
15 naftalene-1-solfonati, naftalene-1-solfonati e mandelati.

Un sale di addizione con acido può essere riconvertito nella base libera mediante trattamento con una base adatta. La preparazione di sali basici di frazioni acide che possono essere presenti su un composto secondo la presente invenzione può essere preparata in modo simile usando una base

20 farmaceuticamente accettabile, come idrossido di sodio, idrossido di potassio, idrossido di ammonio, idrossido di calcio, trietilammina o simili.

Gli esteri dei composti di agente attivo secondo la presente invenzione possono essere preparati attraverso la funzionalizzazione di gruppi ossidrilici e/o carbossilici che possono essere presenti all'interno della struttura

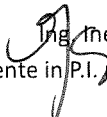
25 molecolare del composto. Le ammidi possono anche essere preparate usando


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

tecniche note agli esperti della tecnica. Ad esempio, le ammidi possono essere preparate da esteri, usando reagenti amminici adatti, oppure possono essere preparate da un'anidride o da un cloruro acido mediante reazione con ammoniaca o una alchilammina inferiore. Inoltre, esteri e ammidi di composti
5 dell'invenzione possono essere prodotti per reazione con un agente carbonilante (ad esempio etil formiato, anidride acetica, metossiacetil cloruro, benzoil cloruro, metilisocianato, etil cloroformiato, metansolfonil cloruro) e una base adatta (ad esempio 4-dimetilaminopiridina, piridina, trietilammina, carbonato di potassio) in un solvente organico adatto (ad esempio
10 tetraidrofurano, acetone, metanolo, piridina, N, N-dimetilformammide) ad una temperatura compresa tra 0 °C e 60 °C. Esempi di solvati farmaceuticamente accettabili includono, tuttavia senza limitazioni, composti secondo l'invenzione in combinazione con acqua, isopropanolo, etanolo, metanolo, DMSO, etil acetato, acido acetico o etanolammina.

15 Nel caso di composizioni solide, si comprende che i composti dell'invenzione possono esistere in forme diverse. Ad esempio, i composti possono esistere in forme cristalline stabili e metastabili e forme isotrope e amorfe, tutte intese a rientrare nell'ambito della presente invenzione.

Se un composto utile come agente attivo secondo l'invenzione è una
20 base, il sale desiderato può essere preparato mediante qualsiasi metodo adatto noto nella tecnica, incluso trattamento della base libera con un acido inorganico, come acido cloridrico, acido bromidrico, acido solforico, acido nitrico, acido fosforico o con un acido organico, come acido acetico, acido maleico, acido succinico, acido mandelico, acido fumarico, acido malonico,
25 acido piruvico, acido ossalico, acido glicolico, acido salicilico, acidi piranosidilici,


Agnes Sangiacomo
Consulente in P.I. n. 4581M-041R

come acido glucuronico e acido galatturonico, alfaidrossiacidi, come acido citrico e acido tartarico, amminoacidi, come acido aspartico e acido glutammico, acidi aromatici, come acido benzoico e acido cinnamico, acidi solfonici, come acido p-toluensolfonico e acido etansolfonico.

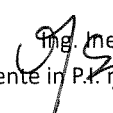
5 Se un composto descritto nel presente contesto come agente attivo è un acido, il sale desiderato può essere preparato mediante qualsiasi metodo adatto noto nella tecnica, incluso trattamento dell'acido libero con una base inorganica oppure organica, come un'ammina (primaria, secondaria o terziaria), un metallo alcalino o idrossido di metallo alcalino-terroso o simili. Esempi
10 illustrativi di sali adatti includono sali organici derivati da amminoacidi, come glicina e arginina, ammoniaca, ammine primaria, secondaria e terziaria, e ammine cicliche, come piperidina, morfolina e piperazina, e sali inorganici derivati da sodio, calcio, potassio, magnesio, manganese, ferro, rame, zinco, alluminio e litio.

15 Secondo un secondo aspetto dell'invenzione, viene fornita una composizione farmaceutica comprendente un composto di formula (I) a (VI), o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile, e un veicolo, diluente e/o eccipiente farmaceuticamente accettabili.

 Opportunamente, il vettore, diluente e/o eccipiente farmaceuticamente
20 accettabili possono essere o includere uno o più diluenti, solventi, tamponi pH, leganti, riempitivi, emulsionanti, disgreganti, polimeri, lubrificanti, oli, grassi, cere, rivestimenti, agenti che modificano la viscosità, antiagglomeranti e simili.

 Le forme saline dei composti dell'invenzione possono essere particolarmente utili a causa della loro migliorata solubilità.

25 In una forma di realizzazione, la composizione farmaceutica include una


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.A. n. USBM-041R

ciclodestrina.

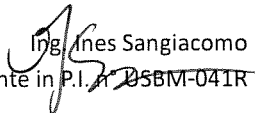
La ciclodestrina può essere scelta tra ciclodestrine alfa, beta o gamma.

In una forma di realizzazione, la ciclodestrina è selezionata tra una metil ciclodestrina, una idrossipropil ciclodestrina e una ciclodestrina solfobutiletere.

5 È stato scoperto che le ciclodestrine offrono vantaggi significativi nella formulazione e nella consegna dei composti dell'invenzione.

Formulazioni di ciclodestrina come ad esempio uno o più composti dell'invenzione con idrossipropil beta ciclodestrina o metil beta ciclodestrina, possono avere usi nel sequestro di colesterolo/abbassamento del colesterolo o
10 tramite inibizione di NLRP3 per steatoepatite non alcolica (NASH), malattia epatica alcolica, aterosclerosi e anche nel morbo di Alzheimer (AD).

I diluenti possono includere uno o più tra cellulosa microcristallina, lattosio, mannitolo, fosfato di calcio, solfato di calcio, caolino, amido secco, zucchero in polvere e simili. I leganti possono includere uno o più tra povidone,
15 amido, acido stearico, gomme, idrossipropilmetil cellulosa e simili. I disgreganti possono includere uno o più di amido, sodio croscarmellosso, crospovidone, glicolato di amido di sodio e simili. I solventi possono includere uno o più tra etanolo, metanolo, isopropanolo, cloroformio, acetone, metiletil chetone, metilene cloruro, acqua e simili. I lubrificanti possono comprendere uno o più tra
20 magnesio stearato, zinco stearato, calcio stearato, acido stearico, sodio stearil fumarato, olio vegetale idrogenato, gliceril-beenato e simili. Un antiagglomerante può essere uno o più tra biossido di silicio colloidale, talco o amido di mais e simili. I tamponi possono includere tamponi fosfato, tamponi di borato e tamponi di carbonato, sebbene senza limitazione. I riempitivi possono
25 includere uno o più gel inclusi gelatina, gel di amido e polimeri sintetici, anche


Ing. Anes Sangiacomo
Consulente in P.I. n° 05BM-041R

se senza limitazioni. I rivestimenti possono comprendere uno o più di formatori di film, solventi, plastificanti e simili. Formatori di film adatti possono essere uno o più tra idrossipropilmetil cellulosa, metil idrossietil cellulosa, etil cellulosa, idrossipropil cellulosa, povidone, sodio carbossimetil cellulosa, polietilenglicole, acrilati e simili. I solventi adatti possono essere uno o più tra acqua, etanolo, metanolo, isopropanolo, cloroformio, acetone, metiletil chetone, metilene cloruro e simili. I plastificanti possono essere uno o più tra glicole propilenico, olio di ricino, glicerina, polietilenglicole, polisorbati e simili.

Viene fatto riferimento all'Handbook of Excipients 6a Edizione, a cura di Rowe, Sheskey & Quinn (Pharmaceutical Press), che fornisce esempi non limitativi di eccipienti che possono essere utili secondo l'invenzione.

Si comprenderà che la scelta di veicoli, diluenti e/o eccipienti farmaceuticamente accettabili dipenderà, almeno in parte, dal modo di somministrazione della formulazione. A puro titolo di esempio, la composizione può essere sotto forma di una compressa, capsula, capsula, polvere, un liquido iniettabile, una supposta, una formulazione a rilascio lento, una formulazione a pompa osmotica o qualsiasi altra forma efficace e sicura per la somministrazione.

Opportunamente, la composizione farmaceutica è per il trattamento o la prevenzione di una malattia, disturbo o condizione in un mammifero.

Un quarto aspetto dell'invenzione prevede un composto della formula da (I) a (VI), o un suo sale o solvato farmaceuticamente efficace, o la composizione farmaceutica del secondo aspetto da utilizzare nel trattamento o nella prevenzione di una patologia, disturbo o condizione.

Un quinto aspetto dell'invenzione prevede l'uso di un composto della

Ing. Ales Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

formula da (I) a (VI), o un suo sale o solvato farmaceuticamente efficace, nella fabbricazione di un medicamento per il trattamento o la prevenzione di una patologia, disturbo o condizione.

Come generalmente usato nel presente contesto, i termini
5 "amministrazione" o "somministrazione", e simili, descrivono l'introduzione del composto o della composizione in un mammifero, ad esempio per un percorso o veicolo specifico. Le vie di somministrazione possono includere vie di somministrazione topiche, parenterali ed enterali che includono vie di somministrazione orale, buccale, sub-linguale, nasale, anale, gastrointestinale,
10 sottocutanea, intramuscolare e intradermica, sebbene senza limitazioni.

Con "trattare", "trattamento" o "trattando" si intende la somministrazione del composto o della composizione a un soggetto per almeno migliorare, ridurre o sopprimere i segni o i sintomi esistenti della patologia, del disturbo o della condizione da cui è affetto il soggetto.

15 Con "prevenire", "prevenzione" o "preventivo" si intende la profilassi della somministrazione della formulazione a un soggetto che non presenta segni o sintomi di una malattia, disturbo o condizione, ma che si prevede o si prevede che probabilmente presenti tali segni o sintomi in assenza di prevenzione. Il trattamento preventivo può almeno ridurre o parzialmente migliorare i sintomi o i
20 segni previsti.

Come utilizzato nel presente contesto, "quantità efficace" si riferisce alla somministrazione di una quantità del composto o della composizione rilevante sufficiente per prevenire l'insorgenza di sintomi della condizione da trattare o per arrestare il peggioramento dei sintomi o trattare e alleviare o almeno ridurre
25 la gravità dei sintomi. La quantità effettiva varierà in un modo che è compreso

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° 08BM-041R

da un esperto della tecnica con l'età, il sesso, il peso del paziente, eccetera. Un dosaggio appropriato o un regime posologico possono essere accertati attraverso uno studio di routine.

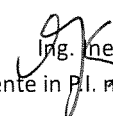
Come usato nel presente contesto, i termini "soggetto" o "individuo" o "paziente" possono riferirsi a qualsiasi soggetto, in particolare un soggetto
5 vertebrato, e ancora più particolarmente un soggetto mammifero, per il quale si desidera la terapia. Animali vertebrati adatti includono, tuttavia senza limitazioni, primati, aviari, animali da allevamento (ad esempio pecore, mucche, cavalli, asini, maiali), animali da test di laboratorio (ad esempio conigli, topi,
10 ratti, cavie, criceti), animali da compagnia (ad esempio gatti, cani) e animali selvatici in cattività (ad esempio volpi, cervi, dingo). Un soggetto preferito è un essere umano che ha bisogno di cure per una malattia, un disturbo o una condizione come descritto nel presente contesto. Tuttavia, si comprenderà che i termini sopra menzionati non implicano che i sintomi siano necessariamente
15 presenti.

In una forma di realizzazione specifica, la patologia, il disturbo o la condizione è quella che è sensibile all'inibizione dell'attivazione dell'inflammasoma di NLRP3.

Secondo la presente forma di realizzazione, il composto del primo
20 aspetto, o suo sale o solvato farmaceuticamente efficaci, è un inibitore specifico di NLRP3.

In un'ulteriore forma di realizzazione, la patologia, il disturbo o la condizione è sensibile alla modulazione di una o più cellule IL-1 β , IL-17, IL-18, IL-1 α , IL-37, IL-33 e Th17.

25 In una forma di realizzazione, la modulazione è l'inibizione di uno o più


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

tra IL-1 β , IL-17, IL-18, IL-1 α , IL-37 e IL-33. In una forma di realizzazione, la modulazione delle cellule Th17 è mediante inibizione della produzione e/o secrezione di IL-17.

In forme di realizzazione generali la patologia, il disturbo o la condizione
5 è una patologia, un disturbo o una condizione del sistema immunitario, del sistema cardiovascolare, del sistema endocrino, del tratto gastrointestinale, del sistema renale, del sistema respiratorio, il sistema nervoso centrale, è un cancro o altra malattia maligna e/o è causato/a da o associato/a a un patogeno.

Si comprenderà che queste forme di realizzazione generali definite
10 secondo ampie categorie di patologie, disturbi e condizioni non si escludono a vicenda. A questo proposito, qualsiasi specifica patologia, disturbo o condizione può essere classificata/o secondo più di una delle forme di realizzazione generali di cui sopra. Un esempio non limitativo è il diabete di tipo I che è una patologia autoimmune e una patologia del sistema endocrino.

15 In una forma di realizzazione, la patologia, il disturbo o la condizione è a carico del sistema immunitario. In particolari forme di realizzazione, la patologia, il disturbo o la condizione è una patologia, un disturbo o una condizione infiammatoria o una patologia, un disturbo o una condizione autoimmune.

In una forma di realizzazione, la patologia, il disturbo o la condizione è a
20 carico della cute.

In una forma di realizzazione, la patologia, il disturbo o la condizione è a carico del sistema cardiovascolare.

In una forma di realizzazione, la patologia, il disturbo o la condizione è un cancro, un tumore o altra malattia maligna. Come utilizzato nel presente
25 contesto, cancro, tumori e malattie maligne, si riferiscono a patologie, disturbi o

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P. n.° USBM-041R

condizioni, oppure a cellule o tessuti associati a patologie, disturbi o condizioni, caratterizzati da proliferazione, differenziazione e/o migrazione delle cellule aberranti o anomale spesso accompagnate da un aberrante o fenotipo molecolare anormale che include una o più mutazioni genetiche o altri
5 cambiamenti genetici associati a oncogenesi, espressione di marcatori tumorali, perdita di espressione o attività di soppressore tumorale e/o espressione di marcatori di superficie cellulare aberranti o anomali. In forme di realizzazione generali, cancri, tumori e malattie maligne possono includere sarcomi, linfomi, leucemie, tumori solidi, blastomi, gliomi, carcinomi, melanomi e tumori
10 metastatici, sebbene senza limitazioni. Un elenco più completo di cancri, tumori e malattie maligne può essere trovato sul sito web del National Cancer Institutes <http://www.cancer.gov/cancertopics/types/alphalist>.

In una forma di realizzazione, la patologia, il disturbo o la condizione è a carico del sistema renale.

15 In una forma di realizzazione, la patologia, il disturbo o la condizione è a carico dell'apparato gastrointestinale.

In una forma di realizzazione, la patologia, il disturbo o la condizione è a carico dell'apparato respiratorio.

In una ulteriore forma di realizzazione, la patologia, il disturbo o la
20 condizione è a carico del sistema endocrino.

In una forma di realizzazione, la patologia, il disturbo o la condizione è a carico del sistema nervoso centrale (SNC).

In una forma di realizzazione, la patologia, il disturbo o la condizione è provocato/a da, o è associato/a a, un patogeno. L'agente patogeno può essere
25 un virus, un batterio, un protista, un verme o un fungo o qualsiasi altro

Ing. Jhes Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

organismo in grado di infettare un mammifero, tuttavia senza limitazioni.

Esempi non limitativi di virus includono virus influenzale, citomegalovirus, virus di Epstein Barr, virus dell'immunodeficienza umana (HIV), alphavirus come Chikungunya e virus del fiume Ross, flavivirus come il virus Dengue, il virus Zika e il papillomavirus, tuttavia senza limitazioni.

Esempi non limitativi di batteri patogeni includono *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori*, *Bacillus anthracis*, *Bordetella pertussis*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Listeria monocytogenes*, *Hemophilus influenzae*, *Pasteurella multocida*, *Shigella dysenteriae*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium leprae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma hominis*, *Neisseria meningitidis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Rickettsia rickettsii*, *Legionella pneumophila*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Propionibacterium acnes*, *Treponema pallidum*, *Chlamydia trachomatis*, *Vibrio cholerae*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella typhi*, *Borrelia burgdorferi* e *Yersinia pestis*, sebbene non siano limitati a questi.

Esempi non limitativi di protisti includono Plasmodium, Babesia, Giardia, Entamoeba, Leishmania e Tripanosomi, tuttavia senza limitazioni.

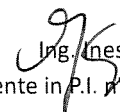
Esempi non limitativi di vermi includono elminti, inclusi schistosomi, nematodi, tenie e trematodi, tuttavia senza limitazioni.

Esempi non limitativi di funghi includono le specie Candida e Aspergillus, tuttavia senza limitazioni.

Altre patologie, disturbi o condizioni rilevanti possono essere selezionati dal gruppo costituito da quelli citati nell'articolo di giornale trovato su: <http://onlinelibrary.wiley.com/store/10.1111/j.1365-2249.2011.04440.x/asset/j.1365->

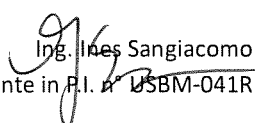
2249.2011.04440.x.pdf?v=1&t=i60c1phf&s=d26f50a2622926cc6b4bc855bd911
ae9dc9750cf.

In forme di realizzazione specifiche, la patologia, il disturbo o la condizione sono selezionati dal gruppo costituito dall'infiammazione costitutiva, comprese le sindromi periodiche associate alla criopirina (CAPS): Sindrome di Muckle-Wells (MWS), sindrome autoinfiammatoria fredda familiare (FCAS) e malattia infiammatoria multisistemica a insorgenza neonatale (NOMID); incluse le malattie autoinfiammatorie: febbre mediterranea familiare (FMF), sindrome periodica associata al recettore del TNF (TRAPS), deficit di mevalonato chinasi (MKD), iperimmunoglobulinemia D e sindrome della febbre periodica (HIDS), deficit di antagonista del recettore dell'interleuchina 1 (DIRA), sindrome di Majeed, artrite piogenica, pioderma gangrenoso e acne (PAPA), aploinsufficienza di A20 (HA20), artrite granulomatosa pediatrica (PGA), deficit di anticorpo associato a PLCG2 e disregolazione immunitaria (PLAID), autoinfiammazione associata a PLCG2, deficienza di anticorpi e disregolazione immunitaria (APLAID), anemia sideroblastica con immunodeficienza a cellule B, febbri periodiche e ritardo dello sviluppo (SIFD); Sindrome di Sweet, osteomielite cronica non batterica (CNO), osteomielite multifocale ricorrente cronica (CRMO) e sinovite, acne, pustulosi, iperostosi, sindrome dell'osteite (SAPHO); malattie autoimmuni tra cui sclerosi multipla (SM), diabete di tipo 1, psoriasi, artrite reumatoide, morbo di Behcet, sindrome di Sjogren e sindrome di Schnitzler; malattie respiratorie inclusi disturbo polmonare ostruttivo cronico (BPCO), asma resistente agli steroidi, asbestosi, silicosi e fibrosi cistica; malattie del sistema nervoso centrale tra cui il morbo di Parkinson, il morbo di Alzheimer, la malattia dei motoneuroni, la malattia di Huntington, la malaria


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n. USBM-041R

cerebrale e le lesioni cerebrali da meningite pneumococcica; malattie metaboliche tra cui diabete di tipo 2, aterosclerosi, obesità, gotta, pseudo-gotta; malattie oculari comprese quelle dell'epitelio oculare, degenerazione maculare legata all'età (AMD), infezione corneale, uveite e secchezza oculare; malattia
5 renale inclusa malattia renale cronica, nefropatia da ossalato e nefropatia diabetica; malattia epatica inclusa steatoepatite non alcolica e malattia epatica alcolica; reazioni infiammatorie nella pelle tra cui ipersensibilità da contatto e scottature solari; reazioni infiammatorie delle articolazioni tra cui artrosi, artrite idiopatica giovanile sistemica, malattia di Still ad insorgenza nell'adulto,
10 policondrite recidivante; infezioni virali tra cui virus alfa (Chikungunya, Ross River) e flavivirus (virus Dengue e Zika), influenza, HIV; idradenite suppurativa (HS) e altre malattie della pelle che causano cisti; cancro inclusi metastasi del cancro del polmone, cancro del pancreas, cancro gastrici, sindrome mielodisplastica, leucemia; polimiosite; ictus; infarto miocardico; malattia del
15 trapianto contro l'ospite; ipertensione; colite; infezione da elminti; infezione batterica; aneurisma dell'aorta addominale; la guarigione delle ferite; depressione, stress psicologico; pericardite inclusa la sindrome di Dressler, lesione da riperfusione da ischemia e qualsiasi malattia in cui è stato stabilito che un individuo porti una mutazione germinale o somatica non silente in
20 NLRP3.

In un esempio non limitativo di quelli descritti, la patologia, il disturbo o la condizione da trattare è la NASH. L'attivazione dell'inflammasoma di NLRP3 è fondamentale per il reclutamento infiammatorio in NASH e l'inibizione di NLRP3 può sia prevenire sia invertire la fibrosi epatica. I composti della presente
25 invenzione, interrompendo la funzione degli inflammasomi di NLRP3 nel tessuto


Ing. Ives Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

epatico, possono causare riduzioni istologiche dell'infiammazione del fegato, riduzione del reclutamento di macrofagi e neutrofilii e soppressione dell'attivazione di NF- κ B. L'inibizione di NLRP3 può ridurre l'espressione epatica di pro-IL-1 β e livelli epatici e circolanti normalizzati di IL-1 β , IL-6 e MCP-1, contribuendo in tal modo al trattamento della patologia.

In un ulteriore esempio non limitativo di quelli descritti, la patologia, il disturbo o la condizione da trattare è asma grave resistente agli steroidi (SSR). Le infezioni respiratorie inducono un asse di segnalazione inflammasoma/caspasi-1/IL-1 β di NLRP3 nei polmoni che promuove l'asma SSR. L'inflammasoma di NLRP3 recluta e attiva pro-caspasi-1 per indurre risposte di IL-1 β . Le risposte di IL-1 β indotte dall'inflammasoma di NLRP3 sono quindi importanti nel controllo delle infezioni, tuttavia un'eccessiva attivazione provoca un'infiammazione aberrante ed è stata associata alla patogenesi dell'asma SSR e della BPCO. La somministrazione di composti del primo aspetto che bersagliano specifici processi patologici, sono più terapeuticamente attraenti rispetto all'inibizione non specifica delle risposte infiammatorie con steroidi o IL-1 β Il bersagliamento dell'asse di segnalazione dell' inflammasoma di NLRP3/caspasi-1/IL-1 β con i composti del primo aspetto può quindi essere utile nel trattamento dell'asma SSR e di altre condizioni infiammatorie resistenti agli steroidi.

In un ulteriore esempio non limitativo di quelli descritti, la patologia, il disturbo o la condizione da trattare è il morbo di Parkinson. Il morbo di Parkinson è il disturbo del movimento neurodegenerativo più comune ed è caratterizzato da una perdita selettiva di neuroni dopaminergici, accompagnata dall'accumulo di α -sinucleina (Syn) ripiegata male nei corpi di Lewy che sono

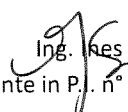
Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

segni patologici della patologia. La neuroinfiammazione microgliale cronica è evidente all'inizio della patologia ed è stata proposta per guidare la patologia.

Un ruolo centrale per la NLRP3 microgliale è postulato nella progressione del Parkinson. L'inflammasoma di NLRP3 è attivato da Syn
5 fibrillare tramite un meccanismo dipendente dalla chinasi Syk e si verifica anche in assenza di patologia Syn nelle prime fasi della degenerazione dopaminergica e guida la perdita neuronale. I composti del primo aspetto possono bloccare l'attivazione dell'inflammasoma di NLRP3 mediante fibrillina Syn o disfunzione
10 mitocondriale e quindi conferire un'efficace neuroprotezione del sistema dopaminergico nigrostriatale e aiutare il trattamento del Parkinson.

In un sesto aspetto dell'invenzione viene fornito un composto del primo
aspetto, o un suo sale o solvato farmaceuticamente efficace, o la composizione
farmaceutica del secondo aspetto da usare nella diagnosi di una patologia,
disturbo o condizione in un mammifero inclusa la fase di somministrazione di un
15 composto marcato da formula (I) a (VI), o di un suo sale o solvato farmaceuticamente efficace, al mammifero o a un campione biologico ottenuto dal mammifero per facilitare la diagnosi della patologia, del disturbo o della
condizione nel mammifero.

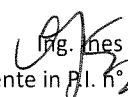
L'attivazione dell'inflammasoma, in particolare quella dell'inflammasoma
20 di NLRP3, è nota per guidare l'inizio, la progressione e lo sviluppo cronico di un vasto numero di patologie infiammatorie. Le solfoniluree e i composti correlati del primo aspetto sono potenti e specifici inibitori diretti di NLRP3. Di conseguenza, una sonda chimica specifica per NLRP3, che è presente nelle
cellule immunitarie durante l'infiammazione ha una potenziale utilità nella
25 diagnosi di patologie infiammatorie e di altre malattie correlate. Una sonda di


Ing. Res Sangiacomo
Consulente in P. n° 458BM-041R

attivazione di NLRP3 comprendente un composto del primo aspetto potrebbe agire come un efficace biomarcatore surrogato della patologia infiammatoria per la diagnostica *ex vivo* (sangue) o *in vivo* (MRI, PET, eccetera).

L'uso dei composti del primo aspetto nella diagnosi di patologie
5 infiammatorie e di altre patologie correlate, come quelle sopra elencate, può essere ottenuto mediante imaging fluorescente nel vicino infrarosso e caratterizzazione *ex vivo* delle cellule immunitarie mediante il grado di inibizione dell'IL-1beta, scissione pro-caspasi 1 e livelli di IL-18. In particolare, sono rilevanti i monociti del sangue periferico (PMBC), i macrofagi, le cellule
10 dendritiche, le cellule T CD4⁺, le cellule Th17, le cellule Th1 e Th2. Diagnostica *in vivo* mediante risonanza magnetica (MRI). H2 (deuterio) ¹³C, ¹⁹F, ¹⁵N varianti marcate di [classi composte] date a un paziente EV, IM, SC, PO, topico, IT, eccetera.

Anche la diagnostica *in vivo* che utilizza la tomografia a emissione di
15 positroni (PET) è appropriata. La PET è una tecnica di imaging molecolare che richiede sonde specifiche radiomarcate con radionuclidi a emissione di positroni di breve durata. Gli isotopi tipici includono ¹¹C, ¹³N, ¹⁵O, ¹⁸F, ⁶⁴Cu, ⁶²Cu, ¹²⁴I, ⁷⁶Br, ⁸²Rb e ⁶⁸Ga, con ¹⁸F che è il più utilizzato clinicamente. In particolare è possibile produrre in modo semplice un sale stabile da ⁶⁴Cu o ⁶²Cu di uno o più
20 dei composti dell'invenzione mediante semplice scambio ionico con un sale di sodio (o altro catione monovalente) di detti composti. Questo consente una rapida preparazione di una sonda diagnostica per radioimmagini, PET e simili per cui intensità, posizione e accrescimento temporale della sonda diagnostica sono in grado di identificare il grado e/o la posizione delle cellule immunitarie
25 con NLRP3 attivato come biomarcatore surrogato del stato infiammatorio del


Fig. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

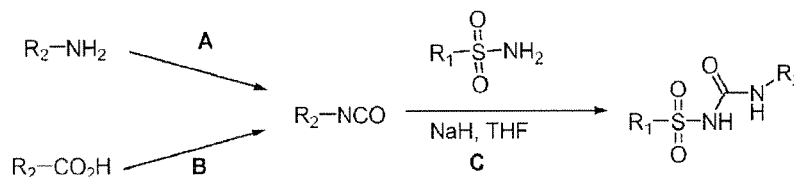
paziente e sito di infiammazione all'interno del corpo. Saranno anche utili per l'applicazione a campioni biologici rimossi dal corpo, vale a dire diagnosi *in vitro*.

Come generalmente usato nel presente contesto, un campione biologico può comprendere cellule, tessuti, fluidi, molecole o altri materiali biologici ottenuti o ottenibili da un mammifero. Esempi non limitativi includono urina, sangue e loro frazioni come siero, plasma, linfociti ed eritrociti, liquido cerebrospinale, strisci PAP, secrezioni nasali e oculari, liquido amniotico, feci, sperma, biopsie di tessuti e/o organi e acido nucleico (ad esempio DNA, RNA) o campioni di proteine, tuttavia senza limitazioni.

La seguente sezione sperimentale descrive più in dettaglio la caratterizzazione di alcuni dei composti dell'invenzione e la loro efficacia. L'intenzione è di illustrare alcune forme di realizzazione specifiche dei composti dell'invenzione e la loro efficacia senza limitare l'invenzione in alcun modo.

15 SEZIONE SPERIMENTALE

Metodi sintetici generali



Metodo A:

20 **A1:** A una soluzione di R_2 ammina intermedia (1 eq.) con o senza base come, ma non esclusivamente, trietilammina (1,2 eq.) in un solvente aprotico anidro come, ma non esclusivamente, tetraidrofurano o diclorometano è stato aggiunto trifosgene (da 0,4 a 1.1 eq.). La reazione è stata agitata a

Ing. Ives Sangiacomo
Consulente in P.I. n° 115BM-041R

temperatura ambiente o, se necessario, riscaldata a riflusso fino al completamento, in genere da 2 a 18 ore.

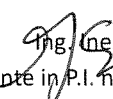
A2: A di-*t*-butildicarbonato (1,2-1,4 eq.) in acetonitrile anidro o a THF è stato addizionato DMAP (15-100% in moli), dopo 5 minuti, è stata addizionata una
5 soluzione di intermedio R2 ammina (1,0 eq.) in acetonitrile. La miscela di reazione è stata agitata per 30-60 minuti a temperatura ambiente.

Metodo B:

B1: L'intermedio dell'acido carbossilico R2 (1 eq.) è stato sciolto in un solvente aprotico come toluene con o senza 2 gocce di DMF e addizionato un agente
10 clorante come cloruro di tionile (2 eq.). La miscela di reazione è stata riscaldata a riflusso fino al completamento, quindi concentrata *nel vuoto* per fornire il corrispondente intermedio cloruro acido R2.

Metodi alternativi per formare il cloruro acido sono ugualmente utili qui, ad esempio la procedura sopra può essere eseguita senza toluene e DMF usando
15 quindi cloruro di tionile sia come solvente che come agente clorante. L'intermedio cloruro di acido R2 è stato sciolto in acetone e addizionato goccia a goccia a una soluzione di azoturo di sodio (1,5 eq) in una soluzione di acqua: acetone (50:50) a 0 °C. È stata addizionata acqua ghiacciata per precipitare l'intermedio dell'acilazoturo R2 risultante che è stato sciolto in toluene ed
20 essiccato (MgSO₄) prima di aggiungere la soluzione goccia a goccia al toluene anidro a riflusso mantenendo un flusso costante di gas inerte. La reazione è stata riscaldata fino al completamento, in genere 2 ore, a dare l'isocianato R2.

B2: All'acido cloridrico R2 (formato come indicato nel metodo B1) in CH₂Cl₂ secco è stato addizionato NaN₃ (2,0 eq.) a 0 °C. La miscela di reazione è stata
25 agitata a temperatura ambiente per 1 ora ed estratta in EtOAc. Lo strato


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

organico è stato lavato con H₂O (15 mL), essiccato (MgSO₄) ed evaporato con cura a dare acil azoturo. L'acil azoturo è stata sciolto in toluene secco e riscaldato a 100 °C per 2 ore. Il solvente è stato rimosso a dare isocianato di R2 grezzo.

5 **Metodo C:**

C1: L'intermedio di solfonammide R1 (1 eq.) è stato sciolto in THF anidro e trattato con NaH (1 eq.) a pressione ridotta. La miscela è stata riscaldata a riflusso per 2 ore, quindi raffreddata a temperatura ambiente e intermedio di isocianato R2 in THF addizionato sotto atmosfera di azoto. La miscela di
10 reazione è stata agitata a riflusso fino al completamento.

C2: L'intermedio di solfonammide R1 (1 eq.) è stato sciolto in THF anidro o metanolo anidro e trattato con NaH (1 eq.) a pressione ridotta. Una volta cessata l'effervescenza, è stato addizionato l'intermedio isocianato R2 e la miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente durante la notte.

15 **C3:** All'intermedio di solfonammide R1 (1 eq) in THF anidro (5 mL/mmol) è stato addizionato NaH (1 eq) a 0 °C e agitato per 30 minuti a 2 ore, o fino al completamento, a temperatura ambiente in atmosfera di azoto. Ancora raffreddato a 0 °C, è stato addizionato isocianato R2 (1,0 eq) in THF e agitato a temperatura ambiente fino al completamento, in genere da 2 a 16 ore.

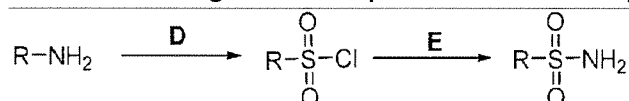
20 **C4:** All'isocianato R2 grezzo (1,0 eq) in THF anidro o DCM (5-11 mL/mmol) è stato addizionato solfonammide R1 (1,0 eq) seguito da una base come trietilamina, DIPEA o DBU (1-2 eq) e la miscela di reazione mescolata a temperatura ambiente durante la notte.

25 **C5:** All'intermedio di solfonammide R1 (1 eq) in MeOH anidro (5 mL/mmol) è stato addizionato NaOMe (1 eq) [in alternativa: una soluzione da 1,0 mM di

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

metossido di sodio appena preparato (1 eq) è stata addizionata a una soluzione di 1,0 mM di solfonammide R1 (1 eq) in metanolo anidro]. Il solvente è stato quindi rimosso *nel vuoto*. Il sale è stato sospeso in solvente aprotico anidro come acetonitrile o THF, è stato addizionato l'isocianato R2 (1,0 eq) in solvente aprotico anidro come acetonitrile o THF e la miscela è stata agitata a temperatura ambiente durante la notte. La soluzione è stata quindi riscaldata a riflusso fino al completamento, in genere 90 minuti.

C6: Solfonammide R1 (1,0 eq.) è stato sciolto in THF anidro in atmosfera di azoto. Il metossido di sodio solido (1,0 eq mmol) è stato addizionato in una porzione. Questa miscela è stata agitata a temperatura ambiente per 3 ore. Una soluzione di isocianato R2 (1,17 eq) in THF è stata addizionata goccia a goccia. La miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per tutta la notte.



Metodo D:

Una soluzione di ammina (1,0 eq) in acetonitrile (7-12 mL/mmol) a 0 °C è stata trattata con c.HCl (1,25-2,25 mL/mmol) in H₂O (0,5-1,2 mL/mmol) seguito da una soluzione acquosa di NaNO₂ (1,2 eq) disciolta in H₂O (0,3-0,5 mL/mmol di NaNO₂). La soluzione risultante è stata agitata a 0 °C per 45 minuti. AcOH (0,5-1,2 mL/mmol), CuCl₂ · 2H₂O (0,5 eq) e CuCl (0,05 eq) sono stati addizionati in sequenza alla miscela di cui sopra e spurgati con gas SO₂ per 20 minuti a 0 °C. La risultante miscela di reazione è stata agitata a 0 °C-10 °C fino al completamento.

Metodo E:

E1: Una soluzione di solfonil cloruro (1 eq) in THF (10-20 mL/mmol) è stata raffreddata a -78 °C e il gas di ammoniaca è stato gorgogliato attraverso la

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

soluzione per 15 minuti, l'agitazione è stata continuata per altri 30 minuti, quindi è stata lasciata al caldo a temperatura ambiente e mescolato per 2 ore o fino al completamento.

E2: Una soluzione di solfonil cloruro (1 eq) in acetone (20 mL/mmol) è stata trattata con una soluzione di NH_4HCO_3 (4 eq) sciolta in acqua (1,5 mL/mmol di NH_4HCO_3) a temperatura ambiente e agitata per 4 ore o fino al completamento.

E3: Una soluzione di solfonil cloruro (1 eq) in acetone (2,5 mL/mmol) è stata trattata con NH_3 (3,5 mL/mmol, NH_4OH in H_2O , base NH_3 al 28%) a 0 °C e agitata per 2 ore o fino al completamento.

10 **Metodo F**

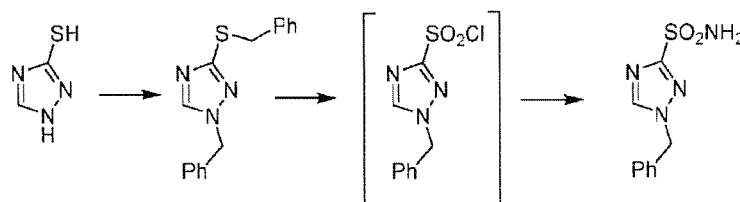


Procedura generale per la sintesi di triazoli

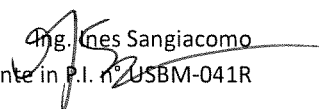
Alchine (1 eq) e azoturo (1,2 eq), 5 mol% di CuSO_4 , 10 mol% di soluzione NaAsc in DMSO (500 μL) sono stati agitati a temperatura ambiente fino al completamento, in genere 12 ore.

