

TRADUZIONE DEL TESTO DEL BREVETTO EUROPEO N. 3 429 591

"Derivati di tieno[2,3-d]pirimidina sostituiti come inibitori di menina-MLL e metodi d'uso".

Kura Oncology, Inc.,

con sede a San Diego, CA (Stati Uniti) e

The Regents of The University of Michigan,

con sede ad Ann Arbor, Michigan (Stati Uniti)

* * * * *

DESCRIZIONE

CAMPO TECNICO

La presente invenzione si riferisce a composti che sono utili nell'inibizione di interazioni tra menina e un'altra proteina, composizioni farmaceutiche contenenti detti composti, e ai composti per l'uso nel trattamento di malattie e disturbi mediati da menina e un'altra proteina.

CONTESTO

La proteina della leucemia a lignaggio misto (MLL) è una istone metiltransferasi fondamentale per la regolazione epigenetica della trascrizione genica. Molte leucemie acute, fra cui leucemia mieloblastica acuta (AML), leucemia linfoblastica acuta (ALL) e leucemia a lignaggio misto (MLL), sono caratterizzate dalla presenza di proteine di fusione MLL chimeriche che derivano da traslocazioni cromosomiche del gene *MLL* situato nel cromosoma 11, banda q23 (11q23). Le proteine di fusione chimeriche MLL conservano circa 1,400 amminoacidi dell'N-terminale di MLL, ma sono fuse con una delle circa

Marco Giovanni Mari
USM 11-090

80 proteine partner (per esempio, AF4, AF9, ENL, AF10, ELL, AF6, AF1p, GAS7). Le proteine di fusione MLL sono prive dell'attività istone metiltransferasica originale del C-terminale di MLL e acquisiscono la capacità di regolare la trascrizione di numerosi oncogeni, fra cui *HOX* e *MEIS1*, con conseguente aumento della proliferazione cellulare e diminuzione della differenziazione cellulare, che alla fine porta alla leucemogenesi.

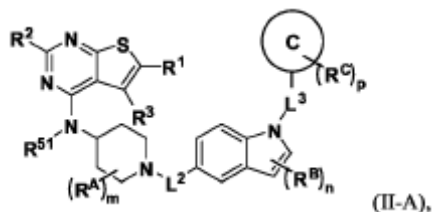
La proteina menina, che è codificata dal gene della Neoplasia Endocrina Multipla (MEN), è una proteina nucleare espressa in modo ubiquitario che si impegna in interazioni con proteine di elaborazione e riparazione del DNA, proteine che modificano la cromatina e numerosi fattori di trascrizione (Agarwal, et al.; Horm Metab Res, 2005, 37(6): 369-374). L'associazione di menina con l'N-terminale delle proteine di fusione MLL è necessaria per l'attività oncogenica osservata delle proteine di fusione MLL. Questa associazione ha mostrato di sovraregolare costitutivamente l'espressione degli oncogeni *HOX* e *MEIS1* e compromette la proliferazione e la differenziazione delle cellule ematopoietiche portando allo sviluppo della leucemia. Poiché è stato mostrato che menina funge da cofattore oncogeno generale nelle leucemie correlate a MLL, l'interazione tra menina e le proteine di fusione di MLL e MLL rappresenta un potenziale bersaglio chemioterapico.

I pazienti, in particolare i neonati, con leucemie che ospitano traslocazioni cromosomiche del gene MLL hanno una prognosi infausta, con un tasso di sopravvivenza a cinque anni inferiore al 40% (Slany;

Haematologica, 2009, 94(7): 984-993). Una nuova strategia terapeutica è urgentemente necessaria per trattare queste leucemie. Gli inibitori a base di piccole molecole che bloccano l'interazione menina-MLL sono quindi bersagli preziosi per trattare malattie che coinvolgono le proteine di fusione MLL.

SOMMARIO DELL' INVENZIONE

In un primo aspetto dell'invenzione, è fornito un composto di formula (II-A):



o un relativo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

C è selezionato tra piperidinile e piperazinile;

L² è -CH₂-;

L³ è -CH₂CH(R⁵⁶)-, e R⁵⁶ è metile;

R¹ è C₁₋₃ aloalchile;

R² è selezionato tra alogeno, -OR⁵², -N(R⁵²)₂, -CN, C₁₋₃ alchile, C₁₋₃ alchil-OR⁵², C₁₋₃ alchil-N (R⁵²)₂, C₁₋₃ aloalchile, C₂₋₃ alchenile e C₂₋₃ alchinile;

R³ è selezionato tra idrogeno, alogeno, -OH, -N(R⁵²)₂, -CN, -C(O)OR⁵², C₁₋₃ alchile e C₁₋₃ aloalchile;

R^A e R^B sono ciascuno indipendentemente selezionati in ciascuna occorrenza tra alogeno, -CN, -OR⁵², -N(R⁵²)₂, -NR⁵³R⁵⁴, -C(O)R⁵², -C(O)OR⁵², -OC(O)R⁵², -NR⁵²C(O)R⁵², -C(O)N(R⁵²)₂, -C(O)NR⁵³R⁵⁴, =O, C₁₋₁₀ alchile, C₂₋₁₀ alchenile e C₂₋₁₀ alchinile;

Marco Giovanni Mari
USBM-CP-090

R^C è selezionato tra $-C(O)R^{52}$, $-S(=O)R^{52}$, $-S(=O)_2R^{52}$, $-S(=O)_2N(R^{52})_2$, $-S(=O)_2NR^{53}R^{54}$, $-NR^{52}S(=O)_2R^{52}$, $=O$, C_{1-3} alchile e C_{1-3} aloalchile, o due gruppi R^C fissati a differenti atomi possono formare insieme un ponte C_{1-3} ;

m e p sono ciascuno indipendentemente un numero intero da 0 a 6;

n è un numero intero da 1 a 4;

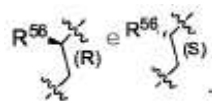
R^{51} è selezionato tra idrogeno e C_{1-6} alchile;

R^{52} è indipendentemente selezionato in ciascuna occorrenza tra idrogeno; e C_{1-20} alchile, C_{2-20} alchenile, C_{2-20} alchinile, eteroalchile da 1 a 6 elementi, C_{3-12} carbociclo, ed eterociclo da 3 a 12 elementi, ciascuno dei quali è facoltativamente sostituito con alogeno, $-CN$, $-NO_2$, $-NH_2$, $-NHCH_3$, $-NHCH_2CH_3$, $=O$, $-OH$, $-OCH_3$, $-OCH_2CH_3$, C_{3-12} carbociclo, o eterociclo da 3 a 6 elementi; e

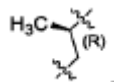
R^{53} e R^{54} sono presi insieme all'atomo di azoto a cui sono fissati per formare un eterociclo.

In alcune forme di realizzazione, m è 0 ed n è un numero intero da 1 a 3.

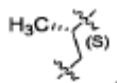
In alcune forme di realizzazione, L^3 è selezionato tra



In alcune forme di realizzazione, L^3 è

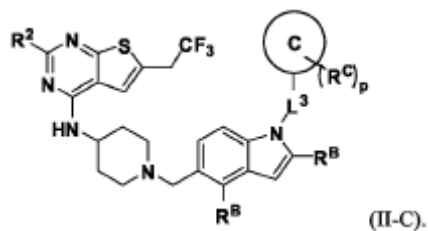


In alcune forme di realizzazione, L^3 è

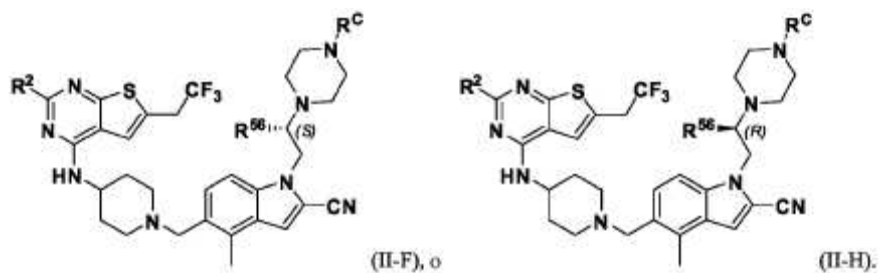


In alcune forme di realizzazione, il composto ha la struttura di

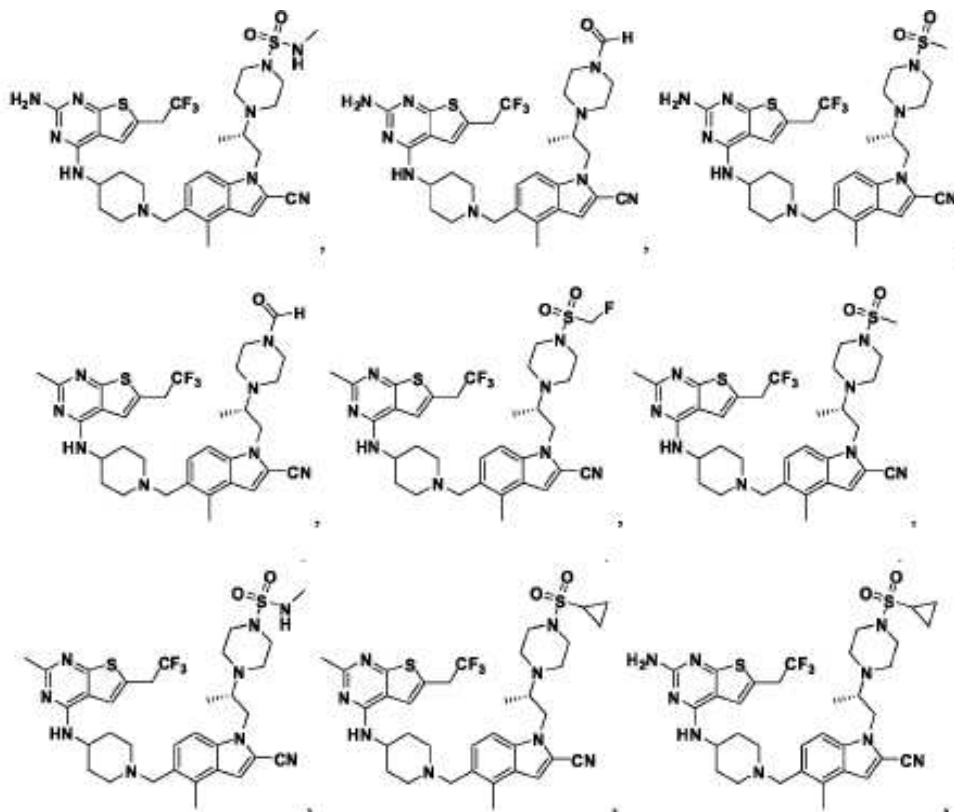
formula (II-C):

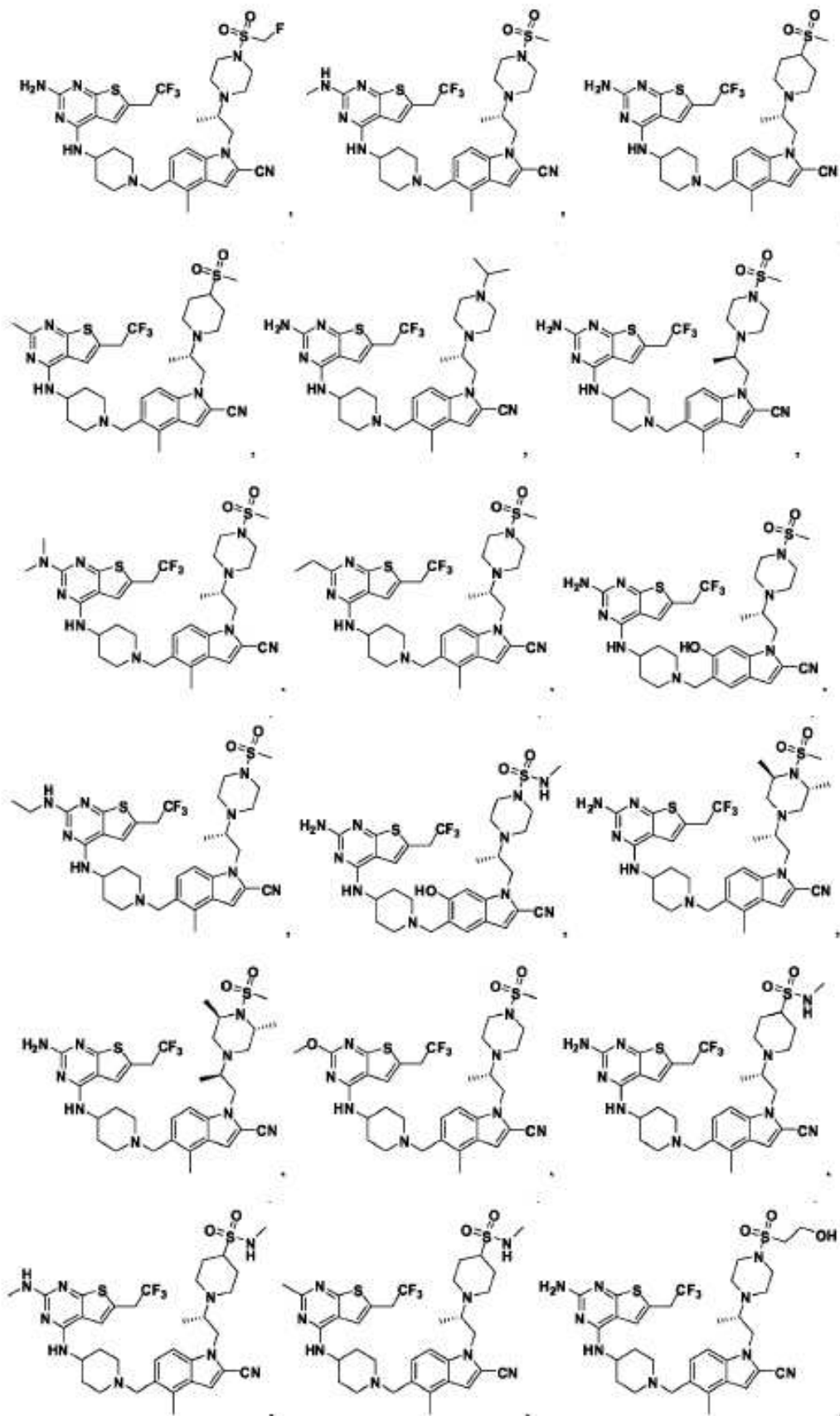


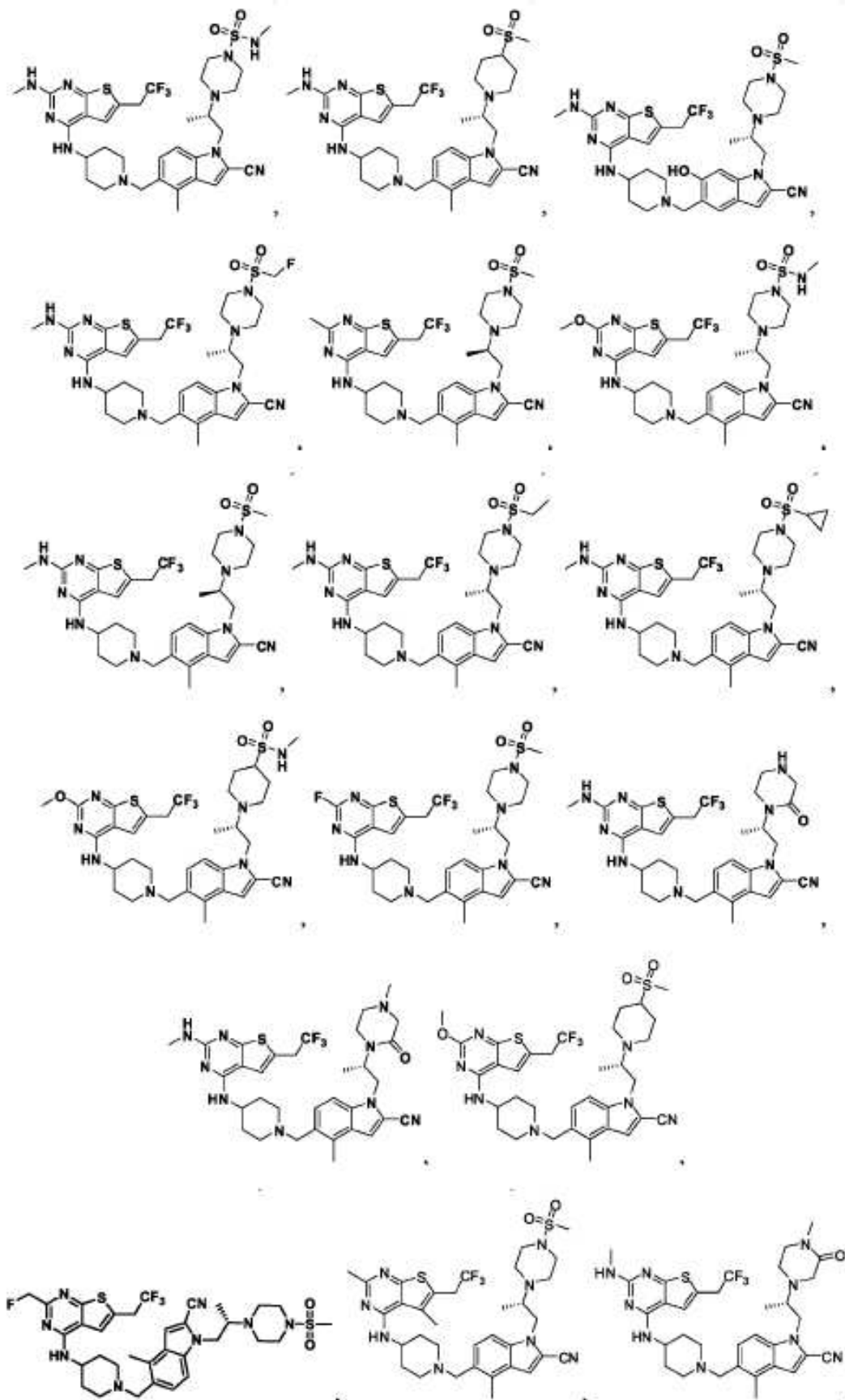
In alcune forme di realizzazione, il composto ha la struttura di formula (II-F), o (II-H):

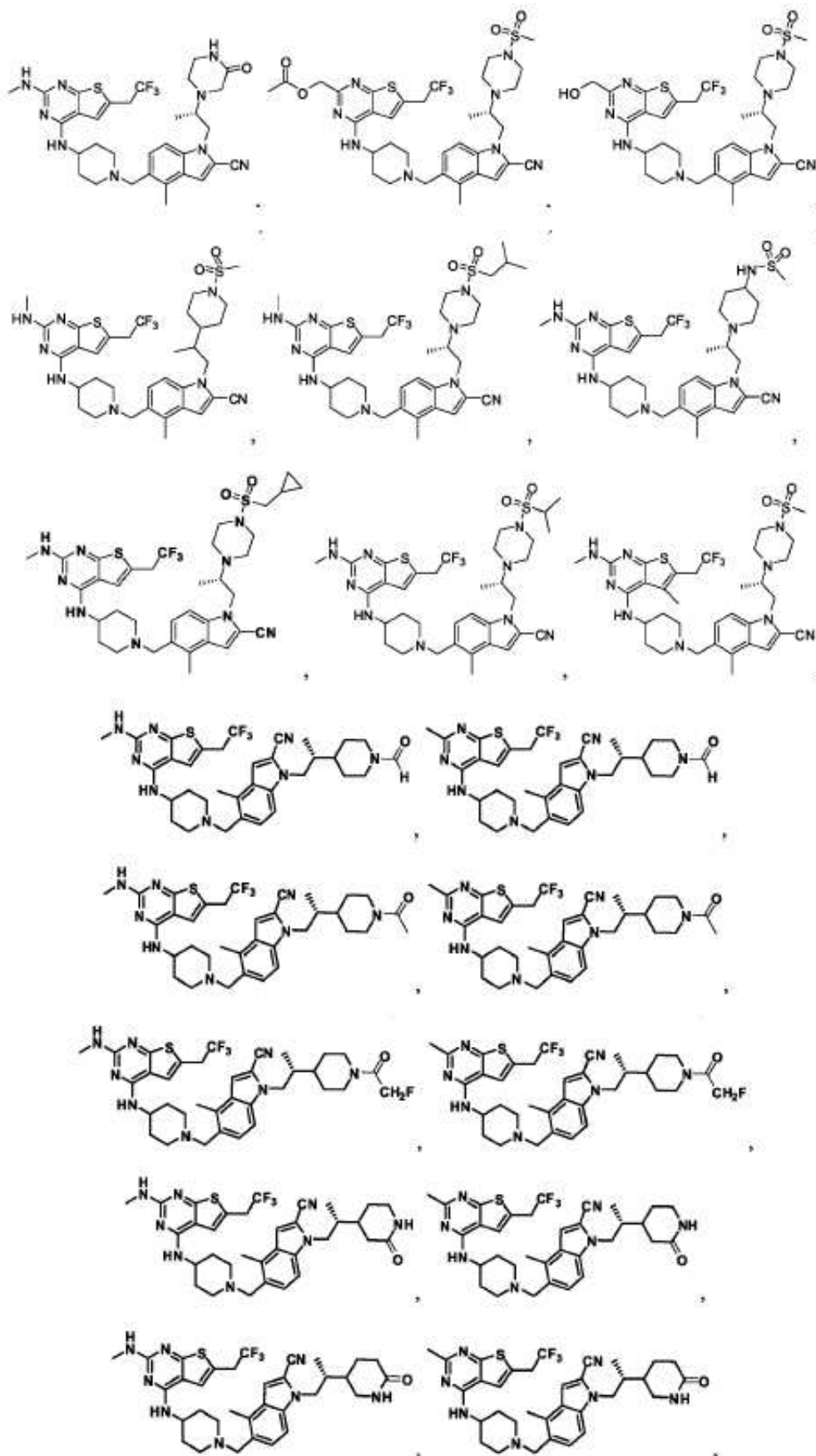


In alcune forme di realizzazione, il composto è selezionato dal gruppo consistente in:









cancro prostatico, un cancro mammario, un cancro epatico, un tumore cerebrale o diabete.

BREVE DESCRIZIONE

La presente divulgazione affronta una necessità nel settore fornendo composizioni e metodi per inibire l'interazione proteina-proteina di menina con oncoproteine di fusione MLL1, MLL2 e MLL. Le composizioni e i metodi nella presente possono essere utili per il trattamento di malattie dipendenti dall'attività di proteine di fusione MLL1, MLL2, MLL e/o di menina come leucemia, cancri solidi e diabete. In alcune forme di realizzazione, un composto della divulgazione interagisce in modo non covalente con menina e inibisce l'interazione di menina con MLL. In alcune forme di realizzazione, un composto della divulgazione lega covalentemente menina e inibisce l'interazione di menina con MLL.

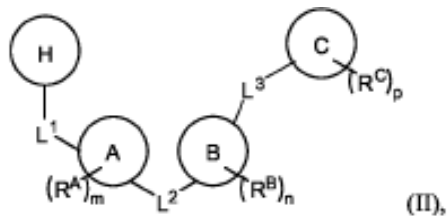
I riferimenti a metodi di trattamento nei paragrafi successivi di questa descrizione devono essere interpretati come riferimenti ai composti, alle composizioni farmaceutiche e ai medicinali della presente invenzione per l'uso in un metodo di trattamento del corpo umano (o animale) mediante una terapia (o per la diagnosi).

In alcune forme di realizzazione di un composto fornito nella presente, il composto si lega in modo non covalente o covalente a una o più isoforme di menina, per esempio, isoforma 1 (SEQ ID NO: 1), isoforma 2 (SEQ ID NO: 2) o isoforma 3 (SEQ ID NO: 3) di menina. In determinate forme di realizzazione, la proteina menina condivide il 60% o più, 70% o più, 75% o più, 80% o più, 85% o più, 90% o più, 95%

Marco Giovanni Mari
USM 2016-090

o più, o il 99% o più di identità di sequenza con isoforma 1 (SEQ ID NO: 1), isoforma 2 (SEQ ID NO: 2) o isoforma 3 (SEQ ID NO: 3).

