

TRADUZIONE DEL BREVETTO EUROPEO N° 3719013

Titolo: DERIVATO PIRIMIDIN-SOLFAMMIDICO, METODO DI PREPARAZIONE E RELATIVA APPLICAZIONE MEDICA

DESCRIZIONE

Riferimento alla domanda correlata

La presente domanda rivendica la priorità rispetto a quanto segue:

CN201711168111.3, data di deposito: 21 novembre 2017.

Campo dell'invenzione

La presente divulgazione riguarda una classe di composti derivati da pirimidin-solfammide e il loro uso nella produzione di un medicinale per una malattia correlata a un antagonista del recettore ET_A. Nello specifico, viene divulgato un composto derivato di formula (I), un suo tautomero, o una sua composizione farmaceuticamente accettabile.

Tecniche anteriori

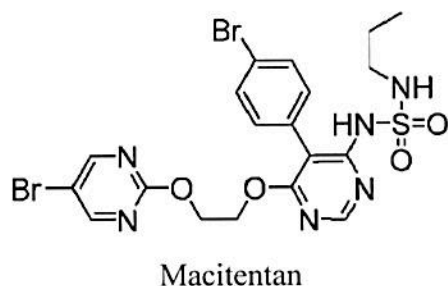
L'endotelina (ET) è una famiglia di peptidi isomerici contenenti 21 amminoacidi, che hanno tutti un C-terminale idrofobico costituito da 6 residui di amminoacidi identici e 2 legami disolfuro intracatenari. Esistono tre isoforme di endotelina, codificate da diversi geni nel corpo umano, vale a dire ET-1, ET-2 e ET-3. Tra questi, ET-1 ha la massima attività vasocostrittrice, più alta da 3 a 10 volte nelle vene rispetto alle arterie, che è l'isoforma principale che causa la malattia. ET-1 è il tipo più abbondante di famiglia delle endoteline e ha anche la funzione più importante. È espressa principalmente nell'endotelio vascolare ed è diffusa anche in tessuti non vascolari come cuore, rene, polmone, ghiandola surrenale e altri organi.

ET non agisce solo da fattore vascolare che modula la pressione sanguigna, ma anche da ormone che induce molte progressioni cellulari (come proliferazione, apoptosi e migrazione) che portano a ipertrofia tissutale, rimodellamento, fibrosi e infiammazione. I livelli di ET-1 nel plasma e nei tessuti

aumentano in varie malattie come ipertensione arteriosa polmonare, ipertensione, sepsi, aterosclerosi, infarto miocardico acuto, insufficienza cardiaca congestizia, emicrania, asma e simili. Pertanto, gli antagonisti del recettore dell'endotelina sono ampiamente studiati come agenti terapeutici molto promettenti.

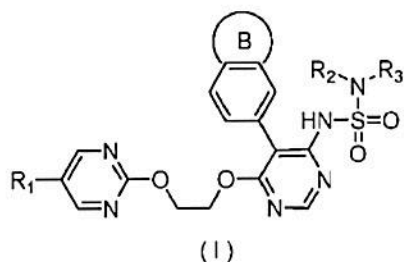
I recettori dell'endotelina appartengono ai recettori accoppiati alle proteine G, che hanno principalmente tre tipi: ET_A , ET_B ed ET_C . Hanno distribuzioni diverse in diversi tessuti e organi, hanno diverse affinità per tre sottotipi di endotelina e presentano una grande differenza negli effetti fisiologici. I recettori dell'endotelina ET_A sono distribuiti principalmente sulle cellule della muscolatura liscia e si legano selettivamente a ET-1 e mediano la contrazione della muscolatura liscia vascolare. I recettori dell'endotelina ET_B sono divisi in due sottotipi, vale a dire ET_{B1} e ET_{B2} , in cui il primo è distribuito nelle cellule endoteliali e media il rilascio di fattore rilassante derivato dall'endotelio (EDRF), prostaciclina (PGI_2) e ossido nitrico (NO), causando così vasodilatazione, mentre il secondo è situato sulla muscolatura liscia vascolare, l'effetto è lo stesso di quello del recettore ET_A , ovvero di mediare direttamente la contrazione del vaso sanguigno venoso e l'affinità del recettore dell'endotelina ET_B per ET-1, ET-2 ed ET-3 è simile. Il recettore ET_C è un recettore selettivo per ET-3, distribuito principalmente nelle cellule neuronali e agisce da neurotrasmettitore. L'ET-1 agisce principalmente attraverso i recettori ET_A ed ET_B . L'antagonista del recettore dell'endotelina può essere suddiviso in antagonista del recettore ET_A , antagonista del recettore ET_B e doppio antagonista ET_A/ET_B , i cui gli effetti preclinici e/o clinici sono stati dimostrati in una varietà di malattie quali emorragia subaracnoidea, insufficienza cardiaca, ipertensione arteriosa polmonare, ipertensione primaria, ipertensione refrattaria, infiammazione neurogenica, nefropatia diabetica, glomerulosclerosi segmentale focale, insufficienza renale, infiammazione neurogenica, vasospasmo cerebrale dopo insufficienza renale e infarto del miocardio e simili. Antagonisti del recettore ET_A altamente selettivi inibiscono il forte effetto vasocostrittore di ET-1, evitando al contempo una risposta avversa dei doppi antagonisti dei recettori ET_A/ET_B non selettivi, riducendo così gli effetti collaterali clinici.

Il brevetto WO02/053557 divulga un composto macitentan, che può essere usato per il trattamento di malattie associate all'azione dell'endotelina.



Contenuto della presente invenzione

La presente divulgazione fornisce un composto di formula (I), o un suo isomero geometrico o stereoisomero o un suo sale farmaceuticamente accettabile,



in cui,

R₁ è selezionato tra H, F, Cl, Br, I, OH e NH₂;

R₂ è selezionato tra H e alchile C₁₋₃, in cui l'alchile C₁₋₃ è facoltativamente sostituito da uno, due o tre R;

R₃ è selezionato tra H, alchile C₁₋₆, eteroalchile C₁₋₆, -C₁₋₃ alchil-C₃₋₆ cicloalchile, cicloalchile C₃₋₆ e -C₁₋₃ alchile-eterocicloalchile a 3-7 elementi, in cui l'alchile C₁₋₆, eteroalchile C₁₋₆, -C₁₋₃ alchil-C₃₋₆ cicloalchile, cicloalchile C₃₋₆ o -C₁₋₃ alchile-eterocicloalchile a 3-7 elementi è facoltativamente sostituito da uno, due o tre R;

o, R₂ e R₃ sono collegati per formare un anello a 3-8 elementi facoltativamente sostituito da uno, due o tre R;

l'anello B è selezionato tra eterocicloalchile a 3-7 elementi ed eteroarile a 5-6 elementi, l'eterocicloalchile a 3-7 elementi o l'eteroarile a 5-6 elementi è facoltativamente sostituito con uno, due o

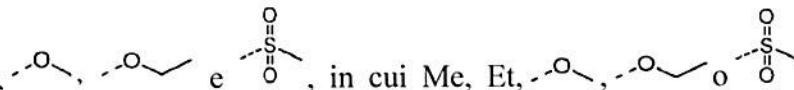
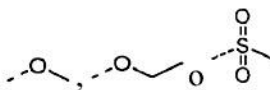
tre R;

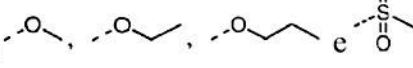

R è indipendentemente selezionato tra H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, alchile C₁₋₆ ed eteroalchile C₁₋₆, in cui the alchile C₁₋₆ o eteroalchile C₁₋₆ è facoltativamente sostituito da uno, due o tre R';

R' è indipendentemente selezionato da F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, Me, CH₂F, CHF₂, CF₃ ed Et;

ciascuno tra l'eteroalchile C₁₋₆, eterocicloalchile a 3-7 elementi ed eteroarile a 5-6 elementi contiene uno, due, tre o quattro eteroatomi o gruppi di eteroatomi indipendentemente selezionati tra N, -O-, -S-, -NH-, -S(=O)₂- e -S(=O)-.

In alcune forme di realizzazione della presente divulgazione, R è selezionato tra H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, alchile C₁₋₃, C₁₋₃ alchil-S(=O)₂- e C₁₋₃ alchil-O-, in cui l'alchile C₁₋₃, C₁₋₃ alchil-S(=O)₂- o C₁₋₃ alchil-O- è facoltativamente sostituito da uno, due o tre R' e altre variabili sono come definite nella presente divulgazione.

In alcune forme di realizzazione della presente divulgazione, R è selezionato tra H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, Me, Et, , in cui Me, Et,  è facoltativamente sostituito da uno, due o tre R' e altre variabili sono come definite nella presente divulgazione.

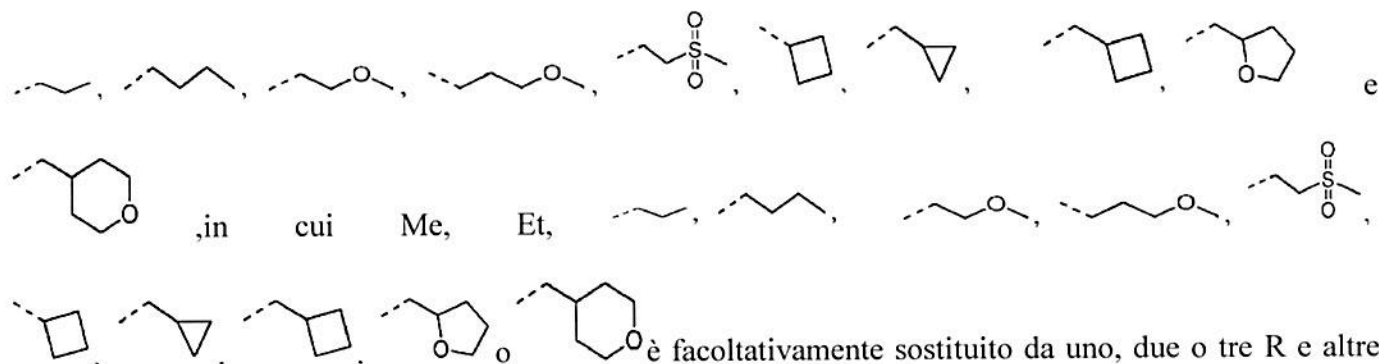
In alcune forme di realizzazione della presente divulgazione, R è selezionato tra H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, Me, CH₂F, CHF₂, CF₃, Et,  e  e altre variabili sono come definite nella presente divulgazione.

In alcune forme di realizzazione della presente divulgazione, R₂ è selezionato tra H e Me e altre varianti sono come definite nella presente divulgazione.

In alcune forme di realizzazione della presente divulgazione, R₃ è selezionato tra H, alchile C₁₋₄, C₁₋₄ alchil-O-C₁₋₄ alchile, ciclobutile, -C₁₋₃ alchil-ciclobutile, -C₁₋₃ alchil-ciclopropile, -C₁₋₃ alchil-tetraidrofuranile e -C₁₋₃ alchil-tetraidropiranile, in cui l'alchile C₁₋₄, C₁₋₄ alchil-O-C₁₋₄ alchile, ciclobutile, -C₁₋₃ alchil-ciclobutile, -C₁₋₃ alchil-ciclopropile, -C₁₋₃ alchil-tetraidrofuranile o -C₁₋₃ alchil-tetraidropiranile è facoltativamente sostituito da uno, due o tre R e altre variabili sono come definite nella presente

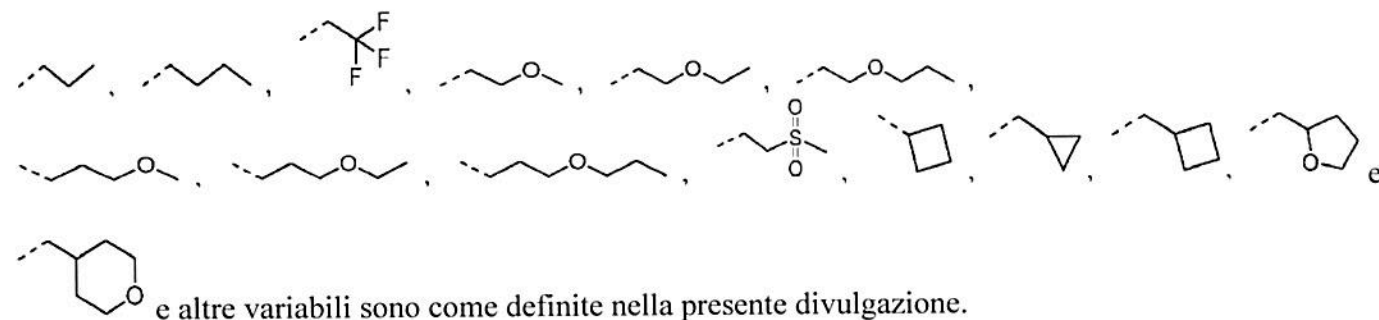
divulgazione.

In alcune forme di realizzazione della presente divulgazione, R₃ è selezionato tra H, Me, Et,



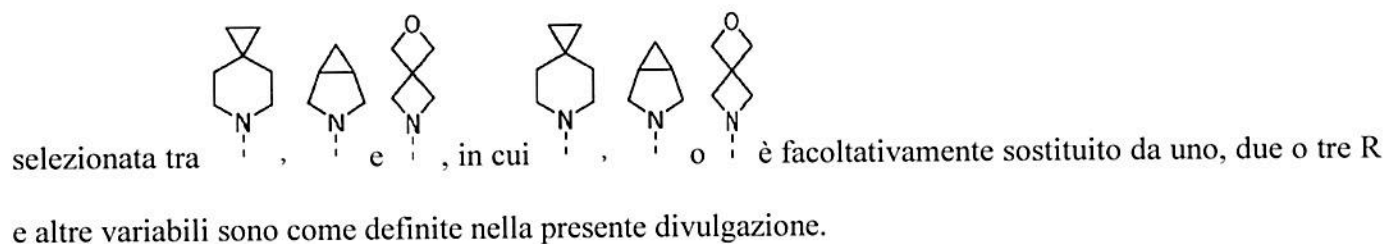
è facoltativamente sostituito da uno, due o tre R e altre variabili sono come definite nella presente divulgazione.

In alcune forme di realizzazione della presente divulgazione, R₃ è selezionato tra H, Me, Et,

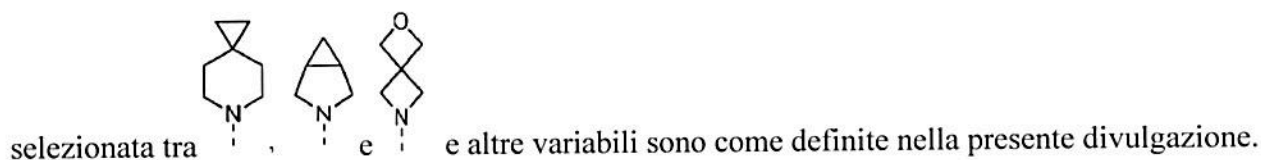


In alcune forme di realizzazione della presente divulgazione, R₂ e R₃ sono collegati per formare un eterocicloalchile a 6-8 elementi facoltativamente sostituito con uno, due o tre R.

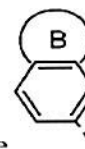
In alcune forme di realizzazione della presente divulgazione, l'unità strutturale $\begin{matrix} R_2-N-R_3 \\ | \end{matrix}$ è



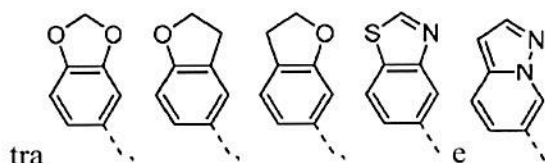
In alcune forme di realizzazione della presente divulgazione, l'unità strutturale $\begin{matrix} R_2-N-R_3 \\ | \end{matrix}$ è



In alcune forme di realizzazione della presente divulgazione, l'anello B è selezionato tra tetraidrofuranile, tetraidrotienile, 1,3-diossolanile, pirrolidinile, tiazolile, pirazolile e imidazolile, in cui il tetraidrofuranile, tetraidrotienile, 1,3-diossolanile, pirrolidinile, tiazolile, pirazolile o imidazolile è facoltativamente sostituito da una, due o tre R e altre variabili sono come definite nella presente divulgazione.



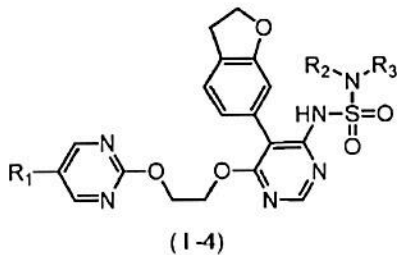
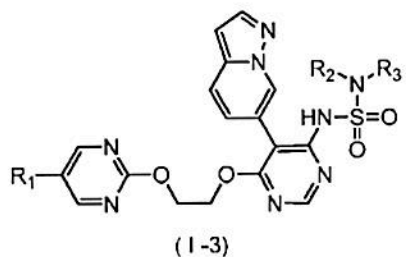
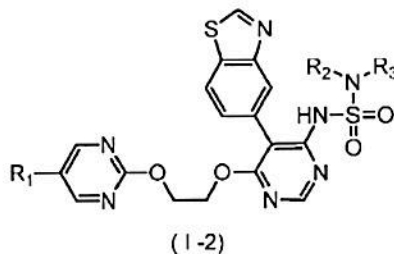
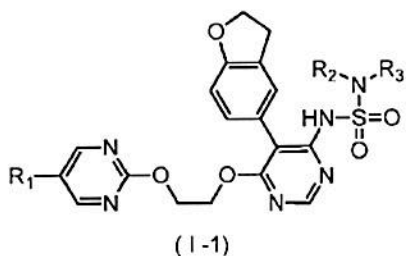
In alcune forme di realizzazione della presente divulgazione, l'unità strutturale



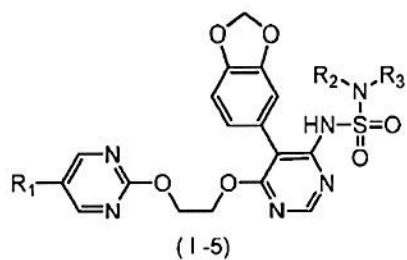
e altre variabili sono come definite nella presente divulgazione.

Le altre forme di realizzazione della presente divulgazione possono essere ottenute mediante la combinazione arbitraria di variabili.

In alcune forme di realizzazione della presente divulgazione, il composto, il suo isomero geometrico o stereoisomero, o il suo sale farmaceuticamente accettabile è selezionato tra



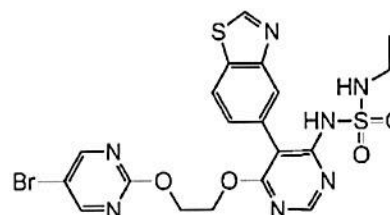
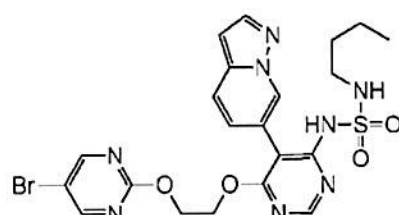
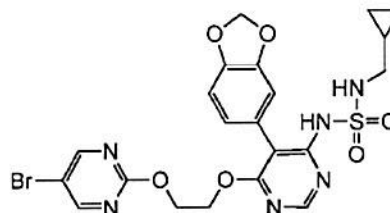
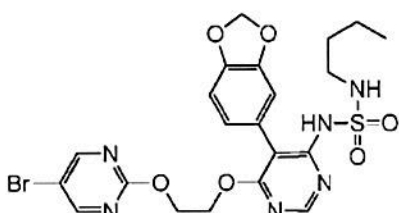
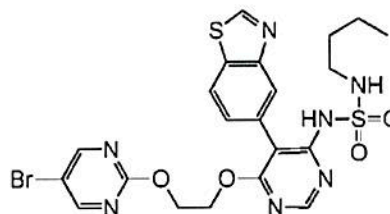
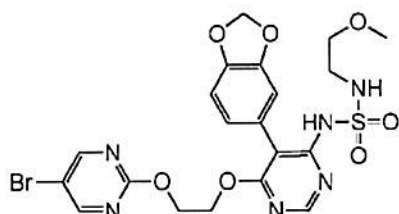
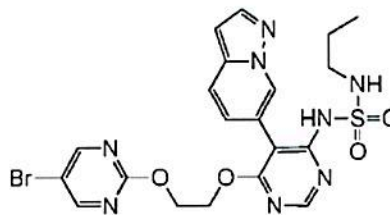
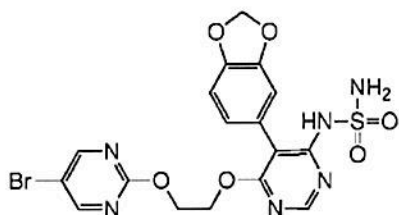
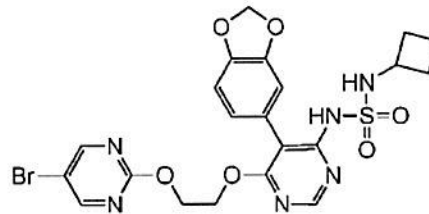
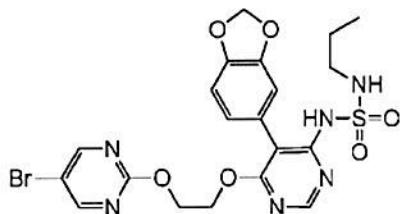
e

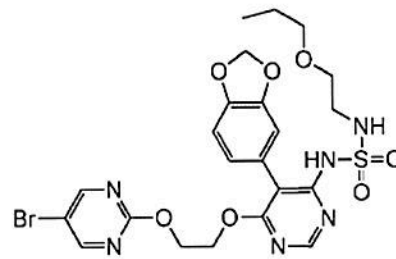
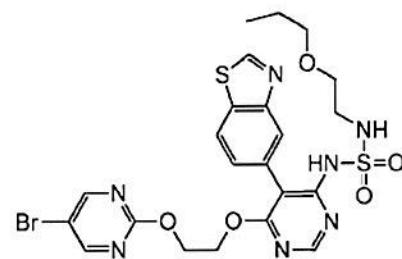
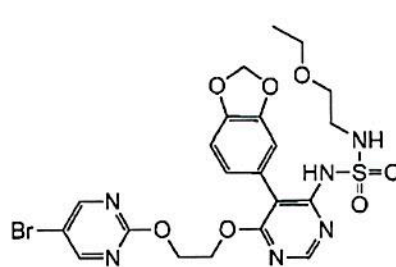
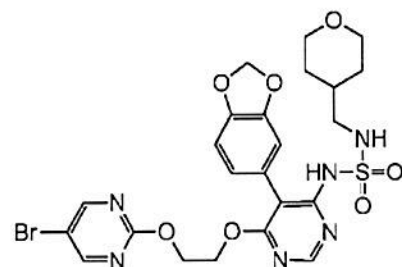
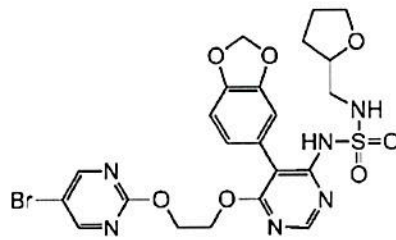
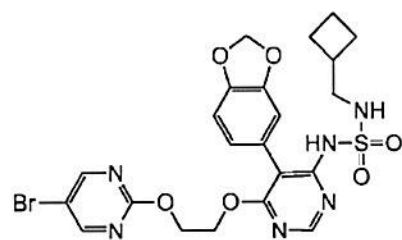
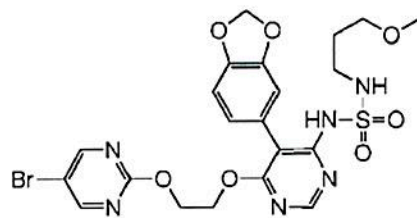
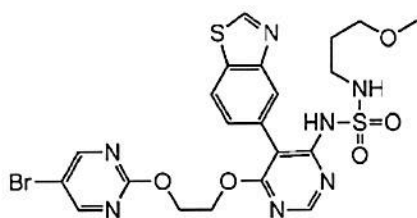
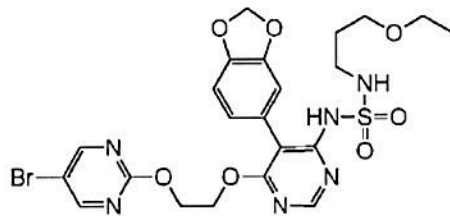
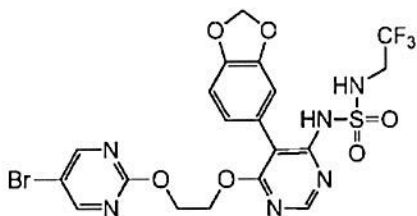
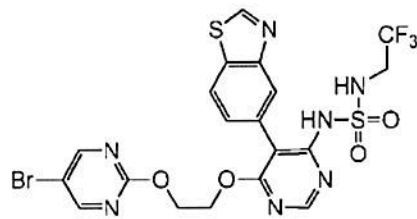
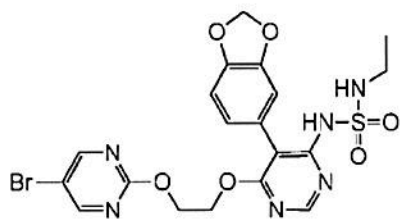


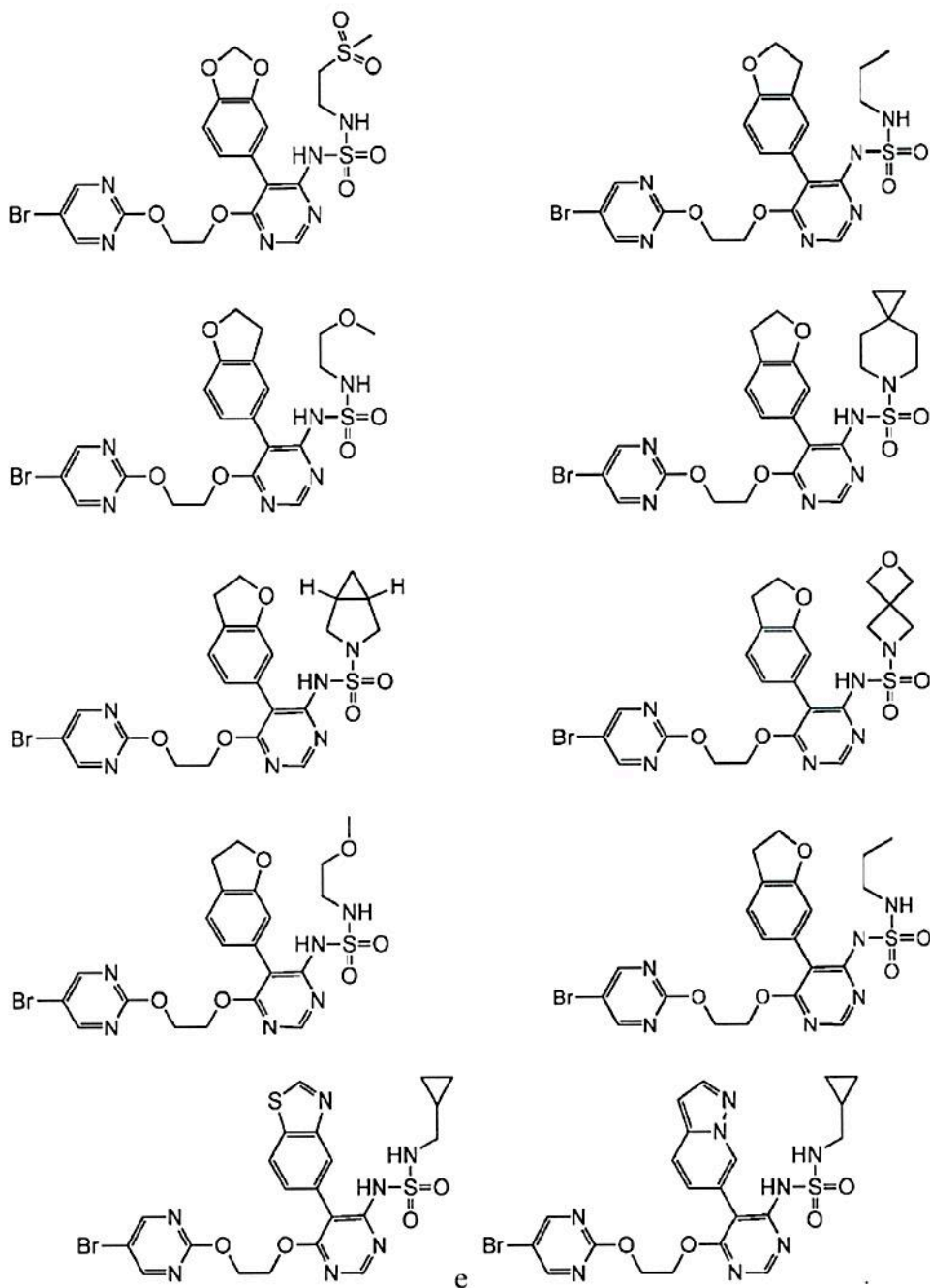
in cui,

R, R₁ o R₂ è come definito nella presente divulgazione.

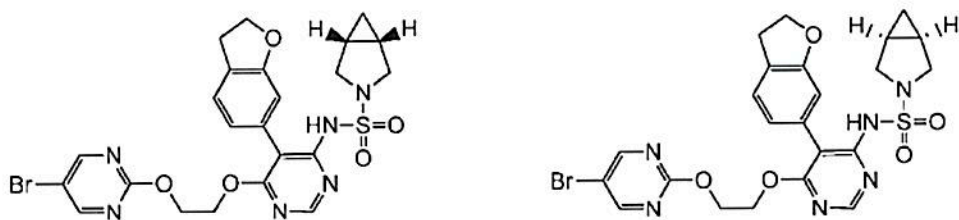
La presente divulgazione fornisce anche un suo composto, un suo isomero geometrico o stereoisomero o un suo sale farmaceuticamente accettabile, che è selezionato tra

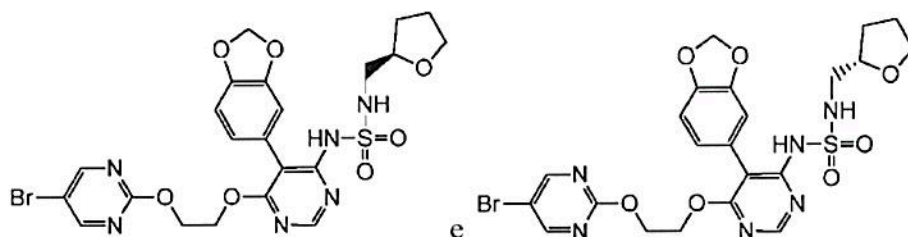






In alcune forme di realizzazione della presente divulgazione, il composto, il suo isomero geometrico o stereoisomero, o il suo sale farmaceuticamente accettabile è selezionato tra





La divulgazione fornisce anche una composizione farmaceutica, che comprende una quantità terapeuticamente efficace del composto o del suo sale farmaceuticamente accettabile come principio attivo e un trasportatore farmaceuticamente accettabile.

La presente divulgazione fornisce anche un uso del composto o dei suoi sali farmaceuticamente accettabili o delle composizioni nella fabbricazione di un medicinale correlato all'antagonista del recettore ET_A .

In alcune forme di realizzazione della presente divulgazione, il medicinale correlato all'antagonista del recettore ET_A è un medicinale per indicazioni quali ipertensione arteriosa polmonare, ipertensione primaria, ipertensione refrattaria, nefropatia diabetica e vasospasmo intracranico.

Definizione e descrizione

Salvo diversa indicazione, i seguenti termini quando usati nelle descrizioni e nelle rivendicazioni della presente divulgazione hanno i seguenti significati: Uno specifico termine, o locuzione, non dovrebbe essere considerato indefinito o poco chiaro in assenza di una particolare definizione, bensì dovrebbe essere inteso secondo il significato ordinario. Quando qui compare un nome commerciale, esso è destinato a riferirsi al suo prodotto corrispondente o al relativo principio attivo. Il termine "farmaceuticamente accettabile" viene qui usato in termini di quei composti, materiali, composizioni e/o forme di dosaggio che sono adatti per l'uso a contatto con tessuti umani e animali nell'ambito di una valutazione medica attendibile, senza causare un'eccessiva tossicità, irritazione, reazione allergica o altri problemi o complicanze, in linea con un rapporto benefici/rischi ragionevole.

Il termine "sale farmaceuticamente accettabile" si riferisce a un sale del composto della presente divulgazione che viene preparato facendo reagire il composto avente un sostituito specifico della presente divulgazione con un acido o una base relativamente atossici. Quando il composto della presente

divulgazione contiene un gruppo funzionale relativamente acido, è possibile ottenere un sale di addizione base mettendo la forma neutra del composto a contatto con una quantità sufficiente di una base in una soluzione pura o un solvente inerte adatto. Il sale di addizione di base farmaceuticamente accettabile include un sale di sodio, potassio, calcio, ammonio, ammina organica o magnesio o sali simili. Quando il composto della presente divulgazione contiene un gruppo funzionale relativamente basico, è possibile ottenere un sale di addizione di acido mettendo la forma neutra del composto a contatto con una quantità sufficiente di acido in una soluzione pura o un solvente inerte adatto. Esempi del sale di addizione di acido farmaceuticamente accettabile includono un sale di acido inorganico, in cui l'acido inorganico comprende, ad esempio, acido cloridrico, acido bromidrico, acido nitrico, acido carbonico, bicarbonato, acido fosforico, monoidrogeno fosfato, diidrogeno fosfato, acido solforico, idrogeno solfato, acido iodidrico, acido fosforoso e simili; e un sale di acido organico, in cui l'acido organico include, ad esempio, acido acetico, acido propionico, acido isobutirrico, acido maleico, acido malonico, acido benzoico, acido succinico, acido suberico, acido fumarico, acido lattico, acido mandelico, acido ftalico, acido benzensolfonico, acido *p*-toluensolfonico, acido citrico, acido tartarico e acido metansolfonico e simili; e un sale di amminoacido (come arginina e simili) e un sale di un acido organico come acido glucuronico e simili. Determinati composti specifici della presente divulgazione che contengono gruppi funzionali sia basici che acidi possono essere convertiti in qualsiasi sale di addizione di acido o di base.

Il sale farmaceuticamente accettabile della presente divulgazione può essere preparato dal composto originario che contiene una frazione basica o acida con metodo chimico convenzionale. Generalmente, tale sale può essere preparato facendo reagire la forma libera di acido o base del composto con una quantità stechiometrica di una base o un acido opportuni in acqua o in un solvente organico o in una loro miscela.

Il composto della presente divulgazione può avere una specifica forma geometrica o stereoisomerica. La presente divulgazione contempla tutti questi composti, tra cui isomero *cis* e *trans*, enantiomero (-) e (+), enantiomero (*R*) e (*S*), diastereoisomero, isomero (*D*), isomero (*L*) e miscela

racemica e altre miscele, ad esempio una miscela arricchita di enantiomero o diastereoisomero, che rientrano tutte nell'ambito della presente divulgazione. Il sostituito come l'alchile può avere un atomo di carbonio asimmetrico aggiuntivo. Tutti questi isomeri e loro miscele rientrano nell'ambito della presente divulgazione.

Salvo ove diversamente specificato, il termine "enantiomero" o "isomero ottico" indica stereoisomeri che sono immagini speculari l'uno dell'altro.

Salvo ove diversamente specificato, il termine "isomero *cis-trans*" o "isomero geometrico" è dovuto all'incapacità di un doppio legame o di un singolo legame di atomi di carbonio sull'anello di ruotare liberamente.

Salvo ove diversamente specificato, il termine "diastereomero" si riferisce a stereoisomeri in cui le molecole hanno due o più centri chirali e non sono immagini speculari l'una dell'altra.

Salvo ove diversamente specificato, "(D)" o "(+)" sta per destrogiro, "(L)" o "(-)" sta per levogiro, "(DL)" o "(±)" sta per racemizzazione.

Salvo ove diversamente specificato, la configurazione assoluta di un centro stereogenico è rappresentata da un legame continuo a cuneo (↗) e da un legame tratteggiato a cuneo (⋯↖), e la configurazione relativa di un centro stereogenico è rappresentata da un legame continuo dritto (↗) e un legame tratteggiato dritto (⋯↖). Una linea ondulata (~~~~) rappresenta un legame continuo a cuneo (↗) o un legame tratteggiato a cuneo (⋯↖), o rappresenta un legame continuo dritto (↗) o un legame tratteggiato dritto (⋯↖).