Sintesi di intermedi solfonamidici:

1-benzil-1H-1,2,4-triazolo-3-solfonamide



Una soluzione di 1H-1,2,4-triazolo-3-tiolo (1 g, 9,90 mmol) in DMF (20 mL) è stata trattata con K_2CO_3 (4,8g, 34,7 mmol), raffreddata a 0 °C, quindi benzil bromuro (4,2 g, 24,8 mmol) è stato aggiunto goccia a goccia per 5 minuti. La risultante miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura

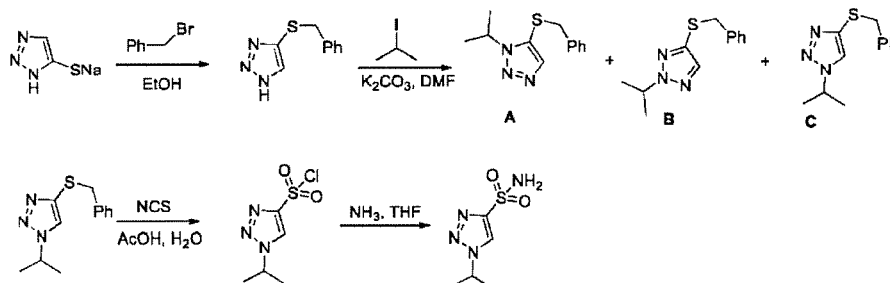
Ing. 
Consulente in P.I. n° USBM-041R

ambiente e agitata per 12 ore. La miscela di reazione è stata diluita con acqua (25 mL) ed estratta con acetato di etile (2 x 25 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (20 mL), soluzione salina (20 mL), essiccate (Na_2SO_4) e concentrate nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato
5 mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc-esani al 20% a dare 1-benzil-3-(benziltio)-1 *H*-1,2,4-triazolo come solido bianco (1,5 g 54%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 8,67 (s, 1H), 7,39-7,32 (m, 5H), 7,27-7,21 (m, 5H), 5,36 (s, 2H), 4,29 (s, 2H).

A una soluzione di 1-benzil-3- (benziltio)-1*H*-1,2,4-triazolo, 2 (0,5 g, 1,77
10 mmol) in acetonitrile (5 mL) a 0 °C è stato addizionato AcOH (3 mL) e H_2O (2 mL) quindi e gas Cl_2 è stato fatto gorgogliare attraverso la soluzione per 45 min. L'agitazione è stata continuata a 0 °C per 30 minuti, quindi a 20 °C per 1,5 ore. La miscela di reazione è stata diluita con acqua (20 mL) ed estratta con EtOAc (2 x 20 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con
15 acqua (20 mL), soluzione salina (20 mL), essiccate (Na_2SO_4) e concentrate nel vuoto a dare un liquido incolore. Il residuo è stato diluito con THF e raffreddato a -78 °C. Il gas di ammoniaca è stato fatto gorgogliare attraverso la soluzione per 20 minuti e l'agitazione continuò per altri 30 minuti prima di riscaldare a temperatura ambiente e di agitare per 1 ora. La miscela di reazione è stata
20 diluita con acqua (25 mL) ed estratta con acetato di etile (2 x 25 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (20 mL), soluzione salina (20 mL), essiccate (Na_2SO_4) e concentrate nel vuoto. Il residuo è stato triturato con dietil etere a dare 1-benzil-1*H*-1,2,4-triazolo-3-solfonammide come solido biancastro (0,25 g, 60%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 8,88 (s,
25 1H), 7,77 (s, 2H), 7,39-7,33 (m, 5H), 5,45 (s, 2H).

Ing. Ives Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

1-isopropil-1H-1,2,3-triazolo-4-solfonammide



Sodio 1H-1,2,3-triazolo-5-tiolato (500 mg, 4,06 mmol) è stato sciolto in
5 EtOH (5 mL) e raffreddato a 0 °C. Il bromuro di benzile (0,69 g, 4,06 mmol) è
stato addizionato goccia a goccia per un periodo di 5 minuti. La risultante
miscela di reazione è stata riscaldata a TA e agitata per 1 ora. Al
completamento, la miscela di reazione è stata concentrata *nel vuoto* e il residuo
ottenuto è stato diluito con soluzione satura di NaHCO₃ ed estratto con EtOAc
10 (2 x 20 mL). L'estratto organico combinato è stato lavato con acqua, soluzione
salina, essiccato (Na₂SO₄) e concentrato nel vuoto. Il residuo ottenuto è stato
agitato con n-pentano (30 mL), filtrato ed essiccato *nel vuoto* a dare 4-
(benziltio)-1H-1,2,3-triazolo come solido bianco (0,7 g, 90%) che era usato
senza ulteriore purificazione. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,40-7,38 (m, 1H),
15 7,35-7,21 (m, 5H), 4,12 (s, 2H). LCMS (m/z): 192,0 [M+H]⁺

Una soluzione di 4-(benziltio)-1H-1,2,3-triazolo (5 g, 26,1 mmol) in DMF
(50 mL) è stata raffreddata a 0 °C e trattata con K₂CO₃ (9,03 g, 65,4 mmol). La
miscela di reazione è stata agitata per 5 minuti alla stessa temperatura. Lo
ioduro di isopropile (8,89 g, 52,3 mmol) è stato addizionato goccia a goccia alla
20 miscela sopra per 5 minuti. La risultante miscela di reazione è stata riscaldata a
TA e agitata per 2 ore. Dopo il completamento, la miscela di reazione è stata

Ing. Mes Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

diluita con acqua (30 mL) ed estratta con etilacetato (50 mL). L'estratto organico è stato lavato con acqua ed essiccato su Na₂SO₄ anidro. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su silice usando eluente EtOAc-esano all'8% a dare 5- (benziltio) -1-isopropil-1H-1,2,3-triazolo **A** (0,9 g), 4- (benziltio) -2-isopropil-2H-1,2,3-triazolo **B** (1 g) e il prodotto desiderato 4- (benziltio)-1-isopropil-1 H -1,2,3-triazolo **C** (1,4 g, 23%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 7,29-7,18 (m, 5H), 4,78-4,71 (m, 1H), 4,09 (s, 2H), 1,4 (d, *J* = 6,8 Hz, 6H). LCMS (*m/z*): 234,30 [M+H]⁺.

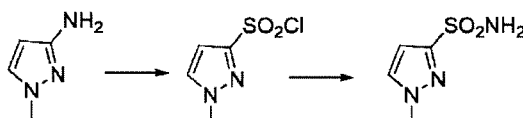
Una soluzione di 4-(benziltio)-1-isopropil-1 H-1,2,3-triazolo (75 mg, 0,32 mmol) in acido acetico (2,25 mL) e H₂O (1,12 mL) è stata raffreddata a 0 °C. *N*-clorosuccinamide (170 mg, 1,28 mmol) è stata addizionata a 0 °C. La risultante miscela di reazione è stata riscaldata a TA e agitata per 1 ora. Al completamento, la miscela di reazione è stata diluita con acqua ed estratta con acetato di etile (2 x 10 mL). Gli estratti organici combinati sono stati lavati con acqua, soluzione salina, essiccato (Na₂SO₄) e concentrato nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su silice usando l'8% di eluente di EtOA-esani a dare 1-isopropil-1 H-1,2,3-triazolo-4-solfonil cloruro (0,1 g, 100%) come liquido marrone chiaro usato senza ulteriore purificazione. LCMS (*m/z*): 210,10 [M+H]⁺.

Una soluzione di 1-isopropil-1H-1,2,3-triazole-4-solfonil cloruro (100 mg) in THF (5 mL) è stata raffreddata a -40 °C. Il gas di ammoniaca è stato scaricato attraverso la suddetta soluzione per 15 minuti. La miscela di reazione è stata riscaldata a TA e agitata per 2 ore. Al completamento, la miscela di reazione è stata concentrata *nel vuoto* e il residuo ottenuto è stato diluito con etilacetato (25 mL) e acqua (10 mL). L'estratto organico è stato lavato con

Fig. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

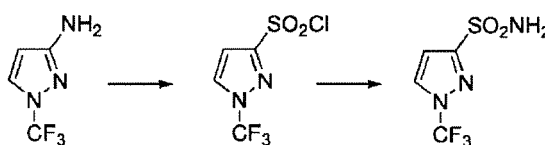
acqua, soluzione salina, essiccato (Na_2SO_4) e concentrato *nel vuoto* a dare 1-isopropil-1*H*-1,2,3-triazolo-4-solfonamide (0,07 g, 78%) come solido marrone. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): $\delta = 8,71$ (s, 1H), 7,66 (s, 2H), 4,91-4,87 (m, 1H), 1,5 (d, $J=6,8$ Hz, 6H). LCMS (m/z): 191,30 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

5 **1-metil-1*H*-pirazolo-3-solfonammide**



1-metil-1*H*-pirazol-3 cloridrato-ammina è stata fatta reagire in 1-metil-1*H*-pirazolo-3 solfonil cloruro, un liquido giallo pallido, utilizzando il metodo generale D (0,7 g, 38%). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,51$ -7,50 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 6,89-6,88 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 4,06 (s, 3H). LCMS (m/z): 160,9 ($\text{M}-1$). Il solfonilcloruro è stato convertito utilizzando il metodo generale E1 a dare il composto del titolo come un solido biancastro (0,4 g, 69%). ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): $\delta = 7,80$ (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 7,36 (s, 2H), 6,53 (d, $J = 2,1$ Hz, 1H), 3,88 (s, 3H). LCMS (m/z): 162,05 ($\text{M}+1$) $^+$.

15 **1-(trifluorometil)-1*H*-pirazolo-3-solfonammide**



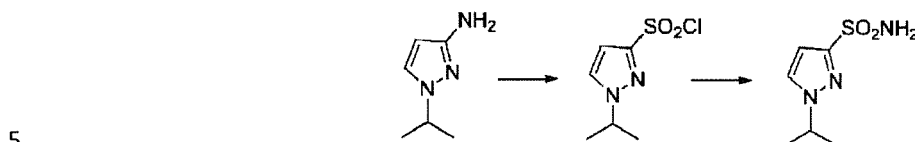
1- (trifluorometil) -1*H*-pirazol-3-ammina è stata fatta reagire in 1-(trifluorometil) -1 *H* pirazolo-3-solfonil cloruro, un liquido marrone, utilizzando il metodo generale D (0,4 g, 43%). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) $\delta = 8,02$ (d, $J = 2,8$ Hz, 1H), 7,06 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H). ^{19}F NMR (282 MHz, CDCl_3) $\delta = -60,46$.

Il solfonilcloruro è stato convertito utilizzando il metodo generale E1 a

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

dare il composto del titolo (0,22 g, 46%). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 7,92 (dd, J = 2,8, 0,3 Hz, 1H), 6,91 (dd, J = 2,8, 0,7 Hz, 1 H), 5,28 (s, 2H). ^{19}F NMR (282 MHz, CDCl_3) δ = -60,41.

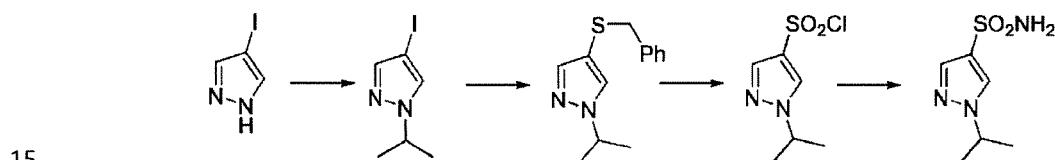
1-isopropil-1H-pirazolo-3-solfonammide



1-Isopropil-1H-pirazol-3-ammina è stata fatta reagire in 1-isopropil-1H-pirazol-3 solfonil cloruro, un liquido marrone, utilizzando il metodo generale D (0,5 g, 43 %). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 7,55 (s, 1H), 6,88 (s, 1H), 4,66-4,63 (m, 1H), 3,6 (br.s., 2H), 1,59 (d, J = 6,8 Hz, 6H). LCMS (m/z): 209,0 (M+1)⁺. Il solfonilcloruro è stato convertito utilizzando il metodo generale E1 a dare il composto del titolo come un solido giallo (0,45 g, 82%). ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 7,9 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,36 (s, 2H), 6,55 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 4,57-4,53 (m, 1H), 1,42 (d, J = 6,9 Hz, 6H). LCMS (m/z): 190,0 (M+1)⁺.

10

1-isopropil-1H-pirazolo-4-solfonammide



Una soluzione di 4-iodo-1H-pirazolo (1 g, 5,15 mmol) in DMF (20 mL) è stata trattata con K_2CO_3 (1.42g, 10,30 mmol) e ioduro di isopropile (1,05 g, 6,19 mmol) a temperatura ambiente in atmosfera di azoto. La miscela di reazione è stata riscaldata a 90 °C e agitata per 12 ore. La miscela è stata raffreddata, diluita con acqua (50 mL) ed estratta con dietiletere (2 x 50 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (2 x 50 mL), soluzione salina (50 mL), essiccate (Na_2SO_4) e concentrate nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato

20

Ing. Ives Sangiacomo
Consulente in P.I. n. USBM-041R

purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc-esani al 10% a dare 4-iodo-1-isopropil-1 *H*-pirazolo come liquido incolore (1,1 g 92%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,50-7,46 (m, 2H), 4,53-4,47 (m, 1H), 1,50 (d, *J* = 6,8 Hz, 6H). LCMS (*m/z*): 237,2 (M+1)⁺.

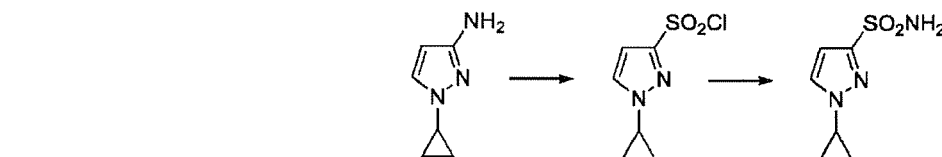
5 Una soluzione di 4-iodo-1-isopropil-1H-pirazolo (1 g, 4,24 mmol) in diossano (20 mL) è stata trattata sequenzialmente con benzil mercaptano (0,8g, 6,35 mmol) e DIPEA (1,1 g, 8,47 mmol) in atmosfera di azoto. La soluzione è stata degassata spurgando con gas argon per 15 minuti. Sono stati addizionati Pd₂ (dba)₃ (40 mg, 0,0423 mmol) e Xantphos (50 mg, 0,0847 mmol) in
10 atmosfera di argon, quindi la miscela risultante è stata sigillata nel recipiente di reazione e riscaldata a 75 °C per 6 ore. La miscela di reazione è stata raffreddata, concentrata *nel vuoto*, diluita con acqua (20 mL) ed estratta con EtOAc (2 x 20 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (2 x 50 mL), soluzione salina (50 mL), essiccate (Na₂SO₄) e concentrate
15 nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc-esani al 10% a dare 4-benziltio-1-isopropil-1 *H*-pirazolo come liquido giallo (650 mg al 66%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,36 (s, 1H), 7,26-7,22 (m, 4H), 7,11-7,09 (m, 2H), 4,41-4,36 (m, 1H), 3,76 (s, 2H), 1,42 (d, *J* = 6,8 Hz, 6H). LCMS (*m/z*): 233,3 (M+1)⁺

20 A una soluzione di 4- (benziltio)-1-isopropil-1 *H*-pirazolo, 3 (0,35 g, 1,508 mmol) in acetonitrile (10 mL) a 0 °C sono stati addizionati AcOH (0,7 mL) e H₂O (0,35 mL) quindi DCDMH (0,6 g, 3,017 mmol) è stato addizionato per porzione in 5 minuti. La soluzione è stata agitata per 30 minuti, quindi riscaldata a temperatura ambiente e agitata per altre 2 ore. La miscela di reazione è stata
25 diluita con acqua (20 mL) ed estratta con EtOAc (2 x 20 mL). Le sostanze

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.R. USBM-041R

organiche combinate sono state lavate con acqua (20 mL), soluzione salina (20 mL), essiccate (Na_2SO_4) e concentrate nel vuoto a dare 1-isopropil-1H-pirazolo-4-solfonil cloruro come un liquido incolore. Il solfonil cloruro è stato diluito con THF e raffreddato a $-78\text{ }^\circ\text{C}$, quindi il gas NH_3 è stato gorgogliato attraverso la
5 soluzione per 15 minuti. La miscela è stata agitata a $-78\text{ }^\circ\text{C}$ per 1 ora e a temperatura ambiente per 2 ore. La miscela di reazione è stata diluita con acqua ed il composto estratto con etilacetato (2 x 25 mL). Gli estratti organici combinati sono stati lavati con acqua (20 mL), soluzione salina (20 mL), essiccati (Na_2SO_4) e concentrati nel vuoto. Il residuo ottenuto è stato tritato
10 con etere dietilico ed essiccato sotto pressione ridotta dare 1-isopropil-1 H-pirazolo-4-solfonammide come solido marrone chiaro (0,2 g, 71%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 8,21$ (s, 1H), 7,71 (s, 1H), 7,22 (s, 2H), 4,59-4,53 (m, 1H), 1,4 (d, $J = 6,8$ Hz, 6H). LCMS (m/z): 190,2 ($\text{M}+1$) $^+$.

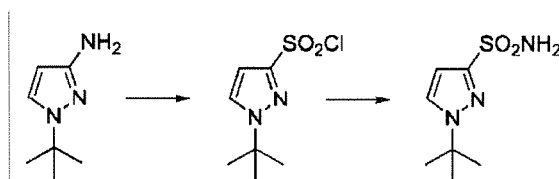
1-ciclopropil-1H-pirazolo-3-solfonammide



1-ciclopropil-1H-pirazolo-3-ammina è stata fatta reagire in 1-ciclopropil-1H-pirazolo-3-solfonil cloruro usando il metodo generale D, quindi convertito usando il metodo generale E1 a dare il composto del titolo come solido marrone chiaro (0,2 g, 33%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) $\delta = 7,51$ (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 6,69 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 5,04 (s, 2H), 3,67 (m, 1H), 1,28 - 1,05 (m, 4H).
20

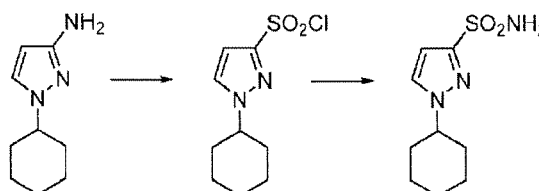
1-(*terz*-butil)-1H-pirazolo-3-solfonammide

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R



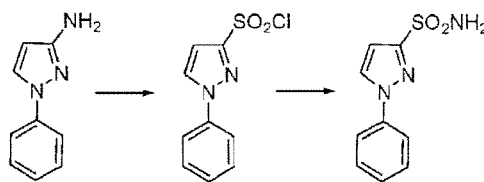
1-(*terz*-butil) -1 *H* -pirazol-3-ammina è stato fatto reagire a 1-(*terz*- butil)-
1*H*-pirazolo-3-solfonil cloruro utilizzando il metodo generale D, quindi convertito
con il metodo generale E1 a dare il composto del titolo come solido marrone
5 chiaro (150 mg, 26%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 7,56 (d, *J* = 3,6 Hz,
1H), 6,7 (d, *J* = 3,2 Hz, 1H), 4,75 (br.s., 1H), 1,60 (s, 9H). LCMS (m/z): 204,15
(M+1)⁺.

1-cicloesil-1*H*-pirazolo-3-solfonammide



10 1-cicloesil-1*H*-pirazolo-3-ammina è stata fatta reagire a 1-cicloesil-1*H*-
pirazolo-3-solfonil cloruro usando il metodo generale D, quindi convertito
usando il metodo generale E1 a dare il composto del titolo come solido bianco
(0,35 mg, 50%). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 7,89 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H),
7,36 (s, 2H), 6,55 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 4,28 - 4,08 (m, 1H), 2,0 1,1 (m, 6H).

15 1-fenil-1*H*-pirazolo-3-solfonammide

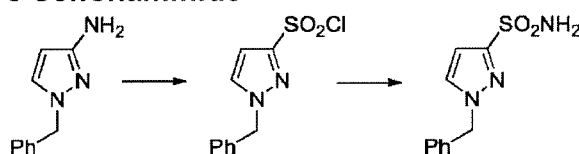


1-*fenil*-1*H*-pirazol-3-ammina è stata fatta reagire in 1-*fenil*-1*H*-pirazol-3-
solfonil cloruro, un liquido giallo, utilizzando il metodo generale D (0,5 g, 47 %).
¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 8,04 (d, *J* = 2,4 Hz, 1 H), 7,73 (d, *J* = 9,2 Hz,

Ing. Inés Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

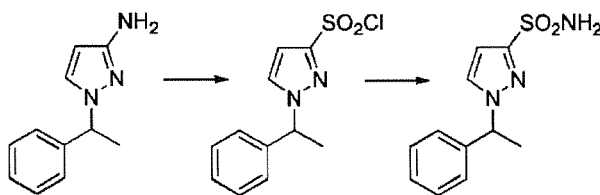
2H), 7,58 (t, $J = 7,6$ Hz, 2H), 7,47 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 7,08 (d, $J = 2,8$ Hz, 1H). Il solfonilcloruro è stato convertito utilizzando il metodo generale E1 a dare il composto del titolo come un solido giallo (0,4 g, 87%). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 8,62$ (d, $J = 2,7$ Hz, 1 H), 7,86 (d, $J = 8,7$ Hz, 2H), 7,61 (br.s., 2H), 7,57 (t, $J = 7,8$ Hz, 2H), 7,41 (t, $J = 7,2$ Hz, 1H), 6,85 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H).
5 LCMS (m/z): 224,1 ($M+1$) $^+$.

1-benzil-1H-pirazolo-3-solfonammide



1-benzil-1H-pirazol-3-ammina è stata fatta reagire in 1-benzil-1H-pirazol-
10 3 solfonil cloruro, un liquido marrone chiaro, utilizzando il metodo generale D
(0,2 g, 45%). $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 7,42-7,38 (m, 3H), 7,33-7,28 (m, 3H), 6,8 (d, $J=2,4\text{Hz}$, 1H), 5,42 (s, 2H). Il solfonilcloruro è stato convertito
utilizzando il metodo generale E1 a dare il composto del titolo come un liquido
marrone chiaro (0,15 g, 81%). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,42$ -7,36 (m,
15 4H), 7,24 (d, $J = 1,6\text{Hz}$, 2H), 6,7 (d, $J = 2,4\text{Hz}$, 1H), 5,35 (s, 2H), 5,10 (s, 2H).
LCMS (m/z): 238,10 ($M+1$) $^+$

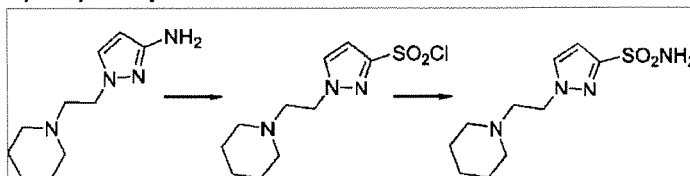
1-(1-fenilettil)-1H-pirazolo-3-solfonammide



1-(1-fenilettil)-1H-pirazolo-3-ammina è stata fatta reagire a 1-cicloesil-1H-
20 pirazolo-3-solfonil cloruro usando il metodo generale D, quindi convertito
usando il metodo generale E1 a dare il composto del titolo come solido bianco

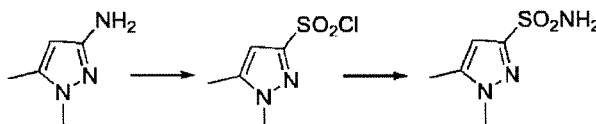
(0,25 mg, 68%). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 7,43 - 7,18 (m, 6H), 6,72 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 5,57 (q, J = 7,1 Hz, 1H), 5,02 (s, 2H), 1,92 (d, J = 7,1 Hz, 3H).

1-(2-(piperidin-1-il)etil)-1H-pirazolo-3-solfonammide



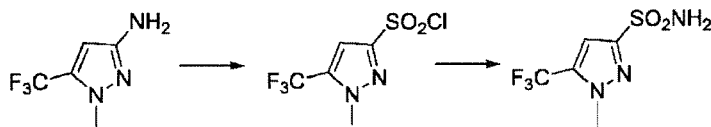
5 1-(2-(piperidin-1-il)etil)-1 H -pirazol-3-ammina è stato fatto reagire in 1-(2-(piperidin-1-il)etil)-1H-pirazolo-3-solfonil cloruro, un liquido marrone pallido utilizzando il metodo generale D, quindi convertito con il metodo generale E1 a dare il composto del titolo come solido bianco sporco (0,3 g, 46%). ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 7,84 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 7,36 (s, 2H), 6,54 (s, J = 2,4
10 Hz, 1H), 4,26 (t, J = 6,9 Hz, 2H), 2,66 (t, J = 6,6 Hz, 2H), 2,36 (s, 4H), 1,46-1,34 (m, 6H). LCMS (m/z): 259,10 ($M+1$) $^+$.

1,5-dimetil-1H-pirazolo-3-solfonammide



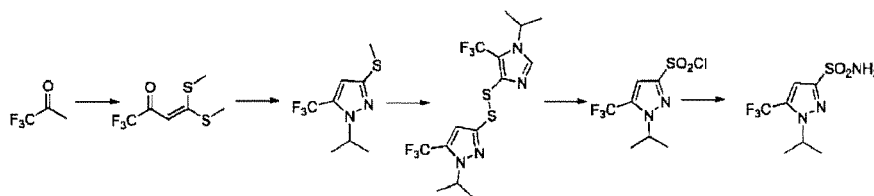
15 1,5-fenil-1H-pirazolo-3-ammina è stata fatta reagire in 1,5-dimetil-1H-pirazolo-3 solfonil cloruro, un liquido giallo, utilizzando il metodo generale D (0,45 g, 26%). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 5,92 (s, 1H), 3,71 (s, 3H), 2,23 (s, 3H). LCMS (m/z): 217 ($M+\text{Na}$) $^+$. Il solfonilcloruro è stato convertito utilizzando il metodo generale E1 a dare il composto del titolo come un solido biancastro (0,25 g, 55%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 7,30 (s, 2H), 6,36 (s, 1H),
20 3,76 (s, 3H), 2,27 (s, 3H). LCMS (m/z): 175,9 ($M+1$) $^+$.

1-metil-5-(trifluorometil)-1H-pirazolo-3-solfonammide



1- metil-5-(trifluorometil) -1*H*-pirazol-3-ammina è stata fatta reagire in 1-
metil-5-(trifluorometil) -1 *H* pirazolo-3-solfonil cloruro, un liquido marrone pallido,
utilizzando il metodo generale D (1,1 g, 37%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ =
5 7,21 (s, 1H), 4,16 (s, 3H). Il solfonilcloruro è stato convertito utilizzando il
metodo generale E1 a dare il composto del titolo come un solido giallo (0,45
mg, 82%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7,06 (s, 1H), 5,02 (br.s., 2H), 4,03 (s,
3H).

1-isopropil-5-(trifluorometil)-1*H*-pirazolo-3-solfonammide



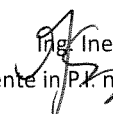
10 Una miscela di NaH (2,14 g, 89,3 mmol) in DMF (20 mL) è stata
raffreddata a -10 °C. Una soluzione di 1,1,1-trifluoropropan-2-one (5 g, 44,6
mmol) in DMF (80 mL) è stata addizionata con molta attenzione alla miscela di
cui sopra e agitata a -10 °C per 5 minuti. CS₂ (10,2 g, 133,9 mmol) è stato
15 addizionato goccia a goccia alla miscela di cui sopra per 30 minuti, quindi la
miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e agitata per 1
ora. La miscela di reazione è stata raffreddata a 0 °C e trattata con CH₃I (7,5
mL) per 10 minuti. La risultante miscela di reazione è stata riscaldata a
temperatura ambiente e agitata per 12 ore. La miscela di reazione è stata diluita
20 con acqua fredda (50 mL) ed estratta con dietil etere (2 x 100 mL). Gli estratti
organici combinati sono stati lavati con acqua (50 mL), soluzione salina (50
mL), essiccati (Na₂SO₄) e concentrati nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P. n° USBM-041R

purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc-esani al 5% a dare 1,1,1-trifluoro-4,4-bis(metiltio)but-3-en-2-one come solido bianco (3,5 g al 36%). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 6,24 (s, 1H), 2,57 (m, 6H). LCMS (m/z): 217,20 ($M+1$)⁺.

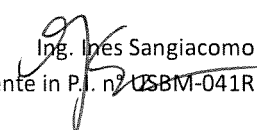
5 Una soluzione di 1,1,1-trifluoro-4,4-bis (metiltio) ma-3-en-2-one (2,5 g, 11,6 mmol) in EtOH (25 mL) è stata trattata con isopropilidrazina cloridrato (2 g, 13,9 mmol) a 0 °C, Et_3N (2,4 g, 40,98 mmol) è stato addizionato e la miscela è stata riscaldata a 80 °C per 12 ore. La miscela di reazione è stata concentrata *nel vuoto*, diluita con soluzione di NaHCO_3 sat. acq. è stata estratta con EtOAc
10 (2 x 250 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (200 mL), soluzione salina (200 mL), essiccate (Na_2SO_4) e concentrate nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc al 100% a dare 1-isopropil-3-(metiltio)-5-(trifluorometil)-1*H*-pirazolo come liquido marrone chiaro (1,5 g, 58%). ^1H NMR
15 (400 MHz, CDCl_3): δ = 6,47 (s, 1H), 4,58-4,53 (m, 1H), 2,49 (s, 3H), 1,50 (d, J = 6,8 Hz, 6H). LCMS (m/z): 225,20 ($M + 1$)⁺.

Una soluzione di 1-isopropil-3- (metiltio)-5-(trifluorometil)-1*H*-pirazolo (0,5 g, 2,23 mmol) in cloroformio (10 mL) a 0 °C è stata trattata con mCPBA (0,38 g, 2,23 mmol) e agitato a 10 °C per 1 ora. La miscela di reazione è stata diluita
20 con soluzione satura di NaHCO_3 (10 mL) ed estratta con CHCl_3 (2 x 30 mL). I prodotti organici combinati sono stati lavati con acqua (30 mL), soluzione salina (30 mL), essiccati (Na_2SO_4) e concentrati *nel vuoto*. Il residuo ottenuto è stato sciolto in CHCl_3 (10 mL) e trattato con anidride trifluoroacetica (1,4 g, 6,7 mmol) la miscela di reazione è stata riscaldata a 50 °C per 3 ore, raffreddata a
25 temperatura ambiente e concentrata *nel vuoto*. Il residuo ottenuto è stato diluito


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.R. n° USBM-041R

con MeOH (5 mL) -THF (5 mL) -H₂O (5 mL), raffreddato a 0 °C, trattato con Na₂CO₃ (0,7 g, 6,7 mmol) e agitato per 3 ore. La soluzione è stata diluita con acqua (30 mL) ed estratta con CHCl₃ (2 x 50 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (50 mL), soluzione salina (50 mL),
5 essiccate (Na₂SO₄) e concentrate nel vuoto. Il residuo grezzo (0,2 g) contenente 1-isopropil-3 - ((1-isopropil-5- (trifluorometil) -1H-imidazol-4-il) disulfanil) -5- (trifluorometil) -1H-pirazolo è stato utilizzato nella fase successiva senza ulteriore purificazione. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 6,85 (s, 2H), 6,70 (s, 1H), 6,60 (s, 1H), 4,6 (m, 2H), 1,53 (m, 6H). LCMS (*m/z*): 416,75 (M-1)⁻

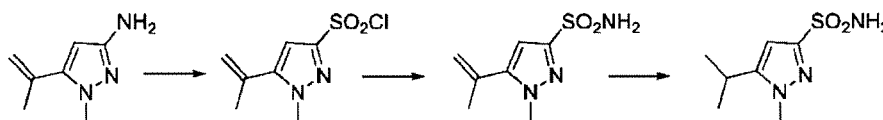
10 Una soluzione di 1-isopropil-3-((1-isopropil-5-(trifluorometil) -1 H-imidazol-4-il) disulfanil)-5-(trifluorometil) -1H-pirazolo grezzo (0,2 g grezzo), 0,478 mmol) in acetonitrile (10 mL) è stato raffreddato a 0 °C e trattato con AcOH (1 mL) e H₂O (1,5 mL). DCDMH (0,19 g, 0,956 mmol) è stato addizionato in porzioni per 5 minuti e agitato per 2 ore. La miscela è stata diluita con acqua
15 (20 mL) ed estratta con DCM (2 x 20 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (50 mL), soluzione salina (50 mL), essiccate (Na₂SO₄) e concentrate nel vuoto a dare 1-isopropil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-3-solfonil cloruro come un liquido incolore. Il (1-isopropil-5-(trifluorometil)-1H-pirazol-3-solfonil cloruro) è stato diluito con THF e raffreddato a -78 °C e il gas
20 di NH₃ è stato fatto gorgogliare attraverso la soluzione per 10 minuti e agitata poi per 1 ora prima di riscaldare a temperatura ambiente e di agitare per 1 ora. La miscela di reazione è stata diluita con acqua ed estratta con etilacetato (2 x 25 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (50 mL), soluzione salina (50 mL), essiccate (Na₂SO₄) e concentrate nel vuoto. Il residuo
25 ottenuto è stato triturato con dietilere e n-pentano a dare 1-isopropil-5-


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

(trifluorometil)-1H-pirazolo-3-solfonammide come solido bianco (75 mg, 61%).
 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 7,01 (s, 1H), 5,06 (s, 2H), 4,73-4,70 (m, 1H),
1,5 (d, J = 6,8 Hz, 6H). LCMS (m/z): 256,0 ($\text{M}-1$) $^-$.

5-isopropil-1-metil-1H-pirazolo-3-solfonammide

5



Una soluzione di 1-metil-5-(prop-1-en-2-il)-1H-pirazol-3-ammina (0,25 g,
1,824 mmol) in acetonitrile (10 mL) a 0 °C è stata trattata con c.HCl (1,2 mL) in
 H_2O (0,5 mL) seguito da una soluzione acquosa di NaNO_2 (0,15 g, 2,19 mmol)
10 disciolta in H_2O (2 mL). La soluzione risultante è stata agitata a 0 °C per 45
minuti. AcOH (0,25 mL), $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (0,15 g, 0,91 mmol) e CuCl (10 mg, 0,091
mmol)) sono stati addizionati in sequenza alla miscela di cui sopra e spurgati
con gas SO_2 per 20 minuti a 0 °C. La risultante miscela di reazione è stata
agitata a 0 °C-10 °C per 60 minuti. Dopo il completamento, la miscela di
15 reazione è stata diluita con acqua (20 mL) ed estratta con EtOAc (2 x 20 mL).
Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (20 mL),
soluzione salina (20 mL), essiccate (Na_2SO_4) e concentrate nel vuoto. Il
prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di
silice usando eluente EtOAc-esani al 20% a dare 1-metil-5-(prop-1-en-2-il)-1H-
20 pirazol-3-solfonil cloruro come liquido incolore (0,15 g, al 38%). ^1H NMR (300
MHz, CDCl_3): δ = 6,77 (s, 1H), 5,51 (s, 1H), 5,28 (s, 1H), 4,02 (s, 3H), 2,11 (s,
3H).

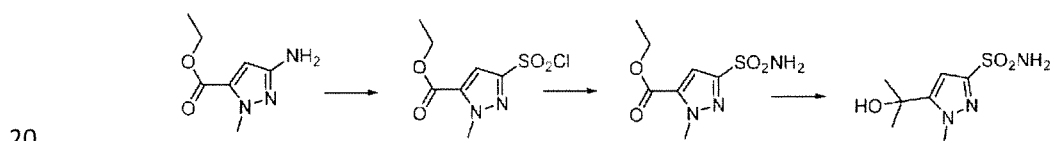
Una soluzione di 1-metil-5-(prop-1-en-2-il)-1H-pirazol-3-solfonil cloruro
(0,075 g, 0,34 mmol) in THF (7 mL) è stata raffreddata a -78 °C e il gas di

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n. ~~138BM-041R~~

ammoniaca è stato fatto gorgogliare attraverso la soluzione per 15 minuti, l'agitazione è stata continuata per altri 30 minuti, quindi è stata lasciata al caldo a temperatura ambiente e mescolato per 2 ore o fino al completamento. La miscela di reazione è stata diluita con etilacetato (25 mL) e filtrata attraverso un
5 cuscinetto di Celite. Il filtrato è stato essiccato (Na_2SO_4) e concentrato *nel vuoto* a dare 1-metil-5- (prop-1-en-2-il) -1 H -pirazolo-3-solfonammide come solido biancastro usato senza purificazione 0,04 g (grezzo).