I composti dell'invenzione sono definiti nelle rivendicazioni allegate, tuttavia, al solo scopo di fornire il contesto per gli schemi di sintesi generali nella presente, la presente divulgazione si riferisce ai composti di Formula (II):



o un relativo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

H è selezionato tra C₅₋₁₂ carbociclo ed eterociclo avente da 5 a 12 elementi, ciascuno dei quali è facoltativamente sostituito con uno o più R⁵⁰;

A, B e C sono selezionati ciascuno indipendentemente tra C₃₋₁₂ carbociclo ed eterociclo da 3 a 12 elementi;

L¹ e L² sono ciascuno indipendentemente selezionati tra legame, -O-, -S-, -N(R⁵¹)-, -N(R⁵¹)CH₂-, -C(O)-, -C(O)O-, -OC(O)-, -OC(O)O-, -C(O)N(R⁵¹)-, -C(O)N(R⁵¹)C(O)-, -C(O)N(R⁵¹)C(O)N(R⁵¹)-, -N(R⁵¹)C(O)-, -N(R⁵¹)C(O)N(R⁵¹)-, -N(R⁵¹)C(O)O-, -OC(O)N(R⁵¹)-, -C(NR⁵¹)-, -N(R⁵¹)C(NR⁵¹)-, -C(NR⁵¹)N(R⁵¹)-, -N(R⁵¹)C(NR⁵¹)N(R⁵¹)-, -S(O)₂-, -OS(O)-, -S(O)O-, -S(O)-, -OS(O)₂-, -S(O)₂O-, -N(R⁵¹)S(O)₂-, -S(O)₂N(R⁵¹)-, -N(R⁵¹)S(O)-, -S(O)N(R⁵¹)-, -N(R⁵¹)S(O)₂N(R⁵¹)-, -N(R⁵¹)S(O)N(R⁵¹)-; alchilene, alchenilene, alchinilene, eteroalchilene, eteroalchenilene, ed eteroalchinilene, ciascuno dei quali è facoltativamente sostituito con uno o più R⁵⁰;

L^3 è selezionato tra alchilene, alchenilene e alchinilene, ciascuno dei quali è sostituito con uno o più R^{56} e facoltativamente ulteriormente sostituito con uno o più R^{50} ;

R^A , R^B e R^C sono ciascuno indipendentemente selezionati in ciascuna occorrenza tra R^{50} , o due gruppi R^A , due gruppi R^B o due gruppi R^C fissati allo stesso atomo o atomi differenti possono insieme facoltativamente formare un ponte o un anello;

m , n e p sono ciascuno indipendentemente un numero intero da 0 a 6;

R^{50} è indipendentemente selezionato in ciascuna occorrenza tra:

alogeno, $-NO_2$, $-CN$, $-OR^{52}$, $-SR^{52}$, $-N(R^{52})_2$, $-NR^{53}R^{54}$,
 $-S(=O)R^{52}$, $-S(=O)_2R^{52}$, $-S(=O)_2N(R^{52})_2$, $-S(=O)_2NR^{53}R^{54}$,
 $-NR^{52}S(=O)_2R^{52}$, $-NR^{52}S(=O)_2N(R^{52})_2$, $-NR^{52}S(=O)_2NR^{53}R^{54}$, $-C(O)R^{52}$, $-C(O)OR^{52}$,
 $-OC(O)R^{52}$, $-OC(O)OR^{52}$, $-OC(O)N(R^{52})_2$, $-OC(O)NR^{53}R^{54}$, $-NR^{52}C(O)R^{52}$,
 $-NR^{52}C(O)OR^{52}$, $-NR^{52}C(O)N(R^{52})_2$, $-NR^{52}C(O)NR^{53}R^{54}$, $-C(O)N(R^{52})_2$,
 $-C(O)NR^{53}R^{54}$, $-P(O)(OR^{52})_2$, $-P(O)(R^{52})_2$, $=O$, $=S$, $=N(R^{52})$;

C_{1-10} alchile, C_{2-10} alchenile e C_{2-10} alchinile, ciascuno dei quali è indipendentemente facoltativamente sostituito in ciascuna occorrenza con uno o più sostituenti selezionati tra alogeno, $-NO_2$,
 $-CN$, $-OR^{52}$, $-SR^{52}$, $-N(R^{52})_2$, $-NR^{53}R^{54}$, $-S(=O)R^{52}$, $-S(=O)_2R^{52}$, $-S(=O)_2N(R^{52})_2$,
 $-S(=O)_2NR^{53}R^{54}$, $-NR^{52}S(=O)_2R^{52}$, $-NR^{52}S(=O)_2N(R^{52})_2$, $-NR^{52}S(=O)_2NR^{53}R^{54}$,
 $-C(O)R^{52}$, $-C(O)OR^{52}$, $-OC(O)R^{52}$, $-OC(O)OR^{52}$, $-OC(O)N(R^{52})_2$, $-OC(O)NR^{53}R^{54}$,
 $-NR^{52}C(O)R^{52}$, $-NR^{52}C(O)OR^{52}$, $-NR^{52}C(O)N(R^{52})_2$, $-NR^{52}C(O)NR^{53}R^{54}$,
 $-C(O)N(R^{52})_2$, $-C(O)NR^{53}R^{54}$, $-P(O)(OR^{52})_2$, $-P(O)(R^{52})_2$, $=O$, $=S$, $=N(R^{52})$, C_{3-12} carbociclo, ed eterociclo da 3 a 12 elementi; e

C₃₋₁₂ carbociclo ed eterociclo avente da 3 a 12 elementi,

in cui ciascun C₃₋₁₂ carbociclo ed eterociclo da 3 a 12 elementi in R⁵⁰ è indipendentemente facoltativamente sostituito con uno o più sostituenti selezionati tra alogeno, -NO₂, -CN, -OR⁵², -SR⁵², -N(R⁵²)₂, -NR⁵³R⁵⁴, -S(=O)R⁵², -S(=O)₂R⁵², -S(=O)₂N(R⁵²)₂, -S(=O)₂NR⁵³R⁵⁴, -NR⁵²S(=O)₂R⁵², -NR⁵²S(=O)₂N(R⁵²)₂, -NR⁵²S(=O)₂NR⁵³R⁵⁴, -C(O)R⁵², -C(O)OR⁵², -OC(O)R⁵², -OC(O)OR⁵², -OC(O)N(R⁵²)₂, -OC(O)NR⁵³R⁵⁴, -NR⁵²C(O)R⁵², -NR⁵²C(O)OR⁵², -NR⁵²C(O)N(R⁵²)₂, -NR⁵²C(O)NR⁵³R⁵⁴, -C(O)N(R⁵²)₂, -C(O)NR⁵³R⁵⁴, -P(O)(OR⁵²)₂, -P(O)(R⁵²)₂, =O, =S, =N(R⁵²), C₁₋₆ alchile, C₁₋₆ aloalchile, C₂₋₆ alchenile e C₂₋₆ alchinile;

R⁵¹ è indipendentemente selezionato in ciascuna occorrenza tra:

idrogeno, -C(O)R⁵², -C(O)OR⁵², -C(O)N(R⁵²)₂, -C(O)NR⁵³R⁵⁴;

C₁₋₆ alchile, C₂₋₆ alchenile e C₂₋₆ alchinile, ciascuno dei quali è indipendentemente facoltativamente sostituito in ciascuna occorrenza con uno o più sostituenti selezionati tra alogeno, -NO₂, -CN, -OR⁵², -SR⁵², -N(R⁵²)₂, -NR⁵³R⁵⁴, -S(=O)R⁵², -S(=O)₂R⁵², -S(=O)₂N(R⁵²)₂, -S(=O)₂NR⁵³R⁵⁴, -NR⁵²S(=O)₂R⁵², -NR⁵²S(=O)₂N(R⁵²)₂, -NR⁵²S(=O)₂NR⁵³R⁵⁴, -C(O)R⁵², -C(O)OR⁵², -OC(O)R⁵², -OC(O)OR⁵², -OC(O)N(R⁵²)₂, -OC(O)NR⁵³R⁵⁴, -NR⁵²C(O)R⁵², -NR⁵²C(O)OR⁵², -NR⁵²C(O)N(R⁵²)₂, -NR⁵²C(O)NR⁵³R⁵⁴, -C(O)N(R⁵²)₂, -C(O)NR⁵³R⁵⁴, -P(O)(OR⁵²)₂, -P(O)(R⁵²)₂, =O, =S, =N(R⁵²), C₃₋₁₂ carbociclo e eterociclo da 3 a 12 elementi; e

C₃₋₁₂ carbociclo ed eterociclo avente da 3 a 12 elementi,

in cui ciascun C₃₋₁₂ carbociclo ed eterociclo da 3 a 12 elementi in R⁵¹ è indipendentemente facoltativamente sostituito con uno o più sostituenti selezionati tra alogeno, -NO₂, -CN, -OR⁵², -SR⁵², -N(R⁵²)₂,

Marco Giovanni Mari
USM 146PT-090

$-\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{S}(=\text{O})\text{R}^{52}$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^{52}$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{NR}^{52}\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^{52}$, $-\text{NR}^{52}\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{NR}^{52}\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{52}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{52}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^{52}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{OR}^{52}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{NR}^{52}\text{C}(\text{O})\text{R}^{52}$, $-\text{NR}^{52}\text{C}(\text{O})\text{OR}^{52}$, $-\text{NR}^{52}\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{NR}^{52}\text{C}(\text{O})\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{52})_2$, $-\text{P}(\text{O})(\text{R}^{52})_2$, $=\text{O}$, $=\text{S}$, $=\text{N}(\text{R}^{52})$, C_{1-6} alchile, C_{1-6} aloalchile, C_{2-6} alchenile, e C_{2-6} alchinile;

R^{52} è indipendentemente selezionato in ciascuna occorrenza tra idrogeno; e C_{1-20} alchile, C_{2-20} alchenile, C_{2-20} alchinile, eteroalchile da 1 a 6 elementi, C_{3-12} carbociclo, ed eterociclo da 3 a 12 elementi, ciascuno dei quali è facoltativamente sostituito con alogeno, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHCH}_3$, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_3$, $=\text{O}$, $-\text{OH}$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$, C_{3-12} carbociclo, o eterociclo da 3 a 6 elementi;

R^{53} e R^{54} sono presi insieme all'atomo di azoto a cui sono fissati per formare un eterociclo, facoltativamente sostituito con uno o più R^{50} ;

R^{56} è indipendentemente selezionato in ciascuna occorrenza tra:

$-\text{NO}_2$, $-\text{OR}^{59}$, $-\text{SR}^{52}$, $-\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{S}(=\text{O})\text{R}^{52}$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^{52}$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{NR}^{52}\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^{52}$, $-\text{NR}^{52}\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{NR}^{52}\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{52}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{52}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^{52}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{OR}^{52}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{NR}^{52}\text{C}(\text{O})\text{R}^{52}$, $-\text{NR}^{52}\text{C}(\text{O})\text{OR}^{52}$, $-\text{NR}^{52}\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{NR}^{52}\text{C}(\text{O})\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{52})_2$, $-\text{P}(\text{O})(\text{R}^{52})_2$, $=\text{O}$, $=\text{S}$, $=\text{N}(\text{R}^{52})$, C_{1-10} alchile, C_{2-10} alchenile, C_{2-10} alchinile, C_{3-12} carbociclo e eterociclo da 3 a 12 elementi,

in cui ciascun C_{1-10} alchile, C_{2-10} alchenile e C_{2-10} alchinile in R^{56} è indipendentemente facoltativamente sostituito in ciascuna

Marco Giovanni Mari
USM/PT-090

occorrenza con uno o più sostituenti selezionati tra alogeno, $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{OR}^{59}$, $-\text{SR}^{52}$, $-\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{S}(=\text{O})\text{R}^{52}$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^{52}$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{NR}^{52}\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^{52}$, $-\text{NR}^{52}\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{NR}^{52}\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{52}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{52}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^{52}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{OR}^{52}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{NR}^{52}\text{C}(\text{O})\text{R}^{52}$, $-\text{NR}^{52}\text{C}(\text{O})\text{OR}^{52}$, $-\text{NR}^{52}\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{NR}^{52}\text{C}(\text{O})\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{52})_2$, $-\text{P}(\text{O})(\text{R}^{52})_2$, $=\text{O}$, $=\text{S}$, $=\text{N}(\text{R}^{52})$, C_{3-12} carbociclo ed eterociclo da 3 a 12 elementi;

in cui ciascun C_{3-12} carbociclo ed eterociclo da 3 a 12 elementi in R^{56} è indipendentemente facoltativamente sostituito con uno o più sostituenti selezionati tra alogeno, $-\text{NO}_2$, $-\text{CN}$, $-\text{OR}^{52}$, $-\text{SR}^{52}$, $-\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{S}(=\text{O})\text{R}^{52}$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^{52}$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{NR}^{52}\text{S}(=\text{O})_2\text{R}^{52}$, $-\text{NR}^{52}\text{S}(=\text{O})_2\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{NR}^{52}\text{S}(=\text{O})_2\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{C}(\text{O})\text{R}^{52}$, $-\text{C}(\text{O})\text{OR}^{52}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^{52}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{OR}^{52}$, $-\text{OC}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{OC}(\text{O})\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{NR}^{52}\text{C}(\text{O})\text{R}^{52}$, $-\text{NR}^{52}\text{C}(\text{O})\text{OR}^{52}$, $-\text{NR}^{52}\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{NR}^{52}\text{C}(\text{O})\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}^{52})_2$, $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^{53}\text{R}^{54}$, $-\text{P}(\text{O})(\text{OR}^{52})_2$, $-\text{P}(\text{O})(\text{R}^{52})_2$, $=\text{O}$, $=\text{S}$, $=\text{N}(\text{R}^{52})$, C_{1-6} alchile, C_{1-6} aloalchile, C_{2-6} alchenile e C_{2-6} alchinile; e

inoltre, in cui R^{56} forma facoltativamente un legame con anello C; e

R^{59} è indipendentemente selezionato in ciascuna occorrenza tra C_{1-20} alchile, C_{2-20} alchenile, C_{2-20} alchinile, eteroalchile avente da 1 a 6 elementi, C_{3-12} carbociclo ed eterociclo avente da 3 a 12 elementi, ciascuno dei quali è facoltativamente sostituito con alogeno, $-\text{CN}$, $-\text{NO}_2$, $-\text{NH}_2$, $-\text{NHCH}_3$, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_3$, $=\text{O}$, $-\text{OH}$, $-\text{OCH}_3$, $-\text{OCH}_2\text{CH}_3$, C_{3-12} carbociclo o eterociclo avente da 3 a 6 elementi,

in cui per un composto o sale di Formula (II), quando R^{56} è $-\text{CH}_3$,

Marco Giovanni Mari
USBM/PT-090

L³ non è ulteriormente sostituito con -OH, -NH₂ o -CN.

In determinate forme di realizzazione, la presente divulgazione fornisce uno stereoisomero sostanzialmente puro di un composto di Formula (II-A). Facoltativamente, lo stereoisomero è fornito in almeno il 90% di eccesso enantiomerico.

Nella presente è descritta una composizione farmaceutica comprendente un composto o sale di Formula (II-A) e un carrier farmaceuticamente accettabile. In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica viene formulata per la somministrazione orale. In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica è formulata per l'iniezione.

Nella presente è descritto un metodo per inibire un'interazione di menina con una o più tra MLL1, MLL2, una proteina di fusione MLL e una duplicazione tandem parziale di MLL, comprendente mettere a contatto menina con una quantità efficace di un composto o sale di Formula (II-A). Nella presente è descritto anche un metodo per inibire un'interazione menina-MLL, comprendente mettere a contatto menina con una quantità efficace di un composto o sale di Formula (II-A), in cui l'inibizione dell'interazione è evidenziata da una riduzione nell'espressione di un gene bersaglio della proteina di fusione MLL. Nella presente è descritto anche un metodo per stabilizzare menina, comprendente mettere a contatto menina con un composto o un sale di Formula (II-A).

Nella pratica di uno qualsiasi dei metodi oggetto, il gene bersaglio della proteina di fusione MLL può essere *HOXA9*, *DLX2* o

Marco Giovanni Mari
USBM 090

MEIS1. Il contatto può comprendere mettere a contatto una cellula che esprime menina. In alcune forme di realizzazione, il metodo comprende somministrare un secondo agente terapeutico. In alcune forme di realizzazione, il contatto avviene *in vivo*. In alcune forme di realizzazione, il contatto avviene *in vitro*.

Nella presente è descritto anche un metodo per il trattamento di una malattia o condizione associata alle proteine di fusione MLL, comprendente somministrare a un soggetto che ne necessita di una quantità efficace di un composto o sale di formula (II-A). Nella presente è descritto anche un metodo per il trattamento di una malattia o condizione in un soggetto, comprendente somministrare al soggetto una quantità terapeuticamente efficace di una composizione farmaceutica di un composto o sale di Formula (II-A). In alcune forme di realizzazione, la malattia o condizione comprende una leucemia, una malignità ematologica, un cancro tumorale solido, un cancro prostatico, un cancro mammario, un cancro epatico, un tumore cerebrale o diabete. In alcune forme di realizzazione, la leucemia comprende LMA, LLA, leucemia a lignaggio misto o una leucemia con duplicazioni tandem parziali di MLL.

Nella presente è anche descritto un metodo per trattare un disturbo mediato da un riarrangiamento cromosomico sul cromosoma 11q23 in un soggetto che ne ha necessità, il metodo comprendendo somministrare al soggetto una quantità terapeuticamente efficace di un composto o sale di Formula (II-A). Nella presente è anche descritto un metodo per trattare un disturbo mediato da

Marco Giovanni Mari
USM 090

un'interazione tra menina e un'altra proteina, comprendente somministrare a un soggetto che ne ha necessità una quantità terapeuticamente efficace di un composto o sale di Formula (II-A). In alcune forme di realizzazione, il soggetto è un essere umano.

Nella presente è anche descritto un kit comprendente una composizione farmaceutica descritta nella presente e istruzioni per usare la composizione per trattare un soggetto affetto da una malattia o condizione mediata da un'interazione tra menina e un'altra proteina.

BREVE DESCRIZIONE DEI DISEGNI

Le caratteristiche innovative dell'invenzione sono esposte nelle rivendicazioni allegate. Una migliore comprensione delle caratteristiche e dei vantaggi della presente invenzione sarà ottenuta facendo riferimento alla seguente descrizione dettagliata che espone forme di realizzazione illustrative, in cui sono usati i principi dell'invenzione, e i disegni allegati dei quali:

Figura 1 è una sequenza amminoacidica di menina umana, isoforma 1 (SEQ ID NO: 1).

Figura 2 è una sequenza amminoacidica di menina umana, isoforma 2 (SEQ ID NO: 2).

Figura 3 è una sequenza amminoacidica di menina umana, isoforma 3 (SEQ ID NO: 3).

Figura 4 raffigura il cambiamento di volume di tumori MV4; 11 nei topi trattati con veicolo e composto.

Figura 5 raffigura la luminescenza di tumori MV4; 11-luc in

Marco Giovanni Mari
USM 11-CP1090

modelli murini di xenotrapianto trattati con veicolo e composto di leucemia MLL dopo 6 giorni di trattamento.

Figura 6 raffigura i cambiamenti di espressione genica di *DLX2*, *HOXA9*, *MEIS1* e *CD11B* nei campioni di midollo osseo prelevati dal veicolo e dai topi trattati con il composto mostrati nella Figura 5.

Figura 7 raffigura la curva di sopravvivenza di topi trattati con veicolo e composto con tumori MV4; 11-luc.

Figura 8 raffigura il cambiamento di volume di tumori MV4; 11 nei topi trattati con veicolo e composto.

Figura 9 raffigura i cambiamenti di espressione genica di *HOXA9*, *MEIS1* e *CD11B* in campioni di midollo osseo prelevati da topi trattati con veicolo e composto.

Figura 10 raffigura la curva di sopravvivenza di topi trattati con veicolo e composto con tumori MOLM13.

Figura 11 raffigura la luminescenza di tumori MV4; 11-luc in modelli murini di xenotrapianto trattati con veicolo e composto di leucemia MLL dopo 6 giorni di trattamento.

Figura 12 raffigura i cambiamenti di espressione genica di *HOXA9*, *MEIS1* e *CD11B* nei campioni di midollo osseo prelevati da topi trattati con veicolo e composto mostrati nella Figura 11.

Figura 13 raffigura la curva di sopravvivenza di topi trattati con veicolo e composto con tumori MOLM13.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA

A meno che definito diversamente, tutti termini tecnici scientifici usati nella presente hanno lo stesso significato di

Marco Giovanni Mari
USM 090

quello comunemente compreso da individuo con competenze nel settore alla quale appartiene questa invenzione.

"Proteina di fusione MLL" si riferisce a una proteina con un frammento N-terminale di MLL fuso con una proteina partner. Esempi non limitativi di una proteina partner includono 11q23, 11q23.3, 11q24, 1p13.1, 1p32 (EPS15), 21q22, 9p13.3, 9p22 (MLLT3/AF9), ABI1, ABI2, ACACA, ACTN4, AFF1/AF4, AFF3/LAF4, AFF4/AF5, AKAP13, AP2A2, ARHGEF12, ARHGEF17, BCL9L, BTBD18, BUD13, C2CD3, CASC5, CASP8AP2, CBL, CEP164, CEP170B, CREBBP, DCP1A, DCPS, EEFSEC/SELB, ELL, EPS15, FLNA, FNBP1, FOXO3, GAS7, GMPS, KIAA1524, LAMC3, LOC100131626, MAML2, ME2, MLLT1/ENL, MLLT10/AF10, MLLT11/AF1Q, MLLT3/AF9, MLLT4/AF6, MLLT6/AF17, MYH11, MYO1F, NA, NEBL, NRIP3, PDS5A, PICALM, PRPF19, PTD, RUNDC3B, SEPT11, SEPT2, SEPT5, SEPT6, SEPT9, SMAP1, TET1, TNRC18, TOP3A, VAV1, e Xq26.3 (CT45A2). Le proteine di fusione MLL possono essere create attraverso l'unione di un gene che codifica una proteina MLL e un gene che codifica una proteina partner creando un gene di fusione. La traduzione di questo gene di fusione può produrre uno o più polipeptidi con proprietà funzionali derivate da ciascuna delle proteine originali.

Il termine "C_{x-y}" o "C_x-C_y" quando usato in combinazione con una frazione chimica, come alchile, alchenile o alchinile, intende includere gruppi che contengono nella catena da x a y atomi di carbonio. Per esempio, il termine "C_{x-y} alchile" si riferisce a gruppi idrocarburici saturi sostituiti o non sostituiti che includono gruppi alchile a catena lineare e alchile a catena ramificata che contengono

Marco Giovanni Mari
USM 090

tra x e y atomi di carbonio nella catena. I termini " C_{x-y} alchenile" e " C_{x-y} alchinile" si riferiscono a gruppi idrocarburici insaturi a catena lineare o ramificata sostituiti o non sostituiti che contengono rispettivamente almeno un doppio o triplo legame. A meno che specificamente dichiarato altrimenti nella specifica, un alchile C_{x-y} , un alchenile C_{x-y} o un alchinile C_{x-y} è facoltativamente sostituito con uno o più sostituenti come quelli descritti nella presente.

