



EP3386548B1

**DERIVATI DI INOSITOLO PER L'USO NELLA CRISTALLIZZAZIONE
PATOLOGICA**

DESCRIZIONE

[0001] La presente invenzione si riferisce all'uso di composti farmaceutici per trattare o prevenire condizioni correlate alla cristallizzazione patologica di calcio.

Stato dell'arte dell'invenzione

[0002] I pazienti con malattia renale cronica (CKD) soffrono di deposizione accelerata di minerali nei tessuti molli, in particolare nel sistema vascolare, a causa di una perdita di omeostasi dei fattori che regolano i processi di biomineralizzazione nel corpo. Tali depositi portano all'irrigidimento delle pareti arteriose, che alla fine porta all'aumento della pressione sanguigna, all'ipertrofia del ventricolo sinistro, alla riduzione del flusso sanguigno coronarico, alla compromissione della funzione endoteliale e a danni alla microcircolazione nei reni e nel cervello. Di conseguenza, la mortalità per tutte le cause dei pazienti con CKD aumenta esponenzialmente con la diminuzione della funzione renale. Le concentrazioni fisiologiche di calcio e fosfato nel sangue sono vicine alla sovrasaturazione. I componenti del sangue come la fetuina-A interagiscono con il calcio e il fosfato per formare nanoparticelle

B

solubili chiamate particelle calciproteiche (CPP) che impediscono la precipitazione e la conseguente calcificazione in condizioni normali. Le cosiddette CPP primarie sono amorfe e hanno un raggio idrodinamico tipicamente inferiore a 100 nm e maturano col tempo per riorganizzarsi in CPP secondarie cristalline che hanno un raggio idrodinamico superiore a 100 nm. Le CPP secondarie sono successivamente pensate per progredire verso la calcificazione e per avviare le risposte patologiche.

[0003] Un agente farmaceutico capace di ridurre la propensione alla progressione delle CPP primarie in CPP secondarie, e quindi in ultima analisi capace di ridurre la cristallizzazione patologica, sarebbe quindi di notevole valore terapeutico. Non esiste, ad oggi, una terapia approvata o clinicamente convalidata per la riduzione o la prevenzione delle calcificazioni vascolari.

[0004] I derivati del fosfato di inositolo come fitato (IP6) sono stati divulgati nelle seguenti citazioni come agenti adatti nel trattamento di patologie associate al disturbo del calcio:

GRASES F ET AL: "PHYTATE (IP6) IS A POWERFUL AGENT FOR PREVENTING CALCIFICATIONS IN BIOLOGICAL FLUIDS: USEFULNESS IN RENAL LITHIASIS TREATMENT", ANTICANCER RESEARCH-INTERNATIONAL JOURNAL OF CANCER RESEARCH AND

TBE0522-SM

TREATMENT, INTERNATIONAL INSTITUTE OF ANTICANCER RESEARCH, vol. 19, n. 5A, 1 gennaio 1999, pagine 3717-3722

EP 2 324 835 A2

EP 2 022 501 A1

WO 2010/018278 A2

FELIX GRASES ET AL: "Phytate (Myo-inositol hexakisphosphate) inhibits cardiovascular calcifications in rats", FRONTIERS IN BIOSCIENCE, vol. 11, n. 1, 1 gennaio 2006, pagine 136-142

[0005] Quindi, il problema alla base della presente invenzione è quello di fornire un intervento farmacologico efficace per ridurre la cristallizzazione patologica. Questo problema è risolto dall'argomento delle rivendicazioni indipendenti.

Descrizione

[0006] La presente invenzione si riferisce all'uso di derivati di fosfato di inositolo di formula (II) come definito nelle rivendicazioni pendenti 1-3.

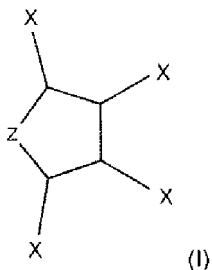
[0007] La presente descrizione si riferisce all'uso di fosfati di inositolo, solfati e/o tiofosfati con o senza aggiunta covalente di poli(etilenglicole) (PEG) o poliglicerolo, per prevenire o ridurre la cristallizzazione patologica nei tessuti molli.

[0008] Secondo un primo aspetto della presente

AB

descrizione un composto descritto da una formula generale

(I)



(I)

1

è fornito per l'uso nella terapia o nella prevenzione delle condizioni correlate alla cristallizzazione patologica di calcio, in cui

- Z è $(\text{CHX})_p\text{CHX}(\text{CHX})_q$;
- p e q, ciascuno indipendentemente dall'altro, hanno un valore da 0 a 2, a condizione che $(p+q)$ abbia un valore di 0, 1 o 2;
- uno o due o tre X possono essere R^1 e i rimanenti X indipendentemente l'uno dall'altro sono selezionati tra OPO_3^{2-} , OPSO_2^{2-} , e OSO_3^- a condizione che non tutti gli X siano OPO_3^{2-} e non tutti gli X siano OSO_3^- ; e
- R^1 comprende una funzione di solubilità R^2 selezionata dal gruppo includente
 - un polietilenglicole o
 - un poliglicerolo.

[0009] Le condizioni correlate alla cristallizzazione patologica di calcio per le quali i composti della presente invenzione sono particolarmente utili includono

la calcificazione vascolare, la coronaropatia, l'irrigidimento vascolare, la calcificazione valvolare, la nefrocalcinosi, la calcinosi cutis, i calcoli renali, la condrocalcinosi, l'osteoporosi, l'infarto del miocardio, la mortalità cardiovascolare (in particolare nei pazienti con malattia renale cronica), la progressione della malattia renale cronica e il fallimento degli innesti dei trapianti renali. È stato dimostrato che la cristallizzazione patologica è associata alla mortalità per tutte le cause dei pazienti con malattia renale cronica, quindi i composti della presente invenzione sono indicati per i pazienti con malattia renale cronica in generale.

[0010] Ulteriori condizioni che beneficeranno di un trattamento con i composti dell'invenzione sono l'arteriopatia periferica, l'ischemia critica degli arti, la calcifilassi, la calcificazione arteriosa generale dell'infanzia, la stenosi aortica, l'aterosclerosi, la pseudogotta, l'iperossaluria primaria e lo pseudoxantoma elastico.

[0011] Nel contesto della presente descrizione, "arteriopatia periferica" si riferisce a un restringimento delle arterie periferiche nelle gambe (più comunemente), stomaco, braccia e testa. I sintomi includono la claudicazione intermittente (dolore alle

gambe quando si cammina che si risolve con il riposo),
ulcere cutanee, pelle bluastra, pelle fredda o scarsa
crescita di unghie e capelli.

[0012] Nel contesto della presente descrizione, "ischemia
critica degli arti" si riferisce a una grave ostruzione
delle arterie che riduce notevolmente il flusso di sangue
alle estremità, e progredisce fino al punto di dolore
grave e persino di ulcere cutanee, piaghe o cancrene.
L'ischemia critica degli arti è una condizione molto
grave di malattia delle arterie periferiche.

[0013] Nel contesto della presente descrizione,
"calcifilassi" o "arteriolopatia uremica calcifica" si
riferisce a una sindrome di calcificazione vascolare,
trombosi e necrosi cutanea.

[0014] Nel contesto della presente descrizione,
"pseudogotta", nota anche come "malattia da deposito di
cristalli di pirofosfato di calcio biidrato (CPPD)" o
"artropatia da pirofosfato" si riferisce a un disturbo
reumatologico che si ritiene essere causato dall'accumulo
di cristalli di pirofosfato di calcio nei tessuti
connettivi, in particolare nelle articolazioni come
l'articolazione del ginocchio.

[0015] Nel contesto della presente descrizione, il
termine "calcificazione arteriosa generale dell'infanzia"
(GACI) si riferisce a un disturbo che colpisce il sistema

circolatorio che si manifesta prima della nascita o entro i primi mesi di vita, e che è caratterizzato da una calcificazione anomala delle arterie e dall'ispessimento delle pareti arteriose. Questi cambiamenti portano alla stenosi e alla rigidità delle arterie, con conseguente insufficienza cardiaca in alcuni individui affetti, con segni e sintomi tra cui difficoltà di respirazione, edema, cianosi, ipertensione e cardiomegalia.

[0016] Esiste un certo grado di flessibilità per quanto riguarda la composizione ottimale della porzione funzionale anionica di legame e quella della funzione polimerica di solubilità. Senza voler essere vincolati dalla teoria, gli inventori ipotizzano che ciò sia dovuto al fatto che le interazioni che forniscono il beneficio terapeutico sono costituite principalmente da interazioni elettrostatiche tra piccoli anioni e cationi in combinazione con l'ostacolo sterico, ed entrambi i fenomeni sono, in termini di requisiti di adattamento dell'interazione molecolare, meno selettivi per esempio di un'interazione proteina-ligando.

[0017] In determinate forme di realizzazione, R^1 è R^2 e il composto è usato per il trattamento di una qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

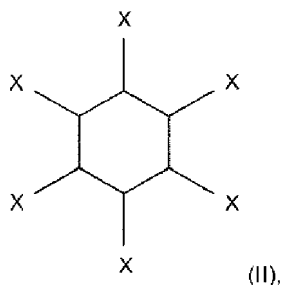
[0018] In determinate forme di realizzazione, R^1 è o comprende un polietilenglicole o un poliglicerolo, e R^1

B

ha una massa molare compresa tra 100 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 100 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare tra approssimativamente 100 g/mol e 2000 g/mol, e il composto è usato per il trattamento di qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0019] In determinate forme di realizzazione, R^1 è o comprende un polietilenglicole o un poliglicerolo, e R^1 ha una massa molare compresa tra 200 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 300 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare tra approssimativamente 400 g/mol e 2000 g/mol, e il composto è usato per il trattamento di qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0020] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto da una formula generale (II)



in cui

- uno o due o tre X sono R^1 e i rimanenti X indipendentemente da qualsiasi altro X possono essere OPO_3^{2-} , $OPSO_2^{2-}$, e OSO_3^- e

- R^1 è un polietilenglicole o un poliglicerolo;

e il composto è usato per il trattamento di una qualsiasi

delle indicazioni elencate sopra.

[0021] Le linee rette nella formula II indicano che la stereochimica dei singoli atomi di carbonio dell'anello è indefinita. La formula si intende comprensiva di qualsiasi diastereomero.

[0022] In determinate forme di realizzazione, R^1 è un polietilenglicole.

[0023] In determinate forme di realizzazione, R^1 è un polietilenglicole descritto da una formula $R^3-(O-CH_2-CH_2)_n-$ o $R^3-(O-CH_2-CH_2)_n-O-$ e R^3 è idrogeno, metile o etile, e n ha un valore da 2 a 200.

[0024] In determinate forme di realizzazione, n ha un valore da 3 a 200.

[0025] In determinate forme di realizzazione, n ha un valore da 3 a 20. In determinate forme di realizzazione, n ha un valore da 10 a 30. In determinate forme di realizzazione, n ha un valore da 9 a 45.

[0026] In determinate forme di realizzazione, n ha un valore da 7 a 11.

[0027] In determinate forme di realizzazione, n ha un valore di 2. In determinate forme di realizzazione, n ha un valore di 7. In determinate forme di realizzazione, n ha un valore di 9. In determinate forme di realizzazione, n ha un valore di 11. In determinate forme di realizzazione, n ha un valore di 45.