Una soluzione di 1-metil-5- (prop-1-en-2-il)-1H -pirazolo-3-solfonammide grezzo (0,12 g, 0,6 mmol) in MeOH (10 mL) - EtOAc (4 mL) è stata trattata con
10 il 10% di palladio su carbonio (30 mg) in atmosfera di azoto. La beuta di reazione è stato evacuato, riempito con idrogeno (palloncino) e agitato per 4 ore. La miscela di reazione è stata diluita con etilacetato (25 mL), filtrata attraverso un tampone di celite, essiccata (Na_2SO_4) e concentrata *nel vuoto*. Il solido ottenuto è stato ulteriormente lavato a dare 5-isopropil-1-metil-1H-
15 pirazolo-3-solfonammide come solido bianco sporco (0,11 g, 91%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 6,50 (s, 1H), 5,00 (br.s., 2H), 3,87 (s, 3H), 2,97-2,93 (m, 1H), 1,28 (d, J = 7,2 Hz, 6H).

5-(2-idrossipropan-2-il)-1-metil-1H-pirazolo-3-solfonammide



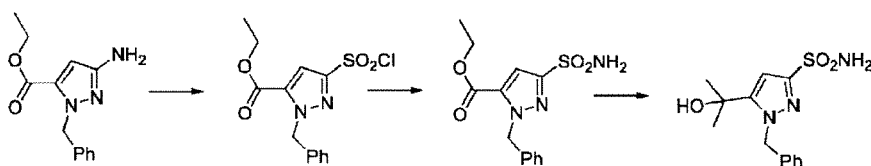
Etil 3-ammino-1-metil-1H-pirazolo-5-carbossilato è stato fatto reagire in etil 3-(clorosolfonil)-1-metil-1H-pirazolo-5-carbossilato, un liquido giallo chiaro, usando il metodo generale D (0,35 g, 47%). ^1H NMR (300 MHz, Cloroformio-d) δ 7,39 (s, 1H), 4,40 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 4,32 (s, 3H), 1,40 (t, J = 7,1 Hz, 3H). Il

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n. USBM-041R

solfonilcloruro è stato convertito utilizzando il metodo generale E2 a dare etil 1-metil-3-solfamoil-1H-pirazolo-5-carbossilato come un solido bianco sporco (0,3 g, 94%). ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ = 7,59 (s, 2H), 7,09 (s, 1H), 4,33 (q, J = 7,1 Hz, 2H), 4,14 (s, 3H), 1,31 (t, J = 7,1 Hz, 3H).

5 A una soluzione di etil 1-metil-3-solfamoil-1H-pirazolo-5-carbossilato (0,25 g, 1,07 mmol) in THF anidro (10 mL) a 0 °C è stato addizionato cloruro di metil magnesio (3 M in THF, 5 equivalenti) a gocce. La miscela di reazione risultante è stata gradualmente riscaldata a temperatura ambiente e agitata per 6 ore o fino a completamento. La soluzione è stata raffreddata a 0 °C, spenta
10 con NH_4Cl sat. acq. (2,0 mL) quindi diluito con acqua fredda (20 mL) ed estratto con EtOAc (2 x 25 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con soluzione salina (50 mL), essiccate (Na_2SO_4) e concentrate nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando un gradiente del 50% di EtOAc in eluenti di esani a dare il
15 composto del titolo come solido bianco. (0,2 g, 87%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 7,34 (s, 2H), 6,40 (s, 1H), 5,48 (s, 1H), 4,0 (s, 3H), 1,50 (s, 6H).

1-benzil-5-(2-idrossipropan-2-il)-1H-pirazolo-3-solfonammide



20 Etil 3-ammino-1-benzil-1H-pirazolo-5-carbossilato è stato fatto reagire in etil 1-benzil-3-(clorosolfonil)-1H-pirazolo-5-carbossilato, un liquido marrone chiaro, usando il metodo generale D (0,35 g, 47%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 7,41 (s, 1H), 7,34-7,26 (m, 5H), 5,87(s, 2H), 4,37 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 1,38 (t,

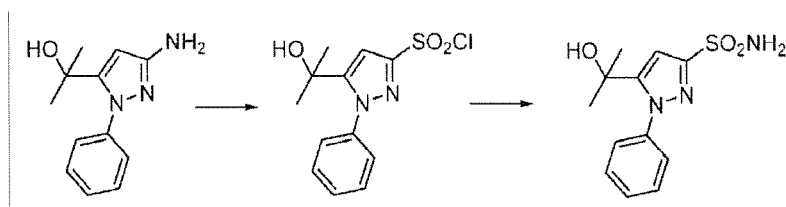
Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n. USBM-041R

$J = 7,2$ Hz, 3H). Il solfonilcloruro è stato convertito utilizzando il metodo generale E2 a dare etil 1-benzil-3-solfamoil-1H-pirazolo-5-carbossilato come un solido bianco sporco (0,7 g, 88%). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7,66$ (s, 2H), 7,39-7,27 (m, 3H), 7,2-7,18 (m, 3H), 5,77(s, 2H), 4,33 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H),
5 1,29 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H). LCMS (m/z): 310,05 ($M+1$) $^+$.

A una soluzione di etil 1-benzil-3-solfamoil-1H-pirazolo-5-carbossilato (0,5 g, 1,62 mmol) in THF anidro (10 mL) a 0 °C è stato addizionato cloruro di metil magnesio (3 M in THF, 2,77 mL, 8,1 mmol) a gocce. La miscela di reazione risultante è stata gradualmente riscaldata a temperatura ambiente e
10 agitata per 4 ore o fino a completamento. La soluzione è stata raffreddata a 0 °C, spenta con NH_4Cl sat. acq. (2,0 mL) quindi diluito con acqua fredda (20 mL) ed estratto con EtOAc (2 x 25 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con soluzione salina (50 mL), essiccate (Na_2SO_4) e concentrate nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna
15 su gel di silice usando un gradiente del 70-100% di EtOAc in eluenti di esani a dare il composto del titolo come solido bianco. (0,27 g, 57%). $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7,37$ (s, 2H), 7,39-7,27 (m, 3H), 7,2-7,18 (m, 2H), 6,45 (s, 1H), 5,66 (s, 2H), 5,60 (s, 1H), 1,44 (s, 6H). LCMS (m/z): 296,1 ($M + 1$) $^+$.

5-(2-idrossipropan-2-il)-1-fenil-1H-pirazolo-3-solfonammide

20



2-(3-Ammino-1-fenil-1H-pirazolo-5-il)propan-2-olo è stato fatto reagire in 5-(2-idrossipropan-2-il)-1-fenil-1H-pirazolo-3-solfonil cloruro, un liquido giallo,

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° 4581M-041R

utilizzando il metodo generale D (0,4 g, 36%). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 7,55-7,45 (m, 5H), 6,91 (s, 1H), 1,51 (s, 6H). Il solfonilcloruro è stato convertito utilizzando il metodo generale E2 a dare il composto del titolo come un solido giallo (0,32 g, 87%). ^1H NMR (300 MHz, DMSO-d_6): δ = 7,5 (s, 5H), 7,47 (s, 2H), 6,65 (s, 1H), 5,41 (s, 1H), 1,30 (s, 6H).

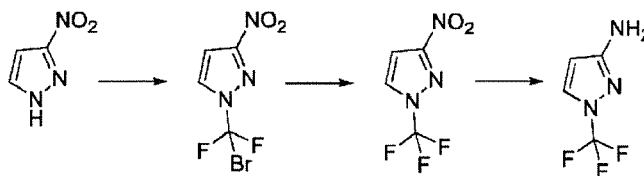
Sintesi di intermedi amminici:

1-metil-1H-pirazol-3-ammina HCl

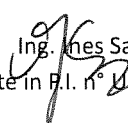


In una fiala da microonde da 20 mL, una soluzione di 2-cloroacrilonitrile (2 g, 22,85 mmol) in EtOH (10 mL) è stata trattata con metilidrazina (1,93 g, 41,13 mmol). La risultante miscela di reazione è stata riscaldata a 100 °C per 10 minuti in un sintetizzatore a microonde Biotage. La miscela di reazione è stata lasciata a <5 °C per 12 ore durante questo periodo il solido è stato fatto precipitare. Il precipitato è stato rimosso mediante filtrazione ed essiccato nel vuoto a dare il composto del titolo come un solido bianco (0,12 g, 55%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): δ 7,76 (s, 1H), 6,13 (s, 1H), 3,80 (s, 3H), 2,58 (s, 2H). LCMS (m/z): 98,3 ($M + 1$)⁺.

1-(trifluorometil)-1H-pirazol-3-ammina



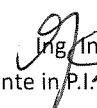
3-Nitro-1H-pirazolo (5 g, 44 mmol) è stato sciolto in *N,N*-

Ing.  Anes Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

dimetilformammide (100 mL), raffreddato a -5 °C e NaH (3,8 g, 93,6 mmol) addizionato per porzione. La miscela di reazione è stata agitata per 15 minuti prima di aggiungere dibromodifluorometano (8,6 g, 44 mmol) e lasciare riscaldare a temperatura ambiente durante la notte. La miscela di reazione è stata spenta usando acqua ghiacciata ed estratta usando acetato di etile. La fase organica è stata lavata usando acqua, soluzione salina, essiccata (Na₂SO₄) e concentrata nel vuoto a dare 3-nitro-1-(trifluorometil)-1H-pirazolo (2,1 g, 22%) che è stato utilizzato senza ulteriore purificazione. ¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃) δ = -34,20.

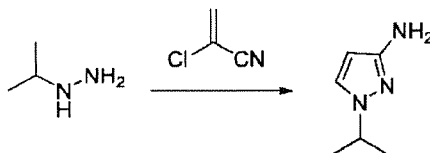
1- (bromodifluorometil) -3-nitro-1H-pirazolo (2,1 g, 9,76 mmol) è stato sciolto in DCM (50 mL) e raffreddato a -78 °C prima di aggiungere AgBF₄ (5,7 g, 28,3, 3 equivalenti). La miscela di reazione è stata lasciata riscaldare a temperatura ambiente durante la notte, quindi raffreddata a 0 °C e spenta mediante addizione di NaHCO₃ sat. acq. (50 mL). La fase acquosa è stata estratta usando DCM e i composti organici combinati sono stati lavati con acqua, soluzione salina, essiccati (Na₂SO₄) e concentrati *nel vuoto* a dare 3-nitro-1-(trifluorometil)-1H-pirazolo (0,9 g, 51%). ¹⁹F NMR (282 MHz, CDCl₃) δ = -60,96.

3-nitro-1- (trifluorometil) -1H-pirazolo (1,0 g) è stato sciolto in THF: EtOAc (1: 1, 50 mL), Pd/C (200 mg) è stato addizionato e la miscela agitata sotto un atmosfera di idrogeno (palloncino) durante la notte. La miscela è stata filtrata attraverso celite e lavata accuratamente usando etilacetato. Il solvente è stato rimosso nel vuoto e il residuo purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando EtOAc al 40% in esani eluendo a dare il prodotto del titolo (0,75 g, 87%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 7,54 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 5,84 (d,


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° 2458BM-041R

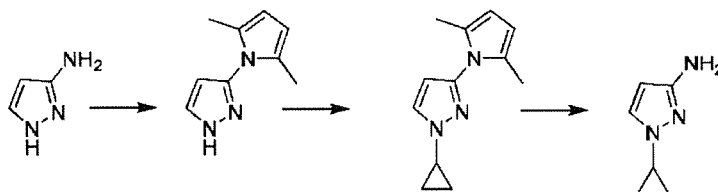
$J = 2,7 \text{ Hz, 1H}$). $^{19}\text{F NMR}$ (282 MHz, CDCl_3) $\delta = -61,13$.

1-isopropil-1H-pirazol-3-ammina



L'isopropilidrazina cloridrato (5 g, 45,45 mmol) in acqua (40 mL) è stata
5 trattata in sequenza con K_2CO_3 (12,5 g, 91 mmol) e 2-cloroacrilonitrile (4g, 45,45
mmol). La miscela di reazione risultante è stata agitata a 50 °C per 1 ore,
raffreddata a temperatura ambiente ed estratta con etilacetato (50 mL).
L'estratto organico è stato lavato con acqua (40 mL), soluzione salina (40 mL),
essiccate (Na_2SO_4) e concentrate nel vuoto a dare il composto del titolo come
10 un solido giallo (3,5 g, 62%). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3): $\delta = 7,15$ (s, 1H), 5,56
(s, 1H), 4,27-4,23 (m, 1H), 3,6 (br.s., 2H), 1,43 (d, $J = 6,4 \text{ Hz}$, 6H). LCMS (m/z):
126,0 ($M+1$)⁺.

1-ciclopropil-1H-pirazol-3-ammina

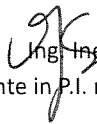


15 Una soluzione di 1 *H*-pirazol-3-ammina (2 g, 24,1 mmol) in AcOH (20
mL) è stata trattata con 2,5-esano dione (5,7 g, 50,6 mmol) a temperatura
ambiente sotto atmosfera di azoto. La risultante miscela di reazione è stata
riscaldata a 100 °C per 6 ore. La miscela di reazione è stata concentrata a
pressione ridotta e azeotropizzata con toluene. Il prodotto grezzo è stato
20 purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando un
gradiente di eluente di EtOAc-esani al 50-100% a dare 3- (2,5-dimetil-1H-pirrol-

1-il) -1H-pirazolo come solido rosso (2,25 g, 59%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-
d₆) δ 12,92 (s, 1H), 7,85 (t, *J* = 1,8 Hz, 1H), 6,28 (t, *J* = 2,1 Hz, 1H), 5,75 (s,
2H), 2,00 (s, 6H).

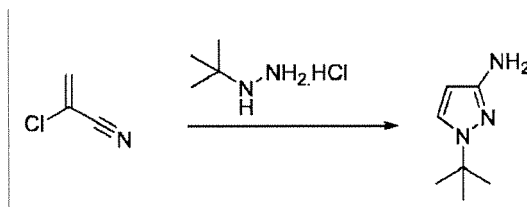
Acetato di rame (II) (0,56 g, 3,1 mmol), 2, 2; -bipiridina (0,48 g, 3,1 mmol)
5 e dicloroetano (10 mL) sono stati riscaldati a 75 °C per 20 minuti. 5 mL di
questa soluzione pre-preparata sono stati aggiunti a una miscela di 3- (2,5-
dimetil-1H-pirrol-1-il) -1H-pirazolo (0,5 g, 3,1 mmol), ciclopropiltrifluoroborato di
potassio (2 eq) e carbonato di sodio (2eq.), in dicloroetano (5 mL) quindi la
reazione agitata a 75 °C per 6 h. La miscela di reazione è stata diluita con
10 DCM, lavata con acqua, soluzione salina, essiccata (Na₂SO₄) e concentrata *nel*
vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna
su gel di silice usando eluente di EtOAc-esani al 10% a dare 1-ciclopropil-3-
(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il) -1H-pirazolo come liquido giallo (0,2 g, 32%). ¹H NMR
(300 MHz, Cloroformio-*d*) δ 7,48 (dd, *J* = 2,3, 0,5 Hz, 1H), 6,12 (d, *J* = 2,3 Hz,
15 1H), 5,84 (s, 2H), 3,61 (tt, *J* = 7,3, 3,6 Hz, 1H), 2,09 (s, 6H), 1,22 - 0,95 (m, 4H).

A una soluzione di idrossido di ammonio cloridrato (1,64 g, 11,8 mmol) in
etanolo ((10 mL) è stata aggiunta una soluzione di idrossido di potassio (0,66 g)
in acqua (10 mL) a 0 °C. Dopo 10 minuti di agitazione è stata aggiunta una
soluzione di 1-ciclopropil-3- (2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il) -1H-pirazolo (0,95 g) in
20 etanolo (10 mL) e la reazione riscaldata a 100 °C per 20 h. Il solvente è stato
rimosso nel vuoto e il residuo è stato ripartito tra acetato di etile e acqua. La
fase organica è stata lavata con acqua, soluzione salina, essiccato (Na₂SO₄) e
concentrato nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante
cromatografia su colonna su gel di silice usando un gradiente di eluente di
25 EtOAc-esani al 70-100% a dare al prodotto del titolo un solido marrone (0,4 g,


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

69%). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, CDCl_3) δ = 7,51 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 6,69 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 5,04 (s, 2H), 3,67 (m, 1H), 1,19 (m, 2H), 1,12 (m, 2H).

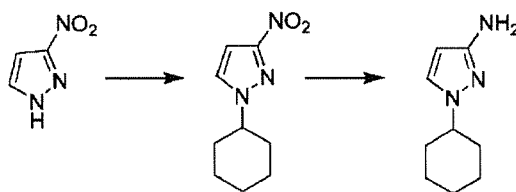
1-(*terz*-butil)-1*H*-pirazol-3-ammina



5 Isopropilidrazina cloridrato (1,42 g, 11,4 mmol) in acqua (25 mL) a 0 °C è stata trattata in sequenza con K_2CO_3 (1,57 g, 11,4 mmol), NaHCO_3 (1,91 g, 22,9 mmol) e 2 -cloroacrilonitrile (1 g, 11,4 mmol), quindi riscaldato a temperatura ambiente e agitato per 12 ore. La miscela di reazione è stata diluita con acqua (20 mL) ed estratta con etilacetato (2 x 25 mL). Gli organici
10 combinati sono stati lavati con acqua (30 mL), soluzione salina (30 mL), essiccate (Na_2SO_4) e concentrate nel vuoto a dare il composto del titolo come un solido giallo (0,9 g, 60%). $^1\text{H NMR}$ (400 MHz, DMSO-d_6): δ = 7,34 (s, 1H), 5,35 (s, 1H), 4,51 (br.s., 2H), 1,40 (s, 9H). LCMS (m/z): 140,10 ($\text{M}+1$)⁺.

1-cicloesil-1*H*-pirazol-3-ammina

1-cyclohexyl-1H-pyrazol-3-amine



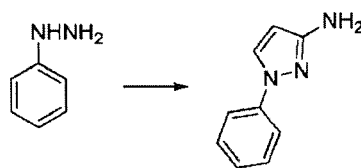
15 3-nitro-1*H*-pirazolo (1 g, 8,85 mmol) è stato sciolto in *N,N*-dimetilformammide (20 mL) e trattato con carbonato di potassio (1,47 g, 10,62 mmol) e bromocicloesano (1,8 g, 10,62 mmol). La miscela è stata riscaldata a 100 °C per 16 ore (o fino al completamento), quindi raffreddata a temperatura
20 ambiente diluita con acqua (100 mL) ed estratta con etilacetato (2 x 75 mL). Le

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P. n° 041R

sostanze organiche combinate sono state lavate usando acqua (100 mL), soluzione salina (100 mL), essiccate (Na_2SO_4) e concentrate nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando un gradiente di eluente EtOAc-esani al 10% a dare 1-cicloesil-3-nitro-1H-pirazolo come liquido incolore (1,3 g, 76%). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 7,47 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 6,88 (d, J = 2,5 Hz, 1H), 4,26 - 4,11 (m, 1H), 2,18 (m, 2H), 1,93 (m, 2H), 1,82 - 1,20 (m, 6H).

In un recipiente di reazione shaker Parr da 100 mL, è stata trattata una soluzione di 1,5-dimetil-3-nitro-1H-pirazolo (0,65 g, 3,3 mmol) in MeOH (4 mL) ed EtOAc (20 mL) con 10% di palladio su carbonio (200 mg) in atmosfera di azoto. La beuta è stato evacuata, quindi riempita con idrogeno gassoso (60 psi) e agitato a temperatura ambiente per 12 ore. La miscela di reazione è stata diluita con etilacetato (50 mL) e filtrata attraverso un letto di Celite. Il filtrato è stato essiccato (Na_2SO_4) e concentrato *nel vuoto* a dare 1-cicloesil-1H-pirazolo-3-ammina come solido marrone chiaro (0,3 g 55%). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3) δ = 7,15 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 5,56 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 3,85 (m, 1H), 3,62 (s, 1H), 2,1 (m, 2H), 1,8 (m, 2H), 1,77 - 1,10 (m, 6H).

1-fenil-1H-pirazolo-3-ammina

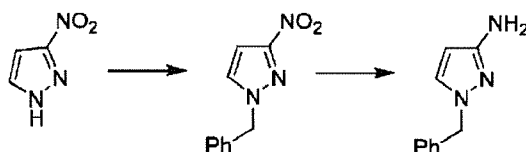


Il *terz*-butossido di potassio (11,9 g, 106,3 mmol) è stato sciolto in *t*BuOH (100 mL) e la soluzione è stata riscaldata a 100 °C. Fenilidrazina (5 g, 46,2 mmol) e 3-etossi acrilonitrile (4,5 g, 46,2 mmol) sono stati addizionati in

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

sequenza e il riscaldamento è continuato per 16 ore. La miscela è stata concentrata nel vuoto. Il residuo ottenuto è stato suddiviso tra acqua (500 mL) ed etilacetato (500 mL). L'estratto organico è stato lavato con acqua (250 mL), soluzione salina (250 mL), essiccato (Na_2SO_4) e concentrato nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc-esani al 25% a dare 1-fenil-1*H*-pirazol-3-ammina come solido marrone pallido (3,5 g, 48%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 7,69 (s, 1H), 7,57 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,41 (d, J = 8,0 Hz, 2H), 7,2 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 5,85 (s, 1H), 3,83 (br.s., 2H). LCMS (m/z): 160,3 ($M+1$)⁺.

10 1-benzil-1*H*-pirazol-3-ammina



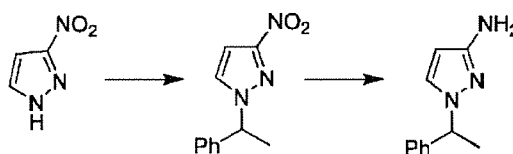
Una soluzione di 3-nitro-1*H*-pirazolo (1 g, 8,85 mmol) in THF (20 mL) è stata raffreddata a 0 °C ed è stato addizionato NaH (0,53 g, 13,27 mmol). La sospensione è stata agitata per 20 minuti, quindi è stato addizionato a gocce benzil bromuro (1,5 g, 8,85 mmol). La reazione è stata agitata fino al completamento circa 6 ore, diluita con soluzione satura di NaHCO_3 (20 mL) ed estratta con EtOAc (2 x 50 mL). Gli organici sono stati lavati con acqua (30 mL), soluzione salina (30 mL), essiccati (Na_2SO_4) e concentrati nel vuoto a dare 1-benzil-3-nitro-1*H*-pirazolo come un solido bianco (1,5 g, 84%). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 7,40-7,36 (m, 4H), 7,31-7,27 (m, 2H), 6,90 (d, J = 2,7 Hz, 1H), 5,37 (s, 2H). LCMS (m/z): 204,20 ($M+1$)⁺.

Una soluzione di 1-benzil-3-nitro-1*H*-pirazolo (1,5 g, 7,39 mmol) in THF

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

(20 mL) e MeOH (5 mL) è stata raffreddata a 0 °C. Polvere di zinco (2,4 g, 36,9 mmol) ed è stata addizionata una soluzione di NH₄Cl (1,97 g, 36,94 mmol; in 5 mL di acqua). La risultante miscela di reazione è stata riscaldata a 70 °C per 12 ore. La miscela di reazione è stata raffreddata a temperatura ambiente, diluita con EtOAc (50 mL) e filtrata attraverso un letto di Celite. Il filtrato è stato essiccato (Na₂SO₄) e concentrato nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc-esani al 50% a dare 1-benzil-1H-pirazol-3-ammina come liquido marrone chiaro (0,85 g, 67%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7,34-7,26 (m, 3H), 7,14-7,11 (m, 2H), 7,05 (d, J=2,4Hz, 1H), 5,59 (d, J=2,4Hz, 1H), 5,14(s, 2H). LCMS (m/z): 174,10 (M+1)⁺

1-(1-fenilettil)-1H-pirazol-3-ammina



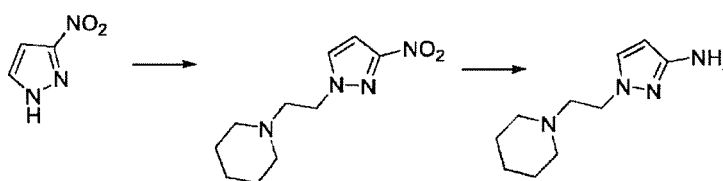
Una soluzione di 3-nitro-1H-pirazolo (1 g, 8,85 mmol) in THF (20 mL) è stata raffreddata a 0°C ed è stato addizionato NaH (0,7 g, 17,7 mmol). La sospensione è stata agitata per 30 minuti, quindi è stato addizionato a gocce (1-bromoetil)benzene (1,96 g, 10,6 mmol). La reazione è stata riscaldata a 80 °C per una notte o fino al completamento, raffreddata a temperatura ambiente, diluita con acqua (40 mL) ed estratta con EtOAc (2 x 50 mL). Le sostanze organiche sono state lavate con acqua (30 mL), soluzione salina (30 mL), essiccate (Na₂SO₄) e concentrate nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc-esani

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

al 20% a dare 3-nitro-1-(1-fenilettil)-1 *H*-pirazolo come liquido giallo (1,2 g, 63%).
¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,46 - 7,18 (m, 6H), 6,88 (d, *J* = 2,5 Hz, 1H), 5,59 (q, *J* = 7,1 Hz, 1H), 1,96 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H).

Una soluzione di 3-nitro-1-(1-fenilettil)-1 *H*-pirazolo (1 g, 4,6 mmol) in THF
5 (20 mL) e MeOH (5 mL) è stata raffreddata a 0 °C. Polvere di zinco (1,49 g, 23,04 mmol) ed è stata addizionata una soluzione di NH₄Cl (1,23 g, 23,04 mmol; in 5 mL di acqua). La risultante miscela di reazione è stata agitata per 30 minuti quindi riscaldata a 80 °C per 6 ore. La miscela di reazione è stata raffreddata a temperatura ambiente, diluita con EtOAc (50 mL) e filtrata
10 attraverso un letto di Celite. La fase organica è stata lavata usando acqua (20 mL), soluzione salina (20 mL), essiccata (Na₂SO₄) e concentrata nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc-esani al 50% a dare 1-(1-fenilettil-1*H*-pirazol-3-ammina come liquido giallo (0,85 g, 67%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 7,39 -
15 7,04 (m, 6H), 5,59 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 5,35 (q, *J* = 7,1 Hz, 1H), 3,83 (s, 2H), 1,78 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H).

1-(2-(piperidin-1-il)etil)-1*H*-pirazol-3-ammina

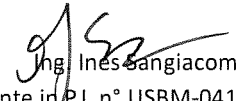


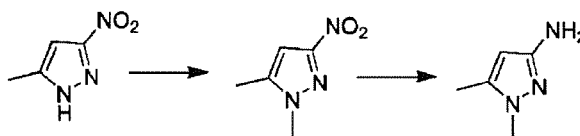
20 Una soluzione di 3-nitro-1*H*-pirazolo (2 g, 17,7 mmol) in DMF (20 mL) è stata trattata con 1-(2-cloroetil)piperidinea cloridrato (4,8 g, 26,5 mmol) a temperatura ambiente. La soluzione è stata raffreddata a 0 °C e trattata con K₂CO₃ (6,1 g, 44,27 mmol) in porzioni per un periodo di 5 minuti. La risultante

miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 4 ore. La miscela di reazione è stata diluita con acqua ed estratta con etilacetato (2 x 40 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (40 mL), soluzione salina (40 mL), essiccate (Na_2SO_4) e concentrate nel vuoto. Il
5 prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc-esani al 25% a dare 1-(2-(3-nitro-1*H*-pirazol-1-il)etil)piperidina come solido giallo pallido (2,5 g, 64%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 7,60 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 6,81 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,29 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,78 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,41 (s, 4H), 1,57-1,53 (m, 4H), 1,45 (t, J = 6 Hz,
10 2H). LCMS (m/z): 225,10 ($M+1$)⁺.

Una soluzione di 1-(2-(3-nitro-1*H*-pirazol-1-il)etil)piperidina 3 (2,5 g, 11,16 mmol) in THF (20 mL) e MeOH (5 mL) è stata raffreddata a 0 °C. La soluzione è stata trattata in sequenza con polvere di zinco (3,6 g, 55,8 mmol) e soluzione acquosa di NH_4Cl (3 g, 55,8 mmol), quindi riscaldata a temperatura
15 ambiente e agitata per 5 ore. La miscela di reazione è stata diluita con etil acetato (50 mL), filtrata attraverso un letto di Celite e concentrata nel vuoto. Il residuo è stato diluito con etilacetato (60 mL) e lavato con acqua (40 mL), soluzione salina (40 mL), essiccato (Na_2SO_4) e concentrato nel vuoto a dare 1-(2-(piperidin-1-il)etil)-1*H*-pirazol-3-ammina come un solido bianco (1,75 g, 81%).
20 ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ = 7,28 (d, J = 2 Hz, 1H), 5,30 (s, J = 2 Hz, 1H), 4,50 (s, 2H), 3,90 (t, J = 6,8 Hz, 2H), 2,5-2,53 (m, 4H), 2,39-2,33 (m, 6H), 1,2 (s, 2H). LCMS (m/z): 195,10 ($M+1$)⁺.

1,5-dimetil-1*H*-pirazol-3-ammina


Ing. Ines Giangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

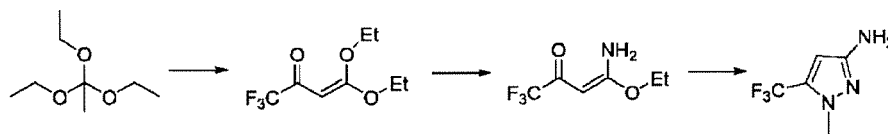


Una soluzione di 5-metil-3-nitro-1H-pirazolo (2 g, 15,7 mmol) in THF (20 mL) è stata raffreddata a 0 °C ed è stato addizionato NaH (0,7 g, 17,32 mmol) a porzioni per 10 minuti in atmosfera di azoto. La sospensione risultante è stata agitata per 10 minuti, quindi trattata con MeI (2,2 g, 15,7 mmol), riscaldata a temperatura ambiente e agitata per 4 ore. La miscela di reazione è stata diluita con soluzione di NH₄Cl satura (20 mL) ed estratta con EtOAc (2 x 30 mL). Gli organici sono stati lavati con acqua (30 mL), soluzione salina (30 mL), essiccati (Na₂SO₄) e concentrati nel vuoto a dare 1,5-dimetil-3-nitro-1H-pirazolo come un solido bianco (2 g, 91%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 6,71 (s, 1H), 3,87 (s, 3H), 2,34 (s, 3H).

In un recipiente di reazione shaker Parr da 100 mL, è stata trattata una soluzione di 1,5-dimetil-3-nitro-1H-pirazolo (2 g, 14,18 mmol) in MeOH (4 mL) ed EtOAc (20 mL) con 10% di palladio su carbonio (400 mg) in atmosfera di azoto. La beuta è stato evacuata, quindi riempita con idrogeno gassoso (60 psi) e agitato a temperatura ambiente per 12 ore. La miscela di reazione è stata diluita con etilacetato (50 mL) e filtrata attraverso un letto di Celite. Il filtrato è stato essiccato (Na₂SO₄) e concentrato *nel vuoto* a dare 1,5-dimetil-1H-pirazol-3-ammina come solido marrone chiaro (1,36 g 87%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 5,19 (s, 1H), 4,33 (br.s., 2H), 3,43 (s, 3H), 2,07 (s, 3H). LCMS (*m/z*): 112,3 (M+1)⁺

1-metil-5-(trifluorometil)-1H-pirazolo-3-ammina

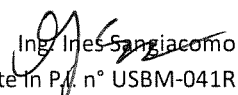
Ines Sargiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R



Una soluzione di 1,1,1-trietossietano (20 g, 123 mmol) in DCM (250 mL) e piridina (20,5 g, 259 mmol) è stata raffreddata a 0 °C. Una soluzione di anidride trifluoroacetica (52 g, 246 mmol) in DCM (50 mL) è stata addizionata a
5 gocce in un periodo di 30 minuti. La miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente, agitata per 12 ore, quindi diluita con soluzione di NaHCO₃ sat. acq. è stata estratta con DCM (2 x 250 mL). Gli organici combinati sono stati lavati con acqua (20 mL), soluzione salina (20 mL), essiccate (Na₂SO₄) e concentrate nel vuoto a dare 4,4-dietossi-1,1,1-trifluorobut-3-en-2-
10 one come un solido giallo (20 g, 76%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 4,93 (s, 1H), 4,39 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 4,18 (q, J = 7,2 Hz, 4H), 1,46-1,40 (m, 6H).

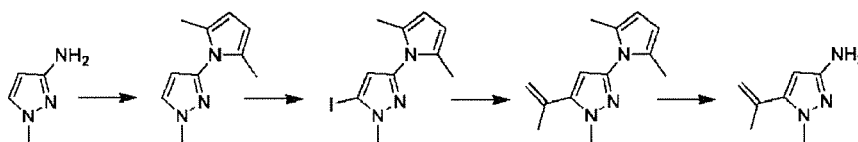
Una soluzione di 4,4-dietossi-1,1,1-trifluorobut-3-en-2-one (10 g, 47,16 mmol) in acetonitrile (100 mL) è stata trattata con una soluzione acquosa di NH₃ (15 mL) a 0 °C, quindi agitata a temperatura ambiente per 12 ore. La
15 miscela di reazione è stata concentrata nel vuoto, quindi il residuo è stato trattato con acqua (250 mL) ed estratto con DCM (2 x 250 mL). Gli organici sono stati lavati con acqua (250 mL), soluzione salina (250 mL), essiccati (Na₂SO₄) e concentrati nel vuoto a dare (E)-4-ammino-4-etossi-1,1,1-trifluorobut-3-en-2-one come un solido bianco sporco (7,5 g, 87%). ¹H NMR
20 (300 MHz, CDCl₃): δ = 5,6 (br.s., 1H), 4,17 (q, J = 7,2 Hz, 2H), 1,42 (t, J = 7,2 Hz, 3H).

Una soluzione di (E) -4-ammino-4-etossi-1,1,1-trifluorobut-3-en-2-one (5 g, 27,3 mmol) in EtOH (30 mL) è stata trattata con metilidrazina solfato (4,72 g, 32,8 mmol) ed Et₃N (4,1 g, 41,0 mmol) a temperatura ambiente. La risultante


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente In P.A. n° USBM-041R

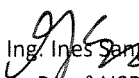
miscela di reazione è stata riscaldata a 85 °C per 12 ore, quindi raffreddata a temperatura ambiente e concentrata nel vuoto. Il residuo ottenuto è stato diluito con soluzione di NaHCO₃ sat. acq. (250 mL) ed estratto con EtOAc (2 x 250 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (250 mL),
5 soluzione salina (250 mL), essiccate (Na₂SO₄) e concentrate nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc-esani al 20% a dare 1-metil-5-(trifluorometil)-1H-pirazolo-3-ammina come liquido marrone pallido (0,17 g, 38%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 5,93 (s, 1H), 3,79 (s, 3H), 3,68 (br.s., 2H).

10 **1-metil-5-(prop-1-en-2-il)-1H-pirazol-3-ammina**




Una soluzione di 1-metil-1H-pirazol-3-ammina (2g, 20,6 mmol) in AcOH (50 mL) è stata trattata con 2,5-esano dione (4,9 g, 43,29 mmol) a temperatura
15 ambiente sotto atmosfera di azoto. La risultante miscela di reazione è stata riscaldata a 100 °C per 1 ora poi agitata a temperatura ambiente per 5 ore. La miscela di reazione è stata concentrata a pressione ridotta e azeotropizzata con toluene. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente di EtOAc-esani al 10% a dare 3-(2,5-dimetil-1H-
20 pirrol-1-il)-1-metil-1H-pirazolo come liquido (2,5 g, 69%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7,39 (d, J = 2,1 Hz, 1H), 6,15 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 5,84 (s, 2H), 3,92 (s, 3H), 2,10 (s, 6H).

Una soluzione di 3-(2,5-dimetil-1 H -pirrol-1-il) -1-metil-1H-pirazolo (1 g,


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P. n° USBM-041R

5,71 mmol) in THF anidro (10 mL) è stata raffreddata a -78 °C in atmosfera di azoto, n-BuLi (1,6 M in esani, 4,4 mL, 6,86 mmol) è stato addizionato a gocce alla soluzione sopra per un periodo di 10 minuti, quindi agitato a -78 °C per 1 ora prima del trattamento con una soluzione di I₂ (1,54 g, 5,71 mmol) in THF (5 mL) a -78 °C, l'agitazione è stata continuata a questa temperatura fino al completamento (2 h). La miscela di reazione è stata spenta con soluzione di NH₄Cl sat. acq. ed estratta con etilacetato (2 x 25 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (20 mL), soluzione salina (20 mL), essiccate (Na₂SO₄) e concentrate nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente di EtOAc-esani al 50% a dare 3-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-5-iodo-1-metil-1H-pirazolo come un solido bianco sporco (0,75g, 43,6%). ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃): δ = 6,33 (s, 1H), 5,84 (s, 2H), 3,95 (s, 3H), 2,09 (s, 6H).