"Carbociclo" si riferisce a un anello saturo, insaturo o aromatico in cui ciascun atomo dell'anello è un atomo di carbonio. Il carbociclo può includere anelli monociclici aventi da 3 a 10 elementi, anelli biciclici aventi da 6 a 12 elementi e anelli a ponte aventi da 6 a 12 elementi. Ciascun anello di un carbociclo biciclico può essere selezionato tra anelli saturi, insaturi e aromatici. In alcune forme di realizzazione, il carbociclo è un arile. In alcune forme di realizzazione, il carbociclo è un cicloalchile. In alcune forme di realizzazione, il carbociclo è un cicloalchenile. In una forma di realizzazione esemplificativa, un anello aromatico, per esempio, fenile, può essere fuso con un anello saturo o insaturo, per esempio, cicloesano, ciclopentano o cicloesene. Qualsiasi combinazione di anelli biciclici saturi, insaturi e aromatici, come consentito dalla valenza, è inclusa nella definizione di carbociclico. Carbocicli esemplificativi includono ciclopentile, cicloesile, cicloesenile, adamantile, fenile, indanile e naftile. A meno che specificamente dichiarato altrimenti nella specifica, un

carbociclo è facoltativamente sostituito con uno o più sostituenti come quelli descritti nella presente.

"Eterociclo" si riferisce a un anello saturo, insaturo o aromatico comprendente uno o più eteroatomi. Gli eteroatomi esemplificativi includono gli atomi N, O, Si, P, B, e S. Gli eterocicli includono anelli monociclici aventi da 3 a 10 elementi, anelli biciclici aventi da 6 a 12 elementi e anelli a ponte aventi da 6 a 12 elementi. Ciascun anello di un eterociclo biciclico può essere selezionato tra anelli saturi, insaturi e aromatici. L'eterociclo può essere fissato al resto della molecola attraverso qualsiasi atomo dell'eterociclo, valenza permettendo, come un atomo di carbonio o di azoto dell'eterociclo. In alcune forme di realizzazione, l'eterociclo è eteroarile. In alcune forme di realizzazione, l'eterociclo è un eterocicloalchile. In una forma di realizzazione esemplificativa, un eterociclo, per esempio, piridile, può essere fuso con un anello saturo o insaturo, per esempio, cicloesano, ciclopentano, o cicloesene.

"Eteroarile" si riferisce a un anello aromatico da 3 a 12 elementi che comprende almeno un eteroatomo in cui ciascun eteroatomo può essere indipendentemente selezionato tra N, O e S. Come usato nella presente, l'anello eteroarile può essere selezionato tra anelli di sistemi ad anello monociclici o biciclici e fusi o a ponte in cui almeno uno degli anelli nel sistema ad anello è aromatico, vale a dire contiene un sistema di elettroni π ciclico, delocalizzato $(4n+2)$ secondo la teoria di Hückel. L'uno o più eteroatomi nell'eteroarile

possono essere facoltativamente ossidati. Uno o più atomi di azoto, se presenti, sono facoltativamente quaternizzati. L'eteroarile può essere fissato al resto della molecola attraverso qualsiasi atomo dell'eteroarile, valenza permettendo, come un atomo di carbonio o di azoto dell'eteroarile. Esempi di eteroarili includono, in via non limitativa, azepinile, acridinile, benzimidazolile, benzindolile, 1,3-benzodiossolile, benzofuranile, benzoossazolile, benzo[d]tiazolile, benzotiadiazolile, benzo[b][1,4]diossepinile, benzo[b][1,4]ossazinile, 1,4-benzodiossanile, benzo[naftofuranile, benzossazolile, benzodiossolile, benzodiossinile, benzopiranile, benzopiranonile, benzofuranile, benzofuranonile, benzotienile (benzotiofenile), benzotieno[3,2-d]pirimidinile, benzotriazolile, benzo[4,6]imidazo[1,2-a]piridinile, carbazolile, cinnolinile, ciclopenta[d]pirimidinile, 6,7-diidro-5H-ciclopenta[4,5]tieno[2,3-d]pirimidinile, 5,6-diidrobenezo[h]chinazolinile, 5,6-diidro-benezo[h]cinnolinile, 6,7-diidro-5H-benezo[6,7]cicloeppta[1,2-c]piridazinile, dibenzofuranile, dibenzotiofenile, furanile, furanonile, furo[3,2-c]piridinile, 5,6,7,8,9,10-esaidrociclootta[d]pirimidinile, 5,6,7,8,9,10-esaidrociclootta[d] piridazinile, 5,6,7,8,9,10-esaidrociclootta[d]piridinile, isotiazolile, imidazolile, indazolile, indolile, indazolile, isoindolile, indolinile, isoindolinile, isochinolile, indolizinile, isossazolile, 5,8-metan-5,6,7,8-tetraidrochinazolinile, naftiridinile, 1,6-naftiridinonile, ossadiazolile, 2-ossoazepinile, ossazolile, ossiranile, 5,6,6a,7,8,9,10,10a-ottaidrobenezo[h]chinazolinile, 1-fenil-1H-pirrolile, fenazi-

nile, fenotiazinile, fenossazinile, ftalazinile, pteridinile, purinile, pirrolile, pirazolile, pirazolo[3,4-d]pirimidinile, piridinile, pirido[3,2-d]pirimidinile, pirido[3,4-d]pirimidinile, pirazinile, pirimidinile, piridazinile, pirrolile, chinazolinile, chinossalinile, chinolinile, isochinolinile, tetraidrochinolinile, 5,6,7,8-tetraidrochinazolinile, 5,6,7,8-tetraidrobenzo[4,5]tieno[2,3-d]pirimidinile, 6,7,8,9-tetraidro-5H-cicloep[4,5]tieno[2,3-d]pirimidinile, 5,6,7,8-tetraidropirido[4,5-c]piridazinile, tiazolile, tiadiazolile, triazolile, tetrazolile, triazinile, tieno[2,3-d]pirimidinile, tieno[3,2-d]pirimidinile, tieno[2,3-c]pridinile e tiofenile (vale a dire tienile). A meno che specificamente dichiarato altrimenti nella specifica, il termine "eteroarile" è destinato a includere eteroarili come definito sopra che sono facoltativamente sostituiti con uno o più sostituenti come quelli descritti nella presente.

I composti della presente divulgazione includono anche forme cristalline e amorfe di quei composti, sali farmaceuticamente accettabili e metaboliti attivi di questi composti aventi lo stesso tipo di attività, inclusi, per esempio, polimorfi, pseudopolimorfi, solvati, idrati, polimorfi non solvatati (inclusi anidrati), polimorfi conformazionali e forme amorfe dei composti, nonché relative miscele.

I composti descritti nella presente possono presentare la loro naturale abbondanza isotopica, oppure uno o più degli atomi possono essere arricchiti artificialmente per quanto riguarda un isotopo

Marco Giovanni Mari
USM-CPT-090

specifico avente lo stesso numero atomico, ma una massa atomica o un numero di massa differente dalla massa atomica o dal numero di massa predominantemente riscontrato in natura. Tutte le variazioni isotopiche dei composti della presente divulgazione, radioattive o meno, sono racchiuse nell'ambito della presente divulgazione. Per esempio, l'idrogeno ha tre isotopi presenti in natura, indicati ^1H (prozio), ^2H (deuterio) e ^3H (trizio). Il prozio è l'isotopo dell'idrogeno più abbondante in natura. L'arricchimento per il deuterio può offrire determinati vantaggi terapeutici, come emivita *in vivo* e/o esposizione aumentata, o può fornire un composto utile per indagare percorsi di eliminazione e metabolismo *in vivo* di farmaci. Composti isotopicamente arricchiti possono essere preparati mediante tecniche convenzionali ben note agli esperti nel settore.

Gli "isomeri" sono composti differenti che hanno la stessa formula molecolare. Gli "stereoisomeri" sono isomeri che differiscono soltanto nel modo in cui gli atomi vengono disposti nello spazio. Gli "enantiomeri" sono una coppia di stereoisomeri che rappresentano immagini speculari non sovrapponibili l'uno dell'altro. Una miscela 1:1 di una coppia di enantiomeri è una miscela "racemica". L'espressione "(±)" viene usata per designare una miscela racemica laddove appropriato. I "diastereoisomeri" o "diastereomeri" sono stereoisomeri che hanno almeno due atomi asimmetrici, tuttavia, non sono immagini speculari l'uno dell'altro. La stereochimica assoluta è specificata secondo il sistema R-S di Cahn-Ingold-Prelog. Quando un composto è un enantiomero puro, la stereochimica in corrispondenza di

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

ciascun carbonio chirale può essere specificata mediante R o S. I composti risolti la cui la configurazione assoluta è sconosciuta possono essere designati (+) o (-) in base alla direzione (destro- o levorotatoria) in cui fanno ruotare il piano della luce polarizzata alla lunghezza d'onda della linea D del sodio. Determinati composti descritti nella presente contengono uno o più centri asimmetrici e pertanto possono dare luogo a enantiomeri, diastereomeri, e altre forme stereoisomere, i cui centri asimmetrici possono essere definiti, in termini di stereochimica assoluta, come (R) o (S). Le presenti entità chimiche, composizioni farmaceutiche e metodi sono destinati a includere tutti tali possibili stereoisomeri, incluse miscele racemiche, forme otticamente pure, miscele di diastereomeri e miscele intermedie. Gli isomeri otticamente attivi (R) e (S) possono essere preparati usando sintoni chirali o reagenti chirali, o risolti usando tecniche convenzionali. L'attività ottica di un composto può essere analizzata mediante qualsiasi metodo adatto, inclusi, in via non limitativa, cromatografia chirale e polarimetria, e si può determinare il grado di predominanza di uno stereoisomero sull'altro isomero.

Possono esistere entità chimiche con doppi legami carbonio-carbonio o doppi legami carbonio-azoto in forma Z o E (o forma *cis* o *trans*). Inoltre, alcune entità chimiche possono esistere in varie forme tautomeriche. A meno che altrimenti specificato, le entità chimiche descritte nella presente intendono includere anche tutte le forme Z, E e tautomeriche.

Il termine "sostituito" si riferisce a frazioni aventi sostituenti che sostituiscono un idrogeno su uno o più atomi di carbonio o eteroatomi della struttura. Sarà compreso che "sostituzione" o "sostituito con" include la condizione implicita in base alla quale tale sostituzione è in conformità con la valenza permessa dell'atomo sostituito e del sostituito, e in base alla quale la sostituzione ha come risultato un composto stabile, per esempio, che non subisce spontaneamente la trasformazione come mediante riarrangiamento, ciclizzazione, eliminazione, eccetera. Come usato nella presente, il termine "sostituito" è contemplato includere tutti i sostituenti ammissibili dei composti organici. In generale, i sostituenti ammissibili includono sostituenti aciclici e ciclici, ramificati e non ramificati, carbociclici ed eterociclici, aromatici e non aromatici dei composti organici. I sostituenti ammissibili possono essere uno o più e identici o differenti per composti organici appropriati. Ai fini di questa divulgazione, gli eteroatomi come l'azoto possono avere sostituenti di idrogeno e/o un qualsiasi sostituito ammissibile dei composti organici descritti nella presente che soddisfa le valenze degli eteroatomi. Sostituenti possono includere qualsiasi sostituito descritto nella presente, per esempio, un alogeno, un idrossile, un carbonile (come un carbossile, un alcossicarbonile, un formile, o un acile), un tiocarbonile (come un tioestere, un tioacetato, o un tioformiato), un alcossile, un fosforile, un fosfato, un fosfonato, un fosfinato, un ammino, un ammido, un'ammidina, un'immina, un ciano, un nitro, un azido, un

solfidrilie, un alchiltio, un solfato, un solfonato, un solfamoile, un solfonammido, un solfonile, un eterociclice, un aralchile, un carbociclo, un eterociclo, un cicloalchile, un eterocicloalchile, una frazione aromatica ed eteroaromatica. In alcune forme di realizzazione, i sostituenti possono includere qualsiasi sostituente descritto nella presente, per esempio: alogeno, idrossi, osso (=O), tiosso (=S), ciano (-CN), nitro (-NO₂), immino (=N-H), ossimo (=N-OH), idrazino (=N-NH₂), -R^b-OR^a, -R^b-OC(O)-R^a, -R^b-OC(O)-OR^a, -R^b-OC(O)-N(R^a)₂, -R^b-N(R^a)₂, -R^b-C(O)R^a, -R^b-C(O)OR^a, -R^b-C(O)N(R^a)₂, -R^b-O-R^c-C(O)N(R^a)₂, -R^b-N(R^a)C(O)OR^a, -R^b-N(R^a)C(O)R^a, -R^b-N(R^a)S(O)_tR^a (in cui t è 1 o 2), -R^b-S(O)_tR^a (in cui t è 1 o 2), -R^b-S(O)_tOR^a (in cui t è 1 o 2), e -R^b-S(O)_tN(R^a)₂ (in cui t è 1 o 2); e alchile, alchenile, alchinile, arile, aralchile, aralchenile, aralchinile, cicloalchile, cicloalchilalchile, eterocicloalchile, eterocicloalchilalchile, eteroarile ed eteroarilalchile, ognuno dei quali può essere facoltativamente sostituito con alchile, alchenile, alchinile, alogeno, idrossi, aloalchile, aloalchenile, aloalchinile, osso (=O), tiosso (=S), ciano (-CN), nitro (-NO₂), immino (=N-H), ossimo (=N-OH), idrazina (=N-NH₂), -R^b-OR^a, -R^b-OC(O)-R^a, -R^b-OC(O)-OR^a, -R^b-OC(O)-N(R^a)₂, -R^b-N(R^a)₂, -R^b-C(O)R^a, -R^b-C(O)OR^a, -R^b-C(O)N(R^a)₂, -R^b-O-R^c-C(O)N(R^a)₂, -R^b-N(R^a)C(O)OR^a, -R^b-N(R^a)C(O)R^a, -R^b-N(R^a)S(O)_tR^a (in cui t è 1 o 2), -R^b-S(O)_tR^a (in cui t è 1 o 2), -R^b-S(O)_tOR^a (in cui t è 1 o 2) e -R^b-S(O)_tN(R^a)₂ (in cui t è 1 o 2); in cui ciascun R^a è indipendentemente selezionato tra idrogeno, alchile, cicloalchile, cicloalchilalchile, arile, aralchile, eterocicloalchile, eteroci-

cloalchilalchile, eteroarile o eteroarilalchile, in cui ciascun R^a, valenza permettendo, può essere facoltativamente sostituito con alchile, alchenile, alchinile, alogeno, aloalchile, aloalchenile, aloalchinile, osso (=O), tiosso (=S), ciano (-CN), nitro (-NO₂), immino (=N-H), ossimo (= N-OH), idrazina (=N-NH₂), -R^b-OR^a, -R^b-OC(O)-R^a, -R^b-OC(O)-OR^a, -R^b-OC(O)-N(R^a)₂, -R^b-N(R^a)₂, -R^b-C(O)R^a, -R^b-C(O)OR^a, -R^b-C(O)N(R^a)₂, -R^b-O-R^c-C(O)N(R^a)₂, -R^b-N(R^a)C(O)OR^a, -R^b-N(R^a)C(O)R^a, -R^b-N(R^a)S(O)_tR^a (in cui t è 1 o 2), -R^b-S(O)_tR^a (in cui t è 1 o 2), -R^b-S(O)_tOR^a (in cui t è 1 o 2) e -R^b-S(O)_tN(R^a)₂ (in cui t è 1 o 2); e in cui ciascun R^b è indipendentemente selezionato tra un legame diretto o una catena alchilenica, alchenilenica o alchinilenica lineare o ramificata, e ciascun R^c è una catena alchilenica, alchenilenica o alchinilenica lineare o ramificata.

Laddove sono specificati gruppi sostituenti mediante le loro formule chimiche convenzionali, scritte da sinistra verso destra, essi racchiudono ugualmente i sostituenti chimicamente identici che potranno risultare dalla scrittura della struttura da destra verso sinistra, per esempio, -CH₂O- è equivalente a -OCH₂-.

Il termine "sale" o "sale farmaceuticamente accettabile" si riferisce a sali derivati da una varietà di controioni organici e inorganici ben noti nel settore. I sali da addizione di un acido farmaceuticamente accettabili possono essere formati con acidi inorganici e acidi organici. Gli acidi inorganici da cui possono essere derivati i sali includono, per esempio, acido cloridrico, acido bromidrico, acido solforico, acido nitrico, acido fosforico, e

Marco Giovanni Mari
USM 090

simili. Acidi organici dai quali è possibile ricavare sali includono, per esempio, acido acetico, acido propionico, acido glicolico, acido piruvico, acido ossalico, acido maleico, acido malonico, acido succinico, acido fumarico, acido tartarico, acido citrico, acido benzoico, acido cinnamico, acido mandelico, acido metanosolfonico, acido etanosolfonico, acido p-toluensolfonico, acido salicilico e simili. I sali da addizione con una base farmaceuticamente accettabili possono essere formati con basi inorganiche e organiche. Le basi inorganiche da cui possono essere derivati i sali includono, per esempio, sodio, potassio, litio, ammonio, calcio, magnesio, ferro, zinco, rame, manganese, alluminio, e simili. Le basi organiche da cui possono essere derivati i sali includono, per esempio, ammine primarie, secondarie e terziarie, ammine sostituite incluse ammine sostituite presenti in natura, ammine cicliche, resine a scambio ionico basiche e simili, in particolare come isopropilammina, trimetilammina, dietilammina, trietilammina, tripropilammina ed etanolammina. In alcune forme di realizzazione, il sale di addizione di basi farmaceuticamente accettabile è selezionato tra sali di ammonio, potassio, sodio, calcio e magnesio.

Il termine "quantità efficace" o "quantità terapeuticamente efficace" si riferisce a quella quantità di un composto descritto nella presente che è sufficiente per influenzare l'applicazione prevista, incluso in via non limitativa, il trattamento della malattia, come definito di seguito. La quantità terapeuticamente efficace può variare a seconda dell'applicazione di trattamento

Marco Giovanni Mari
USM 090

desiderata (in vivo), o del soggetto e condizione di malattia da trattare, per esempio, peso ed età del soggetto, gravità della condizione di malattia, modo di somministrazione e simili, che può essere prontamente determinato da un esperto del settore. Il termine si applica anche a una dose che indurrà una risposta particolare nelle cellule bersaglio, per esempio, riduzione dell'adesione piastrinica e/o migrazione cellulare. La dose specifica varierà in base a particolari composti selezionati, regime di dosaggio da seguire, fatto che venga o meno somministrata in combinazione con altri composti, tempi di somministrazione, tessuto a cui è somministrata e sistema di rilascio fisico in cui è trasportata.

Come usato nella presente, "trattamento" o "trattare" si riferisce a un approccio per ottenere risultati benefici o desiderati rispetto a una malattia, un disturbo o una condizione medica inclusi, in via non limitativa, un beneficio terapeutico e/o un beneficio profilattico. Con beneficio terapeutico si indica eradicazione o miglioramento del disturbo sottostante che viene trattato. Inoltre, un beneficio terapeutico viene ottenuto con l'eradicazione o il miglioramento di uno o più dei sintomi fisiologici associati al disturbo sottostante in modo tale che nel soggetto viene osservato un miglioramento, malgrado il fatto che il soggetto possa ancora essere affetto dal disturbo sottostante. In determinate forme di realizzazione, per un beneficio profilattico, le composizioni vengono somministrate a un soggetto a rischio di sviluppare una malattia specifica, o a un soggetto che riferisce uno o più dei sintomi

Marco Giovanni Mari
USM-CPT-090

fisiologici di una malattia, anche se una diagnosi di questa malattia può non essere stata effettuata.

Un "effetto terapeutico", come usato nella presente, racchiude un beneficio terapeutico e/o un beneficio profilattico come descritto sopra. Un effetto profilattico include il ritardo o l'eliminazione della comparsa di una malattia o condizione, il ritardo o l'eliminazione dell'insorgenza di sintomi di una malattia o condizione, il rallentamento, l'arresto o l'inversione della progressione di una malattia o condizione, o qualsiasi relativa combinazione.

Il termine "co-somministrazione", "somministrato in combinazione con" e loro equivalenti grammaticali, come usato nella presente, racchiude la somministrazione di due o più agenti a un animale, inclusi gli esseri umani, in modo che entrambi gli agenti e/o i loro metaboliti sono presenti nel soggetto contemporaneamente. La co-somministrazione include la somministrazione simultanea in composizioni separate, la somministrazione in tempi differenti in composizioni separate o la somministrazione in una composizione in cui sono presenti entrambi gli agenti.

I termini "antagonista" e "inibitore" sono usati in modo intercambiabile e si riferiscono a un composto che ha la capacità di inibire una funzione biologica (per esempio, attività, espressione, legame, interazione proteina-proteina) di una proteina bersaglio (per esempio, menina, MLL1, MLL2 e/o una proteina di fusione MLL). Di conseguenza, i termini "antagonista" e "inibitore" sono definiti nel

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

contesto del ruolo biologico della proteina bersaglio. Sebbene gli antagonisti preferiti nella presente interagiscano specificamente con il (per esempio, si legano al) bersaglio, anche i composti che inibiscono un'attività biologica della proteina bersaglio interagendo con altri elementi della via di trasduzione del segnale di cui la proteina bersaglio è un elemento sono specificamente inclusi all'interno di questa definizione. Un'attività biologica preferita inibita da un antagonista è associata allo sviluppo, alla crescita o alla diffusione di un tumore.

Il termine "agonista" come usato nella presente si riferisce a un composto che ha la capacità di avviare o potenziare una funzione biologica di una proteina bersaglio, inibendo l'attività o l'espressione della proteina bersaglio. Di conseguenza, il termine "agonista" è definito nel contesto del ruolo biologico del polipeptide bersaglio. Sebbene gli agonisti preferiti nella presente interagiscano specificamente con il (per esempio, si legano al) bersaglio, i composti che avviano o potenziano un'attività biologica del polipeptide bersaglio interagendo con altri elementi della via di trasduzione del segnale di cui il polipeptide bersaglio è un elemento sono anche specificamente inclusi all'interno di questa definizione.

La "trasduzione di segnale" è un processo durante il quale segnali stimolatori o inibitori vengono trasmessi all'interno e all'interno di una cellula per suscitare una risposta intracellulare. Un modulatore di una via di trasduzione del segnale si riferisce a un composto che modula l'attività di una o più proteine cellulari

mappate sulla stessa via di trasduzione del segnale specifica. Un modulatore può aumentare (agonista) o sopprimere (antagonista) l'attività di una molecola di segnalazione.

Un "agente anticancro", "agente anticancro" o "agente chemioterapico" si riferisce a qualsiasi agente utile nel trattamento di una condizione neoplastica. Una classe di agenti anticancro comprende agenti chemioterapici. "Chemioterapia" indica la somministrazione di uno o più farmaci chemioterapici e/o altri agenti a un paziente oncologico mediante vari metodi, inclusi la somministrazione endovenosa, orale, intramuscolare, intraperitoneale, intravescicale, sottocutanea, transdermica, buccale, o l'inalazione o sotto forma di supposta.

"Soggetto" si riferisce a un animale, come un mammifero, per esempio, un essere umano. I metodi descritti nella presente possono essere utili sia nella terapia umana che in applicazioni veterinarie. In alcune forme di realizzazione, il soggetto è un mammifero e in alcune forme di realizzazione, il soggetto è un essere umano. "Mammifero" include esseri umani e sia animali domestici come animali da laboratorio e animali domestici (per esempio, gatti, cani, suini, bovini, pecore, capre, cavalli, conigli) sia animali non domestici come la fauna selvatica e simili.