[0028] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto dalla formula generale (II), un X è R¹ e i rimanenti X indipendentemente da qualsiasi altro X possono essere OPO₃²⁻, OPSO₂²⁻, e OSO₃⁻; e R¹ è un polietilenglicole o un poliglicerolo avente una massa molare compresa tra 100 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 100 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare tra approssimativamente 100 g/mol e 2000 g/mol, e il composto è usato per il trattamento di qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0029] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto dalla formula generale (II), un X è R¹ e i rimanenti X indipendentemente da qualsiasi altro X possono essere OPO₃²⁻, OPSO₂²⁻, e OSO₃⁻; e R¹ è un polietilenglicole o un poliglicerolo avente una massa molare compresa tra 200 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 300 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare tra approssimativamente 400 g/mol e 2000 g/mol, e il composto è usato per il trattamento di qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0030] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto dalla formula generale (II), in cui

- un X è R¹ e i rimanenti X sono OPO₃²⁻; e
- R¹ è un polietilenglicole e ha una massa molare compresa tra 100 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra

TBE0522-SM

100 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare di approssimativamente 100 g/mol o di approssimativamente 2000 g/mol;

e il composto è usato per il trattamento di una qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0031] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto dalla formula generale (II), in cui

- un X è R¹ e i rimanenti X sono OPO₃²⁻; e
- R¹ è un polietilenglicole e ha una massa molare compresa tra 200 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 300 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare di approssimativamente 400 g/mol o di approssimativamente 2000 g/mol;

e il composto è usato per il trattamento di una qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0032] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto dalla formula generale (II) e

- due X sono R¹ e i rimanenti X indipendentemente da qualsiasi altro X possono essere OPO₃²⁻, OPSO₂²⁻, e OSO₃⁻ e
- ogni R¹ indipendentemente l'uno dall'altro è selezionato tra un polietilenglicole e un poliglicerolo;

e il composto è usato per il trattamento di una qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0033] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto dalla formula generale (II), due X sono R¹ e

i rimanenti X indipendentemente da qualsiasi altro X possono essere OPO_3^{2-} , OPSO_2^{2-} , e OSO_3^- ; e ciascun R^1 indipendentemente l'uno dall'altro è un polietilenglicole o un poliglicerolo avente una massa molare compresa tra 100 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 100 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare tra approssimativamente 100 g/mol e 2000 g/mol, e il composto è usato per il trattamento di qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0034] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto dalla formula generale (II), due X sono R^1 e i rimanenti X indipendentemente da qualsiasi altro X possono essere OPO_3^{2-} , OPSO_2^{2-} , e OSO_3^- ; e ciascun R^1 indipendentemente l'uno dall'altro è un polietilenglicole o un poliglicerolo avente una massa molare compresa tra 200 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 300 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare tra approssimativamente 400 g/mol e 2000 g/mol, e il composto è usato per il trattamento di qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0035] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto dalla formula generale (II), in cui

- due X sono R^1 e i rimanenti X sono OPO_3^{2-} ; e
- R^1 è un polietilenglicole e ha una massa molare
- tra 100 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 100

TBE0522-SM



g/mol e 2500 g/mol, più in particolare di approssimativamente 100 g/mol o di approssimativamente 2000 g/mol o

- tra 200 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 300 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare di approssimativamente 400 g/mol o di approssimativamente 2000 g/mol;

e il composto è usato per il trattamento di una qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0036] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto dalla formula generale (II), in cui

- due X sono R¹ e i rimanenti X sono OPSO₂²⁻; e

- R¹ è un polietilenglicole e ha una massa molare

- tra 100 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 100 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare di approssimativamente 100 g/mol o di approssimativamente 2000 g/mol o

- tra 200 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 300 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare di approssimativamente 400 g/mol o di approssimativamente 2000 g/mol;

e il composto è usato per il trattamento di una qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0037] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto dalla formula generale (II), in cui

TBE0522-SM

- due X sono R^1 e i rimanenti X sono OSO_3^- ; e
- R^1 è un polietilenglicole e ha una massa molare
- tra 100 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 100 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare di approssimativamente 100 g/mol o di approssimativamente 2000 g/mol o
- tra 200 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 300 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare di approssimativamente 400 g/mol o di approssimativamente 2000 g/mol;

e il composto è usato per il trattamento di una qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0038] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto dalla formula generale (II) e

- tre X sono R^1 e i rimanenti X indipendentemente da qualsiasi altro X possono essere OPO_3^{2-} , $OPSO_2^{2-}$, e OSO_3^- e
 - ogni R^1 indipendentemente l'uno dall'altro è selezionato tra un polietilenglicole e un poliglicerolo;
- e il composto è usato per il trattamento di una qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0039] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto dalla formula generale (II), tre X sono R^1 e i rimanenti X indipendentemente da qualsiasi altro X possono essere OPO_3^{2-} , $OPSO_2^{2-}$, e OSO_3^- ; e ciascun R^1 indipendentemente l'uno dall'altro è un polietilenglicole

TBE0522-SM



o un poliglicerolo avente una massa molare

- tra 100 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 100 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare da approssimativamente 100 g/mol a 2000 g/mol, o

- tra 200 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 300 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare da approssimativamente 400 g/mol a 2000 g/mol;

e il composto è usato per il trattamento di una qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0040] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto dalla formula generale (II), in cui

- tre X sono R¹ e i rimanenti X sono OPO₃₂⁻; e

- R¹ è un polietilenglicole e ha una massa molare

- tra 100 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 100 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare di approssimativamente 100 g/mol o di approssimativamente 2000 g/mol o

- tra 200 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 300 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare di approssimativamente 400 g/mol o di approssimativamente 2000 g/mol;

e il composto è usato per il trattamento di una qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0041] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto dalla formula generale (II), in cui

TBE0522-SM



- tre X sono R¹ e i rimanenti X sono OPSO₂²⁻; e
- R¹ è un polietilenglicole e ha una massa molare
- tra 100 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 100 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare di approssimativamente 100 g/mol o di approssimativamente 2000 g/mol o
- tra 200 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 300 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare di approssimativamente 400 g/mol o di approssimativamente 2000 g/mol;

e il composto è usato per il trattamento di una qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

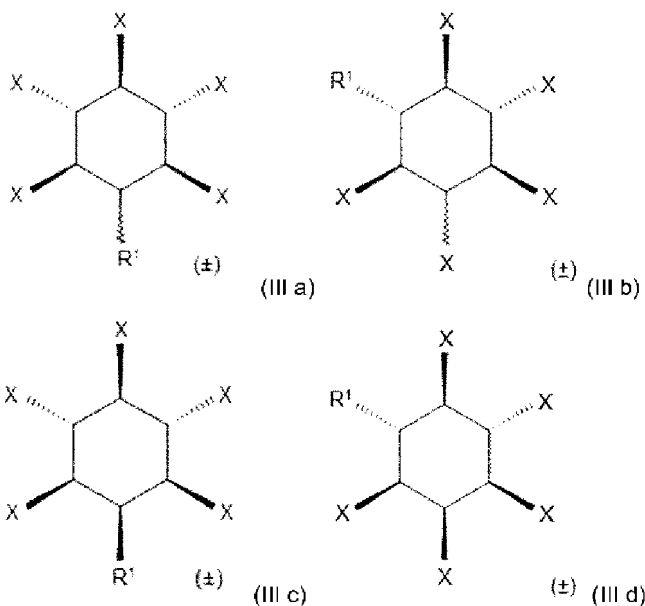
[0042] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto dalla formula generale (II), in cui

- tre X sono R¹ e i rimanenti X sono OSO₃⁻; e
- R¹ è un polietilenglicole e ha una massa molare
- tra 100 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 100 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare di approssimativamente 100 g/mol o di approssimativamente 2000 g/mol o
- tra 200 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 300 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare di approssimativamente 400 g/mol o di approssimativamente 2000 g/mol;

e il composto è usato per il trattamento di una qualsiasi

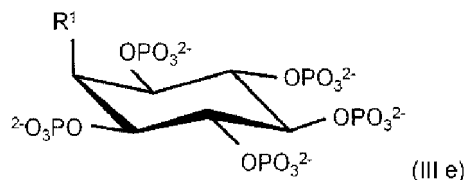
delle indicazioni elencate sopra.

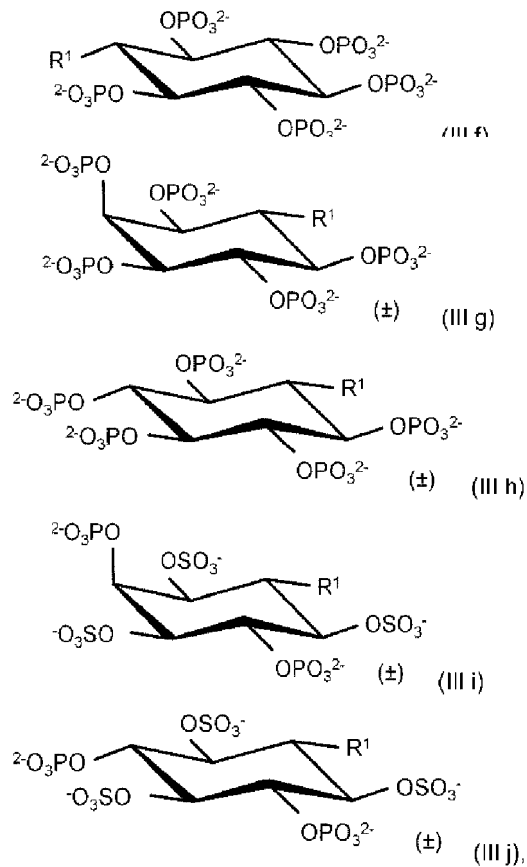
[0043] In determinate forme di realizzazione, il composto è caratterizzato da una formula generale (III a), (III b), (III c) o (III d):



in cui ciascun X (indipendentemente) e R^1 hanno il significato descritto sopra e il composto è usato per il trattamento di qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0044] In determinate forme di realizzazione, il composto è caratterizzato da una formula generale (III e), (III f), (III g), (III h), (III i) o (III j):

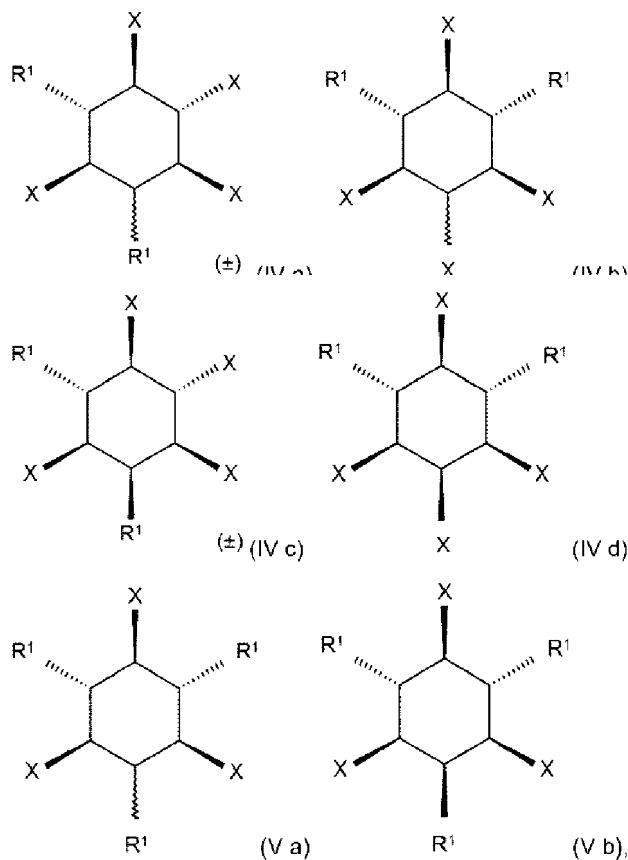




in cui R^1 ha il significato indicato sopra e il composto è usato per il trattamento di qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0045] In determinate forme di realizzazione, più di un R^1 è presente e ciascun R^1 è uguale a qualsiasi altro R^1 .

[0046] In determinate forme di realizzazione, il composto è caratterizzato da una formula generale (IV a), (IV b), (IV c), (IV d), (V a) o (V b)



in cui ciascun X (indipendentemente) e R^1 hanno il significato descritto sopra e il composto è usato per il trattamento di qualsiasi delle indicazioni elencate sopra. In determinate forme di realizzazione, uno o due o tre X sono R^1 e i rimanenti X sono

- tutti OPO_3^{2-} o
- tutti $OPSO_2^{2-}$ o
- tutti OSO_3^- .

[0047] In determinate forme di realizzazione,

- uno o due o tre X sono R^1 e i rimanenti X sono OPO_3^{2-} ; e
- R^1 è un polietilenglicole e ha una massa molare

TBE0522-SM

compresa tra 100 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 100 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare di approssimativamente 100 g/mol o di approssimativamente 2000 g/mol.

[0048] In determinate forme di realizzazione,

- uno o due o tre X sono R^1 e i rimanenti X sono $OPSO_2^{2-}$; e

- R^1 è un polietilenglicole e ha una massa molare compresa tra 100 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 100 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare di approssimativamente 100 g/mol o di approssimativamente 2000 g/mol.

[0049] In determinate forme di realizzazione, tre X sono R^1 .