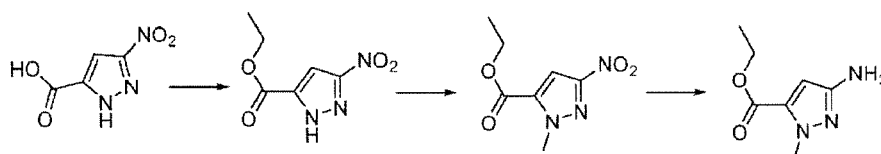
Una soluzione di 3-(2,5-dimetil-1 H -pyrrol-1-il) -5-iodo-1-metil-1H-pirazolo (1 g, 3,32 mmol) in DME: acqua (8: 2, 10 mL) è stata trattata con 4,4,5,5-tetrametil-2-(prop-1-en-2-il) -1,3,2-diossaborolano (0,67 g, 3,98 mmol) e Na₂CO₃ (0,52 g, 4,98 mmol) a temperatura ambiente in atmosfera di azoto. La soluzione risultante è stata degassata spurgando con argon per 15 minuti, quindi trattata con Pd (PPh₃)₄ (190 mg, 0,166 mmol) in atmosfera di argon. La risultante miscela è stata riscaldata a 90 °C per 24 ore, quindi raffreddata a temperatura ambiente e concentrata nel vuoto. Il residuo ottenuto è stato diluito con acqua fredda (20 mL) ed estratto con EtOAc (2 x 20 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (20 mL), soluzione salina (20 mL), essiccate (Na₂SO₄) e concentrate nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente di


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

EtOAc-esani al 5% a dare 3-(2,5-dimetil-1*H*-pirrol-1-il)-1-metil-5-(prop-1-en-2-il)-1*H*-pirazolo come liquido giallo pallido (0,765 g, 92%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 6,08 (s, 1H), 5,84 (s, 2H), 5,39 (s, 1H), 5,23 (s, 1H), 3,92 (s, 3H), 2,12 (s, 9H).

5 Una soluzione di 3-(2,5-dimetil-1*H*-pirrol-1-il)-1-metil-5-(prop-1-en-2-il)-1*H*-pirazolo (0,7 g, 3,25 mmol) in EtOH-H₂O (8: 2, 12 mL) è stato trattato con NH₂OH.HCl (2,26 g, 32,55 mmol) e KOH (1,8 g, 32,55 mmol). La risultante miscela di reazione è stata riscaldata a 100 °C per 48 ore. La miscela di reazione è stata raffreddata e concentrata nel vuoto. Il residuo è stato trattato
10 con NaHCO₃ saturo a dare una soluzione di pH ~ 8 quindi estratto con EtOAc (2 x 50 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (20 mL), soluzione salina (20 mL), essiccate (Na₂SO₄) e concentrate nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc al 100% a dare 1-metil-5-(prop-1-en-2-il)-1*H*-
15 pirazol-3-ammina come liquido marrone chiaro (0,4 g, 91%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 5,54 (s, 1H), 5,27 (s, 1H), 5,08 (s, 1H), 3,71 (s, 3H), 2,41 (s, 2H), 1,92 (s, 3H).

Etil 3-ammino-1-metil-1*H*-pirazolo-5-carbossilato



20 Una soluzione di acido 3-nitro-1*H*-pirazolo-5-carbossilico (5 g, 31,8 mmol) in etanolo (50 mL) è stata trattata con cloruro di tionile (4,5 g, 38,2 mmol) a gocce per un periodo di 10 minuti a 0 °C sotto atmosfera di azoto. La risultante miscela è stata agitata a 80 °C per 6 ore, quindi raffreddata a

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

temperatura ambiente e concentrata nel vuoto. Il residuo ottenuto è stato basificato a pH 8 con soluzione satura di NaHCO_3 prima dell'estrazione con acetato di etile (2 x 100 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (100 mL), soluzione salina (100 mL), essiccate (Na_2SO_4) e concentrate nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato triturato con dietiletere, filtrato ed essiccato a pressione ridotta a dare etil 3-nitro-1H-pirazolo-5-carbossilato come un solido (5g, 85%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6): $\delta = 7,44$ (s, 1H), 4,36 (q, $J = 6,8$ Hz, 2H), 1,33 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H). LCMS (m/z): 184 ($\text{M}-1$)⁻.

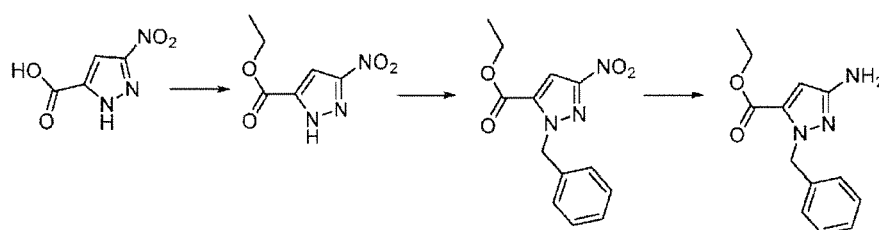
Etil 3-nitro-1H-pirazolo-5-carbossilato (1 g, 5,4 mmol) in DMF (10 mL) a temperatura ambiente e trattata con K_2CO_3 (1,34 g, 9,7 mmol). La miscela risultante è stata raffreddata a 0 °C ed è stato addizionato metil ioduro (1,15 g, 8,1 mmol) a goccia, la miscela di reazione è stata sigillata, lasciata riscaldare a temperatura ambiente e agitata per 12 ore. La miscela di reazione è stata diluita con acqua (20 mL) ed estratta con EtOAc (2 x 30 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (30 mL), soluzione salina (30 mL), essiccate (Na_2SO_4) e concentrate nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc-esani al 5% a dare etil 1-metil-3-nitro-1H-pirazolo-5-carbossilato come solido bianco (0,65 g, 61%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO-d_6) $\delta = 7,54$ (s, $J = 1,1$ Hz, 1H), 4,35 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 4,19 (d, $J = 1,2$ Hz, 3H), 1,33 (t, $J = 7,1$ Hz, 3H).

Etil 1-metil-3-nitro-1H-pirazolo-5-carbossilato (0,65 g, 3,3 mmol) è stato disciolto in THF (20 mL) e MeOH (5 mL) a 0 °C. Polvere di zinco (1,0 g, 16,3 mmol) e NH_4Cl acquoso (0,87 g, 16,3 mmol) sono stati addizionati in sequenza. La risultante miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 4 ore, quindi riscaldata a 70 °C per 1 ora. I solventi sono stati rimossi nel vuoto. Il

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° 05BM-041R

residuo ottenuto è stato disciolto in EtOAc (30 mL) e filtrato attraverso un letto di Celite. Il filtrato è stato lavato con acqua (30 mL), soluzione salina (30 mL), essiccato (Na_2SO_4) e concentrati nel vuoto a dare etil 3-ammino-1-metil-1*H*-pirazolo-5-carbossilato come un solido bianco (0,5 g, 91%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ 5,95 (s, 1H), 4,24 (q, $J = 7,1$ Hz, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,41 (s, 2H), 1,27 (t, $J = 7,1$ Hz, 4H).

Etil 3-ammino-1-benzil-1*H*-pirazolo-5-carbossilato




Una soluzione di acido 3-nitro-1*H*-pirazolo-5-carbossilico (5 g, 31,8 mmol) in etanolo (50 mL) è stata trattata con cloruro di tionile (4,5 g, 38,2 mmol) a gocce per un periodo di 10 minuti a 0 °C sotto atmosfera di azoto. La risultante miscela è stata agitata a 80 °C per 6 ore, quindi raffreddata a temperatura ambiente e concentrata nel vuoto. Il residuo ottenuto è stato basificato a pH 8 con soluzione satura di NaHCO_3 prima dell'estrazione con acetato di etile (2 x 100 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (100 mL), soluzione salina (100 mL), essiccate (Na_2SO_4) e concentrate nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato triturato con dietilere, filtrato ed essiccato a pressione ridotta a dare etil 3-nitro-1*H*-pirazolo-5-carbossilato come un solido (5 g, 85%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): $\delta = 7,44$ (s, 1H), 4,36 (q, $J = 6,8$ Hz, 2H), 1,33 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H). LCMS (m/z): 184 ($\text{M}-1$).

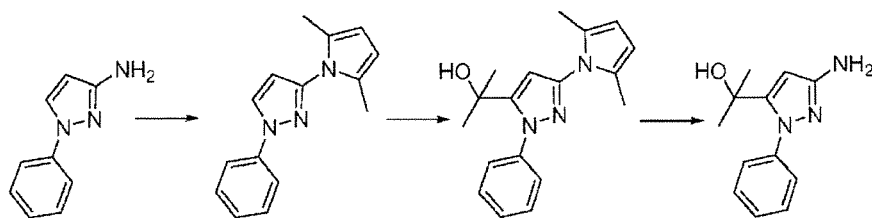
Etil 3-nitro-1*H*-pirazolo-5-carbossilato (2 g, 10,8 mmol) in DMF (10 mL) a temperatura ambiente e trattata con K_2CO_3 (3g, 21,6 mmol). La miscela

risultante è stata raffreddata a 0 °C ed è stato aggiunto benzil bromuro (2,7 g, 16,2 mmol) a goccia, la miscela di reazione è stata lasciata riscaldare a temperatura ambiente e agitata per 2 ore. La miscela di reazione è stata diluita con acqua (20 mL) ed estratta con EtOAc (2 x 30 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (30 mL), soluzione salina (30 mL), essiccate (Na₂SO₄) e concentrate nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc-esani al 5% a dare etil 1-benzil-3-nitro-1*H*-pirazolo-5-carbossilato come solido bianco (1,2 g 40%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,44 (s, 1H), 7,34-7,31 (m, 5H), 5,83(s, 2H), 4,39 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 1,38 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H). LCMS (*m/z*): 276,15 (M+1)⁺.

Etil 1-benzil-3-nitro-1*H*-pirazolo-5-carbossilato (1,2 g, 4,36 mmol) è stato disciolto in THF (20 mL) e MeOH (5 mL) a 0 °C. Polvere di zinco (1,4 g, 21,8 mmol) e NH₄Cl acquoso (1,16g, 21,8 mmol) sono stati aggiunti in sequenza. La risultante miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 4 ore, poi concentrata nel vuoto. Il residuo ottenuto è stato disciolto in EtOAc (30 mL) e filtrato attraverso un letto di Celite. Il filtrato è stato lavato con acqua (30 mL), soluzione salina (30 mL), essiccato (Na₂SO₄) e concentrati nel vuoto a dare etil 3-ammino-1-benzil-1*H*-pirazolo-5-carbossilato come un solido bianco (1 g, 94%). ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 7,30-7,19 (m, 3H), 7,11-7,08(m, 2H), 6,00 (s, 1H), 5,43 (s, 2H), 4,91 (s, 2H), 4,23 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 1,24 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H). LCMS (*m/z*): 245,9 (M+1)⁺.

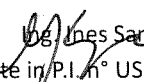
2-(3-Ammino-1-fenil-1*H*-pirazol-5-il)propan-2-olo


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R



Una soluzione di 1-fenil-1H-pirazol-3-ammina (3,5 g, 21,9 mmol) in acido acetico (20 mL) è stata trattata con 2,5-hexadione (5,2 g, 45,9 mmol) e riscaldato a 100 °C per 4 ore. La miscela è stata raffreddata e concentrata nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente di EtOAc-esani al 5% a dare 3-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-1-fenil-1H-pirazolo come liquido incolore (2,8 g, 54%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,98 (s, 1H), 7,74 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,49 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,32 (t, J = 7,6 Hz, 1H), 6,39 (s, 1H), 5,9 (s, 2H), 2,19 (s, 6H).

Una soluzione di 3-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-1-fenil-1H-pirazolo (2,7 g, 11,4 mmol) in THF (70 mL) a -78 °C è stata trattata a gocce con n-BuLi (1,6 M in THF, 10 mL, 23,91 mmol) per 10 minuti. La miscela di reazione è stata agitata a -78 °C per 1,5 ore quindi trattata con acetone essiccato di recente (1 g, 17,0 mmol) e l'agitazione è continuata a -78 °C per 1,5 ore. La miscela di reazione è stata spenta con cloruro di ammonio sat. (2 mL), concentrato nel vuoto quindi ripartito tra acqua (100 mL) ed etilacetato (100 mL). L'estratto organico è stato lavato con acqua (100 mL), soluzione salina (100 mL), essiccato (Na₂SO₄) e concentrato nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente di EtOAc-esani al 20% a dare 2-(3-(2,5-dimetil-1H-pirrol-1-il)-1-fenil-1H-pirazol-5-il)propan-2-olo come un solido bianco sporco (1,4 g, 42%). ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 7,57-7,56 (m, 2H), 7,47-7,46 (m, 3H), 6,23 (s, 1H), 5,85 (s, 2H),

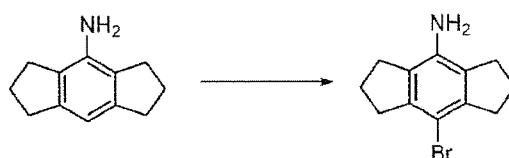

De Jines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

2,19 (s, 6H), 1,52 (s, 6H). LCMS (m/z): 296,1 ($M+1$)⁺.

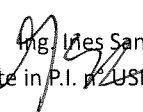
In una provetta di reazione richiudibile da 100 mL, 2-(3-(2,5-dimetil-1 *H*-pirrol-1-il)-1-fenil-1*H*-pirazol-5-il) propan-2-olo (1,4 g, 4,74 mmol) sono stati sciolti in EtOH-H₂O (1:1, 50 mL) a temperatura ambiente. Sono stati addizionati
5 in sequenza idrossil ammina cloridrato (3,3 g, 47,45 mmol) e KOH (2,6 g, 47,45 mmol) e la miscela di reazione risultante è stata riscaldata a 120 °C per 16 ore. La miscela di reazione è stata concentrata nel vuoto, diluita con acqua (50 mL) ed estratta con etilacetato (2 x 50 mL). Gli estratti organici sono stati lavati con acqua (50 mL), soluzione salina (50 mL), essiccati (Na₂SO₄) e concentrati nel
10 vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc-esani al 50% a dare 2-(3-ammino-1-fenil-1*H*-pirazol-5-il)propan-2-olo come liquido incolore (0,8 g, 78%). LCMS (m/z): 218,1 ($M+1$)⁺.

Sintesi di intermedi amminici R2:

15 **8-bromo-1,2,3,5,6,7-esaidro- *s*-indacen-4-ammina**

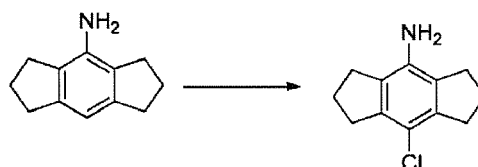


N-Bromosuccinimide (1,02 g, 5,78 mmol) è stata addizionata in proporzione ad una soluzione di 1,2,3,5,6,7-hexahydro-*s*-indacen-4-ammina (1
20 g, 5,78 mmol) in DCM (20 mL) a 0 ° C. La soluzione è stata gradualmente riscaldata a temperatura ambiente e agitata per 12 ore. La miscela di reazione è stata diluita con Na₂S₂O₃ sat. acq. (50 mL) ed estratto con DCM (2 x 25 mL). Gli estratti organici combinati sono stati lavati con acqua (25 mL), soluzione

Ing.  Luigi Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

salina (25 mL), essiccati (Na_2SO_4) e concentrati nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc-esano al 5% a dare 8-bromo-1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-ammina come solido marrone (1,2 g, 83%). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 3,45 (br.s., 2H), 2,92-2,88 (m, 4H), 2,81-2,77 (m, 4H), 2,16-2,09 (m, 4H); LC-MS 94% (210 nM); m/z 252,15 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

8-cloro-1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-ammina



10 N -clorosuccinimide (0,46 g, 3,46 mmol) è stata addizionata in porzione a una soluzione di 1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-ammina, 1(0,6 g, 3,46 mmol) in CHCl_3 (10 mL) a 0 °C. La soluzione è stata gradualmente riscaldata a temperatura ambiente e agitata per 10 ore. La miscela di reazione è stata diluita con $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ sat. acq. (50 mL) ed estratta con DCM (2 x 25 mL). Gli estratti
15 organici combinati sono stati lavati con acqua (25 mL), soluzione salina (25 mL), essiccati (Na_2SO_4) e concentrati nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc-esano al 10% a dare 8-cloro-1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-ammina come solido marrone (0,45 g, 63%). ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 2,94 (t, J = 7,2 Hz, 4H), 2,77 (t, J = 8,1 Hz, 4H), 2,18 (m, 4H); m/z 207,8 $[\text{M} + \text{H}]^+$.

20

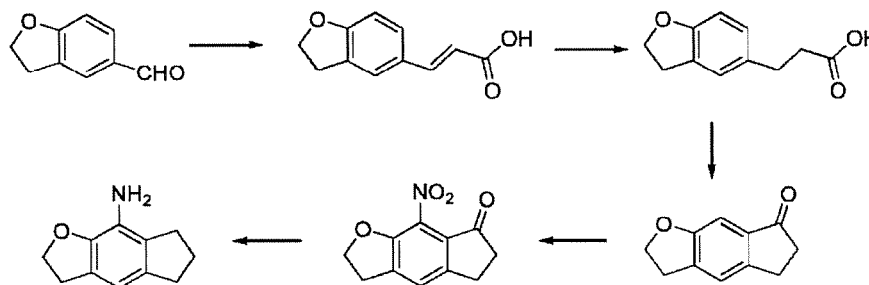
8-metil-1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-ammina



Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

8-Bromo-1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-ammina (400 mg, 1,59 mmol) è stato sciolto in 1,4-diossano-acqua (8: 2, 10 mL) e la beuta di reazione spurgata con gas argon per 15 min. K_2CO_3 (650 mg, 4,78 mmol), acido metil boronico (100 mg, 1,75 mmol) e Pd (PPh_3)₄ (100 mg, 0,079 mmol) sono stati addizionati
5 in sequenza in atmosfera di argon. La miscela risultante è stata sigillata e riscaldata a 100 °C per 2 ore. La miscela di reazione è stata raffreddata, diluita con acqua ed estratta utilizzando EtOAc (2 x 20 mL). Gli estratti organici combinati sono stati lavati con acqua (25 mL), soluzione salina (25 mL), essiccati (Na_2SO_4) e concentrati nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato
10 mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc-esano al 5% a dare 8-metil-1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-ammina come liquido incolore (0,220 g, 76%). ¹H NMR (400 MHz, $CDCl_3$): δ = 3,41 (br.s., 2H), 2,88-2,8 (m, J = 7,5 Hz, 4H), 2,75-2,67 (m, 4H), 2,18-2,09 (m, 7H); m/z 188,2 $[M + H]^+$.

15 **3,5,6,7-tetraidro-2 H-indeno[5,6-b]furan-8-ammina**



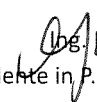
Una soluzione di 2,3-diidrobzofuran-5-carbaldeide (10 g, 67,6 mmol), acido malonico (10,5 g, 101,35 mmol) e piperidina (0,47 mL, 4,73 mmol, 0,07 eq) è stata riscaldata in piridina (60 mL) a 100 °C per 5 ore. La miscela di
20 reazione è stata acidificata a ~ pH 3 usando 1N di HCl e il prodotto estratto con IPA/cloroformio al 10% (2 x 250 mL). Gli estratti organici combinati sono stati

Ingegner Sangiacomo
Consulente in P.A. n° 01SBM-041R

lavati con acqua (250 mL), soluzione salina (250 mL), essiccati (Na_2SO_4) e concentrati nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato triturato usando dietil etere a dare acido (E)-3-(2,3-diidrobenzofuran-5-il) come solido giallo (10 g, 78%). ^1H NMR (300 MHz, Cloroformio- d) δ = 7,73 (d, J = 15,9 Hz, 1H), 7,43 (s, 1H), 7,33 (dd, J = 8,1, 1,8 Hz, 1H), 6,80 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 6,29 (d, J = 15,9 Hz, 1H), 4,64 (t, J = 8,7 Hz, 2H), 3,24 (t, J = 8,7 Hz, 2H).

Una soluzione di acido (E)-3-(2,3-diidrobenzofuran-5-il)acrilico (8,0 g, 42,1 mmol) in acido acetico (80 mL) e acqua (1,0 mL) è stata trattata con il 10% palladio su carbonio (1,0 g) in due porzioni. La miscela di reazione è stata agitata in atmosfera o idrogeno gassoso (palloncino) fino al completamento, in genere 4 ore. La miscela è stata diluita usando etil acetato (100 mL) e filtrata attraverso un letto di celite lavando con ulteriore etil acetato. I solventi sono stati rimossi nel vuoto e il residuo grezzo azeotropizzato usando toluene (2 x 50 mL) a dare un solido bianco sporco che è stato triturato usando dietil etere (50 mL) a dare acido 3-(2,3-diidrobenzofuran-5-il)propanoico come solido bianco (6,5 g, 80%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ = 7,04 (s, 1H), 6,93 (d, J = 8,4, 1H), 6,7 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 4,55 (t, J = 8,4 Hz, 2H), 3,18 (t, J = 8,4 Hz, 2H), 2,89 (t, J = 7,6 Hz, 2H), 2,64 (t, J = 7,6 Hz, 2H).

Una soluzione di acido 3-(2,3-diidrobenzofuran-5-il) propanoico (6,0 g, 31 mmol) in cloruro di tionile (8 mL) è stata riscaldata a 80 ° C per 1 ora. Al completamento della reazione il cloruro di tionile è stato rimosso nel vuoto e il 3-(2,3-diidrobenzofuran-5-il) propanoil cloruro grezzo è stato sciolto in 1,2-dicloroetano anidro (30 mL). In una beuta separata triclورو di alluminio (2 g, 15 mmol) è stato addizionato all'1,2-dicloroetano (40 mL) anidro a 0 °C seguito dalla soluzione di cloruro di acido (10 mL) a gocce per 5 minuti e la soluzione


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n. 20581/041R

risultante è stata agitata per 30 minuti a 0 °C. È stata addizionata un'ulteriore porzione di tricloruro di alluminio (3 g, 22,5 mmol) seguita dall'addizione a gocce della restante soluzione di cloruro di acido (20 mL) a 0 °C. La miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 1 ora o fino al

5 completamente, diluita con acqua ed estratta usando EtOAc (2 x 50 mL). Gli estratti organici combinati sono stati lavati con 1N di HCl (50 mL), 1N di NaOH (50 mL), acqua (25 mL), soluzione salina (25 mL), essiccati (Na₂SO₄) e concentrati nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc-esani al 10% a

10 dare 2,3,5,6-tetraidro-7H-indeno[5,6-b]furan-7-one come solido bianco (3,8 g 70%). ¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ = 7,36 (s, 1H), 6,91 (s, 1H), 4,61 (t, J = 8,6 Hz, 3H), 3,26 (t, J = 8,6 Hz, 2H), 3,05 (t, J = 5,5 Hz, 3H), 2,68 (t, J = 5,5 Hz, 2H). 2,3,5,6-tetraidro-7 H- indeno [5,6-b] furan-7-one (1,5 g, 8,61 mmol) è stato sciolto in cH₂SO₄ (6,0 mL) a 0 °C seguito dall'addizione a gocce di f.HNO₃:

15 cH₂SO₄, 1:1 (1,2 mL) l'agitazione è stata continuata a 0 °C per 1 ora. La miscela di reazione è stata addizionata ad acqua ghiacciata (60 mL) e agitata per 10 minuti, il risultante ppt marrone chiaro è stato rimosso mediante filtrazione, lavato con acqua ghiacciata (20 mL) ed essiccato nel vuoto a dare 8-nitro-2, 3,5,6-tetraidro-7H-indeno [5,6-b] furan-7-one (1,2 g, 64%). ¹H NMR (300

20 MHz, CD₃OD) δ = 7,54 (s, 1H), 4,80 (t, J = 8,6 Hz, 2H), 3,42 (t, J = 8,6 Hz, 2H), 3,09 (t, J = 5,6 Hz, 2H), 2,74 (t, J = 5,6 Hz, 2H).

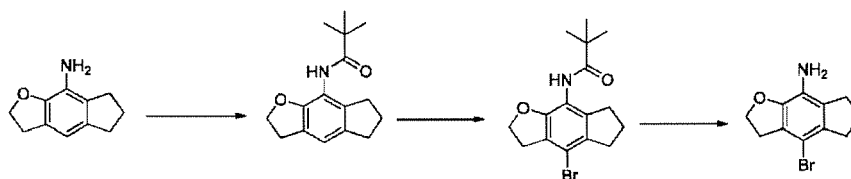
Una soluzione di 8-nitro-2,3,5,6-tetraidro-7H-indeno [5,6-b] furan-7-one (1,0 g, 4,57 mmol) in metanolo (20 mL) a 0 °C è stata trattata con acido metan solfonico (0,2 mL) seguito da idrossido di palladio al 20% (0,5 g). La miscela di

25 reazione è stata agitata sotto atmosfera o idrogeno gassoso a 60 psi fino al

Ing. Inés Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

completamento. La miscela di reazione è stata filtrata attraverso un letto di celite e lavata con metanolo (50 mL) e concentrata nel vuoto. Il residuo è stato diluito con acetato di etile (50 mL) e lavato con NaHCO₃ sat. Acq. (50 mL), acqua (20 mL), soluzione salina (20 mL), essiccate (Na₂SO₄) e concentrate nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc-esani al 10% a dare 3,5,6,7-tetraidro-2H-indeno[5,6-b]furan-8-ammina come solido bianco (0,5 g 63%). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ = 6,54 (s, 1H), 5,30 (s, 2H), 4,61 (t, J = 8,7 Hz, 2H), 3,21 (t, J = 8,7 Hz, 2H), 2,95 (t, J = 5,5 Hz, 2H), 2,66 (t, J = 5,5 Hz, 2H).

10 **4-bromo-3,5,6,7-tetraidro-2H-indeno[5,6-b]furan-8-ammina**



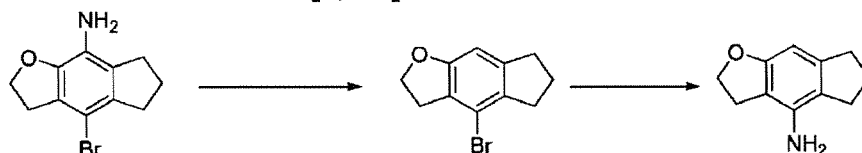
3,5,6,7-tetraidro-2H-indeno [5,6-b] furan-8-ammina (0,5 g, 2,86 mmol) e trietilammina (0,51 mL, 3,71 mmol) in diclorometano (6,0 mL) a 0 °C è stato trattato a gocce con una soluzione di pivalil cloruro (0,41 g, 3,43 mmol) in DCM (4,0 mL). La reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 6 ore. La miscela di reazione è stata addizionata a NaHCO₃ sat. acq. (30 mL) ed estratta con DCM (2 x 25 mL). Gli organici combinati sono stati lavati con acqua (25 mL), soluzione salina (25 mL), essiccati (Na₂SO₄) e concentrati nel vuoto a dare N-(3,5,6,7-tetraidro-2H-indeno[5,6-b]furan-8-il)pivalamide come un solido bianco (0,55 g, 74%). ¹H NMR (300 MHz, Cloroformio-*d*) δ = 6,91 (s, 1H), 4,56 (t, J = 8,6 Hz, 2H), 3,17 (t, J = 8,6 Hz, 2H), 2,83 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 2,75 (t, J = 7,4 Hz, 2H), 2,04 (p, J = 7,4 Hz, 2H), 1,32 (s, 9H).

Ing. Francesco Sangiacomo
Consulente in P.I. n. 041R/041R

N- (3,5,6,7-tetraidro-2H-indeno [5,6-b] furan-8-il) pivalamide (0,55 g, 2,12 mmol) in acido acetico (10 mL) è stata trattata a gocce come con una soluzione di bromo (0,4 g, 2,55 mmol) in acido acetico (2,0 mL) e la reazione agitata a temperatura ambiente per 3 ore. Acqua fredda ghiacciata è stata addizionata alla miscela di reazione e agitata per 10 minuti. Il precipitato risultante è stato rimosso per filtrazione, lavato con acqua (20 mL) ed essiccato nel vuoto a dare N- (4-bromo-3,5,6,7-tetraidro-2H-indeno [5,6-b] furan- 8-yl) pivalamide come solido marrone chiaro (0,65 g, 91%). ¹H NMR (300 MHz, Cloroformio-*d*) δ = 6,94 (s, 1H), 4,61 (t, *J* = 8,7 Hz, 2H), 3,18 (t, *J* = 8,7 Hz, 2H), 2,92 - 2,80 (m, 4H), 2,06 (p, *J* = 7,4 Hz, 2H), 1,31 (s, 9H).

N- (4-bromo-3,5,6,7-tetraidro-2H-indeno [5,6-b] furan-8-il) pivalamide (0,6 g, 1,78 mmol) in EtOH (10 mL) e CHCl₃ (15 mL) è sono stati riscaldati a 90 °C per 36 ore. La soluzione è stata concentrata nel vuoto quindi basificata usando una soluzione di NH₄OH. La fase acquosa è stata estratta usando etilacetato (2 x 20 mL) e gli estratti organici combinati essiccati (Na₂SO₄) e concentrati nel vuoto a dare 4-bromo-3,5,6,7-tetraidro-2H-indeno[5,6-b]furan-8-ammina come un solido marrone (0,3 g, 67%). ¹H NMR (400 MHz, Cloroformio-*d*) δ = 4,61 (t, *J* = 8,6 Hz, 2H), 3,49 (s, 2H), 3,17 (t, *J* = 8,6 Hz, 2H), 2,84 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 2,78 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 2,12 (p, *J* = 7,4 Hz, 2H).

20 3,5,6,7-tetraidro-2 H-indeno[5,6-b]furan-4-ammina

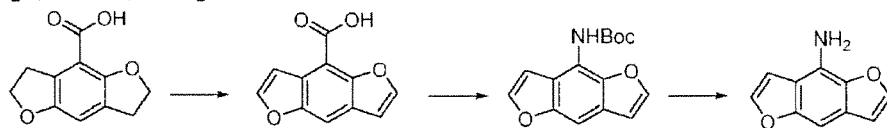


3,5,6,7-tetraidro-2H-indeno [5,6-b] furan-8-ammina (0,5 g, 1,98 mmol) in etanolo (10 mL) e acido acetico (1,5 mL) è stata trattata con una soluzione di nitrato di sodio (1,3 g, 19,8 mmol) in acqua (3,0 mL) e la reazione agitata a

temperatura ambiente per 4 ore. L'etanolo è stato rimosso nel vuoto quindi il residuo diluito con acqua (30 mL), estratto con IPA/cloroformio al 10% (2 x 25 mL), essiccato (Na_2SO_4) e concentrato nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente
5 EtOAc-esani al 5% a dare 4-bromo-3,5,6,7-tetraidro-2H-indeno[5,6-b]furano come solido giallo (0,28 g, 60%).

4-bromo-3,5,6,7-tetraidro-2H-indeno [5,6-b] furano (0,28 g, 1,18 mmol) in DMSO (10 mL) è stato trattato con ioduro di rame (0,22 g, 1,18 mmol), L-prolina (0,21 g, 1,88 mmol) e azoturo di sodio (0,19 g, 2,94 mmol). La miscela di
10 reazione è stata riscaldata in una provetta sigillata a 135 °C per 36 ore. La miscela di reazione è stata raffreddata, diluita con acqua ed estratta utilizzando EtOAc (2 x 25 mL). Gli estratti organici combinati sono stati lavati con acqua (25 mL), soluzione salina (25 mL), essiccati (Na_2SO_4) e concentrati nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di
15 silice usando eluente EtOAc-esani al 10% a dare 3,5,6,7-tetraidro-2H-indeno[5,6-b]furan-4-ammina come solido grigio (0,17 g 85%). ^1H NMR (300 MHz, Cloroformio-*d*) δ = 6,21 (s, 1H), 4,59 (t, J = 8,5 Hz, 2H), 3,51 (s, 1H), 2,98 (t, J = 8,5 Hz, 2H), 2,83 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,64 (t, J = 7,5 Hz, 2H), 2,10 (p, J = 7,5 Hz, 2H).

20 **benzo [1,2-b: 4,5-b '] difuran-4-ammina**



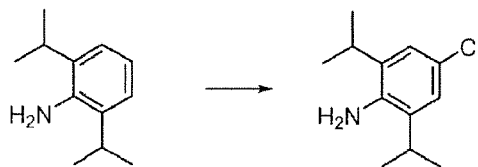
Acido 2,3,6,7-tetraidrobenczo [1,2-b: 4,5-b ']difuran-4-carbossilico (0,8 g, 3,88 mmol), 2, 3-dicloro-5,6- il dicianobenzochinone (2,64 g, 11,65 mmol) in diossano anidro (20 mL) è stato riscaldato in un tubo sigillato a 120 °C per 18

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

ore. La miscela di reazione è stata raffreddata a temperatura ambiente e $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (30 mL) sat. acq. addizionato prima dell'estrazione con etilacetato (2 x 25 mL). I composti organici combinati si sono essiccati (Na_2SO_4) e si sono concentrati nel vuoto a dare all'acido benzo [1,2-b: 4,5-b '] difuran-4-carbossilico
5 grezzo (1,5 g). L'acido grezzo (1,5 g), la trietilammina (2,05 mL) e il difenilfosforil azide (4,08 g, 14,85 mmol) in butanolo terziario (20 mL) sono stati riscaldati in una provetta sigillata a 90 °C per 12 ore. La soluzione è stata raffreddata a temperatura ambiente, diluita con acqua (50 mL) ed estratta usando EtOAc (2 x 50 mL). Gli estratti organici combinati sono stati lavati con
10 acqua (25 mL), soluzione salina (25 mL), essiccati (Na_2SO_4) e concentrati nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente di EtOAc-esani al 10% a dare terz-butyl benzo [1,2-b: 4,5-b '] difuran-4-ilcarbammato (0,75 g) con impurità minori dal reagente di fosfina, il prodotto è stato sciolto in DCM (10 mL) e TFA (3,0 mL) addizionato
15 a gocce in 5 minuti a 0 °C. La reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 2 ore, quindi addizionata con cura a NaHCO_3 sat. acq. (50 mL). La fase acquosa è stata estratta usando DCM (2 x 30 mL) e gli estratti organici combinati sono stati lavati con acqua (25 mL), soluzione salina (25 mL), essiccati (Na_2SO_4) e concentrati nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato
20 mediante cromatografia su colonna su gel di silice usando eluente EtOAc-esani al 10% a dare benzo[1,2-b:4,5-b']difuran-4-ammina come solido bianco sporco (0,2 g 30%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 7,6 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,53 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 7,12 (s, 1H), 6,78 (m, 2H), 4,17 (br.s., 1H).

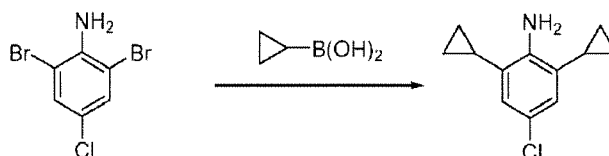
4-cloro-2,6-diisopropilanilina

Ing. Ives Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

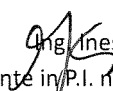


2,6-Diisopropilanilina (5,0 g, 28,2 mmol) in DMF (100 mL) è stata trattata con *N*-clorosuccinimide (3,97 g, 29,7 mmol) e la miscela di reazione agitata a temperatura ambiente durante la notte. La soluzione è stata versata in acqua
5 (500 mL) ed estratta utilizzando dietilere (2 x 150 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (2 x 200 mL), soluzione salina (200 mL), essiccate (MgSO₄) e concentrate nel vuoto. Il prodotto è stato purificato mediante distillazione a percorso breve a dare il composto del titolo come un olio rosso (3,0 g, 50%). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 6,84 (s, 2H), 4,75 (s,
10 2H), 3,01 (ept, *J* = 6,8 Hz, 2H), 1,13 (d, *J* = 6,8 Hz, 12H). ¹³C NMR (151 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 141,1, 133,8, 122,5, 120,5, 27,2, 22,8.