Salvo ove diversamente indicato, i termini "tautomero" o "forma tautomerica" si riferiscono al fatto che i diversi isomeri funzionali sono in equilibrio dinamico a temperatura ambiente e possono essere rapidamente convertiti l'uno nell'altro. Laddove sono possibili i tautomeri (ad es. in soluzione), si può raggiungere un equilibrio chimico degli isomeri. Ad esempio, i tautomeri protonici (anche noti come tautomeri prototropici) comprendono interconversioni mediante trasferimento di protoni, come l'isomerizzazione cheto-enolica e l'isomerizzazione immينو-enamminica. Il tautomero di valenza include

la trasformazione reciproca di alcuni elettroni di legame. Un esempio specifico di tautomerizzazione cheto-enolica è l'interconversione tra due tautomeri pentan-2,4-dione e 4-idrossipent-3-en-2-one.

Salvo ove diversamente specificato, i termini "arricchito con un isomero", "arricchito di isomero", "arricchito con un enantiomero" o "arricchito di enantiomero" si riferiscono al contenuto di uno degli isomeri o enantiomeri che è inferiore al 100% e il contenuto dell'isomero o enantiomero è del 60% o più, o del 70% o più, o dell'80% o più, o del 90% o più, o del 95% o più, o del 96% o più, o del 97% o più, o del 98% o più, o del 99% o più, o del 99,5% o più, o del 99,6% o più, o del 99,7% o più, o del 99,8% o più, o del 99,9% o più.

Salvo ove diversamente specificato, il termine "eccesso di isomero" o "eccesso di enantiomero" si riferisce alla differenza tra le percentuali relative dei due isomeri o enantiomeri. Ad esempio, in un caso cui il contenuto di uno tra gli isomeri o enantiomeri è del 90% e l'altro è del 10%, l'eccesso di isomero o enantiomero (valore ee) è dell'80%.

L'isomero otticamente attivo (*R*) e (*S*) o l'isomero *D* e *L* possono essere preparati utilizzando la sintesi chirale o reagenti chirali o altre tecniche convenzionali. Se deve essere ottenuto un tipo di enantiomero di un determinato composto della presente divulgazione, l'enantiomero puro desiderato può essere ottenuto mediante sintesi asimmetrica o azione derivata di un ausiliario chirale seguita da separazione della miscela diastereomerica ottenuta e da scissione del gruppo ausiliario. In alternativa, quando la molecola contiene un gruppo funzionale basico (come un gruppo amminico) o un gruppo funzionale acido (come un gruppo carbossilico), il composto reagisce con un acido o una base otticamente attivi opportuni per formare un sale dell'isomero diastereomerico che viene quindi sottoposto a risoluzione diastereomerica attraverso il metodo convenzionale nel ramo per generare l'enantiomero puro. Inoltre, l'enantiomero e il diastereoisomero sono generalmente isolati attraverso cromatografia che utilizza una fase stazionaria chirale e si combina facoltativamente con un metodo di derivazione chimica (ad es. carbammato generato da ammina). Il composto della presente divulgazione può contenere una proporzione non naturale di isotopo atomico su uno o più atomi che costituiscono tale composto. Ad

esempio, il composto può essere radiomarcato con un isotopo radioattivo, come trizio (^3H), iodio-125 (^{125}I) o C-14 (^{14}C). In un altro esempio, l'idrogeno può essere sostituito da idrogeno pesante per formare un farmaco deuterato e il legame composto da bario e carbonio è più forte del legame composto da idrogeno e carbonio comuni. Rispetto ai farmaci non deuterati, i farmaci deuterati hanno effetti collaterali ridotti e una maggiore stabilità del farmaco, migliorano l'efficacia e prolungano l'emivita biologica del farmaco. Tutte le variazioni isotopiche del composto della presente divulgazione, a prescindere che siano radioattive o meno, rientrano nell'ambito della presente divulgazione.

"Facoltativo" o "facoltativamente" significa che l'evento o la condizione successivo/a può verificarsi ma non è indispensabile, che il termine include il caso in cui l'evento o la condizione si verifica e il caso in cui l'evento o la condizione non si verifica.

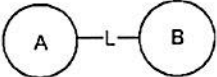
Il termine "sostituito" indica che uno o più atomi di idrogeno su uno specifico atomo sono sostituiti con il sostituito, tra cui varianti di deuterio e idrogeno, purché la valenza dello specifico atomo sia normale e il composto sostituito sia stabile. Quando il sostituito è un ossigeno (ovvero, $=\text{O}$), significa che vengono sostituiti due atomi di idrogeno. Le posizioni su un anello aromatico non possono essere sostituite con un chetone. Il termine "facoltativamente sostituito" indica che un atomo può essere o meno sostituito con un sostituito, se non diversamente specificato. Il tipo e il numero del sostituito possono essere arbitrari purché chimicamente ottenibili.

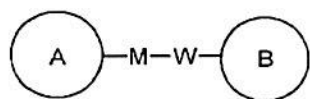
Quando una qualsiasi variabile (come R) compare nella costituzione o nella struttura del composto più di una volta, la definizione della variabile in ciascuna occorrenza è indipendente. Pertanto, ad esempio, se un gruppo è sostituito con 0-2 R, il gruppo può essere facoltativamente sostituito con un massimo di due R, in cui la definizione di R in ciascuna occorrenza è indipendente. Inoltre, una combinazione del sostituito e/o della sua variante è consentita solo quando la combinazione determina un composto stabile.

Quando il numero di un gruppo di collegamento è 0, ad esempio $-(\text{CRR})_0-$, significa che il gruppo di collegamento è un legame singolo.

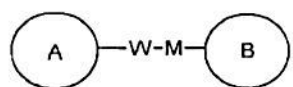
Quando una delle variabili è selezionata da un legame singolo, significa che i due gruppi collegati dal legame singolo sono collegati direttamente. Ad esempio, quando L in A-L-Z rappresenta un legame singolo, la struttura di A-L-Z è in realtà A-Z.

Quando un sostituito è vacante, significa che il sostituito non esiste. Per esempio, quando i sostituiti elencati non indicano attraverso quale atomo sono attaccati al gruppo sostituito, un tale sostituito può essere legato attraverso qualsiasi tra i suoi atomi, per esempio, il gruppo piridile come sostituito può essere legato al gruppo sostituito attraverso uno qualsiasi degli atomi di carbonio sull'anello piridinico. Quando il gruppo di collegamento enumerativo non indica la direzione per il collegamento, la direzione per il collegamento è arbitraria, ad esempio, il gruppo di collegamento L

contenuto in  è -MW-, -MW- può collegare l'anello A e l'anello B per formare



nella stessa direzione dell'ordine di lettura da sinistra a destra e formare



nella direzione contraria all'ordine di lettura da sinistra a destra. Combinazioni di

gruppi di collegamento, sostituiti e/o loro varianti sono consentite solo se tali combinazioni danno come risultato composti stabili.

Salvo ove diversamente specificato, il termine "etero" rappresenta un eteroatomo o un gruppo eteroatomico (ad es. un gruppo atomico contenente un eteroatomo), che include l'atomo eccetto il carbonio (C) e l'idrogeno (H) e il gruppo atomico contenente l'eteroatomo, ad esempio, tra cui ossigeno (O), azoto (N), zolfo (S), silicio (Si), germanio (Ge), alluminio (Al), boro (B), -O-, -S-, =O, =S, -C(=O)O-, -C(=O)-, -C(=S)-, -S(=O), -S(=O)₂- e il gruppo costituito da -C(=O)N(H)-, -N(H)-, -C(=NH)-, -S(=O)₂N(H)- e -S(=O)N(H)-, ciascuno dei quali è facoltativamente sostituito.

Salvo ove diversamente specificato, il termine "anello" si riferisce a un cicloalchile, eterocicloalchile, cicloalchenile, eterocicloalchenile, cicloalchinile, eterocicloalchinile, arile o eteroarile sostituito o non sostituito. Il cosiddetto anello include un singolo anello, un anello doppio, un anello a

spirale, un anello fuso o un anello a ponte. Il numero dell'atomo sull'anello è solitamente definito come il numero di elementi dell'anello, ad esempio, un "anello a 5-7 elementi" significa che da 5 a 7 atomi sono disposti su un anello. Salvo ove diversamente specificato, l'anello contiene facoltativamente da 1 a 3 eteroatomi. Pertanto, un "anello da 5 a 7 elementi" include, per esempio, fenile, piridinile e piperidinile; d'altra parte, il termine "anello eterocicloalchile a 5-7 elementi" include piridile e piperidinile, ma escluso fenile. Il termine "anello" include anche un sistema di anelli contenente almeno un anello, in cui ogni anello soddisfa indipendentemente la definizione.

Salvo ove diversamente specificato, il termine "eterociclo" o "eterociclico" si riferisce a un anello monociclico, biciclico o tricyclico stabile contenente un eteroatomo o un gruppo eteroatomico, che può essere saturo, parzialmente insaturo o insaturo (aromatico) e può contenere atomi di carbonio e uno, due, tre o quattro eteroatomi anulari indipendentemente selezionati tra N, O e S, in cui qualsiasi dell'eterociclo può essere fuso con un anello benzenico per formare un anello biciclico. Gli eteroatomi di azoto e zolfo possono facoltativamente essere ossidati (ovvero, NO e S(O)_p, p è 1 o 2). L'atomo di azoto può essere sostituito o non sostituito (ovvero, N o NR, in cui R è H o altri sostituenti già definiti in questa sede). L'eterociclo può essere attaccato al gruppo pendente di qualsiasi eteroatomo o atomo di carbonio per formare una struttura stabile. Se il composto ottenuto è stabile, l'eterociclo qui descritto può avere una sostituzione in una posizione di carbonio o di azoto. L'atomo di azoto sull'eterociclo è facoltativamente quaternizzato. In una forma di realizzazione preferita, quando il numero totale di atomi S e O dell'eterociclo è maggiore di 1, l'eteroatomo non è adiacente agli altri. In un'altra forma di realizzazione preferita, il numero totale di atomi S e O dell'eterociclo non è maggiore di 1. Nel presente contesto, il termine "gruppo eterociclico aromatico" o "eteroarile" si riferisce a un anello aromatico eterociclico monociclico o biciclico a 5, 6 o 7 componenti o biciclico a 7, 8, 9 o 10 componenti stabile che contiene atomi di carbonio e uno, due, tre o quattro eteroatomi anulari indipendentemente selezionati tra N, O e S. L'atomo di azoto può essere sostituito o non sostituito (ovvero, N o NR, in cui R è H o altri sostituenti già definiti nella presente). Gli eteroatomi di azoto e zolfo possono essere facoltativamente ossidati (ovvero,

NO e S(O)_p, p è 1 o 2). Va notato che il numero totale di atomi S e O di un eterociclo aromatico non è maggiore di uno. Anche l'anello a ponte è incluso nella definizione dell'eterociclo. Un anello a ponte è formato quando uno o più di un atomo (ovvero C, O, N o S) collegano due atomi di carbonio o di azoto non adiacenti. Un anello a ponte preferito include, ma senza limitazioni, un atomo di carbonio. Due atomi di carbonio, un atomo di azoto, due atomi di azoto e un gruppo carbonio-azoto. Va notato che un ponte converte sempre un anello monociclico in un anello triciclico. In un anello a ponte, anche il sostituente sull'anello può essere presente sul ponte.

Esempi del composto eterociclico includono, ma senza limitazioni: acridinile, azocinile, benzimidazolile, benzofuranile, benzomercaptofuranile, benzomercaptofenile, benzossazolile, benzossazolinile, benzotiazolile, benzotriazolile, benztetrazolile, benzoisossazolile, benzoisotiazolile, benzoimidazolinile, carbazolile, 4*H*-carbazolile, carbolinile, cromanile, cromene, cinnolinile, decaidrochinolinile, 2*H*,6*H*-1,5,2-ditiazinile, diidrofuro[2,3-*b*]tetraidrofuranile, furanile, furazanile, imidazolidinile, imidazolinile, imidazolile, 1*H*-indazolile, indolenile, indolinile, indolizinile, indolile, 3*H*-indolile, isobenzofuranile, isoindolile, isoindolinile, isochinolinile, isotiazolile, isossazolile, metilendioossifenile, morfolinile, naftiridinile, ottaidroisochinolinile, ossadiazolile, 1,2,3-ossadiazolile, 1,2,4-ossadiazolile, 1,2,5-ossadiazolile, 1,3,4-ossadiazolile, ossazolidinile, ossazolile, idrossindolile, pirimidinile, fenantridinile, fenantrolinile, fenazina, fenotiazina, benzossantinile, fenolossazinile, ftalazinile, piperazinile, piperidinile, piperidonile, 4-piperidonile, piperonile, pteridinile, purinile, piranile, pirazinile, pirazolidinile, pirazolinile, pirazolile, piridazinile, pirido-ossazolile, pirido-imidazolile, pirido-tiazolile, piridinile, pirrolidinile, pirrolinile, 2*H*-pirrolile, pirrolile, chinazolinile, chinolinile, 4*H*-chinoxinile, chinossalinile, chinuclidinile, tetraidrofuranile, tetraidroisochinolinile, tetraidrochinolinile, tetrazolile, 6*H*-1,2,5-tiadinile, 1,2,3-tiadinile, 1,2,4-tiadinile, 1,2,5-tiadinile, 1,3,4-tiadinile, tiantrenile, tiazolile, isotiazoliltienile, tieno-ossazolile, tieno-tiazolile, tieno-imidazolile, tienile, triazinile, 1*H*-1,2,3-triazolile, 2*H*-1,2,4-triazolile, 1*H*-1,2,4-triazolile, 4*H*-1,2,4-triazolile e xantenile. Sono anche inclusi composti ad anello fuso e composti spiro.

Salvo ove diversamente specificato, il termine "idrocarbile" o i suoi iponimi (ad es. alchile, alchenile, alchinile e arile, ecc.), da solo o come parte di un altro sostituente, si riferisce a un radicale idrocarburico a catena lineare, ramificata o ciclico o qualsiasi loro combinazione, possono essere completamente saturi (ad es. alchile), mono- o polinsaturi (ad es. alchenile, alchinile e arile), possono essere mono-, di- o poli-sostituiti, possono essere monovalenti (ad es. metile), bivalenti (ad es. metilene) o multivalenti (ad es. metenile), possono anche includere un gruppo bivalente o multivalente, avere un numero specificato di atomi di carbonio (ad es. C₁-C₁₂ indica da 1 a 12 atomi di carbonio, C₁₋₁₂ è selezionato tra C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₇, C₈, C₉, C₁₀, C₁₁ e C₁₂; C₃₋₁₂ è selezionato da C₃, C₄, C₅, C₆, C₇, C₈, C₉, C₁₀, C₁₁ e C₁₂). Il termine "idrocarbile" include, ma senza limitazioni, idrocarbile alifatico e idrocarbile aromatico, l'idrocarbile alifatico include idrocarbile lineare e ciclico, specificamente include, ma senza limitazioni, alchile, alchenile e alchinile. L'idrocarbile aromatico include, ma senza limitazioni, idrocarbile aromatico a 6-12 elementi come fenile, naftile e simili. In alcune forme di realizzazione, il termine "idrocarbile" si riferisce a un gruppo lineare o ramificato o una loro combinazione che può essere completamente saturo, monoinsaturo o polinsaturo e può includere un gruppo bivalente o multivalente. Esempi del gruppo idrocarbile saturo includono, ma senza limitazioni, metile, etile, *n*-propile, isopropile, *n*-butile, *terz*-butile, isobutile, *sec*-butile, cicloesile, (cicloesil)metile, ciclopropilmetile e l'omologo o isomero di *n*-amile, *n*-esile, *n*-eptile, *n*-ottile e altri gruppi atomici. L'idrocarbile insaturo ha uno o più di un doppio o triplo legame. Esempi dell'alchile insaturo includono, ma senza limitazioni, vinile, 2-propenile, butenile, crotilo, 2-isopentenile, 2-(butadienile), 2,4-pentadienile, 3-(1,4-pentadienile), etinile, 1- e 3-propinile, 3-butenile e più omologhi e isomeri maggiori.

Salvo ove diversamente specificato, il termine "eteroidrocarbile" o suoi iponimi (come eteroalchile, eteroalchenile, eteroalchinile ed eteroarile, ecc.), da solo o come parte di un altro sostituente, si riferisce a un gruppo idrocarburico lineare, ramificato o ciclico stabile o a qualsiasi loro combinazione, che abbia un numero specificato di atomi di carbonio e almeno un eteroatomo. In alcune forme di realizzazione, il termine "eteroalchile" da solo o in combinazione con un altro termine si riferisce a un

radicale idrocarburico a catena lineare, ramificato stabile o a una loro combinazione che abbia un numero specificato di atomi di carbonio e almeno un eteroatomo. In una forma di realizzazione specifica, un eteroatomo è selezionato tra B, O, N e S, in cui gli atomi di azoto e zolfo sono facoltativamente ossidati e l'atomo di azoto è facoltativamente quaternizzato. L'eteroatomo o il gruppo di eteroatomi può essere situato in qualsiasi posizione interna di un eteroidrocarbile, inclusa la posizione in cui l'idrocarbile si attacca alla parte restante della molecola. Ma i termini "alcossi", "alchilammino" e "alchiltio" (o tioalchile) sono usati con il significato convenzionale e si riferiscono a un gruppo alchile collegato alla parte restante della molecola rispettivamente per mezzo di un atomo di ossigeno, un atomo di ammino o di zolfo. Esempi includono, ma senza limitazioni, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}(\text{O})_2-\text{CH}_3$, $-\text{CH}=\text{CH}-\text{O}-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{N}-\text{OCH}_3$ e $-\text{CH}=\text{CH}-\text{N}(\text{CH}_3)-\text{CH}_3$. Possono essere presenti fino a due eteroatomi consecutivi, come $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{OCH}_3$.

Salvo ove diversamente specificato, il termine "cicloidrocarbile", "eterocicloidrocarbile" o suoi iponimi (come arile, eteroarile, cicloalchile, eterocicloalchile, cicloalchenile, eterocicloalchenile, cicloalchinile, eterocicloalchinile, ecc.) da solo o in combinazione con un altro termine si riferisce a "idrocarbile" o "eteroidrocarbile" ciclizzato. Inoltre, per eteroidrocarbile o eterocicloidrocarbile (ad es. eteroalchile ed eterocicloalchile), un eteroatomo può occupare la posizione in cui l'eterociclo si attacca alla posizione rimanente della molecola. Esempi del cicloalchile includono, ma senza limitazioni, ciclopentile, cicloesile, 1-cicloesenile, 3-cicloesenile, cicloeptile e simili. Esempi non limitativi di eterocicloalchile includono 1-(1,2,5,6-tetraidropiridile), 1-piperidinile, 2-piperidinile, 3-piperidinile, 4-morfolinile, 3-morfolinile, tetraidrofuran-2-ile, tetraidrofuran-3-ile, tetraidro-tiofen-2-ile, tetraidro-tiofen-3-ile, 1-piperazinile e 2-piperazinile.

Se non diversamente specificato, il termine "eterocicloalchile" da solo o in combinazione con altri termini indica un "eteroalchile" ciclizzato e inoltre, rispetto all'"eterocicloalchile", l'eteroatomo può occupare la posizione di attacco del gruppo eterocicloalchile al resto della molecola. In alcune forme di

realizzazione, l'eterocicloalchile è eterocicloalchile a 4-6 elementi; in altre forme di realizzazione, l'eterocicloalchile è eterocicloalcano a 5-6 elementi. Esempi di gruppi eterocicloalchile comprendono, ma senza limitazioni, azetidinite, ossetanite, tietanite, pirrolidinite, pirazolidinite, imidazolidinite, tetraidrotienite, tetraidrofuranite, tetraidropiranite, piperidinite, piperazinite, morfolinite, diossanite, ditanite, isossazolidinite, isotiazolidinite, 1,2-ossazinite, 1,2-tiazinite, esaidropiridazinite, omopiperazinite, omopiperidinite o ossepanite.

Salvo ove diversamente specificato, il termine "alchile" indica un gruppo idrocarburico saturo a catena lineare o ramificato, può essere monosostituito (ad es. $-\text{CH}_2\text{F}$) o polisostituito (ad es. $-\text{CF}_3$), può essere monovalente (ad es. metile), bivalente (ad es. metilene) o multivalente (ad es. metenile). Esempi di alchile includono metile (Me), etile (Et), propile (come *n*-propile e isopropile), butile (come *n*-butile, isobutile, *s*-butile, *t*-butile), pentile (come *n*-pentile, isopentile, neopentile) e simili.

Salvo ove diversamente specificato, il cicloalchile include qualsiasi idrocarbide ciclico o policiclico stabile e qualsiasi atomo di carbonio è saturo, può essere monosostituito o polisostituito e può essere monovalente, bivalente o multivalente. Esempi di cicloalchile includono, ma senza limitazioni, ciclopropile, norbornanite, [2.2.2]biciclottano, [4.4.0]biciclododecanite e simili.

Salvo ove diversamente specificato, il termine "alo" o "alogeno" da solo o come parte di un altro sostituito si riferisce a un atomo di fluoro, cloro, bromo o iodio. Inoltre, il termine "aloalchile" intende includere monoaloalchile e polialoalchile. Ad esempio, il termine "alo($\text{C}_1\text{-C}_4$)alchile" intende includere, ma senza limitazioni, trifluorometile, 2,2,2-trifluoroetile, 4-clorobutite, 3-bromopropile e simili. Esempi di aloalchile includono, ma senza limitazioni, trifluorometile, tricolorometile, pentafluoroetile e pentacloroetile.

Il termine "alcossi" rappresenta qualsiasi alchile definito sopra avente un numero specificato di atomi di carbonio attaccati mediante un ponte di ossigeno. Salvo ove diversamente specificato, alcossi C_{1-6} include alcossi C_1 , C_2 , C_3 , C_4 , C_5 e C_6 . Esempi di alcossi includono, ma senza limitazioni, metossi, etossi, *n*-propossi, isopropossi, *n*-butossi, *sec*-butossi, *terz*-butossi, *n*-pentilossi e *S*-pentossi.

Salvo ove diversamente specificato, il termine "arile" si riferisce a un sostituente aromatico polinsaturo, può essere monosostituito, bisostituito o polisostituito, può essere monovalente, bivalente o multivalente, può essere un anello singolo o un anello multiplo (ad es. da uno a tre anelli; in cui almeno un anello è aromatico), che sono fusi insieme o collegati in modo covalente. Il termine "eteroarile" si riferisce a un arile (o anello) che contiene da uno a quattro eteroatomi. In un esempio illustrativo, un eteroatomo è selezionato tra B, O, N e S, in cui gli atomi di azoto e zolfo sono facoltativamente ossidati e l'atomo di azoto è facoltativamente quaternizzato. Un eteroarile può attaccarsi alla parte restante di una molecola per mezzo di un eteroatomo. Esempi non limitativi di arile o eteroarile includono fenile, naftile, bifenile, pirrolile, pirazolile, imidazolile, pirazinile, ossazolile, fenil-ossazolile, isossazolile, tiazolile, furanile, tienile, piridile, pirimidinile, benzotiazolile, purinile, benzimidazolile, indolile, isochinolile, chinossalinile, chinolile, 1-naftile, 2-naftile, 4-bifenile, 1-pirrolile, 2-pirrolile, 3-pirrolile, 3-pirazolile, 2-imidazolile, 4-imidazolile, pirazinile, 2-ossazolile, 4-ossazolile, 2-fenil-4-ossazolile, 5-ossazolile, 3-isossazolile, 4-isossazolile, 5-isossazolile, 2-tiazolile, 4-tiazolile, 5-tiazolile, 2-furile, 3-furile, 2-tienile, 3-tienile, 2-piridile, 3-piridile, 4-piridile, 2-pirimidile, 4-pirimidile, 5-benzotiazolile, purinile, 2-benzimidazolile, 5-indolile, 1-isochinolile, 5-isochinolile, 2-chinossalinile, 5-chinossalinile, 3-chinolile e 6-chinolile. Il sostituente di qualsiasi sistema ad anello arilico ed eteroarilico è selezionato dal sostituente accettabile descritto a seguire.

Salvo ove diversamente specificato, quando arile si combina con altri termini (come arilossi, ariltio, arilalchile), l'arile include l'anello arilico ed eteroarilico come definito sopra. Pertanto, il termine "aralchile" intende includere il gruppo (ad es. benzile, fenetile, piridilmetile, ecc.) in cui un arile è attaccato a un alchile, incluso un alchile in cui l'atomo di carbonio (ad es. metilene) è stato sostituito da un atomo come ossigeno, per esempio fenossimetile, 2-piridilossi, 3-(1-naftilossi)propile e simili.

Il termine "gruppo uscente" si riferisce a un gruppo funzionale o un atomo che può essere sostituito da un altro gruppo funzionale o atomo attraverso una reazione di sostituzione (come una reazione di sostituzione di affinità). Ad esempio, i gruppi uscenti rappresentativi includono triflato; cloro,

bromo e iodio; gruppo solfonato, come mesilato, tosilato, *p*-bromobenzenzolfonato, *p*-toluenzolfonati e simili; acilossi, come acetossi, trifluoroacetossi e simili.

Il termine "gruppo protettivo" include, ma senza limitazioni, "gruppo ammino-protettivo", "gruppo idrossi-protettivo" o "gruppo tio-protettivo". Il termine "gruppo ammino-protettivo" si riferisce un gruppo protettivo adatto a bloccare la reazione collaterale sull'azoto di un ammino. Gruppi ammino-protettivi rappresentativi includono, ma senza limitazioni: formile; acile, come alcanole (ad es. acetile, tricloroacetile o trifluoroacetile); alcossicarbonile, come *terz*-butossicarbonile (BOC); arilmetossicarbonile come benzilossicarbonile (Cbz) e 9-fluorenilmetossicarbonile (Fmoc); arilmetile come benzile (Bn), tritile (Tr), 1,1-bis-(4'-metossifenil)metile; silile come trimetilsilile (TMS) e *terz*-butildimetilsilile (TBS) e simili. Il termine "gruppo idrossi-protettivo" si riferisce a un gruppo protettivo adatto a bloccare la reazione collaterale sull'idrossi. Gruppi idrossi-protettivi rappresentativi includono, ma senza limitazioni: alchile come metile, etile e *terz*-butile; acile come alcanole (ad es. acetile); arilmetile come benzile (Bn), *p*-metossibenzile (PMB), 9-fluorenilmetile (Fm) e difenilmetile (benzidriole, DPM); silile come trimetilsilile (TMS) e *terz*-butil dimetil silile (TBS) e simili.

Il composto della presente divulgazione può essere preparato mediante una varietà di metodi sintetici ben noti agli esperti del ramo, incluse le forme di realizzazione enumerative che seguono in combinazione con altri metodi di sintesi chimica e la sostituzione equivalente ben nota agli esperti del ramo. La forma di realizzazione preferita include, ma senza limitazioni, la forma di realizzazione della presente divulgazione.

I composti della presente divulgazione possono avere vari usi o indicazioni, tra cui, ma senza limitazione, gli usi o le indicazioni specifici elencati nella presente domanda.

Il solvente utilizzato nella presente divulgazione è disponibile in commercio. La presente divulgazione impiega le seguenti abbreviazioni: aq sta per acqua; HATU sta per *O*-(7-azabenzotriazol-1-il)-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio esafluorofosfato; EDC sta per *N*-(3-dimetilamminopropil)-*N'*-etilcarbodiimmide cloridrato; *m*-CPBA sta per acido 3-cloroperossibenzoico; eq sta per equivalente,

equivalente; CDI sta per carbonildiimidazolo; DCM sta per diclorometano; PE sta per etere di petrolio; DIAD sta per diisopropil azodicarbossilato; DMF sta per *N,N*-dimetilformammide; DMSO sta per dimetil solfossido; EtOAc sta per esteri di acido acetico; EtOH sta per etanolo; MeOH sta per metanolo; CBz sta per benzilossicarbonile, che è un gruppo ammino-protettivo; BOC sta per *terz*-butossicarbonile, che è un gruppo ammino-protettivo; HOAc sta per acido acetico; NaCNBH₃ sta per cianoboroidruo di sodio; T.a. sta per temperatura ambiente; O/N sta per durante la notte; THF sta per tetraidrofurano; Boc₂O sta per di-*terz*-butildicarbonato; TFA sta per acido trifluoroacetico; DIPEA sta per diisopropiletilammina; SOCl₂ sta per cloruro di tionile; CS₂ sta per disolfuro di carbonio; TsOH sta per acido *p*-toluensolfonico; NFSI sta per *N*-fluoro-*N*-(fenilsolfonil)benzensolfonammide; NCS sta per 1-cloropirrolidin-2,5-dione; *n*-Bu₄NF sta per tetrabuttilammonio; iPrOH sta per 2-propanolo; mp sta per punto di fusione; LDA sta per diisopropilammino litio; DEA sta per dietilammina; ACN sta per acetonitrile.

I composti sono denominati manualmente o con il software ChemDraw®, i composti disponibili in commercio utilizzano le loro denominazioni di directory dei fornitori.

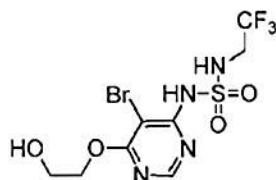
Effetti tecnici: i composti della presente divulgazione mostrano tutti un'attività antagonista molto elevata contro i recettori ET_A umani *in vitro* e la selettività per ET_A/ET_B è superiore a 10.000 volte; i composti della divulgazione sono superiori al composto di controllo macitentan negli esperimenti di caratterizzazione dell'induzione mediata da PXR dell'espressione di CYP3A. Negli esperimenti di caratterizzazione dell'effetto inibitorio su 5 isoenzimi principali del citocromo microsomiale P450 del fegato umano, i composti della presente divulgazione sono superiori a macitentan; l'effetto inibitorio dei composti della presente divulgazione sulle pompe di esportazione di sali biliari è molto più debole di macitentan, riducendo così significativamente il rischio di sviluppare epatotossicità. I composti della presente divulgazione hanno buone proprietà farmacocinetiche sia nei ratti SD che nei cani Beagle.

Descrizione dettagliata della forma di realizzazione preferita

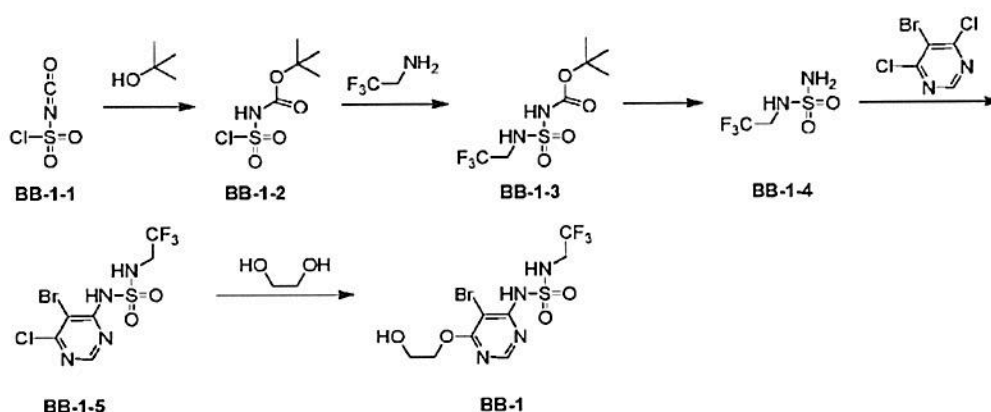
I seguenti esempi illustrano ulteriormente la presente divulgazione, ma la presente divulgazione non è limitata a essi. La presente divulgazione è stata divulgata in dettaglio nel testo e sono state divulgate

anche le sue forme di realizzazione specifiche, per un tecnico del ramo, risulta evidente modificare e migliorare le forme di realizzazione della presente divulgazione nell'ambito della presente divulgazione.

Forma di realizzazione di riferimento 1: frammento BB-1



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto **BB-1-2**

A temperatura ambiente, il composto **BB-1-1** (30,00 g, 211,97 mmol, 18,40 ml) è stato sciolto in diclorometano (200 ml), poi la miscela è stata raffreddata a 0 °C, una soluzione di *terz*-butanolo (15,71 g, 211,97 mmol, 20,40 ml) in diclorometano (100 ml) è stata aggiunta lentamente in gocce (il tempo di discesa è stato di circa 1 ora) e la miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per 1 ora. Il composto bersaglio **BB-1-2** (prodotto grezzo) è stato trattenuto nel solvente di reazione diclorometano e usato direttamente nella reazione successiva.

Passaggio 2: Sintesi del composto **BB-1-3**

A temperatura ambiente, il composto 2,2,2-trifluoroetilammina (8,00 g, 80,77 mmol, 6,35 ml) e la trietilammina (24,52 g, 242,30 mmol, 33,59 ml) sono state disciolte in diclorometano (100,00 ml), poi la miscela è stata raffreddata a 0 °C e una soluzione del composto **BB-1-2** (80,77 mmol, prodotto grezzo) in diclorometano è stata aggiunta lentamente in gocce (il tempo di discesa è stato di circa 1 ora) e la miscela

di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per 14 ore. Terminata la reazione, il solvente è stato rimosso a pressione ridotta, al residuo è stata aggiunta acqua (150 ml), è stato estratto con diclorometano (100 ml) e la fase organica è stata scartata. La fase acquosa ottenuta è stata regolata a un pH di 5-6 con acido cloridrico 1 M ed estratta con etilacetato (100 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-1-3** (solido bianco, 15,00 g, prodotto grezzo). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 3.55 (q, *J*=9.8 Hz, 2H), 1.37 (s, 9H).

Passaggio 3: Sintesi del composto **BB-1-4**

A temperatura ambiente, il composto **BB-1-3** (15,00 g, 53,91 mmol) è stato aggiunto all'acqua (150,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 110 °C e mescolata per 1 ora. Terminata la reazione, la miscela di reazione è stata raffreddata a temperatura ambiente e la miscela è stata estratta con etilacetato (100 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia (100 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-1-4** (solido giallo, 7,50 g, prodotto grezzo). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 7.51 (t, *J*=7.0 Hz, 1H), 6.83 (s, 2H), 3.69-3.54 (m, 2H). ¹⁹F RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: -70,81 (s, 3F).

Passaggio 4: Sintesi del composto **BB-1-5**

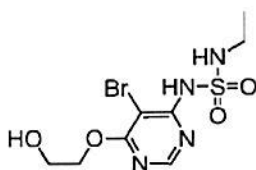
A temperatura ambiente, il composto **BB-1-4** (1,56 g, 8,78 mmol) e *terz*-butossido di potassio (1,97 g, 17,55 mmol) sono stati dissolti in dimetilsolfossido (80,00 ml) e la miscela di reazione è stata mescolata per 1 ora in atmosfera di azoto a temperatura ambiente. Quindi 5-bromo-4,6-dicloropirimidina (2,00 g, 8,78 mmol) è stata aggiunta alla miscela di reazione e la miscela è stata mescolata ulteriormente a temperatura ambiente per 10 ore. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua (100 ml) e il pH è stato regolato a 5-6 con acido cloridrico diluito 1 M e la miscela è stata estratta con etilacetato (50 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con acqua (50 ml × 2), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente del filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 10/1- 4/1, rapporto in volume) a dare il

composto bersaglio **BB-1-5** (solido giallo, 1,90 g, resa: 58,56%). ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) δ : 8.60 (s, 1H), 7.51 (t, $J=7.0$ Hz, 1H), 6.83 (s, 1H), 3.84 (q, $J=9.6$ Hz, 2H).