[0050] In determinate forme di realizzazione, un X è R^1 e dei rimanenti X

- tre X sono OSO_3^- e due X sono $OPSO_2^{2-}$, o tre X sono OSO_3^- e due X sono OPO_3^{2-} , e

- R^1 è un polietilenglicole e ha una massa molare compresa tra 100 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 100 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare di approssimativamente 100 g/mol o di approssimativamente 2000 g/mol.

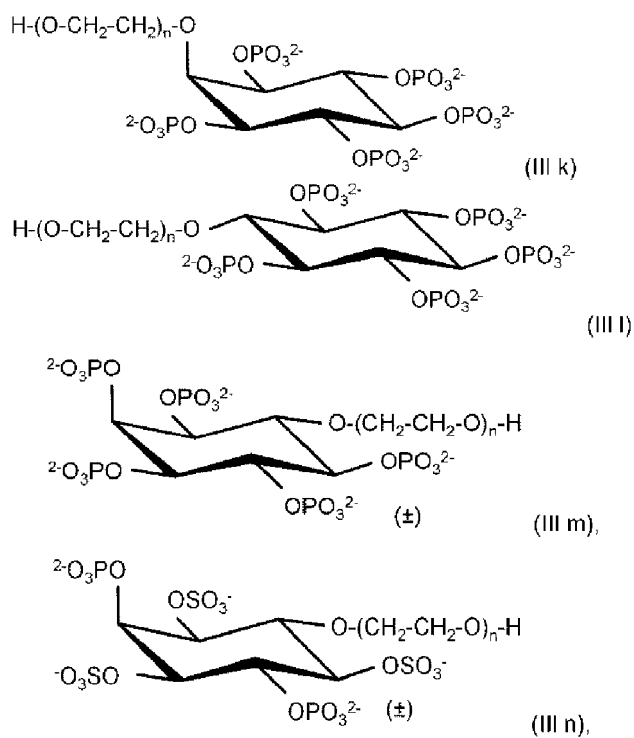
[0051] In determinate forme di realizzazione, R^1 è o comprende un polietilenglicole caratterizzato da una

TBE0522-SM



formula $R^3-(O-CH_2-CH_2)_n-$ o $R^3-(O-CH_2-CH_2)_n-O-$ e R^3 è idrogeno, metile o etile.

[0052] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto da una formula generale (III k), (III l), (III m) o (III n)



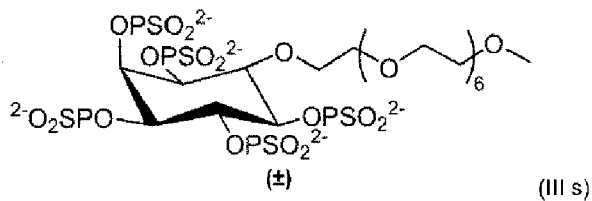
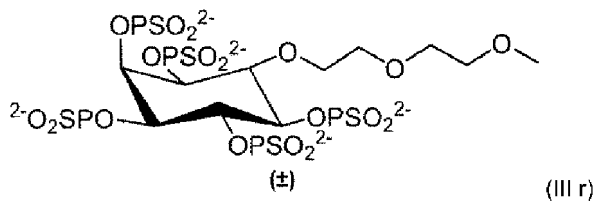
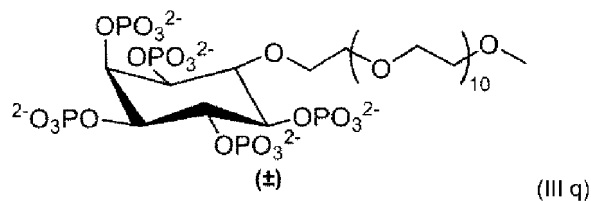
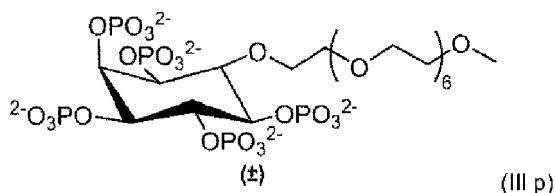
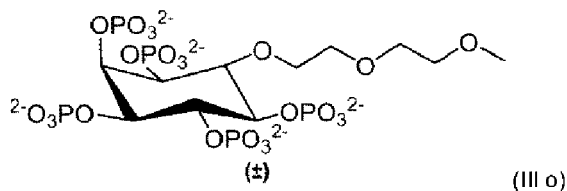
in cui n ha un valore da 2 a 200. In determinate forme di realizzazione, n è 2 o n è da 7 a 50. In determinate forme di realizzazione, n è 2, da 7 a 12 o da 40 a 50. In determinate forme di realizzazione, n è 2, 7, 9, 11 o 45. Il composto è usato per il trattamento di una qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

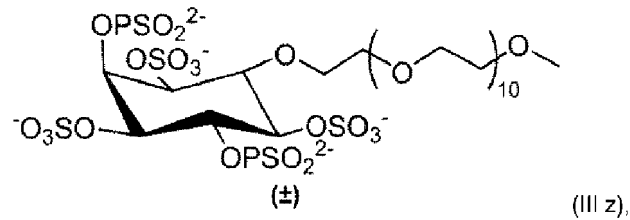
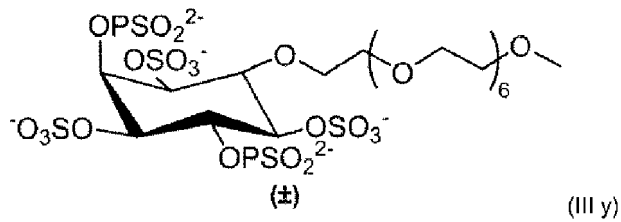
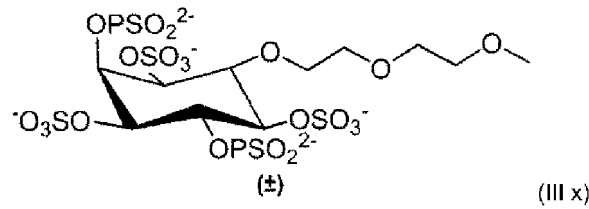
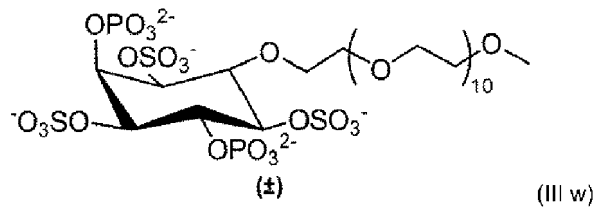
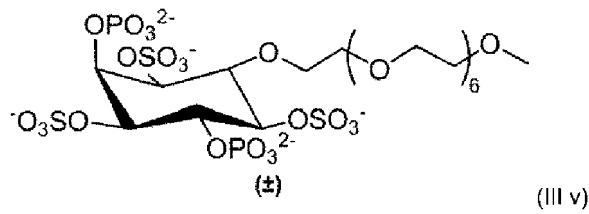
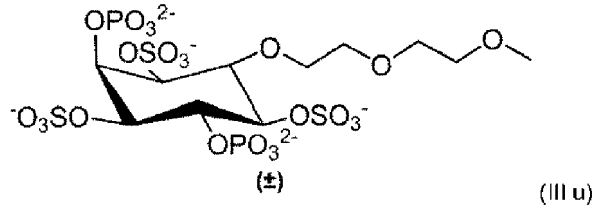
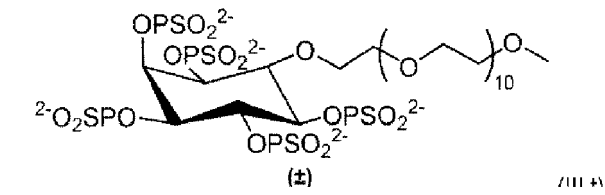
[0053] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto da una formula generale (III k), (III l),



(III m) o (III n), in cui n ha un valore da 3 a 200, particolarmente da 7 a 50, più particolarmente da 7 a 12 o da 40 a 50, ancora più particolarmente 9 o 45, e il composto è usato per il trattamento di qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0054] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto da una qualsiasi delle formule (III o), (III p), (III q), (III r), (III s), (III t), (III u), (III v), (III w), (III x), (III y) o (III z)





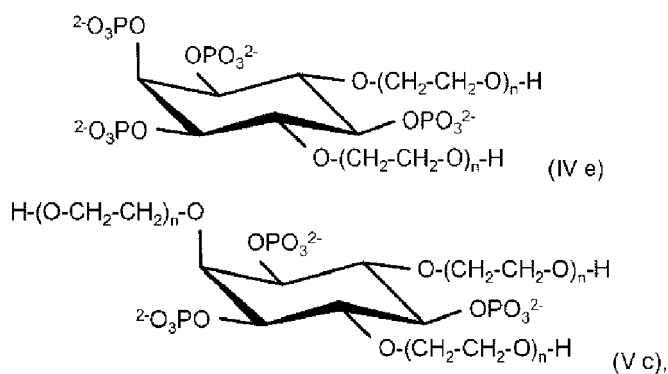
e il composto è usato per il trattamento di una qualsiasi

delle indicazioni elencate sopra.

[0055] Per quanto riguarda i sostituenti (OPO_3^{2-} , OPSO_2^{2-} , OSO_3^-) e la lunghezza delle porzioni funzionali PEG,

- formula (III m) con $n = 2$ corrisponde alla formula (III o) / composto INS-2001;
- formula (III m) con $n = 7$ corrisponde alla formula (III p) / composto INS-2031;
- formula (III m) con $n = 11$ corrisponde alla formula (III q) / composto INS-2041;
- formula (III n) con $n = 2$ corrisponde alla formula (III u) / composto INS-4001;
- formula (III n) con $n = 7$ corrisponde alla formula (III v) / composto INS-4031; e
- formula (III n) con $n = 11$ corrisponde alla formula (III w) / composto INS-4041.

[0056] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto da una formula generale (IV e) o (V c)



in cui n ha un valore da 2 a 200, particolarmente 2 o da 7 a 50, più particolarmente 2, da 7 a 12 o da 40 a 50,

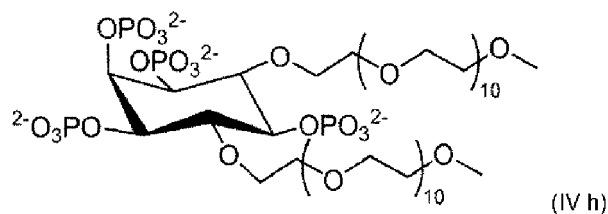
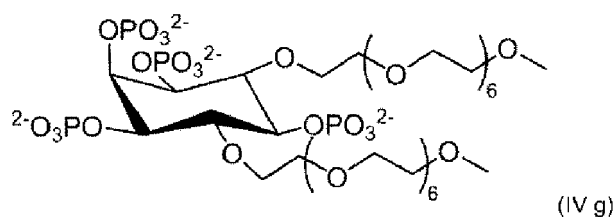
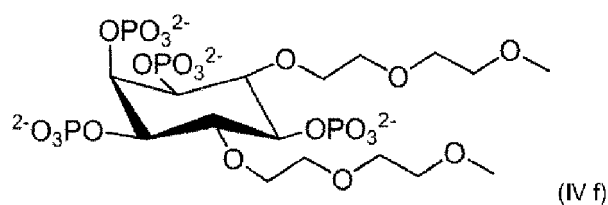


ancora più particolarmente 2, 7, 9, 11 o 45, e il composto è usato per il trattamento di qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