"Profarmaco" è destinato a indicare un composto che può essere convertito in condizioni fisiologiche o mediante solvolisi in un composto biologicamente attivo descritto nella presente (per esempio, composto di Formula (II-A)). Pertanto, il termine "profarmaco" si

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

riferisce a un precursore di un composto biologicamente attivo che è farmaceuticamente accettabile. Un profarmaco può essere inattivo quando somministrato a un soggetto, ma viene convertito in vivo in un composto attivo, per esempio, mediante idrolisi. Il composto profarmaco spesso offre vantaggi di solubilità, compatibilità tissutale o rilascio ritardato in un organismo mammifero (si veda, per esempio, Bundgard, H., Design of Prodrugs (1985), pp. 7-9, 21-24 (Elsevier, Amsterdam); Higuchi, T., et al., "Pro-drugs as Novel Delivery Systems," (1987) A.C.S. Symposium Series, Vol. 14; e Bioreversible Carriers in Drug Design, ed. Edward B. Roche, American Pharmaceutical Association and Pergamon Press). Il termine "profarmaco" è anche destinato a includere un qualsiasi veicolo legato in modo covalente che rilascia il principio attivo in vivo quando tale profarmaco viene somministrato a un soggetto mammifero. I profarmaci di un composto attivo, come descritto nella presente, vengono tipicamente preparati modificando i gruppi funzionali presenti nel composto attivo in modo tale che le modifiche vengano clivate, nella manipolazione di routine o in vivo, nel composto attivo progenitore. I profarmaci includono composti in cui un gruppo idrossile, ammino o mercapto è legato a un qualsiasi gruppo che, quando il profarmaco del composto attivo viene somministrato a un soggetto mammifero, viene clivato per formare rispettivamente un gruppo idrossile libero, ammino libero o mercapto libero. Esempi di profarmaci includono, in via non limitativa, derivati di acetato, formiato e benzoato di un gruppo funzionale idrossilato, o derivati

Marco Giovanni Mari
USM 090

di acetammide, formammide e benzammide di un gruppo funzionale ammino nel composto attivo e simili.

Il termine "in vivo" si riferisce a un evento che si svolge nel corpo di un soggetto.

Il termine "in vitro" si riferisce a un evento che si svolge al di fuori del corpo di un soggetto. Per esempio, un saggio *in vitro* racchiude qualsiasi saggio eseguito al di fuori di un soggetto. I saggi *in vitro* comprendono saggi basati su cellule in cui vengono impiegate cellule vive o morte. I saggi *in vitro* comprendono anche un saggio privo di cellule in cui non vengono impiegate cellule intatte.

"Facoltativo" o "facoltativamente" indica che l'evento o la circostanza successivamente descritto/a può avvenire o meno, e che la descrizione include casi in cui l'evento o la circostanza avviene e casi in cui non avviene. Per esempio, "arile facoltativamente sostituito" indica che il gruppo arile può essere sostituito o meno e che la descrizione include sia gruppi arile sostituiti, sia gruppi arile non aventi sostituzione.

"Carrier, diluente o eccipiente farmaceuticamente accettabile" include senza limitazione un qualsiasi adiuvante, carrier, eccipiente, glidante, agente dolcificante, diluente, conservante, pigmento, colorante, esaltatore di aroma, surfattante, agente bagnante, agente di dispersione, agente di sospensione, stabilizzatore, agente isotonic, solvente, o emulsionante che è stato approvato dalla United States Food and Drug Administration come accettabile per l'uso negli esseri umani o negli animali domestici.

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

Nella presente sono descritti composti per modulare l'interazione di menina con proteine come le oncoproteine di fusione MLL1, MLL2 e MLL. In determinate forme di realizzazione, i composti e i metodi descritti nella presente sono per inibire l'interazione di menina con le sue molecole di segnalazione a monte o a valle incluse, a titolo esemplificativo ma non esaustivo, oncoproteine di fusione MLL1, MLL2 e MLL. I composti della divulgazione possono essere usati nei metodi per il trattamento di un'ampia varietà di cancri e altre malattie associate a una o più tra le proteine di fusione MLL1, MLL2, MLL e menina. In determinate forme di realizzazione, un composto della divulgazione lega covalentemente menina e inibisce l'interazione di menina con MLL. In determinate forme di realizzazione, un composto della divulgazione interagisce in modo non covalente con menina e inibisce l'interazione di menina con MLL.

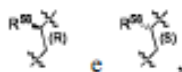
I composti della divulgazione possono essere usati in metodi per il trattamento di un'ampia varietà di malattie associate a proteine di fusione MLL1, MLL2, MLL e menina. In determinate forme di realizzazione, un composto della divulgazione interagisce in modo non covalente con menina e inibisce l'interazione di menina con MLL. In determinate forme di realizzazione, un composto della divulgazione lega covalentemente menina e inibisce l'interazione di menina con MLL.

Nella presente è descritto anche un composto o sale che si lega selettivamente alla proteina menina e/o modula l'interazione di menina con una proteina MLL (per esempio, MLL1, MLL2, o una proteina

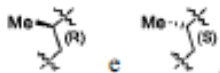
Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

di fusione MLL). In determinate forme di realizzazione, il composto modula la proteina menina legandosi o interagendo con uno o più amminoacidi e/o uno o più ioni metallici. Determinati composti possono occupare la tasca di menina F9 e/o P13. Il legame di un composto divulgato nella presente può interrompere la segnalazione a valle di menina o MLL (per esempio, MLL1, MLL2 o una proteina di fusione MLL).

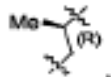
In alcune forme di realizzazione, per un composto di Formula (II-A), L^3 è selezionato tra



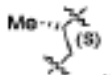
e R^{56} è metile. L^3 può essere selezionato tra



In alcune forme di realizzazione, L^3 è



In alcune forme di realizzazione, L^3 è



In alcune forme di realizzazione, L^3 comprende uno stereocentro. In alcune forme di realizzazione, lo stereocentro è nella configurazione R. In alcune forme di realizzazione, lo stereocentro è nella configurazione S. In alcune forme di realizzazione, l'isomero R di L^3 viene fornito in almeno il 20%, 30%, 40%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 88%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, o 99,9% di eccesso rispetto all'isomero S. In alcune forme di realizzazione, l'isomero S di L^3 viene fornito in almeno il 20%, 30%, 40%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 88%, 90%, 91%,

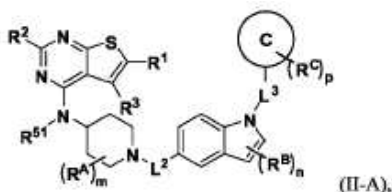
92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, o 99,9% di eccesso rispetto all'isomero R.

C è sostituito con 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 o più gruppi R^C. C può essere sostituito con 1, 2, 3, 4, 5 o 6 gruppi R^C, come C sostituito con 1 o 2 gruppi R^C. In alcune forme di realizzazione, C è sostituito con almeno 1, 2, 3, 4, 5 o 6 gruppi R^C. In alcune forme di realizzazione, C è non sostituito. C è sostituito con p gruppi R^C, in cui p è un numero intero da 0 a 6. p è 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6. In alcune forme di realizzazione, p è almeno 1, 2, 3, 4, 5 o 6. In alcune forme di realizzazione, p è fino a 6, 5, 4, 3, 2, o 1. In alcune forme di realizzazione, p è 0. In alcune forme di realizzazione, p è 1 o 2.

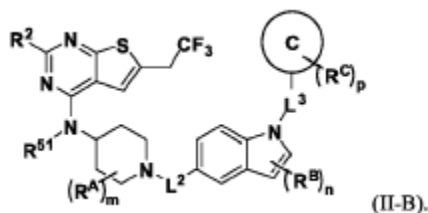
R^C è selezionato tra -C(O)R⁵², -S(=O)R⁵², -S(=O)₂R⁵², -S(=O)₂N(R⁵²)₂, -S(=O)₂NR⁵³R⁵⁴, -NR⁵²S(=O)₂R⁵², =O, C₁₋₃ alchile e C₁₋₃ aloalchile, o due gruppi R^C fissati a differenti atomi possono formare insieme un ponte C₁₋₃. In alcune forme di realizzazione, R^C è selezionato tra C₁₋₃ alchile e C₁₋₃ aloalchile, come -CH₃.

C è selezionato tra piperidinile e piperazinile.

I composti descritti nella presente sono rappresentati dalla formula (II-A):



Come

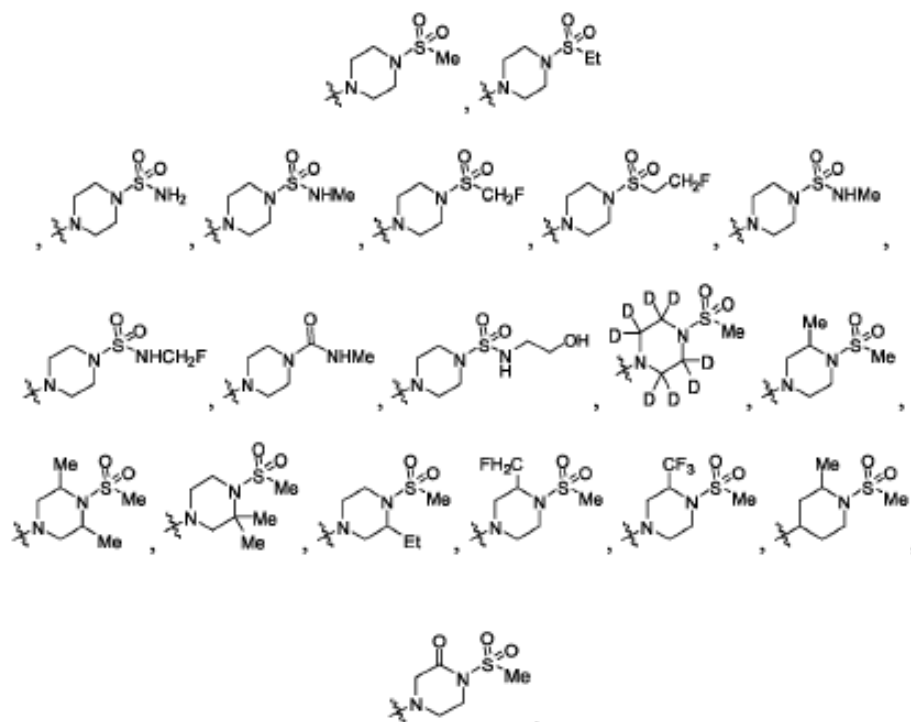


R^1 è C_{1-3} aloalchile, come $-CH_2CF_3$. R^2 è selezionato tra alogeno, $-OH$, $-OR^{52}$, $-NH_2$, $-N(R^{52})_2$, $-CN$, C_{1-3} alchile, C_{1-3} alchil- OR^{52} , C_{1-3} alchil- $N(R^{52})_2$, C_{1-3} alogenoalchile, C_{2-3} alchenile e C_{2-3} alchinile. In alcune forme di realizzazione, R^2 è selezionato tra alogeno, $-OR^{52}$, $-N(R^{52})_2$, $-CN$, C_{1-3} alchile, $-CH_2OH$, $-CH_2OR^{52}$, $-CH_2NH_2$, $-CH_2N(R^{52})_2$, C_{1-3} alchil- $N(R^{52})_2$, C_{1-3} aloalchile, C_{2-3} alchenil e C_{2-3} alchinile, come R^2 è selezionato tra $-OH$, $-OR^{52}$, $-NH_2$, $-N(R^{52})_2$, $-CN$ e C_{1-2} alchile. Facoltativamente, R^2 è selezionato tra $-NH_2$, $-CH_3$, $-OCH_3$, $-CH_2OH$ e $-NHCH_3$. R^3 è selezionato tra idrogeno, alogeno, $-OH$, $-N(R^{52})_2$, $-CN$, $-C(O)OR^{52}$, C_{1-3} alchile, e C_{1-3} aloalchile. R^{51} è selezionato tra idrogeno e alchile, come R^{51} è idrogeno. R^A è selezionato tra alogeno, $-CN$, $-OR^{52}$, $-N(R^{52})_2$, $-NR^{53}R^{54}$, $-C(O)R^{52}$, $-C(O)OR^{52}$, $-OC(O)R^{52}$, $-NR^{52}C(O)R^{52}$, $-C(O)N(R^{52})_2$, $-C(O)NR^{53}R^{54}$, $=O$, C_{1-10} alchile, C_{2-10} alchenile e C_{2-10} alchinile. In alcune forme di realizzazione, m è 0. L^2 è $-CH_2-$. R^B è selezionato tra alogeno, $-CN$, $-OR^{52}$, $-N(R^{52})_2$, $-NR^{53}R^{54}$, $-C(O)R^{52}$, $-C(O)OR^{52}$, $-OC(O)R^{52}$, $-NR^{52}C(O)R^{52}$, $-C(O)N(R^{52})_2$, $-C(O)NR^{53}R^{54}$, $=O$, C_{1-10} alchile, C_{2-10} alchenile e C_{2-10} alchinile. In alcune forme di realizzazione, R^B è selezionato tra alogeno, $-CN$, $-OR^{52}$, $-N(R^{52})_2$, $-NR^{53}R^{54}$, e C_{1-3} alchile, come R^B è selezionato tra alogeno, $-CN$, $-OR^{52}$, $-N(R^{52})_2$, $-NR^{53}R^{54}$, e C_{1-2} alchile, n è un numero intero da 1 a 4, come un numero intero da 2 a 3. In alcune forme di realizzazione, n è 2. In alcune forme di

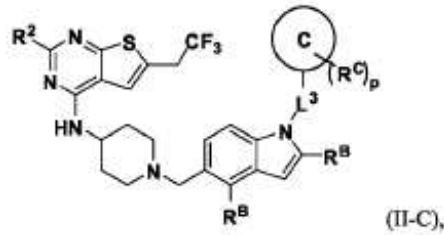
realizzazione, L^3 è selezionato tra



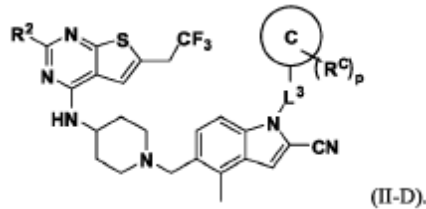
, in cui R^{56} è metile. C è selezionato tra piperidinile e piperazinile. R^C è selezionato tra $-C(O)R^{52}$, $-S(=O)R^{52}$, $-S(=O)_2R^{52}$, $-S(=O)_2N(R^{52})_2$, $-S(=O)_2NR^{53}R^{54}$, $-NR^{52}S(=O)_2R^{52}$, $=O$, C_{1-3} alchile e C_{1-3} aloalchile, o due gruppi R^C fissati a differenti atomi possono formare insieme un ponte C_{1-3} . In alcune forme di realizzazione, R^C è selezionato tra C_{1-3} alchile e C_{1-3} aloalchile, come $-CH_3$. In alcune forme di realizzazione, p è selezionato da un numero intero da 0 a 4, come p è selezionato da un numero intero da 0 a 2. In alcune forme di realizzazione, p è 0. In alcune forme di realizzazione, C è selezionato tra



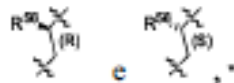
Un composto di formula (II-A) può essere rappresentato da:



come

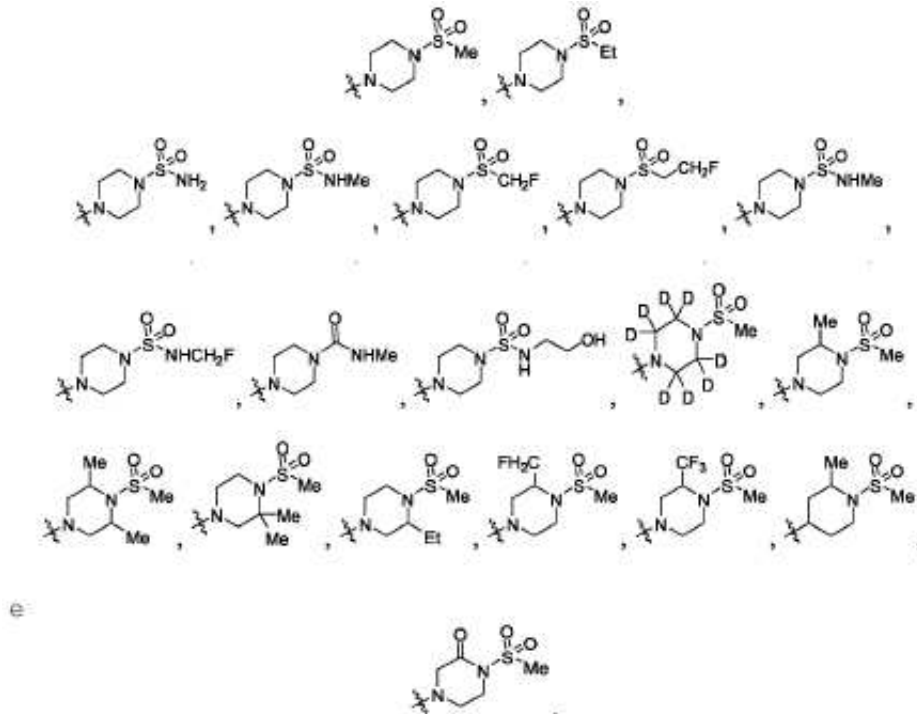


R^2 è selezionato tra alogeno, $-OH$, $-OR^{52}$, $-NH_2$, $-N(R^{52})_2$, $-CN$, C_{1-3} alchile, C_{1-3} alchil- OR^{52} , C_{1-3} alchil- $N(R^{52})_2$, C_{1-3} alogenoalchile, C_{2-3} alchenile e C_{2-3} alchinile. In alcune forme di realizzazione, R^2 è selezionato tra alogeno, $-OH$, $-OR^{52}$, $-NH_2$, $-N(R^{52})_2$, $-CN$, C_{1-3} alchile, $-CH_2OH$, $-CH_2OR^{52}$, $-CH_2NH_2$, $-CH_2N(R^{52})_2$, C_{1-3} alchil- $N(R^{52})_2$, C_{1-3} aloalchile, C_{2-3} alchenile e C_{2-3} alchinile, come R^2 è selezionato tra $-OH$, $-OR^{52}$, $-NH_2$, $-N(R^{52})_2$, $-CN$ e C_{1-2} alchile. Facoltativamente, R^2 è selezionato tra $-NH_2$, $-CH_3$, $-OCH_3$, $-CH_2OH$ e $-NHCH_3$. R^B è selezionato tra alogeno, $-CN$, $-OR^{52}$, $-N(R^{52})_2$, $-NR^{53}R^{54}$, $-C(O)R^{52}$, $-C(O)OR^{52}$, $-OC(O)R^{52}$, $-NR^{52}C(O)R^{52}$, $-C(O)N(R^{52})_2$, $-C(O)NR^{53}R^{54}$, $=O$, C_{1-10} alchile, C_{2-10} alchenile e C_{2-10} alchinile. In alcune forme di realizzazione, R^B è selezionato tra alogeno, $-CN$, $-O^{52}$, $-N(R^{52})_2$, $-NR^{53}R^{54}$, e C_{1-3} alchile, come R^B è selezionato tra alogeno, $-CN$, $-O^{52}$, $-N(R^{52})_2$, $-NR^{53}R^{54}$, e C_{1-2} alchile. In alcune forme di realizzazione, L^3 è selezionato tra

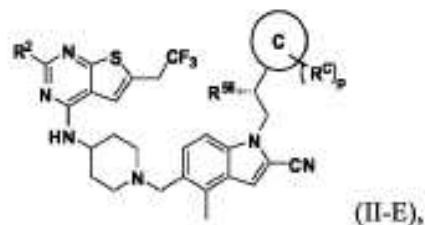


, in cui R^{56} è metile. C è selezionato tra piperidinile e piperazinile. R^C è selezionato tra $-C(O)R^{52}$, $-S(=O)R^{52}$, $-S(=O)_2R^{52}$, $-$

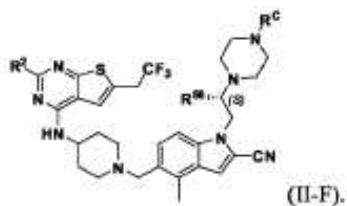
$S(=O)_2N(R^{52})_2$, $-S(=O)_2NR^{53}R^{54}$, $-NR^{52}S(=O)_2R^{52}$, $=O$, C_{1-3} alchile e C_{1-3} aloalchile, o due gruppi R^C fissati a differenti atomi possono formare insieme un ponte C_{1-3} . In alcune forme di realizzazione, R^C è selezionato tra C_{1-3} alchile e C_{1-3} aloalchile, come $-CH_3$. In alcune forme di realizzazione, p è selezionato da un numero intero da 0 a 4, come p è selezionato da un numero intero da 0 a 2. In alcune forme di realizzazione, p è 0. In alcune forme di realizzazione, C è selezionato tra



Un composto di formula (II-A) può essere rappresentato da:

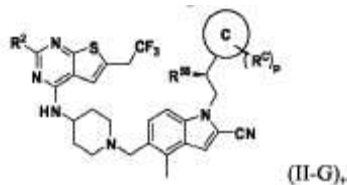


come

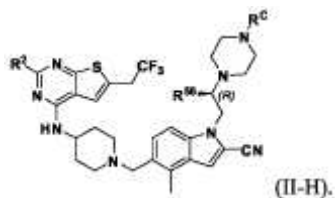


C è selezionato tra piperidinile e piperazinile. R^{56} è metile. In alcune forme di realizzazione, R^C è selezionato tra $-S(=O)R^{52}$, $-S(=O)_2R^{52}$, $-S(=O)_2N(R^{52})_2$, e $-NR^{52}S(=O)_2R^{52}$, come R^C è selezionato tra $-S(=O)CH_3$, $-S(=O)_2CH_3$, $-S(=O)_2NH_2$, $-NHS(=O)_2CH_3$, e $-S(=O)_2NHCH_3$. In alcune forme di realizzazione, p è un numero intero da 1 a 3, come p è 1. In alcune forme di realizzazione, R^C è $-S(=O)_2CH_3$. In alcune forme di realizzazione, R^2 è selezionato tra alogeno, $-OH$, $-OR^{52}$, $-NH_2$, $-N(R^{52})_2$, $-CN$, C_{1-3} alchile, $-CH_2OH$, $-CH_2OR^{52}$, $-CH_2NH_2$, $-CH_2N(R^{52})_2$, C_{1-3} alchil-N $(R^{52})_2$, C_{1-3} aloalchile, C_{2-3} alchenile e C_{2-3} alchinile, come R^2 è selezionato tra $-OH$, $-OR^{52}$, $-NH_2$, $-N(R^{52})_2$, $-CN$ e C_{1-2} alchile. In alcune forme di realizzazione, R^2 è metile o $-NHCH_3$.

Un composto di formula (II-A) può essere rappresentato da:



come



C è selezionato piperidinile e piperazinile. R^{56} è metile. In alcune forme di realizzazione, R^C è selezionato tra $-S(=O)R^{52}$, $-S(=O)_2R^{52}$, $-S(=O)_2N(R^{52})_2$, e $-NR^{52}S(=O)_2R^{52}$, come R^C è selezionato tra $-S(=O)CH_3$, $-S(=O)_2CH_3$, $-S(=O)_2NH_2$, $-NHS(=O)_2CH_3$, e $-S(=O)_2NHCH_3$. In

alcune forme di realizzazione, p è un numero intero da 1 a 3, come p è 1. In alcune forme di realizzazione, R^C è $-S(=O)_2CH_3$. In alcune forme di realizzazione, R^2 è selezionato tra alogeno, $-OH$, $-OR^{52}$, $-NH_2$, $-N(R^{52})_2$, $-CN$, C_{1-3} alchile, $-CH_2OH$, $-CH_2OR^{52}$, $-CH_2NH_2$, $-CH_2N(R^{52})_2$, C_{1-3} alchil-N $(R^{52})_2$, C_{1-3} aloalchile, C_{2-3} alchenile e C_{2-3} alchinile, come R^2 è selezionato tra $-OH$, $-OR^{52}$, $-NH_2$, $-N(R^{52})_2$, $-CN$ e C_{1-2} alchile. In alcune forme di realizzazione, R^2 è metile o $-NHCH_3$.

In determinate forme di realizzazione, la presente divulgazione fornisce uno stereoisomero di un composto di Formula (II-A). In alcune forme di realizzazione, lo stereoisomero è in eccesso enantiomerico. In alcune forme di realizzazione, lo stereoisomero viene fornito in almeno il 20%, 30%, 40%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 88%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, o 99,9% di eccesso enantiomerico. In alcune forme di realizzazione, lo stereoisomero è fornito in più del 20%, 30%, 40%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 88%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% o 99,9% di eccesso enantiomerico. In alcune forme di realizzazione, lo stereoisomero è in eccesso enantiomerico superiore al 95%, come in eccesso enantiomerico superiore al 99%.