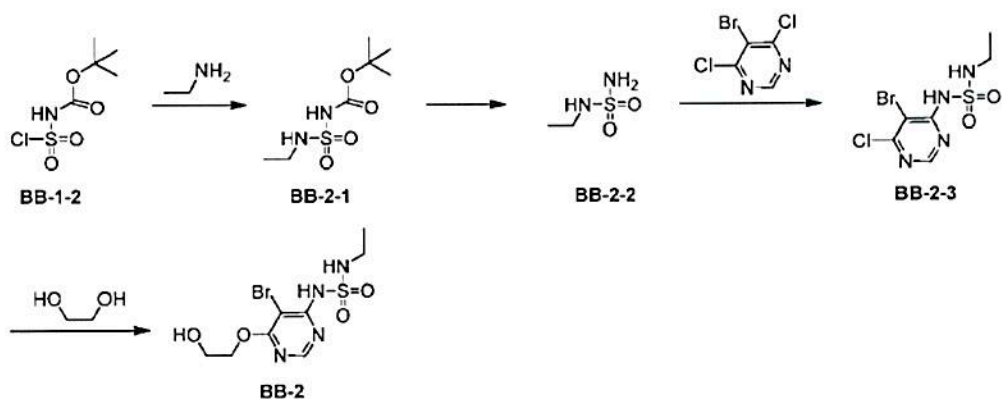
Passaggio 5: Sintesi del composto **BB-1**

A temperatura ambiente, è stato aggiunto *terz*-butossido di potassio (1,73 g, 15,42 mmoli) a etilenglicole (52,68 g, 848,46 mmoli, 47,46 ml) e dimetiletere di etilenglicole (10 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C in atmosfera di azoto e mescolata per 0,5 ore, una soluzione del composto **BB-1-5** (1,90 g, 5,14 mmoli) in dimetiletere di etilenglicole (20 ml) è stata aggiunta alla soluzione e la miscela di reazione è stata riscaldata a 100 °C e mescolata per 16 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la soluzione di reazione è stata raffreddata a temperatura ambiente, è stata aggiunta acqua (100 ml), il pH è stato regolato a su 5-6 con acido cloridrico diluito 2 M, quindi la miscela è stata estratta con etilacetato (60 ml \times 3). Le fasi organiche sono state combinate, essiccate su solfato di sodio anidro, poi filtrate e il filtrato è stato concentrato a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 8/1-3/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-1** (solido giallo, 1,55 g, resa: 76,31%). MS-ESI m/z : 394.7 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 396.7 $[\text{M}+\text{H}+2]^+$. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.33 (s, 1H), 6.04 (s, 1H), 4.53 (t, $J=4.4$ Hz, 2H), 3.93 (t, $J=4.4$ Hz, 2H), 3.67 (q, $J=8.6$ Hz, 2H). ^{19}F RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : -71,87 (s, 3F).

Forma di realizzazione di riferimento 2: frammento **BB-2**



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto **BB-2-1**

A temperatura ambiente, etilammina cloridrato (5,00 g, 61,32 mmol) e trietilammina (18,61 g, 183,96 mmol, 25,49 ml) sono state aggiunte a diclorometano (100,00 ml), quindi la miscela di reazione è stata raffreddata a 0 °C e una soluzione del composto **BB-1-2** (61,32 mmol, prodotto grezzo) in diclorometano è stata aggiunta lentamente in gocce (il tempo di discesa è stato di circa 1 ora) e la miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per 16 ore. Terminata la reazione, il solvente è stato rimosso a pressione ridotta. Al residuo è stata aggiunta acqua (150 ml), è stato estratto con diclorometano (100 ml) e la fase organica è stata scartata. La fase acquosa ottenuta è stata regolata a un pH di 5-6 con acido cloridrico 1 M ed estratta con etilacetato (100 ml \times 3). Le fasi organiche sono state combinate, essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate, quindi il solvente è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-2-1** (solido bianco, 6,00 g, prodotto grezzo). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.07 (t, $J=5.6$ Hz, 1H), 3.13-3.01 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 1.16 (t, $J=7.3$ Hz, 3H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **BB-2-2**

A temperatura ambiente, il composto **BB-2-1** (7,02 g, 31,30 mmol) è stato aggiunto all'acqua (200,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 110 °C e mescolata per 1 ora. Terminata la reazione, la miscela di reazione è stata raffreddata a temperatura ambiente e la miscela è stata estratta con etilacetato (100 ml \times 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (50 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-2-2** (olio giallo, 2,87 g, prodotto grezzo). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 4.80 (s, 2H), 4.57 (s, 1H), 3.23-3.14 (m, 2H), 1.24 (t, $J=7.3$ Hz, 3H).

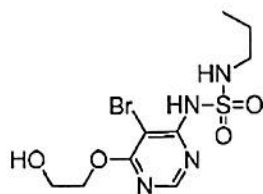
Passaggio 3: Sintesi del composto **BB-2-3**

A temperatura ambiente, il composto **BB-2-2** (2,87 g, 23,12 mmol) e *terz*-butossido di potassio (5,19 g, 46,24 mmol) sono stati aggiunti a dimetil solfossido (80,00 ml), quindi 5-bromo-4,6-dicloropirimidina (5,27 g, 23,12 mmol) è stata aggiunto alla miscela di reazione e la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 10 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua (150 ml) e il pH è stato regolato a 5-6 con acido cloridrico diluito 1 M e la soluzione è stata estratta con etilacetato (100 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con acqua (50 ml × 2), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente del filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 10/1- 4/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-2-3** (solido giallo, 2,40 g, resa: 32,89%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.59 (s, 1H), 2.96 (q, *J*=7.1 Hz, 2H), 1.02 (t, *J*=7.0 Hz, 3H).

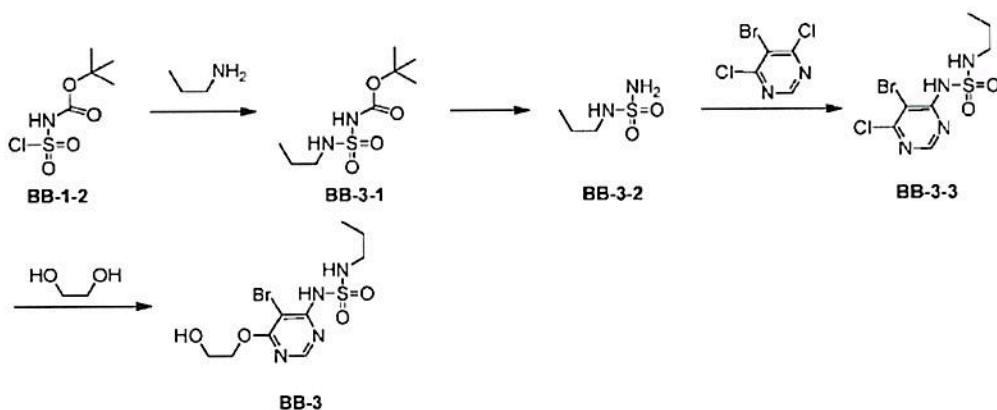
Passaggio 4: Sintesi del composto **BB-2**

A temperatura ambiente, *terz*-butossido di potassio (1,50 g, 13,41 mmol) è stato aggiunto a una soluzione di miscela di etilenglicole (33,30 g, 536,49 mmol, 30,00 ml) ed dimetiletere di etilenglicole (10 ml), la miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C e mescolata per 0,5 ore in atmosfera di azoto, poi una soluzione del composto **BB-2-3** (1,41 g, 4,47 mmol) in dimetiletere di etilenglicole (20 ml) è stata aggiunta alla soluzione in una porzione e la miscela di reazione è stata riscaldata a 100 °C e mescolata per 16 ore. Terminata la reazione, la miscela di reazione è stata raffreddata a temperatura ambiente, è stata aggiunta acqua (100 ml), il pH è stato regolato a su 5-6 con acido cloridrico diluito 2 M, quindi la miscela è stata estratta con etilacetato (60 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, essiccate su solfato di sodio anidro, poi filtrate e il filtrato è stato concentrato a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 8/1- 3/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-2** (solido giallo, 1,36 g, resa: 87,21%). MS-ESI *m/z*: 340.7 [M+H]⁺, 342.7 [M+H+2]⁺. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.38 (s, 1H), 7.66 (s, 1H), 5.54 (t, *J*=5.9 Hz, 1H), 4.60 (t, *J*=4.8 Hz, 2H), 4.00 (t, *J*=4.0 Hz, 2H), 3.19-3.03 (m, 2H), 2.45 (s ampio, 1H), 1.21 (t, *J*=7.2 Hz, 3H).

Forma di realizzazione di riferimento 3: frammento BB-3



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto **BB-3-1**

A temperatura ambiente, *n*-propilammina (7,61 g, 128,70 mmol, 10,57 ml) e trietilammina (14,21 g, 140,40 mmol, 19,47 ml) sono state disciolte in diclorometano (100,00 ml), quindi la miscela è stata raffreddata a 0 °C, quindi una soluzione del composto **BB-1-2** (117,00 mmol, prodotto grezzo) in diclorometano è stata aggiunta lentamente alla soluzione di reazione (il tempo di discesa è stato di circa 0,5 ore) e la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 18 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua (200 ml) e la miscela è stata estratta con diclorometano (200 ml × 2). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con acido cloridrico diluito 1 M (50 ml) e salamoia satura (200 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-3-1** (solido bianco, 21,00 g, resa: 75,32%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 2.93 (t, *J*=7.0 Hz, 2H), 1.58-1.48 (m, 2H), 1.46-1.37 (s, 9H), 0.88 (t, *J*=7.4 Hz, 3H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **BB-3-2**

A temperatura ambiente, il composto **BB-3-1** (20,00 g, 83,93 mmol) è stato aggiunto all'acqua

(100,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 100 °C e mescolata per 1 ora in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la soluzione di reazione è stata raffreddata a temperatura ambiente e la miscela è stata estratta con etilacetato (100 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-3-2** (olio incolore, 10,00 g, resa: 86,22%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 6.44 (s, 2H), 2.88-2.78 (m, 2H), 1.52-1.43 (m, 2H), 0.87 (t, *J*=7.5 Hz, 3H).

Passaggio 3: Sintesi del composto **BB-3-3**

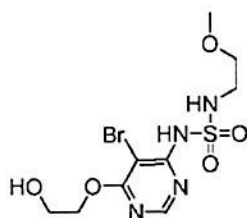
A temperatura ambiente, il composto **BB-3-2** (18,19 g, 131,66 mmol) è stato disciolto in dimetilsolfossido (300,00 ml), quindi è stato aggiunto *terz*-butossido di potassio (19,70 g, 175,54 mmol) e la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 0,5 ore. Quindi, 5-bromo-4,6-dicloropirimidina (20,00 g, 87,77 mmol) è stata aggiunta alla soluzione di reazione e la miscela è stata mescolata ulteriormente a temperatura ambiente per 48 ore. Terminata la reazione, è stata aggiunta salamoia satura (1000 ml) e il pH è stato regolato a 4-5 con acido cloridrico diluito al 10% e la miscela è stata estratta con etilacetato (500 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, essiccate su solfato di sodio anidro, poi filtrate e il filtrato è stato concentrato a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 10/1-1/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-3-3** (solido bianco, 15,00 g, resa: 51,85%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.58 (s, 1H), 7.84 (s, 1H), 5.52-5.54 (m, 1H), 3.07 (q, *J*=6.8 Hz, 2H), 1.59-1.64 (m, 2H), 0.96 (t, *J*=7.2 Hz, 3H).

Passaggio 4: Sintesi del composto **BB-3**

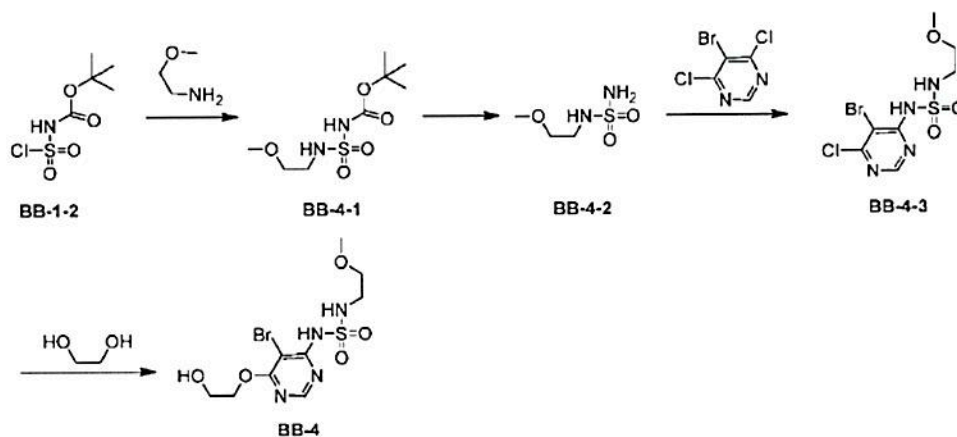
A temperatura ambiente, *terz*-butossido di potassio (10,21 g, 91,02 mmol) è stato aggiunto a etilenglicole (56,50 g, 910,19 mmol) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C e mescolata per 0,5 ore in atmosfera di azoto. Poi, una soluzione del composto **BB-3-3** (15,00 g, 45,51 mmol) in dimetiletere di etilenglicole (50,00 ml) è stata aggiunta alla soluzione e la miscela di reazione è stata riscaldata a 100 °C e mescolata per 48 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a

temperatura ambiente, è stata aggiunta acqua (200 ml), il pH è stato regolato a su 4 con acido cloridrico diluito 1 M e la miscela è stata estratta con etilacetato (200 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (200 ml), essiccate su solfato di sodio anidro e filtrate, il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta e il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 10/1-1/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-3** (solido giallo, 7,10 g, resa: 40,13%). MS-ESI m/z : 354.8 $[M+H]^+$, 356.8 $[M+H+2]^+$. 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.39 (s, 1H), 7.68 (s, 1H), 5.59-5.62 (m, 1H), 4.83-4.75 (m, 2H), 4.02-4.00 (m, 2H), 3.04 (q, $J=6.8$ Hz, 2H), 2.05 (s ampio, 1H) 1.63-1.57 (m, 2H), 0.95 (t, $J=7.2$ Hz, 3H).

Forma di realizzazione di riferimento 4: frammento BB-4



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto **BB-4-1**

A temperatura ambiente, il composto 2-metossietilammina (2,00 g, 26,63 mmol, 2,33 ml) e trietilammina (5,39 g, 53,26 mmol, 7,38 ml) sono state disciolte in diclorometano (100,00 ml) e poi la miscela di reazione è stata raffreddata a 0 °C, una soluzione del composto **BB-1-2** (26,63 mmol, prodotto grezzo) in diclorometano è stata aggiunta lentamente alla soluzione di reazione (il tempo di discesa è stato di circa 0,5 ore) e la miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per 15 ore.

Terminata la reazione, il solvente è stato rimosso sotto pressione ridotta e al residuo è stata aggiunta acqua (100 ml), il pH è stato regolato a su 5 con acido cloridrico 1 M e la miscela è stata estratta con etilacetato (100 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-4-1** (solido bianco, 6,00 g, resa: 88,59%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.37 (s, 1H), 5.50 (s ampio, 1H), 3.53 (t, *J*=5.0 Hz, 2H), 3.40 (s, 3H), 3.26 (d, *J*=4.8 Hz, 2H), 1.51 (s, 9H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **BB-4-2**

A temperatura ambiente, il composto **BB-4-1** (6,00 g, 23,59 mmol) è stato aggiunto all'acqua (100,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 100 °C e mescolata per 1 ora. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e la miscela è stata estratta con etilacetato (100 ml × 3). Gli strati organici sono stati combinati, lavati con salamoia satura (100 ml), essiccati su solfato di sodio anidro, poi filtrati, il filtrato è stato concentrato a pressione ridotta a dare il composto **BB-4-2** (solido giallo, 2,00 g, resa: 54,99%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 5.52 (s ampio, 2H), 3.58-3.48 (m, 2H), 3.41-3.19 (m, 5H).

Passaggio 3: Sintesi del composto **BB-4-3**

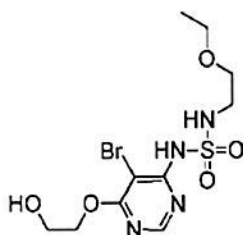
A temperatura ambiente, il composto **BB-4-2** (1,12 g, 7,24 mmol) e *terz*-butossido di potassio (2,22 g, 19,75 mmol) sono stati aggiunti a dimetil solfossido (20,00 ml) e la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 0,5 ore, quindi alla soluzione di reazione è stata aggiunta 5-bromo-4,6-dicloropirimidina (1,50 g, 6,58 mmol) e la miscela di reazione è stata ulteriormente mescolata a temperatura ambiente per 6 ore. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua (100 ml) e il pH è stato regolato a 6 con acido cloridrico diluito 1 M e la miscela è stata estratta con etilacetato (100 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: diclorometano /metanolo = 30/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-4-3** (solido giallo, 1,40 g, resa: 61,56%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.57

(s, 1H), 7.89 (s ampio, 1H), 5.99 (s ampio, 1H), 3.36 (d ampio, $J=2.3$ Hz, 2H), 3.32-3.20 (m, 5H).

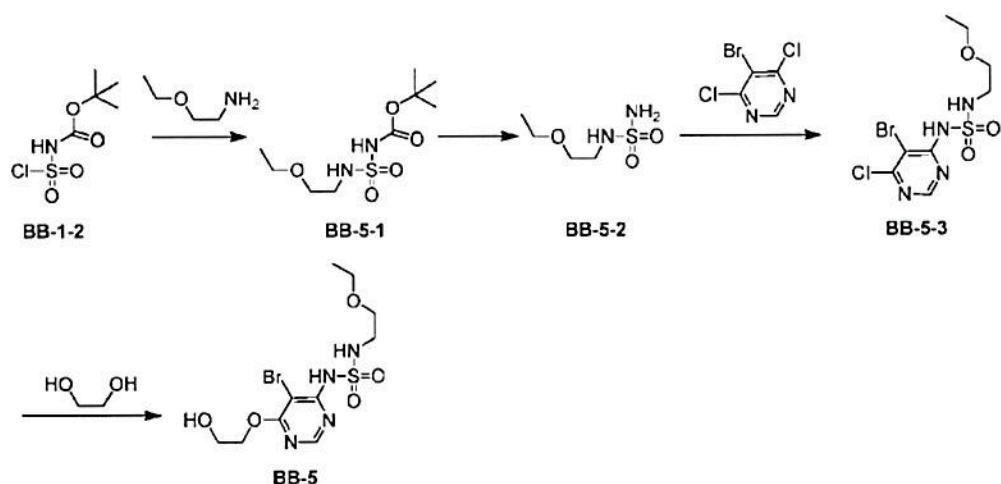
Passaggio 4: Sintesi del composto **BB-4**

A temperatura ambiente, *terz*-butossido di potassio (1,36 g, 12,15 mmol) è stato aggiunto a etilenglicole (22,20 g, 357,66 mmol, 20,00 ml), la miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C e mescolata per 0,5 ore e poi la soluzione del composto **BB-4 3** (1,40 g, 4,05 mmol) in dimetiletere di etilenglicole (10,00 ml) è stata aggiunta alla soluzione e la miscela di reazione è stata riscaldata a 110 °C e mescolata per 12 ore. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, è stata aggiunta acqua (50 ml), il pH è stato regolato a 3 con acido cloridrico diluito 1 M e la miscela è stata estratta con etilacetato (50 ml \times 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (50 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: cloruro di metilene/metanolo = 20/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-4** (solido giallo, 1,20 g, resa: 76,63%). MS-ESI m/z : 370.8 $[M+H]^+$, 372.8 $[M+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.39 (s, 1H), 7.64 (s ampio, 1H), 6.03-5.94 (m, 1H), 4.65-4.54 (m, 2H), 3.99 (d, $J=3.0$ Hz, 2H), 3.49 (t, $J=5.0$ Hz, 2H), 3.33-3.19 (m, 5H), 2.39 (t, $J=5.3$ Hz, 1H).

Forma di realizzazione di riferimento 5: frammento BB-5



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto **BB-5-1**

A temperatura ambiente, il composto 2-etossietilammina (5,00 g, 56,09 mmol) e trietilammina (11,35 g, 112,18 mmol, 15,55 ml) sono state disciolte in diclorometano (50,00 ml) in atmosfera di azoto, la miscela è stata raffreddata a 0 °C e poi una soluzione del composto **BB-1-2** (56,09 mmol, prodotto grezzo) in diclorometano è stata aggiunta in gocce alla soluzione di reazione e la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 12 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua (80 ml) e la miscela è stata estratta con diclorometano (80 ml × 2). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con acido cloridrico diluito 1 M (50 ml) e salamoia satura (200 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-5-1** (solido bianco, 11,00 g, resa: 73,09%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.41 (s, 1H), 5.43 (t, *J*=5.7 Hz, 1H), 3.50 (t, *J*=5.0 Hz, 2H), 3.46-3.40 (m, 2H), 3.19 (q, *J*=5.5 Hz, 2H), 1.44 (s, 9H), 1.14 (t, *J*=7.0 Hz, 3H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **BB-5-2**

A temperatura ambiente, il composto **BB-5-1** (10,00 g, 37,27 mmol) è stato aggiunto all'acqua (100,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 100 °C e mescolata per 12 ore. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e la miscela è stata estratta con etilacetato (80 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml × 2), essiccate su solfato di sodio anidro e il solvente è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio

BB-5-2 (solido bianco, 5,20 g, resa: 82,95%). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 5.02 (t, $J=5.8$ Hz, 1H), 5.00-4.88 (m, 2H), 3.63-3.57 (m, 2H), 3.55 (d, $J=7.0$ Hz, 2H), 3.33 (d, $J=5.0$ Hz, 2H), 1.22 (t, $J=6.2$ Hz, 3H).

Passaggio 3: Sintesi del composto **BB-5-3**

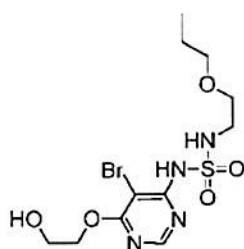
A temperatura ambiente, il composto **BB-5-2** (5,00 g, 29,72 mmol) e il *terz*-butossido di potassio (10,01 g, 89,17 mmol) sono stati aggiunti a dimetil solfossido (50,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 35 °C e mescolata per 0,5 ore, quindi alla soluzione di reazione è stata aggiunta 5-bromo-4,6-dicloropirimidina (6,77 g, 29,72 mmol) e la miscela di reazione è stata ulteriormente mescolata a 35 °C per 12 ore. Terminata la reazione, è stato aggiunto acido cloridrico (0,5 M, 50 ml) e la miscela è stata estratta con etilacetato (50 ml \times 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml \times 2), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 10/1- 3/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-5-3** (solido giallo chiaro, 2,10 g, resa: 16,76%). MS-ESI m/z : 358.9 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 360.8 $[\text{M}+\text{H}+2]^+$. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.49 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 5.99 (t, $J=5.5$ Hz, 1H), 3.47-3.43 (m, 2H), 3.34 (d, $J=7.0$ Hz, 2H), 3.18 (d, $J=4.7$ Hz, 2H), 1.05 (t, $J=6.9$ Hz, 3H).

Passaggio 4: Sintesi del composto **BB-5**

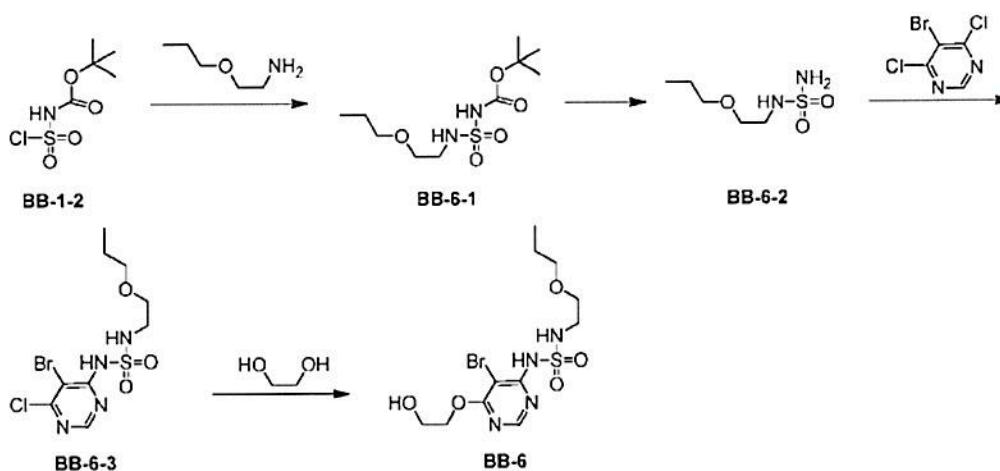
A temperatura ambiente, *terz*-butossido di potassio (1,87 g, 16,68 mmol) è stato aggiunto a etilenglicole (33,30 g, 536,49 mmol, 30,00 ml), la miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C e mescolata per 0,5 ore sotto atmosfera di azoto, poi una soluzione del composto **BB-5-3** (2,00 g, 5,56 mmol) in dimetiletere di etilenglicole (20,00 ml) è stata aggiunta alla soluzione e la miscela di reazione è stata riscaldata a 110 °C e mescolata per 12 ore sotto atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, è stato aggiunto acido cloridrico (0,5 M, 50 ml) e la miscela è stata estratta con etilacetato (50 ml \times 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml \times 2), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a

pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 10/1- 1/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-5** (solido giallo chiaro, 1,30 g, resa: 60,69%). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.38 (s, 1H), 7.67 (s ampio, 1H), 6.09 (d, $J=5.0$ Hz, 1H), 4.72-4.52 (m, 2H), 4.00 (s ampio, 2H), 3.62-3.50 (m, 2H), 3.47-3.36 (m, 2H), 3.31-3.20 (m, 2H), 2.46 (s ampio, 1H), 1.21-1.05 (m, 3H).

Forma di realizzazione di riferimento 6: frammento BB-6



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto **BB-6-1**

A temperatura ambiente, il composto 2-*n*-propossietilammina (5,00 g, 48,47 mmol) e trietilammina (9,81 g, 96,94 mmol, 13,44 ml) sono state disciolte in diclorometano (50,00 ml), la miscela di reazione è stata raffreddata a 0 °C in atmosfera di azoto e poi una soluzione del composto BB-1-2 (48,47 mmol, prodotto grezzo) in diclorometano è stata lentamente aggiunta in gocce alla soluzione di reazione e la miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per 12 ore. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua (80 ml) e la miscela è stata estratta con diclorometano (80 ml \times 2). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con acido cloridrico diluito 1 M (50 ml) e

salamoia satura (200 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-6-1** (solido bianco, 11,00 g, resa: 80,37%).

Passaggio 2: Sintesi del composto **BB-6-2**

A temperatura ambiente, il composto **BB-6-1** (11,00 g, 38,96 mmol) è stato aggiunto all'acqua (100,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 100 °C e mescolata per 2 ore. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e la miscela è stata estratta con etilacetato (80 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml × 2), essiccate su solfato di sodio anidro e il solvente è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-6-2** (solido bianco, 5,60 g, resa: 78,87%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 5.01-4.96 (m, 1H), 4.90 (s ampio, 2H), 3.58-3.66 (m, 2H), 3.41-3.47 (m, 2H), 3.34 (d, *J*=4.5 Hz, 2H), 1.55-1.68 (m, 2H), 0.90-0.96 (m, 3H).

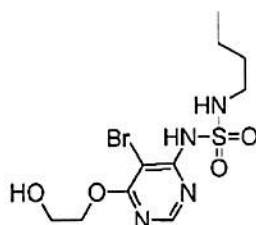
Passaggio 3: Sintesi del composto **BB-6-3**

A temperatura ambiente, il composto **BB-6-2** (5,00 g, 27,44 mmol) e il *terz*-butossido di potassio (9,24 g, 82,32 mmol) sono stati aggiunti a dimetil solfossido (50,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 35 °C e mescolata per 0,5 ore, quindi alla soluzione di reazione è stata aggiunta 5-bromo-4,6-dicloropirimidina (6,25 g, 27,44 mmol) e la miscela di reazione è stata ulteriormente mescolata a 35 °C per 12 ore. Terminata la reazione, è stato aggiunto acido cloridrico (0,5 M, 50 ml) e la miscela è stata estratta con etilacetato (50 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml × 2), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 10/1- 3/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-6-3** (solido giallo chiaro, 2,00 g, resa: 18,15%). MS-ESI *m/z*: 372.8 [M+H]⁺, 374.8 [M+H+2]⁺. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.48 (s, 1H), 7.77 (s, 1H), 5.96 (t, *J*=5.6 Hz, 1H), 3.43-3.47 (m, 2H), 3.24 (t, *J*=6.6 Hz, 2H), 3.18 (d, *J*=4.7 Hz, 2H), 1.43 (d, *J*=7.2 Hz, 2H), 0.81 (t, *J*=7.4 Hz, 3H).

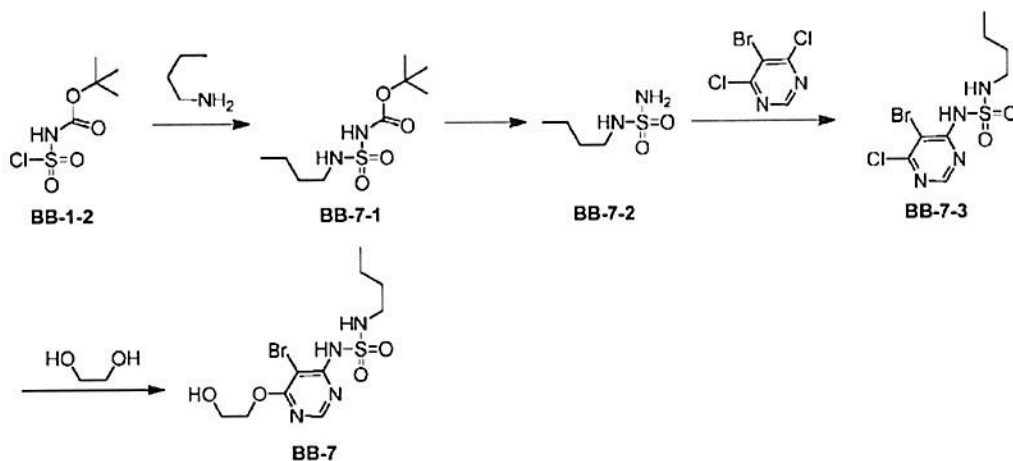
Passaggio 4: Sintesi del composto **BB-6**

A temperatura ambiente, *terz*-butossido di potassio (1,80 g, 16,06 mmol) è stato aggiunto a etilenglicole (33,30 g, 536,49 mmol, 30,00 ml), la miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C e mescolata per 0,5 ore in atmosfera di azoto, poi una soluzione del composto **BB-6-3** (2,00 g, 5,35 mmol) in dimetiletere di etilenglicole (20,00 ml) è stata aggiunta alla soluzione e la miscela di reazione è stata riscaldata a 110 °C e mescolata per 12 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, è stato aggiunto acido cloridrico (0,5 M, 30 ml) e la miscela è stata estratta con etilacetato (50 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml × 2), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 10/1- 1/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-6** (solido giallo chiaro, 1,20 g, resa: 56,18%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.39 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 6.08 (t, *J*=5.7 Hz, 1H), 4.56-4.65 (m, 2H), 3.97-4.03 (m, 2H), 3.52-3.57 (m, 2H), 3.33 (t, *J*=6.6 Hz, 2H), 3.24 (q, *J*=5.5 Hz, 2H), 2.44 (s ampio, 1H), 1.44-1.59 (m, 2H), 0.90 (t, *J*=7.4 Hz, 3H).

Forma di realizzazione di riferimento 7: frammento BB-7



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto **BB-7-1**

A temperatura ambiente, *n*-butilammina (2,83 g, 38,64 mmol, 3,82 ml) e trietilammina (3,91 g, 38,64 mmol, 5,36 ml) sono state disciolte in diclorometano (100 ml) e la miscela di reazione è stata raffreddata a 0 °C, poi una soluzione del composto **BB-1-2** (46,37 mmol, prodotto grezzo) in diclorometano è stata aggiunta lentamente in gocce alla soluzione di reazione (il tempo di discesa è stato di circa 0,5 ore) e la miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per 16 ore. Terminata la reazione, il solvente è stato rimosso a pressione ridotta. Al residuo è stato aggiunto diclorometano (200 ml) e lavato con, rispettivamente, acido cloridrico 1 M diluito (80 ml) e acqua (100 ml × 2). La fase organica è stata essiccata su solfato di sodio anidro, filtrata e il solvente è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-7-1** (solido bianco, 3,00 g, resa: 30,77%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 2.98 (q, *J*=8.0 Hz, 2H), 1.47 (t, *J*=4.0 Hz 2H), 1.24-1.38 (m, 11H), 0.86 (t, *J*=4.0 Hz, 3H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **BB-7-2**

A temperatura ambiente, il composto **BB-7-1** (3,00 g, 11,89 mmol) è stato aggiunto all'acqua (150,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 110 °C e mescolata per 0,5 ora. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e la miscela è stata estratta con diclorometano (50 ml). La fase organica è stata scartata e la fase acquosa è stata estratta con etilacetato (100 ml × 3). Poi, le fasi organiche sono state combinate, essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-7-2** (olio incolore, 1,10 g, resa: 60,78%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 3.06 (q, *J*=8.0 Hz, 2H), 1.46-1.54 (m, 2H), 1.32 (s, 2H), 0.87 (t, *J*=8.0 Hz, 3H).

Passaggio 3: Sintesi del composto **BB-7-3**

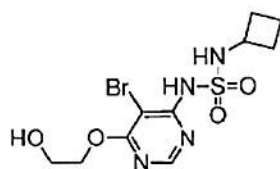
A temperatura ambiente, il composto **BB-7-2** (1,10 g, 7,23 mmol) è stato sciolto in dimetilsolfossido (50,00 ml), poi è stato aggiunto *terz*-butossido di potassio (1,22 g, 10,85 mmol), la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 0,5 ore in atmosfera di azoto. Poi, è stata

aggiunta 5-bromo-4,6-dicloropirimidina (1,98 g, 8,68 mmol) alla soluzione di reazione e la miscela di reazione è stata ulteriormente mescolata per 3 ore a temperatura ambiente sotto protezione di azoto. Terminata la reazione, è stata aggiunta salamoia satura (50 ml) e il pH è stato regolato a 4-5 con acido cloridrico diluito al 10% e la miscela è stata estratta con etilacetato (80 ml). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con acqua (50 ml × 2), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente del filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 10/1-1/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-7-3** (solido bianco, 350,00 mg, resa: 9,58%). MS-ESI m/z : 342.7 [M+H]⁺, 344.7 [M+H+2]⁺. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.49 (s, 1H), 7.74 (s, 1H), 5.41 (t, $J=6.0$ Hz, 1H), 3.00 (q, $J=7.2$ Hz, 2H), 1.47 (q, $J=7.6$ Hz, 2H), 1.28 -1.32 (m, 2H), 0.84 (t, $J=7.2$ Hz, 3H).

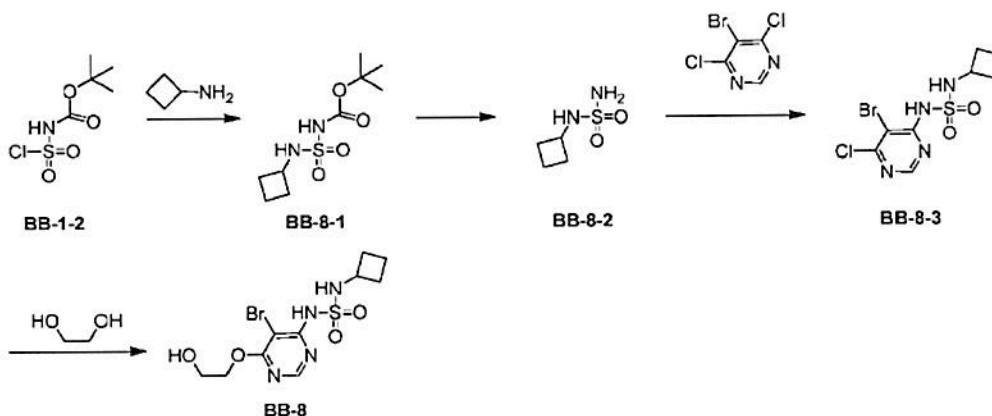
Passaggio 4: Sintesi del composto **BB-7**

A temperatura ambiente, *terz*-butossido di potassio (343,36 mg, 3,06 mmol) è stato aggiunto a etilenglicole (3,17 g, 51,00 mmol, 2,85 ml), la miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C e mescolata per 0,5 ore sotto atmosfera di azoto, poi una soluzione del composto **BB-7-3** (350,00 mg, 1,02 mmol) in dimetiletere di etilenglicole (20,00 ml) è stata aggiunta alla soluzione in una porzione e la miscela di reazione è stata riscaldata a 110 °C e mescolata per 15 ore sotto atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, vi è stata aggiunta acqua ghiacciata (50 ml), il pH regolato a 4 con acido cloridrico diluito 1 M ed estratta con etilacetato (20 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (50 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia preparativa (eluente: diclorometano /metanolo = 20/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-7** (solido giallo, 300,00 mg, resa: 79,66%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.30 (s, 1H), 7.54 (s, 1H), 5.44 (t, $J=6.0$ Hz, 1H), 4.52 (t, $J=4.8$ Hz, 2H), 3.92 (q, $J=3.2$ Hz, 2H), 2.98 (q, $J=6.8$ Hz, 2H), 2.31 (t, $J=6.0$ Hz, 1H), 1.45 (q, $J=8.0$ Hz, 2H), 1.26-1.32 (m, 2H), 0.83 (t, $J=7.2$ Hz, 3H).