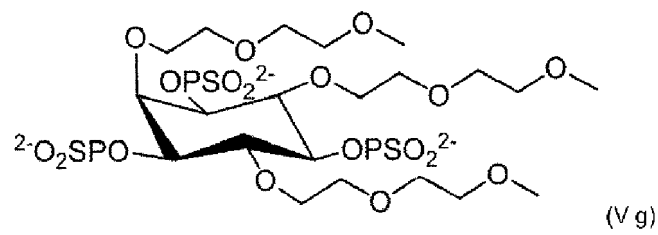
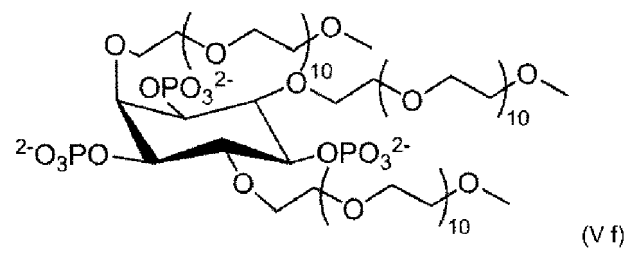
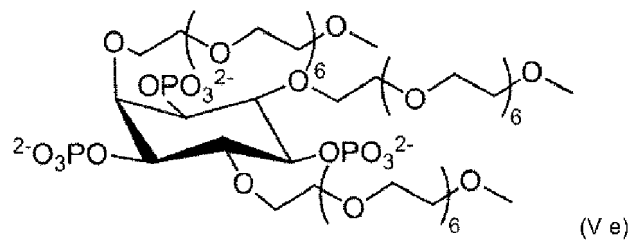
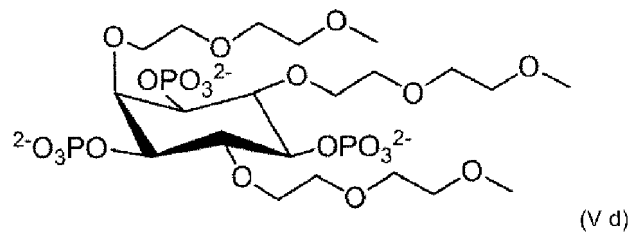
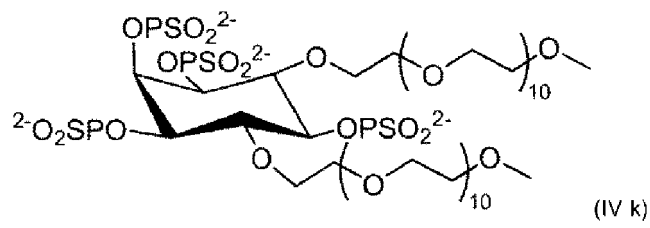
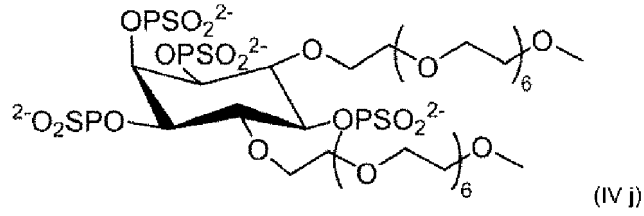
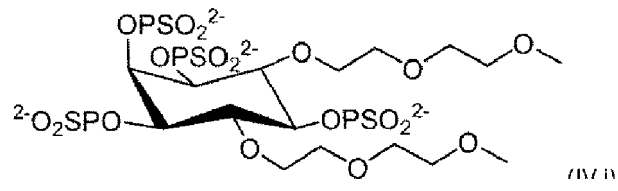
[0057] Una forma di realizzazione della presente descrizione che mostra un'attività particolarmente elevata è l'uso di 2-PEG-IP5 (*mio*-pentakis-inositolfosfato-(2)-PEG, specificato dalla formula (IV e) con porzioni funzionali PEG aventi una massa molare di approssimativamente 400 g/mol (n=9) o approssimativamente 2000 g/mol (n=45) secondo le indicazioni elencate sopra. Questa conclusione è tratta dai risultati di un saggio in vitro che misura la propensione alla calcificazione del siero umano, che è stato convalidato clinicamente come un predittore di mortalità per tutte le cause nei pazienti con CKD e nei pazienti con trapianto renale (Fig. 1). Gli inventori mostrano che, sorprendentemente, IP5-PEG è un inibitore molto più potente di IP6 nel ridurre la propensione alla calcificazione del siero umano. Il risultato è inaspettato perché si presume che la rimozione di un gruppo fosfato riduca l'affinità della molecola per il calcio, ma questo è evidentemente più che compensato dall'aggiunta della porzione funzionale PEG. Senza voler essere vincolati dalla teoria, gli inventori ipotizzano che ciò sia dovuto al fatto che la porzione funzionale PEG aumenta la solubilità dei complessi CPP e



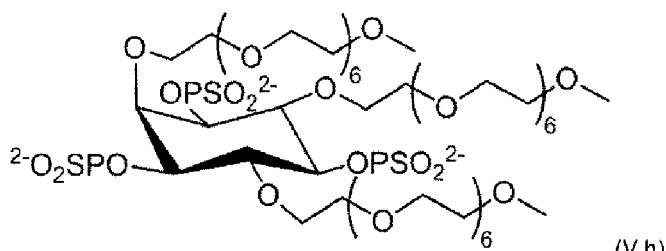
fornisce un ostacolo sterico che impedisce la trasformazione di fosfato di calcio da amorfo a cristallino e/o la crescita dei cristalli. Inoltre, l'aggiunta di una porzione funzionale PEG (o di un altro polimero) alla molecola offre la possibilità di personalizzare il suo tempo di circolazione e quindi offre programmi di dosaggio più flessibili rispetto a IP6. Questo aspetto non è stato considerato in precedenza per gli analoghi di IP6 e presenta un vantaggio competitivo rispetto a IP6 per la presente indicazione. In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto da una qualsiasi delle formule (IV f), (IV g), (IV h), (IV i), (IV j), (IV k), (V d), (V e), (V f), (V g), (V h) o (V i)



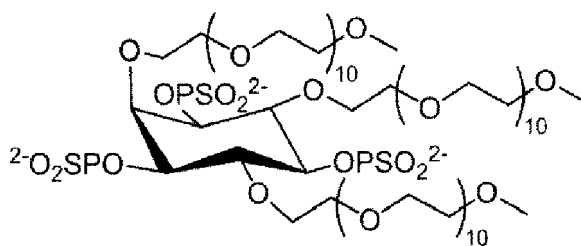
B



B



(IV h)



(V i)

[0058] Per quanto riguarda i sostituenti (OPO₃²⁻, OP(SO₂)₂²⁻, OSO₃⁻) e la lunghezza delle porzioni funzionali PEG,

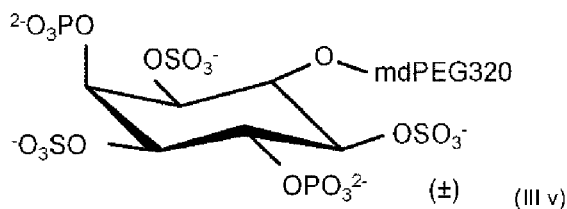
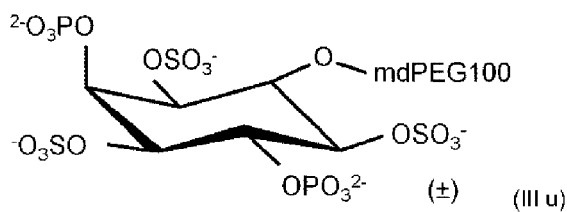
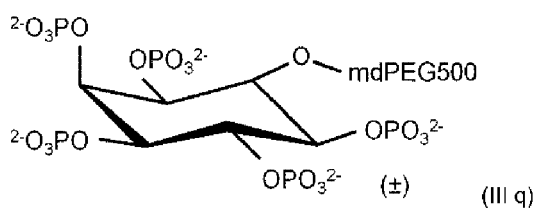
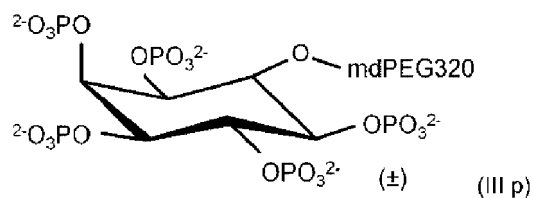
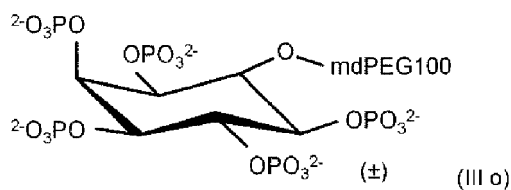
- formula (IV e) con n = 2 corrisponde alla formula (IV f) / composto INS-3001;
- formula (IV e) con n = 7 corrisponde alla formula (IV g) / composto INS-3031;
- formula (IV e) con n = 11 corrisponde alla formula (IV h) / composto INS-3041;
- formula (V c) con n = 2 corrisponde alla formula (V d) / composto INS-5001;
- formula (V c) con n = 7 corrisponde alla formula (V e) / composto INS-5031; e
- formula (V c) con n = 11 corrisponde alla formula (V f) / composto INS-5041.

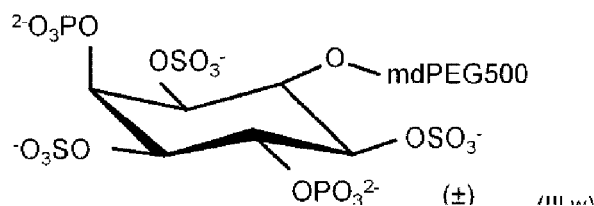
[0059] In determinate forme di realizzazione, quando una catena di polietilenglicole è mostrata come formula nella presente descrizione, la porzione funzionale PEG è un

B

polietilenglicole monodisperso. In determinate formule, a una porzione funzionale PEG monodispersa viene assegnata l'abbreviazione mdPEG.

[0060] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto da una formula generale (III o), (III p), (III q), (III u), (III v) o (III w)





[0061] In determinate forme di realizzazione,

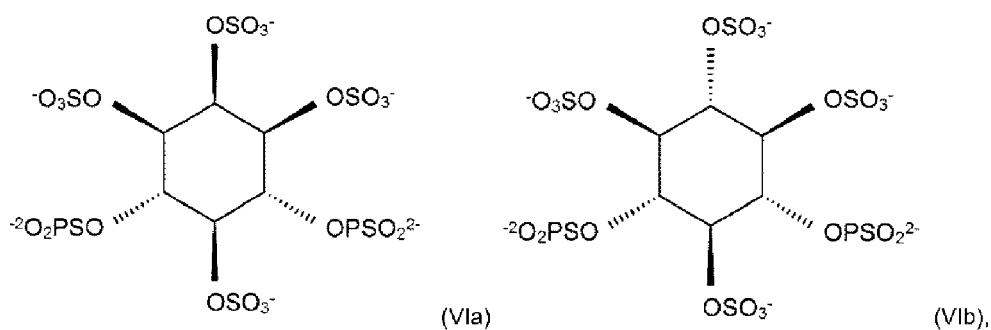
- a) $(p+q)$ è 0, due dei cinque X sono indipendentemente selezionati tra OPO_3^{2-} e $OPSO_2^{2-}$ e i rimanenti X sono OSO_3^- , o
- b) $(p+q)$ è 0, tre dei cinque X sono indipendentemente selezionati tra OPO_3^{2-} e $OPSO_2^{2-}$ e i rimanenti X sono OSO_3^- , o
- c) $(p+q)$ è 1, due dei sei X sono indipendentemente selezionati tra OPO_3^{2-} e $OPSO_2^{2-}$ e i rimanenti X sono OSO_3^- , o
- d) $(p+q)$ è 1, tre dei sei X sono indipendentemente selezionati tra OPO_3^{2-} e $OPSO_2^{2-}$ e i rimanenti X sono OSO_3^- , o
- e) $(p+q)$ è 1, quattro dei sei X sono indipendentemente selezionati tra OPO_3^{2-} e $OPSO_2^{2-}$ e i rimanenti X sono OSO_3^- , o
- f) $(p+q)$ è 2, tre dei sette X sono indipendentemente selezionati tra OPO_3^{2-} e $OPSO_2^{2-}$ e i rimanenti X sono OSO_3^- , o
- g) $(p+q)$ è 2, quattro dei sette X sono indipendentemente selezionati tra OPO_3^{2-} e $OPSO_2^{2-}$ e i rimanenti X sono OSO_3^- , o

B

h) $(p+q)$ è 2, cinque dei sette X sono indipendentemente selezionati tra OPO_3^{2-} e OPSO_2^{2-} e i rimanenti X sono OSO_3^- ;

e il composto è usato per il trattamento di una qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0062] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto dalla formula

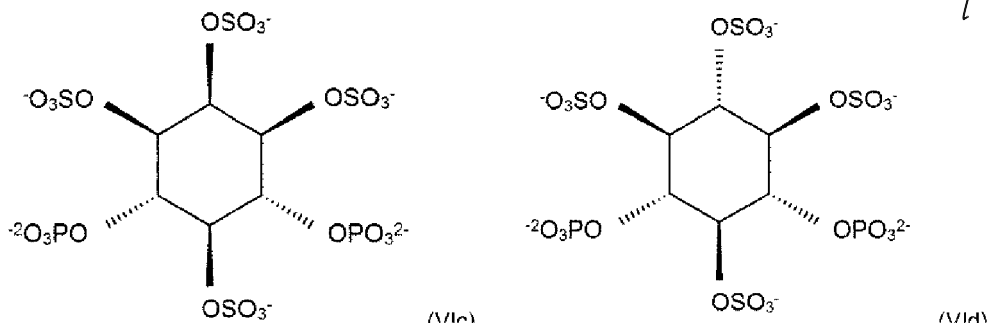


ed è usato per il trattamento di una qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0063] La Fig. 1 dimostra che questo composto (4,6-di-(O-tiofosfato)-inositolo-1,2,3,5-tetra-O-solfato, IT2S4) è più attivo dell'IP6 nell'inibire la transizione delle CPP da primarie a secondarie e quindi può ridurre la propensione alla calcificazione del siero umano.