4-cloro-2,6-diciclopropilanilina

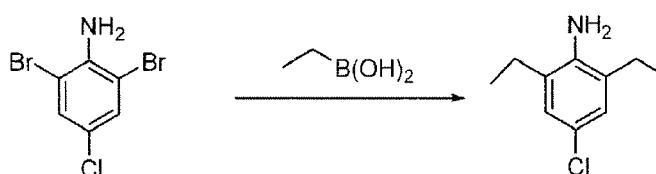


In una provetta di reazione richiudibile da 50 mL, una soluzione di 2,6-
15 dibromo-4-cloroanilina (0,25 g, 0,88 mmol) e acido ciclopropil boronico (0,22 g, 2,62 mmol) insieme a K₃PO₄ (0,74 g, 3,50 mmol) sono stati sciolti in toluene: acqua (10 mL: 1 mL). La soluzione risultante è stata degassata spurgando con azoto per 5 minuti. Sono stati addizionati Pd(OAc)₂ (20 mg, 0,087 mmol) e tricicloesilfosfina (25 mg, 0,087 mmol) e la soluzione è stata spurgata con
20 azoto per altri 5 minuti. La miscela risultante è stata agitata a 100 °C per 12 ore. Al completamento della reazione la miscela è stata diluita con acqua (25 mL), estratta con EtOAc (2 x 25 mL) e l'estratto organico combinato lavato con


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

acqua, soluzione salina, essiccato (Na_2SO_4) e concentrato nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice (60-120 mesh) usando EtOAc-esani al 5% eluendo a dare 4-cloro-2,6-diciclopropilanilina (150 mg, 83%) come liquido marrone. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6): δ = 6,69 (s, 2H), 4,98 (s, 2H), 1,74-1,64 (m, 2H), 0,90-0,84 (m, 4H), 0,52-0,47 (m, 4H). LCMS (m/z): 208,30 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

4-cloro-2,6-dietilanilina

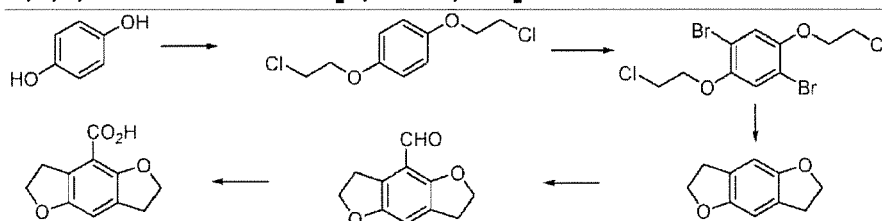


Una soluzione di 2,6-dibromo-4-cloroanilina (0,5 g, 1,75 mmol) e acido etil boronico (0,4 g, 5,25 mmol) in toluene (15 mL) e acqua (4 mL) è stata trattata con K_3PO_4 (1,5 g, 7,0 mmol) a temperatura ambiente in atmosfera di argon. Il gas argon è stato usato per spurgare la soluzione per 5 minuti prima di trattare con $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (40 mg, 0,175 mmol) e tricicloesil fosfina (50 mg, 0,175 mmol). La miscela di reazione è stata di nuovo versata con argon per 5 minuti. La miscela risultante è stata agitata a 100 °C per 12 ore. Al completamento della reazione la miscela è stata diluita con acqua, estratta con EtOAc (2 x 25 mL) e l'estratto organico combinato lavato con acqua, soluzione salina, essiccato (Na_2SO_4) e concentrato nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice (60-120 mesh) usando EtOAc-esani al 8% eluendo a dare 4-cloro-2,6-diciclopropilanilina (100 mg, 31 %) come liquido giallo. ^1H NMR (300 MHz, CDCl_3): δ = 6,94 (s, 2H), 3,61 (s, 2H), 2,53 (q, J = 7,5 Hz, 4H), 1,27 (t, J = 7,5 Hz, 6H). LCMS (m/z): 184,00 $[\text{M}+\text{H}]^+$.

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n. USBM-041R

Sintesi di intermedi amminici R2:

Acido 2,3,6,7-tetraidrobenzo [1,2-b: 4,5-b']difuran-4-carbossilico



La sintesi dell'acido 2,3,6,7-tetraidrobenzo [1, 2-b: 4,5-b'] difuran-4-
5 carbossilico è stata effettuata dall'idrochinone usando le procedure dettagliate
da Monte et.al. J.Med.Chem. 1996, 39, 2953-2961 a dare 2,3,6,7-
tetraidrobenzo[1,2-b:4,5-b']difuran-4-carbaldeide come un solido giallo brillante;
 ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ = 10,27 (s, 1H), 6,87 (s, 1H), 4,67 (t, J = 8,8 Hz,
2H), 4,59 (t, J = 8,8 Hz, 2H), 4,59 (t, J = 8,8 Hz, 2H), 3,46 (t, J = 8,8 Hz, 2H),
10 3,18 (t, J = 8,8 Hz, 2H).

L'aldeide (0,68 g, 3,58 mmol) è stata ossidata usando ossido d'argento
(I) (1,5 eq.) in idrossido di sodio acquoso al 5% a ta per 20 giorni. La miscela di
reazione grezza è stata filtrata attraverso celite, estratta usando dietil etere (2 x
50 mL) per rimuovere l'aldeide non reagita, quindi la fase acquosa è stata
15 acidificata a pH 1 usando 3,0 M di HCl acquoso a gocce a 0 °C. Il prodotto è
stato estratto usando diclorometano (2 x 50 mL) e i composti organici combinati
sono stati lavati con soluzione salina (50 mL), essiccati (MgSO_4) e concentrati
nel vuoto a dare acido 2,3,6,7-tetraidrobenzo [1,2-b : 4,5-b']difuran-4-
carbossilico come solido bianco (0,44 g; 60%).

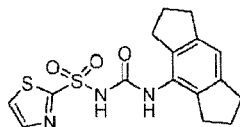
20 In alternativa, l'aldeide (0,5 g, 2,77 mmol) in acetone (5,0 mL) è stata
trattata con acido solfamminico (0,4 g, 4,17 mmol) in due porzioni a 0 °C. Dopo 2
minuti una soluzione di clorito di sodio (0,32 g, 3,6 mmol) in acqua (1,0 mL) è
stata addizionata a gocce e l'agitazione è continuata a 0 °C per 4 ore. La

miscela di reazione è stata diluita con acqua (20 mL) ed estratta usando IPA/cloroformio al 10% (2 x 20 mL). Le sostanze organiche combinate sono state lavate con acqua (25 mL), soluzione salina (25 mL), essiccate (Na₂SO₄) e concentrate nel vuoto. Il solido grezzo è stato triturato con dietil etere a dare
5 acido 2,3,6,7-tetraidrobenzo [1,2-b: 4,5-b']difuran-4-carbossilico (0,4 g; 70%).
¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 6,86 (s, 1H), 4,52 (t, J = 8,8 Hz, 2H), 4,47 (t, J = 8,8 Hz, 2H), 3,30 (t, J = 8,8 Hz, 2H), 3,10 (t, J = 8,8 Hz, 2H). ¹³C (100 MHz, DMSO-d₆): δ = 166,4, 154,2, 153,9, 128,9, 127,2, 111,4, 110,43, 71,9, 71,6, 31,5, 29,5.

10 Composti sintetizzati per classe sostituyente

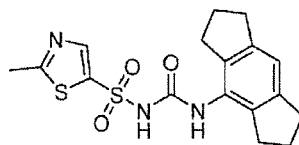
THAZOLI

***N*-((1,2,3,5,6,7-esaidro-*s*-indacen-4-il)carbamoil)tiazolo-2-solfonammide**



4-Isocianato-1,2,3,5,6,7-esaidro- *s*- indacene (preparato usando il
15 metodo generale A2) e tiazole-2-sulfonammide sono stati usati nel metodo
generale C2 a dare il composto del titolo come solido bianco (8 mg, 20%). ¹H
NMR (400 MHz, CD₃OD): δ = 7,02 (d, 1H, J = 4,0 Hz), 6,99 (s, 1H), 6,60 (d, 1H,
J = 4,0 Hz), 2,88 (t, 4H, J = 8,0 Hz), 2,76 (t, 4H, J = 8,0 Hz), 2,08-2,02 (m, 4H);
¹³C NMR (100 MHz, CD₃OD): δ = 169,6, 144,2, 144,1, 137,7, 137,5, 132,4,
20 118,1, 106,9, 32,4, 29,9, 25,2.

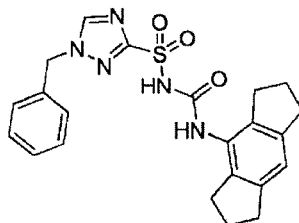
***N*-((1,2,3,5,6,7-esaidro-*s*-indacen-4-il)carbamoil)-2-metiltiazolo-5-solfonammide**



4-Isocianato-1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacene (preparato usando il metodo generale A2) e 2-metiltiazolo-5-solfonammide sono stati usati nel metodo generale C3 a dare il composto del titolo come solido bianco (35 mg, 65%); ¹H NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 7,73 (s, 1H), 7,53 (s, 1H), 6,78 (s, 1H), 2,75 (t, *J* = 7,4 Hz, 4H), 2,66 (t, *J* = 7,4 Hz, 4H), 2,59 (s, 3H), 1,93-1,88 (m, 4H); ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆): 166,8, 158,3, 143,9, 142,0, 141,4, 136,6, 132,3, 115,5, 32,5, 30,4, 25,0, 18,6; Purezza LCMS: >95%; LCMS (*m/z*): 378 [M + H]⁺; HRMS calcolato per C₁₇H₁₈N₃O₃S₂ [M-H]⁺ 376.0795, trovati 376,0791.

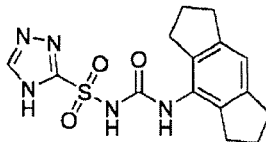
10 TRIAZOLI

1-benzil-*N*-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacene-4-il)carbamoil)-1*H*-1,2,4-triazolo-3-solfonammide



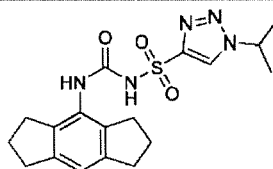
4-Isocianato-8-metil-1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacene (preparato usando il metodo generale A1) e 1-benzil-1*H*-1,2,4-triazolo-3-solfonammide sono stati usati nel metodo generale C3 a dare il composto del titolo come solido bianco (40 mg, 15%); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 8,9 (s, 1H), 8,0 (s, 1H), 7,35 - 7,28 (m, 5H), 6,90 (s, 1H), 5,48 (s, 2H), 2,77 (t, *J* = 7,2 Hz, 4H), 2,59 (t, *J* = 7,2 Hz, 4H), 1,95-1,90 (m, 4H).LCMS (*m/z*): 438,10 (M + 1)⁺; 95,84% (210 nm), 97,84% (254 nm). HPLC: 95,99% (210 nm), 95,31% (254 nm).

***N*-((1,2,3,5,6,7-esaidro-*s*-indacen-4-il)carbamoil)-4H-1,2,4-triazolo-3-solfonammide**



4-Isocianato-1,2,3,5,6,7-esaidro-*s*-indacene (preparato usando il metodo
5 generale A2) e 4H-1,2,4-triazolo-3-solfonammide sono stati usati nel metodo
generale C3 a dare il composto del titolo come solido bianco (31 mg, 62%); ¹H
NMR (600 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 9,83 (br. s, 1H), 7,99 (s, 1H), 7,62 (s, 1H), 6,77
(s, 1H), 2,73 (t, *J* = 7,4 Hz, 4H), 2,64 (t, *J* = 7,4 Hz, 4H), 1,91-1,86 (m, 4H); ¹³C
NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆): 159,2, 149,8, 148,7, 142,5, 137,2, 132,8, 116,1,
10 33,0, 30,9,
25,6; Purezza LCMS: >95%; LCMS (m/z): 348 [M + H]⁺; HRMS calcolato per
C₁₅H₁₆N₅O₃S₁ [M-H]⁻346.0979, trovati 346,0983.

***N*-((1,2,3,5,6,7-esaidro-*s*-indacen-4-il)carbamoil)-1-isopropil-1H-1,2,3-triazolo-4-solfonammide**



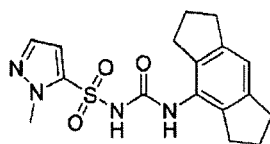
15 1,2,3,5,6,7-esaidro-*s*-indacen-4-ammina, **7** (100 mg, 0,578 mmol) è stato
sciolto in THF anidro (5 mL) e trattato con Et₃N (70 mg, 0,693 mmol) a
temperatura ambiente. La soluzione è stata trattata con trifosgene (70 mg,
0,231 mmol) e la miscela risultante è stata agitata a 70 °C per 3 ore. La miscela
20 di reazione è stata concentrata nel vuoto. Il residuo ottenuto è stato agitato con
n-pentano (20 mL) per 10 minuti e filtrato attraverso celite. Il filtrato è stato
concentrato nel vuoto a dare isocianato come solido bianco. In un'altra beuta a

fondo tondo da 50 mL, 1-isopropil-1 *H* -1,2,3-triazolo-4-solfonammide (95 mg, 0,50 mmol) è stato sciolto in THF anidro (5 mL) e trattato con attenzione con NaH (42 mg, 1,05 mmol) a 0 °C sotto azoto. È stato agitato a TA per 45 minuti e trattato con la suddetta soluzione di isocianato in THF sotto azoto. La miscela di
5 reazione risultante è stata agitata a temperatura ambiente per 5 ore. Al completamento (TLC, 70% etil acetato-esani, R_f , 0,3), la miscela di reazione è stata diluita con una soluzione satura di NH_4Cl ed estratta con EtOAc (2 x 25 mL). L'estratto organico combinato è stato lavato con acqua, soluzione salina, essiccato (Na_2SO_4) e concentrato nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato
10 mediante HPLC preparativa in fase inversa [colonna: Gemini NX C18 (dimensione delle particelle 21,5 mm x 150 mm 5 μm); flusso: 15 mL/min; eluente: 10 mM di bicarbonato di ammonio in acqua (A) e MeCN (B); gradiente: T/% B= 0/10, 2/20, 8/65]. Le frazioni sono state liofilizzate a dare N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il) carbamoil) -1-isopropil-1 *H* -1,2,3-triazolo-
15 4-solfonammide (25 mg, 12%), come solido bianco. ^1H NMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ = 8,75 (s, 1H), 7,91 (s, 1H), 6,89 (s, 1H), 4,9 (m, 1H), 2,79 (t, J = 7,2 Hz, 4H), 2,60 (t, J = 7,2 Hz, 4H), 1,96-1,89 (m, 4H), 1,5 (d, J =6,8 Hz, 6H). LCMS (m/z): 390,10 $[\text{M}+\text{H}]^+$; 100% (210 nm),100% (254 nm). HPLC: 96,05% (210 nm), 96,13% (254 nm). HRMS calcolato per $\text{C}_{18}\text{H}_{22}\text{N}_5\text{O}_3\text{S}_1$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ 388.1449,
20 trovati 388,1457.

PIRAZOLI

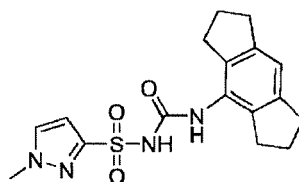
***N*-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-1-metil-1*H*-pirazolo-5-solfonammide**

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n. 041R



4-Isocianato-8-metil-1,2,3,5,6,7-esaidro- s- indacene (preparato usando il metodo generale A2) e 1-metil-1H-pirazolo-5-sulfonammide sono stati usati nel metodo generale C2 a dare il composto del titolo come solido bianco (8 mg, 20%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 7,95 (bs, 1H), 7,45 (s, 1H), 6,88 (s, 1H), 6,66 (s, 1H), 4,02 (s, 3H), 2,77 (t, *J* = 16 Hz, 4H), 2,60 (t, *J* = 16 Hz, 4H), 1,96-1,88 (m,4H). ¹³C NMR (150 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 143,1, 142,9, 137,2, 125,2, 117,4, 110,0, 109,0, 108,7, 38,6, 33,0, 30,7, 25,5; Purezza LCMS: >95%; LCMS (*m/z*): 361 [M + H]⁺; HRMS calcolato per C₁₇H₂₀N₄O₃S [M+H]⁺
10 361.13289, trovati 361,13213.

N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-1-metil-1H-pirazolo-3-solfonammide

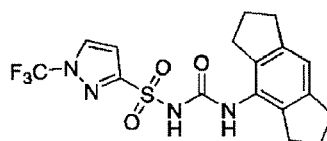


4-Isocianato-8-metil-1,2,3,5,6,7-esaidro- s- indacene (preparato usando il metodo generale A1) e 1-metil-1H-pirazolo-3-sulfonammide sono stati usati nel metodo generale C1 a dare il composto del titolo come solido bianco (40 mg, 8%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10,8 (brs,1H), 8,02 (s, 1H), 7,86 (s, 1H), 6,92 (s, 1H), 6,69 (s, 1H), 3,91(s, 3H), 2,80 (t, *J*= 7,2 Hz, 4H), 2,62 (t, *J*= 7,2 Hz, 4H), 1,96 (t, *J*= 7,2 Hz,4H). LCMS (*m/z*): 383,10 (M +Na)⁺; 96,00% (210 nm), 93,44% (254 nm). HPLC: 97,86% (210 nm), 97,44% (254 nm).
20

N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-1-(trifluorometil)-1H-

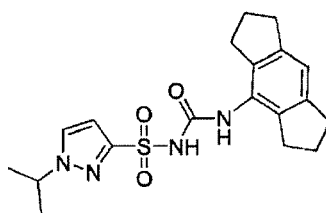
Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

pirazolo-3-solfonammide



4-Isocianato-1,2,3,5,6,7-esaidro- s- indacene (preparato usando il metodo generale A1) e 1-trifluorometil-1H-pirazolo-3-sulfonammide sono stati usati nel metodo generale C2 a dare il composto del titolo come solido bianco (5 mg, 1 %). ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD) δ = 8,28 (d, J = 2,8 Hz, 1H), 6,96 (d, J = 2,8, 1H), 6,91 (s, 1H), 2,84 (t, J = 7,4 Hz, 4H), 2,75 (t, J = 7,4 Hz, 4H), 2,03 (m, J = 7,4 Hz, 4H).

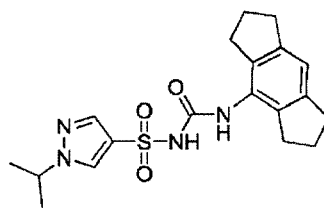
10 N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-1-isopropil-1H-pirazolo-3-solfonammide



4-Isocianato-8-metil-1,2,3,5,6,7-esaidro- s- indacene (preparato usando il metodo generale A1) e 1-isopropil-1H-pirazolo-3-sulfonammide sono stati usati nel metodo generale C1 a dare il composto del titolo come solido bianco sporco (40 mg, 9%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 10,92 (s, 1H), 8,02 (s, 1H), 8,0 (s, 1H), 6,94 (s, 1H), 6,74 (s, 1H), 4,67-4,59 (m, 1H), 2,78 (t, J = 7,2 Hz, 4H), 2,58 (t, J = 7,2 Hz, 4H), 1,95-1,91 (m, 4H), 1,44 (d, J=6,8 Hz, 6H). LCMS (m/z): 387,1 (M⁻¹); 97,14% (210 nm), 95,11 % (254 nm). HPLC: 95,57% (210 nm), 93,53% (254 nm).

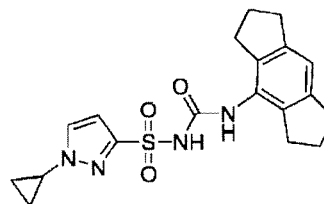
20 N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-1-isopropil-1H-pirazolo-4-solfonammide

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R



4-Isocianato-8-metil-1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacene (preparato usando il metodo generale A1) e 1-isopropil-1H-pirazolo-4-sulfonammide sono stati usati nel metodo generale C3 a dare il composto del titolo come solido bianco (40 mg, 10%); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 10,6 (s, 1H), 8,44 (s, 1H), 8,05 (s, 1H), 7,86 (s, 1H), 6,94 (s, 1H), 4,63-4,57 (m, 1H), 2,80 (t, J = 7,2 Hz, 4H), 2,57 (t, J = 7,6 Hz, 4H), 1,94-1,89 (m, 4H), 1,42 (d, J = 6,8 Hz, 6H). LCMS (m/z): 389,20 (M + 1)⁺; 97,25% (210 nm), 94,22% (254 nm). HPLC: 97,13% (210 nm), 95,06% (254 nm).

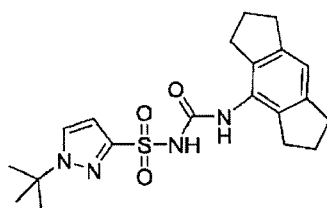
10 **1-ciclopropil-N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacene-4-il)carbamoyl)-1H-pirazolo-3-solfonammide**



4-Isocianato-8-metil-1,2,3,5,6,7-esaidro- s- indacene (preparato usando il metodo generale A1) e 1-ciclopropil1H-pirazolo-3-sulfonammide sono stati usati nel metodo generale C3 a dare il composto del titolo come solido bianco (20 mg, 6%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ = 7,83 (s, 1H), 7,8 (s, 1H), 6,84 (s, 1H), 6,48 (s, 1H), 3,81 - 3,71 (m, 1H), 2,77 (t, J = 7,4 Hz, 4H), 2,64 (t, J = 7,4 Hz, 4H), 2,02 - 1,86 (m, 4H), 1,09 - 0,93 (m, 4H).

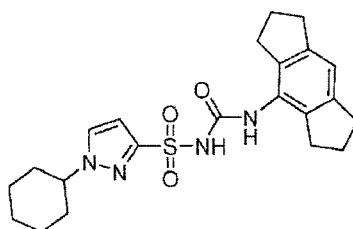
20 **1-(terz-butil)-N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacene-4-il)carbamoyl)-1H-pirazolo-3-solfonammide**

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R



4-Isocianato-8-metil-1,2,3,5,6,7-esaidro- s- indacene (preparato usando il
metodo generale A1) e 1-terz-butil-1H-pirazolo-3-sulfonammide sono stati usati
5 nel metodo generale C3 a dare il composto del titolo come solido giallo pallido
(120 mg, 51%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ = 10,85 (br.s., 1H), 7,95 (s,
1H), 7,88 (br.s., 1H), 6,88 (s, 1H), 6,63 (s, 1H), 2,79 (t, J = 7,2 Hz, 4H), 2,61 (t,
 J = 7,2 Hz, 4H), 1,96 (m, 4H), 1,55 (s, 9H). LCMS (m/z): 403,15 (M +1) $^+$;
97,86% (210 nm), 96,50% (254 nm). HPLC: 96,45% (210 nm), 95,89% (254
10 nm).

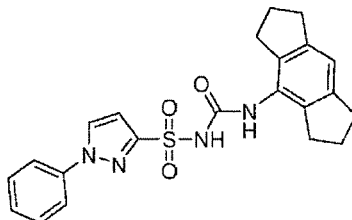
**1-cicloesil-N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoi)-1H-pirazolo-3-
sulfonammide**



4-Isocianato-8-metil-1,2,3,5,6,7-esaidro- s- indacene (preparato usando il
15 metodo generale A1) e 1-cicloesil-1H-pirazolo-sulfonammide sono stati usati nel
metodo generale C3 a dare il composto del titolo come solido bianco (20 mg,
6%). ^1H NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ = 10,8 (s, 1H), 8,03 (s, 1H), 7,99 (d, J =
2,4, 1H), 6,95 (s, 1H), 6,75 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,33 - 4,20 (m, 1H), 2,79 (t, J =
7,4 Hz, 4H), 2,58 (t, J = 7,4 Hz, 4H), 2,05 - 1,88 (m, 6H), 1,86 - 1,63 (m, 6H),
20 1,48 - 1,33 (m, 2H).

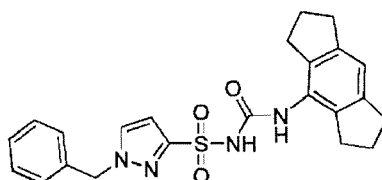
Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n. 2 USBM-041R

***N*-((1,2,3,5,6,7-esaidro-*s*-indacen-4-il)carbamoil)-1-fenil-1*H*-pirazolo-3-solfonammide**



4-Isocianato-8-metil-1,2,3,5,6,7-esaidro- *s*- indacene (preparato usando il
5 metodo generale A1) e 1-fenil-1*H*-pirazolo-3-sulfonammide sono stati usati nel
metodo generale C1 a dare il composto del titolo come solido bianco sporco
(110 mg, 27%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10,92 (s, 1H), 8,61 (d, *J* =
2,4 Hz, 1H), 7,95 (br.s., 1H), 7,86 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,56 (t, *J* = 7,6 Hz, 2H),
7,41 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 6,9 (d, *J* = 2,0 Hz, 1H), 6,86 (s, 1H), 2,77 (t, *J* = 7,2 Hz,
10 4H), 2,62 (t, *J* = 7,2 Hz, 4H), 1,91-1,83 (m, 4H). LCMS (*m/z*): 421,05 (M⁻¹);
96,62% (210 nm), 95,12% (254 nm). HPLC: 95,2% (210 nm); 95,77% (254 nm).

1-benzil-*N*-((1,2,3,5,6,7-esaidro-*s*-indacen-4-il)carbamoil)-1*H*-pirazolo-3-solfonammide

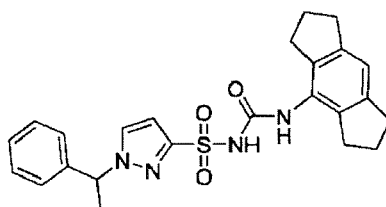


15 4-Isocianato-8-metil-1,2,3,5,6,7-esaidro- *s*- indacene (preparato usando il
metodo generale A1) e 1-benzil-1*H*-pirazolo-3-sulfonammide sono stati usati nel
metodo generale C3 a dare il composto del titolo come solido bianco (85 mg,
34%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 10,85 (s, 1H), 8,05 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H),
7,99 (s, 1H), 7,32-7,31 (m, 3H), 7,24-7,22(m, 2H), 6,93 (s, 1H), 6,78 (d, *J* = 2,4
20 Hz, 1H), 5,44 (s, 2H), 2,80 (t, *J* = 7,6 Hz, 4H), 2,57 (t, *J* = 7,2 Hz, 4H), 1,96 (m,

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.V. n° USBM-041R

4H). LCMS (m/z): 437,15 (M +1)+; 97,70% (210 nm), 96,86% (254 nm). HPLC:
98,05% (210 nm); 97,56% (254 nm).

N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-1-(1-fenilettil)-1H-pirazolo-3-solfonammide

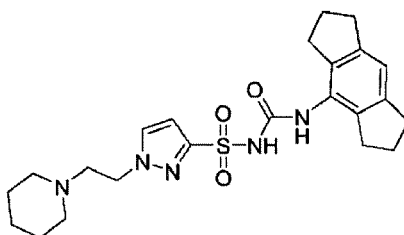


5

4-Isocianato-8-metil-1,2,3,5,6,7-esaidro- s- indacene (preparato usando il metodo generale A1) e 1-fenilettil-1H-pirazolo-3-solfonammide sono stati usati nel metodo generale C3 a dare il composto del titolo come solido bianco (0,13 g, 38%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ = 7,94 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 7,80 (s, 1H), 7,34 - 7,18 (m, 5H), 6,85 (s, 1H), 6,62 (d, *J* = 2,3 Hz, 1H), 5,68 (q, *J* = 7,0 Hz, 1H), 2,76 (t, *J* = 7,4 Hz, 4H), 2,58 (t, *J* = 7,4 Hz, 4H), 1,90 (p, *J* = 7,4 Hz, 4H), 1,8 (d, *J* 7,1 Hz, 3H).

10

N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-1-(2-(piperidin-1-il)etil)-1H-pirazolo-3-solfonammide

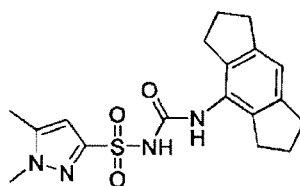


15

4-Isocianato-8-metil-1,2,3,5,6,7-esaidro- s- indacene (preparato usando il metodo generale A1) e 1-(2-(piperidin-1-il)etil)-1H-pirazolo-3-sulfonammide sono stati usati nel metodo generale C3 a dare il composto del titolo come solido bianco (110 mg, 25%). ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ = 7,76 (d, *J* = 2,4

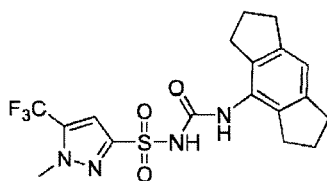
Hz, 1H), 6,91 (s, 1H), 6,73 (d, $J = 2,4$ Hz 1H), 4,55 (t, $J = 6,4$ Hz, 2H), 3,41 (t, $J = 6,0$ Hz, 2H), 3,02 (s, 4H), 2,86 (t, $J = 7,2$ Hz, 4H), 2,78 (t, $J = 7,2$ Hz, 4H), 2,06-1,99 (m, 4H), 1,74-1,70 (m, 4H), 1,51 (d, $J = 5,2$ Hz, 2H). LCMS (m/z): 458,20 ($M + 1$)⁺; 100% (210 nm), 100% (254 nm). HPLC: 98,70% (210 nm), 98,31% (254 nm).

***N*-((1,2,3,5,6,7-esaidro-*s*-indacen-4-il)carbamoil)-1,5-dimetil-1H-pirazolo-3-solfonammide**



4-Isocianato-8-metil-1,2,3,5,6,7-esaidro- *s*- indacene (preparato usando il
10 metodo generale A1) e 1,5-dimetil-1H-pirazolo-3-sulfonammide sono stati usati
nel metodo generale C1 a dare il composto del titolo come solido bianco (15
mg, 4 %). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): $\delta = 10,7$ (br.s., 1H), 7,98 (s, 1H), 6,93
(s, 1H), 6,52 (s, 1H), 3,79 (s, 3H), 2,80 (t, $J = 7,2$ Hz, 4H), 2,62 (t, $J = 7,6$ Hz,
4H), 2,28 (s, 3H), 1,98-1,93 (m, 4H). LCMS (m/z): 397,10 ($M + Na$)⁺; 97,75%
15 (210 nm), 88,23% (254 nm). HPLC: 94,42% (210 nm), 95,19% (254 nm).

***N*-((1,2,3,5,6,7-esaidro-*s*-indacen-4-il)carbamoil)-1-metil-5-(trifluorometil)-1H-pirazolo-3-solfonammide**

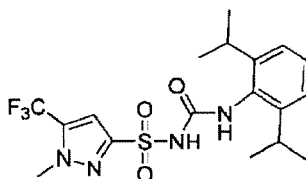


4-Isocianato-8-metil-1,2,3,5,6,7-esaidro- *s*- indacene (preparato usando il
20 metodo generale A1) e 1-metil-5-(trifluorometil)-1H-pirazolo-3-sulfonammide
sono stati usati nel metodo generale C3 a dare il composto del titolo come

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

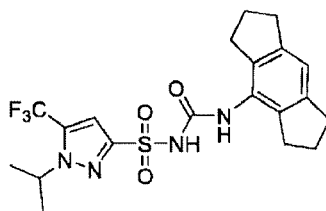
solido bianco (200 mg, 48%). ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ = 7,10 (s, 1H), 6,87 (s, 1H), 4,03 (s, 3H), 2,83 (t, *J* = 7,2 Hz, 4H), 2,74- (t, *J* = 7,2 Hz, 4H), 2,03-1,99 (m, 4H). LCMS (*m/z*): 429,10 (M +1)⁺; 97,73% (210 nm), 95,71% (254 nm). HPLC: 94,95% (210 nm), 93,52% (254 nm).

5 ***N*-((2,6-diisopropilfenil)carbamoil)-1-metil-5-(trifluorometil)-1*H*-pirazolo-3-solfonammide**



2-Isocianato-1,3-diisopropilbenzene (preparato usando il metodo generale A1) e 1-metil-5-(trifluorometil)-1*H*-pirazolo-3-solfonammide sono stati usati nel metodo generale C3 a dare il composto del titolo come solido bianco (70 mg, 39%). ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ = 7,18-7,16 (m, 1H), 7,10-7,08 (m, 3H), 4,03 (s, 3H), 3,17-3,13 (m, 2H), 1,03 (d, *J* = 6,0 Hz, 12H). LCMS (*m/z*): 433,15 (M +1)⁺; 99,73% (210 nm), 98,16% (254 nm). HPLC: 97,51% (210 nm); 95,47% (254 nm).

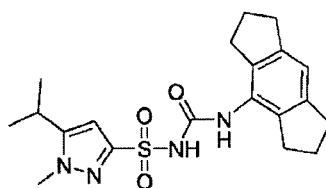
15 ***N*-((1,2,3,5,6,7-esaidro-*s*-indacen-4-il)carbamoil)-1-isopropil-5-(trifluorometil)-1*H*-pirazolo-3-solfonammide**



4-Isocianato-8-metil-1,2,3,5,6,7-esaidro- *s*- indacene (preparato usando il metodo generale A1) e 1-isopropil-5-(trifluorometil)-1*H*-pirazolo-3-sulfonammide sono stati usati nel metodo generale C3 a dare il composto del

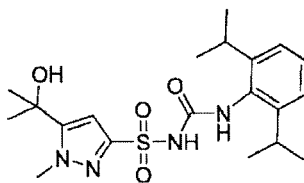
titolo come solido bianco (15 mg, 12%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 8,54 (s, 1H), 6,90 (s, 1H), 6,77 (s, 1H), 4,62-4,56 (m, 1H), 2,76 (t, J=7,2 Hz, 4H), 2,67 (t, J=7,6 Hz, 4H), 1,92-1,84 (m, 4H), 1,44 (d, J= 6,4 Hz, 6H). LCMS (m/z): 455,05 (M⁻¹); 96,13% (210 nm), 95,41% (254 nm). HPLC: 95,71% (210 nm);
5 95,12% (254 nm).

N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-5-isopropil-1-metil-1H-pirazolo-3-solfonammide



4-Isocianato-8-metil-1,2,3,5,6,7-esaidro- s- indacene (preparato usando il
10 metodo generale A1) e 5-isopropil-1-metil-1H-pirazolo-3-solfonammide sono
stati usati nel metodo generale C3 a dare il composto del titolo come solido
bianco (10 mg, 17%). ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ = 6,88 (s, 1H), 6,50 (s,
1H), 3,82 (s, 3H), 3,08 - 3,03 (m, 1H), 2,83 (t, J = 7,2 Hz, 4H), 2,71 (t, J = 7,2
Hz, 4H), 2,04-1,96 (m, 4H), 1,21 (d, J = 6,8 Hz, 6H). LCMS (m/z): 403,20 (M
15 +1)⁺; 98,39% (210 nm), 94,19% (254 nm). HPLC: 95,62% (210 nm), 93,00%
(254 nm).

N-((2,6-diisopropilfenil)carbamoil)-5-(2-idrossipropan-2-il)-1-metil-1H-pirazolo-3-solfonammide

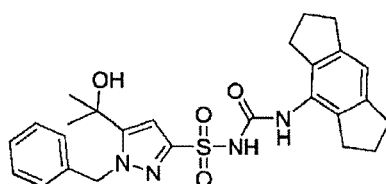


20 2-Isocianato-1,3-diisopropilbenzene (preparato usando il metodo
generale A1) e 5-(2-idrossipropan-2-il)-1-metil-1H-pirazolo-3-solfonammide

Ing. Ives Sangiacomo
Consulente in P. n° 05BM-041R

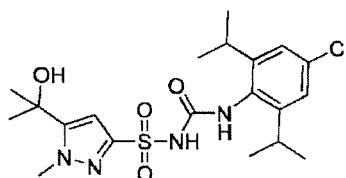
5 solfonammide sono stati usati nel metodo generale C1 a dare il composto del titolo come solido bianco (10 mg, 2%). ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ = 7,54 (s, 5H), 6,59 (s, 1H), 6,91 (s, 1H), 2,86 (t, *J* = 7,2 Hz, 4H), 2,69 (t, *J* = 7,2 Hz, 4H), 2,05-1,96 (m, 4H), 1,44 (s, 6H). LCMS (*m/z*): 481,20 (M⁻¹); 93,76% (210 nm), 93,24% (254 nm). HPLC: 95,86% (210 nm); 93,93% (254 nm).

1-benzil-N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-5-(2-idrossipropan-2-il)-1H-pirazolo-3-solfonammide



10 4-Isocianato-8-metil-1,2,3,5,6,7-esaidro- s- indacene (preparato usando il metodo generale A1) e 1-benzil-5-(2-idrossipropan-2-il)-1H-pirazolo-3-solfonammide sono stati usati nel metodo generale C1 a dare il composto del titolo come solido bianco (40 mg, 7%). ¹H NMR (400 MHz, CD₃OD): δ = 7,20-7,14 (m, 5H), 6,95 (s 2H), 6,73 (s, 1H), 5,77 (s, 2H), 2,86 (t, *J* = 7,2 Hz, 4H), 2,68 (t, *J* = 7,6 Hz, 4H), 2,01-1,94 (m, 4H), 1,51 (s, 6H). LCMS (*m/z*): 494,7 (M⁺¹); 98,74% (210 nm), 96,05% (254 nm). HPLC: 95,11% (210 nm); 95,08% (254 nm).