In determinate forme di realizzazione, la presente divulgazione fornisce uno stereoisomero di un composto di Formula (II-A). In alcune forme di realizzazione, lo stereoisomero è in eccesso diastereomerico. In alcune forme di realizzazione, lo stereoisomero viene fornito in almeno il 20%, 30%, 40%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%,

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

75%, 80%, 85%, 88%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5%, o 99,9% di eccesso diastereomerico. In alcune forme di realizzazione, lo stereoisomero è fornito in più del 20%, 30%, 40%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, 88%, 90%, 91%, 92%, 93%, 94%, 95%, 96%, 97%, 98%, 99%, 99,5% o 99,9% di eccesso diastereomerico. In alcune forme di realizzazione, lo stereoisomero ha un eccesso diastereomerico superiore al 95%, come un eccesso diastereomerico superiore al 99%.

In determinate forme di realizzazione, il composto di formula (II-A) è preferibilmente usato come miscela non racemica, in cui un enantiomero è presente in eccesso del corrispondente enantiomero. Tipicamente, tale miscela conterrà una miscela dei due isomeri in un rapporto di almeno circa 9:1, preferibilmente almeno 19:1. In alcune forme di realizzazione, il composto è fornito in eccesso enantiomerico almeno del 96%, il che significa che il composto ha meno del 2% del corrispondente enantiomero. In alcune forme di realizzazione, il composto è fornito in almeno il 96% di eccesso diastereomerico, il che significa che il composto ha meno del 2% del diastereomero corrispondente.

In determinate forme di realizzazione, il composto di formula (II-A) è preferibilmente usato come miscela non racemica in cui l'isomero (+) è il componente principale della miscela. Tipicamente, tale miscela conterrà non più del 10% circa dell'isomero (-), il che significa che il rapporto tra gli isomeri (+) e (-) è almeno circa 9:1, e preferibilmente meno del 5% dell'isomero (-), il che significa

Marco Giovanni Mari
USM-CPT-090

che il rapporto tra gli isomeri (+) e (-) è almeno circa 19:1. In alcune forme di realizzazione, il composto usato ha meno del 2% dell'isomero (-), il che significa che ha un eccesso enantiomerico almeno di circa il 96%. In alcune forme di realizzazione, il composto ha un eccesso enantiomerico almeno del 98%. In alcune forme di realizzazione, il composto ha un eccesso enantiomerico di almeno il 99%.

In determinate forme di realizzazione, il composto di formula (II-A) è preferibilmente usato come miscela non racemica in cui l'isomero (-) è il componente principale della miscela. Tipicamente, tale miscela conterrà non più del 10% circa dell'isomero (+), il che significa che il rapporto tra gli isomeri (-) e (+) è almeno circa 9:1, e preferibilmente meno del 5% dell'isomero (+), il che significa che il rapporto tra gli isomeri (-) e (+) è almeno circa 19:1. In alcune forme di realizzazione, il composto usato ha meno del 2% dell'isomero (+), il che significa che ha un eccesso enantiomerico almeno di circa il 96%. In alcune forme di realizzazione, il composto ha un eccesso enantiomerico almeno del 98%. In alcune forme di realizzazione, il composto ha un eccesso enantiomerico di almeno il 99%.

Un composto della divulgazione può legarsi covalentemente a menina e inibire l'interazione di menina con MLL. Tale legame può portare a un aumento dell'affinità del composto per menina, che è una proprietà vantaggiosa in molte applicazioni, inclusi usi terapeutici e diagnostici. In alcune forme di realizzazione, i composti della


Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

divulgazione comprendono gruppi elettrofili in grado di reagire con un gruppo nucleofilo presente in una proteina menina. Gruppi elettrofili adatti sono descritti in tutta la domanda, mentre gruppi nucleofili adatti includono, per esempio, frazioni cisteiniche presenti nel dominio di legame di una proteina menina. Senza voler essere vincolati a una teoria, un residuo di cisteina nel dominio di legame di menina può reagire con il gruppo elettrofilo di un composto della divulgazione, portando alla formazione di un prodotto coniugato. In alcune forme di realizzazione, i composti della divulgazione sono in grado di legarsi in modo covalente al residuo di cisteina nella posizione 329 di un'isoforma 2 di menina (SEQ ID NO: 2) o di cisteina 334 nell'isoforma 1 di menina (SEQ ID NO: 1). In alcune forme di realizzazione, la divulgazione fornisce un coniugato di un composto della divulgazione con una proteina menina. Per esempio, la divulgazione fornisce un coniugato di un composto della divulgazione con menina, legato al residuo di cisteina 329 dell'isoforma 2 di menina (SEQ ID NO: 2) o alla cisteina 334 nell'isoforma 1 di menina (SEQ ID NO: 1).

In alcune forme di realizzazione, per un composto di Formula (II-A), uno o più tra R^A , R^B e R^C , quando presenti, comprende un gruppo funzionale che reagisce covalentemente con uno o più residui sulla menina. In alcune forme di realizzazione, il gruppo funzionale reagisce in modo covalente con uno o più residui di cisteina sulla menina. In alcune forme di realizzazione, il gruppo funzionale reagisce covalentemente con una cisteina sulla menina in posizione

Marco Giovanni Mari
USM 090

329 rispetto a SEQ ID NO: 2 quando allineato in modo ottimale o in posizione 334 rispetto a SEQ ID NO: 1 quando allineata in modo ottimale. In alcune forme di realizzazione, il gruppo funzionale reagisce covalentemente con uno o più residui sulla menina selezionati tra cisteina 329, cisteina 241 e/o cisteina 230 sulla menina rispetto a SEQ ID NO: 2 quando allineata in modo ottimale. In alcune forme di realizzazione, il gruppo funzionale reagisce covalentemente con la cisteina 329 rispetto alla SEQ ID NO: 2 quando allineata in modo ottimale.

In alcune forme di realizzazione, per un composto di Formula (II-A), uno o più tra R^A , R^B e R^C , quando presenti, comprende una frazione che reagisce covalentemente con uno o più residui sulla menina. In alcune forme di realizzazione, una o più tra R^A , R^B e R^C , quando presenti, comprendono una frazione che reagisce in modo covalente con una o più isoforme di menina, per esempio, isoforma 1 (SEQ ID NO: 1), isoforma 2 (SEQ ID NO: 2) o isoforma 3 (SEQ ID NO: 3) di menina. In determinate forme di realizzazione, uno o più tra R^A , R^B e R^C , quando presenti, comprendono una frazione che reagisce covalentemente con menina, in cui la proteina menina condivide il 60% o più, 70% o più, 75% o più, 80% o più, 85% o più, 90% o più, 95% o più, o il 99% o più di identità di sequenza con isoforma 1 (SEQ ID NO: 1), isoforma 2 (SEQ ID NO: 2) o isoforma 3 (SEQ ID NO: 3).

In alcune forme di realizzazione, per un composto di Formula (II-A), uno o più tra R^A , R^B e R^C , come descritto nella presente, quando presente, comprende un gruppo elettrofilo che è suscettibile

Marco Giovanni Mari
USM 090

di attacco nucleofilo da un residuo sulla menina. In alcune forme di realizzazione, uno o più tra R^A , R^B e R^C , quando presenti, comprende una frazione diversa da un elettrofilo, in cui la frazione è in grado di legarsi o reagire covalentemente con un residuo sulla menina. In alcune forme di realizzazione, un composto o un sale di Formula (II-A) è in grado di (a) legarsi covalentemente a menina e (b) inibire l'interazione di menina e MLL.

In alcune forme di realizzazione, per un composto di Formula (II-A), R^C , come descritto nella presente, comprende un gruppo funzionale che reagisce covalentemente con uno o più residui sulla menina. In alcune forme di realizzazione, il gruppo funzionale reagisce in modo covalente con uno o più residui di cisteina sulla menina. In alcune forme di realizzazione, il gruppo funzionale reagisce covalentemente con una cisteina sulla menina in posizione 329 rispetto a SEQ ID NO: 2 quando allineato in modo ottimale o in posizione 334 rispetto a SEQ ID NO: 1 quando allineata in modo ottimale.

In alcune forme di realizzazione, per un composto di Formula (II-A), R^C è una frazione comprendente un carbonile alfa, beta-insaturo; un solfonile alfa, beta-insaturo; un epossido; un'aldeide; fluoruro di solfonile; un alometilcarbonile, un dialometilcarbonile o un trialometilcarbonile.

Qualsiasi combinazione dei gruppi sopra descritti per le varie variabili è contemplata nella presente. In tutta la domanda di brevetto possono essere selezionati gruppi e relativi sostituenti per

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

fornire frazioni e composti.

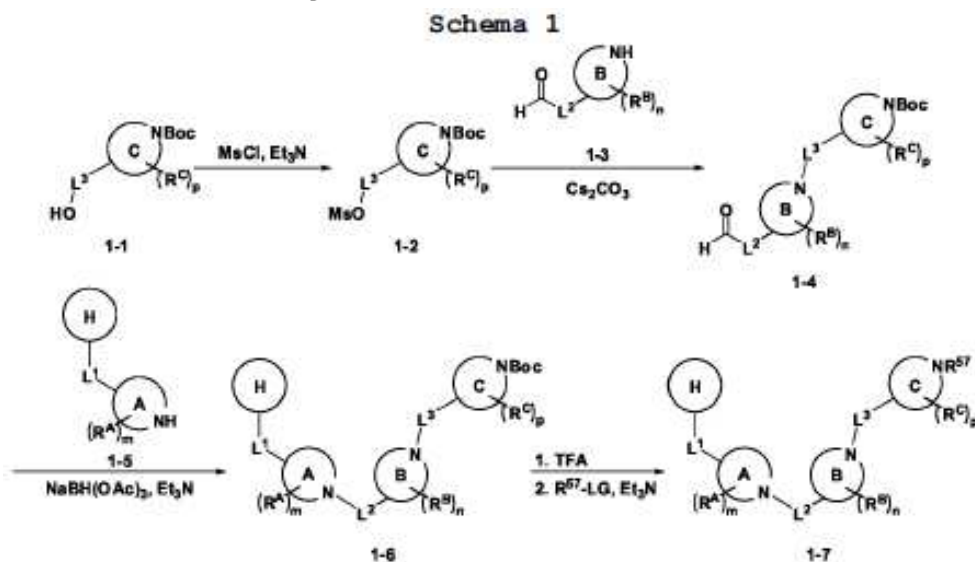
Le entità chimiche descritte nella presente possono essere sintetizzate secondo uno o più schemi illustrativi nella presente e/o tecniche note nel settore. I materiali usati nella presente sono disponibili in commercio o preparati mediante metodi sintetici generalmente noti nel settore. Questi schemi non sono limitati ai composti elencati negli esempi o da particolari sostituenti, che sono impiegati per scopi illustrativi. Sebbene varie fasi siano descritte e raffigurate nello **Schema 1** e negli **Esempi 1-5**, le fasi in alcuni casi possono essere effettuate in un ordine differente rispetto all'ordine mostrato nello **Schema 1** e negli **Esempi 1-5**. Varie modifiche a questi schemi di reazione di sintesi possono essere apportate e verranno suggerite a un esperto nel settore che ha fatto riferimento alla divulgazione contenuta in questa domanda. Numerazioni o gruppi R in ciascuno schema non corrispondono necessariamente a quelli delle rivendicazioni o di altri schemi o tabelle nella presente.

Salvo diversa indicazione, le reazioni descritte nella presente avvengono a pressione atmosferica, generalmente entro un intervallo di temperatura da -10°C a 200°C . Inoltre, salvo quanto diversamente specificato, i tempi e le condizioni di reazione sono destinati ad essere approssimativi, per esempio, svolgendosi pressoché alla pressione atmosferica entro un intervallo di temperatura da circa -10°C a circa 110°C in un periodo da circa 1 a circa 24 ore; le reazioni vengono lasciate correre durante la notte mediamente per un

Marco Giovanni Mari
USM 090

periodo di circa 16 ore.

In generale, i composti della divulgazione possono essere preparati mediante il seguente schema di reazione:



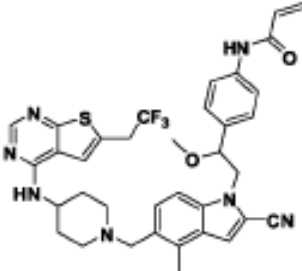
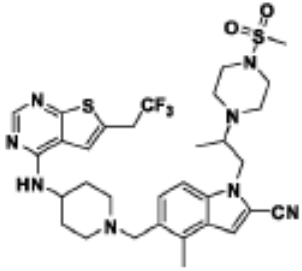
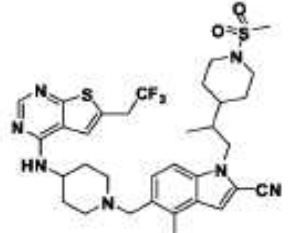
In alcune forme di realizzazione, un composto di Formula 1-7 può essere preparato secondo lo **Schema 1**. Per esempio, metansolfonil cloruro può essere aggiunto a una soluzione di alcol 1-1 e trietilammina per fornire il mesilato 1-2. L'aggiunta del mesilato 1-2 a una soluzione di Cs₂CO₃ e ammina 1-3 può fornire un composto di Formula 1-4. L'accoppiamento di aldeide 1-4 con l'ammina 1-5 può procedere in presenza di un agente riducente idoneo, come NaBH(OAc)₃, per dare un composto di Formula 1-6. L'aggiunta di TFA può rivelare l'ammina libera, che può facoltativamente essere fatta reagire con R⁵⁷-LG, in cui LG è un gruppo uscente idoneo, per fornire un composto di Formula 1-7.

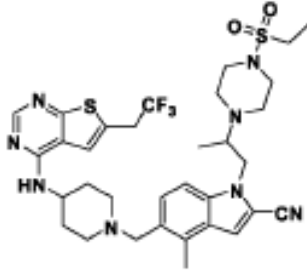
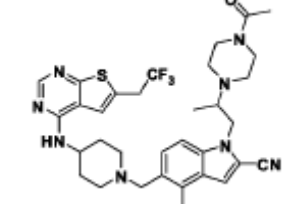
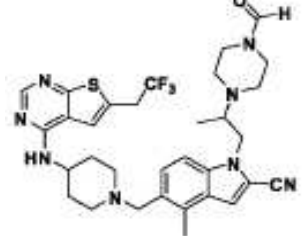
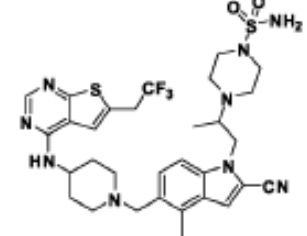
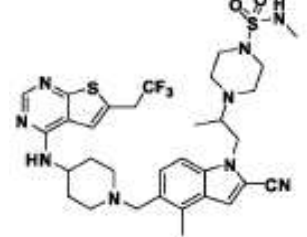
In alcune forme di realizzazione, un composto della presente divulgazione, per esempio, un composto di una formula data in **Tabella 1** o **2**, viene sintetizzato secondo una delle vie generali delineate

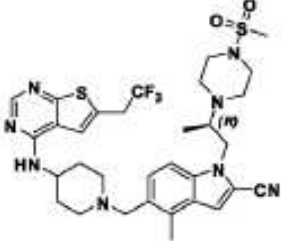
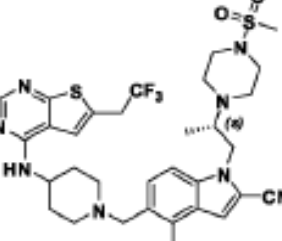
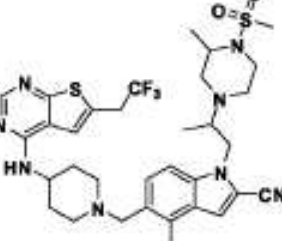
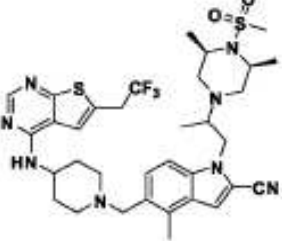
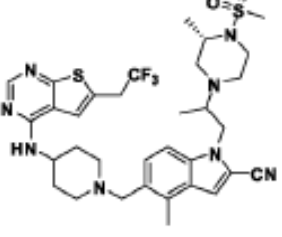
nello **Schema 1, Esempi 1-5**, o con metodi generalmente noti nella tecnica. In alcune forme di realizzazione, i composti esemplificativi possono includere, in via non limitativa, un composto o un relativo sale selezionato dalla **Tabella 1**.

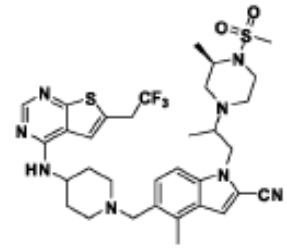
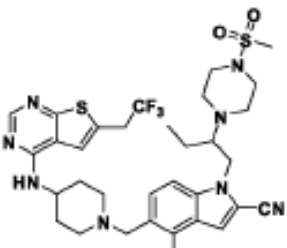
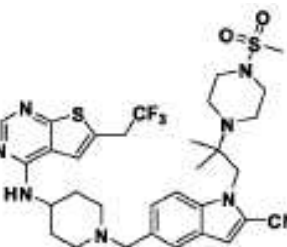
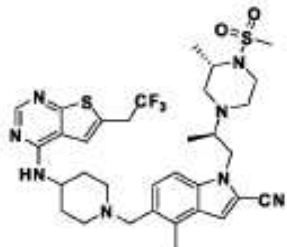
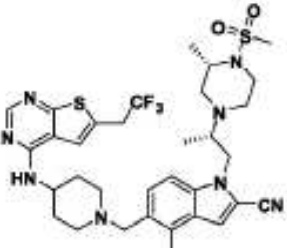
I composti della Tabella 1 contrassegnati con un asterisco "*" sono forniti soltanto per riferimento.

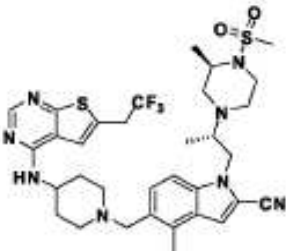
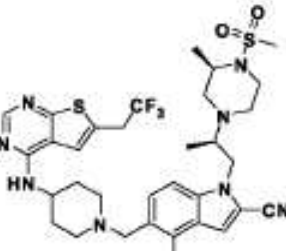
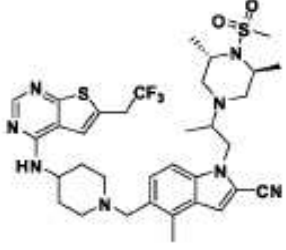
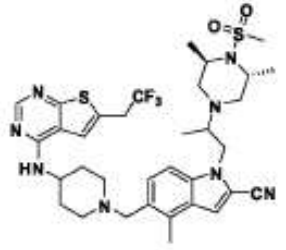
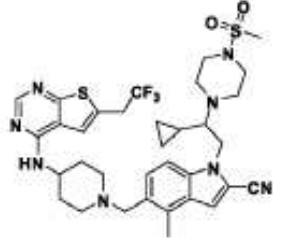
Tabella 1

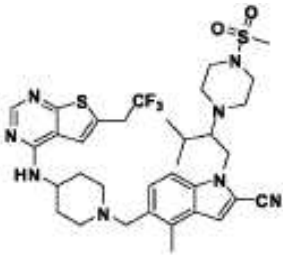
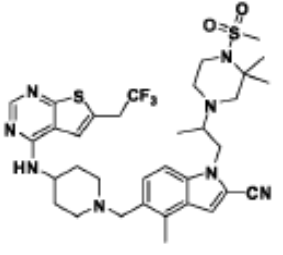
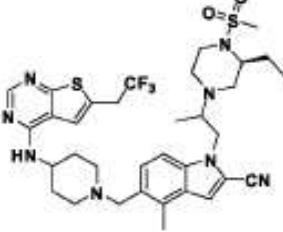
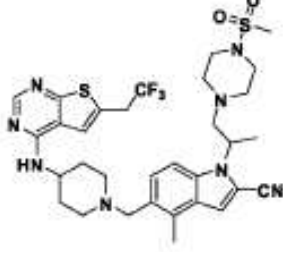
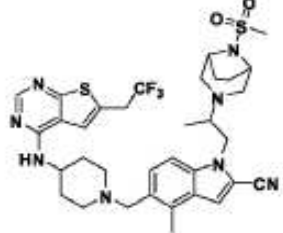
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
1*		687,78	688,45 [M+H] ⁺
2*		688,83	689,40 [M+H] ⁺
3*		687,84	688,45 [M+H] ⁺

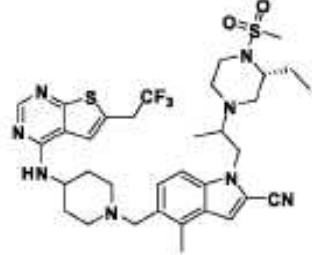
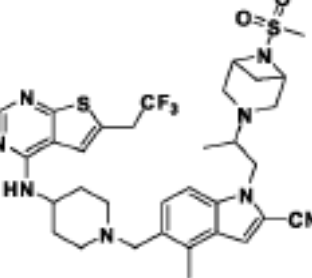
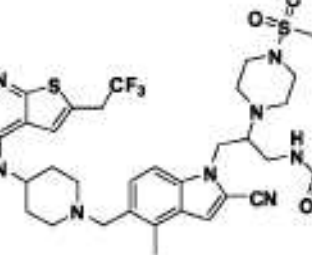
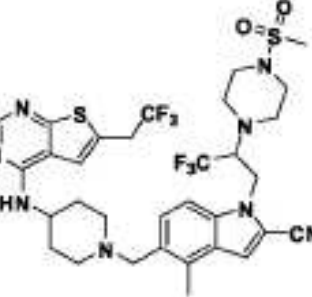
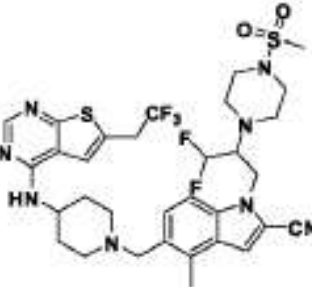
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
4*		702,86	703,55 [M+H] ⁺
5*		652,78	653,55 [M+H] ⁺
6*		638,75	639,50 [M+H] ⁺
7*		689,82	690,50 [M+H] ⁺
8*		703,84	704,55 [M+H] ⁺

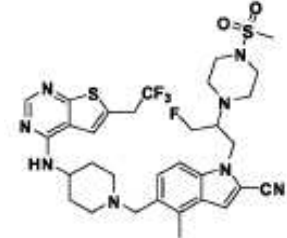
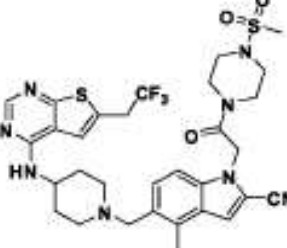
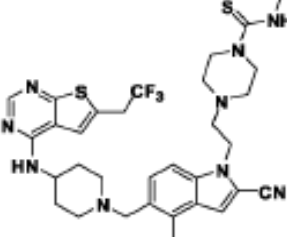
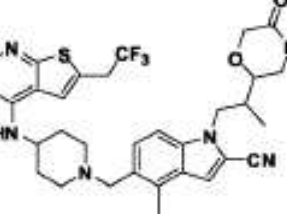
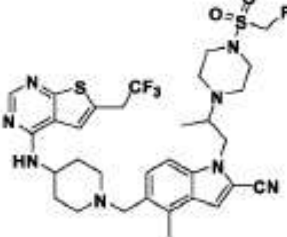
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
9*		688,83	689,45 [M+H] ⁺
10*		688,83	689,40 [M+H] ⁺
11*		702,86	703,55 [M+H] ⁺
12*		716,88	717,55 [M+H] ⁺
13*		702,86	703,55 [M+H] ⁺