Forma di realizzazione di riferimento 8: frammento **BB-8**



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto **BB-8-1**

A temperatura ambiente, ciclobutilammina (5,00 g, 70,30 mmol, 6,02 ml) e trietilammina (8,54 g, 84,36 mmol, 11,70 ml) sono state disciolte in diclorometano (100,00 ml) e la miscela di reazione è stata raffreddata a 0 °C, quindi una soluzione del composto **BB-1-2** (84,36 mmol, prodotto grezzo) in diclorometano è stata aggiunta in gocce alla soluzione di reazione (il tempo di discesa è stato di circa 0,5 ore) e la miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per 15 ore. Terminata la reazione, la miscela è stata estratta con acqua (100 ml × 3). Le fasi acquose sono state combinate, regolate a un pH di 5 con acido cloridrico diluito 1 M ed estratte con etilacetato (100 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-8-1** (solido bianco, 12,00 g, resa: 68,19%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 5.35 (d, *J*=9.8 Hz, 1H), 3.94-3.84 (m, 1H), 3.15 (d, *J*=7.3 Hz, 1H), 2.38-2.30 (m, 2H), 2.03-1.90 (m, 2H), 1.77-1.61 (m, 2H), 1.50 (s, 9H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **BB-8-2**

A temperatura ambiente, il composto **BB-8-1** (5,00 g, 19,98 mmol) è stato aggiunto all'acqua (100,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 100 °C e mescolata per 1 ora. Terminata la

reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e la miscela è stata estratta con etilacetato (100 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-8-2** (solido bianco, 2,90 g, resa: 96,63%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 4.72-4.48 (m, 2H), 4.07-3.81 (m, 1H), 2.47-2.25 (m, 2H), 2.04-1.90 (m, 2H), 1.83-1.65 (m, 2H).

Passaggio 3: Sintesi del composto **BB-8-3**

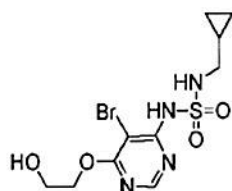
A temperatura ambiente, il composto **BB-8-2** (2,90 g, 19,31 mmol) e il *terz*-butossido di potassio (4,33 g, 38,62 mmol) sono stati aggiunti a dimetil solfossido (80,00 ml) e la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 0,5 ore, quindi alla soluzione di reazione è stata aggiunta 5-bromo-4,6-dicloropirimidina (3,52 g, 15,45 mmol) e la miscela di reazione è stata ulteriormente mescolata a temperatura ambiente per 15 ore. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua (150 ml) e il pH è stato regolato a 6 con acido cloridrico diluito 1 M e la miscela è stata estratta con etilacetato (200 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (200 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 10/1- 3/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-8-3** (solido giallo, 2,50 g, resa: 37,90%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.59 (s, 1H), 7.82 (s, 1H), 5.71 (d, *J*=8.5 Hz, 1H), 4.10-3.74 (m, 1H), 2.30-2.17 (m, 2H), 1.94-1.79 (m, 2H), 1.74-1.58 (m, 2H).

Passaggio 4: Sintesi del composto **BB-8**

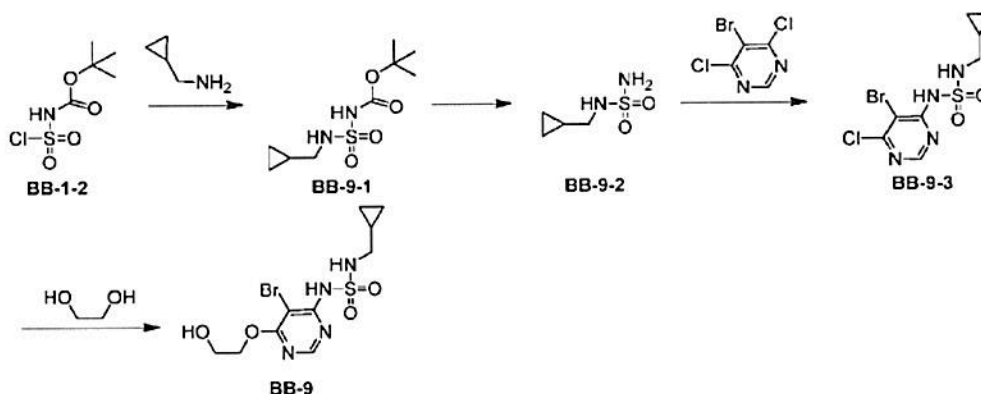
A temperatura ambiente, *terz*-butossido di potassio (2,46 g, 21,96 mmol) è stato aggiunto a etilenglicole (22,20 g, 357,66 mmol, 20,00 ml), la miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C e mescolata per 0,5 ore in atmosfera di azoto, poi una soluzione del composto **BB-8-3** (2,50 g, 7,32 mmol) in dimetiletere di etilenglicole (80,00 ml) è stata aggiunta alla soluzione e la miscela di reazione è stata riscaldata a 110 °C e mescolata per 15 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, vi è stata aggiunta acqua ghiacciata (200 ml), il pH regolato a 4 con

acido cloridrico diluito 1 M ed estratta con etilacetato (200 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (200 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 5/1- 1/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-8** (solido giallo, 1,1 g, resa: 40,92%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.41 (s, 1H), 7.62 (s, 1H), 5.72 (d ampio, *J*=8.8 Hz, 1H), 4.81-4.42 (m, 2H), 4.03-3.96 (m, 2H), 3.96-3.87 (m, 1H), 2.31-2.16 (m, 2H), 1.93-1.79 (m, 2H), 1.73-1.61 (m, 2H).

Forma di realizzazione di riferimento 9: frammento BB-9



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto **BB-9-1**

A temperatura ambiente, ciclopropilmetilammina (5,00 g, 70,30 mmol) e trietilammina (14,23 g, 140,60 mmol, 19,49 ml) sono state disciolte in diclorometano (100,00 ml), la miscela di reazione è stata raffreddata a 0 °C e poi è stata aggiunta una soluzione del composto **BB-1-2** (70,30 mmol, prodotto grezzo) in diclorometano (tempo di discesa di circa 0,5 ore), la miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per 15 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, il solvente è stato rimosso sotto pressione ridotta e al residuo è stata aggiunta acqua (100 ml), il pH è stato regolato a 5 con acido cloridrico diluito 1 M ed estratto con etilacetato (100 ml × 3). Le fasi organiche sono state

combinare, lavate con salamoia satura (100 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-9-1** (solido bianco, 11,00 g, resa: 62,51%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 2.94 (dd, *J*=4.0, 6.8 Hz, 2H), 1.53-1.44 (m, 9H), 1.11-0.94 (m, 1H), 0.64-0.52 (m, 2H), 0.30-0.12 (m, 2H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **BB-9-2**

A temperatura ambiente, il composto **BB-9-1** (10,00 g, 39,95 mmol) è stato aggiunto all'acqua (100,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 100 °C e mescolata per 1 ora. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e la miscela è stata estratta con etilacetato (100 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-9-2** (solido bianco, 5,00 g, resa: 83,33%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 4.64-4.54 (m, 2H), 3.64 (s ampio, 1H), 3.03-2.86 (m, 2H), 1.16-0.98 (m, 1H), 0.63-0.42 (m, 2H), 0.29-0.10 (m, 2H).

Passaggio 3: Sintesi del composto **BB-9-3**

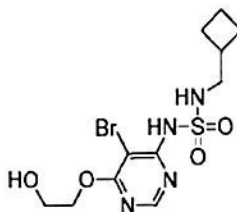
A temperatura ambiente, il composto **BB-9-2** (4,94 g, 32,91 mmol) e il *terz*-butossido di potassio (4,92 g, 43,88 mmol) sono stati aggiunti a dimetil solfossido (80,00 ml) e la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 0,5 ore in atmosfera di azoto, quindi è stata aggiunta 5-bromo-4,6-dicloropirimidina (5,00 g, 21,94 mmol) e la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 15 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua (100 ml) e il pH è stato regolato a 6 con acido cloridrico diluito 1 M e la miscela è stata estratta con etilacetato (200 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (200 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 10/1-3/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-9-3** (solido bianco, 5,00 g, resa: 66,71%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.57 (s, 1H), 7.80 (s ampio, 1H), 5.63 (t, *J*=5.4 Hz, 1H), 2.96 (t, *J*=6.7 Hz, 2H), 1.09-0.86 (m, 1H), 0.62-

0.39 (m, 2H), 0.26-0.03 (m, 2H).

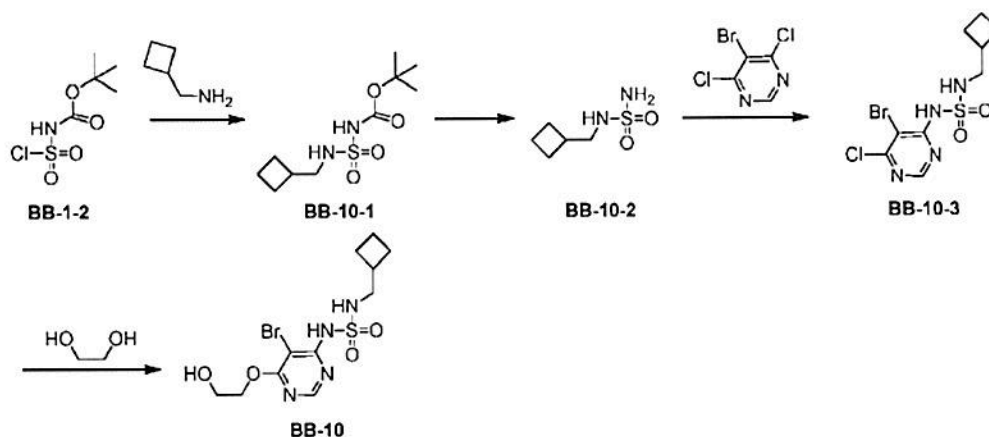
Passaggio 4: Sintesi del composto **BB-9**

A temperatura ambiente, *tert*-butossido di potassio (4,93 g, 43,91 mmol) è stato aggiunto a etilenglicole (22,20 g, 357,66 mmol, 20,00 ml), la miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C e mescolata per 0,5 ore e poi una soluzione del composto **BB-9-3** (5,00 g, 14,64 mmol) in dimetiletere di etilenglicole (80,00 ml) è stata aggiunta alla miscela e la miscela di reazione è stata riscaldata a 110 °C e mescolata per 15 ore. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, vi è stata aggiunta acqua ghiacciata (200 ml), il pH regolato a 3 con acido cloridrico diluito 1 M ed è stata estratta con etilacetato (200 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (50 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 5/1- 1/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-9** (olio giallo, 3,50 g, resa: 65,10%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 8.45-8.29 (m, 1H), 7.68 (s ampio, 1H), 5.74 (t, *J*=5.5 Hz, 1H), 4.73-4.52 (m, 2H), 4.04-3.93 (m, 2H), 2.93 (t, *J*=6.5 Hz, 2H), 2.04 (s, 1H), 1.11-0.78 (m, 1H), 0.62-0.41 (m, 2H), 0.14 (q, *J*=5.0 Hz, 2H).

Forma di realizzazione di riferimento 10: frammento **BB-10**



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto **BB-10-1**

A 0 °C, ciclobutilmetilammina cloridrato (5,00 g, 41,12 mmol), trietilammina (10,40 g, 102,80 mmol, 14,25 ml) e diclorometano (50,00 ml) sono stati aggiunti a una soluzione del composto **BB-1-2** (41,12 mmol, prodotto grezzo) in diclorometano e la miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per 18 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua (60 ml) e la miscela è stata estratta con diclorometano (60 ml × 2). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con acido cloridrico diluito 1 M (50 ml) e salamoia satura (100 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-10-1** (solido giallo, 7,20 g, resa: 66,24%).

Passaggio 2: Sintesi del composto **BB-10-2**

A temperatura ambiente, il composto **BB-10-1** (7,00 g, 26,48 mmol) è stato aggiunto all'acqua (100,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 110 °C e mescolata per 2 ore. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e la miscela è stata estratta con etilacetato (100 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (200 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-10-2** (olio incolore, 3,80 g, resa: 87,38%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 5,10-4,92 (m, 2H), 3,15-3,10 (m, 2H), 2,54-2,50 (m, 1H), 2,07-2,04 (m, 2H), 1,90-1,88 (m, 2H), 1,88-1,69 (m, 2H).

Passaggio 3: Sintesi del composto **BB-10-3**

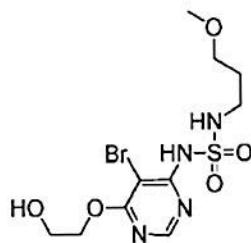
A temperatura ambiente, *terz*-butossido di potassio (3,14 g, 28,00 mmol) è stato aggiunto a una soluzione del composto **BB-10-2** (2,30 g, 14,00 mmol) in dimetilsolfossido (40,00 ml), la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 0,5 ore in atmosfera di azoto, poi è stata aggiunta 5-bromo-4,6-dicloropirimidina (3,19 g, 14,00 mmol) e la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 15 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua (80 ml) e il pH è stato regolato a 4 con acido cloridrico diluito 1 M e la miscela è stata estratta con etilacetato (40 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (40 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 1/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-10-3** (solido giallo, 3,10 g, resa: 62,29%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.49 (s, 1H), 7.79 (s, 1H), 5.45 (t, *J*=6.0 Hz, 1H), 3.03-2.98 (m, 2H), 2.53-2.33 (m, 1H), 2.04-1.98 (m, 2H), 1.84-1.78 (m, 2H), 1.63-1.57 (m, 2H).

Passaggio 4: Sintesi del composto **BB-10**

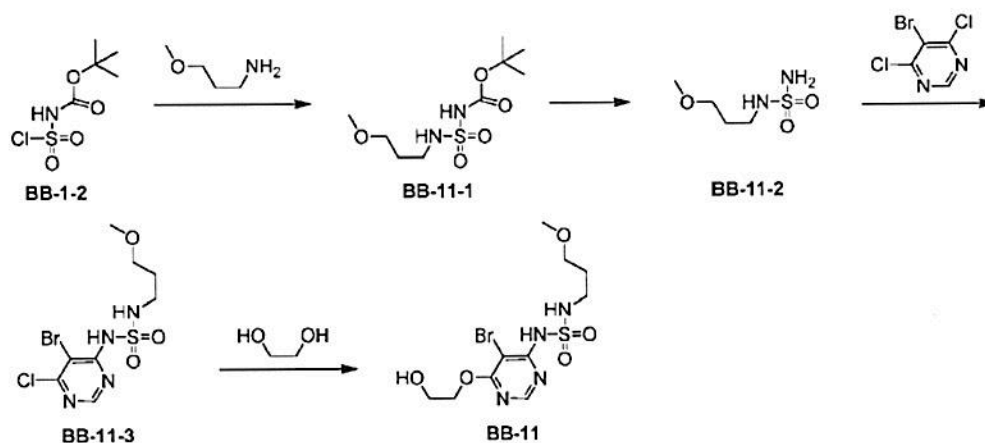
A temperatura ambiente, *terz*-butossido di potassio (1,89 g, 16,88 mmol) è stato aggiunto a etilenglicole (15,79 g, 254,55 mmol, 14,23 ml), la miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C e mescolata per 0,5 ore in atmosfera di azoto, poi una soluzione del composto **BB-10-3** (3,00 g, 8,44 mmol) in dimetiletere di etilenglicole (30,00 ml) è stata aggiunta alla miscela e la miscela di reazione è stata riscaldata a 120 °C e mescolata per 15 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua (60 ml) e il pH è stato regolato a 4 con acido cloridrico diluito 1 M e la miscela è stata estratta con etilacetato (50 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (30 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 1/2, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-10** (olio giallo, 2,50 g, resa: 77,73%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.39 (s, 1H), 7.65 (s ampio, 1H), 5.52 (t, *J*=6.0 Hz, 1H), 4.71-4.49 (m, 2H), 4.02 (d ampio, *J*=3.8 Hz, 2H), 3.12-3.01 (m, 2H), 2.60-2.47 (m, 1H), 2.43 (s ampio, 1H), 2.09-2.01 (m, 2H),

1.98-1.77 (m, 2H), 1.74-1.64 (m, 2H).

Forma di realizzazione di riferimento 11: frammento BB-11



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto **BB-11-1**

A 0 °C, una soluzione del composto **BB-1-2** (78,00 mmol, prodotto grezzo) in diclorometano è stata lentamente aggiunta in gocce a una soluzione di 3-metossipropilammina (6,95 g, 78,00 mmol, 7,99 ml) e trietilammina (15,79 g, 156,00 mmol, 21,63 ml) in diclorometano (50,00 ml) (il tempo di discesa era di circa 0,5 ore) e la miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per 18 ore. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua (200 ml) e la miscela è stata estratta con diclorometano (150 ml × 2). Le fasi organiche sono state combinate, lavate rispettivamente con acido cloridrico diluito 1 M (50 ml) e salamoia satura (200 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-11-1** (solido bianco, 16,00 g, resa: 76,45%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 3.42 (t, *J*=5.8 Hz, 2H), 3.28 (s, 3H), 3.15-3.04 (m, 2H), 1.91-1.64 (m, 2H), 1.43 (s, 9H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **BB-11-2**

A temperatura ambiente, il composto **BB-11-1** (16,00 g, 59,63 mmol) è stato aggiunto all'acqua (100,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 100 °C e mescolata per 1 ora. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e la miscela è stata estratta con etilacetato (100 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-11-2** (olio incolore, 8,50 g, resa: 84,74%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 6.49-6.38 (m, 3H), 3.37-3.32 (m, 2H), 3.23-3.19 (m, 3H), 2.96-2.82 (m, 2H), 1.73-1.63 (m, 2H).

Passaggio 3: Sintesi del composto **BB-11-3**

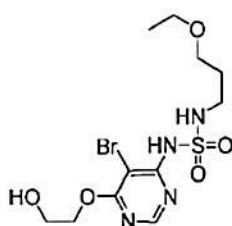
A temperatura ambiente, *terz*-butossido di potassio (2,67 g, 23,78 mmol) è stato aggiunto a una soluzione del composto **BB-11-2** (2,00 g, 11,89 mmol) in dimetilsolfossido (10,00 ml), la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 0,5 ore in atmosfera di azoto, poi è stata aggiunta 5-bromo-4,6-dicloropirimidina (2,71 g, 11,89 mmol) e la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 15 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua (60 ml) e il pH è stato regolato a 4 con acido cloridrico diluito 0,5 M e la miscela è stata estratta con etilacetato (30 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (30 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 1/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-11-3** (solido bianco, 3,30 g, resa: 77,21%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.59 (s, 1H), 3.29-3.25 (m, 2H), 3.16 (s, 3H), 2.96 (t, *J*=6.9 Hz, 2H), 1.70-1.62 (m, 2H).

Passaggio 4: Sintesi del composto **BB-11**

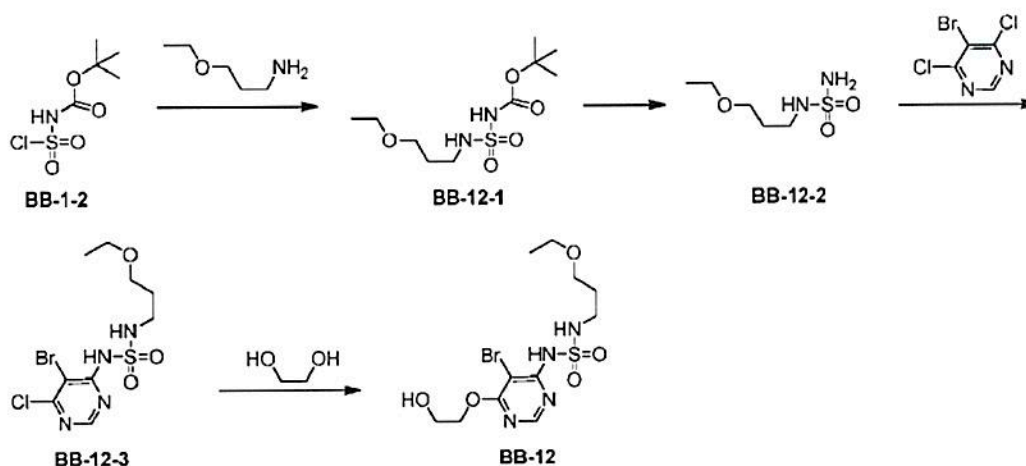
A temperatura ambiente, *terz*-butossido di potassio (2,06 g, 18,35 mmol) è stato aggiunto a etilenglicole (30,24 g, 487,25 mmol, 27,25 ml), la miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C e mescolata per 0,5 ore in atmosfera di azoto, poi una soluzione del composto **BB-11-3** (3,30 g, 9,18 mmol) in dimetiletere di etilenglicole (10,00 ml) è stata aggiunta alla miscela e la miscela di reazione è stata

riscaldata a 110 °C e mescolata per 24 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, vi è stata aggiunta acqua ghiacciata (60 ml), il pH regolato a 4 con acido cloridrico diluito 1 M ed è stata estratta con etilacetato (30 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (30 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 1/2, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-11** (olio giallo, 2,20 g, resa: 61,34%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.51-8.08 (m, 1H), 7.65 (s, 1H), 6.10 (t, *J*=5.9 Hz, 1H), 4.67-4.45 (m, 2H), 4.01 (d, *J*=3.8 Hz, 2H), 3.53-3.39 (m, 2H), 3.34 (s, 3H), 3.26-3.13 (m, 2H), 2.46 (s ampio, 1H), 1.85 (q, *J*=6.0 Hz, 2H).

Forma di realizzazione di riferimento 12: frammento BB-12



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto **BB-12-1**

A 0 °C, una soluzione del composto **BB-1-2** (74,19 mmol, prodotto grezzo) in diclorometano è stata aggiunta lentamente a una soluzione di 3-etossipropil-1-ammina (7,65 g, 74,19 mmol, 8,90 ml) e trietilammina (22,52 g, 222,58 mmol, 30,85 ml) in diclorometano (40,00 ml) (il tempo di discesa è stato

di circa 1 ora) e la miscela di reazione è stata riscaldata fino a temperatura ambiente e mescolata per 14 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, il solvente è stato rimosso a pressione ridotta e al residuo è stata aggiunta acqua (200 ml) ed è stato estratto con diclorometano (100 ml). La fase organica è stata scartata e la fase acquosa è stata il pH regolato a 5-6 con acido cloridrico diluito 1 M, quindi la fase acquosa è stata estratta con etilacetato (100 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-12-1** (solido giallo, 17,00 g, prodotto grezzo). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 10.80 (s, 1H), 7.51 (t, *J*=5.8 Hz, 1H), 3.40-3.37 (m, 2H), 2.93 (q, *J*=6.4 Hz, 2H), 2.51 (s, 2H), 1.74-1.61 (m, 2H), 1.43 (s, 9H), 1.10 (t, *J*=6.8 Hz, 3H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **BB-12-2**

A temperatura ambiente, il composto **BB-12-1** (17,00 g, 60,21 mmol) è stato aggiunto all'acqua (100,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 110 °C e mescolata per 1 ora. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e la miscela è stata estratta con etilacetato (100 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml), essiccate su solfato di sodio anidro e filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-12-2** (olio giallo, 9,00 g, prodotto grezzo). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 6.46 (s, 2H), 6.41 (t, *J*=6.2 Hz, 1H), 3.43-3.37 (m, 4H), 2.90 (q, *J*=6.4 Hz, 2H), 1.75-1.60 (m, 2H), 1.10 (t, *J*=7.0 Hz, 3H).

Passaggio 3: Sintesi del composto **BB-12-3**

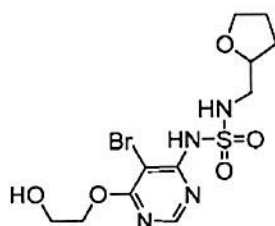
A temperatura ambiente, il composto **BB-12-2** (1,60 g, 8,78 mmol) e il *terz*-butossido di potassio (1,97 g, 17,55 mmol) sono stati aggiunti a dimetil solfossido (20,00 ml) e la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 1 ore in atmosfera di azoto, è stata aggiunta 5-bromo-4,6-dicloropirimidina (2,00 g, 8,78 mmol) e la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 11 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua (100 ml) e il pH è stato regolato a 5-6 con acido cloridrico diluito 1 M e la miscela è stata estratta con etilacetato (50 ml × 3). Le

fasi organiche sono state combinate, lavate con acqua (50 ml × 2), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente del filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 10/1 -4/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-12-3** (solido giallo, 1,30 g, resa: 39,64%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8.59 (s, 1H), 3.34-3.29 (m, 4H), 2.98 (t, *J*=6.8 Hz, 2H), 1.69-1.61 (m, 2H), 1.06 (t, *J*=6.8 Hz, 3H).

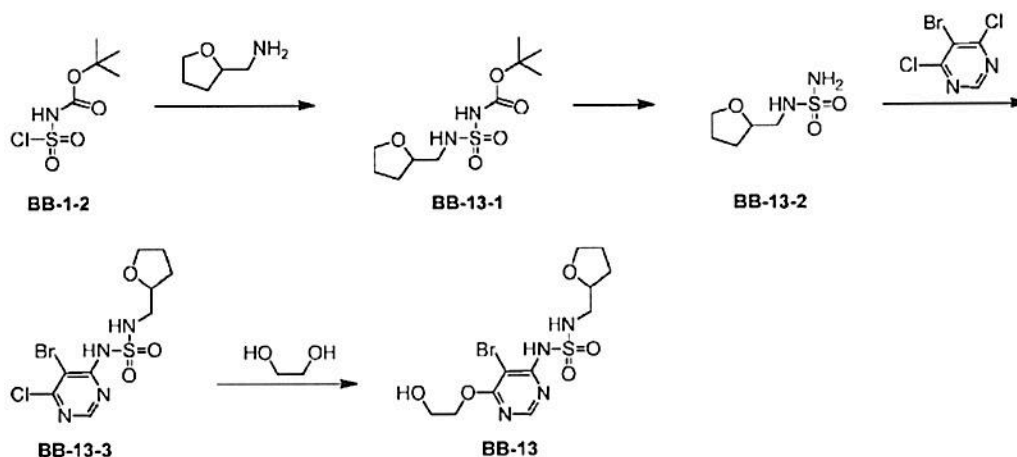
Passaggio 4: Sintesi del composto **BB-12**

A temperatura ambiente, *terz*-butossido di potassio (1,17 g, 10,44 mmol) è stato aggiunto a una soluzione di miscela di etilenglicole (35,63 g, 574,20 mmol, 32,10 ml) ed dimetiletere di etilenglicole (10,00 ml), la miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C e mescolata per 0,5 ore in atmosfera di azoto, poi una soluzione del composto **BB-12-3** (1,30 g, 3,48 mmol) in dimetiletere di etilenglicole (20,00 ml) è stata aggiunta alla miscela in una porzione e la miscela di reazione è stata riscaldata a 100 °C e mescolata per 15 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, vi è stata aggiunta acqua ghiacciata (100 ml), il pH regolato a 5- 6 con acido cloridrico diluito 2 M ed estratta con etilacetato (60 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, essiccate su solfato di sodio anidro, poi filtrate e il filtrato è stato concentrato a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 3/1-1/3, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-12** (solido bianco, 1,10 g, resa: 79,17%). MS-ESI *m/z*: 398.9 [M+H]⁺, 400.9 [M+H+2]⁺. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.29 (s, 1H), 7.56 (s, 1H), 6.02 (t, *J*=6.0 Hz, 1H), 4.52 (t, *J*=4.6 Hz, 2H), 3.99-3.87 (m, 2H), 3.46-3.31 (m, 4H), 3.11 (q, *J*=6.4 Hz, 2H), 2.38 (t, *J*=6.0 Hz, 1H), 1.80-1.71 (m, 2H), 1.14 (t, *J*=7.0 Hz, 3H).

Forma di realizzazione di riferimento 13: frammento BB-13



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto **BB-13-1**

A 0 °C, una soluzione del composto **BB-1-2** (49,43 mmol, prodotto grezzo) in diclorometano è stata aggiunta lentamente a una soluzione di 2-tetraidrofurfurilammina (5,00 g, 49,43 mmol, 5,10 ml) e trietilammina (10,00 g, 98,86 mmol, 13,70 ml) in diclorometano (50,00 ml) (il tempo di discesa è stato di circa 0,5 ore) e la miscela di reazione è stata riscaldata fino a temperatura ambiente e mescolata per 18 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua (100 ml) e la miscela è stata estratta con diclorometano (90 ml × 2). Le fasi organiche sono state combinate, lavate rispettivamente con acido cloridrico diluito 1 M (50 ml) e salamoia satura (200 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-13-1** (solido bianco, 8,30 g, resa: 59,90%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 5.75 (d, *J*=4.8 Hz, 1H), 4.02 (dd, *J*=3.9, 6.7 Hz, 1H), 3.88-3.64 (m, 2H), 3.30-2.83 (m, 2H), 2.06-1.76 (m, 3H), 1.71-1.18 (m, 10H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **BB-13-2**

A temperatura ambiente, il composto **BB-13-1** (8,00 g, 28,54 mmol) è stato aggiunto all'acqua (100,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 110 °C e mescolata per 2 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e la miscela è stata estratta con etilacetato (100 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (200 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-13-2** (olio incolore, 4,90 g, resa: 95,27%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 5.18-5.01 (m, 1H), 4.07-3.91 (m, 1H), 3.86-3.61 (m, 2H), 3.27-2.90 (m, 2H), 1.96-

1.74 (m, 3H), 1.62-1.41 (m, 1H).

Passaggio 3: Sintesi del composto **BB-13-3**

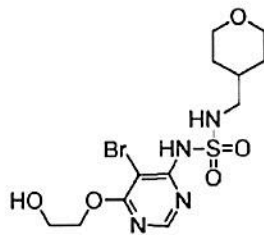
A temperatura ambiente, *terz*-butossido di potassio (3,86 g, 34,40 mmol) è stato aggiunto a una soluzione del composto **BB-13-2** (3,10 g, 17,20 mmol) in dimetilsolfossido (20,00 ml), la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 0,5 ore in atmosfera di azoto, poi è stata aggiunta 5-bromo-4,6-dicloropirimidina (3,92 g, 17,20 mmol) e la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 15 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua (60 ml) e il pH è stato regolato a 4 con acido cloridrico diluito 1 M e la miscela è stata estratta con etilacetato (30 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (30 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 1/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-13-3** (solido giallo, 2,10 g, resa: 32,85%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.65-8.36 (m, 1H), 8.08-7.70 (m, 1H), 5.99-5.80 (m, 1H), 4.08-3.90 (m, 1H), 3.82-3.55 (m, 2H), 3.25-3.13 (m, 1H), 3.04-2.89 (m, 1H), 1.98-1.72 (m, 3H), 1.60-1.44 (m, 1H).

Passaggio 4: Sintesi del composto **BB-13**

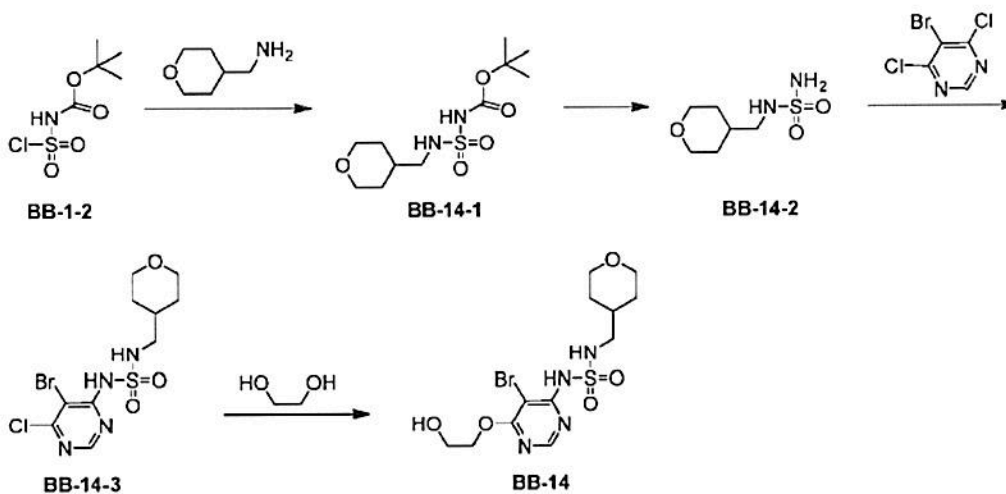
A temperatura ambiente, *terz*-butossido di potassio (1,27 g, 11,30 mmol) è stato aggiunto a etilenglicole (10,58 g, 170,40 mmol, 9,53 ml), la miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C e mescolata per 0,5 ore in atmosfera di azoto, poi una soluzione di composto **BB-13-3** (2,10 g, 5,65 mmol) in dimetiletere di etilenglicole (30,00 ml) è stata aggiunta alla miscela e la miscela di reazione è stata riscaldata a 120 °C e mescolata per 15 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, vi è stata aggiunta acqua ghiacciata (60 ml), il pH regolato a 4 con acido cloridrico diluito 1 M ed estratta con etilacetato (50 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (50 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 1/2, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-13** (olio

giallo, 1,80 g, resa: 78,35%). MS-ESI m/z : 396.8 $[M+H]^+$, 398.8 $[M+H+2]^+$.

Forma di realizzazione di riferimento 14: frammento BB-14



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto BB-14-1

A 0 °C, una soluzione del composto **BB-1-2** (43,41 mmol, prodotto grezzo) in diclorometano è stata aggiunta a una soluzione di 4-(amminometil)tetraidro-2*H*-pirano (5,00 g, 43,41 mmol) e trietilammina (8,79 g, 86,82 mmol, 12,04 ml) in diclorometano (50,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata fino a temperatura ambiente e mescolata per 12 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua (80 ml) e la miscela è stata estratta con diclorometano (80 ml × 2). Le fasi organiche sono state combinate, lavate rispettivamente con acido cloridrico diluito 1 M (50 ml) e salamoia satura (200 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-14-1** (olio biancastro, 5,20 g, resa: 40,69%).

Passaggio 2: Sintesi del composto BB-14-2

A temperatura ambiente, il composto **BB-14-1** (5,00 g, 16,99 mmol) è stato aggiunto all'acqua

(100,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 100 °C e mescolata per 12 ore. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e la miscela è stata estratta con etilacetato (80 ml × 2). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml × 2), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-14-2** (olio giallo chiaro, 1,70 g, resa: 51,51%).

Passaggio 3: Sintesi del composto **BB-14-3**

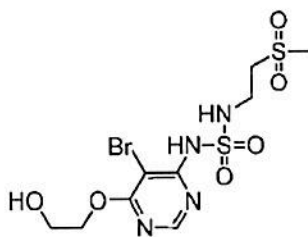
A 35 °C, una miscela del composto **BB-14-2** (1,70 g, 8,75 mmol) e *terz*-butossido di potassio (2,95 g, 26,25 mmol) in dimetilsolfossido (50,00 ml) è stata mescolata per 0,5 ore, poi è stata aggiunta 5-bromo-4,6-dicloropirimidina (1,99 g, 8,75 mmol), la miscela di reazione è stata mescolata a 35 °C per 12 ore. Terminata la reazione, alla miscela è stato aggiunto acido cloridrico diluito 0,5 M (50 ml) ed è stata estratta con etilacetato (50 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml × 2), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 10/1- 1/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-14-3** (solido giallo, 1,20 g, resa: 12,80%). MS-ESI *m/z*: 384.8 [M+H]⁺, 386.8 [M+H+2]⁺.