[0064] In determinate forme di realizzazione, il composto è descritto dalla formula

TBE0522-SM



ed è usato per il trattamento di una qualsiasi delle indicazioni elencate sopra.

[0065] La Fig. 1 dimostra che questo composto (4,6-di-(O-fosfato)-inositolo-1,2,3,5-tetra-O-solfato, IP2S4) è più attivo dell'IP6 nell'inibire la transizione delle CPP da primarie a secondarie e quindi può ridurre la propensione alla calcificazione del siero umano.

[0066] Secondo un secondo aspetto della presente descrizione una forma farmaceutica comprendente il composto come specificato da qualsiasi delle formule di cui sopra è fornita per l'uso nella terapia o nella prevenzione delle condizioni correlate alla cristallizzazione patologica del calcio.

[0067] La forma farmaceutica può essere formulata per la somministrazione parenterale, come la somministrazione endovenosa, intraperitoneale, intramuscolare, intra-arteriosa o sottocutanea. Opzionalmente, può essere presente un vettore e/o un eccipiente farmaceuticamente accettabile.

[0068] Secondo un terzo aspetto della presente

descrizione una soluzione di dialisi per l'uso in emodialisi, emofiltrazione o dialisi peritoneale comprendente il composto come specificato negli aspetti di cui sopra della presente descrizione è fornita per l'uso nella terapia o nella prevenzione delle condizioni correlate alla cristallizzazione patologica del calcio.

[0069] Secondo un altro aspetto della presente descrizione un metodo di trattamento o prevenzione di qualsiasi delle condizioni correlate alla cristallizzazione patologica del calcio elencate sopra è fornito, comprendendo la somministrazione del composto come specificato da qualsiasi delle formule di cui sopra a un soggetto che ne ha bisogno. Il composto può essere somministrato per via endovenosa, intraperitoneale, intramuscolare, intra-arteriosa o sottocutanea. In alternativa, il composto può essere somministrato come componente di una soluzione per emodialisi o dialisi peritoneale.

Rivendicazioni dei composti

[0070] Secondo un altro aspetto della presente descrizione viene fornito un composto secondo la formula generale (II), in cui

- due o tre X sono R^1 e i rimanenti X indipendentemente da altri X sono selezionati tra OPO_3^{2-} , $OPSO_2^{2-}$, e OSO_3^- ; e

- R^1 è un polietilenglicole o un poliglicerolo.

[0071] In determinate forme di realizzazione di questo aspetto della presente descrizione due o tre X sono R^1 e i rimanenti X sono

- tutti OPO32- o
- tutti OPSO22- o
- tutti OSO3-.

[0072] In determinate forme di realizzazione di questo aspetto della presente descrizione R^1 è un polietilenglicole e ha una massa molare compresa tra 100 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 100 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare da approssimativamente 100 g/mol a 2000 g/mol.

[0073] Un altro aspetto della presente descrizione si riferisce a un composto descritto da una qualsiasi delle formule (IV a), (IV b), (IV c), (IV d), (V a) o (V b), in cui ogni X (indipendentemente) e R^1 hanno il significato indicato sopra. In determinate forme di realizzazione di questo aspetto della presente descrizione n (come parte della definizione di R^1) ha un valore da 2 a 200. In determinate forme di realizzazione di questo aspetto dell'invenzione n è 2 o n è da 7 a 50. In determinate forme di realizzazione di questo aspetto della presente descrizione, n è 2, da 7 a 12 o da 40 a 50. In determinate forme di realizzazione di questo aspetto



della presente descrizione, n è 2, 7, 9, 11 o 45.

[0074] In determinate forme di realizzazione, il composto della presente descrizione è descritto da una qualsiasi delle formule (IV e) o (V c), e n ha un valore da 2 a 200. In determinate forme di realizzazione di questo aspetto della presente descrizione n è 2 o n è da 7 a 50. In determinate forme di realizzazione di questo aspetto della presente descrizione, n è 2, da 7 a 12 o da 40 a 50. In determinate forme di realizzazione di questo aspetto dell'invenzione, n è 2, 7, 9, 11 o 45.

[0075] In determinate forme di realizzazione di questo aspetto della presente descrizione tutti gli X tranne due o tre X che sono R^1 sono fosfato.

[0076] In determinate forme di realizzazione di questo aspetto della presente descrizione, R^1 è un polietilenglicole.

[0077] In determinate forme di realizzazione di questo aspetto della presente descrizione R^1 ha una massa molare compresa tra 100 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 100 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare da approssimativamente 100 g/mol a 2000 g/mol.

[0078] In determinate forme di realizzazione di questo aspetto della presente descrizione R^1 ha una massa molare compresa tra 200 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 300 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare da



approssimativamente 400 g/mol a 2000 g/mol.

[0079] Un altro aspetto della presente descrizione si riferisce a un composto descritto da una qualsiasi delle formule (IV f), (IV g), (IV h), (IV i), (IV j), (IV k), (V d), (V e), (V f), (V g), (V h) o (V i).

[0080] Qualsiasi nuovo composto o gruppo di composti descritto nel presente documento è fornito di per sé. Può essere usato vantaggiosamente come medicinale nel trattamento della cristallizzazione patologica e degli usi medici specifici forniti nel presente documento.

[0081] Il composto, la forma farmaceutica o la composizione secondo una delle rivendicazioni precedenti per l'uso in una condizione correlata alla cristallizzazione patologica del calcio, in cui detta condizione è selezionata da calcificazione vascolare, coronaropatia, irrigidimento vascolare, calcificazione valvolare, nefrocalcinosi, calcinosi cutis, calcoli renali, condrocalcinosi, osteoporosi, infarto del miocardio, mortalità cardiovascolare, progressione della malattia renale cronica, fallimento degli innesti di trapianto renale e arteriopatia periferica, ischemia critica degli arti, calcifilassi, calcificazione arteriosa generale di infanzia e stenosi aortica, aterosclerosi, pseudogotta, iperossaluria primaria e pseudoxantoma elastico.



[0082] I composti divulgati nel presente documento possono essere presenti in qualsiasi forma comunemente usata nella tecnologia farmaceutica. Forme di realizzazione particolari includono, ma non in via limitativa, sale di sodio, sale di magnesio, sale di potassio, sale di ammonio, acido libero, o una miscela delle forme precedenti. Altri sali farmaceuticamente accettabili sono noti al tecnico del ramo e possono essere ottenuti, tra l'altro, da Haynes et al., J. Pharmaceutical Sci. 94, 2005 2111-2120, DOI 10.1002/jps.20441

Termini e definizioni

[0083] Nel contesto della presente descrizione, un polietilenglicole monodisperso (mdPEG) è un PEG che ha una singola lunghezza della catena definita e peso molecolare. Gli mdPEG sono tipicamente generati dalla separazione dalla miscela di polimerizzazione mediante cromatografia.

[0084] Laddove le alternative per le singole caratteristiche separabili sono espone nel presente documento come "forme di realizzazione", è da intendersi che tali alternative possono essere combinate liberamente per formare forme di realizzazione discrete dell'invenzione divulgata nel presente documento.

[0085] L'invenzione è ulteriormente illustrata dagli



esempi e dalle figure seguenti, da cui si possono trarre ulteriori forme di realizzazione e vantaggi. Questi esempi hanno lo scopo di illustrare l'invenzione ma non di limitarne la portata.

Breve descrizione delle Figure

[0086]

La Fig. 1 mostra il tempo di maturazione delle particelle di calciproteina (CPP) nel siero umano secondo il test descritto in Pasch et al. JASN 2012. L'asse y indica il tempo di transizione semimassimale (T_{50}) in minuti da CPP primarie a CPP secondarie. IP6: esakisfosfato di mio-inositolo (Biosynth); IS6: esakissolfato di mio-inositolo (Sigma); IP2S4: 4,6-di-(O-fosfato)-mio-inositolo 1,2,3,5-tetra-O-solfato; IT2S4: 4,6-di-(O-tiofosfato)-mio-inositolo 1,2,3,5-tetra-O-solfato; IP5-PEG: 2-PEG(2000)-mio-inositolo pentakisfosfato.

La Fig. 2 mostra il risultato di una determinazione del tempo di maturazione delle particelle di calciproteina (CPP) nel siero umano secondo un test simile a quello della Fig. 1 (con i composti di test aggiunti per ultimi alla miscela di reazione).

Esempi

[0087]

Tabella 1. Composti: i composti delle formule IVf, IVg, IVh, Vd, Ve e Vf fanno parte della presente invenzione.

TBE0522-SM



Gli altri composti non fanno parte della presente invenzione.

Composto	Formula	N. di code PEG	M _w di PEG (monodisperso)	M _w del composto	Sostituenti diversi da PEG
INS-2001	III o	1	100	672,11	5 x OPO ₃ ²⁻
INS-2031	III p	1	320	892,37	5 x OPO ₃ ²⁻
INS-2041	III q	1	500	1068,59	5 x OPO ₃ ²⁻
INS-2042		1	550 (polidisp.)	1112,64	5 x OPO ₃ ²⁻
INS-2101	III r	1	100	752,41	5 x OPSO ₂ ²⁻
INS-2131	III s	1	320	972,68	5 x OPSO ₂ ²⁻
INS-2141	III t	1	500	1148,89	5 x OPSO ₂ ²⁻
INS-4001	III u	1	100	675,37	2 x OPO ₃ ²⁻ 3 x OSO ³⁻
INS-4031	III v	1	320	895,63	2 x OPO ₃ ²⁻ 3 x OSO ³⁻
INS-4041	III w	1	500	1071,84	2 x OPO ₃ ²⁻ 3 x OSO ³⁻
INS-4101	III x	1	100	707,49	2 x OPSO ₂ ²⁻ 3 x OSO ³
INS-4131	III y	1	320	927,75	2 x OPSO ₂ ²⁻ 3 x OSO ³

TBE0522-SM

INS-4141	III z	1	500	1103,96	2 x OPSO_2^{2-} , 3 x OSO^3
INS-3001	IV f	2	100	696,28	4 x OPO_3^{2-}
INS-3031	IV g	2	320	1136,81	4 x OPO_3^{2-}
INS-3041	IV h	2	500	1489,23	4 x OPO_3^{2-}
INS-3101	IV i	2	100	760,52	4 x OPSO_2^{2-}
INS-3131	IV j	2	320	1201,05	4 x OPSO_2^{2-}
INS-3141	IV k	2	500	1553,48	4 x OPSO_2^{2-}
INS-5001	V d	3	100	720,45	3 x OPO_3^{2-}
INS-5031	V e	3	320	1381,24	3 x OPO_3^{2-}
INS-5041	V f	3	500	1909,88	3 x OPO_3^{2-}
INS-5101	V g	3	100	768,63	3 x OPSO_2^{2-}
INS-5131	V h	3	320	1429,42	3 x OPSO_2^{2-}
INS-5141	V i	3	500	1958,06	3 x OPSO_2^{2-}

Saggio di calcificazione

[0088] Gli inventori hanno eseguito un saggio in vitro che misura la propensione alla calcificazione del siero umano ed è stato convalidato clinicamente come un predittore di mortalità per tutte le cause nei pazienti con CKD e nei destinatari di trapianto renale (come descritto in Pasch, Journal of the American Society of Nephrology 23, 1744-1752, 2012). L'esperimento è stato effettuato mescolando una soluzione di calcio, siero umano raggruppato, il composto di test alla concentrazione finale indicata e una soluzione di



fosfato, e il tempo di transizione da CPP primarie a secondarie è stato misurato a 37 °C usando un nefelometro per un massimo di 600 minuti.