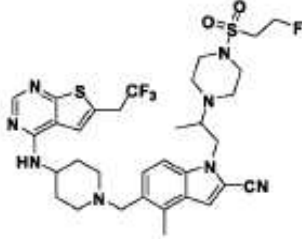
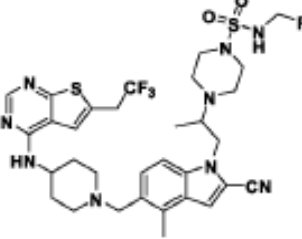
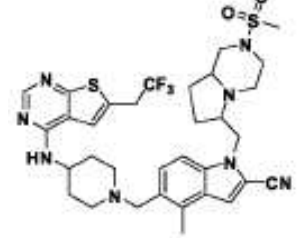
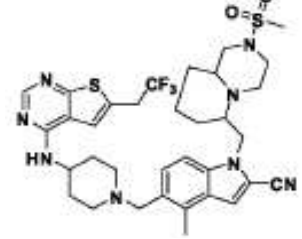
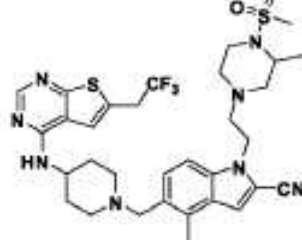
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
14*		702,86	703,55 [M+H] ⁺
15*		702,86	703,50 [M+H] ⁺
16*		702,86	703,60 [M+H] ⁺
17*		702,86	703,35 [M+H] ⁺
18*		702,86	703,35 [M+H] ⁺

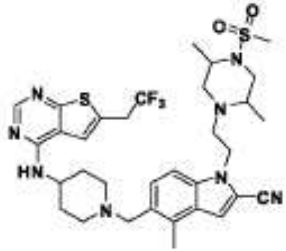
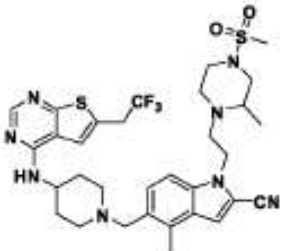
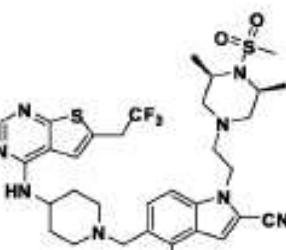
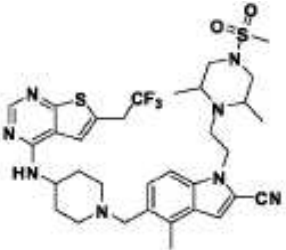
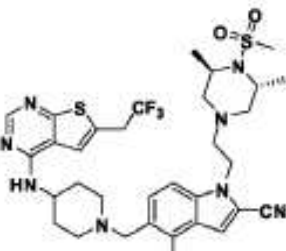
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
19*		702,86	703,35 [M+H] ⁺
20*		702,86	703,35 [M+H] ⁺
21*		716,88	717,35 [M+H] ⁺
22*		716,88	717,35 [M+H] ⁺
23*		714,87	715,25 [M+H] ⁺

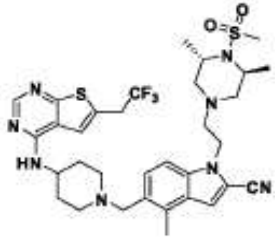
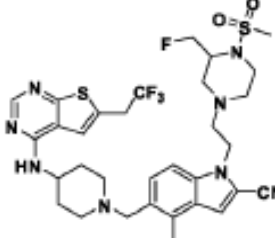
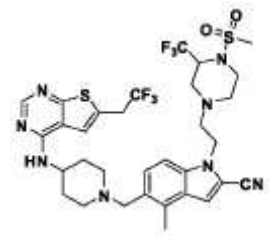
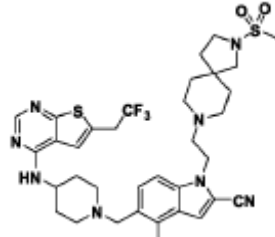
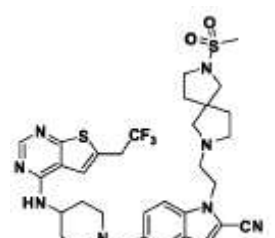
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
24*		716,88	717,45 [M+H] ⁺
25*		716,88	717,40 [M+H] ⁺
26*		716,88	717,40 [M+H] ⁺
27*			
28*		714,87	715,35 [M+H] ⁺

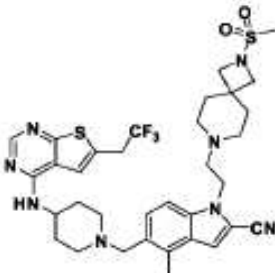
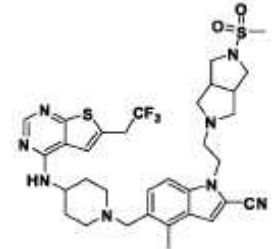
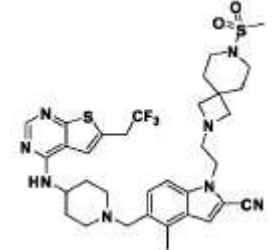
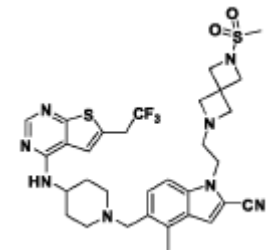
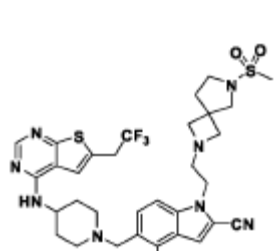
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
29*		716,88	717,40 [M+H] ⁺
30*		700,84	701,35 [M+H] ⁺
31*			
32*			
33*			

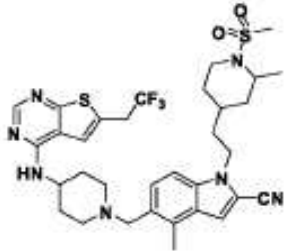
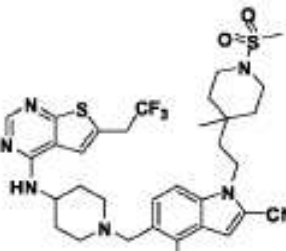
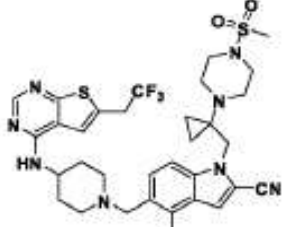
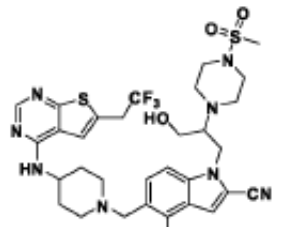
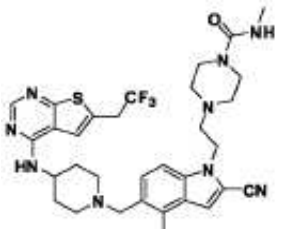
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
34*			
35*		688,79	689,15 [M+H] ⁺
36*			
37*			
38*			

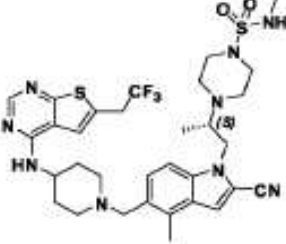
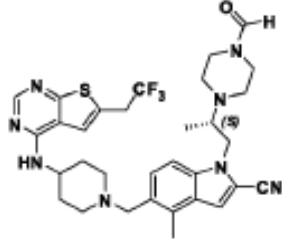
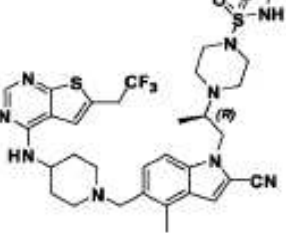
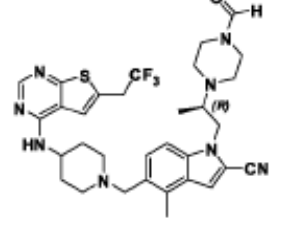
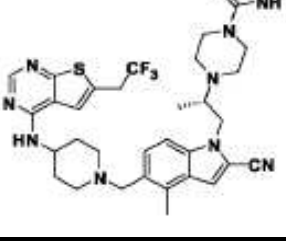
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
39*			
40*			
41*			
42*			
43*		688, 83	689, 45 [M+H] ⁺

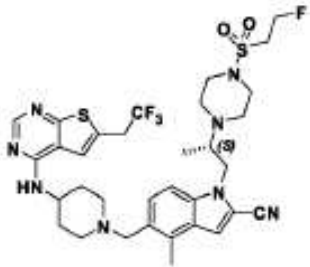
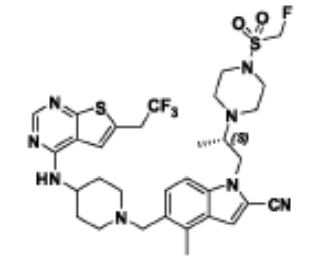
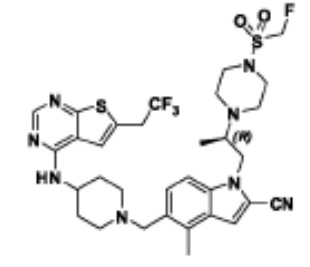
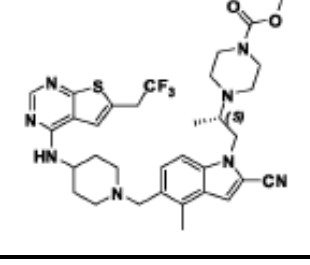
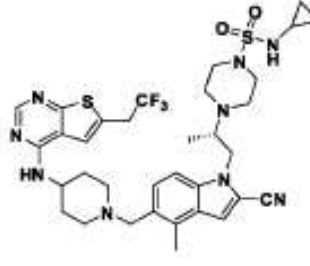
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
44*		702,86	703,45 [M+H] ⁺
45*		688,83	689,40 [M+H] ⁺
46*		702,86	703,45 [M+H] ⁺
47*		702,86	703,50 [M+H] ⁺
48*		702,86	703,55 [M+H] ⁺

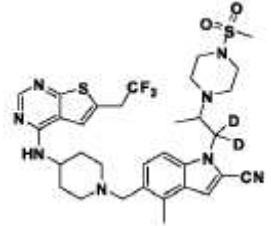
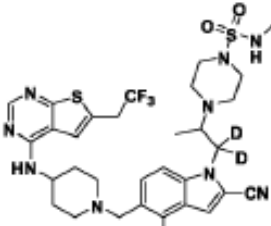
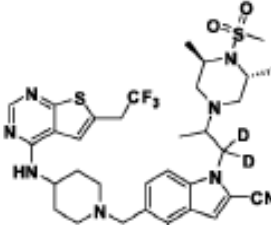
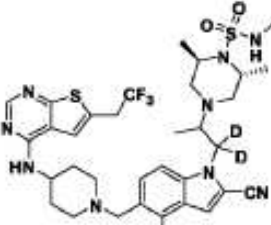
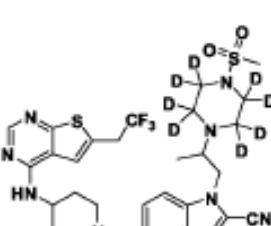
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
49*		702,86	703,55 [M+H] ⁺
50*			
51*			
52*		728,89	729,55 [M+H] ⁺
53*		714,87	715,30 [M+H] ⁺

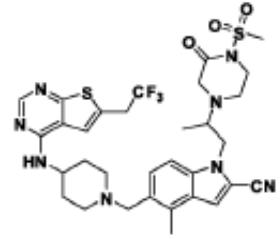
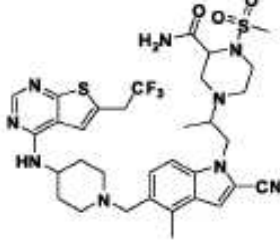
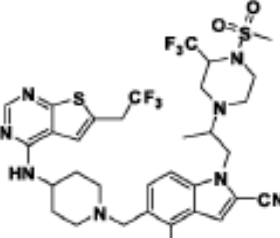
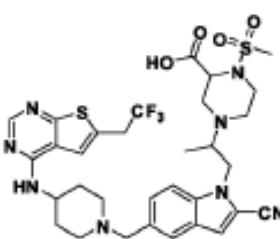
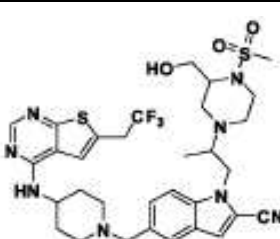
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
54*		714,87	715,30 [M+H] ⁺
55*		700,84	701,30 [M+H] ⁺
56*		714,87	715,35 [M+H] ⁺
57*		686,81	687,25 [M+H] ⁺
58*		700,84	701,35 [M+H] ⁺

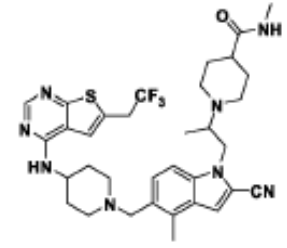
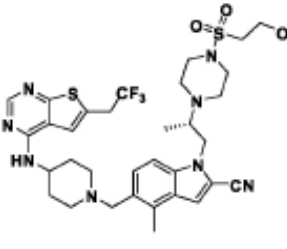
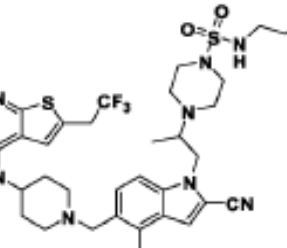
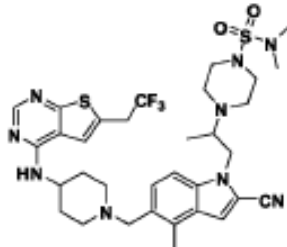
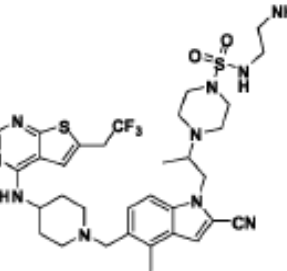
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
59*		687,84	688,45 [M+H] ⁺
60*		687,84	688,50 [M+H] ⁺
61*		700,84	701,30 [M+H] ⁺
62*			
63*			

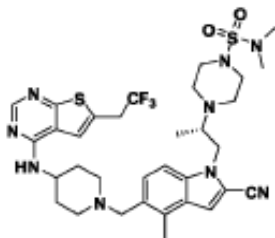
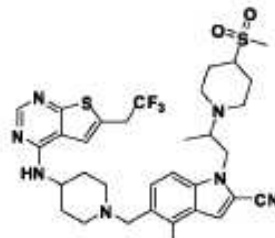
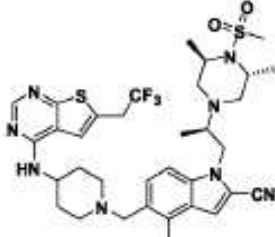
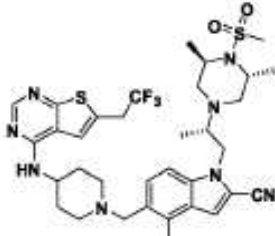
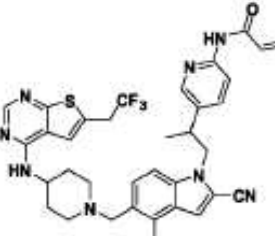
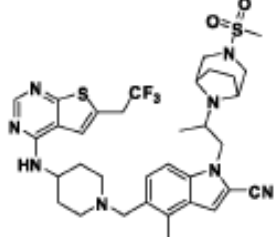
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
64*		703,84	704,25 [M+H] ⁺
65*		638,75	639,20 [M+H] ⁺
66*		703,84	704,25 [M+H] ⁺
67*		638,75	639,25 [M+H] ⁺
68*		667,79	668,35 [M+H] ⁺

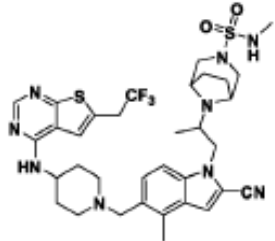
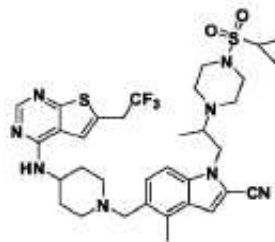
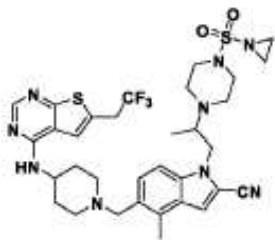
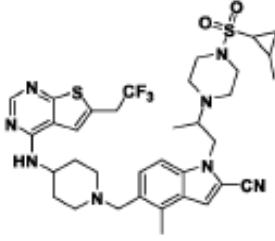
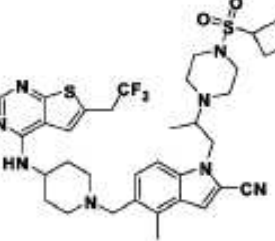
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
69*		720,27	721,3
70*		706,25	707,3
71*		706,25	707,2
72*		668,29	689,2
73*		729,88	730,30 [M+H] ⁺

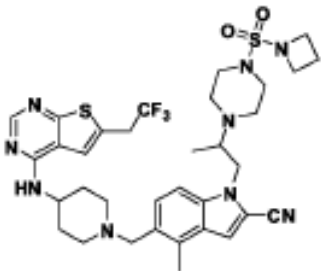
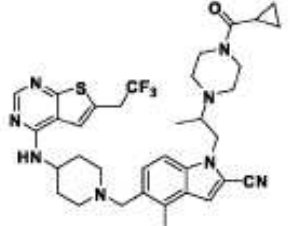
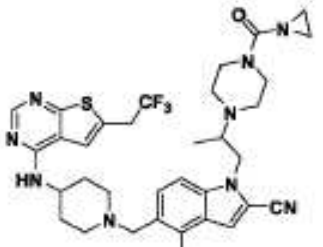
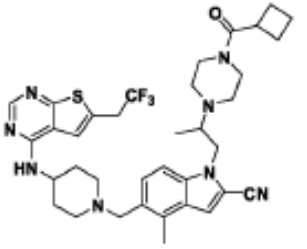
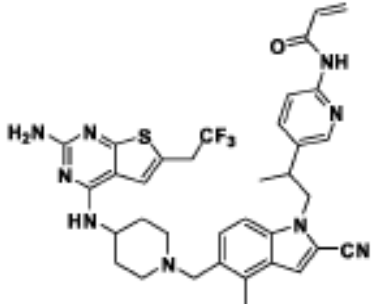
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
74*			
75*			
76*			
77*			
78*			

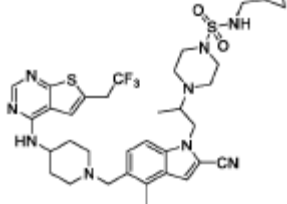
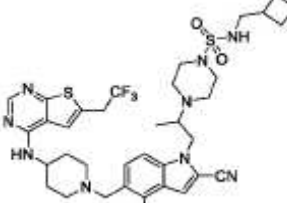
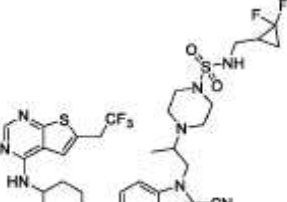
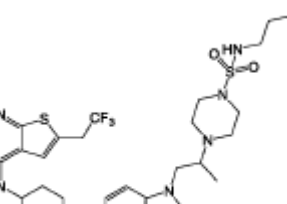
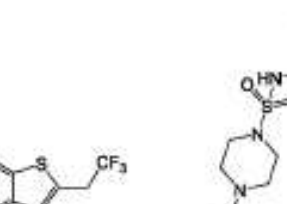
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
79*			
80*			
81*			
82*			
83*			

N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
84*			
85*			
86*			
87*		717,29	718,35 [M+H] ⁺
88*			

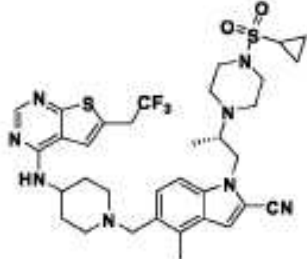
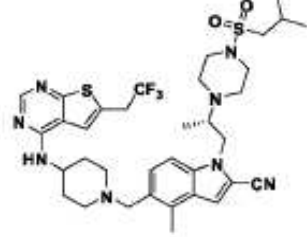
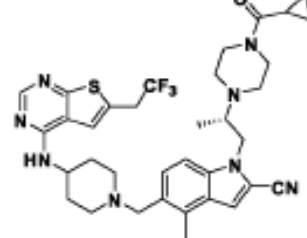
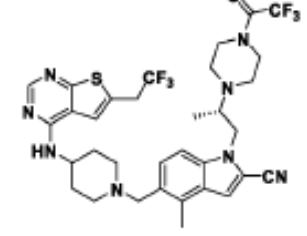
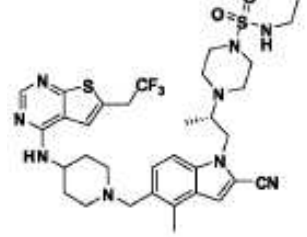
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
89*		717,29	718,25 [M+H] ⁺
90*			
91*			
92*			
93*		672,26	673,2667
94*		714,27	715,2 [M+H] ⁺

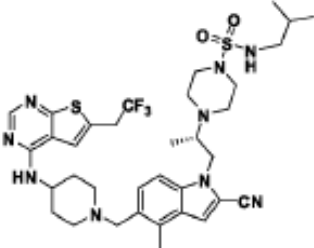
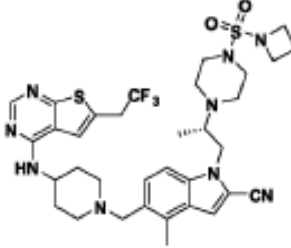
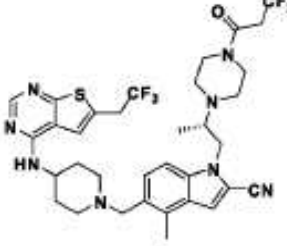
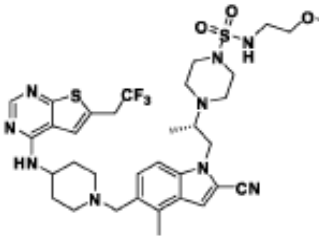
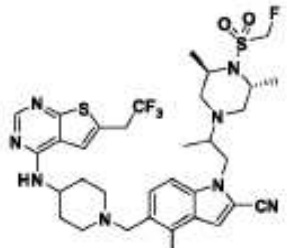
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
95*			
96*			
97*			
98*			
99*			

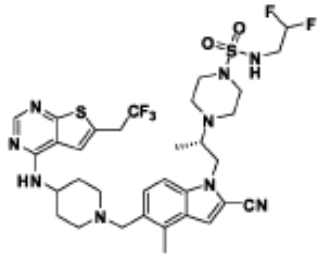
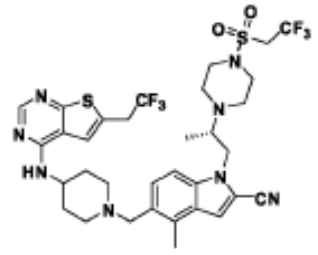
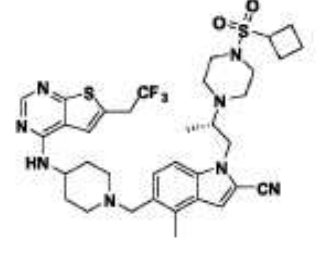
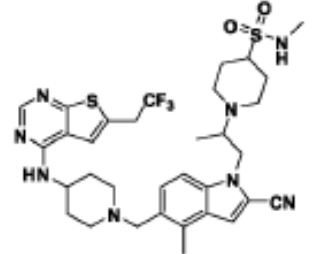
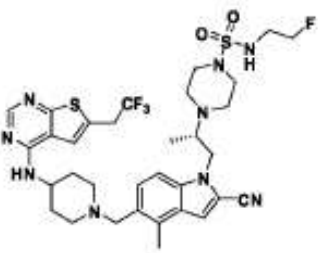
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
100*			
101*			
102*			
103*			
104*			