Passaggio 4: Sintesi del composto **BB-14**

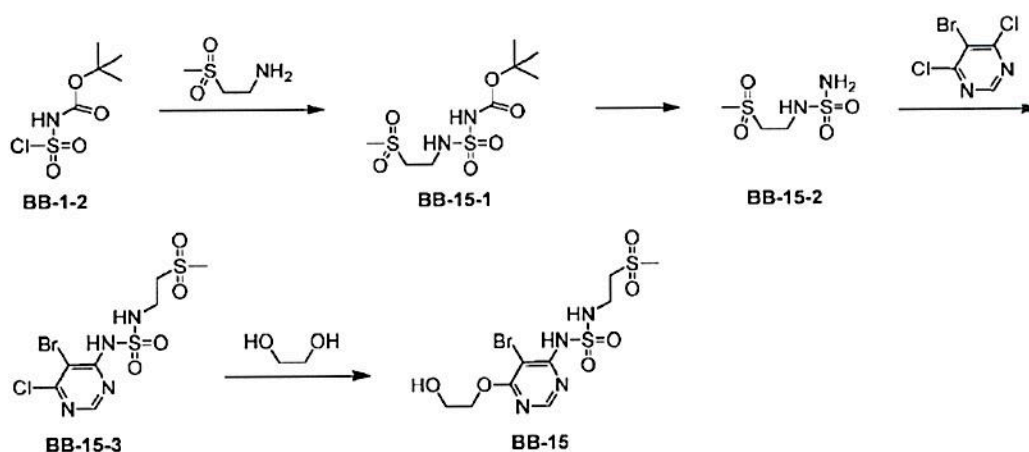
A temperatura ambiente, *terz*-butossido di potassio (1,05 g, 9,33 mmol) è stato aggiunto a etilenglicole (33,30 g, 536,49 mmol, 30,00 ml), la miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C e mescolata per 0,5 ore in atmosfera di azoto, poi una soluzione del composto **BB-14-3** (1,20 g, 3,11 mmol) in dimetiletere di etilenglicole (20,00 ml) è stata aggiunta alla miscela e la miscela di reazione è stata riscaldata a 110 °C e mescolata per 12 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e vi è stato aggiunto acido cloridrico diluito 0,5 M (30 ml) ed è stata estratta con etilacetato (50 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml × 2), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di

petrolio/etilacetato = 10/1 -0/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-14** (solido giallo chiaro, 200,00 mg, resa: 14,59%). MS-ESI m/z : 410.9 $[M+H]^+$, 412.9 $[M+H+2]^+$. 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 8.38 (s, 1H), 7.62 (s ampio, 1H), 5.65 (t, $J=6.5$ Hz, 1H), 4.60 (t, $J=4.8$ Hz, 2H), 4.05-3.89 (m, 4H), 3.38 (t, $J=10.8$ Hz, 2H), 2.93 (t, $J=6.5$ Hz, 2H), 1.86-1.75 (m, 1H), 1.71-1.61 (m, 2H), 1.31-1.22 (m, 2H).

Forma di realizzazione di riferimento 15: frammento BB-15



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto **BB-15-1**

A 0 °C, una soluzione del composto **BB-1-2** (31,32 mmol, prodotto grezzo) in diclorometano è stata aggiunta lentamente in gocce a una soluzione miscelata di 2-amminoetilmetilsolfone cloridrato (5,00 g, 31,32 mmol) e trietilammina (6,34 g, 62,64 mmol, 8,68 ml) in diclorometano (50,00 ml) (il tempo di discesa è stato di circa 0,5 ore) e la miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per 18 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua (100 ml) e la miscela è stata estratta con diclorometano (100 ml \times 2). Le fasi organiche sono state combinate, lavate rispettivamente con acido cloridrico diluito 1 M (50 ml) e salamoia satura (80 ml), essiccate su solfato di

sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-15-1** (solido bianco, 5,00 g, resa: 52,81%). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 11.04 (s, 1H), 7.83 (s ampio, 1H), 3.44 (s ampio, 2H), 3.35-3.30 (m, 2H), 3.02 (s, 3H), 1.44 (s, 9H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **BB-15-2**

A temperatura ambiente, il composto **BB-15-1** (4,80 g, 15,87 mmol) è stato aggiunto all'acqua (100,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 110 °C e mescolata per 2 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, estratta con etilacetato (100 ml), la fase organica è stata scartata e la fase acquosa è stata concentrata sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-15-2** (olio incolore, 2,10 g, resa: 65,43%). ¹H RMN (400 MHz, MeOD) δ: 3.55-3.47 (m, 2H), 3.41-3.35 (m, 2H), 3.06-3.02 (s, 3H).

Passaggio 3: Sintesi del composto **BB-15-3**

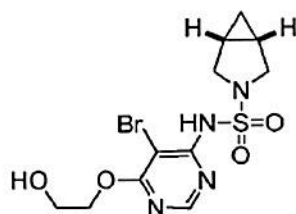
A temperatura ambiente, è stato aggiunto *terz*-butossido di potassio (2,22 g, 19,78 mmol) a una soluzione del composto **BB-15-2** (2,00 g, 9,89 mmol) in dimetilsolfossido (20,00 ml), la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 0,5 ore in atmosfera di azoto, poi è stata aggiunta 5-bromo-4,6-dicloropirimidina (2,25 g, 9,89 mmol) e la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 15 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua (60 ml) e il pH è stato regolato a 4 con acido cloridrico diluito 1 M e la miscela è stata estratta con etilacetato (30 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (30 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 1/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-15-3** (solido giallo, 1,80 g, resa: 43,98%). MS-ESI *m/z*: 392.8 [M+H]⁺, 394.8 [M+H+2]⁺. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.60 (s, 1H), 6.36 (s ampio, 1H), 3.66 (q, *J*=6.0 Hz, 2H), 3.46-3.25 (m, 2H), 3.09-2.82 (m, 3H).

Passaggio 4: Sintesi del composto **BB-15**

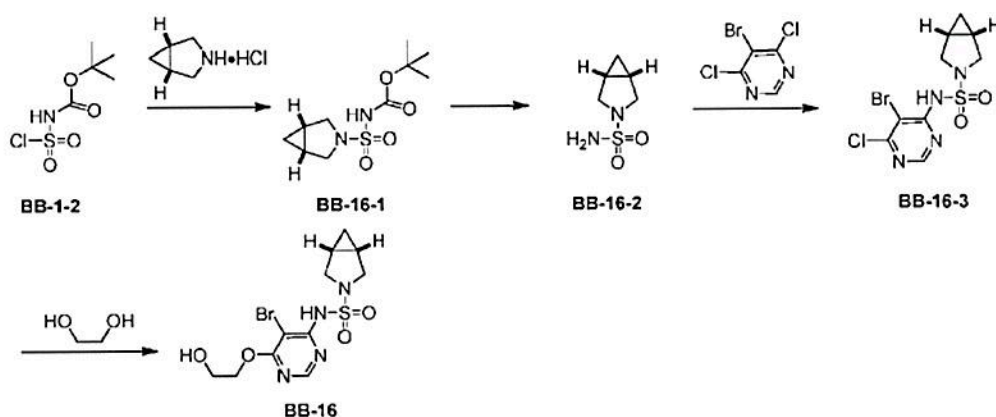
In atmosfera di azoto e a 40 °C, una miscela di etilenglicole (4,28 g, 68,95 mmol, 3,86 ml) e *terz*-

butossido di potassio (513,07 mg, 4,57 mmol) è stata mescolata per 0,5 ore e poi una soluzione del composto **BB-15-3** (0,9 g, 2,29 mmol) in dimetiletere di etilenglicole (30,00 ml) è stata aggiunta alla miscela e la miscela di reazione è stata riscaldata a 60 °C e mescolata per 3 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, vi è stata aggiunta acqua ghiacciata (60 ml), il pH regolato a 4 con acido cloridrico diluito 1 M ed estratta con etilacetato (50 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (50 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 1/2, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-15** (olio giallo chiaro, 327,27 mg, resa: 33,40%). MS-ESI m/z : 440.9 $[M+Na]^+$, 442.9 $[M+Na+2]^+$.

Forma di realizzazione di riferimento 16: frammento BB-16



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto BB-16-1

A 0-5 °C, una soluzione del composto BB-1-2 (9,19 mmol, prodotto grezzo) in diclorometano è stata aggiunta lentamente in gocce a una soluzione di 3-azabicyclo[3.1.0]esano in cloridrato (900,00 mg, 7,53 mmol) e trietilammina (2,28 g, 22,58 mmol) in diclorometano (10 ml) (il tempo di discesa è stato di

circa 1 ora) e la miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per 16 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, il solvente è stato rimosso sotto pressione ridotta e al residuo è stata aggiunta acqua (20 ml), il pH è stato regolato a 4-5 con acido cloridrico diluito 1 M ed estratto con etilacetato (25 ml × 4). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-16-1** (solido bianco, 1,90 g, resa: 96,19%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 3.56-3.68 (m, 4H), 1.55-1.59 (m, 2H), 1.51 (s, 9H), 0.69-0.74 (m, 1H), 0.41-0.45 (m, 1H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **BB-16-2**

A temperatura ambiente, acido trifluoroacetico (3,30 g, 28,96 mmol) è stato aggiunto a una soluzione del composto **BB-16-1** (1,90 g, 7,24 mmol) in diclorometano (10,00 ml) in una porzione, la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 16 ore in atmosfera di azoto. Dopo il completamento della reazione, il solvente della miscela di reazione è stato rimosso sotto pressione ridotta, ottenendo il composto **BB-16-2** (solido biancastro, 1,44 g, resa: 72,00%, sale trifluoroacetato). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 3.28-3.36 (m, 4H), 1.54-1.59 (m, 2H), 0.61-0.69 (m, 1H), 0.44-0.58 (m, 1H).

Passaggio 3: Sintesi del composto **BB-16-3**

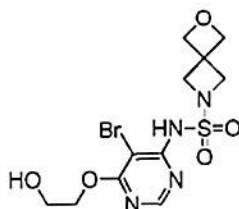
A temperatura ambiente, *terz*-butossido di potassio (1,75 g, 15,63 mmol) è stato aggiunto a una miscela del sale trifluoroacetato del composto **BB-16-2** (1,44 g, 5,21 mmol) in dimetil solfossido (30,00 ml) in una porzione, la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 0,5 ore in atmosfera di azoto, quindi 5-bromo-4,6-dicloropirimidina (1,42 g, 6,25 mmol) è stata aggiunta alla miscela, la miscela di reazione è stata mescolata per 16 ore a temperatura ambiente in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua ghiacciata (60 ml) e il pH è stato regolato a 4-5 con acido cloridrico diluito 4 M e la miscela è stata estratta con etilacetato (100 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (200 ml), essiccate su solfato di sodio anidro e filtrate, il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta e il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 10/1-1/1, rapporto in volume) a dare il

composto bersaglio **BB-16-3** (solido marrone, 1,40 g, resa: 74,14%). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.59 (s, 1H), 7.80 (s ampio, 1H), 3.73-3.79 (m, 2H), 3.66-3.72 (m, 2H), 1.58-1.62 (m, 2H), 0.69-0.76 (m, 1H), 0.33 (q, $J=4.3$ Hz, 1H).

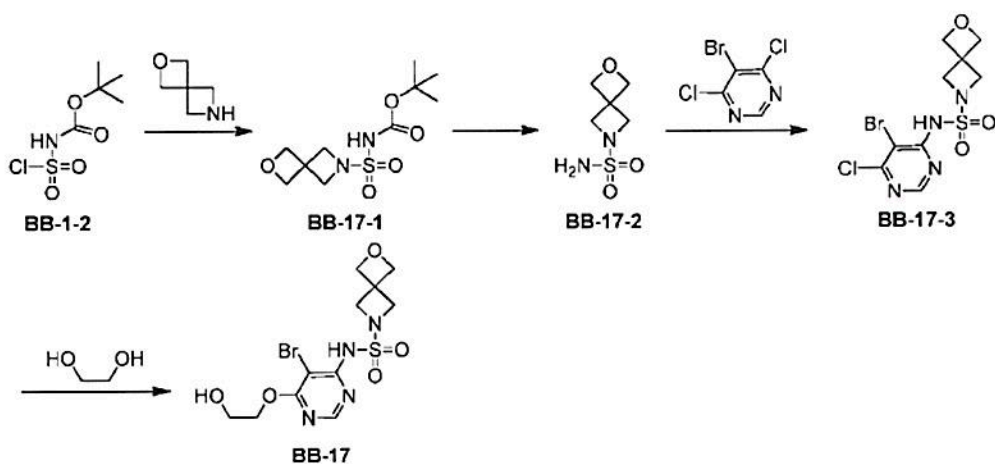
Passaggio 4: Sintesi del composto **BB-16**

A temperatura ambiente, *tert*-butossido di potassio (760,78 mg, 6,78 mmol) è stato aggiunto a etilenglicole (22,20 g, 357,67 mmol), la miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C e mescolata per 0,5 ore in atmosfera di azoto e poi una soluzione del composto **BB-16-3** (799,18 mg, 2,26 mmol) in dimetiletere di etilenglicole (10,00 ml) è stata aggiunta alla miscela e la miscela di reazione è stata riscaldata a 110 °C e mescolata per 39 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e il solvente è stato rimosso a pressione ridotta. Al residuo è stata aggiunta acqua ghiacciata (60 ml), il pH è stato regolato a 4-5 con acido cloridrico diluito 1 M ed estratta con etilacetato (60 ml \times 2). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (120 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia preparativa (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 1/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-16** (solido giallo, 520,00 mg, resa: 59,45%). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.38 (s, 1H), 7.63 (s ampio, 1H), 4.55-4.61 (m, 2H), 3.94-4.02 (m, 2H), 3.69-3.74 (m, 2H), 3.64-3.69 (m, 2H), 2.48 (s ampio, 1H), 1.49-1.58 (m, 2H), 0.62-0.71 (m, 1H), 0.30-0.37 (m, 1H).

Forma di realizzazione di riferimento 17: frammento **BB-17**



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto **BB-17-1**

A 0 °C, una soluzione del composto **BB-1-2** (12,39 mmol, prodotto grezzo) in diclorometano è stata aggiunta in gocce a una soluzione di 2-ossa-6-azaspiro [3.3]eptano (1,17 g, 11,80 mmol) e trietilammina (3,58 g, 35,40 mmol) in diclorometano (10 ml) (tempo di discesa circa 1 ora), la miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per 16 ore. Terminata la reazione, il solvente è stato rimosso a pressione ridotta, al residuo è stata aggiunta acqua (20 ml), il pH è stato regolato a 4-5 con acido cloridrico diluito 5 M ed estratto con etilacetato (25 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml), essiccate su solfato di sodio anidro e il solvente è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-17-1** (solido bianco, 1,70 g, resa: 51,76%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.07 (s ampio, 1H), 4.79 (s, 4H); 4.34 (s, 4H), 1.52 (s, 9H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **BB-17-2**

A temperatura ambiente, il composto **BB-17-1** (1,70 g, 6,11 mmol) è stato aggiunto all'acqua (10,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 100 °C e mescolata per 1 ora. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e la miscela è stata estratta con etilacetato (10 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (30 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto bersaglio **BB-17-2** (solido bianco, 920,00 mg, resa: 84,49%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 4.78 (s, 4H), 4.39 (s ampio, 2H), 4.04 (s, 4H).

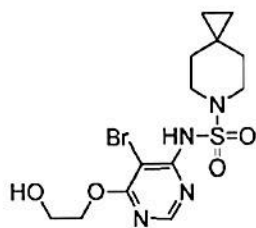
Passaggio 3: Sintesi del composto **BB-17-3**

A temperatura ambiente, il composto **BB-17-2** (920,00 mg, 5,16 mmol) e *terz*-butossido di potassio (1,50 g, 13,37 mmol) sono stati aggiunti a dimetilsolfossido (15,00 ml) e la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 0,5 ore. Quindi 5-bromo-4,6-dicloropirimidina (1,41 g, 6,19 mmol) è stata aggiunta alla miscela e la miscela è stata mescolata a temperatura ambiente per 18 ore. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua ghiacciata (40 ml) e il pH è stato regolato a 4-5 con acido cloridrico diluito 4 M e la miscela è stata estratta con etilacetato (40 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (120 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante piastra di cromatografia preparativa (eluente: diclorometano /metanolo = 10/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-17-3** (solido marrone, 430,00 mg, resa: 16,43%). MS-ESI m/z: 368.8 [M+H]⁺, 370.8 [M+H+2]⁺.

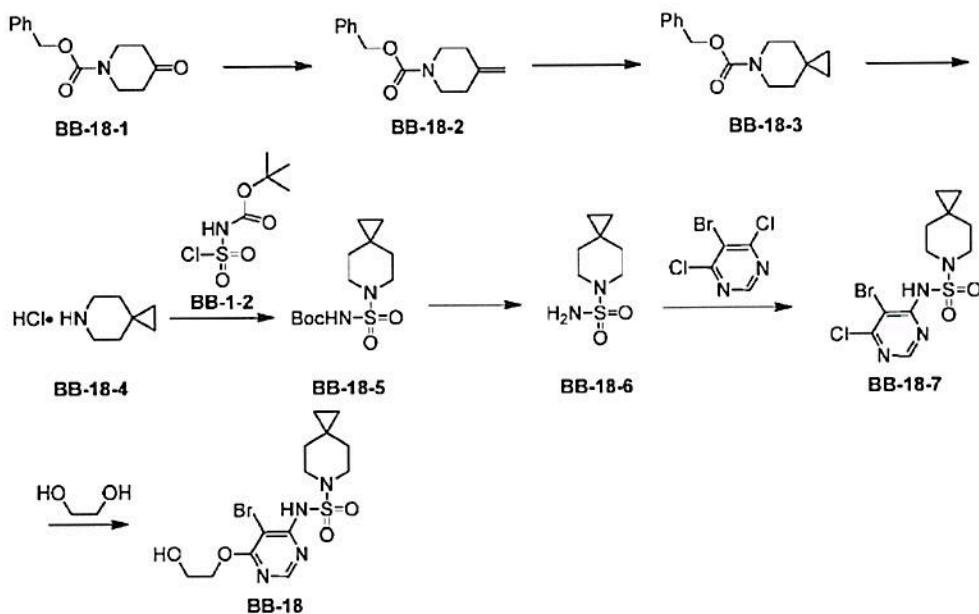
Passaggio 4: Sintesi del composto **BB-17**

A temperatura ambiente, *terz*-butossido di potassio (390,49 mg, 3,48 mmol) è stato aggiunto a etilenglicole (15,23 g, 245,36 mmol), la miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C e mescolata per 0,5 ore in atmosfera di azoto e poi una soluzione del composto **BB-17-3** (430,00 mg, 1,16 mmol) in dimetiletere di etilenglicole (10,00 ml) è stata aggiunta in gocce alla miscela e la miscela di reazione è stata riscaldata a 110 °C e mescolata per 48 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e il solvente è stato rimosso a pressione ridotta. Al residuo è stata aggiunta acqua ghiacciata (30 ml), il pH è stato regolato a 4-5 con acido cloridrico diluito 1 M ed estratta con etilacetato (30 ml × 4). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (120 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia preparativa (eluente: diclorometano /metanolo = 10/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **BB-17** (solido giallo, 150,00 mg, resa: 30,86%). MS-ESI m/z: 417.0 [M+Na]⁺, 417.0 [M+Na+2]⁺.

Forma di realizzazione di riferimento 18: frammento **BB-18**



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto **BB-18-2**

A 0 °C, una soluzione di *terz*-butossido di potassio (7,22 g, 64,31 mmol) in tetraidrofurano (50 ml) è stata aggiunta in gocce a una sospensione di bromuro di metiltrifenilfosfonio (22,97 g, 64,31 mmol) in tetraidrofurano (100 ml), la miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per 1 ora in atmosfera di azoto, quindi la miscela di reazione è stata raffreddata a 0 °C e una soluzione del composto **BB-18-1** (10,00 g, 42,87 mmol) in tetraidrofurano (50 ml) è stata aggiunta in una porzione. La miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per 64 ore sotto atmosfera di azoto. Terminata la reazione, sono stati aggiunti in sequenza acqua (50 ml) ed etere di petrolio (50 ml) e il liquido è stato separato. La fase acquosa è stata estratta con etere di petrolio (50 ml × 2). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (150 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 1/0-10/1, rapporto in volume) a dare il

composto **BB-18-2** (olio incolore, 5,20 g, resa: 48,56%). MS-ESI m/z : 232,0 $[M+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.40-7.29 (m, 5H), 5.15 (s, 2H), 4.76 (s, 2H), 3.51 (t, $J=5.8$ Hz, 4H), 2.19 (t, $J=5.8$ Hz, 4H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **BB-18-3**

A -40 °C, una soluzione di acido trifluoroacetico (10,25 g, 89,92 mmol) in diclorometano (10 ml) è stata aggiunta in gocce a una soluzione di dietilzinco (1 M, 89,92 ml) in diclorometano (50 ml), la miscela di reazione è stata mescolata a -40 °C per 0,5 ore in atmosfera di azoto e poi una soluzione di diiodometano (24,08 g, 89,92 mmol) in diclorometano (10 ml) è stata aggiunta alla miscela, la miscela di reazione è stata mescolata a -40 °C per 0,5 ore in atmosfera di azoto. Quindi è stata aggiunta una soluzione del composto **BB-18-2** (5,20 g, 22,48 mmol) in diclorometano (10 ml), la miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per 16 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, diclorometano (30 ml) e soluzione acquosa satura di bicarbonato di sodio (80 ml) sono stati aggiunti e mescolati per 5 minuti, cui sono seguite precipitazione, filtrazione e separazione dei liquidi. La fase organica è stata lavata con salamoia satura (100 ml), essiccata su solfato di sodio anidro, filtrata, il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta e il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 100/1-10/1, rapporto in volume) a dare un olio giallo che è stato separato nuovamente mediante HPLC preparativa a dare il composto **BB-18-3** (olio giallo chiaro, 4,00 g, resa: 47,46%). MS-ESI m/z : 246,0 $[M+H]^+$. 1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ : 7.40-7.29 (m, 5H), 5.15 (s, 2H), 3.57-3.47 (m, 4H), 1.35 (s ampio, 4H), 0.34 (s, 4H).

Passaggio 3: Sintesi del composto **BB-18-4**

A temperatura ambiente, carbonio palladio umido (150,00 mg, purezza: 10%) è stato aggiunto a una soluzione del composto **BB-18-3** (1,50 g, 6,11 mmol) in tetraidrofurano (15,00 ml) e la miscela di reazione è stata fatta reagire in atmosfera di idrogeno (3,5 MPa) e mescolata a temperatura ambiente per 40 ore. Terminata la reazione, la miscela di reazione è stata filtrata, cui è seguita aggiunta di acido cloridrico/etilacetato (4 M, 10 ml), mescolata per 15 minuti e concentrata sotto pressione ridotta

ottenendo il composto **BB-18-4** (solido giallo, 900,00 mg, resa: 99,76%, cloridrato). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 9.13 (s ampio, 2H), 3.02 (s ampio, 4H), 1.54 (t, *J*=5.0 Hz, 4H), 0.37 (s, 4H).

Passaggio 4: Sintesi del composto **BB-18-5**

A 0 °C, una soluzione del composto **BB-18-4** (1,20 g, 8,13 mmol, cloridrato) in diclorometano (20 ml) è stata aggiunta in gocce a una soluzione del composto **BB-1-2** (8,54 mmol, prodotto grezzo) in diclorometano e una miscela di diclorometano (10 ml) e trietilammina (3,29 g, 32,52 mmol) (il tempo di discesa è stato di circa 1 ora. La miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per 16 ore sotto atmosfera di azoto. Terminata la reazione, il solvente è stato rimosso sotto pressione ridotta e al residuo è stata aggiunta acqua (20 ml), il pH è stato regolato a 4-5 con acido cloridrico diluito 4 M (10 ml) ed estratto con etilacetato (25 ml × 4). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta a dare il composto **BB-18-5** (olio giallo chiaro, 1,32 g, resa: 55,91%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.05 (s ampio, 1H), 3.47-3.40 (m, 4H), 1.52 (s, 9H), 1.50-1.47 (m, 4H), 0.38 (s, 4H).

Passaggio 5: Sintesi del composto **BB-18-6**

A temperatura ambiente, acido trifluoroacetico (1,53 g, 13,42 mmol) è stato aggiunto a una soluzione del composto **BB-19-5** (580,00 mg, 2,00 mmol) in diclorometano (3,00 ml) in una porzione, la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 16 ore in atmosfera di azoto. Dopo il completamento della reazione, il solvente è stato rimosso sotto pressione ridotta, ottenendo il composto **BB-18-6** (solido giallo chiaro, 600,00 mg, resa: 98,50%, trifluoroacetato). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 3.23 (t, *J*=5.5 Hz, 4H), 1.50 (t, *J*=5.5 Hz, 4H), 0.36 (s, 4H).

Passaggio 6: Sintesi del composto **BB-18-7**

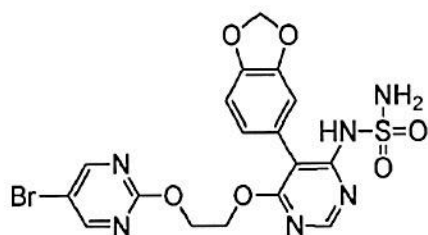
A temperatura ambiente, *terz*-butossido di potassio (1,39 g, 12,42 mmol) è stato aggiunto a una soluzione del composto **BB-18-6** (1,26 g, 4,14 mmol, trifluoroacetato) in dimetil solfossido (10,00 ml) in una porzione, la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 0,5 ore in atmosfera di

azoto, quindi 5-bromo-4,6-dicloropirimidina (1,04 g, 4,55 mmol) è stata aggiunta alla miscela di reazione, la miscela di reazione è stata mescolata per 20 ore a temperatura ambiente in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua ghiacciata (20 ml) e il pH è stato regolato a 4-5 con acido cloridrico diluito 1 M e la miscela è stata estratta con etilacetato (30 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (120 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante una piastra per cromatografia (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 1/1, rapporto in volume) a dare il composto **BB-18-7** (olio giallo, 600,00 mg, resa: 35,86%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.53 (s, 1H), 4.40 (s ampio, 1H), 3.20-3.28 (m, 4H), 1.49-1.55 (m, 4H), 0.35 (s, 4H).

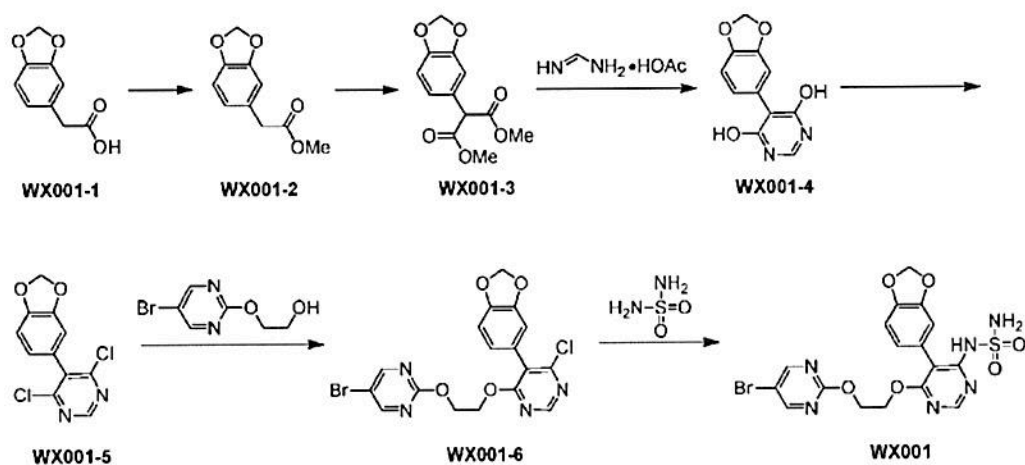
Passaggio 7: Sintesi del composto **BB-18**

A temperatura ambiente, è stato aggiunto *terz*-butossido di potassio (353,46 mg, 3,15 mmol) a una soluzione di etilenglicole (16,03 g, 258,27 mmol) in dimetiletere di etilenglicole (3,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C e mescolata per 0,5 ore in atmosfera di azoto, poi una soluzione del composto **BB-18-7** (400,00 mg, 1,05 mmol) in dimetiletere di etilenglicole (5,00 ml) è stata aggiunta alla soluzione di reazione e la miscela di reazione è stata riscaldata a 110 °C e mescolata per 40 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e il solvente è stato rimosso a pressione ridotta. Al residuo è stata aggiunta acqua ghiacciata (30 ml), il pH è stato regolato a 5-6 con acido cloridrico diluito 1 M ed estratta con etilacetato (30 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia (eluente: etilacetato/etere di petrolio in rapporto in volume 1/1) a dare il composto **BB-18** (olio giallo, 180,00 mg, resa: 42,09%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.37 (s, 1H), 4.61-4.56 (m, 2H), 4.01-3.97 (m, 2H), 3.54-3.47 (m, 4H), 1.52-1.45 (m, 4H), 0.36-0.31 (m, 4H).

Forma di realizzazione 1: WX001



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto **WX001-2**

A 0 °C, diclorosolfossido (58,11 g, 488,46 mmol, 35,43 ml) è stato aggiunto lentamente in gocce a una soluzione di composto **WX001-1** (80 g, 444,06 mmol) in metanolo (400 ml) (il tempo di discesa era di circa 0,5 ore) e la miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per 10 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, il solvente è stato rimosso a pressione ridotta e al residuo è stata aggiunta acqua (300 ml) ed è stato estratto con etilacetato (300 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (300 ml), essiccate su solfato di sodio anidro e filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta ottenendo il composto **WX001-2**. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 6.80-6.71 (m, 3H), 5.94 (s, 2H), 3.70 (s, 3H), 3.55 (s, 2H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **WX001-3**

A 0 °C, una soluzione del composto **WX001-2** (35 g, 180,24 mmol) in dimetilcarbonato (118,51 g, 1,32 mol, 110,76 ml) è stata lentamente aggiunta in gocce a una soluzione di miscela di idruro di sodio (10,81 g, 270,36 mmol, purezza: 60%) in dimetilcarbonato (118,51 g, 1,32 mol, 110,76 ml) (il tempo di discesa è di circa 1 ora), la miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per

15 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, è stata aggiunta acqua ghiacciata (500 ml) e la miscela è stata estratta con etilacetato (300 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (300 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 10/1-5/1, rapporto in volume) a dare il composto **WX001-3**. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.00-6.93 (m, 1H), 6.85-6.77 (m, 2H), 5.98 (s, 2H), 4.58 (s, 1H), 3.78 (s, 6H).

Passaggio 3: Sintesi del composto **WX001-4**

A 0 °C, un blocco di sodio (10,94 g, 475,78 mmol) è stato aggiunto in porzioni a metanolo anidro (150 ml), la miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 0,5 ore in atmosfera di azoto e poi una soluzione del composto **WX001-3** (40 g, 158,59 mmol) in metanolo (100 ml) è stata aggiunta alla soluzione di reazione. La miscela di reazione è stata riscaldata a temperatura ambiente e mescolata per 15 ore in atmosfera di azoto, quindi acetato di formamidina (19,81 g, 190,31 mmol) è stato aggiunto alla soluzione di reazione in una porzione e la miscela di reazione è stata ulteriormente mescolata a temperatura ambiente per 15 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, il solvente è stato rimosso sotto pressione ridotta e al residuo è stato aggiunto acido cloridrico diluito 2 M (200 ml) e mescolato a temperatura ambiente per 30 minuti, durante i quali è precipitata una grande quantità di solido bianco. La miscela di reazione è stata filtrata, la torta di filtrazione è stata lavata con metanolo (50 ml × 2) e la torta di filtrazione è stata raccolta ed essiccata sotto vuoto a dare il composto **WX001-4**.

Passaggio 4: Sintesi del composto **WX001-5**

A temperatura ambiente, il composto **WX001-4** (24 g, 103,36 mmol) è stato aggiunto ad ossicloruro di fosforo (594,00 g, 3,87 mol, 360,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 90 °C e mescolata per 5 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, la soluzione di reazione è stata versata lentamente in acqua ghiacciata (1000 ml) e mescolata a temperatura ambiente per 0,5 ore e poi estratta con etilacetato (1000 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (1000 ml), essiccate su solfato di sodio anidro,

filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato in rapporto in volume 10/1) a dare il composto **WX001-5**. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.78 (s, 1H), 6.96 (d, $J=8.3$ Hz, 1H), 6.78 (dd, $J=2.5, 4.0$ Hz, 2H), 6.09 (s, 2H).

Passaggio 5: Sintesi del composto **WX001-6**

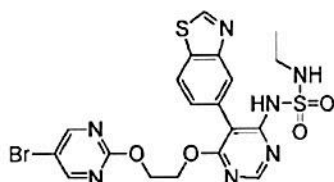
A temperatura ambiente, il composto 2-(5-bromopirimidin-2-il)ossietanolo (8,06 g, 36,79 mmol) e il composto **WX001-5** (11 g, 40,88 mmol) sono stati disciolti in toluene (100 ml), poi la miscela è stata raffreddata a 0 °C, *terz*-butossido di potassio (9,17 g, 81,76 mmol) è stato aggiunto in porzioni e la miscela di reazione è stata mescolata a 0 °C per 0,5 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, è stato aggiunto acido cloridrico diluito 0,5 M (100 ml) alla soluzione di reazione e la miscela è stata estratta con etilacetato (100 ml \times 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato in rapporto in volume 5/1) a dare il composto **WX001-6**. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.54-8.48 (m, 3H), 6.86-6.74 (m, 3H), 6.02 (s, 2H), 4.80-4.74 (m, 2H), 4.73- 4.64 (m, 2H).

Passaggio 6: Sintesi del composto **WX001**

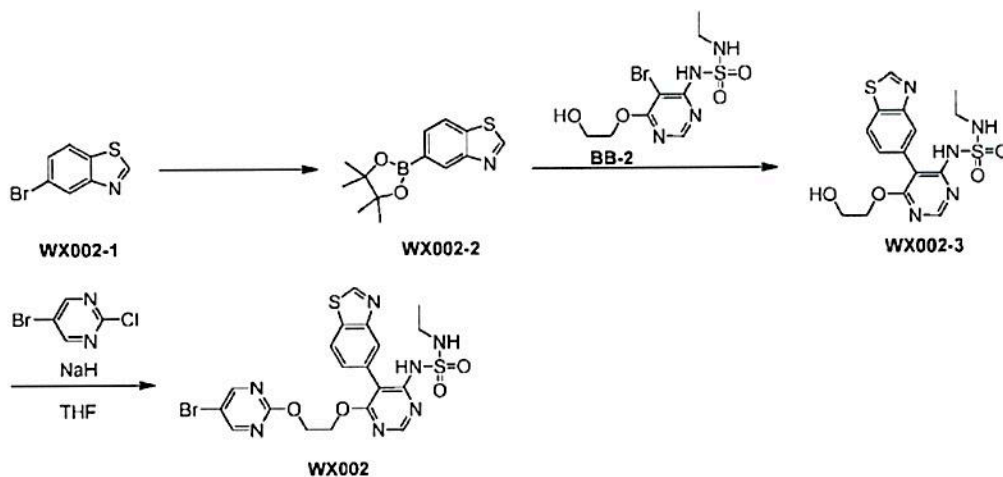
A temperatura ambiente, il composto solfammide (1,52 g, 15,83 mmol) e il composto **WX001-6** (6,5 g, 14,39 mmol) sono stati disciolti in dimetil solfossido (100 ml) e poi carbonato di potassio (5,97 g, 43,17 mmol) e fluoruro di tetrabutilammonio triidrato (9,08 g, 28,78 mmol) sono stati aggiunti in una porzione. La miscela di reazione è stata riscaldata a 70 °C e mescolata per 5 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, aggiunta con acido cloridrico diluito 0,5 M (100 ml) e acqua (500 ml), ed estratta con etilacetato (400 ml \times 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (500 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 3/1, poi diclorometano/etilacetato = 5/1, rapporto in

volume) a dare il composto bersaglio **WX001**. MS-ESI m/z : 510.8 $[M+H]^+$, 512.8 $[M+H+2]^+$. 1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 9.29 (s, 1H), 8.72 (s, 2H), 8.46 (s, 1H), 7.21 (s, 2H), 6.91 (d, $J=7.8$ Hz, 1H), 6.76-6.61 (m, 2H), 6.05 (s, 2H), 4.69-4.62 (m, 2H), 4.62-4.54 (m, 2H).