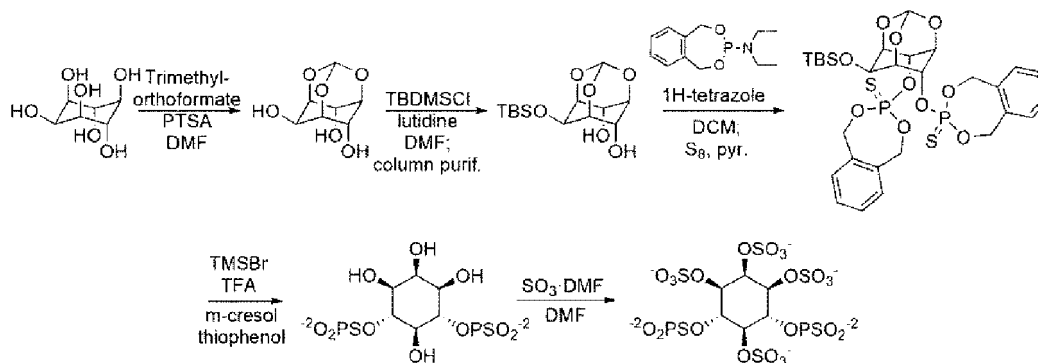
[0089] I dati della Fig. 1 mostrano che i composti IP2S4 e IT2S4 sono più attivi di IP6. Inoltre, il composto 2-PEG-IP5 è molto più attivo di qualsiasi altro composto in questo saggio. Questo risultato suggerisce un ruolo chiave della porzione funzionale polimerica nel prevenire la transizione da CPP primarie a secondarie e nel ridurre la propensione alla calcificazione del siero umano.

[0090] I dati della Fig. 2 mostrano che i composti INS-2031 (III p), INS-3001 (IV f) e INS-3031 (IV g) sono più attivi di IP6. I composti aventi due porzioni funzionali PEG (INS-3001, INS-3031) sono più attivi dei composti aventi una porzione funzionale PEG (INS-2031). Questo risultato suggerisce un ruolo chiave della porzione funzionale polimerica nel prevenire la transizione da CPP primarie a secondarie e nel ridurre la propensione alla calcificazione del siero umano.

Sintesi di IT2S4 (VI a)

[0091] La sintesi ha seguito la sequenza illustrata nello schema seguente:

TBE0522-SM



PTSA: *p*-toluenesulfonic acid; DMF: dimethylformamide; TBDMSCl: tert-butyldimethylsilyl chloride; TBSO: tert-butyldimethylsilyl ether protection group; DCM: dichloromethane; S8: elemental sulphur; pyr.: pyridine; TMSBr: trimethylsilyl bromide; TFA: trifluoroacetic acid

"Trimethyl-orthoformate" = Trimetil-ortoformiato

"lutidine" = lutidina

"column purif." = purif. su colonna

"1H-tetrazole" = 1H-tetrazolo

"pyr." = pir.

"m-cresol thiophenol" = m-cresolo tiofenolo

"PTSA: *p*-toluenesulfonic acid; DMF: dimethylformamide; TBDMSCl: tert-butyldimethylsilyl chloride; TBSO: tert-butyldimethylsilyl ether protection group; DCM: dichloromethane; S8: elemental sulphur; pyr.: pyridine; TMSBr: trimethylsilyl bromide; TFA: trifluoroacetic acid" = PTSA: acido *p*-toluensolfonico; DMF: dimetilformammide; TBDMSCl: terz-butildimetilsilil cloruro; TBSO: gruppo di protezione di terz-butildimetilsilil etere; DCM: diclorometano; S8: zolfo elementare; pyr.: piridina; TMSBr: trimetilsilil bromuro; TFA: acido trifluoroacetico

Fosforilazione

[0092] Il noto 2-terzbutidimetilsilil inositolo



ortoformiato è stato fatto co-evaporare 3x con toluene e disciolto in diclorometano (DCM). 1H-tetrazolo (4 eq.) seguito da fosforamidite (8 eq.) sono stati aggiunti alla reazione e mescolati per tutta la notte. Piridina, seguita da fiocchi di zolfo schiacciati (20 eq.) sono stati aggiunti alla reazione e mescolati per tutta la notte. La miscela grezza risultante è stata diluita con DCM e lavata con NaHCO₃ saturo, essiccata con Na₂SO₄, filtrata e concentrata. Il prodotto è stato purificato mediante cromatografia flash con DCM in toluene.

¹H-NMR (400 MHz; CDCl₃): δ 7,35-7,29 (m, 4H), 7,15 (dd, *J* = 6,6, 2,1 Hz, 2H), 7,07-7,04 (m, 2H), 5,54 (d, *J* = 1,1 Hz, 1H), 5,45-5,41 (m, 2H), 5,30-4,97 (m, 8H), 4,51-4,49 (m, 1H), 4,33-4,32 (m, 2H), 4,27 (d, *J* = 1,3 Hz, 1H), 0,93 (s, 9H), 0,13 (s, 6H);

³¹P-NMR (162 MHz; CDCl₃): δ 70,1;

Deprotezione

[0093] Le seguenti condizioni di deprotezione sono in analogia alla sintesi pubblicata nel Journal of the American Chemical Society (JACS 2005, 127, 5288).

[0094] Il materiale di partenza (50 mg) è stato trattato con tiofenolo (300 µl), m-cresolo (300 µl), acido trifluoroacetico (1,8 ml). Il bromuro di trimetilsilile (TMSBr) è stato poi aggiunto lentamente (360 µl). La miscela è stata agitata 2 ore a temperatura ambiente. E



poi fatta evaporare due volte dal toluene. Il residuo grezzo è stato diluito con DCM e circa 5 ml di acqua e neutralizzato con 1 N NaOH. Lo strato acquoso (leggermente torbido) è stato versato direttamente sulla cartuccia SolEx C18 (Thermofisher, 1 g, 6 ml) ed eluito con acqua. In alcuni casi, alcune impurità aromatiche sono state trovate nel prodotto finale, ma sarebbero precipitate nel tempo in acqua e potevano essere filtrate.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz; D_2O): δ 4,36 (q, $J = 9,6$ Hz, 2H), 4,02 (t, $J = 2,7$ Hz, 1H), 3,64 (dd, $J = 9,7, 2,8$ Hz, 2H), 3,50 (t, $J = 9,3$ Hz, 1H).

$^{31}\text{P-NMR}$ (203 MHz; D_2O): δ 45,7

Solfatazione

[0095] La reazione di solfatazione del tiofosfato deve essere eseguita con attenzione perché il tiofosfato viene alla fine convertito in fosfato nelle condizioni di reazione. Abbiamo quindi monitorato la solfatazione con attenzione e abbiamo visto che la reazione era completa dopo circa 30 minuti e che nessuna decomposizione poteva essere osservata in questo tempo. Quindi, il complesso di solfurtriossido dimetilformammide ($\text{SO}_3\text{-DMF}$) (12 eq.) è stato aggiunto a una sospensione di fosfato di inositolo in DMF e la reazione è stata agitata 35 minuti. La reazione è stata sottoposta a quenching aggiungendo 1 N

TBE0522-SM

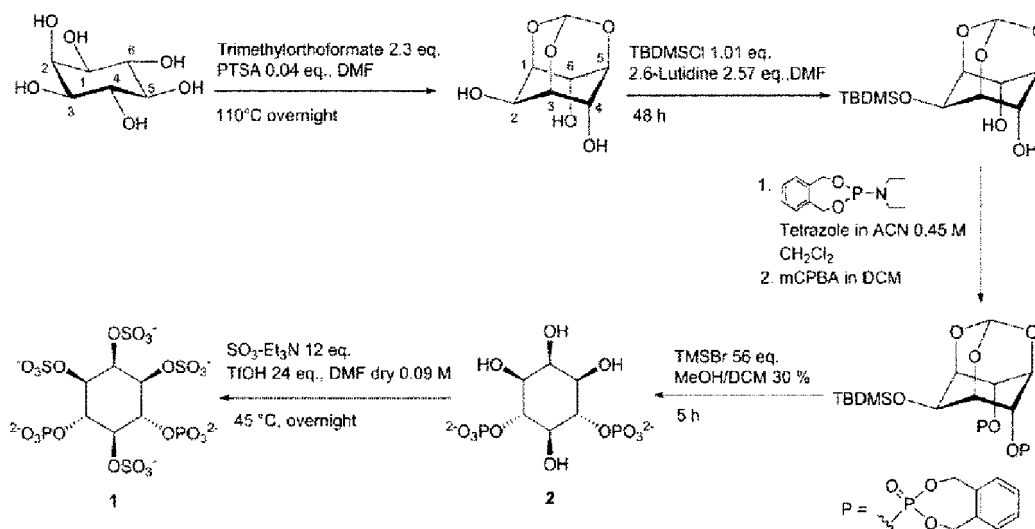
NaOH, fino a circa pH 8 seguita da circa 3 ml di metanolo (MeOH) per precipitare i sali. Il solido è stato purificato mediante colonna Sephadex LH-20, eluendo con acqua.

$^1\text{H-NMR}$ (500 MHz; D_2O): δ 5,06 (s, 1H), 5,04-4,98 (m, 4H), 4,79-4,76 (m, 1H).

$^{31}\text{P-NMR}$ (203 MHz; D_2O): δ 44,5

Sintesi di IP2S4 (VI c)

[0096] La sintesi ha seguito la sequenza illustrata nello schema seguente:



PTSA: *p*-toluenesulfonic acid; DMF: dimethylformamide; TBDMSCl: tert-butyldimethylsilyl chloride; TBDMSO: tert-butyldimethylsilyl ether protection group; DCM: dichloromethane; ACN: acetonitrile; mCPBA: *meta*-chloroperoxybenzoic acid; TMSBr: trimethylsilyl bromide; $\text{SO}_3\text{-Et}_3\text{N}$: sulfur trioxide triethylamine; TfOH: trifluoromethanesulfonic acid

"Trimethylorthoformate 2.3 eq." = Trimetilortoformiato 2,3 eq.

"PTSA 0.04 eq." = PTSA 0,04 eq.

"110°C overnight" = 110 °C per tutta la notte

"TBDMSCI 1.01 eq." = TBDMSCI 1,01 eq.

TBE0522-SM



"2,6-Lutidine 2.57 eq." = 2,6-Lutidina 2,57 eq.

"Tetrazole in CAN 0.45 M" = Tetrazolo in CAN 0,45 M

"TfOH 24 eq." = TfOH 24 eq.

"DMF dry 0.09 M" = DMF secco 0,09 M

"overnight" = per tutta la notte

"TMSBr 56 eq." = TMSBr 56 eq.

"PTSA: p-toluenesulfonic acid; DMF: dimethylformamide; TBDMSCI: tert-butyldimethylsilyl chloride; TBDMSO: tert-butyldimethylsilyl ether protection group; DCM: dichloromethane; ACN: acetonitrile; mCPBA: meta-chloroperoxybenzoic acid; TMSBr: trimethylsilyl bromide; SO₃-Et₃N: sulfur trioxide triethylamine; TfOH: trifluoromethanesulfonic acid" = PTSA: acido p-toluensolfonico; DMF: dimetilformammide; TBDMSCI: terz-bulildimetilsilil cloruro; TBDMSO: gruppo di protezione di terz-butildimetilsilil etere; DCM: diclorometano; ACN: acetonitrile; mCPBA: acido meta-cloroperossibenzoico; TMSBr: trimetilsilil bromuro; SO₃-Et₃N: trietilammina di triossido di zolfo; TfOH: acido trifluorometansolfonico

Idrolisi

4,6-Di-O-fosfato-mio-inositolo (2)

[0097] 2-O-Terz-butildimetilsilil-1,3,5-ortoformiato-4,6-(O-dixililenfosfo)-mio-inositolo (1,00 g, 1,5 mmol, 1 eq.) in metanolo/diclorometano (MeOH/DCM) 30% (30 ml, 0,05 M) è stato trattato con bromuro di trimetilsilile (TMSBr) (11 ml, 83,8 mmol, 56 eq.) e agitato per 5 ore.