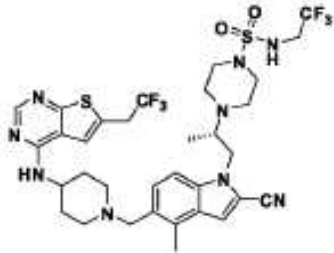
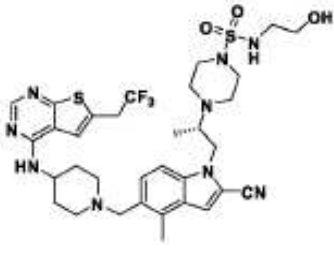
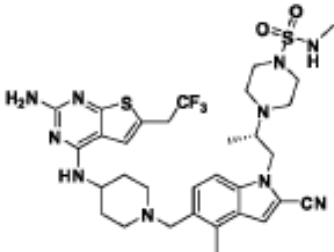
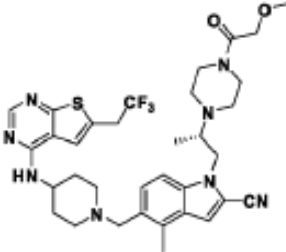
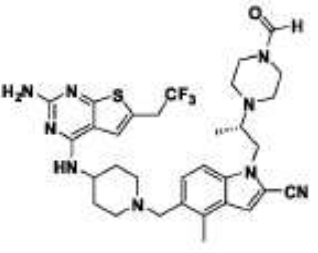
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
105*			
106*			
107*			
108*			
109*			

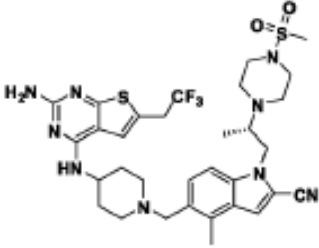
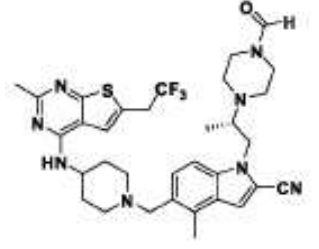
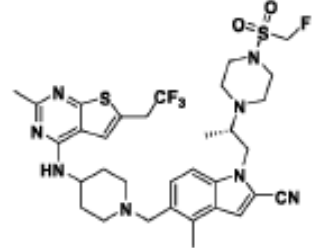
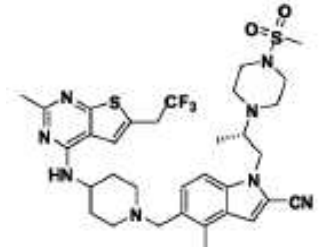
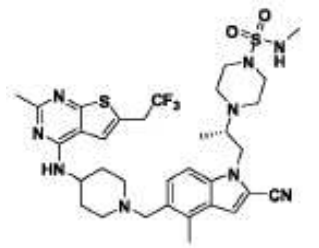
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
110*	<p>Chemical structure of compound 110*: A complex molecule featuring a central indole ring system. The indole ring is substituted with a methyl group at the 2-position and a nitrile group at the 3-position. The 4-position of the indole ring is connected via a methylene bridge to a piperidine ring. The 5-position of the indole ring is connected via a methylene bridge to a benzothiazole ring system. The benzothiazole ring has a trifluoromethyl group (-CF₃) at the 4-position and a hydrogen atom at the 5-position. The nitrogen atom of the benzothiazole ring is connected to a piperidine ring. The nitrogen atom of the piperidine ring is connected to a piperazine ring. The nitrogen atom of the piperazine ring is connected to a sulfonamide group (-SO₂NH-), which is further connected to a cyclopentane ring.</p>		
111*	<p>Chemical structure of compound 111*: Similar to compound 110*, but the sulfonamide group (-SO₂NH-) is connected to a morpholine ring instead of a cyclopentane ring.</p>		
112*	<p>Chemical structure of compound 112*: Similar to compound 110*, but the sulfonamide group (-SO₂NH-) is connected to a 1,2,4-triazole ring instead of a cyclopentane ring.</p>		
113*	<p>Chemical structure of compound 113*: Similar to compound 110*, but the sulfonamide group (-SO₂NH-) is connected to a furfuryl group (2-furylmethyl) instead of a cyclopentane ring.</p>		
114*	<p>Chemical structure of compound 114*: Similar to compound 110*, but the sulfonamide group (-SO₂NH-) is connected to a thiazole ring instead of a cyclopentane ring.</p>		

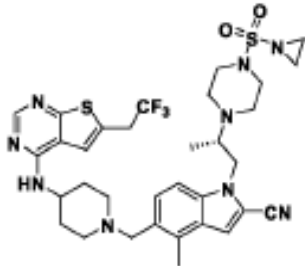
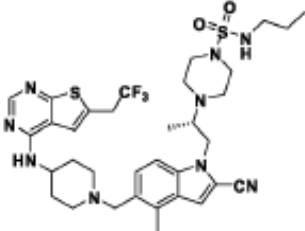
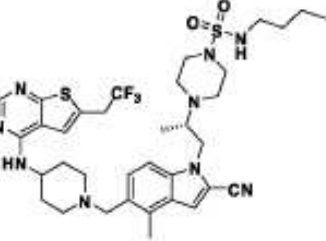
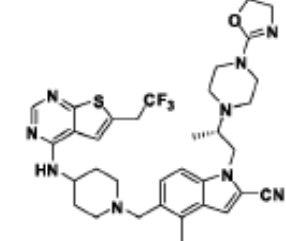
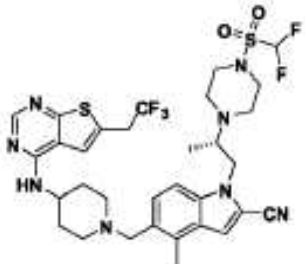
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
115*		714,27	715,45 [M+H] ⁺
116*		730,31	731,50 [M+H] ⁺
117*		678,31	679,50 [M+H] ⁺
118*		706,26	707,40 [M+H] ⁺
119*		717,29	718,25 [M+H] ⁺

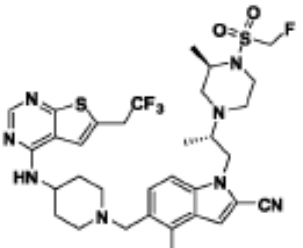
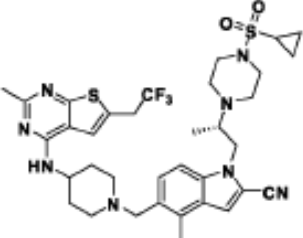
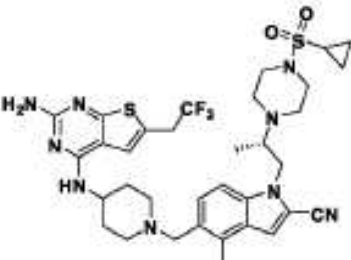
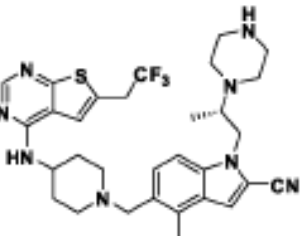
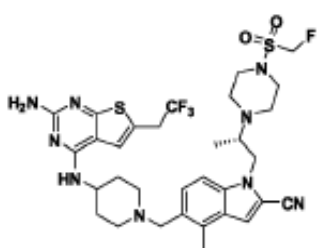
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
120*		745,32	746,30 [M+H] ⁺
121*		729,29	730,45 [M+H] ⁺
122*		720,28	721,40 [M+H] ⁺
123*		747,30	748,45 [M+H] ⁺
124*		734,28	735,2 [M+H] ⁺

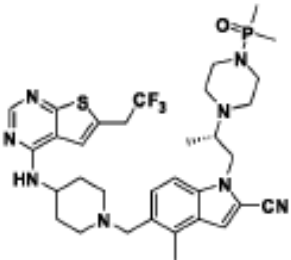
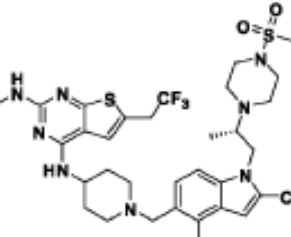
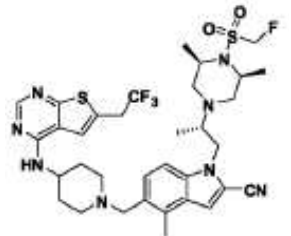
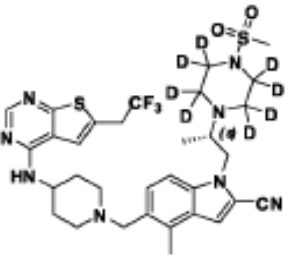
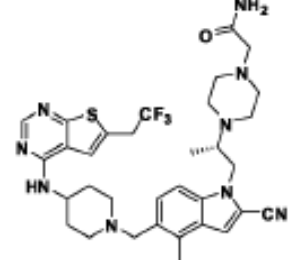
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
125*		753,27	754,45 [M+H] ⁺
126*		756,25	757,35 [M+H] ⁺
127*		728,29	729,45 [M+H] ⁺
128*		702,27	703,35 [M+H] ⁺
129*		735,28	736,40 [M+H] ⁺

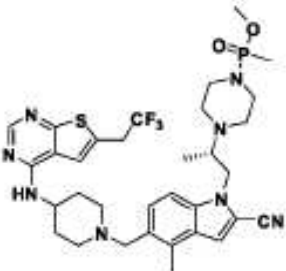
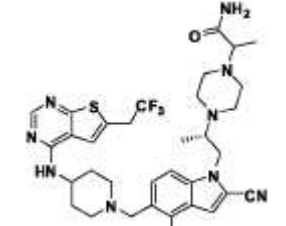
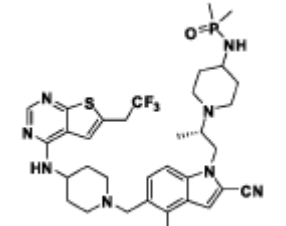
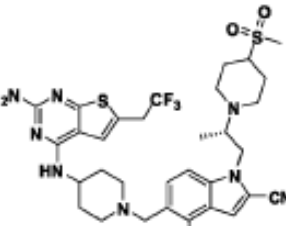
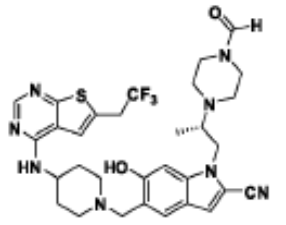
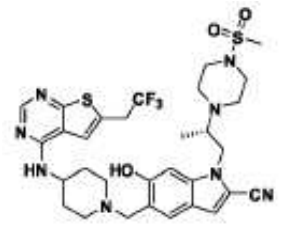
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
130*		771,26	772,40 [M+H] ⁺
131*		733,28	734,45 [M+H] ⁺
132		718,28	719,45 [M+H] ⁺
133*		682,30	683,50 [M+H] ⁺
134		653,29	654,40 [M+H] ⁺

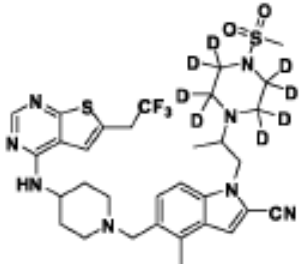
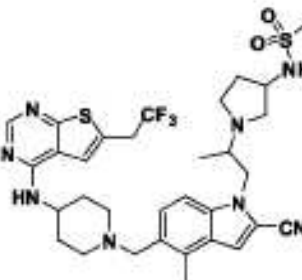
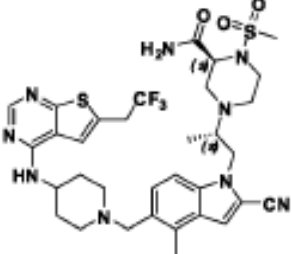
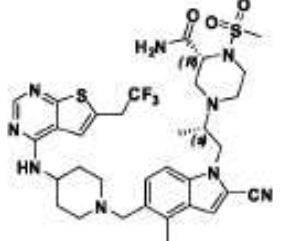
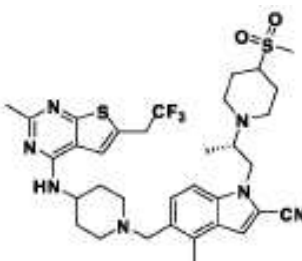
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
135		703,27	704,40 [M+H] ⁺
136		652,29	653,45 [M+H] ⁺
137		720,27	721,45 [M+H] ⁺
138		702,27	703,50 [M+H] ⁺
139		717,29	718,50 [M+H] ⁺

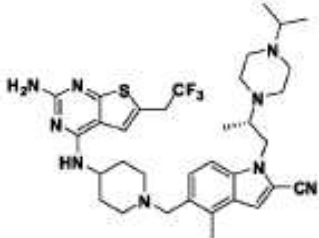
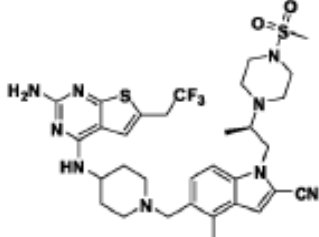
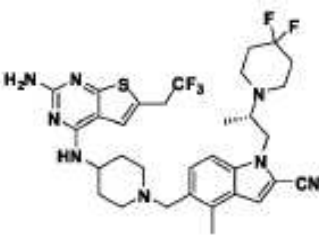
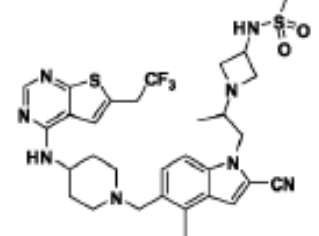
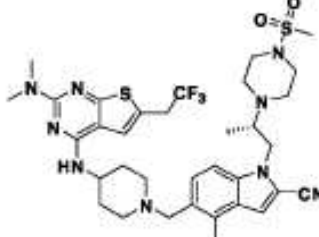
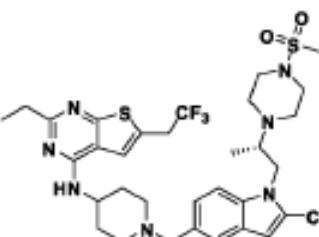
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
140*		715,27	716,40 [M+H] ⁺
141*		731,30	732,45 [M+H] ⁺
142*		745,32	746,40 [M+H] ⁺
143*		679,30	680,50 [M+H] ⁺
144*		724,24	725,40 [M+H] ⁺

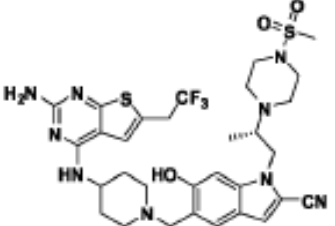
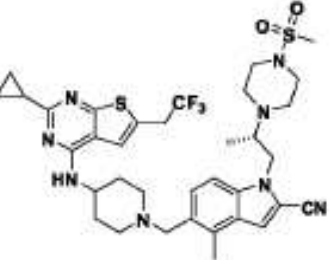
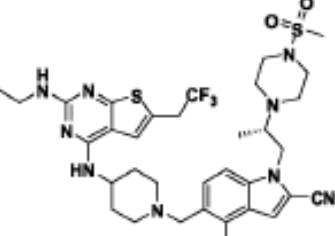
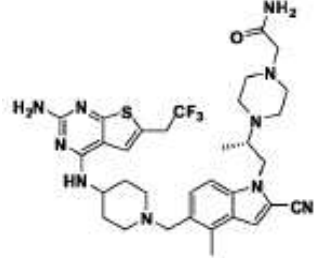
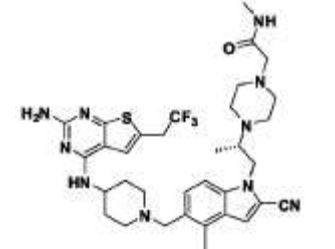
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
145*		720,27	721,45 [M+H] ⁺
146		728,29	729,45 [M+H] ⁺
147		729,29	730,40 [M+H] ⁺
148*		610,28	611,3 [M+H] ⁺
149		721,26	722,45 [M+H] ⁺

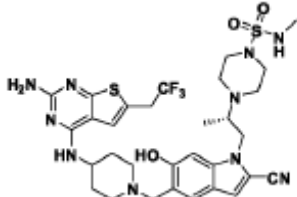
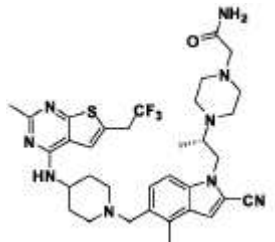
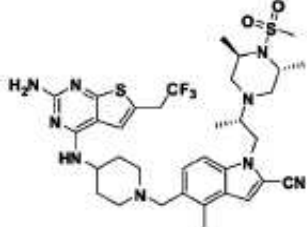
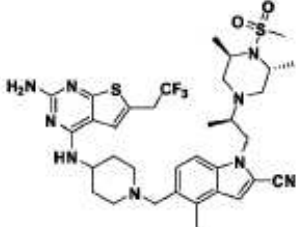
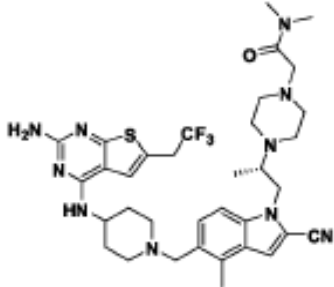
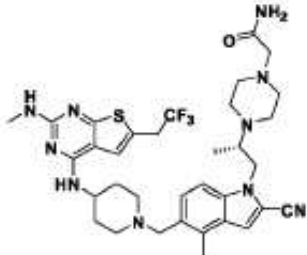
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
150*		686,29	687,3 [M+H] ⁺
151		717,29	718,55 [M+H] ⁺
152*		734,28	735,40 [M+H] ⁺
153*		696,31	
154*		667,30	668,35 [M+H] ⁺

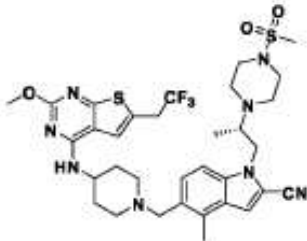
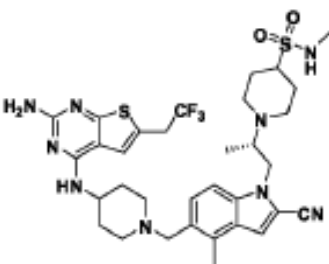
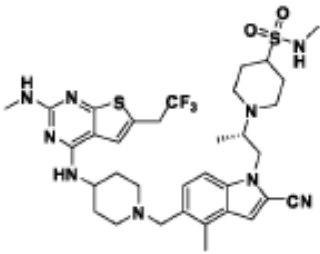
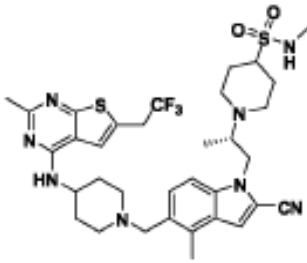
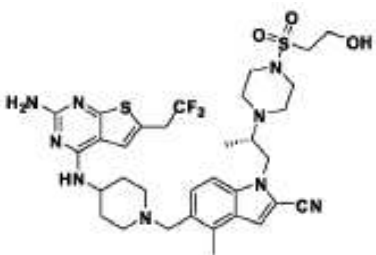
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
155*		702,28	703,35 [M+H] ⁺
156*		681,32	682,45 [M+H] ⁺
157*		700,30	701,40 [M+H] ⁺
158		702,27	703,40 [M+H] ⁺
159*		640,26	641,40 [M+H] ⁺
160*		690,24	691,35 [M+H] ⁺

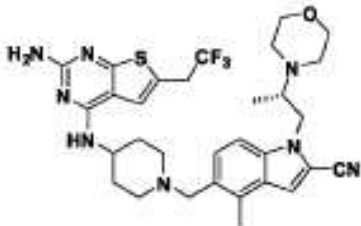
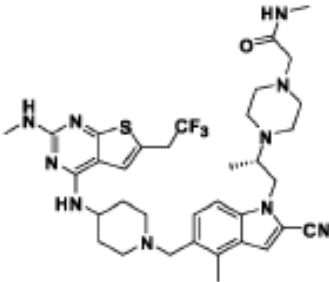
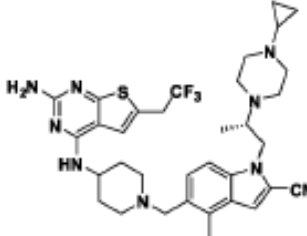
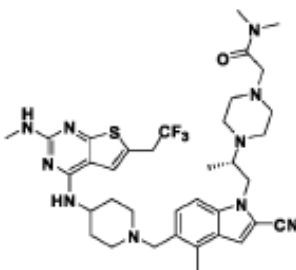
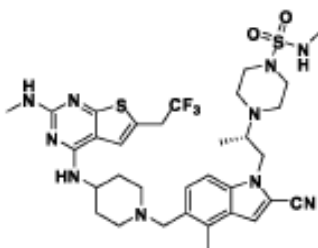
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
161*		696,31	697,3 [M+H] ⁺
162*		659,23	660,2 [M+H] ⁺
163*		731,26	732,40 [M+H] ⁺
164*		731,26	732,35 [M+H] ⁺
165		701,28	702,40 [M+H] ⁺

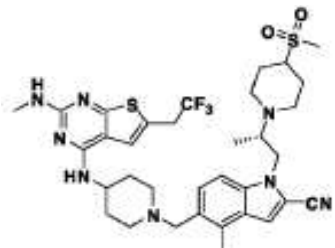
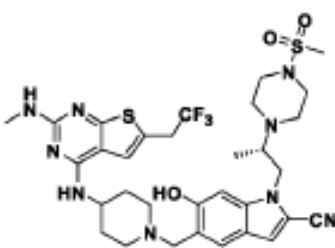
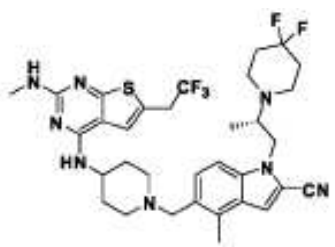
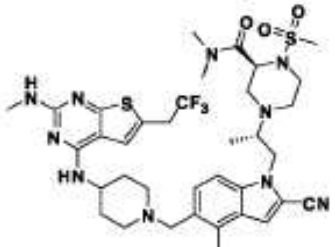
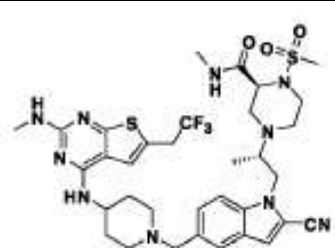
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
166		667,34	668,45 [M+H] ⁺
167		703,27	704,40 [M+H] ⁺
168*		660,28	661,40 [M+H] ⁺
169*		674,24	
170		731,30	732,40 [M+H] ⁺
171		716,29	717,45 [M+H] ⁺

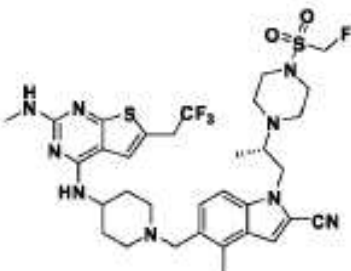
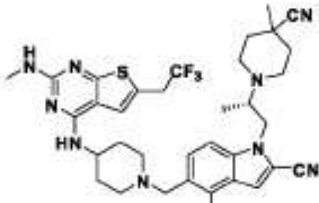
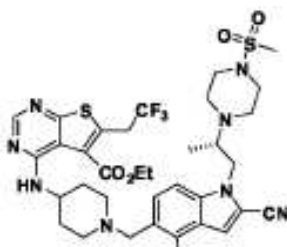
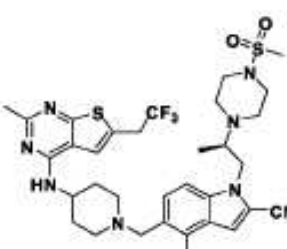
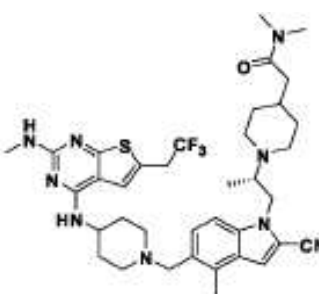
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
172		705,25	706,45 [M+H] ⁺
173*		728,29	729,45 [M+H] ⁺
174		731,30	732,45 [M+H] ⁺
175*		682,31	683,45 [M+H] ⁺
176*		696,33	697,60 [M+H] ⁺