Forma di realizzazione 2: WX002



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto **WX002-2**

A temperatura ambiente, il composto **WX002-1** (8,00 g, 37,37 mmol), bis(pinacolato)diboro (11,39 g, 44,84 mmol) e acetato di potassio (7,33 g, 74,74 mmol) sono stati aggiunti a 1,4-diossano (100,00 ml), quindi è stato aggiunto [1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocene]dicloro-palladio(II) (5,47 g, 7,47 mmol). La miscela di reazione è stata riscaldata a 100 °C e mescolata per 10 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, filtrata e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta. Al residuo è stata aggiunta acqua (100 ml) ed estratto con etilacetato (100 ml \times 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (50 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato in

rapporto in volume 20/1) a dare il composto bersaglio **WX002-2**. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.92 (s, 1H), 8.51 (s, 1H), 7.89 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.78 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 1.30 (s, 12H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **WX002-3**

A temperatura ambiente, il composto **BB-2** (250,00 mg, 732,75 μmol) e il composto **WX002-2** (287,04 mg, 1,10 mmol) sono stati aggiunti a 1,4-diossano (15,00 ml), quindi è stata aggiunta una soluzione di carbonato di potassio (303,82 mg, 2,20 mmol) in acqua (5,00 ml). La miscela di reazione è stata mescolata a temperatura ambiente per 0,5 ore in atmosfera di azoto e poi [1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocene]dicloro-palladio(II) (160,85 mg, 219,83 μmol) è stato aggiunto alla miscela. La miscela di reazione è stata riscaldata a 80 °C e mescolata per 11 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, vi è stata aggiunta acqua (100 ml), è stata estratta con etilacetato (20 ml × 1) e la fase organica è stata scartata. La fase acquosa ottenuta è stata regolata a un pH di 5-6 con acido cloridrico 3 M ed estratta con etilacetato (20 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, essiccate su solfato di sodio anidro, poi filtrate e il filtrato è stato concentrato a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 10/1-1/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **WX002-3**. MS-ESI *m/z*: 395,9 [M+H]⁺. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 9.01 (s, 1H), 8.47 (s, 1H), 8.05 (s, 1H), 8.02 (s, 1H), 7.31 (d, *J*=8.3 Hz, 1H), 7.06 (s, 1H), 5.52 (t, *J*=6.0 Hz, 1H), 4.44 (t, *J*=4.4 Hz, 2H), 3.77 (s, 2H), 3.08-2.98 (m, 2H), 2.58 (s ampio, 1H), 1.15 (t, *J*=7.2 Hz, 3 H).

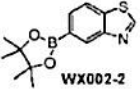
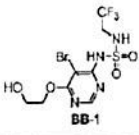
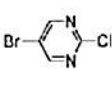
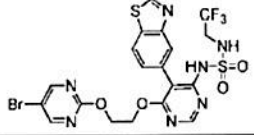
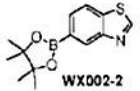
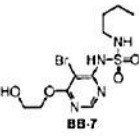
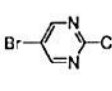
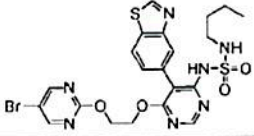
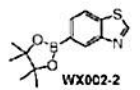
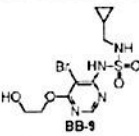
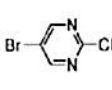
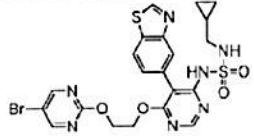
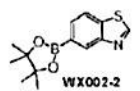
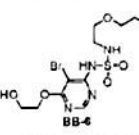
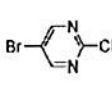
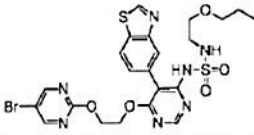
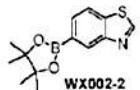
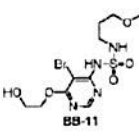
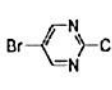
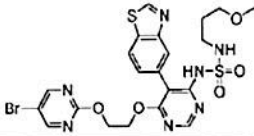
Passaggio 3: Sintesi del composto **WX002**

A temperatura ambiente, idruro di sodio (194,20 mg, 4,86 mmol, purezza: 60%) è stato aggiunto a tetraidrofurano anidro (20,00 ml), poi sono stati aggiunti una soluzione del composto **WX002-3** (240,00 mg, 606,89 μmol) in *N,N*-dimetilformammide anidra (1 ml) e una soluzione di 5-bromo-2-cloropirimidina (234,78 mg, 1,21 mmol) in tetraidrofurano anidro (1 ml), la miscela di reazione è stata riscaldata a 70 °C e mescolata per 2 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, vi è stata aggiunta soluzione satura a base di cloruro di ammonio (30 ml), il pH

regolato a 4-5 con acido cloridrico diluito 1 M ed estratta con etilacetato (20 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (50 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante HPLC preparativa (fase mobile: acetonitrile/acqua; sistema basico: NH₄HCO₃ e NH₃·H₂O) a dare il composto bersaglio **WX002**. MS-ESI *m/z*: 552.0 [M+H]⁺, 554.0 [M+H+2]⁺. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 9.08 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.43 (s, 2H), 8.04 (d, *J*=2.0 Hz, 2H), 7.34 (dd, *J*=8.5, 1.3 Hz, 1H), 6.87 (s ampio, 1H), 5.58 (s, 1H), 4.74 (t, *J*=4.4 Hz, 2H), 4.62 (t, *J*=4.4 Hz, 2H), 3.15-3.02 (m, 2H), 1.21 (t, *J*=7.3 Hz, 3H).

Con riferimento al metodo di sintesi nella **forma di realizzazione 2 (BB-2** nel passaggio 2 è stato sostituito con la struttura corrispondente nel frammento 2), sono state sintetizzate le forme di realizzazione nella tabella 1.

Tabella 1: **Forme di realizzazione 3-7** formula strutturale

Forma di realizzazione	Frammento 1	Frammento 2	Frammento 3	Struttura	Composto
3					WX003
4					WX004
5					WX005
6					WX006
7					WX007

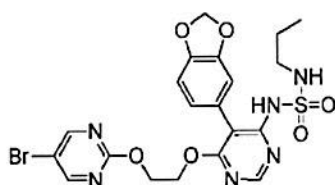
I dati di LCMS e HNMR di ciascuna forma di realizzazione sono mostrati nella tabella 2.

Tabella 2: **Forme di realizzazione 3-7** dati di RMN e LCMS

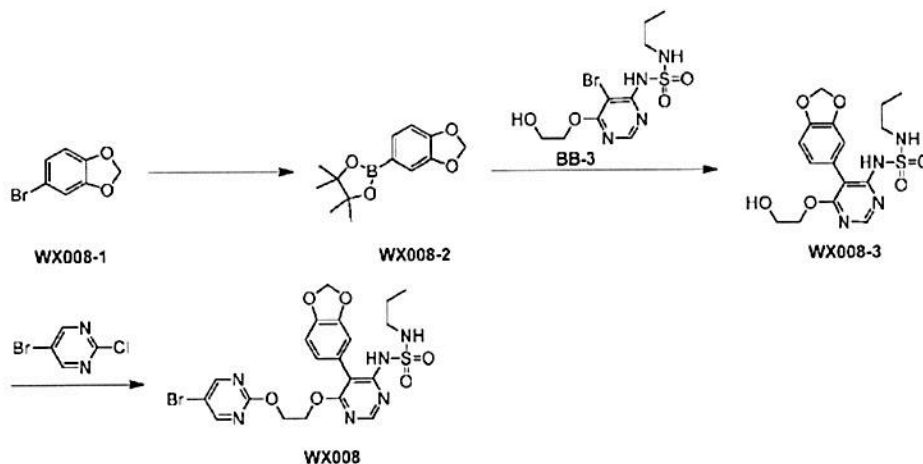
Forma di realizzazione	Composto	¹ H NMR	LCMS
3	WX003	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 8.91 (s, 1H), 8.46 (s, 1H), 8.34 (s, 2H), 7.93-7.86 (m, 2H), 7.24 (dd, <i>J</i> =8.4, 1.4 Hz, 1H), 6.29 (s ampio, 1H), 4.67 (d, <i>J</i> =4.6 Hz, 2H), 4.54 (d, <i>J</i> =4.6 Hz, 2H), 3.65 (q, <i>J</i> =9.0 Hz, 2H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 606.0 [M+H] ⁺ , 608.0 [M+H+2] ⁺ .
4	WX004	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 9.08 (s ampio, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.43 (s, 2H), 8.12-7.91 (m, 2H), 7.34 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1H), 7.01 (s ampio, 1H), 5.61 (t, <i>J</i> =5.0 Hz, 1H), 4.75 (s ampio, 2H), 4.62 (s ampio, 2H), 3.01 (d, <i>J</i> =6.3 Hz, 2H), 1.55 (d, <i>J</i> =7.3 Hz, 2H), 1.43-1.33 (m, 2H), 0.92 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 580.0 [M+H] ⁺ , 582.0 [M+H+2] ⁺ .
5	WX005	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 9.08 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.43 (s, 2H), 8.11-7.85 (m, 2H), 7.33 (d, <i>J</i> =9.0 Hz, 1H), 5.75 (s ampio, 1H), 4.73 (d, <i>J</i> =4.5 Hz, 2H), 4.64-4.56 (m, 2H), 2.88 (s ampio, 2H), 1.01 (s ampio, 1H), 0.54 (d, <i>J</i> =7.8 Hz, 2H), 0.17 (d ampio, <i>J</i> =5.0 Hz, 2H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 578.0 [M+H] ⁺ , 580.0 [M+H+2] ⁺ .
6	WX006	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 9.00 (s, 1H), 8.44 (s, 1H), 8.36 (s, 2H), 8.02-7.92 (m, 2H), 7.30-7.23 (m, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.06 (t, <i>J</i> =5.7 Hz, 1H), 4.66 (d, <i>J</i> =5.0 Hz, 2H), 4.57-4.51 (m, 2H), 3.48 (t, <i>J</i> =5.0 Hz, 2H), 3.28 (t, <i>J</i> =6.6 Hz, 2H), 3.11 (q, <i>J</i> =5.5 Hz, 2H), 1.49-1.44 (m, 2H), 0.85 (t, <i>J</i> =7.4 Hz, 3H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 610.1 [M+H] ⁺ , 612.1 [M+2+H] ⁺ .

Forma di realizzazione	Composto	¹ H NMR	LCMS
7	WX007	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 9.04 (s, 1H), 8.52 (s, 1H), 8.42 (s, 2H), 8.10-7.84 (m, 2H), 7.34 (dd, <i>J</i> =1.3, 8.3 Hz, 1H), 7.21 (s ampio, 1H), 6.09 (t, <i>J</i> =6.0 Hz, 1H), 4.73 (d, <i>J</i> =4.8 Hz, 2H), 4.65-4.57 (m, 2H), 3.46 (t, <i>J</i> =5.6 Hz, 2H), 3.34 (s, 3H), 3.13 (q, <i>J</i> =6.1 Hz, 2H), 1.84 (q, <i>J</i> =6.0 Hz, 2H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 595.9 [M+H] ⁺ , 597.9 [M+H+2] ⁺ .

Forma di realizzazione 8: WX008



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto WX008-2

A temperatura ambiente, il composto **WX008-1** (3,00 g, 14,92 mmol), bis(pinacolato)diboro (7,58 g, 29,84 mmol) e acetato di potassio (4,39 g, 44,76 mmol) sono stati aggiunti a 1,4-diossano (30,00 ml), quindi è stato aggiunto [1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocene]dicloropalladio (II) (3,28 g, 4,48 mmol). La miscela di reazione è stata riscaldata a 80 °C e mescolata per 16 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, filtrata e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta. Al residuo è stata aggiunta acqua (30 ml) ed estratto con etilacetato (20

ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate, il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta e il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 1/0-100/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **WX008-2**. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.38 (dd, *J*=7.8, 0.8 Hz, 1H), 7.26 (s, 1H), 6.85 (d, *J*=7.8 Hz, 1H), 5.97 (s, 2H), 1.35 (s, 12H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **WX008-3**

A temperatura ambiente, il composto **BB-3** (300,00 mg, 844,57 μmol), il composto **WX008-2** (419,04 mg, 1,69 mmol) e fosfato di potassio (537,83 mg, 2,53 mmol) sono stati aggiunti a *N,N*-dimetilformammide (20,00 ml), poi è stato aggiunto [1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocene]dicloro-palladio (II) (185,39 mg, 253,37 μmol). La miscela di reazione è stata riscaldata a 80 °C e mescolata per 16 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, vi è stata aggiunta acqua (100 ml), è stata estratta con etilacetato (20 ml × 1) e la fase organica è stata scartata. La fase acquosa ottenuta è stata regolata a un pH di 5-6 con acido cloridrico 3 M ed estratta con etilacetato (20 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, essiccate su solfato di sodio anidro, poi filtrate e il filtrato è stato concentrato a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante piastra per cromatografia preparativa (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 1/2, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **WX008-3**. MS-ESI *m/z*: 397.0 [M+H]⁺.

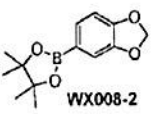
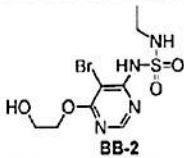
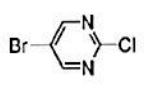
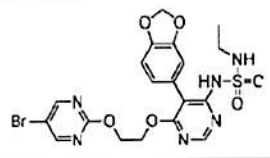
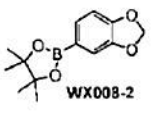
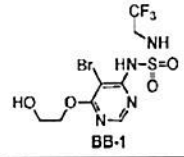
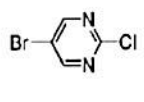
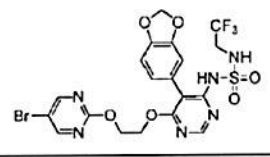
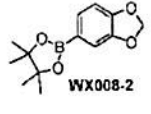
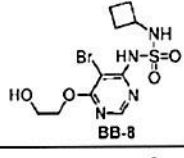
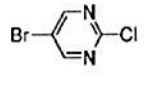
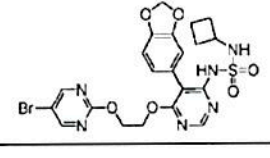
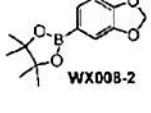
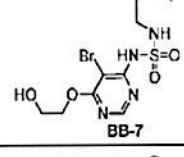
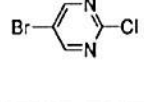
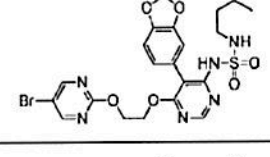
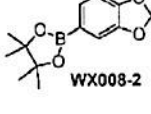
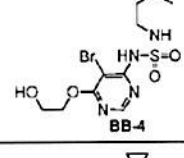
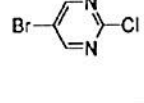
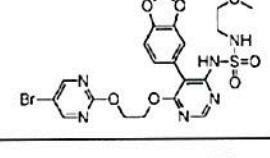
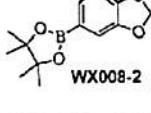
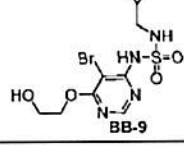
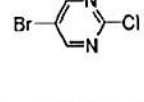
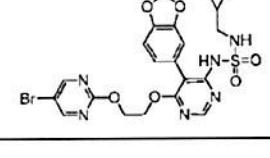
Passaggio 3: Sintesi del composto **WX008**

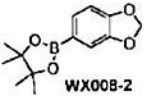
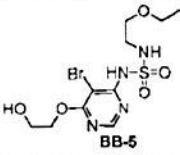
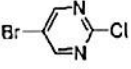
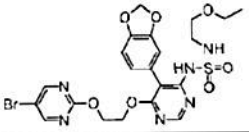
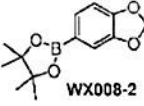
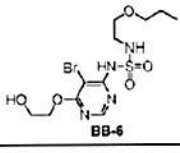
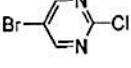
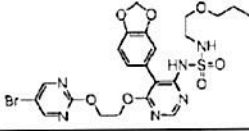
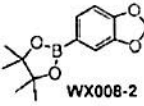
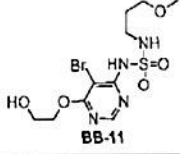
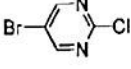
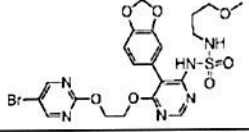
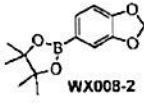
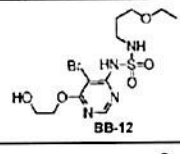
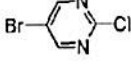
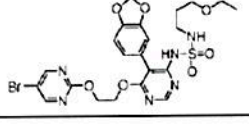
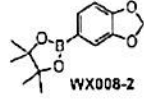
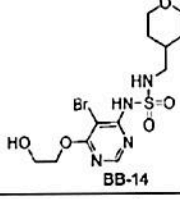
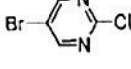
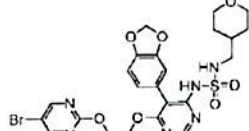
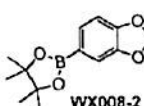
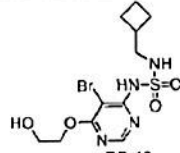
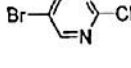
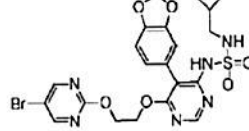
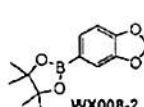
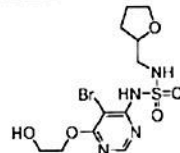
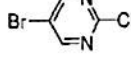
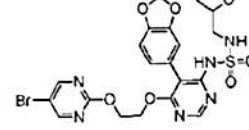
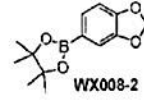
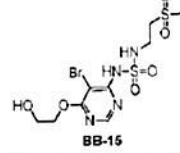
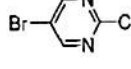
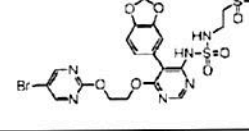
A temperatura ambiente, idruro di sodi (145,30 mg, 3,63 mmol, purezza: 60%) è stato aggiunto a tetraidrofurano anidro (20 ml), poi sono stati aggiunti una soluzione del composto **WX008-3** (180,00 mg, 454,06 μmol) in *N,N*-dimetilformammide anidra (1 ml) e vi è stata aggiunta una soluzione di 5-bromo-2-cloropirimidina (175,66 mg, 908,13 μmol) in tetraidrofurano anidro (1 ml). La miscela di reazione è stata riscaldata a 70 °C e mescolata per 2 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, vi è stata aggiunta soluzione satura a base di cloruro di ammonio (30 ml), il pH regolato a 4-5 con acido cloridrico diluito 1 M ed estratta con etilacetato (20 ml × 3). Le fasi

organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (50 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante HPLC preparativa (fase mobile: acetonitrile/acqua; sistema neutro) a dare il composto bersaglio **WX008**. MS-ESI m/z: 552.8 [M+H]⁺, 554.8 [M+H+2]⁺. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.49 (s, 2H), 8.43 (s, 1H), 6.87 (d, J=8.3 Hz, 1H), 6.73-6.68 (m, 2H), 6.03 (s, 2H), 5.61 (t, J=6.2 Hz, 1H), 4.73 (q, J=5.0 Hz, 2H), 4.64 (t, J=4.8 Hz, 2H), 2.96 (q, J=6.8 Hz, 2H), 1.64-1.57 (m, 2H), 0.94 (t, J=7.4 Hz, 3H).

Con riferimento al metodo di sintesi nella **forma di realizzazione 8 (BB-3)** nel passaggio 2 è stato sostituito con la struttura corrispondente nel frammento 2), sono state sintetizzate le forme di realizzazione nella tabella 3.

Tabella 3: **Forme di realizzazione 9-22** formula strutturale

Forma di realizzazione	Frammento 1	Frammento 2	Frammento 3	Struttura	Composto
9	 WX008-2	 BB-2	 Br-Cl	 WX009	WX009
10	 WX008-2	 BB-1	 Br-Cl	 WX010	WX010
11	 WX008-2	 BB-8	 Br-Cl	 WX011	WX011
12	 WX008-2	 BB-7	 Br-Cl	 WX012	WX012
13	 WX008-2	 BB-4	 Br-Cl	 WX013	WX013
14	 WX008-2	 BB-9	 Br-Cl	 WX014	WX014

Forma di realizzazione	Frammento 1	Frammento 2	Frammento 3	Struttura	Composto
15	 WX008-2	 BB-5	 Br-Cl	 WX015	WX015
16	 WX008-2	 BB-6	 Br-Cl	 WX016	WX016
17	 WX008-2	 BB-11	 Br-Cl	 WX017	WX017
18	 WX008-2	 BB-12	 Br-Cl	 WX018	WX018
19	 WX008-2	 BB-14	 Br-Cl	 WX019	WX019
20	 WX008-2	 BB-10	 Br-Cl	 WX020	WX020
21	 WX008-2	 BB-13	 Br-Cl	 WX021	WX021
22	 WX008-2	 BB-15	 Br-Cl	 WX022	WX022

I dati di LCMS e HNMR di ciascuna forma di realizzazione sono mostrati nella tabella 4.

Tabella 4: Forme di realizzazione 9-22 dati di RMN e LCMS

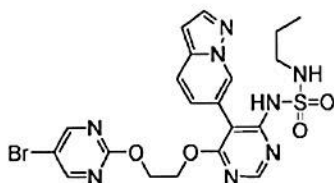
Forma di realizzazione	Composto	¹ HNMR	LCMS
------------------------	----------	-------------------	------

Forma di realizzazione	Composto	¹ H NMR	LCMS
9	WX009	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 8.49 (s, 2H), 8.44 (s, 1H), 7.00 (s, 1H), 6.87 (d, <i>J</i> =83 Hz, 1H), 6.71 (d, <i>J</i> =1.6 Hz, 1H), 6.70 (s, 1H), 6.03 (s, 2H), 5.56 (t, <i>J</i> =6.0 Hz, 1H), 4.73 (t, <i>J</i> =4.8 Hz, 2H), 4.64 (t, <i>J</i> =4.8 Hz, 2H), 3.13-3.00 (m, 2H), 1.20 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 539.0 [M+H] ⁺ , 541.0 [M+H+2] ⁺ .
10	WX010	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 8.42 (s, 2H), 8.39 (s, 1H), 6.80 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1H), 6.62 (d, <i>J</i> =1.2 Hz, 1H), 6.61 (d, <i>J</i> =2.0 Hz, 1H), 5.97 (s, 2H), 4.67 (t, <i>J</i> =4.8 Hz, 2H), 4.58 (t, <i>J</i> =4.4 Hz, 2H), 3.61 (q, <i>J</i> =8.8 Hz, 2H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 593.0 [M+H] ⁺ , 595.0 [M+H+2] ⁺ .
11	WX011	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 8.50 (s, 2H), 8.49 (s, 1H), 7.01 (s, 1H), 6.87 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1H), 6.69-6.64 (m, 2H), 6.04 (s, 2H), 5.78 (d, <i>J</i> =8.8 Hz, 1H), 4.72 (t, <i>J</i> =4.5 Hz, 2H), 4.65 (t, <i>J</i> =4.5 Hz, 2H), 3.89-3.83 (m, 1H), 2.28-2.19 (m, 2H), 1.90-1.85 (m, 2H), 1.74-1.60 (m, 2H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 565.1 [M+H] ⁺ , 567.1 [M+H+2] ⁺ .
12	WX012	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 8.49 (s, 2H), 8.44 (s, 1H), 6.97 (s ampio, 1H), 6.87 (d, <i>J</i> =8.0 Hz, 1H), 6.74-6.65 (m, 2H), 6.03 (s, 2H), 5.58 (t, <i>J</i> =5.8 Hz, 1H), 4.72 (s ampio, 2H), 4.64 (s ampio, 2H), 2.99 (q, <i>J</i> =6.8 Hz, 2H), 1.56-1.47 (m, 2H), 1.43-1.30 (m, 2H), 0.90 (t, <i>J</i> =7.3 Hz, 3H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 567.1 [M+H] ⁺ , 569.1 [M+H+2] ⁺ .
13	WX013	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 8.49 (s, 2H), 8.46 (s, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.79 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1H), 6.68-6.43 (m, 2H), 6.02-5.91 (m, 3H), 4.71-4.61 (m, 2H), 4.60-4.52 (m, 2H), 3.42 (t, <i>J</i> =5.0 Hz, 2H), 3.22 (s, 3H), 3.13-3.01 (m, 2H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 569.0 [M+H] ⁺ , 571.0 [M+H+2] ⁺ .
14	WX014	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 8.49 (s, 2H), 8.45 (s, 1H), 6.97 (s ampio, 1H), 6.86 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1H), 6.78-6.58 (m, 2H), 6.03 (s, 2H), 5.73 (s ampio, 1H), 4.72 (t, <i>J</i> =4.5 Hz, 2H), 4.65 (t, <i>J</i> =4.5 Hz, 2H), 2.87 (t, <i>J</i> =6.4 Hz, 2H), 0.99 (s ampio, 1H), 0.52 (d, <i>J</i> =7.3 Hz, 2H), 0.16 (d, <i>J</i> =4.5 Hz, 2H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 565.0 [M+H] ⁺ , 567.0 [M+H+2] ⁺ .

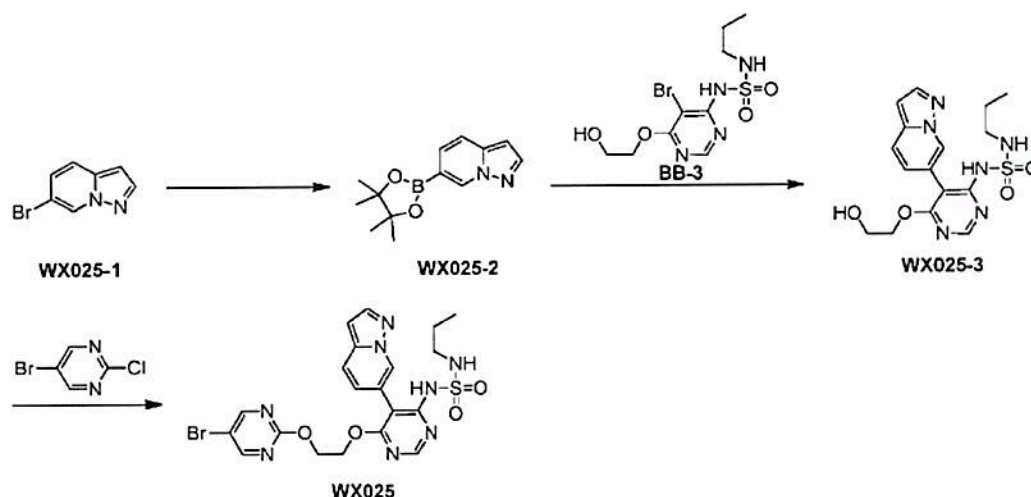
Forma di realizzazione	Composto	¹ H NMR	LCMS
15	WX015	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 8.42 (s, 2H), 8.37 (s, 1H), 6.79 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1H), 6.65-6.61 (m, 2H), 6.05 (s ampio, 1H), 5.95 (s, 2H), 4.68-4.61 (m, 2H), 4.59-4.52 (m, 2H), 3.46 (t, <i>J</i> =5.0 Hz, 2H), 3.36 (q, <i>J</i> =7.0 Hz, 2H), 3.09 (t, <i>J</i> =5.0 Hz, 2H), 1.09 (t, <i>J</i> =7.0 Hz, 3H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 583.1 [M+H] ⁺ . 585.1 [M+H+2] ⁺ .
16	WX016	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 8.42 (s, 2H), 8.37 (s, 1H), 7.19 (s, 1H), 6.95 (s ampio, 1H), 6.79 (d, <i>J</i> =8.3 Hz, 1H), 6.71-6.61 (m, 2H), 6.03 (t, <i>J</i> =5.8 Hz, 1H), 5.96 (s, 2H), 4.64 (t, <i>J</i> =4.8 Hz, 2H), 4.57 (t, <i>J</i> =4.5 Hz, 2H), 3.54-3.42 (m, 2H), 3.36-3.23 (m, 2H), 3.16-3.04 (m, 2H), 1.51-1.42 (m, 2H), 0.95-0.77 (m, 3H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 597.1 [M+H] ⁺ , 599.1 [M+H+2] ⁺ .
17	WX017	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 8.50 (s, 2H), 8.45 (s, 1H), 6.87 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1H), 6.74-6.69 (m, 2H), 6.06-6.00 (m, 3H), 4.77-4.69 (m, 2H), 4.67-4.62 (m, 2H), 3.46 (t, <i>J</i> =5.6 Hz, 2H), 3.33 (s, 3H), 3.19-2.99 (m, 2H), 1.83 (q, <i>J</i> =6.0 Hz, 2H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 583.0 [M+H] ⁺ , 585.0 [M+H+2] ⁺ .
18	WX018	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 8.42 (s, 2H), 8.36 (s, 1H), 6.80 (d, <i>J</i> =8.4 Hz, 1H), 6.70-6.59 (m, 2H), 5.96 (s, 2H), 4.65 (t, <i>J</i> =4.4 Hz, 2H), 4.57 (t, <i>J</i> =4.4 Hz, 2H), 3.44-3.36 (m, 4H), 3.05 (q, <i>J</i> =6.0 Hz, 2H), 1.79-1.71 (m, 2H), 1.14 (t, <i>J</i> =7.0 Hz, 3H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 597.1 [M+H] ⁺ , 599.1 [M+H+2] ⁺ .
19	WX019	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 8.43 (s, 2H), 8.36 (s, 1H), 6.92 (s ampio, 1H), 6.80 (d, <i>J</i> =8.5 Hz, 1H), 6.66-6.61 (m, 2H), 5.96 (s, 2H), 5.62 (t, <i>J</i> =6.6 Hz, 1H), 4.66 (d, <i>J</i> =4.7 Hz, 2H), 4.58 (d, <i>J</i> =4.7 Hz, 2H), 3.91 (dd, <i>J</i> =11.4, 3.26 Hz, 1H), 3.89 (dd, <i>J</i> =11.4, 3.2 Hz, 1H), 3.30 (t, <i>J</i> =11.4 Hz, 2H), 2.79 (t, <i>J</i> =6.6 Hz, 2H), 1.73 (s ampio, 1H), 1.60 (d, <i>J</i> =14.3 Hz, 2H), 1.30-1.16 (m, 2H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 609.1 [M+H] ⁺ , 611.1 [M+H+2] ⁺ .

Il composto **WX021** (500,00 mg, 839,74 μmol) è stato risolto mediante cromatografia per fluidi supercritici (condizioni di separazione, colonna: chiralpak AD-3 50 * 4,6 mm di diametro interno, 3 μm ; fase mobile: A: anidride carbonica; B: isopropanolo (dietilammina 0,05%), 40%; temperatura della colonna: 40 $^{\circ}\text{C}$; lunghezza d'onda: 220 nm) a dare il campione con un tempo di ritenzione di 1,149 min come **WX023** (ee%: 100%) e il campione con un tempo di ritenzione di 3,199 min come **WX024** (ee%: 100%).

Forma di realizzazione 25: WX025



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto **WX025-2**

A temperatura ambiente, il composto **WX025-1** (400,00 mg, 2,03 mmol), bis(pinacolato)diboro (618,60 mg, 2,44 mmol), acetato di potassio (597,72 mg, 6,09 mmol) e [1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocene]dicloropalladio(II) (297,09 mg, 406,03 μmol) sono stati aggiunti a diossano (20,00 ml), la miscela di reazione è stata riscaldata a 100 $^{\circ}\text{C}$ e mescolata per 15 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, il solvente è stato rimosso a pressione ridotta e al residuo è stata aggiunta acqua (100 ml) ed è stato estratto con etilacetato (100 ml \times

3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (50 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato in rapporto in volume 1/1) a dare il composto bersaglio **WX025-2**. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.70 (s, 1H), 7.99-7.98 (m, 1H), 7.51 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 7.37 (d, *J*=8.8 Hz, 1H), 6.48 (s, 1H), 1.36 (s, 12H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **WX025-3**

A temperatura ambiente, il composto **BB-3** (300,00 mg, 844,57 μmol), il composto **WX025-2** (309,24 mg, 1,27 mmol), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocene] dicloropalladio(II) (123,59 mg, 168,91 μmol) e carbonato di potassio (350,18 mg, 2,53 mmol) sono stati aggiunti a una miscela di diossano (20,00 ml) e acqua (2,00 ml) e la miscela di reazione è stata riscaldata a 80 °C e mescolata per 10 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, vi è stata aggiunta acqua ghiacciata (100 ml), il pH regolato a 5 con acido cloridrico diluito 1 M ed estratta con etilacetato (50 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (50 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato sottoposto a cromatografia preparativa (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 1/2, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **WX025-3**. MS-ESI *m/z*: 393.0 [M+H]⁺.

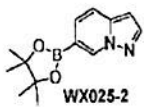
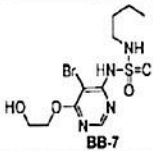
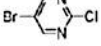
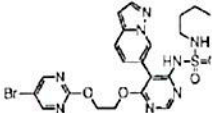
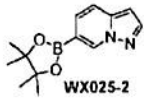
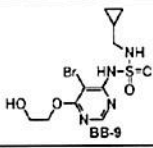
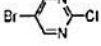
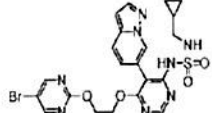
Passaggio 3: Sintesi del composto **WX025**

A temperatura ambiente, una soluzione del composto **WX025-3** (180,00 mg, 346,76 μmol) in *N,N*-dimetilformammide (2 ml) e una soluzione di 5-bromo-2-cloropirimidina (67,07 mg, 346,76 μmol) in tetraidrofurano (1 ml) sono stati aggiunti a una miscela di idruro di sodio (83,08 mg, 2,08 mmol, purezza: 60%) in tetraidrofurano anidro (20 ml) in una porzione. La miscela di reazione è stata riscaldata a 70 °C e mescolata per 2 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, vi è stata aggiunta soluzione satura a base di cloruro di ammonio (50 ml), il pH regolato a 4-5 con acido cloridrico diluito 1 M ed estratta con etilacetato (50 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (50 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il

solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante HPLC preparativa (fase mobile: acetonitrile/acqua; sistema basico: NH_4HCO_3 e $\text{NH}_3\text{H}_2\text{O}$) a dare il composto bersaglio **WX025**. MS-ESI m/z : 549.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 551.0 $[\text{M}+\text{H}+2]^+$. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.53 (s, 1H), 8.46-8.44 (m, 3H), 8.03 (s, 1H), 7.62 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 6.98 (d, $J=9.2$ Hz, 1H), 6.62 (s, 1H), 5.64 (s, 1H), 4.78-4.76 (m, 2H), 4.67-4.65 (m, 2H), 3.02-3.00 (m, 2H), 1.65-1.63 (m, 2H), 0.99 (t, $J=7.2$ Hz, 3H).

Con riferimento al metodo di sintesi nella **forma di realizzazione 25 (BB-3** nel passaggio 2 è stato sostituito con la struttura corrispondente nel frammento 2), sono state sintetizzate le forme di realizzazione nella tabella 5.

Tabella 5: **Forme di realizzazione 26-27** formula strutturale

Forma di realizzazione	Frammento 1	Frammento 2	Frammento 3	Struttura	Composto
26					WX026
27					WX027

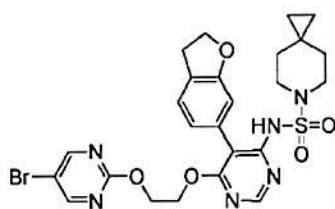
I dati di LCMS e HNMR di ciascuna forma di realizzazione sono mostrati nella tabella 6.