N-((4-cloro-2,6-diisopropilfenil)carbamoil)-5-(2-idrossipropan-2-il)-1-metil-1H-pirazolo-3-solfonammide

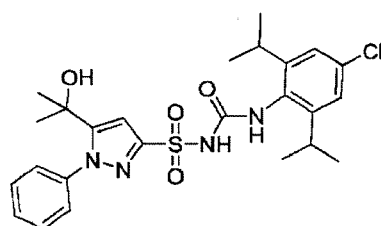


20 5-cloro-2-Isocianato-1,3-diisopropilbenzene (preparato usando il metodo generale A2) e 5-(2-idrossipropan-2-il)-1-metil-1H-pirazolo-3-solfonammide

Fig. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. 12 USBM-041R

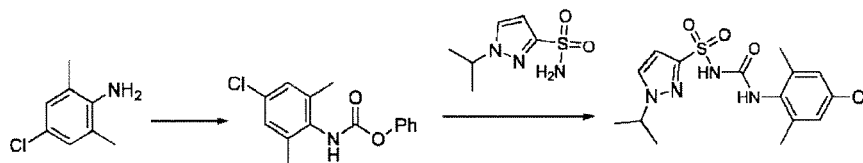
sono stati usati nel metodo generale C2 a dare il composto del titolo come solido bianco (83 mg, 17%). ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ = 7,81 (s, 1H), 7,10 (s, 2H), 6,42 (s, 1H), 5,45 (s, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,03 (ept, J = 7,0 Hz, 2H), 1,47 (s, 6H), 1,05 (d, J = 1,8 Hz, 12H). HRMS calcolato per $\text{C}_{20}\text{H}_{28}\text{Cl}_1\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_1$
5 $[\text{M-H}]^+$ 455.1525, trovati 455,1515.

N-((4-cloro-2,6-diisopropilfenil)carbamoil)-5-(2-idrossipropan-2-il)-1-fenil-1H-pirazolo-3-solfonammide



5-cloro-2-Isocianato-1,3-diisopropilbenzene (preparato usando il metodo
10 generale A2) e 5-(2-idrossipropan-2-il)-1-fenil-1H-pirazolo-3-solfonammide sono stati usati nel metodo generale C2 a dare il composto del titolo come solido bianco (168 mg, 31%). ^1H NMR (600 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ = 7,87 (s, 1H), 7,52 (s, 5H), 7,10 (s, 2H), 6,71 (s, 1H), 5,42 (s, 1H), 3,10 - 2,92 (m, 2H), 1,31 (s, 6H), 1,02 (d, J = 7,0 Hz, 12H). HRMS calcolato per $\text{C}_{25}\text{H}_{30}\text{Cl}_1\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_1$ $[\text{M-H}]^+$
15 517,1682, trovati 517,1671.

N-((4-cloro-2,6-dimetilfenil)carbamoil)-1-isopropil-1H-pirazolo-3-solfonammide



Una soluzione di 4-cloro-2,6-dimetilanilina (50 mg, 0,321 mmol) in DCM
20 (5 mL) è stata trattata con Et_3N (50 mg, 0,48 mmol) e raffreddata a 0 °C, fenil

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n. USBM-041R

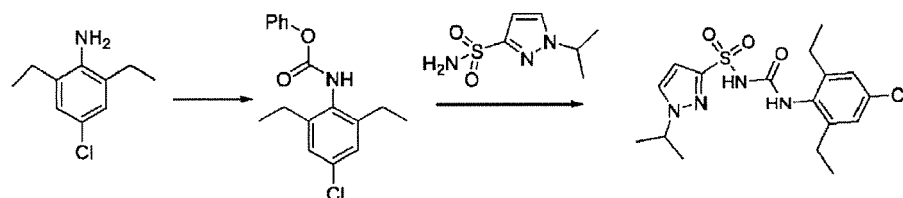
cloroformiato (60 mg, 0,39 mmol) è stato addizionato a gocce a 0 °C. La miscela di reazione è stata riscaldata a TA e agitata per 12 ore. Al completamento, la miscela di reazione è stata diluita con soluzione satura di NaHCO₃, estratta con DCM (2 x 20 mL) e l'estratto organico combinato lavato con acqua, soluzione salina essiccata (Na₂SO₄) e concentrato nel vuoto. Il residuo ottenuto è stato lavato con n-pentano ed essiccato nel vuoto a dare fenil (4-cloro-2,6-dimetilfenil) carbammato (75 mg, 85%) come solido marrone. ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃): δ = 7,46-7,37 (m, 4H), 7,26-7,20 (m, 2H), 7,12-7,11(m, 2H), 2,33(s, 6H). LCMS (m/z): 275,9 [M+H]⁺.

10 1-isopropil-1 *H*-triazolo-3-solfonammide (150 mg, 0,79 mmol) è stato sciolto in THF anidro (5 mL) e trattato con attenzione con NaH (80 mg, 1,98 mmol) a 0 °C sotto atmosfera di azoto. La miscela risultante è stata agitata a TA per 30 minuti, quindi trattata con una soluzione di fenil (4-cloro-2,6-dimetilfenil) carbammato (240 mg, 0,87 mmol) in THF (3 mL) sotto atmosfera di azoto a 15 °C. La risultante miscela di reazione è stata riscaldata a TA e agitata per 3 ore. Al completamento, la miscela di reazione è stata diluita con una soluzione satura di NH₄Cl, estratta con EtOAc (2 x 30 mL) e l'estratto organico combinato è stato lavato con acqua, soluzione salina essiccata (Na₂SO₄) e concentrato nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice (60-120 mesh) usando EtOAc-esani al 40% eluendo per fornire *N* - ((4-cloro-2,6-dimetilfenil) carbamoyl) -1-isopropil-1 *H* - pirazolo-3-solfonammide (90 mg, 31%) come solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11,05 (s, 1H), 7,99 (d, *J* = 2,8 Hz, 1H), 7,93 (s, 1H), 7,13 (s, 2H), 6,73 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H), 4,64-4,57 (m, 1H), 2,03 (s, 6H), 1,43 (d, *J* = 6,8 Hz, 6H). 25 LCMS (m/z): 370,95 [M+H]⁺.; 97,62% (210 nm), 97,48% (254 nm). HPLC:

Ing. J. Sangiacomo
Consulente in P.I. n. 05BM-041R

97,20% (210nm). HRMS calcolato per $C_{15}H_{18}Cl_1N_4O_3S_1$ $[M-H]^+$ 369.0794, trovati 369,0785.

N-((4-cloro-2,6-dietilfenil)carbamoil)-1-isopropil-1H-pirazolo-3-solfonammide



5

Una soluzione di 4-cloro-2,6-dietilfenilammina (100 mg, 0,546 mmol) in THF (5 mL) è stata raffreddata a 0 °C e trattata con NaH (30 mg, 0,66 mmol) sotto atmosfera di azoto e agitata per 15 minuti. Il fenil cloroformiato (130 mg, 0,819 mmol) è stato addizionato a gocce alla suddetta soluzione a 0 °C. La miscela di reazione è stata riscaldata a TA e agitata per 12 ore. Al completamento, la miscela è stata diluita con EtOAc, filtrata attraverso un tampone di celite e concentrata nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice (60-120 mesh) usando EtOAc-esani al 10% a dare fenil (4-cloro-2,6-dietilfenil)carbammato (0,15 g, 91 %)

10

15

come un solido bianco. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 7,38-7,33 (m, 2H), 7,23-7,18 (m, 3H), 7,13 (m, 2H), 6,27 (s, 1H), 2,75-2,64 (m, 4H), 1,28-1,22 (m, 6H).

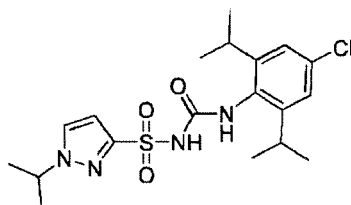
1-isopropil-1 H-3-solfonammide (75 mg, 0,40 mmol) è stato sciolto in THF anidro (5 mL) e trattato con attenzione con NaH (40 mg, 0,99 mmol) a 0 °C sotto atmosfera di azoto. La miscela risultante è stata agitata a TA per 30 minuti, quindi trattata con una soluzione di fenil (4-cloro-2,6-dietilfenil) carbammato (130 mg, 0,44 mmol) in THF (3 mL) sotto atmosfera di azoto a 0 °C. La risultante miscela di reazione è stata riscaldata a TA e agitata per 4 ore.

20

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n. 2208/041R

Al completamento, la miscela di reazione è stata diluita con una soluzione satura di NH₄Cl, estratta con EtOAc (2 x 30 mL) e l'estratto organico combinato è stato lavato con acqua, soluzione salina essiccata (Na₂SO₄) e concentrato nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna
5 su gel di silice (60-120 mesh) usando eluenti di EtOAc-esani al 30-40% seguiti da triturazione con dietil etere e n-pentano a dare N-((4-cloro-2,6 -diisilfenil) carbamoil) -1-isopropil-1H-pirazolo-3-solfonammide (40 mg, 24%) come solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆): δ = 11,05 (s, 1H), 7,99 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,12 (s, 2H), 6,72 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 4,62-4,59 (m, 1H), 2,42
10 (q, J = 7,6 Hz, 4H), 1,43 (d, J = 6,8 Hz, 6H), 1,02 (t, J = 7,6 Hz, 6H). LCMS (m/z): 399,0 [M + H]⁺, 96,72% (210 nm). HPLC: 97,13% (210nm). HRMS calcolato per C₁₇H₂₂Cl₁N₄O₃S₁ [M-H]⁻ 397,1107, trovati 397,1090.

N-((4-cloro-2,6-diisopropilfenil)carbamoil)-1-isopropil-1H-pirazolo-3-solfonammide



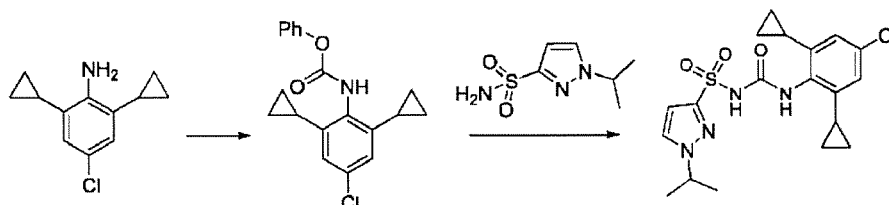
15

5-cloro-2-Isocianato-1,3-diisopropilbenzene (preparato usando il metodo generale A2) e 1-isopropil-1H-pirazolo-3-solfonammide sono stati usati nel metodo generale C2 a dare il composto del titolo come solido bianco (221 mg, 49%). ¹H NMR (600 MHz, DMSO-d₆) δ = 7,70 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 7,49 (s, 1H),
20 7,00 (s, 2H), 6,36 (s, 1H), 4,62 - 4,29 (m, 1H), 3,11 (d, J = 6,4 Hz, 2H), 1,38 (d, J = 6,8 Hz, 6H), 1,01 (d, J = 6,8 Hz, 12H), ¹³C NMR (151 MHz, DMSO) δ = 160,96, 156,43, 150,19, 135,25, 131,49, 128,53, 123,27, 105,21, 54,23, 28,80,

91
Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

24,15, 23,55. HRMS calcolato per $C_{19}H_{26}Cl_1N_4O_3S_1$ $[M-H]^-$ 425.1420, trovati 425,1409.

N-((4-cloro-2,6-diciclopropilfenil)carbamoil)-1-isopropil-1H-pirazolo-3-solfonammide



5

Una soluzione di 4-cloro-2,6-diciclopropilanilina (150 mg, 0,724 mmol) in THF (5 mL) è stata raffreddata a 0 °C. NaH (35 mg, 0,87 mmol) è stato addizionato in porzioni alla soluzione menzionata in precedenza e agitata per 20 minuti. Fenil cloroformiato (170 mg, 1,08 mmol) è stato addizionato a gocce
10 alla suddetta soluzione a 0 °C. La miscela di reazione è stata riscaldata a TA e agitata per 12 ore. Al completamento, la miscela è stata diluita con EtOAc, filtrata attraverso un tampone di celite e concentrata nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice (60-120 mesh) usandoun eluente di EtOAc-esani al 15% a dare fenil (4-cloro-2,6-
15 diciclopropilfenil)carbammato (195 mg, 83%) come un solido bianco. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$): δ = 7,37-7,35 (m, 2H), 7,21-7,19 (m, 3H), 6,84-6,83 (m, 2H), 2,08-2,04 (m, 2H), 1,04-1,02 (m, 4H), 0,69-0,68 (m, 4H). LCMS (m/z): 328,2 $[M+H]^+$.

1-isopropil-1 H-pirazolo-3-solfonammide (100 mg, 0,53 mmol) è stato
20 sciolto in THF anidro (5 mL) e trattato con attenzione con NaH (53 mg, 1,32 mmol) a 0 °C sotto atmosfera di azoto. La miscela risultante è stata agitata a TA per 30 minuti, quindi trattata con una soluzione di fenil (4-cloro-2,6-diciclopropilfenil) carbammato (190 mg, 0,582 mmol) in THF (3 mL) sotto

atmosfera di azoto a 0 °C. La miscela di reazione è stata riscaldata a TA e agitata per 4 ore. Al completamento, la miscela di reazione è stata diluita con una soluzione satura di NH₄Cl, estratta con EtOAc (2 x 30 mL) e l'estratto organico combinato è stato lavato con acqua, soluzione salina essiccata (Na₂SO₄) e concentrato nel vuoto. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice (60-120 mesh) usando EtOAc-esani al 40% eluendo a dare N-((4-cloro-2,6-diciclo propilfenil)carbamoil)-1-isopropil-1H-pirazolo-3-solfonammide. Questo è stato tritato con dietil etere e n-pentano a dare (25 mg, 11%) come solido bianco. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ = 11,05 (s, 1H), 8,01-7,98 (m, 2H), 6,74 (s, 3H), 4,59-4,56 (m, 1H), 1,77 -1,76 (m, 2H), 1,41 (d, *J* = 6,8 Hz, 6H), 0,77-0,75 (m, 4H), 0,56-0,55 (m, 4H). LCMS (*m/z*): 423,00 [M+H]⁺; 93,58% (210 nm). HPLC: 92,87% (210nm). HRMS calcolato per C₁₉H₂₂Cl₁N₄O₃S₁ [M-H]⁻ 421,1107, trovati 421,1107.

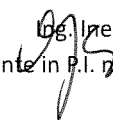
Metodologia dei test biologici

15 Saggi di inibizione di NLRP3

I seguenti saggi possono essere utilizzati per determinare l'attività inibitoria dei composti in esame sull'inflammasoma di NLRP3 utilizzando stimoli comuni come adenosina trifosfato, nigericina, LeuLeu-OMe o cristalli di urato monosodico (MSU).

20 Coltura cellulare

Per generare HMDM, i monociti umani vengono isolati dal sangue del buffy coat utilizzando Ficoll-Plaque Plus (GE Healthcare) e la centrifugazione per densità. La selezione delle cellule CD14⁺ viene eseguita utilizzando microsfere magnetiche MACS (Miltenyl Biotec). I monociti CD14⁺ isolati sono differenziati in coltura per 7 giorni con 10 ng/mL di CSF-1 umano (Miltenyl


Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

Biotech) nel terreno Dulbecco modificato di Iscove (IMDM) contenente L-glutamina integrata con FBS al 10% e 1% di penicillina/streptomicina (Life Technologies) come descritto da Croker et al 2013 Immunol Cell Biol 91: 625.

I macrofagi derivati dal midollo osseo di topo (BMDM) sono stati derivati da progenitori del midollo osseo isolati dai femori e dalle tibie dei topi C57BL/6. Le ossa sono state arrossate con il mezzo e le cellule del midollo osseo sono state coltivate per 7 giorni in terreno RPMI 1640 integrato con FCS inattivato al calore al 10%, 2 mM di GlutaMAX (Life Technologies), 50 U/mL di penicillina-streptomicina (Life Technologies) e 150 ng/mL di M-CSF umano ricombinante (privo di endotossina, espresso e purificato dalla Facility Expression Facility dell'Università del Queensland).

Saggi di attivazione dell'inflammasoma di NLRP3

Gli HMDM vengono seminati a 1×10^5 /mL. Il giorno seguente il terreno durante la notte viene sostituito e le cellule vengono stimulate con il sierotipo 0111 di Escherichia coli: B4 (Sigma Aldrich) per 3 ore. Il terreno viene rimosso e sostituito con un terreno privo di siero (SFM) contenente il composto di prova 30 minuti prima della stimolazione con NLRP3. Le cellule vengono quindi stimulate con: sale idrato di adenosina 5'-trifosfato disodico (5 mM, 1 h), nigericina (10 μ M, 1 h), LeuLeu-OMe (1 mM, 2 h) o MSU (200 μ g/mL 15 h). L'ATP può essere ottenuto da Sigma Aldrich, nigericina e MSU da Invivogen e LeuLeu-OMe da Chem-Impex International.

Gli BMDM vengono seminati a 1×10^5 /mL. Il giorno seguente il terreno durante la notte viene sostituito e le cellule vengono stimulate con lipopolisaccaride Ultrapure del ceppo K12 di Escherichia coli per 3 ore. Il terreno viene rimosso e sostituito con un terreno privo di siero (SFM)

contenente il composto di prova 30 minuti prima della stimolazione con NLRP3. Le cellule vengono quindi stimulate con: sale idrato di adenosina 5'-trifosfato disodico (1,25-5 mM, 1 h), nigericina (5 µM, 1 h), LeuLeu-OMe (1 mM, 2 h) o MSU (200 µg/mL 15 h). L'ATP può essere ottenuto da Sigma Aldrich, nigericina e MSU da Invivogen e LeuLeu-OMe da Chem-Impex International.

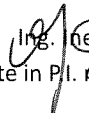
Misurazione di IL-1β, IL-18, TNFα e morte cellulare

Per gli ELISA e i saggi di morte cellulare, le cellule vengono seminate in piastre da 96 pozzetti. I surnatanti vengono rimossi e analizzati utilizzando i kit ELISA secondo le istruzioni del produttore (DuoSet® R&D Systems, ReadySetGo!® eBioscience, BD OptEIA™ o Perkin Elmer AlphaLISA®). La morte cellulare viene valutata misurando il rilascio di LDH rispetto a un controllo di lisi cellulare al 100% utilizzando il test di citotossicità non radioattiva CytoTox96® (Promega).

Studi murini su livelli di composto nel plasma del sangue e nel cervello

Sperimentazione generale: La carbutammide è stata acquistata da Sigma Aldrich (n. di catalogo 381578). L'acetonitrile era di qualità Chromasolv® HPLC (Sigma Aldrich, Sydney, Australia), l'acido formico era del grado AR 99%-100% Normapur (VWR International Pty Ltd, Brisbane, Australia), il DMSO era del grado ReagentPlus® (D5879, Sigma Aldrich, Sydney, Australia) e l'H₂O Milli-Q è stato filtrato. La fiala HPLC e gli inserti in polipropilene di Agilent Technologies (Melbourne, Australia), mentre le provette Eppendorf Protein LoBind da 1,5 mL provengono da VWR International Pty Ltd (Brisbane, Australia).

Preparazione della soluzione di precipitazione: 100 mL di ACN e 5 µL di carbutammide da 10 mM in DMSO (ACN con standard interno MS di

Ing.  Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n. 2/USBM-041R

carbutammide 135 ng/mL).

Preparazione della curva standard nel plasma: Un 1 mg/mL di composto di prova in 10 mM di NH_4HCO_3 è stato preparato e diluito 10 volte a dare una soluzione madre di 100.000 ng/mL. Una serie di diluizioni di 10 volte della soluzione madre di 100.000 ng/mL con 10 mM di NH_4HCO_3 ha dato concentrazioni di 10.000, 1.000, 100 e 10 ng/mL. La soluzione madre di 100.000 ng/mL è stata diluita a 3: 7 con 10 mM di NH_4HCO_3 a dare una concentrazione di 30.000 ng/mL e una serie di diluizioni di 10 volte ha dato concentrazioni di 3.000, 300, 30 e 3 ng/mL.

10 20 μL di soluzione contenente il composto di prova e 160 μL di soluzione di precipitazione sono stati addizionati a 20 μL di plasma di topo in una provetta Eppendorf a basso legame. I campioni sono stati sottoposti a vortice, lasciati riposare a 4° C per 10 minuti e centrifugati a 14.000 $\times g$ per 8 minuti. 150 μL di surnatante sono stati trasferiti in un inserto per fiala HPLC. I campioni sono stati
15 conservati a 4 °C fino all'analisi.

Preparazione della curva standard nell'omogenato cerebrale: Le soluzioni campione preparate per la curva standard del plasma sono state utilizzate per la curva standard dell'omogenato cerebrale.

L'omogenato del cervello di topo dal controllo salino è stato scongelato e
20 agitato su vortex per 3 minuti o fino a quando non è omogeneo, sonicato per 1 minuto. Quando la schiuma si è depositata, 50 μL di omogenato cerebrale di topo sono stati trasferiti in una provetta Eppendorf, seguiti da 50 μL di composto in esame in 10 mM di NH_4HCO_3 , 150 μL di H_2O e 500 μL di soluzione di precipitazione ghiacciata con vortice dopo ogni addizione. Gli standard sono
25 stati lasciati a 4 °C per 10 minuti e quindi centrifugati a 14.000 $\times g$ per 8 minuti.

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.L. n. USBM-041R

200 µl di surnatante sono stati trasferiti nell'inserito di fiala HPLC assicurando l'assenza di bolle d'aria e i campioni conservati a 4 °C fino all'analisi.

Dosaggio di topi e perfusione transcardiale

Dosaggio: Gavage orale a 20 mg/kg

- 5 **Punto temporale:** 2 ore Preparare i composti di riserva per il dosaggio a 4 mg/mL in PBS sterile. I topi sono stati pesati e dosati per gavage orale a 20 mg/kg per ciascun composto. Dopo 2 ore i topi sono stati anestetizzati usando una combinazione di Zoletil (50 mg/kg) e Xylazina (10 mg/kg) e il sangue è stato raccolto mediante puntura cardiaca in provette contenenti 20 µL di EDTA
- 10 100 mM. Il sangue è stato centrifugato a 2000 xg per 15 minuti a 4 °C per raccogliere il plasma.

Preparazione di campioni di plasma per analisi: 20 µL di NH_4HCO_3 e 160 µL di soluzione di precipitazione sono stati addizionati a 20 µL di plasma di topo in una provetta Eppendorf a basso legame. I campioni sono stati sottoposti a

15 vortice, lasciati riposare a 4° C per 10 minuti e centrifugati a $14.000 \times g$ per 8 minuti. 150 µl di surnatante sono stati trasferiti in un inserto per fiala HPLC, assicurando l'assenza di bolle d'aria. I campioni sono stati conservati a 4 °C fino all'analisi.

Preparazione dell'omogenato cerebrale: Il cervello dei topi è stato perfuso

20 con PBS per 5 minuti, quindi sezionato e pesato. L'omogenato cerebrale è stato preparato omogeneizzando il cervello totale (0,5 g) con 4 volumi (2 ml) di acqua deionizzata e conservato a -20 °C prima dell'analisi. L'omogenato è stato scongelato, agitato su vortex per 3 minuti o fino a quando non è omogeneo e sonicato per 1 minuto. Quando la schiuma si è depositata, 50 µL di omogenato

25 cerebrale di topo sono stati trasferiti in una provetta Eppendorf, seguiti da 50 µL

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° 2388M-041R

di 10 mM di NH_4HCO_3 , 150 μL di H_2O e 500 μL di soluzione di precipitazione ghiacciata con vortice dopo ogni addizione. 200 μl di surnatante sono stati trasferiti nell'inserito di fiala HPLC assicurando l'assenza di bolle d'aria e i campioni conservati a 4 °C fino all'analisi.

- 5 **Preparazione di campioni cerebrali per l'analisi:** 50 μL di cervello di topo sono stati trasferiti in una provetta Eppendorf, seguiti da 50 μL di 10 mM di NH_4HCO_3 , 150 μL di H_2O e 500 μL di soluzione di precipitazione ghiacciata con vortice dopo ogni addizione. Le soluzioni sono state lasciate a 4 °C per 10 minuti e quindi centrifugati a 14.000 \times g per 8 minuti. 200 μl di surnatante sono stati trasferiti nell'inserito di fiala HPLC assicurando l'assenza di bolle d'aria e i
10 campioni conservati a 4 °C fino all'analisi.

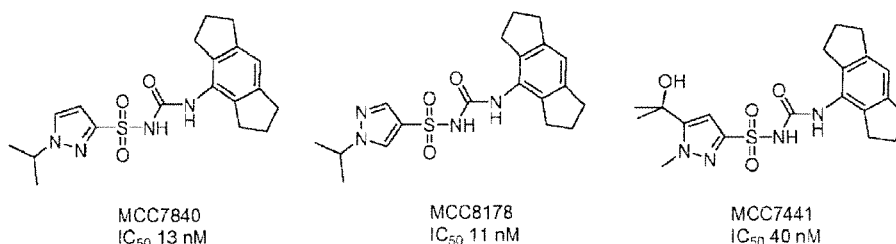
LC-MS/MS: I campioni sono stati analizzati su un MS Sciex 4000QTrap AB con 2 unità Shimadzu Nexera LC-30AD per erogazione solventi, Shimadzu Nexera SIL-30AC Auto-Sampler, Shimadzu Prominence DGU-20A 5 Degasser,
15 Shimadzu Prominence CBM-20A System Controller e Shimadzu Prominence CTO-Forno a colonna 20A. Il forno a colonna è stato impostato a 40 °C, mentre il campionatore automatico è stato impostato a 15 °C. Sono state fatte iniezioni da 2 μL e sono state condotte analisi MS in modalità di monitoraggio della reazione selezionata (SRM) utilizzando Turbo Spray (-) - ESI con bassa
20 risoluzione Q1 e bassa risoluzione Q3. Parametri MS: CUR: 30.00, IS: -4300.00, TEM: 500,00, GS1: 50,00, GS2: 50,00, ihe: ON, CAD: Alta, DP -60,00, EP -10,00, CXP -15,00. MCC950 SRM: Da Q1 403.2 a Q3 204.3 Da, dwell 150 msec, CE -27 e carbutammide (IS) SRM: Da Q1 270,0 a Q3 171,0 Da, dwell 100 msec, CE -25. Colonna HPLC: Waters Atlantis® T3 5 μm 2,1 \times 50
25 mm con Atlantis® T3 5 μm 2,1 \times 10 mm colonna di protezione. Portate e

solvente: 0,35 mL/min, solvente A: 0,1% di acido formico in H₂O, solvente B:
0,1% di acido formico in ACN; isocratico 2% B da 0 → 2 minuti, gradiente 2%
→ 100% B da 2 → 5 minuti, isocratico 100% da 5 → 9 minuti, gradiente 100%
→ 2% B da 9 → 9,1 minuti e isocratico 2% B da 9,1 → 13 minuti Le aree di
5 picco dei dati SRM per carbutammide e composto del test sono state analizzate
utilizzando il software Analyst di AB Sciex utilizzando la procedura guidata di
quantificazione. L'area del picco è stata tracciata rispetto alla concentrazione di
ng/mL in 20 µL da 3 a 30.000 ng/mL di soluzioni di composti in esame e si è
determinato l'intervallo inferiore e superiore di risposta lineare. Questi dati sono
10 stati quindi tracciati in Microsoft Excel e l'equazione della risposta lineare
utilizzata per determinare la concentrazione del composto in esame nelle
soluzioni al plasma da 20 µL. Allo stesso modo, per i campioni di omogenato
cerebrale, le aree di picco delle soluzioni composte da 50 µl da 3 a 3.000 ng/mL
sono state utilizzate per determinare la concentrazione del composto da testare
15 nelle soluzioni da 50 µl di omogenato cerebrale.

RISULTATI

La serie completa di tPSA e risultati biologici sono forniti nelle tabelle
seguenti, tuttavia alcuni dati selezionati sono presentati di seguito per alcuni
composti dell'invenzione.

20



Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

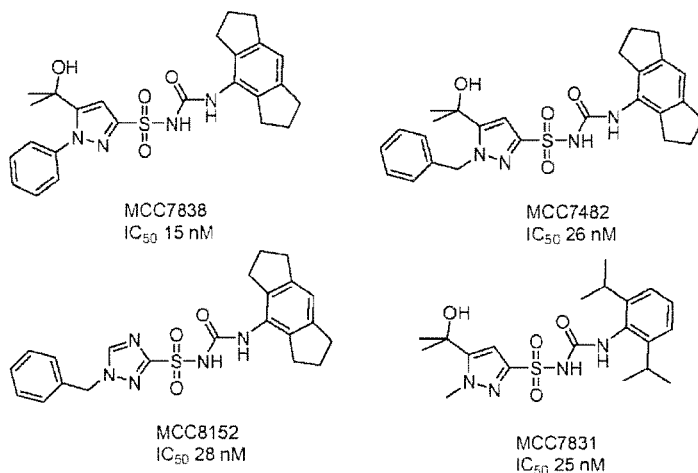
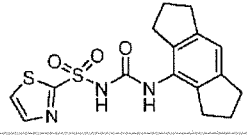


Tabella 1: Superficie polare topologica (tPSA) e peso molecolare del composto selezionato.

SMILES	NOME	tPSA	MV
 <chem>O=C(NC1=CC2(CCC2)=CC3=C1CCC3)NS(=O)(=O)</chem>	N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)tiazolo-2-solfonammide	88	363

- 5 Tabella 2: Dati di caratterizzazione HRMS del composto; Inibizione del rilascio di IL-1 β IC₅₀ nel test basato su nM di cellule usando HMDM o BMDM (<100 nM = '++++' / <1 μ M = '+++ ' / <10 μ M = '++' / <50 μ M = '+'); Inibizione di IC₅₀ di rilascio di IL-18 nel test basato su nM di cellule usando HMDM (<100 nM = '++++' / <1 μ M = '+++ ' / <10 μ M = '++' / <50 μ M = '+'). ND = Non determinato.

Nome	Formula Chimica	Formula HRMS	ESI +/-	HRMS calc.	HRMS trovati	Media BMDM murino di IC50 di IL-1 β (nM)	Media HMDM di IC50 di IL-1 β (nM)	Media HMDM di IC50 di IL-18 (nM)
N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-4-(2-idrossipropilan-2-il)furan-2-solfonammide (esempio comparativo MCC950)	C20H24N2O5S	C20H23N2O5S1	ESI-	403,1333	403,1351	++++	++++	++++
N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)tiazolo-2-solfonammide	C16H17N3O3S2					ND	+	ND
1-benzil-N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-1H-1,2,4-triazolo-3-solfonammide	C22H23N5O3S	C22H22N5O3S1	ESI-	436,1449	436,1436	ND	++++	++++
N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-1-metil-1H-pirazolo-5-	C17H20N4O3S	C17H21N4O3S1	ESI+	361,1329	361,1321	ND	++	ND

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P. n.° USBM-041R

Nome	Formula Chimica	Formula HRMS	ESI +/-	HRMS calc.	HRMS trovati	Media BMDM murino di IC50 di IL-1 β (nM)	Media HMDM di IL-1 β (nM)	Media HMDM di IC50 di IL-18 (nM)
solfonamide								
N-((1,2,3,5,6,7-esaidros-indacen-4-il)carbamoil)-1-metil-1H-pirazolo-3-solfonamide	C17H20N4O3S	C17H19N4O3S1	ESI-	359,183	359,1176	ND	+++	ND
N-((1,2,3,5,6,7-esaidros-indacen-4-il)carbamoil)-1-(trifluorometil)-1H-pirazolo-3-solfonamide	C17H17F3N4O3S	C17H18F3N4O3S1	ESI+	415,1046	415,1063	ND	++++	ND
N-((1,2,3,5,6,7-esaidros-indacen-4-il)carbamoil)-1-isopropil-1H-pirazolo-3-solfonamide	C19H24N4O3S	C19H23N4O3S1	ESI-	387,1496	387,1514	ND	++++	++++
N-((1,2,3,5,6,7-esaidros-indacen-4-il)carbamoil)-1-isopropil-1H-pirazolo-3-solfonamide	C19H24N4O3S					ND	++++	++++

Ingegner Sangiacomo
Consulente in P.I. n. 7/USBM-041R

Nome	Formula Chimica	Formula HRMS	ESI +/-	HRMS calc.	HRMS trovati	Media BMDM murino di IC50 di IL-1 β (nM)	Media HMDM di IL-1 β (nM)	Media HMDM di IC50 di IL-18 (nM)
il)carbamoil)-1- isopropil- 1H- pirazolo-4- solfonammi de								
1- ciclopropil- N- ((1,2,3,5,6, 7-esaidro- s-indacen- 4- il)carbamoil)-1H- pirazolo-3- solfonammi de	C19H22 N4O3S	C19H2 3N4O3 S1	ESI+	387,1 485	387,1501	ND	++++	ND
1-(terz- butil)-N- ((12,3,5,6,7 -esaidro-s- indacen-4- il)carbamoil)-1H- pirazolo-3- solfonammi de	C20H26 N4O3S	C20H2 7N4O3 S1	ESI+	403,1 798	403,1802	ND	++++	++++
1-cicloesil- N- ((1,2,3,5,6, 7-esaidro- s-indacen- 4- il)carbamoil)-1H- pirazolo-3- solfonammi de	C22H28 N4O3S	C22H2 9N4O3 S1	ESI+	429,1 955	429,1968	ND	+++	ND
N- ((1,2,3,5,6,	C22H22 N4O3S	C22H2 3N4O3	ESI+	423,1 485	423,1474	ND	+++	ND

Ingeg. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° 05BM-041R

Nome	Formula Chimica	Formula HRMS	ESI +/-	HRMS calc.	HRMS trovati	Media BMDM murino di IC50 di IL-1 β (nM)	Media HMDM di IC50 di IL-1 β (nM)	Media HMDM di IC50 di IL-18 (nM)
7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-1-fenil-1H-pirazolo-3-solfonammide		S1						
1-benzil-N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-1H-pirazolo-3-solfonammide	C23H24N4O3S	C23H25N4O3S1	ESI+	437,1642	437,163	ND	++	ND
N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-1-(1-fenilettil)-1H-pirazolo-3-solfonammide	C24H26N4O3S	C24H27N4O3S1	ESI+	451,1798	451,1811	ND	+++	ND
N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-1-(2-(piperidin-1-il)etil)-1H-pirazolo-3-solfonammide	C23H31N5O3S	C23H30N5O3S1	ESI-	456,2075	456,2076	ND	++	ND

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente In P.I. n° 058M-041R

Nome	Formula Chimica	Formula HRMS	ESI +/-	HRMS calc.	HRMS trovati	Media BMDM murino di IC50 di IL-1 β (nM)	Media HMDM di IC50 di IL-1 β (nM)	Media HMDM di IC50 di IL-18 (nM)
de								
N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-sindacen-4-il)carbamoil)-1,5-dimetil-1H-pirazolo-3-solfonammide	C18H22N4O3S	C18H21N4O3S1	ESI-	373,134	373,1334	ND	+++	ND
N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-1-metil-5-(trifluorometil)-1H-pirazolo-3-solfonammide	C18H19F3N4O3S	C18H18F3N4O3S1	ESI-	427,1057	427,1057	ND	+++	ND
N-((2,6-diisopropilfenil)carbamoil)-1-metil-5-(trifluorometil)-1H-pirazolo-3-solfonammide	C18H23F3N4O3S	C18H22F3N4O3S1	ESI-	431,137	431,1388	ND	++	ND
N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-1-isopropil-5-	C20H23F3N4O3S	C20H24F3N4O3S1	ESI+	457,1516	457,1528	ND	+++	ND

Ingeg. Ines Sangiacomo
Consulente in P. n. USBM-041R

Nome	Formula Chimica	Formula HRMS	ESI +/-	HRMS calc.	HRMS trovati	Media BMDM murino di IC50 di IL-1 β (nM)	Media HMDM di IC50 di IL-1 β (nM)	Media HMDM di IC50 di IL-18 (nM)
(trifluorometil)-1H-pirazolo-3-solfonammide								
N-((1,2,3,5,6,7-esaidros-indacen-4-il)carbamoil)-5-isopropil-1-metil-1H-pirazolo-3-solfonammide	C20H26N4O3S	C20H25N4O3S1	ESI-	401,1653	401,1637	ND	+++	ND
N-((2,6-diisopropilfenil)carbamoil)-5-(2-idrossipropil)-1-metil-1H-pirazolo-3-solfonammide	C20H30N4O4S	C20H29N4O4S1	ESI-	421,1915	421,1904	ND	++++	++++
N-((1,2,3,5,6,7-esaidrosindacen-4-il)carbamoil)-5-(2-idrossipropil)-1-metil-1H-pirazolo-3-solfonammide	C20H26N4O4S	C20H25N4O4S1	ESI-	417,1602	417,1603	++++	++++	++++
N-((1,2,3,5,6,	C25H28N4O4S	C25H27N4O4	ESI-	479,1758	479,1758	++++	++++	++++

Ingeg. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

Nome	Formula Chimica	Formula HRMS	ESI +/-	HRMS calc.	HRMS trovati	Media BMDM murino di IC50 di IL-1 β (nM)	Media HMDM di IC50 di IL-1 β (nM)	Media HMDM di IC50 di IL-18 (nM)
7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-5-(2-idrossiprop an-2-il)-1-fenil-1H-pirazolo-3-solfonammi de		S1						
1-benzil-N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-5-(2-idrossiprop an-2-il)-1H-pirazolo-3-solfonammi de	C26H30N4O4S	C26H29N4O4S1	ESI-	493,1915	493,1912	ND	++++	++++
N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-2-metiltiazolo-5-solfonammi de	C17H19N3O3S2	C17H18N3O3S2	ESI-	376,0795	376,0791	++++	ND	ND
N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-4H-1,2,4-triazolo-3-solfonammi	C15H17N5O3S	C15H16N5O3S1	ESI-	346,0979	346,0983	++++	ND	ND

Ingi. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. 27/USBM-041R

Nome	Formula Chimica	Formula HRMS	ESI +/-	HRMS calc.	HRMS trovati	Media BMDM di IC50 di IL-1 β (nM)	Media HMDM di IC50 di IL-1 β (nM)	Media HMDM di IC50 di IL-18 (nM)
de								
N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il)carbamoil)-1-isopropil-1H-1,2,3-triazolo-4-solfonammide	C18H23N5O3S	C18H22N5O3S1	ESI-	388,1449	388,1457	+++	++++	ND
sodio ((4-cloro-2,6-diisopropilfenil)carbamoil)((5-(2-idrossipropilan-2-il)-1-metil-1H-pirazol-3-il)solfonil)ammide	C20H28ClN4NaO4S	C20H28ClN4O4S1	ESI-	455,1525	455,1515	ND	++++	ND
sodio ((4-cloro-2,6-diisopropilfenil)carbamoil)((5-(2-idrossipropilan-2-il)-1-fenil-1H-pirazol-3-il)solfonil)ammide	C25H30ClN4NaO4S	C25H30ClN4O4S1	ESI-	517,1682	517,1671	ND	++++	ND
N-((4-cloro-2,6-dimetilfenil)carbamoil)-1-isopropil-	C15H19ClN4O3S	C15H18ClN4O3S1	ESI-	369,0794	369,0785	>10.000	++	ND

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.zza USBM-041R

Nome	Formula Chimica	Formula HRMS	ESI +/-	HRMS calc.	HRMS trovati	Media BMDM murino di IC50 di IL-1 β (nM)	Media HMDM di IC50 di IL-1 β (nM)	Media HMDM di IC50 di IL-18 (nM)
1H-pirazolo-3-solfonammide								
N-((4-cloro-2,6-dietilfenil)carbamoil)-1-isopropil-1H-pirazolo-3-solfonammide	C17H23ClN4O3S	C17H22ClN4O3S1	ESI-	397,107	397,109	++	++	ND
sodio ((4-cloro-2,6-diisopropilfenil)carbamoil)((1-isopropil-1H-pirazolo-3-il)sulfonil)ammide	C19H26ClN4NaO3S	C19H26ClN4O3S1	ESI-	425,1420	425,1409	ND	+++	ND
N-((4-cloro-2,6-diciclopropilfenil)carbamoil)-1-isopropil-1H-pirazolo-3-solfonammide	C19H23ClN4O3S	C19H22ClN4O3S1	ESI-	421,107	421,1107	+++	+++	ND

Tabella 3: livelli plasmatici di composti selezionati per il test a 2 ore di tempo dopo il gavage orale a 20 mg/Kg

Ines Sangiacomo
Consulente in P.T. 47/USBM-041R

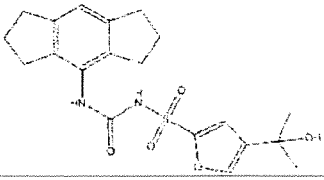
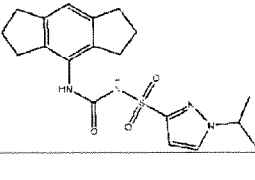
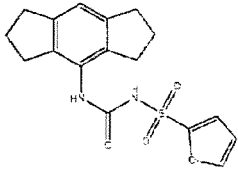
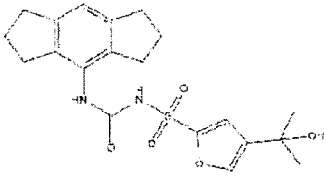
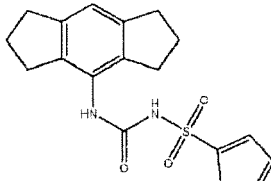
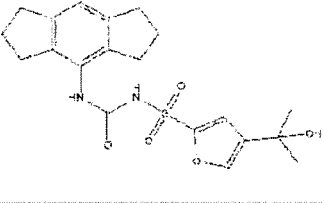
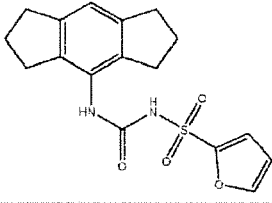
			
	(esempio comparativo MCC950)		(esempio comparativo)
Concentrazione plasmatica (ng/mL)	17490	28231	66260

Tabella 4: proprietà delle solfoniluree, inclusa una maggiore penetrazione della BEM, con e senza gruppo idrossilalchilico sull'anello furanico.