B

La miscela di reazione è stata degassata con N_2 e HBr è stato neutralizzato con una soluzione di NaOH 1 M. Dopo 1-2 ore è stato concentrato fino a essiccazione. Il grezzo è stato lavato due volte con acetone e due volte con acetonitrile (ACN) per dare 2 come un solido bianco (539 mg, resa quantitativa).

1H -NMR (400 MHz, MeOD): δ (ppm) = 4,40 (q, $3J_{HH} = 9,1$ Hz, $2J_{HP} = 9,1$ Hz, 2 H, H-C4/6), 4,01 (t, $J = 2,6$ Hz, 1 H, H-C2), 3,63 (dd, $J = 9,68, 2,76$ Hz, 2 H, H-C1/3), 3,61 (t, $J = 9,27$ Hz, 1 H, H-C5);

^{31}P -NMR (160 MHz, 1H- disaccoppiato, MeOD): δ (ppm) = 1,15 (P-C4/6); ^{13}C NMR (150 MHz, MeOD): δ (ppm) = 81,28 (d, $2J_{CP} = 6,1$ Hz, 2 C, C4/6), 74,12 (t, $3J_{CP} = 3,8$ Hz, 1 C, C5), 73,75 (s, 1 C, C2), 72,13 (d, $3J_{CP} = 3,2$ Hz, 2 C, C1/3); [m/z (ESI) (M+H)⁺ C₆H₁₅O₁₂P₂ necessario 341,0033, trovato 341,0037].

Solfatazione

1,2,3,5-Tetra-O-solfonil-4,6-(di-O-fosfato)-*mio*-inositolo (1)

[0098] 4,6-di-O-fosfato-*mio*-inositolo (30 mg, 90 μ mol, 1 eq.) è stato fatto co-evaporare con toluene (3x) ed essiccato sotto alto vuoto per 1 ora. È stata aggiunta dimetilformammide secca (DMF) (1 ml, 0,09 M) e la miscela di reazione è stata trattata con SO_3-Et_3N (197 mg, 109 μ mol, 12 eq.) e TfOH (190 μ l, 215 μ mol, 24 eq.). È stata

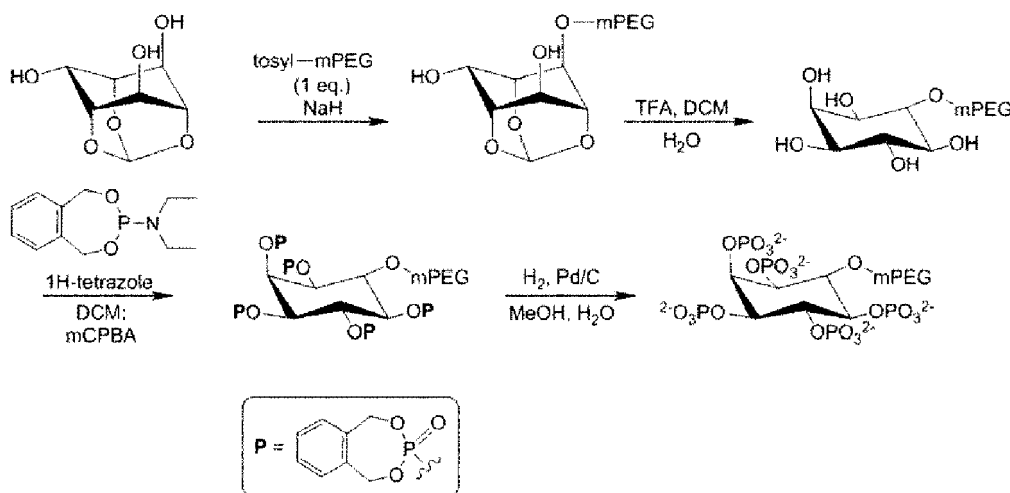
TBE0522-SM

riscaldata a 45 °C e agitata per tutta la notte. La miscela di reazione è stata neutralizzata con l'aggiunta di Et₃N (0,15 ml, 12 eq.). Subito dopo la neutralizzazione la miscela è stata diluita in acqua nanopura (2 ml) e caricata su una colonna sephadex G10. 14 frazioni di 3-4 ml sono state raccolte e messe nel liofilizzatore per tutta la notte. Le frazioni 3-7 sono state combinate per dare 1 come solido bianco (46,31 μmol, 51%).

¹H-NMR (400 MHz, D₂O): δ (ppm) = 5,40 (br, 1 H, H-C2), 4,64 - 4,44 (m, 5 H, H-C1/3, H-C5, H-C4/6), 3,70 (s, 8 H, diossano standard interno), 3,15 (q, J = 7,3 Hz, 6 H, CH₂-Et₃N), 1,23 (t, J = 7,3 Hz, 9 H, CH₃-Et₃N).

Sintesi di PEG-IP5 (III o, III p, III q)

[0099] La sintesi ha seguito la sequenza illustrata nello schema seguente:



DCM: dichloromethane; DMF: dimethylformamide; SBTO: tert-butyldimethylsilyl ether protection group; TFA: trifluoroacetic acid; mCPBA: meta-chloroperoxybenzoic acid

TBE0522-SM

"tosyl-mPEG (1 eq.)" = tosil-mPEG (1 eq.)

"1H-tetrazole" = 1H-tetrazolo

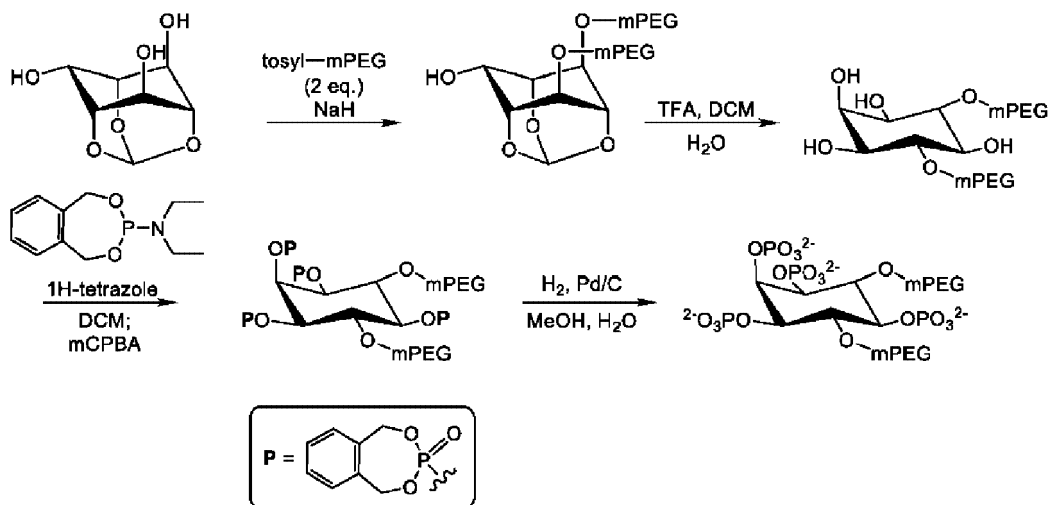
"DCM: dichloromethane; DMF: dimethylformamide; SBTO: tert-butyltrimethylsilyl ether protection group; TFA: trifluoroacetic acid; mCPBA: meta-chloroperoxybenzoic acid" = DCM: diclorometano; DMF: dimetilformammide; SBTO: gruppo di protezione di terz-butildimetilsilil etere; TFA: acido trifluoroacetico; mCPBA: acido meta-cloroperossibenzoico

[0100] L'ortoformiato di inositolo è stato fatto reagire con 1 eq. di PEG tosilato per ottenere l'ortoformiato di inositolo 4- o 6-PEG singolarmente PEG-ilato. Il gruppo di protezione ortoformiato è stato rimosso usando acido trifluoroacetico e diclorometano. Il composto è stato fatto reagire con fosforamidite, 1H-tetrazolo, diclorometano e acido meta-cloroperossibenzoico. Il composto risultante è stato fatto reagire con H₂, MeOH e PdO a 4-PEG-IP5 o 6-PEG-IP5, rispettivamente.

Sintesi di 4,6-PEG-IP4 (IV f, IV g, IV h)

[0101] La sintesi ha seguito la sequenza illustrata nello schema seguente:

TBE0522-SM



DCM: dichloromethane; DMF: dimethylformamide; SBTO: tert-butyldimethylsilyl ether protection group; TFA: trifluoroacetic acid; mCPBA: meta-chloroperoxybenzoic acid

"tosyl-mPEG (2 eq.)" = tosil-mPEG (2 eq.)

"1H-tetrazole" = 1H-tetrazolo

"DCM: dichloromethane; DMF: dimethylformamide; SBTO: tert-butyldimethylsilyl ether protection group; TFA: trifluoroacetic acid; mCPBA: meta-chloroperoxybenzoic acid" = DCM: diclorometano; DMF: dimetilformammide; SBTO: gruppo di protezione di terz-butildimetilsilil etere; TFA: acido trifluoroacetico; mCPBA: acido meta-cloroperossibenzoico

[0102] L'ortoformiato di inositolo è stato fatto reagire con PEG tosilato per ottenere ortoformiato di inositolo 4,6-PEG doppiamente PEG-ilato. Il gruppo di protezione ortoformiato è stato rimosso usando acido trifluoroacetico e diclorometano. Il composto è stato fatto reagire con fosforamidite, 1H-tetrazolo, diclorometano e acido meta-cloroperossibenzoico. Il composto risultante è stato fatto reagire con H₂, MeOH e



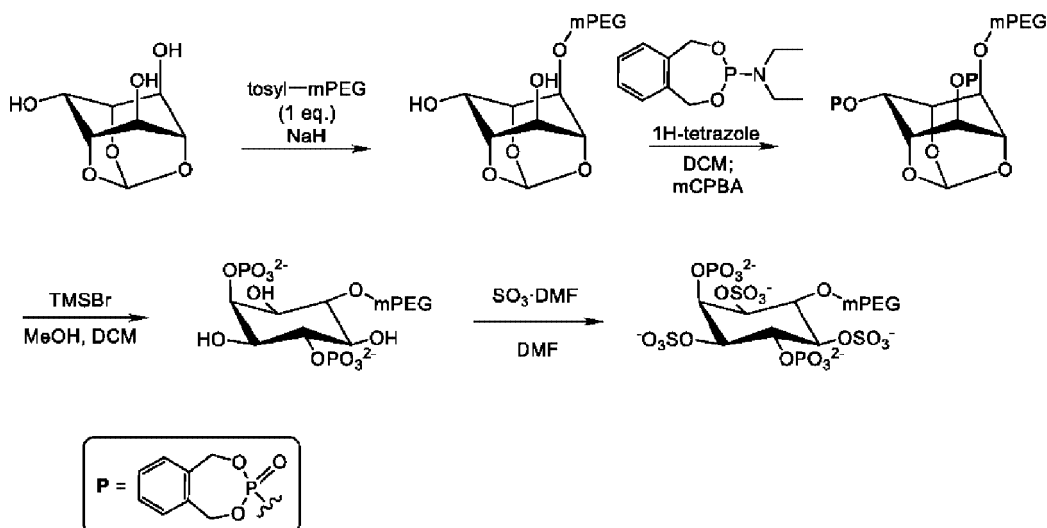
PdO a 4,6-PEG-IP4

Sintesi di 4-PEG-IP2S3 (III u, III v, III w)

[0103] La sintesi ha seguito la sequenza illustrata nello schema seguente:

[0104] Il noto ortoformiato di mio-inositolo può essere mono alchilato con un PEG tosilato commerciale in presenza di una base forte come l'idruro di sodio in DMF. La miscela di reazione è poi sottoposta a quenching con acqua ed estratta con diclorometano. Lo strato organico è essiccato e concentrato a pressione ridotta. Il prodotto può essere purificato mediante cromatografia su gel di silice. La fosforilazione dei gruppi idrossile liberi è fatta in condizioni standard usando un reagente di fosforamidite seguito dall'ossidazione con acido metacloroperbenzoico. Il prodotto può essere purificato mediante cromatografia normale o a fase inversa. I gruppi ortoestere e fosfato sono poi deprotetti contemporaneamente usando un eccesso di bromotrimetilsilano in una miscela di metanolo e diclorometano. Il prodotto può essere purificato mediante precipitazione o cromatografia a fase inversa. La solfatazione del gruppo idrossile libero viene eseguita sospendendo il prodotto in DMF secco e reagendo con un eccesso di complesso di triossido di zolfo-DMF. La reazione è poi sottoposta a quenching con acqua

neutralizzata. Il prodotto finale può essere precipitato dalla miscela di reazione aggiungendo metanolo e purificato mediante cromatografia di esclusione delle dimensioni o cromatografia a fase inversa.