Tabella 6: **Forme di realizzazione 26-27** dati di RMN e LCMS

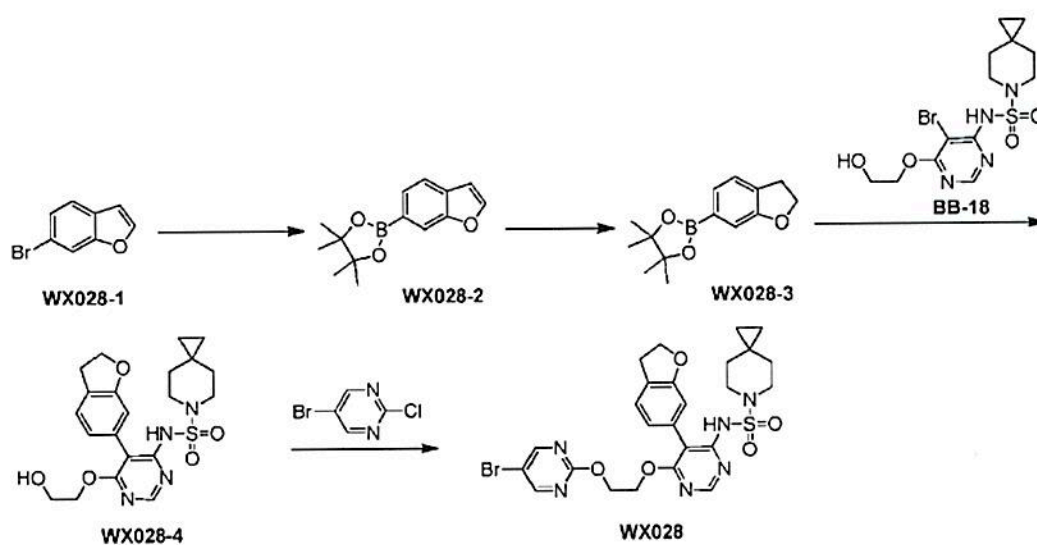
Forma di realizzazione	Composto	^1H NMR	LCMS
26	WX026	^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.50 (s, 1H), 8.42 (d, $J=7.2$ Hz, 3H), 8.00 (d, $J=2.2$ Hz, 1H), 7.59 (d, $J=8.7$ Hz, 1H), 6.94 (d, $J=9.0$ Hz, 1H), 6.60 (d, $J=1.5$ Hz, 1H), 5.59 (s ampio, 1H), 4.74 (t, $J=4.0$ Hz, 2H), 4.63 (t, $J=4.8$ Hz, 2H), 3.01 (d, $J=1.5$ Hz, 2H), 1.52 (d, $J=6.8$ Hz, 2H), 1.40-1.34 (m, 2H), 0.91 (t, $J=7.3$, 3H).	MS-ESI m/z : 563.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 565.0 $[\text{M}+\text{H}+2]^+$.

Forma di realizzazione	Composto	¹ HNMR	LCMS
27	WX027	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 8.51 (s, 1H), 8.41 (s, 3H), 7.97 (d, J=2.0 Hz, 1H), 7.56 (d, J=9.0 Hz, 1H), 6.93 (d, J=8.5 Hz, 1H), 6.57 (s, 1H), 4.78-4.67 (m, 2H), 4.65-4.57 (m, 2H), 2.89 (d, J=7.0 Hz, 2H), 1.01 (s ampio, 1H), 0.69-0.40 (m, 2H), 0.29-0.16 (m, 2H).	MS-ESI m/z: 561.1 [M+H] ⁺ , 563.1 [M+H+2] ⁺ .

Forma di realizzazione 28: WX028



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto WX028-2

A temperatura ambiente, il composto **WX028-1** (2,00 g, 10,15 mmol), bis(pinacolato)diboro (3,87 g, 15,23 mmol) e acetato di potassio (2,99 g, 30,45 mmol) sono stati aggiunti ad acetonitrile (30,00 ml), quindi è stato aggiunto [1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocene]dicloropalladio (II) (1,11 g, 1,52 mmol). La miscela di reazione è stata riscaldata a 60 °C e mescolata per 16 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e il solvente è stato rimosso a pressione

ridotta. Al residuo è stata aggiunta acqua (20 ml) ed estratto con etilacetato (20 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (80 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia preparativa (eluente: etere di petrolio) a dare il composto bersaglio **WX028-2**. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.99 (s, 1H), 7.72-7.69 (m, 1H), 7.69 (d, *J*=2.0 Hz, 1H), 7.64-7.61 (m, 1H), 6.80 (d, *J*=1.2 Hz, 1H), 1.39 (s, 12H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **WX028-3**

A temperatura ambiente, carbonio palladio umido (50,00 mg, purezza: 10%) è stato aggiunto a una soluzione del composto **WX028-2** (1,50 g, 6,15 mmol) in metanolo (30,00 ml) e la miscela di reazione è stata mescolata per 16 ore a temperatura ambiente in atmosfera di idrogeno (15 psi). Terminata la reazione, la miscela di reazione è stata filtrata e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta ottenendo il composto bersaglio **WX028-3**. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.32 (d, *J*=7.0 Hz, 1H), 7.21 (m, 2H), 4.55 (t, *J*=8.5 Hz, 2H), 3.22 (t, *J*=8.5 Hz, 2H), 1.34 (s, 12H).

Passaggio 3: Sintesi del composto **WX028-4**

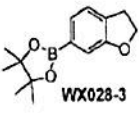
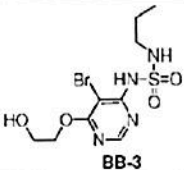
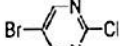
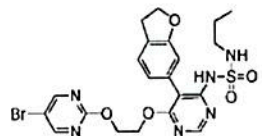
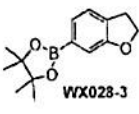
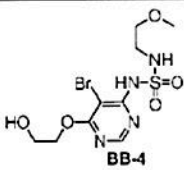
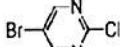
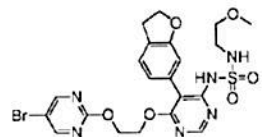
A temperatura ambiente, una soluzione di carbonato di potassio (254,51 mg, 1,84 mmol) in acqua (2,00 ml) e [(bis(1-adamantil)-*N*-*n*-butilfosfina]-2-(2-amminobifenil)]dicloropalladio (40,00 mg) sono stati aggiunti a una soluzione del composto **BB-18** (250,00 mg, 613,83 μmol) e del composto **WX028-3** (226,60 mg, 920,74 μmol) in diossano (20,00 ml). La miscela di reazione è stata riscaldata a 60 °C e mescolata per 16 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e il solvente è stato rimosso a pressione ridotta. Quindi, alla miscela è stata aggiunta acqua (15 ml), il pH è stato regolato a 4-5 con acido cloridrico diluito 1 M ed è stata estratta con etilacetato (20 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (60 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia preparativa (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 1/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **WX028-4**. MS-ESI *m/z*: 447.2 [M+H]⁺.

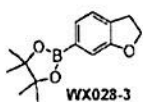
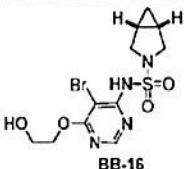
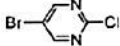
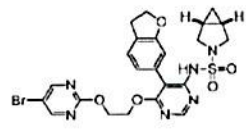
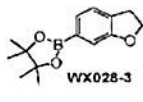
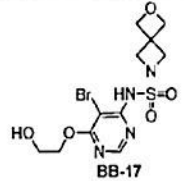
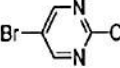
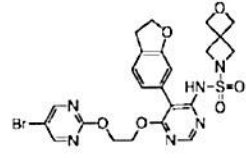
Passaggio 4: Sintesi del composto **WX028**

A temperatura ambiente, una soluzione del composto **WX028-4** (220,00 mg, 492,70 μmol) in *N,N*-dimetilformammide e 5-bromo-2-cloropirimidina (190,61 mg, 985,40 μmol) è stata aggiunta a una miscela di idruro di sodio (300,00 mg, 7,50 mmol, purezza: 60%) in tetraidrofurano anidro (15,00 ml) in una porzione. La miscela di reazione è stata riscaldata a 75 °C e mescolata per 1,5 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la soluzione è stata raffreddata a temperatura ambiente, vi è stata aggiunta soluzione satura a base di cloruro di ammonio (20 ml), il pH regolato a 4-5 con acido cloridrico diluito 1 M ed estratta con etilacetato (30 ml \times 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (100 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia preparativa (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 1/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **WX028**. MS-ESI *m/z*: 603.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 605.1 $[\text{M}+\text{H}+2]^+$. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.48 (s, 2H), 8.46 (s, 1H), 7.23 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.69 (d, $J=7.5$ Hz, 1H), 6.63 (s, 1H), 4.74-4.70 (m, 2H), 4.66-4.64 (m, 2H), 4.63-4.59 (m, 2H), 3.49-3.44 (m, 4H), 3.25 (t, $J=8.5$ Hz, 2H), 1.48-1.44 (m, 4H), 0.34 (s, 4H).

Con riferimento al metodo di sintesi nella **forma di realizzazione 28 (BB-18** nel passaggio 3 è stato sostituito con la struttura corrispondente nel frammento 2), sono state sintetizzate le forme di realizzazione nella tabella 7.

Tabella 7: **Forme di realizzazione 29-32** formula strutturale

Forma di realizzazione	Frammento 1	Frammento 2	Frammento 3	Struttura	Composto
29	 WX028-3	 BB-3			WX029
30	 WX028-3	 BB-4			WX030

Forma di realizzazione	Frammento 1	Frammento 2	Frammento 3	Struttura	Composto
31					WX031
32					WX032

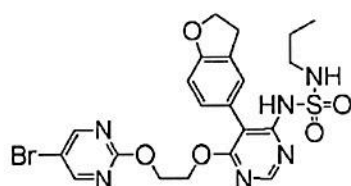
I dati di LCMS e HNMR di ciascuna forma di realizzazione sono mostrati nella tabella 8.

Tabella 8: Forme di realizzazione 29-32 dati di RMN e LCMS

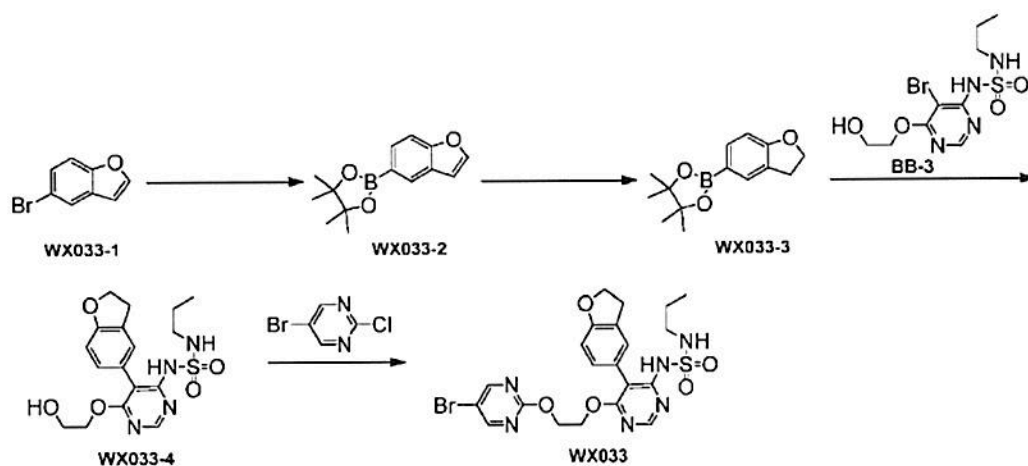
Forma di realizzazione	Composto	¹ HNMR	LCMS
29	WX029	¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ: 9.19 (s, 1H), 8.71 (s, 2H), 8.47 (s, 1H), 7.29 (t, <i>J</i> =5.9 Hz, 1H), 7.21 (d, <i>J</i> =7.5 Hz, 1H), 6.64 (dd, <i>J</i> =1.3, 7.5 Hz, 1H), 6.56 (s, 1H), 4.69-4.61 (m, 2H), 4.61-4.48 (m, 4H), 3.20 (t, <i>J</i> =8.7 Hz, 2H), 2.80 (q, <i>J</i> =6.7 Hz, 2H), 1.42 (m, 2H), 0.80 (t, <i>J</i> =7.4 Hz, 3H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 551.1 [<i>M</i> + <i>H</i>] ⁺ , 553.1 [<i>M</i> + <i>H</i> +2] ⁺ .
30	WX030	¹ H RMN (400 MHz, DMSO- <i>d</i> ₆) δ: 9.32 (s ampio, 1H), 8.72 (s, 2H), 8.47 (s ampio, 1H), 7.22-7.20 (m, 2H), 6.65 (d, <i>J</i> =6.5 Hz, 1H), 6.58 (s, 1H), 4.65 (t, <i>J</i> =3.0 Hz, 2H), 4.61-4.52 (m, 4H), 3.36 (s ampio, 2H), 3.25-3.16 (m, 2H), 3.13 (s, 3H), 3.03 (t, <i>J</i> =4.8 Hz, 2H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 567.0 [<i>M</i> + <i>H</i>] ⁺ , 569.0 [<i>M</i> + <i>H</i> +2] ⁺ .
31	WX031	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 8.47 (s ampio, 3H), 7.21 (d, <i>J</i> =7.0 Hz, 1H), 7.00 (s ampio, 1H), 6.68 (d, <i>J</i> =7.5 Hz, 1H), 6.62 (s, 1H), 4.70 (d, <i>J</i> =2.5 Hz, 2H), 4.66-4.57 (m, 4H), 3.64 (s ampio, 4H), 3.24 (t, <i>J</i> =8.3 Hz, 2H), 1.52 (s ampio, 2H), 0.65 (q, <i>J</i> =6.5 Hz, 1H), 0.35 (s ampio, 1H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 574.8 [<i>M</i> + <i>H</i>] ⁺ , 576.8 [<i>M</i> + <i>H</i> +2] ⁺ .

Forma di realizzazione	Composto	¹ H NMR	LCMS
32	WX032	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 8.51 (s, 2H), 8.46 (s, 1H), 7.25 (d, <i>J</i> =7.3 Hz, 1H), 6.73 (d, <i>J</i> =7.3 Hz, 1H), 6.68 (s ampio, 1H), 4.77 (s ampio, 4H), 4.76-4.72 (m, 2H), 4.66 (t, <i>J</i> =8.4 Hz, 2H), 4.65-4.57 (m, 2H), 4.39 (s ampio, 4H), 3.27 (t, <i>J</i> =8.4 Hz, 2H).	MS-ESI m/z: 590.8 [M+H] ⁺ , 592.8 [M+H+2] ⁺ .

Forma di realizzazione 33: WX033



Procedimento di sintesi:



Passaggio 1: Sintesi del composto WX033-2

A temperatura ambiente, il composto **WX033-1** (2,50 g, 12,69 mmol), bis(pinacolato)diboro (6,44 g, 25,38 mmol) e acetato di potassio (3,74 g, 38,07 mmol) sono stati aggiunti a *N,N*-dimetilformammide (20,00 ml), quindi è stato aggiunto [1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocene]dicloropalladio(II) (1,86 g, 2,54 mmol). La miscela di reazione è stata riscaldata a 90 °C e mescolata per 12 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e vi è stata aggiunta acqua (100 ml) ed è stata estratta con etilacetato (100 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate

con salamoia satura (100 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia su colonna (eluente: etere di petrolio/etilacetato in rapporto in volume 30/1- 20/1) a dare il composto bersaglio **WX033-2**. ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 8.14 (s, 1H), 7.79 (d, *J*=8.3 Hz, 1H), 7.64 (d, *J*=2.0 Hz, 1H), 7.53 (d, *J*=8.3 Hz, 1H), 6.79 (d, *J*=1.5 Hz, 1H), 1.39 (s, 12H).

Passaggio 2: Sintesi del composto **WX033-3**

A temperatura ambiente, il composto **WX033-2** (500,00 mg, 2,05 mmol) è stato dissolto in metanolo (30,00 ml), poi carbonio palladio umido (200,00 mg, purezza: 10) è stato aggiunto e la miscela di reazione è stata riscaldata a 40 °C e mescolata per 48 ore in atmosfera di idrogeno (15 psi). Terminata la reazione, la miscela di reazione è stata raffreddata a temperatura ambiente, filtrata attraverso diatomite e il solvente di filtrato è stato rimosso sotto pressione ridotta ottenendo il composto bersaglio **WX033-3**.

¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ: 7.62 (s, 1H), 7.60-7.50 (m, 1H), 6.78-6.77 (m, 1H), 4.60-4.56 (t, *J*=8.8 Hz, 2H), 3.22-3.17 (t, *J*=8.8 Hz, 2H), 1.33 (s, 12H).

Passaggio 3: Sintesi del composto **WX033-4**

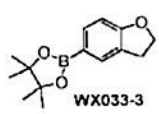
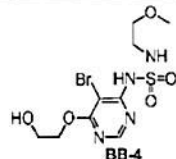
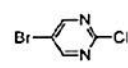
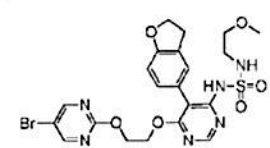
A temperatura ambiente, il composto **BB-3** (500,00 mg, 703,81 μmol), il composto **WX033-3** (259,82 mg, prodotto grezzo), carbonato di potassio (291,82 mg, 2,11 mmol) e [1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocene]dicloropalladio(II) (103,00 mg, 140,76 μmol) sono stati aggiunti a una miscela di diossano (20,00 ml) e acqua (2,00 ml). La miscela di reazione è stata riscaldata a 80 °C e mescolata per 10 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente e il solvente è stato rimosso a pressione ridotta. Al residuo è stata aggiunta acqua (100 ml), il pH è stato regolato a 5 con acido cloridrico diluito 1 M ed estratta con etilacetato (50 ml × 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (50 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia preparativa (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 1/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **WX033-4**. MS-ESI *m/z*: 395.0 [M+H]⁺.

Passaggio 4: Sintesi del composto **WX033**

A temperatura ambiente, una soluzione del composto **WX033-4** (140,00 mg, 314,28 μmol) in *N,N*-dimetilformammide (2,00 ml) e una soluzione di 5-bromo-2-cloropirimidina (121,58 mg, 628,56 μmol) in tetraidrofurano (1 ml) sono state aggiunte in sequenza a una soluzione di idruro di sodio (75,43 mg, 1,89 mmol, purezza: 60%) in tetraidrofurano anidro (20,00 ml) in una porzione. La miscela di reazione è stata riscaldata a 70 °C e mescolata per 2 ore in atmosfera di azoto. Terminata la reazione, la miscela è stata raffreddata a temperatura ambiente, vi è stata aggiunta soluzione acquosa satura a base di cloruro di ammonio (50 ml), il pH regolato a 4-5 con acido cloridrico diluito 1M ed estratta con etilacetato (50 ml \times 3). Le fasi organiche sono state combinate, lavate con salamoia satura (50 ml), essiccate su solfato di sodio anidro, filtrate e il solvente di filtrato è stato rimosso a pressione ridotta. Il residuo è stato separato mediante cromatografia preparativa (eluente: etere di petrolio/etilacetato = 1/1, rapporto in volume) a dare il composto bersaglio **WX033**. MS-ESI *m/z*: 551.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$, 553.1 $[\text{M}+\text{H}+2]^+$. ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.50 (s, 2H), 8.43 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 7.01-6.97 (m, 2H), 6.83-6.78 (m, 1H), 5.65 (s, 1H), 4.73-4.71 (m, 2H), 4.65-4.61 (m, 4H), 3.25-3.20 (m, 2H), 2.98-2.93 (m, 2H), 1.60-1.56 (m, 2H), 0.96 (t, $J=7.6$ Hz, 3H).

Con riferimento al metodo di sintesi nella **forma di realizzazione 33 (BB-3** nel passaggio 3 è stato sostituito con il frammento 2), è stata sintetizzata la forma di realizzazione nella tabella 9.

Tabella 9: **Forma di realizzazione 34** formula strutturale

Forma di realizzazione	Frammento 1	Frammento 2	Frammento 3	Struttura	Composto
34	 WX033-3	 BB-4			WX034

I dati di LCMS e HNMR della forma di realizzazione sono mostrati nella tabella 10.

Tabella 10: **Forma di realizzazione 34** Dati di RMN e LCMS

Forma di realizzazione	Composto	¹ H NMR	LCMS
34	WX034	¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ: 8.50 (s, 2H), 8.46 (s, 1H), 7.11-6.95 (m, 3H), 6.86-6.80 (m, 1H), 6.07 (t, <i>J</i> =5.8 Hz, 1H), 4.76-4.70 (m, 2H), 4.67-4.60 (m, 4H), 3.50 (t, <i>J</i> =5.0 Hz, 2H), 3.30 (s, 3H), 3.24 (t, <i>J</i> =8.8 Hz, 2H), 3.18 (q, <i>J</i> =5.1 Hz, 2H).	MS-ESI <i>m/z</i> : 567.0 [M+H] ⁺ , 569.0 [M+H+2] ⁺ .

Forma di realizzazione sperimentale 1: Test *in vitro* dell'effetto da antagonista contro il recettore ET_A umano

Finalità sperimentale:

L'attività antagonista dei composti contro i recettori ET_A umani espressi endogenamente nelle cellule SK-N-MC è stata valutata misurando l'effetto dei composti sulle variazioni del segnale citoplasmatico di ioni Ca²⁺ indotto dagli agonisti del recettore ET_A umani usando metodi di rilevamento della fluorescenza. L'attività funzionale dell'effetto da antagonista sul recettore ET_A è stata testata in Eurofins-Cerep SA secondo le attuali procedure standard.

Protocollo sperimentale:

1. Le cellule sono state sospese nella soluzione di terreno di Eagle modificato da Dulbecco (DMEM, Invitrogen) integrato con FCSd 1%, poi distribuite in piastra da 384 pozzetti (100 µl/pozzetto) a una densità di 5 × 10⁴ cellule/pozzetto;
2. Probenecid in soluzione salina bilanciata di Hank (HBSS, Invitrogen) integrata con acido 4-(2-idrossietil)piperazin-1-etansolfonico 20 mM (Hepes, Invitrogen) (a pH 7,4) è stato miscelato con sonda fluorescente (Fluo4 NW, Invitrogen), la miscela è stata aggiunta a ciascun pozzetto, poi bilanciata con cellule a 37 °C per 60 minuti e poi bilanciata con cellule a 22 °C per 15 minuti;
3. La piastra di prova è stata collocata in un lettore di micropiastre (CellLux, PerkinElmer), è stata aggiunta una soluzione di DMSO o un tampone HBSS con una concentrazione appropriata del

composto di prova e del controllo positivo, e dopo 5 minuti è stato aggiunto un tampone HBSS (controllo di base) o endotelina-1 1 nM e quindi è stata misurata la variazione dell'intensità di fluorescenza proporzionale alla concentrazione di ioni Ca^{2+} di lisosomi delle cellule libere;

4. I risultati sono stati mostrati come inibizione percentuale della risposta del controllo a endotelina-1 1 nM;

5. Lo standard del controllo positivo era BQ-123, sono state testate diverse concentrazioni in ogni esperimento. I dati sono stati analizzati usando Prism per generare una curva concentrazione-risposta e sono stati calcolati i valori di IC_{50} dei composti.

Forma di realizzazione sperimentale 2: Test *in vitro* degli effetti da antagonista contro il recettore ET_A umano

Finalità sperimentale:

L'attività antagonista del composto contro i recettori ET_B umani espressi in cellule CHO trasfettate è stata valutata misurando l'effetto del composto sulle variazioni del segnale citoplasmatico di ioni Ca^{2+} indotte da agonisti del recettore ET_B umano. L'attività funzionale dell'effetto antagonista sul recettore ET_B è stata testata in Eurofins-Cerep SA secondo le attuali procedure standard.

Protocollo sperimentale:

1. Le cellule sono state sospese in tampone DMEM (Invitrogen) e poi distribuite in piastra da 384 pozzetti (100 μl /pozzetto) a una densità di 3×10^4 cellule/pozzetto;

2. Probenecid in tampone HBSS (Invitrogen) integrato con Hepes 20 mM (Invitrogen) (a pH 7,4) è stato miscelato con sonda fluorescente (Fluo4 NW, Invitrogen), la miscela è stata aggiunta a ciascun pozzetto, poi bilanciata con cellule a 37 °C per 60 minuti e poi bilanciata con cellule a 22 °C per 15 minuti;

3. La piastra di prova è stata collocata in un lettore di micropiastre (CellLux, PerkinElmer), è stata aggiunta una soluzione di DMSO o un tampone HBSS con una concentrazione appropriata del composto di prova e del controllo positivo, e dopo 5 minuti è stato aggiunto un tampone HBSS (controllo

di base) o endotelina-1 0,3 nM e quindi è stata misurata la variazione dell'intensità di fluorescenza proporzionale alla concentrazione di ioni Ca^{2+} di lisosomi delle cellule libere;

4. I risultati sono stati mostrati come inibizione percentuale della risposta del controllo a endotelina-1 0,3 nM;

5. Lo standard del controllo positivo era BQ-788, sono state testate diverse concentrazioni in ogni esperimento. I dati sono stati analizzati usando Prism per generare una curva concentrazione-risposta e sono stati calcolati i valori di IC_{50} dei composti.

Tabella 11: Attività antagonista *in vitro* dei composti della presente divulgazione contro i recettori ET_A ed ET_B umani e loro selettività per ET_B

Composto	IC_{50} su ET_A (nM)	IC_{50} su ET_B (μ M)	Selettività ET_A/ET_B	Composto	IC_{50} su ET_A (nM)	IC_{50} su ET_B (μ M)	Selettività ET_A/ET_B
WX001	2,8	85	30300	WX018	0,76	9,6	12600
WX002	2,8	>300	>107000	WX019	0,44	>30	>68100
WX003	2,6	71	27300	WX020	0,35	17	48500
WX004	1,5	21	14000	WX021	0,34	46	135200
WX005	1,4	110	78500	WX022	2,1	76	36100
WX006	1,3	>300	>230700	WX023	0,32	15	46800
WX007	2,1	35	16600	WX024	0,25	6,7	26800
WX008	0,43	280	651100	WX025	3,1	61	19600
WX009	2,3	71	30800	WX026	1,1	73	66300
WX010	1,5	61	40600	WX027	2,8	68	24200
WX011	1,0	22	22000	WX028	2,0	>100	>50000
WX012	0,17	16	94100	WX029	0,65	16	24600
WX013	1,4	66	47100	WX030	1,3	33	25300
WX014	1,3	35	26900	WX031	1,1	>100	>90900
WX015	0,86	>300	>348800	WX032	3,0	>30	>10000
WX016	0,79	22	27800	WX033	1,6	>30	>18700
WX017	0,45	16	35500	WX034	3,6	200	55500

Conclusione:

I composti della presente divulgazione presentano tutti un'attività antagonista molto elevata contro

i recettori ET_A umani *in vitro*. La selettività dei composti della presente divulgazione per ET_A ed ET_B è superiore a 10000 volte.

Forma di realizzazione sperimentale 3: Saggio sul recettore X del pregnano (PXR) umano

Finalità sperimentale:

È stato valutato l'effetto dei composti sull'induzione dell'espressione del CYP3A mediata da PXR.

Materiali e dispositivi sperimentali:

Nome	Fornitore	Modello
Cellule DPX2	Puracyp	/
Mezzo per il trattamento	Puracyp	D-500-100
Sistema di analisi e screening P450-Glo™ CYP3A4 (reagente di rilevamento Luciferina-IPA e Luciferina)	Promega	V9001
CellTiter-Fluor™ Kit (tampone CTF e tampone di saggio)	Promega	G6081
One Glo™ kit (tampone per saggio luciferasi ONE-Glo™ e substrato per saggio ONE-Glo™)	Promega	E6110

Protocollo sperimentale:

1. Le cellule DPX2 sono state scongelate in condizioni di sterilità.
2. La soluzione di cellule DPX2 è stata distribuita in piastra da 96 pozzetti (100 µl/pozzetto) e la piastra è stata posta in un incubatore con CO₂ 5%/37 °C per tutta la notte.
3. Il terreno nutritivo quantitativo è stato scongelato in un bagnetto a 37 °C. Il controllo positivo rifampicina è stato scongelato a temperatura ambiente. Una serie di composti di prova e di diluizioni di controllo positivo sono stati preparati in un terreno nutritivo quantitativo. Le cellule sono state accuratamente aspirate da ciascun pozzetto senza disturbare le cellule durante l'aspirazione e il terreno è stato scartato. 100 µl di ogni concentrazione del composto in esame sono stati trasferiti in pozzetti pre-etichettati. L'operazione per il gruppo di controllo positivo e il gruppo del bianco era la stessa. La piastra è stata ricollocata nell'incubatrice per 24 ore di esposizione.
4. Test di attività enzimatica:

(1) 7 μ l di Luciferina-IPA sono stati aggiunti a 7 μ l di terreno di nutritivo quantitativo, la miscela è stata miscelata mediante capovolgimento e versata in un serbatoio di reagente Luciferina-IPA.

(2) La piastra da 96 pozzetti è stata estratta dall'incubatore e il terreno è stato aspirato con cura da ciascun pozzetto. A ogni pozzetto sono stati aggiunti 50 μ l del reagente Luciferina-IPA e la piastra cellulare è stata ricollocata nell'incubatore per 60 minuti.

(3) Durante l'incubazione, il tampone P450-Glo è stato versato nel reagente di rilevamento Luciferina e la miscela è stata miscelata mediante capovolgimento.

(4) La piastra da 96 pozzetti è stata estratta dall'incubatore e 40 μ l di soluzione da ciascun pozzetto sono stati trasferiti nella corrispondente piastra bianca da 96 pozzetti e la corrispondente posizione di ciascun pozzetto era coerente con quella della piastra cellulare originale.

(5) Dopo aver trasferito la soluzione P450-Glo™ nella piastra di replica, 10 ml di tampone di titolazione cellulare (tampone CTF) sono stati trasferiti in una provetta conica sterile da 15 ml, seguiti da aggiunta di 5 μ l di reagente CellTiter-Fluor™ e la miscela è stata miscelata mediante capovolgimento.

(6) È stata utilizzata una pipetta per liquidi multicanale, 100 μ l di reagente CellTiter-Fluor™ sono stati aggiunti delicatamente alla piastra da 96 pozzetti in cui le cellule sono state originariamente coltivate e quindi la piastra cellulare è stata ricollocata nell'incubatore per 60 minuti.

(7) A ciascun pozzetto della piastra di replica sono stati aggiunti 40 μ l di reagente di rilevamento Luciferina/tampone P450-Glo, è stato mescolato e incubato per 20 minuti a temperatura ambiente.

(8) Dopo l'incubazione con il reagente di rilevamento Luciferina per 20 minuti, è stato utilizzato un fotometro (tempo di lettura impostato a 1-5 secondi) per misurare la luminescenza di ciascun pozzetto della piastra bianca da 96 pozzetti. Va usata un'impostazione del guadagno relativamente alta.

(9) Al reagente di rilevamento ONE-Glo™ è stato aggiunto il tampone di rilevamento

della luciferasi ONE-Glo™ e la miscela è stata miscelata mediante capovolgimento.

(10) Dopo incubazione per 60 minuti a 37 °C, la piastra originale a 96 pozzetti è stata estratta dall'incubatore. Il lettore è stato impostato sulla modalità di fluorescenza, la lunghezza d'onda di eccitazione è stata impostata a 380-400 nm, la lunghezza d'onda di emissione è stata impostata a 505 nm e l'intensità di fluorescenza di ciascun pozzetto è stata misurata.

(11) La piastra delle cellule è stata estratta dal lettore enzimatico e 100 µl di reagente di rilevamento ONE-Glo™ sono stati aggiunti a ciascun pozzetto. La miscela è stata miscelata mediante agitazione delle piastre e incubata a temperatura ambiente per 5 minuti.

(12) Il lettore enzimatico è stato impostato su 5 secondi per la pre-agitazione e su 5 secondi per la lettura dei pozzetti, ed è stata misurata l'intensità di fluorescenza in ciascun foro. Vanno utilizzate impostazioni di guadagno dello strumento (sensibilità) alte.

5. L'effetto di attivazione del farmaco su PXR si riflette sull'induzione della in volte, ovvero l'induzione in volt di ciascun gruppo = valore di attività della luciferasi del gruppo di trattamento con il farmaco/valore di attività della luciferasi del gruppo di controllo con solvente e l'induzione in volte è stata utilizzata per prevedere l'effetto di induzione sul CYP3A4.

Il controllo positivo era la rifampicina, sono state testate sei concentrazioni in ciascun esperimento. I dati sono stati analizzati usando Prism per generare una curva concentrazione-risposta ed è stato calcolato il valore EC₅₀ del composto.

Risultati sperimentali:

I risultati del test sono mostrati nella tabella 12.

Tabella 12: Risultati dell'effetto di induzione del composto della presente divulgazione sull'espressione di CYP3A mediata da PXR

Composto del test	WX013	Composto di controllo (macitentan)
EC ₅₀ (µM)	27,6 ± 1,33*	6,34 ± 0,170*

* Errore di calcolo della curva di simulazione

Conclusioni:

Il composto WX013 della presente divulgazione ha un effetto di induzione relativamente debole sull'espressione del CYP3A mediata da PXR e il composto macitentan ha un effetto di induzione relativamente forte sull'espressione del CYP3A mediata da PXR. Pertanto, nell'esperimento di caratterizzazione dell'induzione mediata da PXR dell'espressione di CYP3A, WX013 è superiore a macitentan.

Forma di realizzazione sperimentale 4: Saggio di inibizione dell'isoenzima del citocromo microsomiale P450 epatico umano

Finalità sperimentale:

Lo scopo del saggio è stato quello di valutare l'attività di inibizione dei campioni nei confronti dell'isoenzima del citocromo microsomiale P450 epatico umano (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 e CYP3A4) utilizzando il substrato della sonda 5 in 1 dell'isoenzima CYP.

Protocollo sperimentale:

Microsomi epatici umani misti (HLM) sono stati acquistati da Corning Inc. (Steuben, New York, USA) e conservati a meno di -80 °C prima dell'uso. La soluzione di lavoro dei composti in esame che è stata diluita in concentrazioni seriali è stata aggiunta a un sistema di incubazione contenente microsomi epatici umani, substrati della sonda e cofattori del sistema circolatorio e un solvente contenente controllo senza il composto in esame è stato usato come controllo dell'attività enzimatica (100%). La concentrazione del metabolita prodotto dal substrato della sonda nel campione è stata determinata utilizzando un metodo di spettrometria di massa-cromatografia liquida in tandem (LC-MS/MS). È stata condotta un'analisi di regressione non lineare sull'attività percentuale media rispetto alla concentrazione dei soggetti utilizzando SigmaPlot (V.11). Il valore di IC₅₀ è stato calcolato mediante un'equazione logaritmica inversa a tre o quattro parametri.

Risultati sperimentali:

I risultati dei test sono mostrati nella tabella 13.

Tabella 13: Risultati di inibizione di composti della presente divulgazione sull'isoenzima del citocromo microsomiale P450 epatico umano

Composto	IC ₅₀ (μM) dell'inibizione dell'isoenzima P450				
	CYP1 A2	CYP2 C9	CYP2C 19	CYP2 D6	CYP3A 4-M
Composto di controllo (macitentan)	37	7,5	31	>50	23
WX005	>50	>50	>50	>50	>50
WX013	47	>50	>50	>50	18
WX025	>50	35	>50	>50	>50

Conclusioni:

I composti WX005, WX013 e WX025 della presente divulgazione hanno effetti inibitori molto deboli su cinque isoenzimi principali del CYP. Macitentan ha deboli effetti inibitori su quattro isoenzimi principali del CYP e gli effetti inibitori sugli isoenzimi CYP2C9 sono moderati. Pertanto, WX005, WX013 e WX025 erano superiori a macitentan nell'esperimento di caratterizzazione sull'inibizione dei cinque isoenzimi principali della citochina microsomiale P450 epatico umano.

Forma di realizzazione sperimentale 5: Test di inibizione del composto sulla pompa di trasferimento dei sali biliari (BSEP)

Finalità sperimentale:

Questo esperimento valuta se il composto in esame ha un effetto inibitorio durante il processo di trasporto della pompa di trasferimento dei sali biliari (BSEP) usando LC/MS/MS per rilevare la capacità di assorbimento della pompa di trasferimento di sali biliari (BSEP) al substrato taurina TCA.

Materiali sperimentali:

Nome	Fornitore
BSEP-Hi5-VT	Solvo Biotechnology N. di cat.: SB-BSEP-Hi5-VT
Tampone TRIS 1,0 M, pH 7,4	Invitrogen N. di cat.: 15567-027

Nome	Fornitore
Saccarosio	Sigma N. di cat.: 84100
Tris Base	Sigma N. di cat.: T1503
Acido taurocolico	Sigma N. di cat.: T4009
ATP (sale disodico)	Sigma N. di cat.: A-2383
HEPES 1 M	Gibco N. di cat.: 15630-080
AMP (sale disodico)	Sigma N. di cat.: 01930
EDTA 0,5 M	Biosolution N. di cat.: BIO260-15
Metanolo	Sigma N. di cat.: 494437
Piastre filtranti FC multiscreen da 384 pozzetti, fibra di vetro da -1,2 micron	Milli pore N. di cat.: MZFCN0W10
Piastra LDV ECHO	LabCYTE N. di cat.: LP-0200
Piastra di polipropilene da 384 pozzetti	Costar N. di cat.: 3656
ECHO 550	LabCYTE
Standard interno	HDBiosciences

Preparazione delle soluzioni:

1. Tampone A:

HEPES 50 mM pH 7,4, KNO₃ 100 mM, Mg(NO₃)₂ 10 mM, saccarosio 50 mM.