		
	(esempio comparativo MCC950)	(esempio comparativo)
Concentrazione nel cervello (ng/g) *	184	1339
Concentrazione plasmatica (ng/mL)	17490	66260
Rapporto ^a cervello/plasma	0,0117	0,0203

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

		
	(esempio comparativo MCC950)	(esempio comparativo)
tPSA	104,7	84,5

Concentrazione nel plasma post-dosaggio

Uno studio di farmacocinetica a dose singola di N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il) carbamoil) -1-isopropil-1H-pirazolo-3-solfonammide (MCC7840 ed essendo un composto del primo aspetto) rispetto a N - ((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il) carbamoil)-4-(2-idrossipropan-2-il) furan-2-solfonamide (MCC950) usando una dose endovenosa di 4 mg/Kg e una dose PO di 20 mg/Kg indicavano chiaramente un'emivita prolungata, una concentrazione massima aumentata (C_{max}) e un'area sotto la curva (AUC) per il derivato pirazolico rispetto al furano. Questo è vantaggioso portando a dosi relativamente basse o a una somministrazione meno frequente.

La procedura seguita era: Topi maschi C57BL/6 sono stati usati all'età di 7-9 settimane con 3 animali per gruppo. I topi sono stati dosati con il composto in esame usando bolo endovenoso singolo o gavage orale. I campioni di sangue sono stati prelevati tramite vena sottomandibolare o safena per l'analisi delle concentrazioni plasmatiche del composto mediante LC-MS/MS ai seguenti punti temporali: EV (3 topi): 0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8 e 24 ore post-dosaggio, PO (3 topi): 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8 e 24 ore post-dosaggio. È stato sviluppato il

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° 238/M-041R

metodo LC-MS/MS per la determinazione quantitativa del composto in esame nella corrispondente matrice biologica. I parametri PK sono stati calcolati utilizzando Phoenix WinNonlin 6.3. I risultati sono mostrati graficamente nelle Figure da 1A a 1C (MCC950) e nelle Figure da 2A a 2C (MCC7840).

5 Le strutture composte pertinenti sono mostrate di seguito e le Tabelle 5-8 contengono i dati rilevanti:

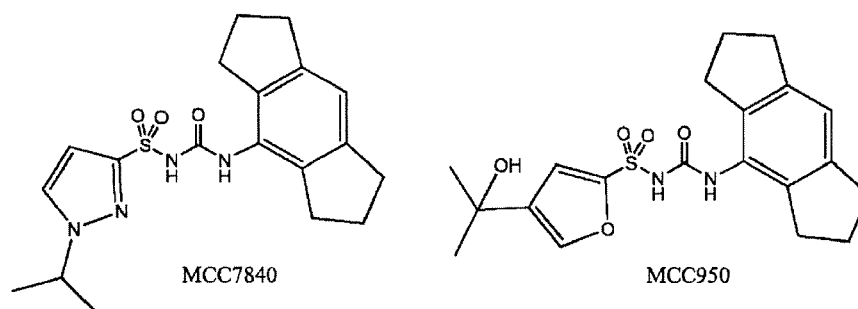



Tabelle 5 e 6: PK e dati di biodisponibilità per N-((1,2,3,5,6,7-esaidro-s-indacen-4-il) carbamoil) -4-(2-idrossipropan-2-il) furan-2-solfonammide (MCC950)

10 (esempio comparativo)

Biodisponibilità di MCC950 (esempio comparativo) nel topo (ng/mL)							
EV							
EV Tempo (ore)	M1	M2	M3	Media EV	SD	CV (%)	
0,0833	20200	17200	17700	18367	± 1607	8,75	
0,250	16000	10200	12700	12967	± 2909	22,4	
0,500	11700	9420	10500	10540	± 1141	10,8	

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

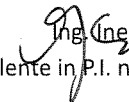
Biodisponibilità di MCC950 (esempio comparativo) nel topo (ng/mL)							
EV							
EV Tempo (ore)	M1	M2	M3	Media EV	SD	CV (%)	
1,00	9340	7730	8230	8433	± 824	9,77	
2,00	7410	6000	5010	6140	± 1206	19,6	
4,00	3280	2390	2130	2600	± 603	23,2	
8,00	905	843	480	743	± 230	30,9	
24,0	3,29	2,33	2,33	2,65	± 0,554	20,9	
Parametri PK	M1	M2	M3	Media EV	SD	CV (%)	
Rsq_adj	1,000	0,998	0,999	--	± --	--	
N. punti utilizzati per T _{1/2}	6,00	7,00	3,00	ND	± --	--	
C ₀ (ng/mL)	22695	22332	20894	21974	± 953	4,34	
T _{1/2} (h)	2,00	1,97	2,05	2,00	± 0,0394	1,97	
Vd _{ss} (L/kg)	0,265	0,339	0,313	0,306	± 0,0376	12,3	
Cl (mL/min/kg)	1,59	1,99	2,17	1,92	± 0,295	15,4	
T _{last} (h)	24,0	24,0	24,0	24,0	± --	--	

 Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

Biodisponibilità di MCC950 (esempio comparativo) nel topo (ng/mL)							
EV							
EV Tempo (ore)	M1	M2	M3	Media EV	SD	CV (%)	
AUC _{0-last} (ng.h/mL)	41880	33489	30751	35373	± 5799	16,4	
AUC _{0-inf} (ng.h/mL)	41889	33496	30758	35381	± 5800	16,4	
MRT _{0-last} (h)	2,77	2,83	2,40	2,67	± 0,234	8,76	
MRT _{0-inf} (h)	2,78	2,84	2,41	2,67	± 0,233	8,73	
AUC _{Extra} (%)	0,0226	0,0198	0,0224	0,0216	± 0,00158	7,30	
AUMC _{Extra} (%)	0,219	0,187	0,251	0,219	± 0,0318	14,6	
Biodisponibilità di MCC950 (esempio comparativo) nel topo (ng/mL)							
PO							
PO Time (h)	M4	M5	M6	PO media	SD	CV (%)	
0,250	21900	29000	48900	33267	± 13997	42,1	
0,500	20400	34100	35800	30100	± 8443	28,1	
1,00	19300	33700	37000	30000	± 9412	31,4	
2,00	18500	22500	26200	22400	± 3851	17,2	

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

Biodisponibilità di MCC950 (esempio comparativo) nel topo (ng/mL)								
PO								
PO Time (h)	M4	M5	M6	PO media	SD	CV (%)		
4,00	10200	13000	10500	11233	± 1537	13,7		
8,00	4330	2360	4670	3787	± 1247	32,9		
24,0	60,7	17,4	39,3	39,1	± 21,7	55,3		
Parametri PK	M4	M5	M6	PO media	SD	CV (%)		
Rsq_adj	0,999	0,996	0,996	--	±	--	--	
N. punti utilizzati per T _{1/2}	4,00	5,00	6,00	ND	±	--	--	
C _{max} (ng/mL)	21900	34100	48900	34967	±	13521	38,7	
T _{max} (h)	0,250	0,500	0,250	0,333	±	0,144	43,3	
T _{1/2} (h)	2,67	2,11	2,37	2,39	±	0,282	11,8	
T _{last} (h)	24,0	24,0	24,0	24,0	±	--	--	
AUC _{0-last} (ng·h/mL)	108135	123399	144734	125422	±	18383	14,7	


Ing. Ones Sangiaecomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

Biodisponibilità di MCC950 (esempio comparativo) nel topo (ng/mL)								
PO								
PO Time (h)	M4	M5	M6	PO media	SD	CV (%)		
AUC_{0-inf} (ng.h/mL)	108369	123452	144868	125563	±	18341	14,6	
MRT_{0-last} (h)	4,26	3,07	3,47	3,60	±	0,603	16,8	
MRT_{0-inf} (h)	4,31	3,08	3,49	3,63	±	0,624	17,2	
AUC_{Extra} (%)	0,216	0,0429	0,0929	0,117	±	0,0892	76,0	
AUMC_{Extra} (%)	1,40	0,376	0,730	0,835	±	0,519	62,1	
Biodisponibilità (%)^a	--	--	--	71,0	±	--	--	

Tabelle 7 e 8: PK e dati di biodisponibilità per N - ((1,2,3,5,6,7esaidro-s-4-il)carbamoil) -1-isopropil-1H-pirazolo-3-solfonammide (MCC7840)

Biodisponibilità di MCC7840 nel topo (ng/mL)						
EV						
EV Tempo (ore)	M1	M2	M3	Media EV	SD	CV (%)
0,0833	47800	41900	38600	42767	± 4661	10,9


Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

Biodisponibilità di MCC7840 nel topo (ng/mL)						
EV						
EV Tempo (ore)	M1	M2	M3	Media EV	SD	CV (%)
0,250	28100	29300	29300	28900	± 693	2,40
0,500	25200	25200	24500	24967	± 404	1,62
1,00	19900	18900	17200	18667	± 1365	7,31
2,00	13300	14700	19900	15967	± 3478	21,8
4,00	6520	8550	8590	7887	± 1184	15,0
8,00	3490	3360	4440	3763	± 590	15,7
24,0	149	122	130	134	± 13,9	10,4
Parametri PK	M1	M2	M3	Media EV	SD	CV (%)
Rsq_adj	0,998	0,999	0,996	--	± --	--
N. punti utilizzati per T _{1/2}	3,00	3,00	3,00	3,00	± --	--
C ₀ (ng/mL)	62333	50100	44301	52245	± 9205	17,6
T _{1/2} (h)	3,62	3,29	3,26	3,39	± 0,204	6,01
Vd _{ss} (L/kg)	0,170	0,158	0,151	0,160	± 0,00989	6,20
Cl (mL/min/kg)	0,659	0,633	0,571	0,621	± 0,0455	7,33

Ingegner Sangiacomo
Consulente in P.I. n° 2/BSBM-041R

Biodisponibilità di MCC7840 nel topo (ng/mL)							
EV							
EV Tempo (ore)	M1	M2	M3	Media EV	SD	CV (%)	
T_{last} (h)	24,0	24,0	24,0	24,0	± --	--	
AUC_{0-last} (ng.h/mL)	100364	104705	116222	107097	± 8195	7,65	
AUC_{0-inf} (ng.h/mL)	101143	105283	116833	107753	± 8132	7,55	
MRT_{0-last} (h)	4,11	4,01	4,28	4,13	± 0,133	3,23	
MRT_{0-inf} (h)	4,30	4,15	4,40	4,29	± 0,129	3,02	
AUC_{Extra} (%)	0,770	0,549	0,523	0,614	± 0,136	22,1	
AUMC_{Extra} (%)	5,23	3,81	3,41	4,15	± 0,957	23,1	
Biodisponibilità di MCC7840 nel topo (ng/mL)							
PO							
PO Time (h)	M4	M5	M6	PO media	SD	CV (%)	
0,250	84300	27400	69700	60467	± 29552	48,9	
0,500	70300	24000	56600	50300	± 23784	47,3	
1,00	60400	20900	45700	42333	± 19964	47,2	

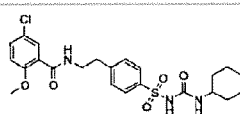
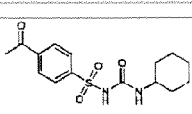
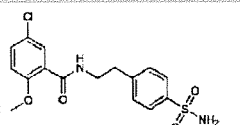
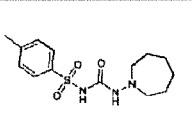
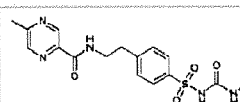
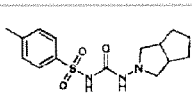
Ing. Irfes Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

Biodisponibilità di MCC7840 nel topo (ng/mL)							
PO							
PO Time (h)	M4	M5	M6	PO media	SD	CV (%)	
2,00	54900	19100	53800	42600	± 20359	47,8	
4,00	32900	14100	32800	26600	± 10825	40,7	
8,00	14100	12800	29900	18933	± 9520	50,3	
24,0	660	2370	1370	1467	± 859	58,6	
Parametri PK	M4	M5	M6	PO media	SD	CV (%)	
Rsq_adj	0,999	0,984	0,968	--	± --	--	--
N. punti utilizzati per T _{1/2}	3,00	6,00	4,00	ND	± --	--	--
C _{max} (ng/mL)	84300	27400	69700	60467	± 29552	48,9	
T _{max} (h)	0,250	0,250	0,250	0,250	± 0,000	0,0	
T _{1/2} (h)	3,57	7,31	4,18	5,02	± 2,01	40,1	
T _{last} (h)	24,0	24,0	24,0	24,0	± --	--	--
AUC _{0-last} (ng·h/mL)	364947	226687	457808	349814	± 116301	33,2	

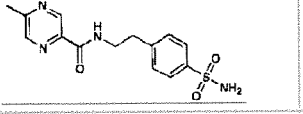
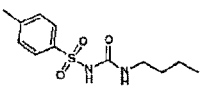
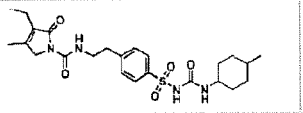
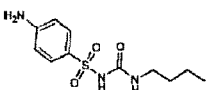
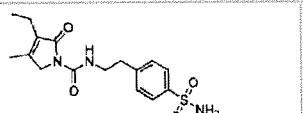
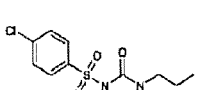
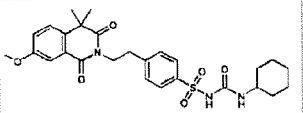
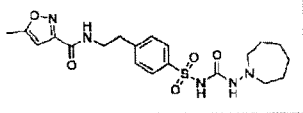
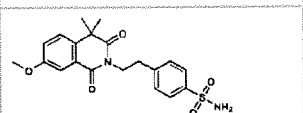
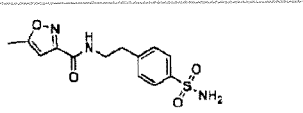
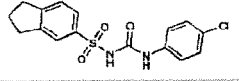
Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

Biodisponibilità di MCC7840 nel topo (ng/mL)							
PO							
PO (h)	Time (h)	M4	M5	M6	PO media	SD	CV (%)
AUC _{0-inf} (ng.h/mL)		368345	251697	466063	362035	±	107323 29,6
MRT _{0-last} (h)		4,80	8,07	6,41	6,43	±	1,64 25,4
MRT _{0-inf} (h)		5,03	10,7	6,83	7,52	±	2,90 38,6
AUC _{Extra} (%)		0,922	9,94	1,77	4,21	±	4,98 118
AUMC _{Extra} (%)		5,35	32,1	7,78	15,1	±	14,8 98,1
Biodisponibilità (%) ^a		--	--	--	67,2	±	-- --

Tabella 9: Dati comparativi IC₅₀ per composti commerciali.

Nomi comuni	Struttura	HMDM IC50 vs NLRP3	BMDM IC50 vs NLRP3	Nomi comuni	Struttura	HMDM IC50 vs NLRP3	BMDM IC50 vs NLRP3
Glibenclamide (Gliburide)		6 µM	22 µM	Acetoesamide		>200 µM	>200 µM
Precursore di glibenclamide		>200 µM	>200 µM	Tolazamide		>200 µM	
Glipizide		>200 µM	>200 µM	Gliclazide		>200 µM	>200 µM

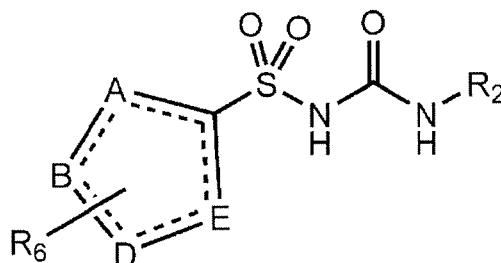
Ing. *[Signature]* Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

Nomi comuni	Struttura	HMDM IC50 vs NLRP3	BMDM IC50 vs NLRP3	Nomi comuni	Struttura	HMDM IC50 vs NLRP3	BMDM IC50 vs NLRP3
Precursore di Glipizide		>50 μM		Tolbutamide		>200 μM	>200 μM
Glimepiride		92 μM		Carbutamide		>200 μM	
Precursore di glimepiride		>200 μM		Corpropamide		>200 μM	>200 μM
Gliquidone		32 μM		Glisoxepide			
Precursore di gliquidone		>200 μM	>10 μM	Precursore del glisoxepide			>10.000
				Sulofenur		>100 μM	>10 μM

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

RIVENDICAZIONI

1. Composto di formula (II) o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile:

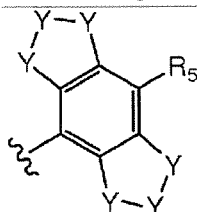


Formula (II)

in cui A, B, D ed E sono indipendentemente scelti tra C, N, O, S e Se, ma almeno uno di questi è C e almeno uno di questi è N;
ciascuna linea tratteggiata può rappresentare un legame;
ciascuna incidenza di R₆ è indipendentemente scelta dal gruppo costituito da idrogeno, alogenuro, ciano, alchile C₁-C₆, alchilammino C₁-C₆, alchilidrossi C₁-C₆, cicloalchile C₃-C₆, alchilfenile, fenile, benzile, estere C₁-C₆, alchenile C₂-C₆, trifluoroalchile C₁-C₆ e alcossi C₁-C₆, ciascuno dei quali può essere eventualmente sostituito, a seconda dei casi, in cui ogni sostituyente opzionale è indipendentemente scelto dal gruppo costituito da alchile C₁-10; cicloalchile C₃-6; idrossialchile; alcossi C₁-10; alchenile C₂-10; alchinile C₂-10; srile C₆-C₁₂; arilossi; eteroarile; eterocicliche; alogeno; ossidrile; alchile alogenato; ammino; alchilammino; arilammino; acile; amido; CN; NO₂; N₃; CH₂OH; CONH₂; CONR₂₄ R₂₅; CO₂R₂₄; CH₂OR₂₄; NHCOR₂₄; NHCO₂R₂₄; alchiltio C₁-3; solfato; acido solfonico; esteri di solfonati; acido fosfonico; fosfato; fosfonato; esteri mono, di- o trifosfato; tritile; monometossitritile; R₂₄SO; R₂₄SO₂; CF₃S; CF₃SO₂; e trialchilsilile; in cui R₂₄ e R₂₅ sono scelti ciascuno indipendentemente da H o alchile C₁-10; e

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P., n° USBM-041R

R₂ è scelto tra un 2,6-dialchilfenile, un 2,6-dialchil-4-alogenofenile, un 2,6-dicicloalchilfenile, un 2,6-dicicloalchil-4-alogenofenile e:

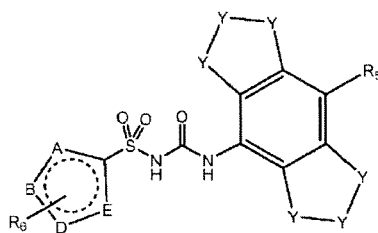


in cui ciascuna incidenza di Y è indipendentemente scelta da C, N, S e O, che può essere opzionalmente sostituita come appropriato, in cui qualsiasi sostituyente opzionale è scelto indipendentemente dal gruppo costituito da alchile C1-10; cicloalchile C3-6; idrossialchile; alcossi C1-10; alchenile C2-10; alchinile C2-10; arile C6-C12; arilossi; eteroarile; eterociclice; alogeno; ossidrile; alchile alogenato; ammino; alchilammino; arilammino; acile; ammido; CN; NO₂; N₃; CH₂OH; CONH₂; CONR₂₄R₂₅; CO₂R₂₄; CH₂OR₂₄; NHCOR₂₄; NHCO₂R₂₄; alchiltio C1-3; solfato; acido solfonico; esteri di solfonati; acido fosfonico; fosfato; fosfonato; esteri mono, di- o trifosfato; tritile; monometossitritile; R₂₄SO; R₂₄SO₂; CF₃S; CF₃SO₂; e trialchilsilile; in cui R₂₄ e R₂₅ sono scelti ciascuno indipendentemente da H o C1-10 alchile; e

R₅ è scelto dal gruppo costituito da idrogeno, alogeno, ciano, ammido, solfonammide, acile, ossidrile, alchile C₁-C₆, alogenoalchile C₁-C₆, cicloalchile C₃-C₅ e alcossi C₁-C₆, tutti i gruppi possono essere opzionalmente sostituiti, a seconda dei casi, con alcossi, ciano o alcossi C₁-C₆.

2. Il composto della rivendicazione 1, in cui il composto è un composto di formula (IIb), o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile:

Fig. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

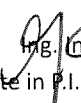


Formula (IIb)

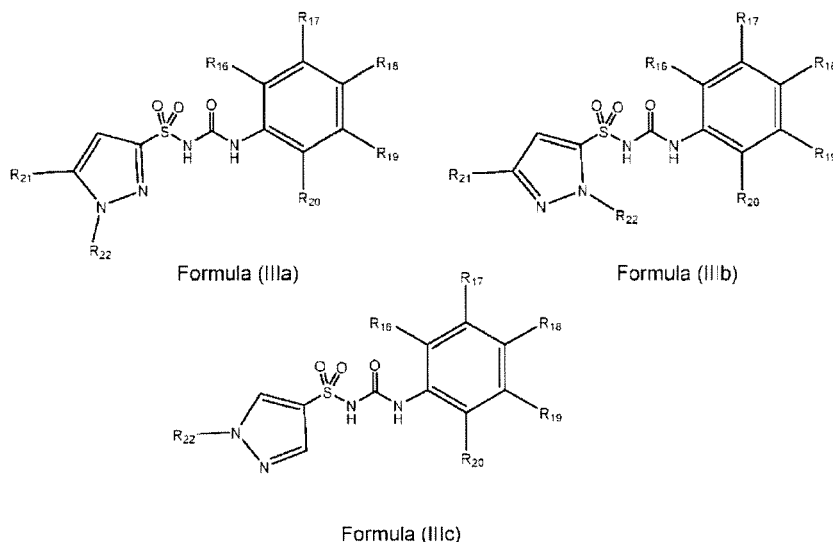
in cui Y, R₅ e R₆ sono come definito nella rivendicazione 1; e

A, B, D ed E sono scelti tra N e C e almeno due tra A, B, D ed E sono N.

3. Il composto di una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui almeno due tra A, B, D ed E sono N.
4. Il composto di una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui A, B, D ed E sono scelti tra N e C.
5. Il composto di una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui A è C e almeno due tra B, D ed E sono N.
6. Il composto di una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui A, B, D ed E formano un anello scelto tra un pirazolo, una pirrolidina, un pirrolo, un triazolo, un tetrazolo e un imidazolo.
7. Il composto di una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui A, B, D ed E formano un anello scelto tra un pirazolo, un imidazolo, un triazolo e un tetrazolo.
8. Il composto di una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui A, B, D ed E formano un anello scelto tra un anello di pirazolo e di imidazolo.
9. Il composto di una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui A, B, D ed E formano un anello di pirazolo.
10. Il composto di una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui R₆ è alchile C₁-C₆ o alchilidrossi C₁-C₆.


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

11. Il composto di una qualsiasi delle rivendicazioni dalla 1 alla rivendicazione 9, in cui il composto è un composto di formula (IIIa), (IIIb) o (IIIc), o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile:



in cui:

R₂₁ è scelto tra H, alchile, peralogenoalchile o idrossilalchile;

R₂₂ è scelto tra H, alchile, peralogenoalchile, cicloalchile C₃-C₆, fenile o benzile;

R₁₆ e R₁₇, insieme agli atomi a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile;

R₁₉ e R₂₀, insieme agli atomi a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile;

R₁₈ è H o alogeno; e

a condizione che R₂₁ e R₂₂ non siano entrambi H;

o in cui:

R₂₁ è scelto tra H, alchile, peralogenoalchile o idrossilalchile;

R₂₂ è scelto tra H, alchile, peralogenoalchile, cicloalchile C₃-C₆, fenile o benzile;

R₁₆ e R₂₀ sono alchile C₁₋₆ o cicloalchile C₃₋₅;

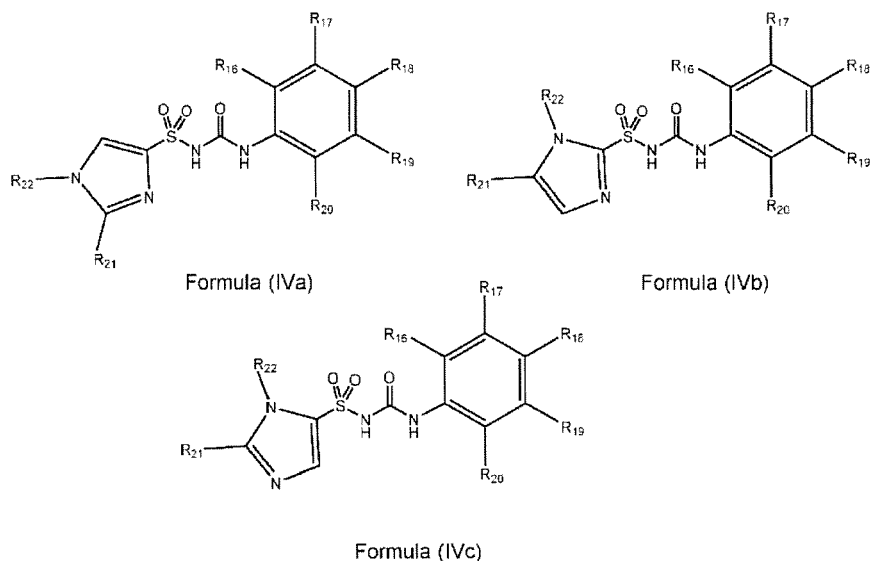
R₁₇ e R₁₉ sono H;

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P. n° 038M-041R

R_{18} è H o alogeno; e

a condizione che R_{21} e R_{22} non siano entrambi H.

12. Il composto di una qualsiasi delle rivendicazioni dalla 1 alla rivendicazione 8, in cui il composto è un composto di formula (IVa), (IVb) o (IVc), o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile:



in cui:

R_{21} e R_{22} sono scelti tra H, alchile, peralogenoalchile, idrossilalchile, cicloalchile C_3-C_6 , fenile e benzile;

R_{16} e R_{17} , insieme agli atomi a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile;

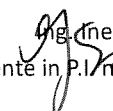
R_{19} e R_{20} , insieme agli atomi a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile;

R_{18} è H o alogeno; e

a condizione che R_{21} e R_{22} non siano entrambi H;

o in cui:

R_{21} e R_{22} sono scelti tra H, alchile, peralogenoalchile, idrossilalchile, cicloalchile


Agnes Sangiacomo
Consulente in P.I./P. USBM-041R

C₃-C₆, fenile e benzile; preferibilmente in cui il peralogenoalchile e l'idrossilalchile sono peralogenoalchile e idrossilalchile C₁₋₆;

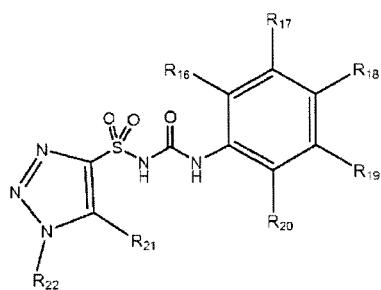
R₁₆ e R₂₀ sono alchile C₁₋₆ o cicloalchile C₃₋₅;

R₁₇ e R₁₉ sono H;

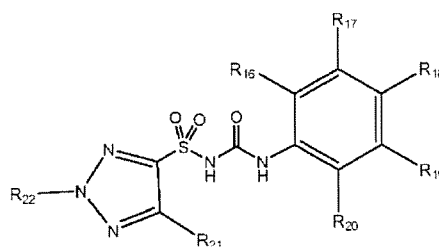
R₁₈ è H o alogeno; e

a condizione che R₂₁ e R₂₂ non siano entrambi H.

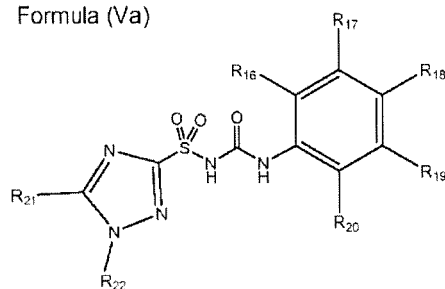
13. Il composto di una qualsiasi delle rivendicazioni dalla 1 alla rivendicazione 7, in cui il composto è un composto di formula (Va), (Vb) o (Vc), o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile:



Formola (Va)



Formola (Vb)



Formola (Vc)

in cui:

R₂₁ e R₂₂ sono scelti tra H, alchile, peralogenoalchile, idrossilalchile, cicloalchile C₃-C₆, fenile e benzile;

R₁₆ e R₁₇, insieme agli atomi a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile;

R₁₉ e R₂₀, insieme agli atomi a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile;

Ing. *[Signature]* Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

R_{18} è H o alogeno; e

a condizione che R_{21} e R_{22} non siano entrambi H;

o in cui:

R_{21} e R_{22} sono scelti tra H, alchile, peralogenoalchile, idrossilalchile, cicloalchile C_3-C_6 , fenile e benzile;

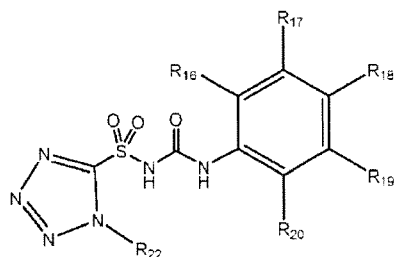
R_{16} e R_{20} sono alchile C_{1-6} o cicloalchile C_{3-5} ;

R_{17} e R_{19} sono H;

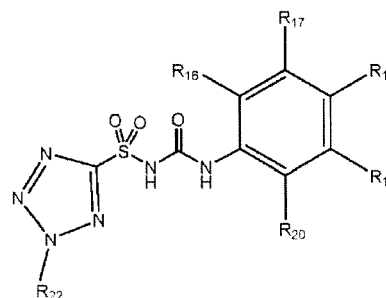
R_{18} è H o alogeno; e

a condizione che R_{21} e R_{22} non siano entrambi H.

14. Il composto di una qualsiasi delle rivendicazioni dalla 1 alla rivendicazione 7, in cui il composto è un composto di formula (VIa) o (VIb), o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile:



Formula (VIa)



Formula (VIb)

in cui:

R_{22} è scelto tra alchile, peralogenoalchile, cicloalchile C_3-C_6 , fenile e benzile;

R_{16} e R_{17} , insieme agli atomi a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile;

R_{19} e R_{20} , insieme agli atomi a cui sono attaccati formano un anello di ciclopentile; e

R_{18} è H o alogeno;

o in cui:

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.A. n° USBM-041R

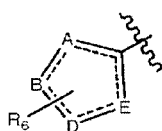
R₂₂ è scelto tra alchile, peralogenoalchile, cicloalchile C₃-C₆, fenile e benzile;

R₁₆ e R₂₀ sono alchile C₁₋₆ o cicloalchile C₃₋₅; preferibilmente isopropile o ciclopentile;

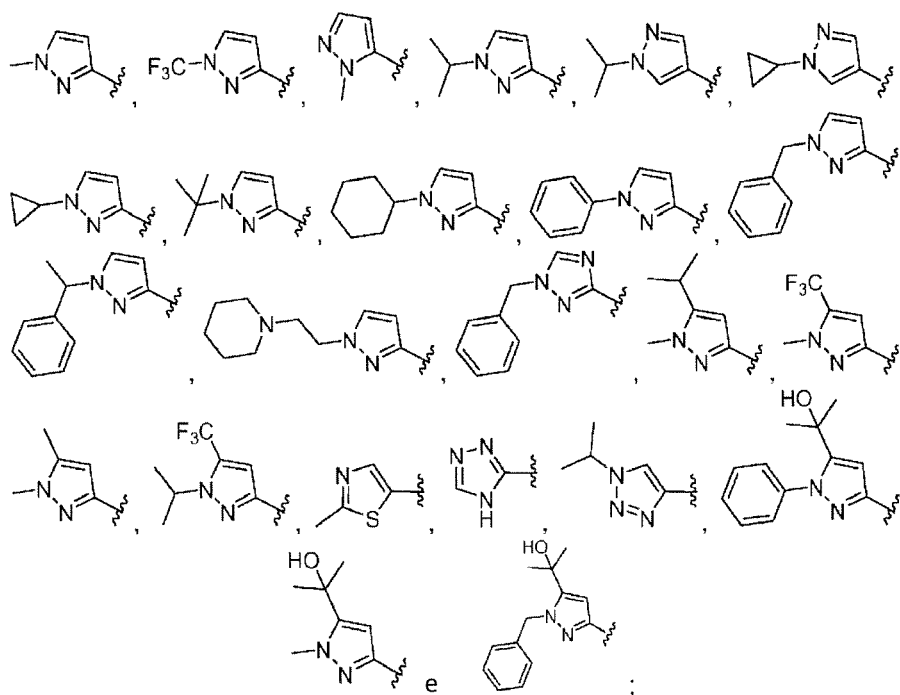
R₁₇ e R₁₉ sono H; e

R₁₈ è H o alogeno.