"tosyl-mPEG (1 eq.)" = tosil-mPEG (1 eq.)

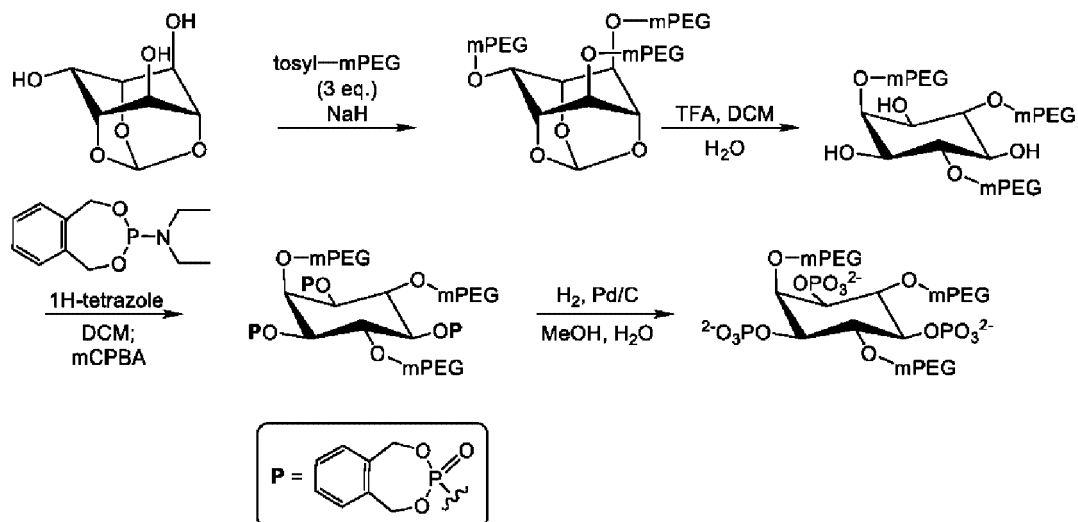
"1H-tetrazole" = 1H-tetrazolo

Sintesi di PEG-IT5, 4,6-PEG-IT4 e PEG-IT2S3

[0105] La sintesi di PEG-IT5 (III r, III s, III t), 4,6-PEG-IT4 (IV i, IV j, IV k) e PEG-IT2S3 (III x, III y, III z) ha seguito le sequenze specificate per PEGIP5, 4,6-PEG-IP4 e PEG-IP2S3, tranne che la fosforilazione è stata eseguita mediante aggiunta di 1H tetrazolo (4 eq.) seguito da fosforamidite (8 eq.) alla reazione e agitato per tutta la notte. Successivamente, piridina, seguita da fiocchi di zolfo schiacciati (20 eq.) sono stati aggiunti alla reazione e mescolati per tutta la notte per completare la tiofosforilazione.

Sintesi di 2,4,6-PEG-IP3 (V d, V e, V f)

[0106] La sintesi ha seguito la sequenza illustrata nello schema seguente:



"tosyl-mPEG (3 eq.)" = tosil-mPEG (3 eq.)

"1H-tetrazole" = 1H-tetrazolo

[0107] L'ortoformiato di inositolo è stato fatto reagire con PEG tosilato per ottenere ortoformiato di inositolo 2,4,6-PEG triplamente PEG-ilato. Il gruppo di protezione ortoformiato è stato rimosso usando acido trifluoroacetico e diclorometano. Il composto è stato fatto reagire con fosforamidite, 1H-tetrazolo, diclorometano e acido meta-cloroperossibenzoico. Il composto risultante è stato fatto reagire con H₂, MeOH e PdO a 2,4,6-PEG-IP4.

Sintesi di 2,4,6-PEG-IT3 (V g, V h, V i)

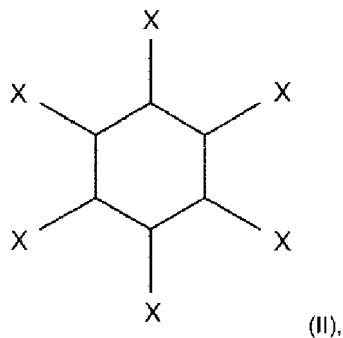
[0108] La sintesi del 2,4,6-PEG-IT3 ha seguito quella descritta per 2,4,6-PEG-IP3 eccetto che la fosforilazione

TBE0522-SM

è stata effettuata aggiungendo 1H tetrazolo (4 eq.) seguito da fosforammidite (8 eq.) alla reazione e agitato per tutta la notte. Successivamente, piridina, seguita da fiocchi di zolfo schiacciati (20 eq.) sono stati aggiunti alla reazione e mescolati per tutta la notte per completare la tiofosforilazione.

RIVENDICAZIONI

1. Composto descritto da una formula generale (II)



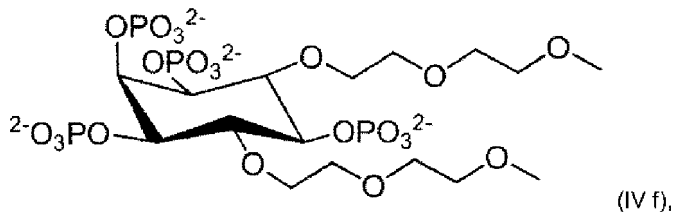
in cui

- due o tre X sono R¹ e i rimanenti X sono OPO₃²⁻; e
- ciascun R¹ è un polietilenglicole.

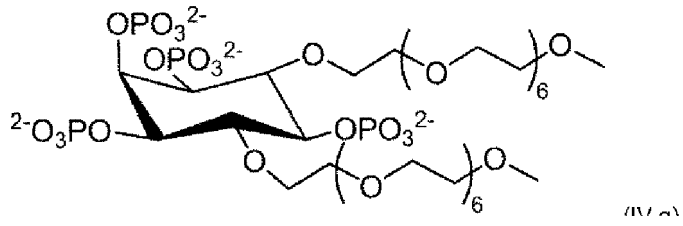
2. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui R¹ è un polietilenglicole e ha una massa molare compresa tra 100 g/mol e 3000 g/mol, in particolare tra 100 g/mol e 2500 g/mol, più in particolare da approssimativamente 100 g/mol a 2000 g/mol.

3. Composto secondo la rivendicazione 1, descritto da una qualsiasi delle formule:

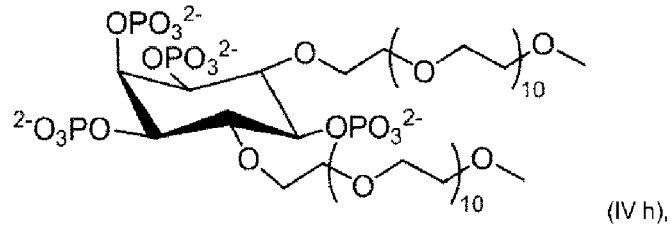
a)



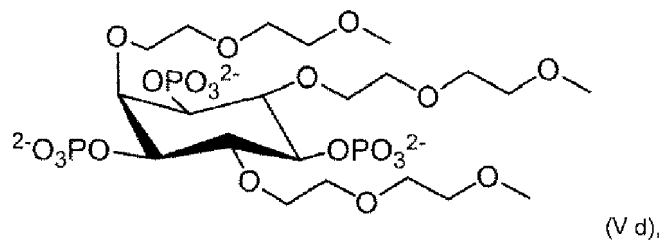
b)



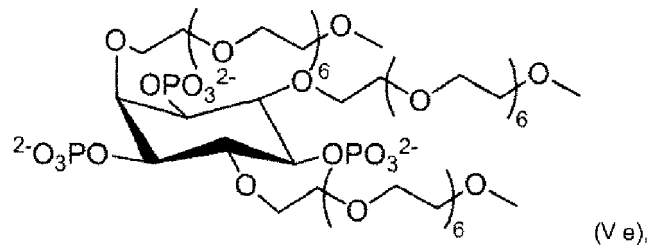
c)



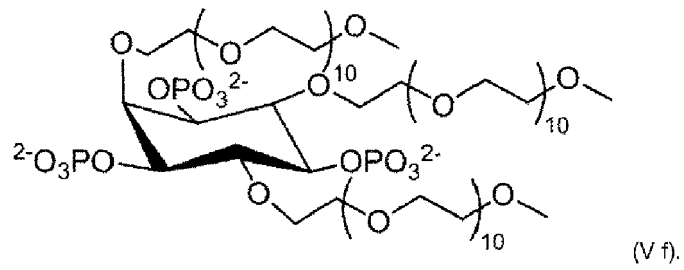
d)



e)



f)



TBE0522-SM



LEGENDA DELLE TAVOLE DEI DISEGNI

TAVOLA 1/1

Figura 1

"Compound" = Composto

"Compound concentration" = Concentrazione di composto

Figura 2

"Activity [T50 in minutes]" = Attività [T50 in minuti]

"Concentration" = Concentrazione

Fig. 1

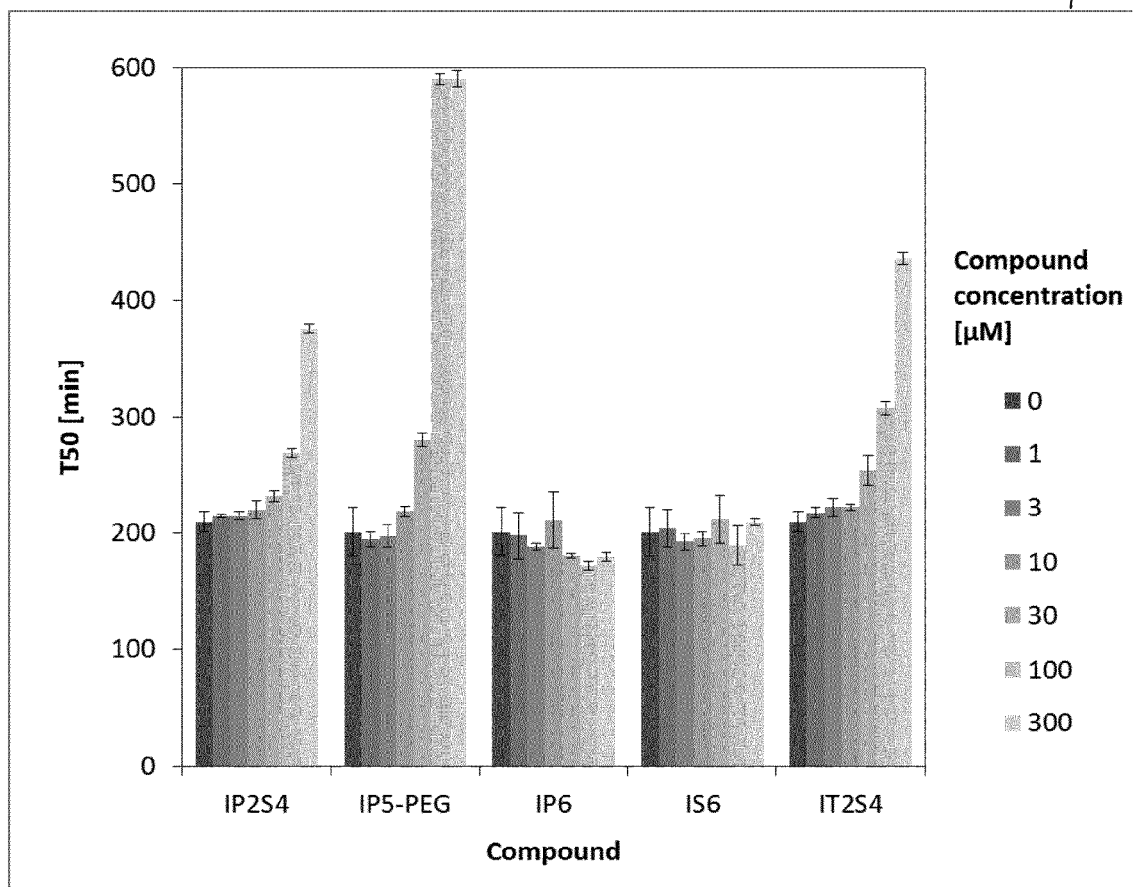


Fig. 2