2. Tampone B:

TRIS 10 mM pH 7,4, KNO₃ 100 mM, Mg(NO₃)₂ 10 mM, saccarosio 50 mM.

3. Tampone ATP:

Preparato con tampone A, ATP 8,16 mM e acido taurocolico 4,08 μM erano contenuti in 12 ml di tampone A.

4. Tampone AMP:

Preparato con tampone A, AMP 8,16 mM, acido taurocolico 4,08 μM erano contenuti in 12 ml di tampone A.

5. Soluzione BSEP-Hi5-VT Vesicle:

Una soluzione contenente BSEP-Hi5-VT 5 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ è stata preparata con il tampone A.

Preparazione del campione:

1. Il composto è stato diluito a 100 mM con DMSO; poi diluito in serie 3 volte per una diluizione di 11 punti; la concentrazione minima era 0,169 μM .

2. Il riferimento positivo Gliburide è stato diluito a 20 mM con DMSO; poi diluito in serie 2 volte per una diluizione di 11 punti; la concentrazione minima era 19,5 μM .

Protocollo sperimentale:

1. 0,3 μl di una soluzione del composto in DMSO o una soluzione diluita a base di DMSO sono stati trasferiti in pozzetti corrispondenti della piastra del composto usando, rispettivamente, ECHO.

2. Sono stati aggiunti rispettivamente 14,7 μl di tampone ATP al composto e ai corrispondenti pozzetti di effetto zero percento (ZPE).

3. Sono stati aggiunti rispettivamente 14,7 μl di tampone AMP ai corrispondenti pozzetti di effetto 100% (HPE).

4. La piastra è stata posta ad agitare per 10 minuti a 25 °C.

5. A tutti i pozzetti sono stati aggiunti, rispettivamente, 15 μl di soluzione BSEP-HI5-VT Vesicle e la piastra è stata agitata per altri 40 minuti a 25 °C.

6. 5 μl di soluzione di acido etilendiamminotetraacetico (EDTA) 0,5 M sono stati aggiunti immediatamente a tutti i pozzetti, seguiti dall'aggiunta di 65 μl di tampone B e l'intera reazione è stata portata a termine.

7. Terminata la reazione, 95 μl di liquido sono stati trasferiti dalla piastra del composto alla piastra filtrante usando uno strumento.

8. Dopo aver collocato la piastra ricevente il liquido sotto la piastra filtrante, il liquido è stato

rimosso usando una centrifuga e il liquido della piastra ricevente è stato scartato.

9. Sono stati aggiunti 90 µl di tampone B alla piastra filtrante. Dopo aver collocato la piastra ricevente liquidi sotto la piastra filtrante, il liquido è stato rimosso usando una centrifuga e il liquido della piastra ricevente è stato scartato, e la piastra filtrante è stata lavata complessivamente tre volte.

10. La piastra filtrante è stata lasciata asciugare per una notte.

11. Il giorno dopo, 80 µl di soluzione di metanolo/acqua (80/20, rapporto in volume) sono stati aggiunti alla piastra filtrante.

12. La piastra è stata agitata per 15 minuti dopo aver attaccato la piastra filtrante alla membrana.

13. Una nuova piastra ricevente liquidi è stata collocata sotto la piastra filtrante e la piastra filtrante è stata centrifugata per 5 minuti e tutti i liquidi nella piastra filtrante sono stati filtrati nella piastra di ricezione.

14. A ogni pozzetto nella piastra ricevente liquidi sono stati aggiunti 15 µl di soluzione di standard interno e la piastra è stata sigillata con una membrana.

15. Il contenuto di acido taurocolico nella piastra ricevente è stato rilevato usando LC/MS/MS.

In ogni esperimento sono state testate diverse concentrazioni. I dati sono stati analizzati usando Prism per generare una curva concentrazione-risposta e sono stati calcolati i valori di IC₅₀ dei composti.

Risultati sperimentali:

I risultati sperimentali sono stati mostrati nella tabella 14.

Tabella 14: Effetto inibitorio del composto della presente divulgazione sulla pompa di trasporto dei sali biliari (BSEP)

Composto	Glibenclamide	Macitentan	WX013
IC ₅₀ (µM)	1,489	0,2809	43,77

Conclusione:

L'effetto inibitorio del composto WX013 della presente divulgazione sulla pompa di trasporto dei

sali biliari (BSEP) è stato estremamente debole, ma l'effetto inibitorio di macitentan è stato forte. Pertanto, l'effetto inibitorio di WX013 sulla pompa di trasporto dei sali biliari era molto più debole di quello di macitentan, riducendo così significativamente il rischio di sviluppare epatotossicità.

Forma di realizzazione sperimentale 6: Valutazione della farmacocinetica dei composti nei ratti

Finalità sperimentale:

Ratti maschi SD sono stati selezionati come animali di prova in questo studio ed è stata misurata quantitativamente la concentrazione di farmaco nel plasma dei ratti a diversi punti temporali tramite iniezione endovenosa o somministrazione gastrica orale del composto in esame usando il metodo LC/MS/MS per valutare le caratteristiche farmacocinetiche dei composti in esame nei ratti.

Materiali sperimentali:

Ratti Sprague Dawley (SD) (maschi, 200-300 g, età 7-10 settimane, Beijing Viton Lihua o Shanghai Slake).

Protocollo sperimentale:

Una soluzione limpida del composto in esame è stata iniettata nei ratti SD attraverso la vena caudale (digiuno notturno) o somministrata per via orale mediante sonda gastrica (digiuno notturno). Per la somministrazione endovenosa, 200 µl di sangue giugulare sono stati raccolti tramite puntura venosa a 0 ore (pre-dosaggio) e a 0,0833, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 e 24 ore dopo la somministrazione, i quali sono stati poi collocati in una provetta anti-coagulante integrata con EDTA-K2 (Suzuki Healthcare Medical Co., Ltd.). La miscela nella provetta anti-coagulante è stata agitata al vortex miscelare accuratamente a 4 °C e poi centrifugata a 13000 rpm per 10 minuti per raccogliere il plasma. Per la somministrazione orale tramite sonda gastrica, 200 µl di sangue giugulare sono stati raccolti tramite puntura venosa a 0 ore (pre-dosaggio) e a 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 e 24 ore dopo la somministrazione, i quali sono stati poi collocati in una provetta anti-coagulante integrata con EDTA-K2 (Suzuki Healthcare Medical Co., Ltd.). La miscela nella provetta anti-coagulante è stata agitata al vortex miscelare accuratamente e poi centrifugata a 13000 rpm per 10 minuti per raccogliere il plasma. La concentrazione plasmatica del farmaco è stata misurata

mediante il metodo LC/MS/MS e i parametri farmacocinetici correlati sono stati calcolati utilizzando il software di farmacocinetica WinNonlin™ Versione 6.3 (Pharsight, Paul View, CA) tramite il metodo dei trapezi logaritmico lineare con modello non-room.

Risultati sperimentali:

I risultati sperimentali sono stati mostrati nella tabella 15.

Tabella 15: Parametri farmacocinetici dei composti della divulgazione nei ratti

1. Parametri farmaco- cinetici nei ratti	2. Iniezione endovenosa (2 mg/kg)			3. Somministrazione orale (10 mg/kg)			
	4. Tasso di clearance plasmatica (ml/min/ kg)	5. Emivita (h)	6. Area sotto la curva del tempo rispetto alla concentrazione plasmatica ($\mu\text{M}\cdot\text{h}$)	7. Concentrazione al picco (μM)	8. Tempo per giungere al picco (h)	9. Area sotto la curva del tempo rispetto alla concentrazione plasmatica ($\mu\text{M}\cdot\text{h}$)	10. Biodisponibilità (%)
11. WX001	12. 3,19	13. 1,26	14. 20,51	15. 37,45	16. 0,38	17. 117,67	18. 114,8
19. WX013	20. 3,71	21. 1,14	22. 16,09	23. 31,99	24. 0,25	25. 60,22	26. 74,9

Conclusione:

I composti WX001 e WX013 della presente divulgazione hanno un basso tasso di clearance plasmatica (< 5 ml/min/kg) e un'elevata biodisponibilità orale ($> 70\%$) nei ratti.

Forma di realizzazione sperimentale 7: Valutazione della farmacocinetica dei composti nei cani

Beagle

Finalità sperimentale:

Cani Beagle Ratti maschi sono stati selezionati come animali di prova in questo studio ed è stata

misurata quantitativamente la concentrazione di farmaco nel plasma dei cani Beagle a diversi punti temporali tramite iniezione endovenosa o somministrazione gastrica orale dei composti in esame usando il metodo LC/MS/MS per valutare le caratteristiche farmacocinetiche dei composti in esame nei cani Beagle.

Materiali sperimentali:

Cane Beagle (maschio, 6-15 kg, età maggiore di 6 mesi, Beijing Marshall Biotechnology Co., Ltd.).

Protocollo sperimentale:

Una soluzione limpida del composto in esame è stata iniettata per via endovenosa nei cani Beagle (digiuno notturno) o somministrata ai cani Beagle per via orale mediante sonda gastrica (digiuno notturno). Per la somministrazione endovenosa, 500 µl di sangue sono stati raccolti da vasi periferici a 0 ore (pre-dosaggio) e a 0,0833, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 e 24 ore dopo la somministrazione, che è stata poi posta in una provetta per anti-coagulazione integrata con EDTA-K2 (Suzuki Healthcare Medical Co., Ltd.). Per la somministrazione gastrica, 500 µl di sangue sono stati raccolti dai vasi periferici a 0 ore (pre-dosaggio) e a 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 e 24 ore dopo la somministrazione, quali sono stati poi collocati in una provetta anti-coagulante integrata con EDTA-K2. La miscela nella provetta anti-coagulante è stata agitata al vortex miscelare accuratamente e poi centrifugata a 13000 rpm per 10 minuti per raccogliere il plasma. La concentrazione plasmatica del farmaco è stata misurata mediante il metodo LC/MS/MS e i parametri farmacocinetici correlati sono stati calcolati utilizzando il software di farmacocinetica WinNonlin™ Versione 6.3 (Pharsight, Paul View, CA) tramite il metodo dei trapezi logaritmico lineare con modello non-room.

Risultati sperimentali:

I risultati sperimentali sono stati mostrati nella tabella 16.

Tabella 16: Parametri farmacocinetici dei composti della presente divulgazione in cani Beagle

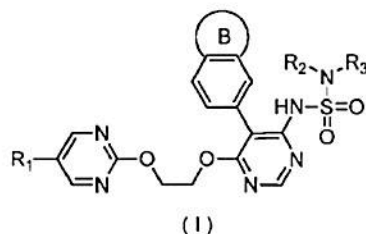
Parametri farmacocinetici nei cani Beagle	Iniezione endovenosa (1 mg/kg)			Somministrazione orale (3 mg/kg)			
	Tasso di clearance plasmatica (ml/min/kg)	emivita (h)	Area sotto la curva del tempo rispetto alla concentrazione plasmatica ($\mu\text{M}\cdot\text{h}$)	Concentrazione al picco (μM)	Tempo per giungere al picco (h)	Area sotto la curva del tempo rispetto alla concentrazione plasmatica ($\mu\text{M}\cdot\text{h}$)	Biodisponibilità F (%)
WX001	0,81	2,31	46,94	16,20	0,38	73,77	52.4
WX013	4,79	0,86	7,56	12,75	0,38	33,40	147

Conclusione:

I composti WX001 e WX013 della presente divulgazione hanno un basso tasso di clearance plasmatica (< 5 ml/min/kg) e un'elevata biodisponibilità orale (> 50%) nei cani Beagle.

RIVENDICAZIONI

1. Composto di formula (I), o suo isomero geometrico o stereoisomero o suo sale farmaceuticamente accettabile,



in cui,

R_1 è selezionato tra H, F, Cl, Br, I, OH e NH_2 ;

R_2 è selezionato tra H e alchile C_{1-3} , in cui l'alchile C_{1-3} è facoltativamente sostituito da uno, due o tre R;

R_3 è selezionato tra H, alchile C_{1-6} , eteroalchile C_{1-6} , $-C_{1-3}$ alchil- C_{3-6} cicloalchile, cicloalchile C_{3-6} e $-C_{1-3}$ alchile-eterocicloalchile a 3-7 elementi, in cui l'alchile C_{1-6} , eteroalchile C_{1-6} , $-C_{1-3}$ alchil- C_{3-6} cicloalchile, cicloalchile C_{3-6} o $-C_{1-3}$ alchile-eterocicloalchile a 3-7 elementi è facoltativamente sostituito da uno, due o tre R;

o, R_2 e R_3 sono collegati per formare un anello a 3-8 elementi facoltativamente sostituito da uno, due o tre R;

l'anello B è selezionato tra eterocicloalchile a 3-7 elementi ed eteroarile a 5-6 elementi, in cui l'eterocicloalchile a 3-7 elementi o l'eteroarile a 5-6 elementi è facoltativamente sostituito con uno, due o tre R;

R è indipendentemente selezionato tra H, F, Cl, Br, I, OH, NH_2 , CN, alchile C_{1-6} ed eteroalchile C_{1-6} , in cui the alchile C_{1-6} o eteroalchile C_{1-6} è facoltativamente sostituito da uno, due o tre R';

R' è indipendentemente selezionato da F, Cl, Br, I, OH, NH_2 , CN, Me, CH_2F , CHF_2 , CF_3 ed Et;

ciascuno tra l'eteroalchile C_{1-6} , eterocicloalchile a 3-7 elementi ed eteroarile a 5-6 elementi contiene uno, due, tre o quattro eteroatomi o gruppi di eteroatomi indipendentemente selezionati tra N, -O-, -S-, -NH-, $-S(=O)_2-$ e $-S(=O)-$.

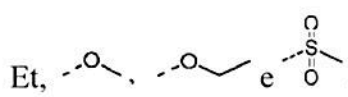
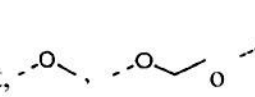
de

2. Composto, suo isomero geometrico o stereoisomero o suo sale farmaceuticamente accettabile come definito nella rivendicazione 1, in cui, R è selezionato tra H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, alchile C₁₋₃, C₁₋₃ alchil-S(=O)₂- e C₁₋₃ alchil-O-, in cui l'alchile C₁₋₃, C₁₋₃ alchil-S(=O)₂- o C₁₋₃ alchil-O- è facoltativamente sostituito da uno, due o tre R';

facoltativamente, R₂ è selezionato tra H e Me;

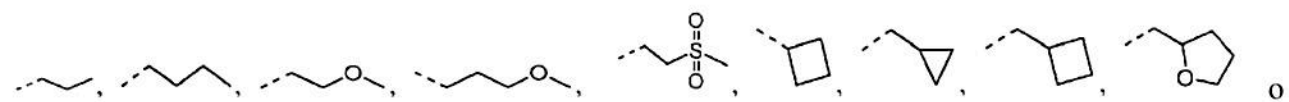
facoltativamente, R₃ è selezionato tra H, alchile C₁₋₄, C₁₋₄ alchil-O-C₁₋₄ alchile, ciclobutile, -C₁₋₃ alchil-ciclobutile, -C₁₋₃ alchil-ciclopropile, -C₁₋₃ alchil-tetraidrofuranile e -C₁₋₃ alchil-tetraidropiranile, in cui l'alchile C₁₋₄, C₁₋₄ alchil-O-C₁₋₄ alchile, ciclobutile, -C₁₋₃ alchil-ciclobutile, -C₁₋₃ alchil-ciclopropile, -C₁₋₃ alchil-tetraidrofuranile o -C₁₋₃ alchil-tetraidropiranile è facoltativamente sostituito da uno, due o tre R.

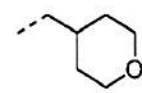
3. Composto, suo isomero geometrico o stereoisomero o suo sale farmaceuticamente accettabile come definito nella rivendicazione 2, in cui, R è selezionato tra H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, Me,

Et, , in cui Me, Et,  è facoltativamente sostituito da uno, due o tre R';

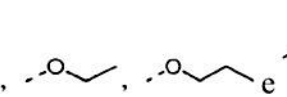

facoltativamente, R₃ è selezionato tra H, Me, Et, ,

, in cui Me, Et,

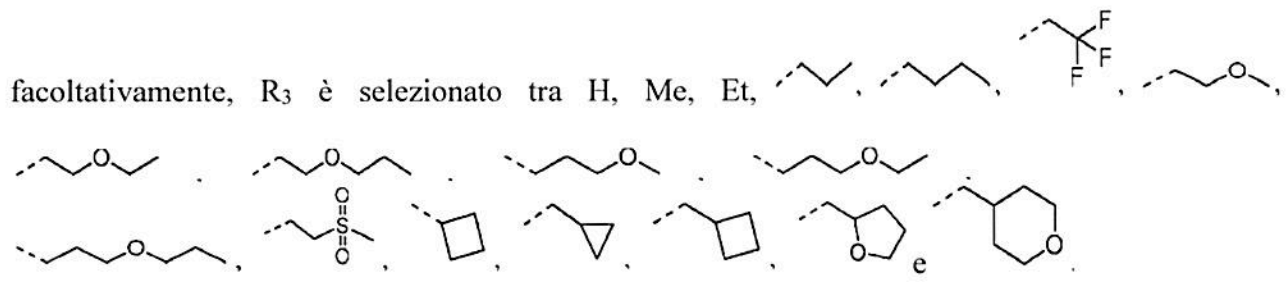
 o

 è facoltativamente sostituito da uno, due o tre R.

4. Composto, suo isomero geometrico o stereoisomero o suo sale farmaceuticamente accettabile come definito nella rivendicazione 3, in cui, R è selezionato tra H, F, Cl, Br, I, OH, NH₂, CN, Me,

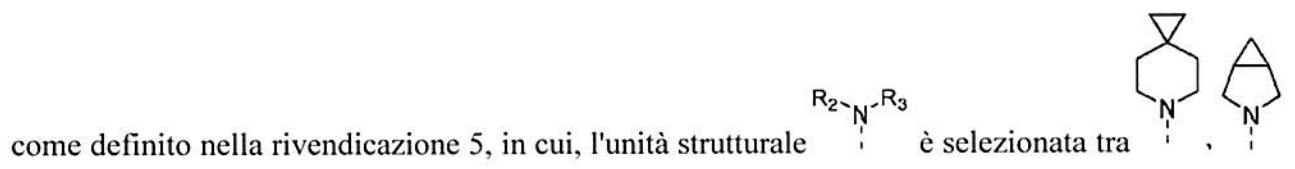
CH₂F, CHF₂, CF₃, Et,  e .

Handwritten signature or mark.

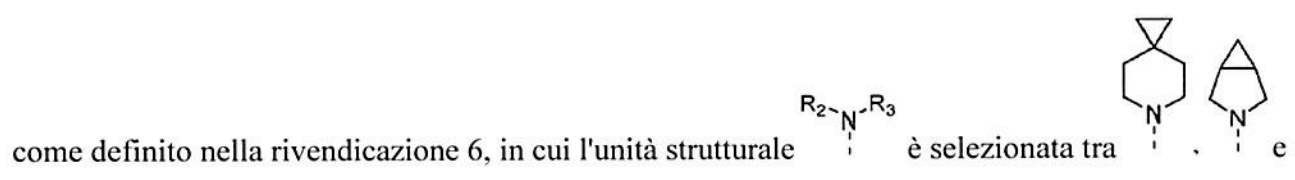


5. Composto, suo isomero geometrico o stereoisomero o suo sale farmaceuticamente accettabile come definito in una qualsiasi delle rivendicazioni 1-4, in cui, R_2 e R_3 sono collegati per formare un eterocicloalchile a 6-8 elementi facoltativamente sostituito da uno, due o tre R.

6. Composto, suo isomero geometrico o stereoisomero o suo sale farmaceuticamente accettabile



7. Composto, suo isomero geometrico o stereoisomero o suo sale farmaceuticamente accettabile



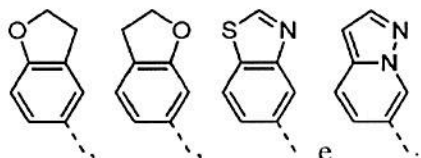
8. Composto, suo isomero geometrico o stereoisomero o suo sale farmaceuticamente accettabile come definito in una qualsiasi delle rivendicazioni 1-4, in cui l'anello B è selezionato tra tetraidrofuranile, tetraidrotienile, 1,3-diossolanile, pirrolidinile, tiazolile, pirazolile e imidazolile, in cui il tetraidrofuranile, tetraidrotienile, 1,3-diossolanile, pirrolidinile, tiazolile, pirazolile o imidazolile è facoltativamente sostituito da uno, due o tre R.

ce/

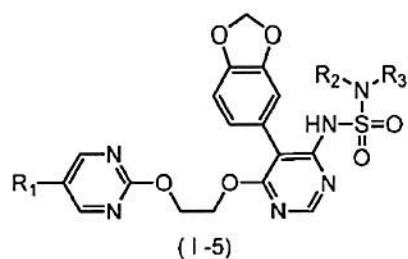
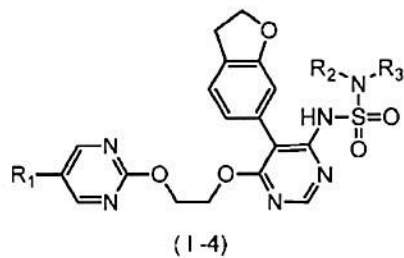
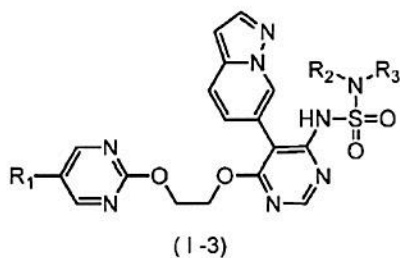
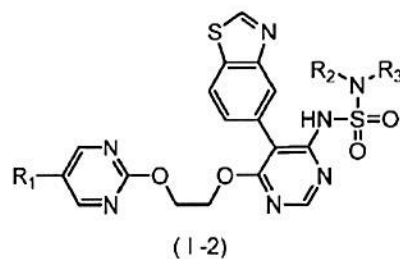
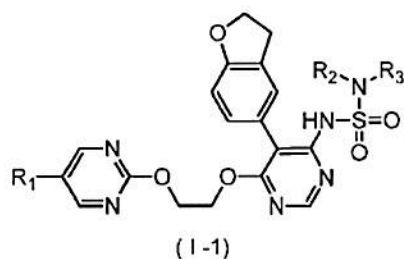
9. Composto, suo isomero geometrico o stereoisomero o suo sale farmaceuticamente accettabile



come definito nella rivendicazione 8, in cui l'unità strutturale è selezionata tra



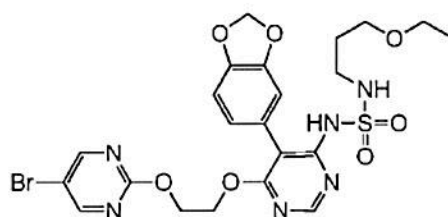
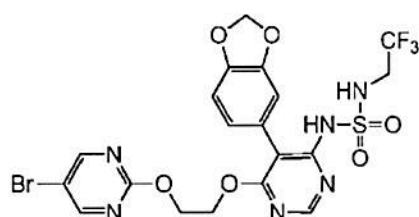
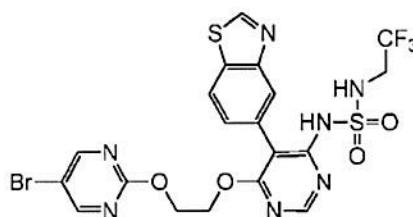
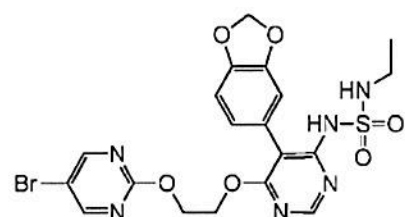
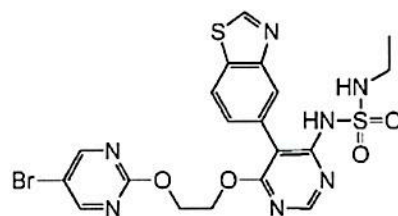
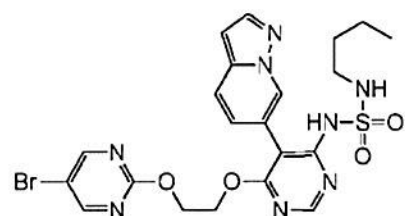
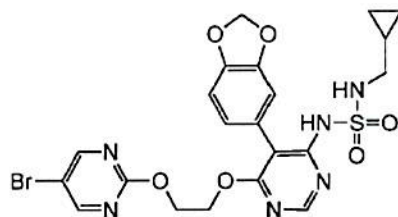
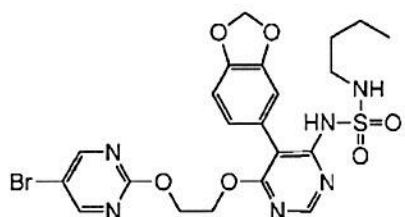
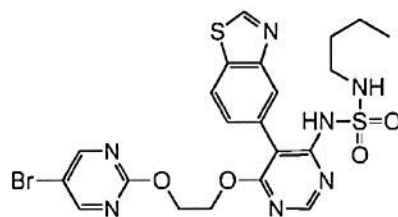
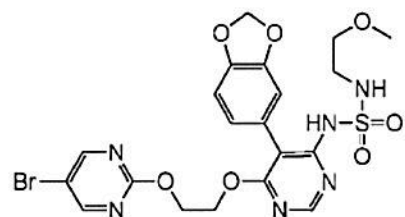
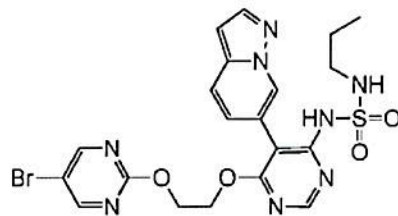
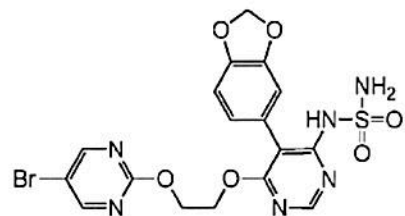
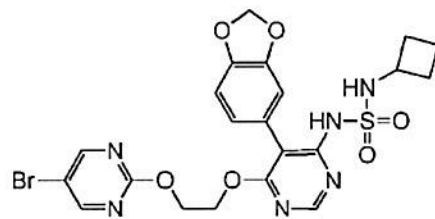
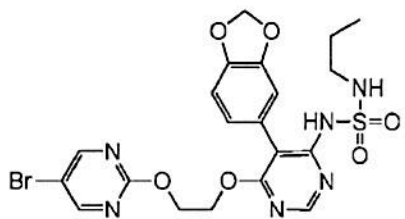
10. Composto, suo isomero geometrico o stereoisomero o suo sale farmaceuticamente accettabile come definito in una qualsiasi delle rivendicazioni 1-7, che è selezionato tra

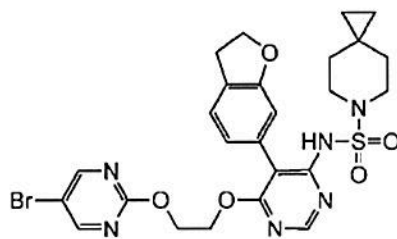
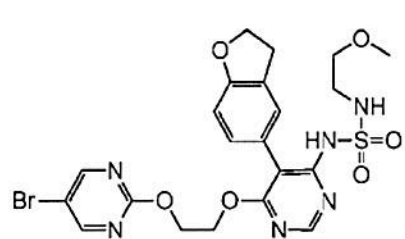
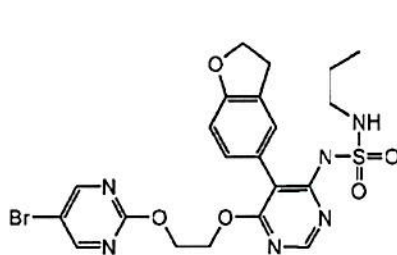
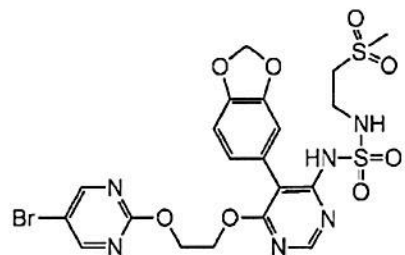
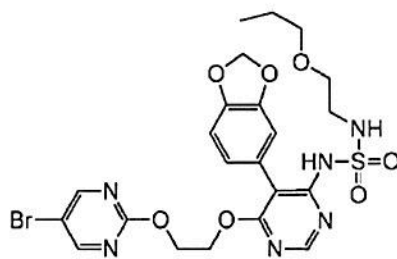
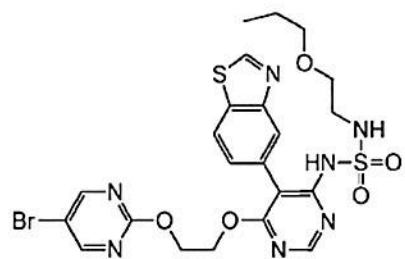
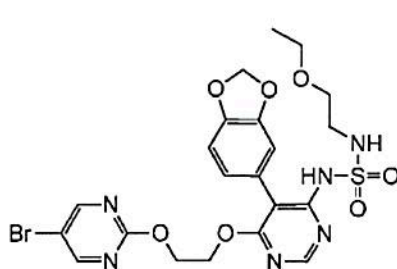
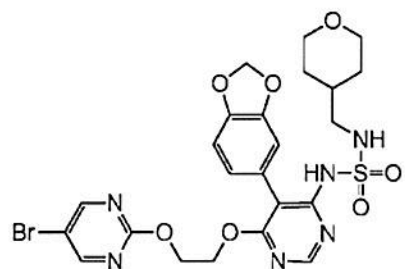
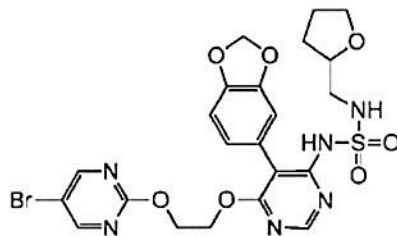
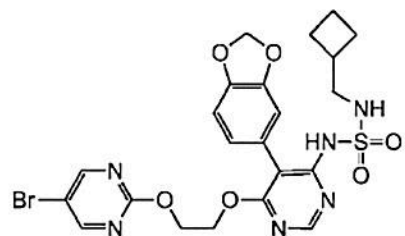
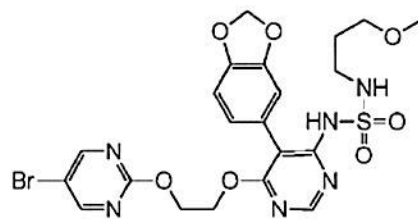
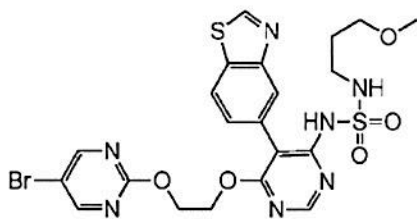


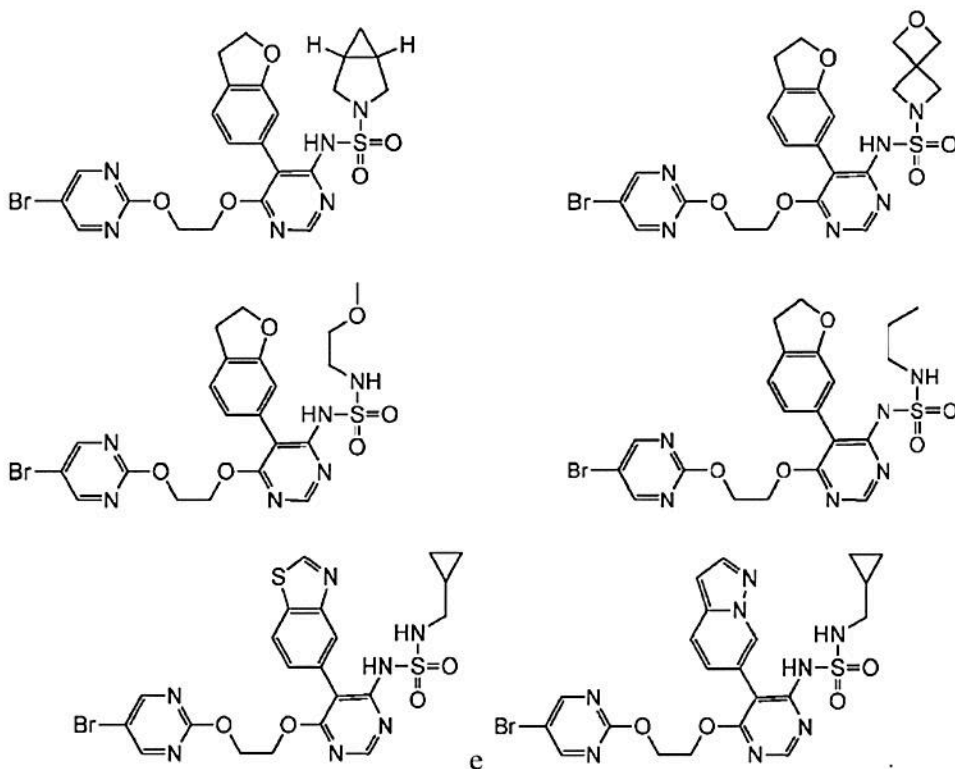
in cui,

R, R₁ o R₂ è come definito in una qualsiasi delle rivendicazioni 1-7.

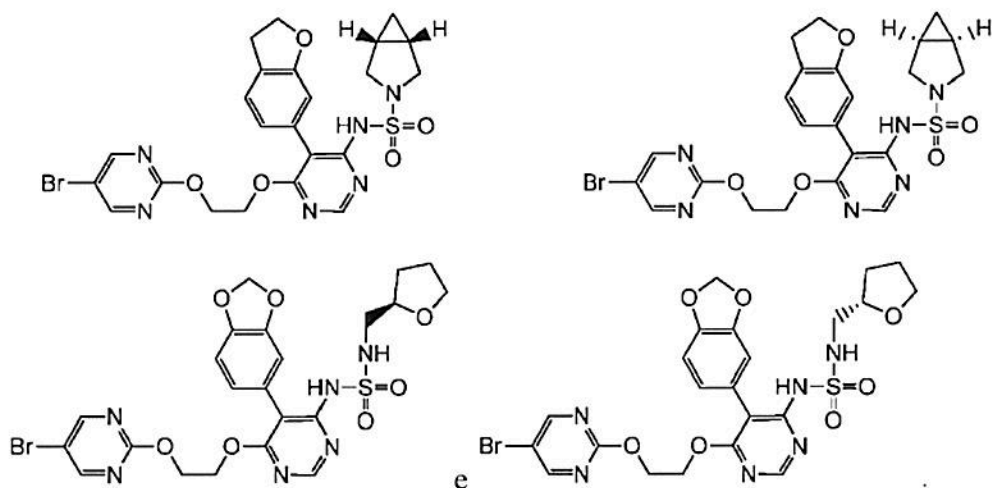
11. Composto secondo la rivendicazione 1, o suo isomero geometrico o stereoisomero o suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui il composto è selezionato tra







12. Composto, suo isomero geometrico o stereoisomero o suo sale farmaceuticamente accettabile come definito nella rivendicazione 11, che è selezionato tra



13. Composizione farmaceutica, che comprende una quantità terapeuticamente efficace del composto o del sale farmaceuticamente accettabile come definito in una qualsiasi delle rivendicazioni 1-12 come principio attivo, e un trasportatore farmaceuticamente accettabile.
14. Composto o sale farmaceuticamente accettabile come definito in una qualsiasi delle rivendicazioni 1-12 o la composizione come definita nella rivendicazione 13 per l'uso come antagonista del

recettore ET_A.

15. Composto o sale farmaceuticamente accettabile come definito in una qualsiasi delle rivendicazioni 1-12 o la composizione come definita nella rivendicazione 13 per l'uso nel trattamento di ipertensione arteriosa polmonare, ipertensione primaria, ipertensione refrattaria, nefropatia diabetica e vasospasmo intracranico.

È traduzione conforme al testo originale

dgs espresso