15. Il composto di una qualsiasi dalla rivendicazione 1 alla rivendicazione 9, in cui

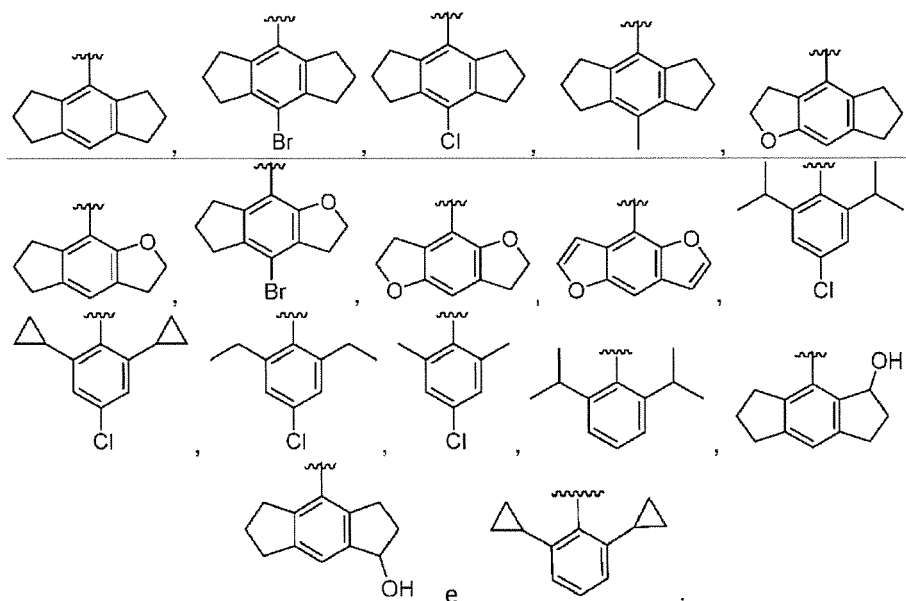


è selezionato dal gruppo composto da:

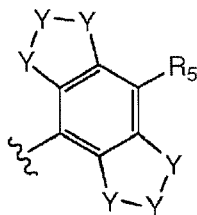


e in combinazione con ciascuno di tali gruppi, R₂ può essere selezionato indipendentemente dal gruppo costituito da:

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.A. n° OSBM-041R

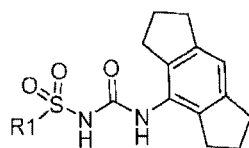


16. Il composto di una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui R_2 è scelto tra esaidroindacene, 2,6-diisopropilfenile, 2,6-diisopropil-4-clorofenile, 2,6-diciclopropilfenile, 2,6-diciclopropil-4-clorofenile, o

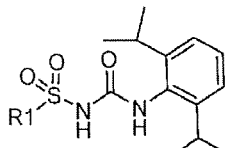


in cui ogni Y è CH e R_5 è H o alogeno.

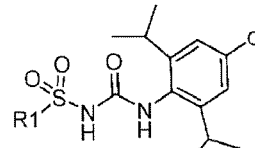
17. Il composto di una qualsiasi dalla rivendicazione 1 alla rivendicazione 10, in cui il composto è un composto di formula (Ia), (Ib) o (Ic), o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile:



formula (Ia)



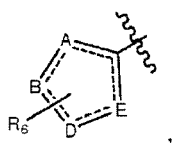
formula (Ib)



formula (Ic)

in cui R_1 è

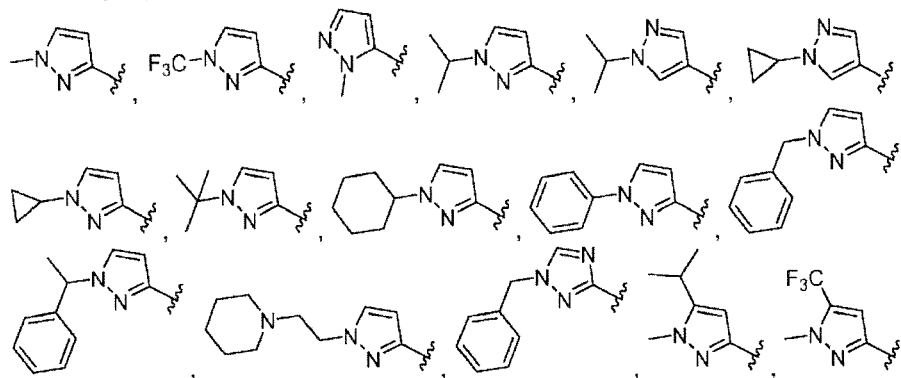
Ing. *[Signature]* Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R



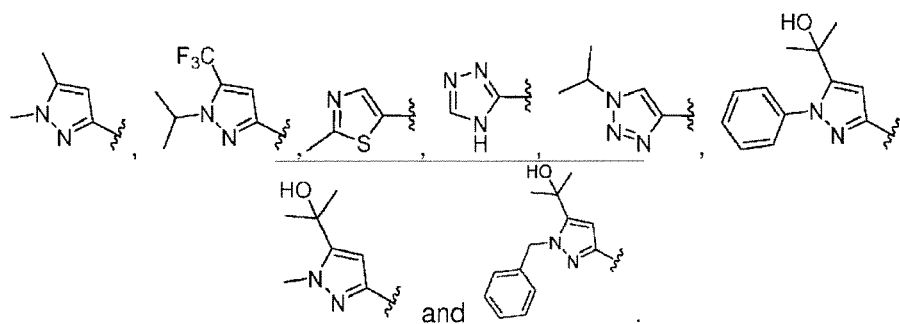
e in cui A, B, D, E e R₆ sono come definiti in una qualsiasi dalla rivendicazione 1 alla rivendicazione 10.

18. Il composto della rivendicazione 17, in cui R₁ è scelto dal gruppo costituito da pirazolo, pirrolidina, pirrolo, triazolo, tetrazolo e imidaziolo, tutti i quali possono essere opzionalmente sostituiti come appropriato, in cui qualsiasi sostituente opzionale è scelto indipendentemente dal gruppo costituito da alchile C1-10; Cicloalchile C3-6; idrossialchile; alcossi C1-10; alchenile C2-10; alchinile C2-10; arile C6-C12; arilossi; eteroarile; eterociclice; alogeno; ossidrile; alchile alogenato; ammino; alchilammino; arilammino; acile; ammido; CN; NO₂; N₃; CH₂OH; CONH₂; CONR₂₄R₂₅; CO₂R₂₄; CH₂OR₂₄; NHCOR₂₄; NHCO₂R₂₄; alchiltio C1-3; solfato; acido solfonico; esteri di solfonati; acido fosfonico; fosfato; fosfonato; esteri mono, di- o trifosfato; tritile; monometossitritile; R₂₄SO; R₂₄SO₂; CF₃S; CF₃SO₂; e trialchilsilile; in cui R₂₄ e R₂₅ sono ciascuno indipendentemente scelti da H o alchile C1-10.

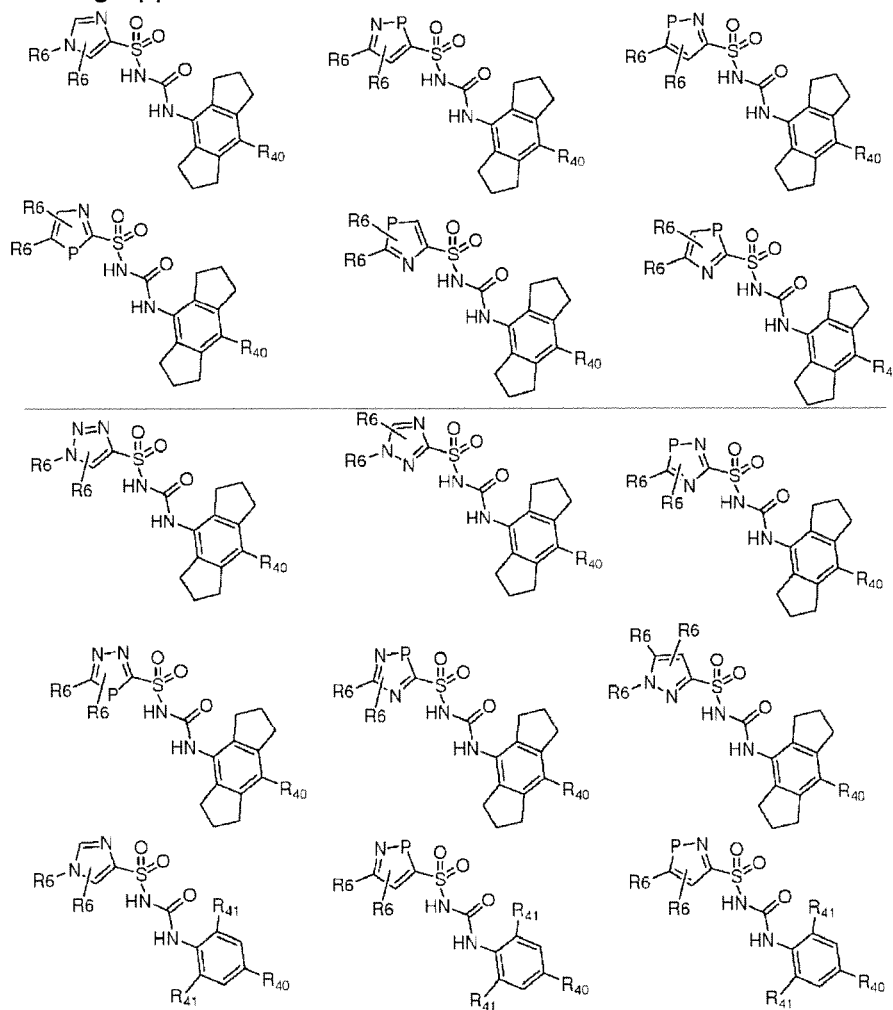
19. Il composto della rivendicazione 17 o della rivendicazione 18, in cui R₁ è scelto dal gruppo costituito da:

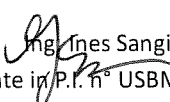


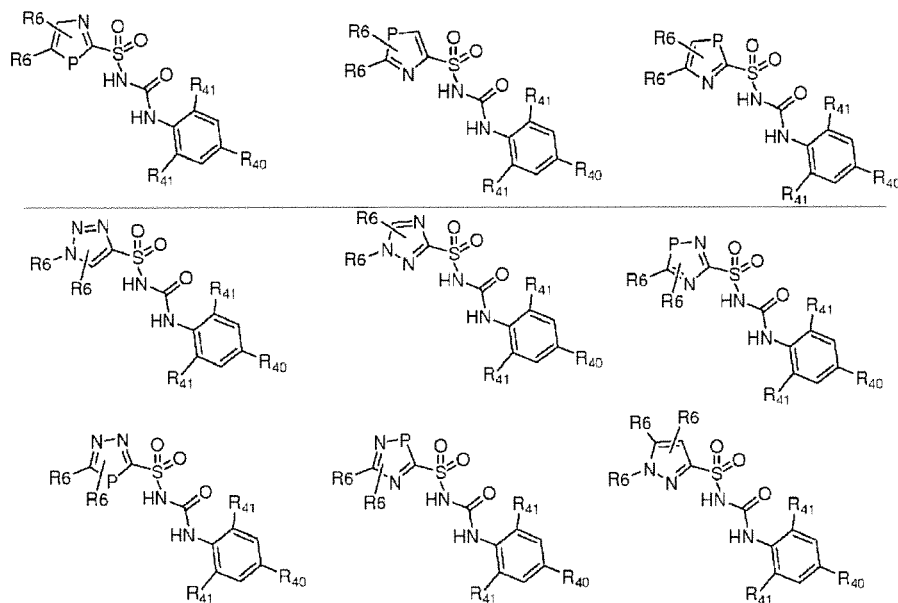
Ing.ipes Sangiacomo
Consulente in P.I. n° 2/USBM-041R



20. Il composto secondo la rivendicazione 1, in cui il composto di formula (II) è scelto dal gruppo costituito da:




Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R



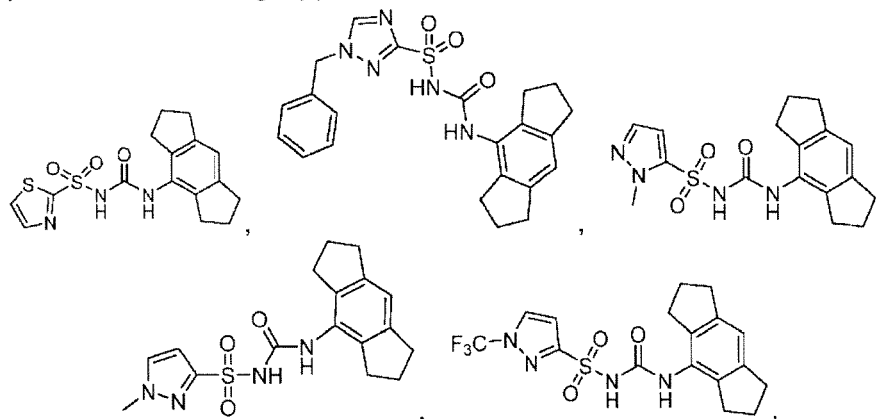
in cui R₄₀ è scelto tra H, alchile C₁-C₆ e alogeno;

R₄₁ è scelto tra alchile e cicloalchile;

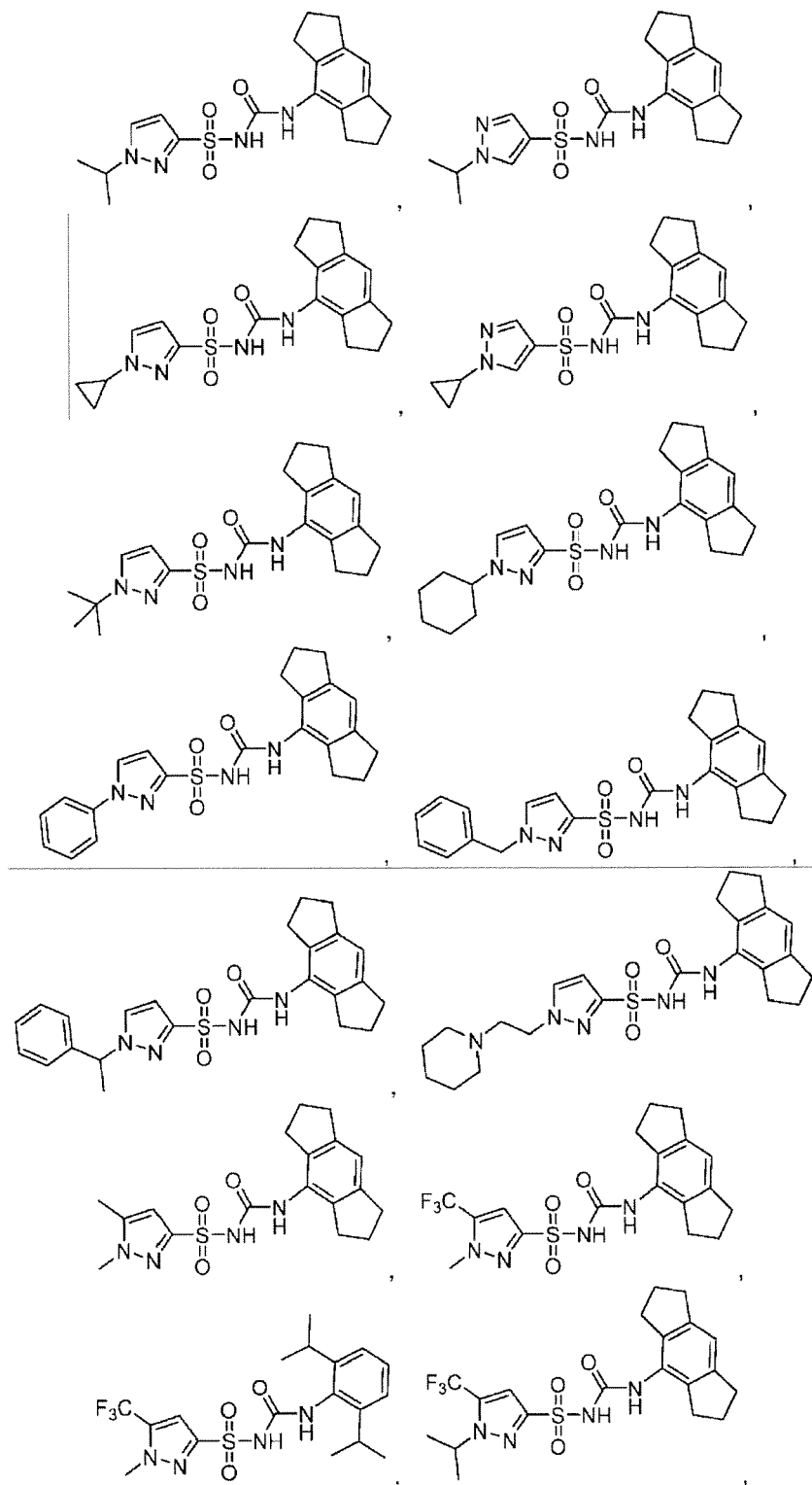
ciascuna incidenza di P è indipendentemente scelta tra C, O o S; e

ciascuna incidenza di R₆, quando presente, è indipendentemente scelta tra quei gruppi definiti nel rivendicazione 1.

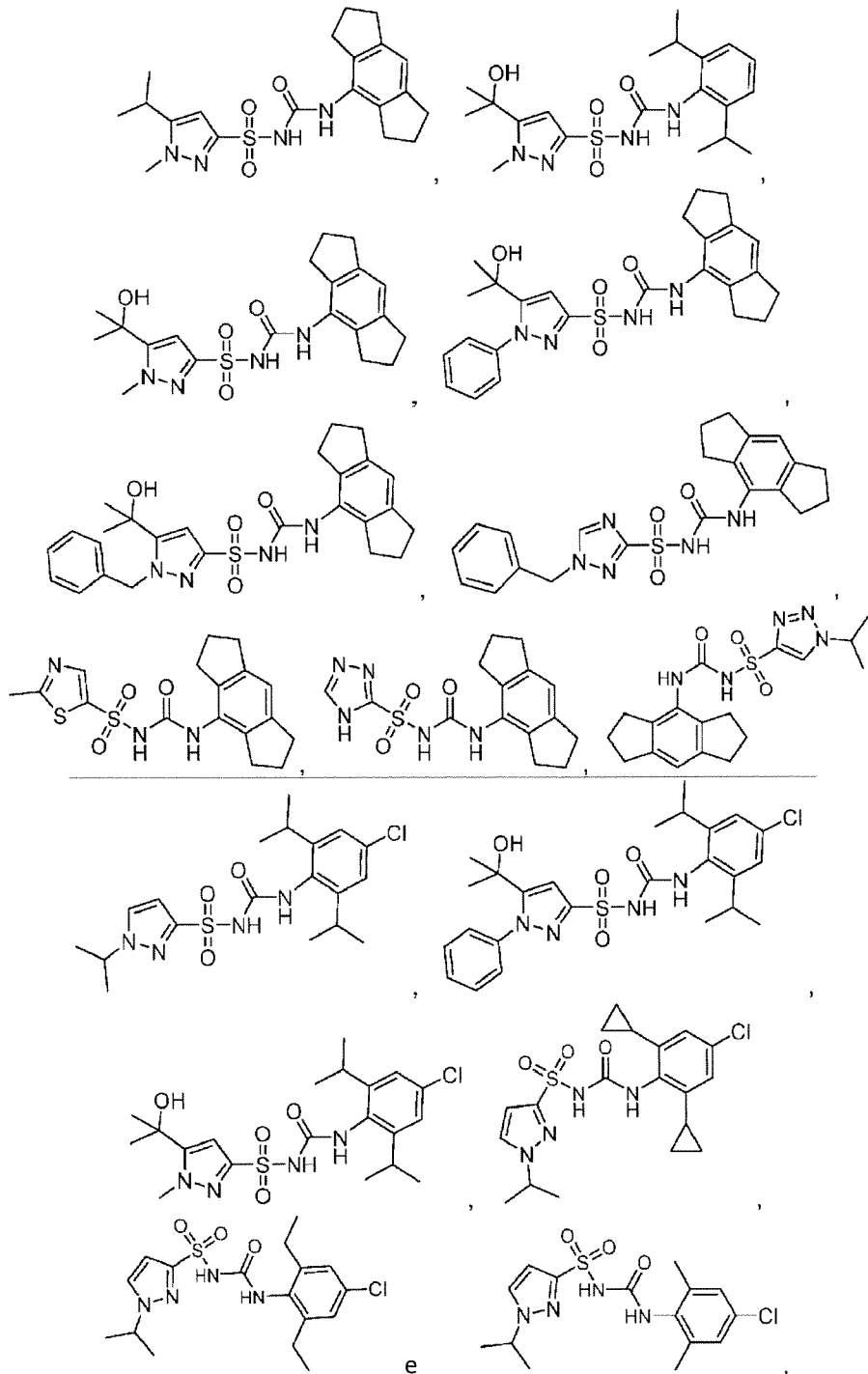
21. Il composto di una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui il composto è scelto dal gruppo costituito da:



Ing. Ugo Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R



[Signature]
Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

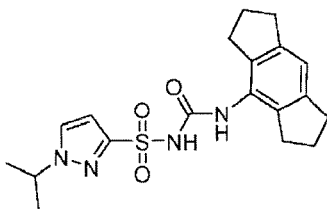


e loro sali e solvati farmaceuticamente accettabili.

22. Il composto di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 21, in cui il composto

Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

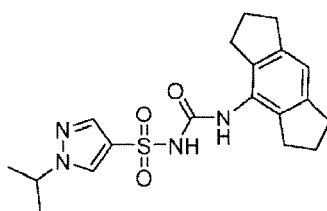
è



o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile.

23. Il composto di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 21, in cui il composto

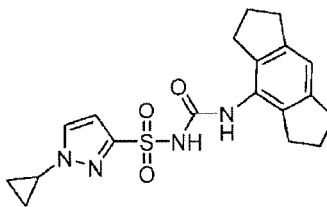
è



o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile.

24. Il composto di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 21, in cui il composto

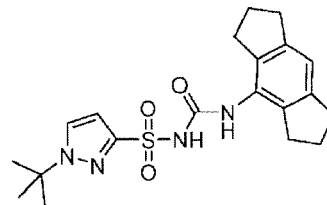
è



o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile.

25. Il composto di una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 21, in cui il composto

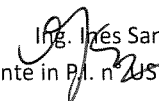
è



o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile.

Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° 05BM-041R

26. Composizione farmaceutica comprendente un composto di una qualsiasi dalla rivendicazione 1 alla rivendicazione 25, o un suo sale o solvato farmaceuticamente accettabile, e un veicolo, diluente e/o eccipiente farmaceuticamente accettabili.
27. Il composto o il sale o solvato farmaceuticamente efficace di una qualsiasi dalla rivendicazione 1 alla rivendicazione 25, per l'uso in medicina.
28. Il composto o il sale o solvato farmaceuticamente efficace di una qualsiasi dalla rivendicazione 1 alla rivendicazione 25, per l'uso ne:
- (a) il trattamento o la prevenzione di una patologia, disturbo o condizione; e/o
 - (b) il trattamento o la prevenzione di una patologia, un disturbo o una condizione, in cui la patologia, il disturbo o la condizione è una patologia, un disturbo o una condizione del sistema immunitario; e/o
 - (c) il trattamento o la prevenzione di una patologia, un disturbo o una condizione, in cui la patologia, il disturbo o la condizione è una patologia, un disturbo o una condizione infiammatoria o una patologia, un disturbo o una condizione autoimmuni; e/o
 - (d) il trattamento o la prevenzione di una patologia, un disturbo o una condizione, in cui la patologia, il disturbo o la condizione è una patologia, un disturbo o una condizione della pelle; e/o
 - (e) il trattamento o la prevenzione di una patologia, un disturbo o una condizione, in cui la patologia, il disturbo o la condizione è una patologia, un disturbo o una condizione del sistema cardiovascolare; e/o
 - (f) il trattamento o la prevenzione di una patologia, un disturbo o una condizione, in cui la patologia, il disturbo o la condizione è un cancro, un tumore


Ing. Irés Sangiacomo
Consulente in P.I. n. 2/SBM-041R

o un'altra malattia maligna; e/o

(g) il trattamento o la prevenzione di una patologia, un disturbo o una condizione, in cui la patologia, il disturbo o la condizione è una patologia, un disturbo o una condizione del sistema renale; e/o

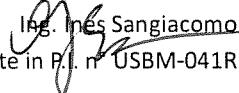
(h) il trattamento o la prevenzione di una patologia, un disturbo o una condizione, in cui la patologia, il disturbo o la condizione è una patologia, un disturbo o una condizione del tratto gastrointestinale; e/o

(i) il trattamento o la prevenzione di una patologia, disturbo o condizione, in cui la patologia, il disturbo o la condizione è una patologia, un disturbo o una condizione del sistema respiratorio; e/o

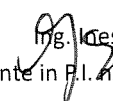
(j) il trattamento o la prevenzione di una patologia, un disturbo o una condizione, in cui la patologia, il disturbo o la condizione è una patologia, un disturbo o una condizione del sistema endocrino; e/o

(k) il trattamento o la prevenzione di una patologia, un disturbo o una condizione, in cui la patologia, il disturbo o la condizione è una patologia, un disturbo o una condizione del sistema nervoso centrale (SNC); e/o

(l) il trattamento o la prevenzione di una patologia, un disturbo o una condizione, in cui la patologia, il disturbo o la condizione è scelta/o dal gruppo costituito da infiammazione costitutiva incluse le sindromi periodiche associate alla criopirina (CAPS): sindrome di Muckle-Wells (MWS), sindrome autoinfiammatoria fredda familiare (FCAS) e malattia infiammatoria multisistemica a insorgenza neonatale (NOMID); incluse le malattie autoinfiammatorie: febbre mediterranea familiare (FMF), sindrome periodica associata al recettore del TNF (TRAPS), deficit di mevalonato chinasi (MKD), iperimmunoglobulinemia D e sindrome della febbre periodica (HIDS), deficit di


Ing. Ines Sangiacomo
Consulente in P.I. n° USBM-041R

antagonista del recettore dell'interleuchina 1 (DIRA), sindrome di Majeed, artrite piogenica, pioderma gangrenoso e acne (PAPA), aploinsufficienza di A20 (HA20), artrite granulomatosa pediatrica (PGA), deficit di anticorpo associato a PLCG2 e disregolazione immunitaria (PLAID), autoinfiammazione associata a PLCG2, deficienza di anticorpi e AP immunoglicemia, anemia sideroblastica con immunodeficienza a cellule B, febbri periodiche e ritardo dello sviluppo (SIFD); Sindrome di Sweet, osteomielite cronica non batterica (CNO), osteomielite multifocale ricorrente cronica (CRMO) e sinovite, acne, pustulosi, iperostosi, sindrome dell'osteite (SAPHO); malattie autoimmuni tra cui sclerosi multipla (SM), diabete di tipo 1, psoriasi, artrite reumatoide, morbo di Behcet, sindrome di Sjogren e sindrome di Schnitzler; malattie respiratorie inclusi disturbo polmonare ostruttivo cronico (BPCO), asma resistente agli steroidi, asbestosi, silicosi e fibrosi cistica; malattie del sistema nervoso centrale tra cui il morbo di Parkinson, il morbo di Alzheimer, la malattia dei motoneuroni, la malattia di Huntington, la malaria cerebrale e le lesioni cerebrali da meningite pneumococcica; malattie metaboliche tra cui diabete di tipo 2, aterosclerosi, obesità, gotta, pseudo-gotta; malattie oculari comprese quelle dell'epitelio oculare, degenerazione maculare legata all'età (AMD), infezione corneale, uveite e secchezza oculare; malattia renale inclusa malattia renale cronica, nefropatia da ossalato e nefropatia diabetica; malattia epatica inclusa steatoepatite non alcolica e malattia epatica alcolica; reazioni infiammatorie nella pelle tra cui ipersensibilità da contatto e scottature solari; reazioni infiammatorie delle articolazioni tra cui artrosi, artrite idiopatica giovanile sistemica, malattia di Still ad insorgenza nell'adulto, policondrite recidivante; infezioni virali tra cui virus alfa inclusi Chikungunya, e Ross River e flavivirus

Ing.  Luca Sangiacomo
Consulente in P.I. n. 2058BM-041R

inclusi virus Dengue e Zika, influenza, HIV; idradenite suppurativa (HS) e altre malattie della pelle che causano cisti; cancro inclusi metastasi del cancro del polmone, cancro del pancreas, cancro gastrico, sindrome mielodisplastica, leucemia; polimiosite; ictus; infarto miocardico; malattia del trapianto contro l'ospite; ipertensione; colite; infezione da elminti; infezione batterica; aneurisma dell'aorta addominale; la guarigione delle ferite; depressione, stress psicologico; pericardite inclusa la sindrome di Dressler, lesione da riperfusion da ischemia e qualsiasi malattia in cui è stato stabilito che un individuo porti una mutazione germinale o somatica non silente in NLRP3.

29. Il composto o il sale o il solvato farmaceuticamente efficaci di una qualsiasi dalla rivendicazione 1 alla rivendicazione 25, per l'uso nella diagnosi di una patologia, un disturbo o una condizione in un mammifero inclusa la fase di somministrazione di un composto marcato di una qualsiasi tra la rivendicazione 1 e la rivendicazione 25, o un suo sale o solvato farmaceuticamente efficace, o un suo complesso chelato di ioni metallici, al mammifero o a un campione biologico ottenuto dal mammifero per facilitare la diagnosi della patologia, del disturbo o della condizione nel mammifero.


* * * * *

Seguono n° 3 tavole di disegno.

Si dichiara che la presente traduzione è conforme al testo originale in lingua inglese.

Brescia, 8 Aprile 2020

In Fede,


Ing. Ines Sangiacomo

Consulente in P.I. n° USBM-041R

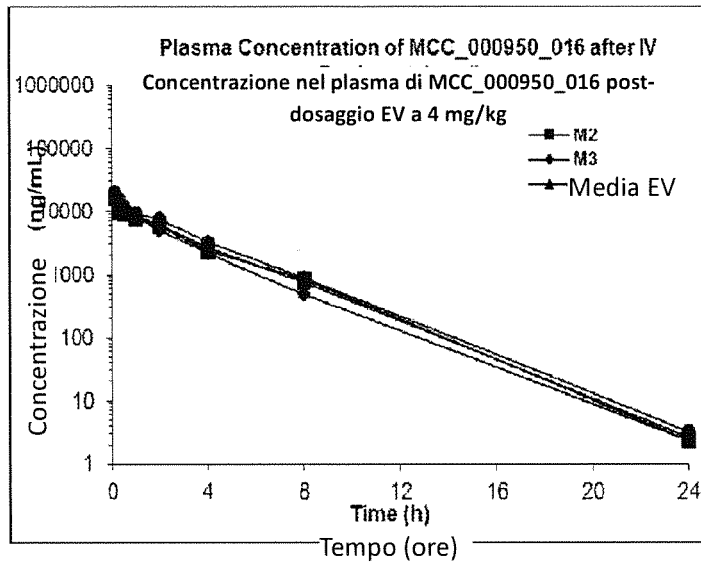


FIG 1A

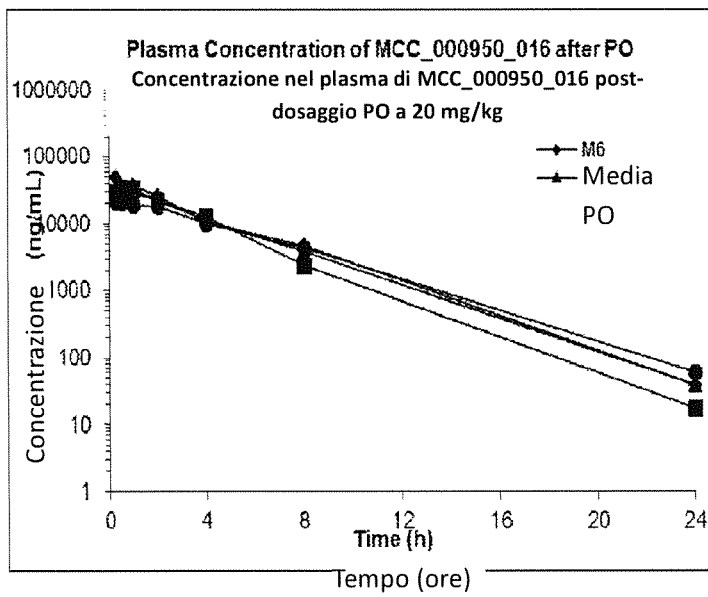


FIG 1B

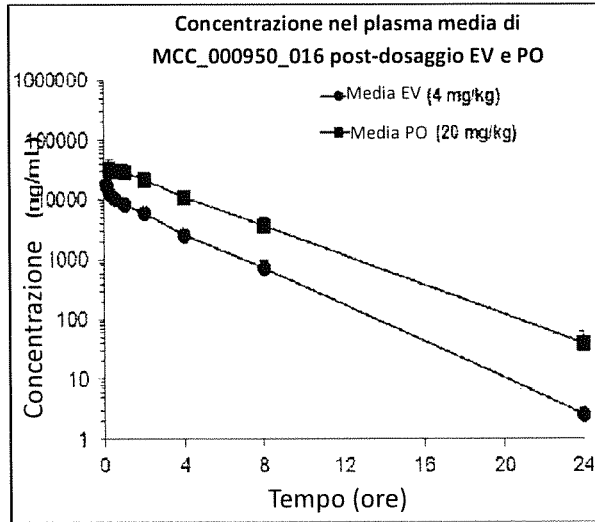


FIG 1C

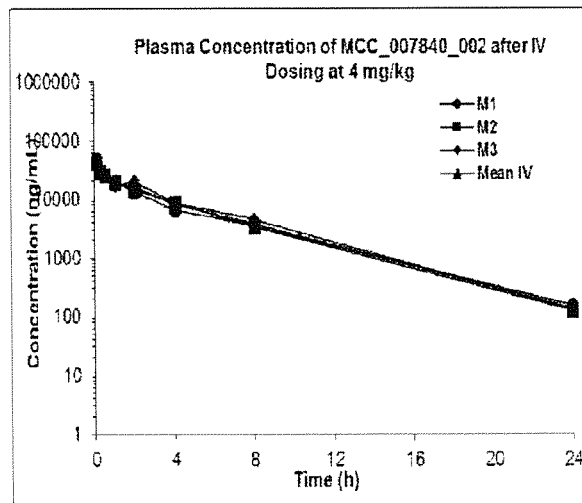


FIG 2A

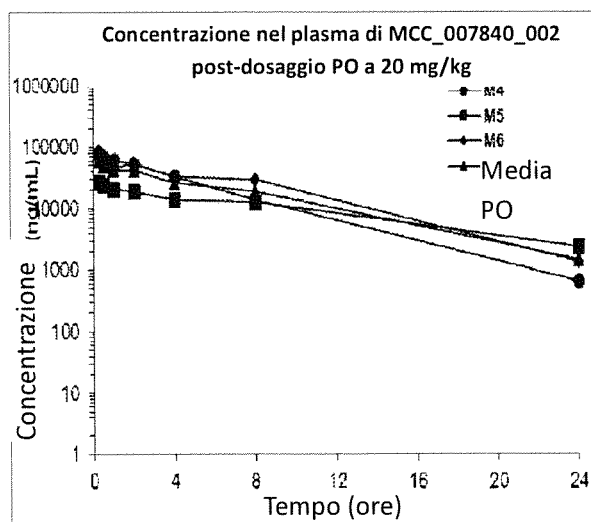


FIG 2B

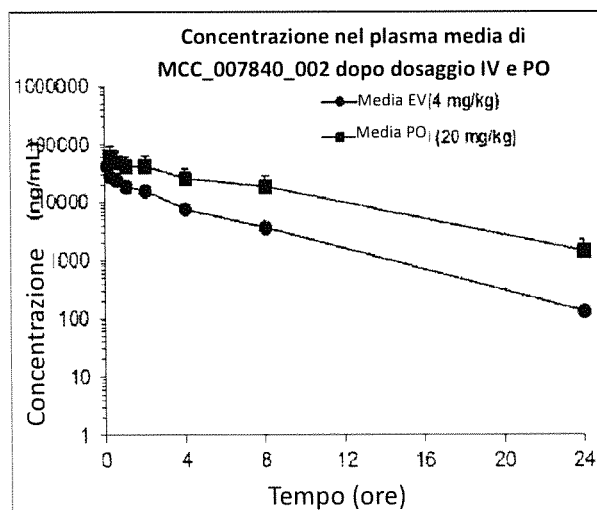


FIG 2C