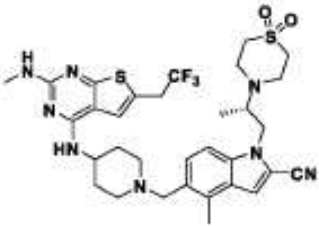
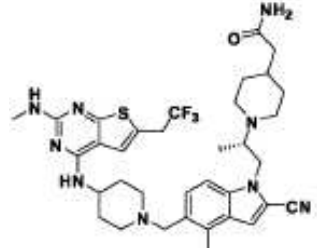
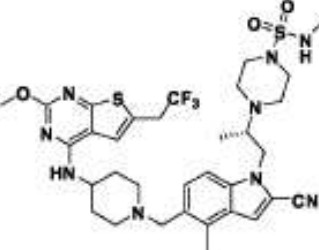
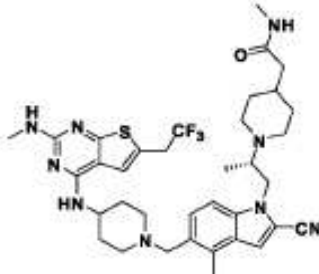
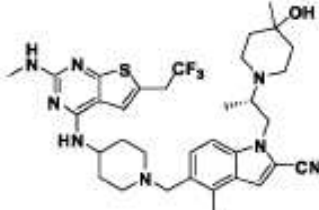
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
177		720,26	721,50 [M+H] ⁺
178*		681,32	682,45 [M+H] ⁺
179		731,30	732,50 [M+H] ⁺
180		731,30	732,50 [M+H] ⁺
181*		710,35	711,50 [M+H] ⁺
182*		696,33	697,60 [M+H] ⁺

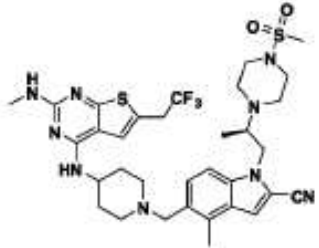
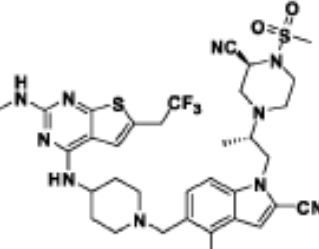
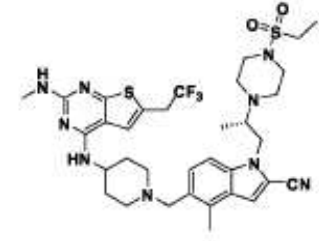
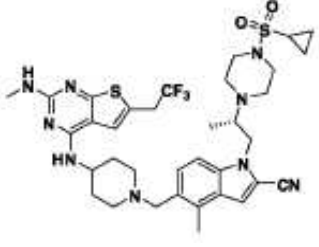
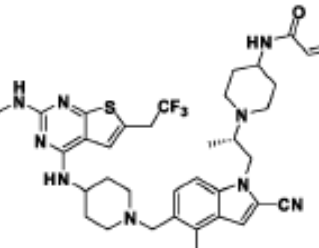
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
183		718,27	719,45 [M+H] ⁺
184		717,29	718,45 [M+H] ⁺
185		731,30	732,45 [M+H] ⁺
186		716,29	717,45 [M+H] ⁺
187		733,28	734,45 [M+H] ⁺

N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
188*		626,28	627,40 [M+H] ⁺
189*		710,35	711,45 [M+H] ⁺
190*		665,32	666,45 [M+H] ⁺
191*		724,36	725,45 [M+H] ⁺
192		732,30	733,45 [M+H] ⁺

N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
193		716,29	717,45 [M+H] ⁺
194		719,26	720,55 [M+H] ⁺
195*		674,29	675,50 [M+H] ⁺
196		788,32	789,45 [M+H] ⁺
197		774,31	775,3 [M+H] ⁺

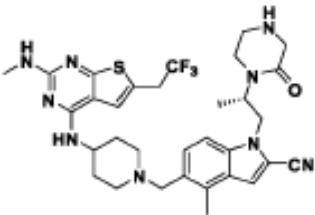
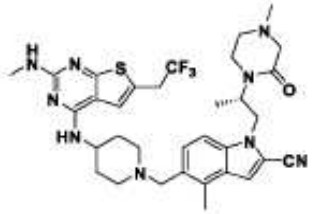
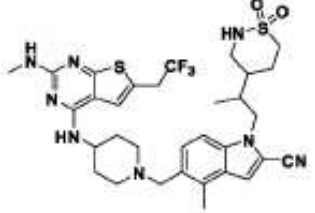
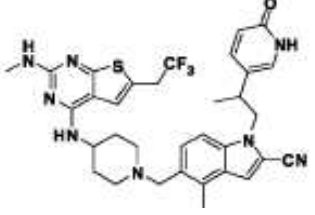
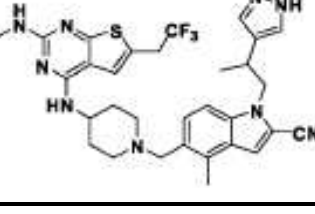
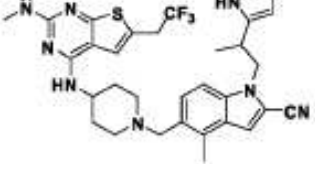
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
198		735,28	736,45 [M+H] ⁺
199*		677,32	678,55 [M+H] ⁺
200*		760,28	761,40 [M+H] ⁺
201		702,27	703,45 [M+H] ⁺
202*		723,37	724,55 [M+H] ⁺

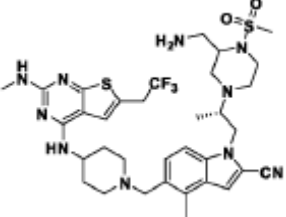
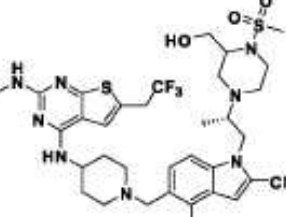
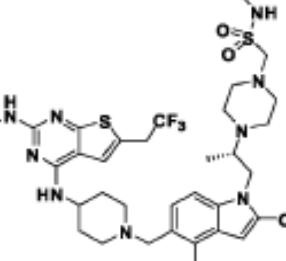
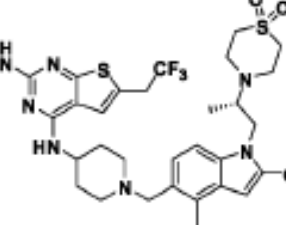
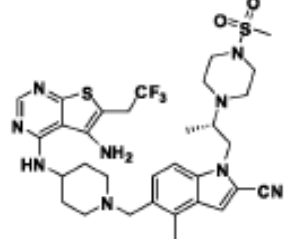
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
203*		688,26	689,40 [M+H] ⁺
204*		695,33	696,60 [M+H] ⁺
205		733,28	734,55 [M+H] ⁺
206*		709,35	710,55 [M+H] ⁺
207*		668,32	669,55 [M+H] ⁺

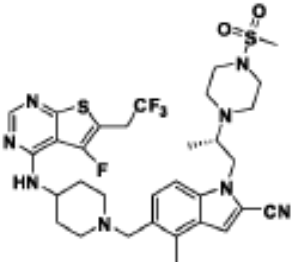
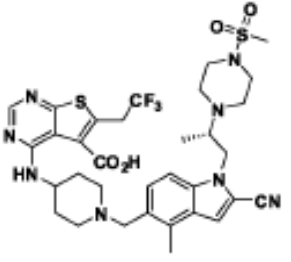
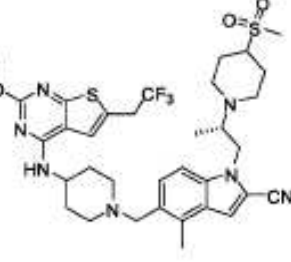
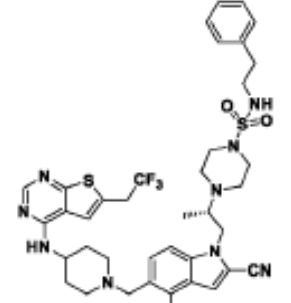
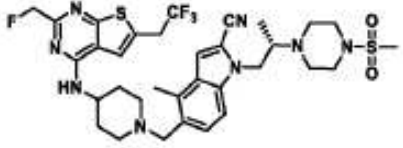
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
208		717,29	718,40 [M+H] ⁺
209*		742,28	743,40 [M+H] ⁺
210		731,30	732,40 [M+H] ⁺
211		743,30	744,40 [M+H] ⁺
212*		707,33	708,45 [M+H] ⁺

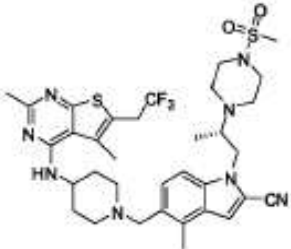
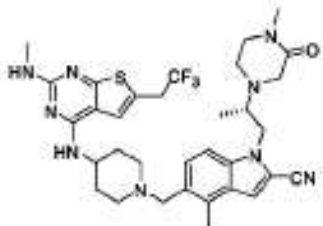
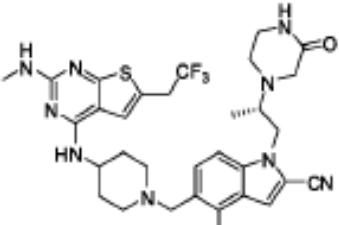
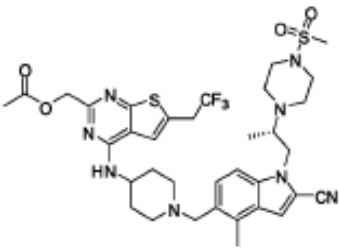
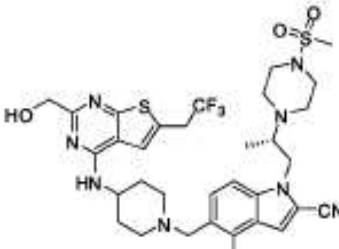
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
213*	<p>The structure of compound 213* features a central piperazine ring. One nitrogen of the piperazine is substituted with a 2-methyl-5-(trifluoromethyl)-1,3,4-thiazol-5-ylamino group. The other nitrogen is substituted with a 2-cyano-1-methyl-5-(2-methyl-5-(trifluoromethyl)-1,3,4-thiazol-5-ylamino)phenylamino group. A propylamide chain is attached to the piperazine ring.</p>	709,35	710,50 [M+H] ⁺
214	<p>The structure of compound 214 is similar to 213* but features a methoxy group on the thiazole ring and a methylsulfonamide group attached to the piperazine ring.</p>	732,29	733,40 [M+H] ⁺
215*	<p>The structure of compound 215* is similar to 213* but features a morpholine ring instead of a propylamide chain.</p>	711,33	712,45 [M+H] ⁺
216*	<p>The structure of compound 216* is similar to 215* but features a primary amide group on the morpholine ring.</p>	683,30	684,45 [M+H] ⁺
217*	<p>The structure of compound 217* is similar to 215* but features a methyl group on the morpholine ring.</p>	697,31	698,3 [M+H] ⁺

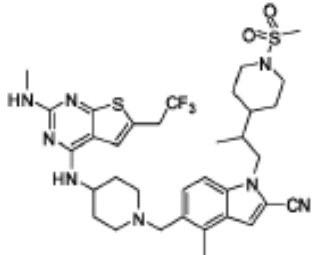
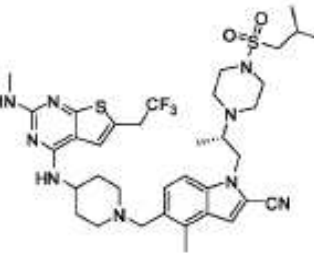
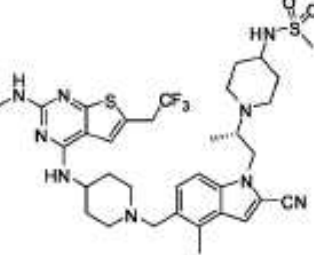
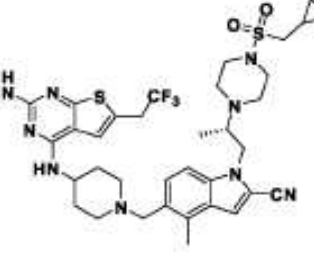
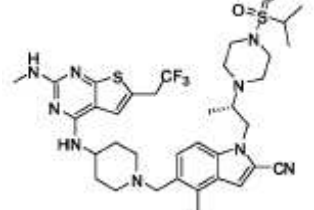
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
218*	<p>Chemical structure of compound 218*: A complex molecule featuring a thiazole ring substituted with a methylamino group and a trifluoromethyl group. This thiazole is linked via its 2-position to a piperidine ring. The piperidine ring is further connected to a benzimidazole core, which has a methyl group at the 2-position and a cyano group at the 3-position. A piperazine ring is attached to the benzimidazole core via its nitrogen atom, and this piperazine ring is substituted with a methyl group and a sulfonamide group (-SO₂Me).</p>		
219*	<p>Chemical structure of compound 219*: Similar to 218*, but the piperazine ring is substituted with a methyl group and a sulfonamide group (-SO₂Me) at the 4-position, and the piperidine ring is substituted with a methyl group at the 2-position.</p>	673,25	674,2 [M+H] ⁺
220*	<p>Chemical structure of compound 220*: Similar to 218*, but the piperazine ring is substituted with a methyl group and a methylamino group (-NHMe) at the 4-position, and the piperidine ring is substituted with a methyl group at the 2-position.</p>	694,34	695,50 [M+H] ⁺
221*	<p>Chemical structure of compound 221*: Similar to 218*, but the piperazine ring is substituted with a methyl group and a methylamino group (-NHMe) at the 4-position, and the piperidine ring is substituted with a methyl group at the 2-position.</p>	708,35	709,50 [M+H] ⁺
222	<p>Chemical structure of compound 222*: Similar to 218*, but the thiazole ring is substituted with a fluorine atom at the 4-position and a trifluoromethyl group at the 5-position. The piperazine ring is substituted with a methyl group and a sulfonamide group (-SO₂Me) at the 4-position, and the piperidine ring is substituted with a methyl group at the 2-position.</p>	706,25	707,2561

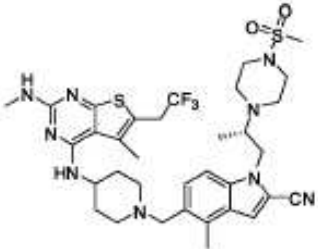
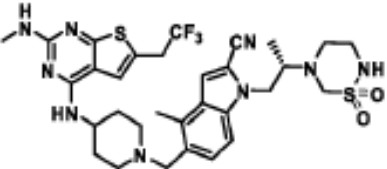
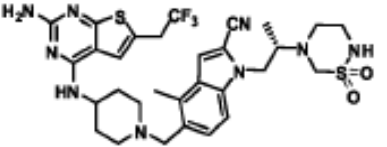
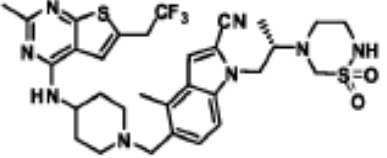
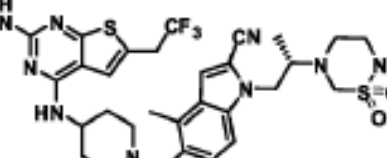
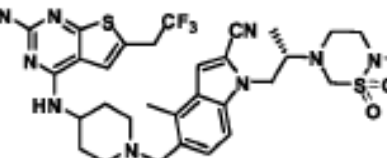
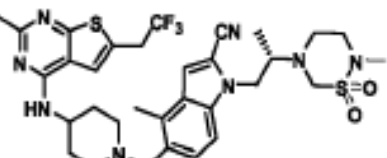
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
225			
226			
228*			
229*		648,26	
230*		621,26	622,2 [M+H] ⁺
231*			

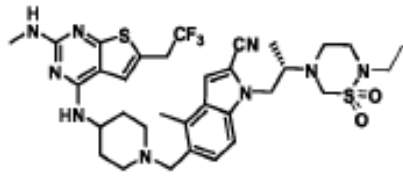
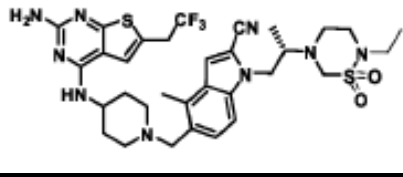
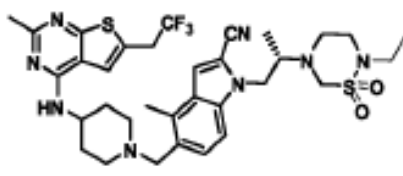
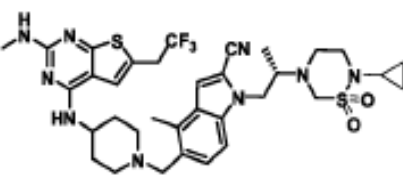
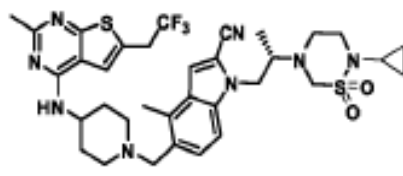
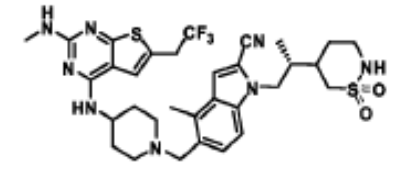
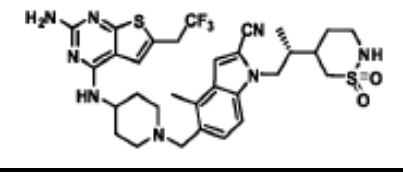
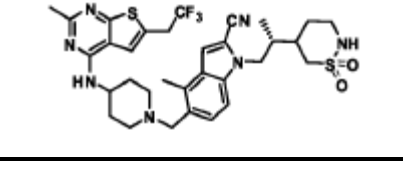
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
232*			
233*			
234*			
235*		688,26	689,40 [M+H] ⁺
236*			

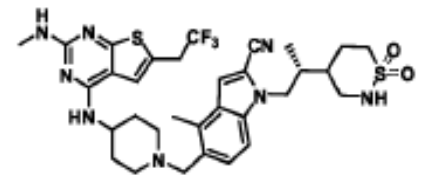
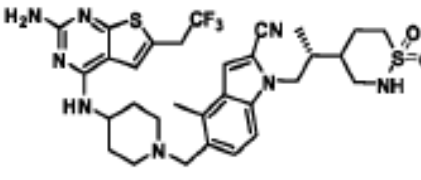
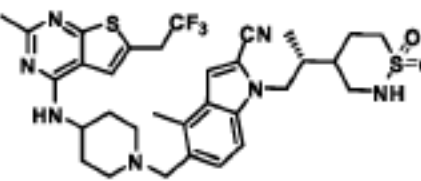
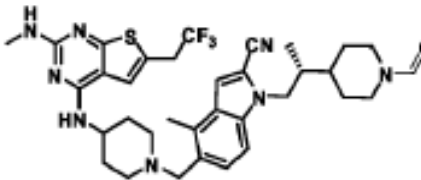
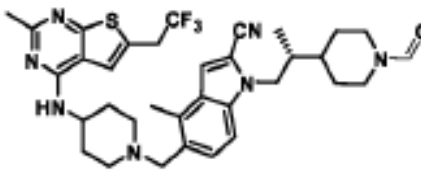
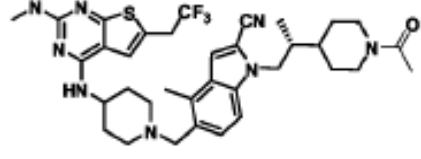
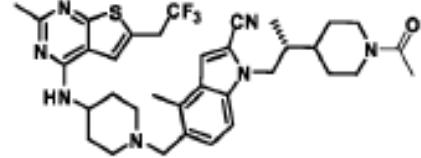
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
237*			
238*			
239		717,27	718,45 [M+H] ⁺
240*		793,32	794,3244
241		720,27	721,35

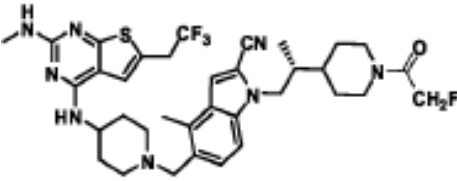
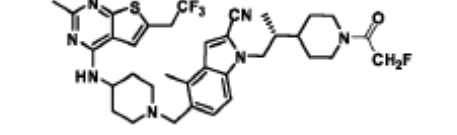
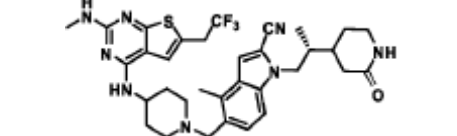
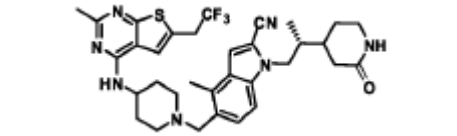
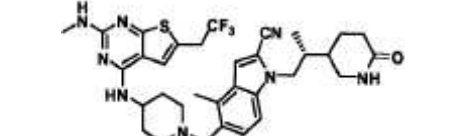
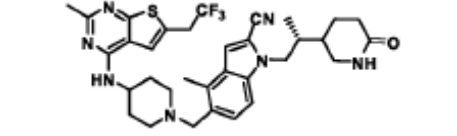
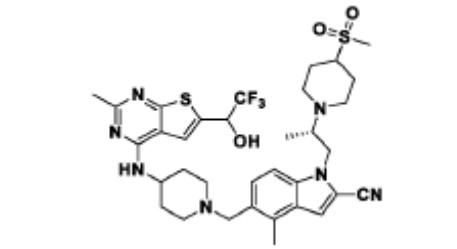
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
242		716,29	717,3 [M+H] ⁺
243		667,30	668,45 [M+H] ⁺
244		653,29	654,45 [M+H] ⁺
245		760,28	761,2872
246		718,27	719,2776

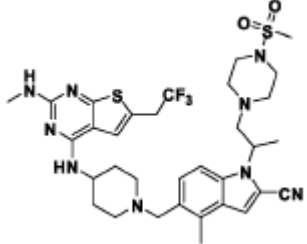
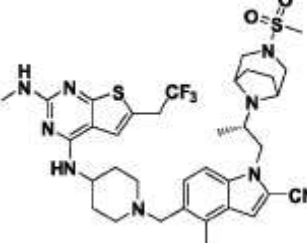
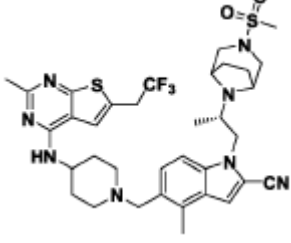
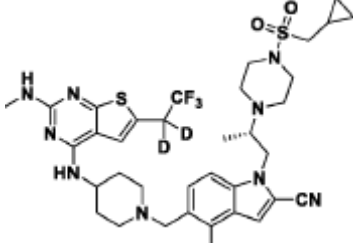
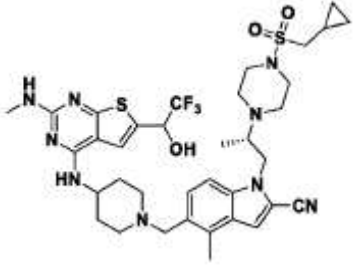
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
247		716,29	717,56 [M+H] ⁺
248		759,33	760,50 [M+H] ⁺
249		731,30	732,45 [M+H] ⁺
250			
251		745,32	746,3 [M+H] ⁺

N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
252		731,30	732,3 [M+H] ⁺
253*			
254*			
255*			
256*			
257*			
258*			

N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
259*			
260*			
261*			
262*			
263*			
264*			
265*			
266*			

N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
267*			
268*			
269*			
270			
271			
272			
273			

N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
274			
275			
276			
277			
278			
279			
280*		717,27	718,2 [M+H] ⁺

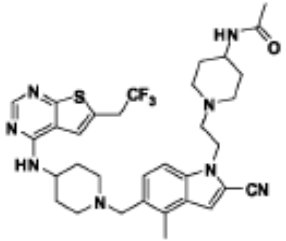
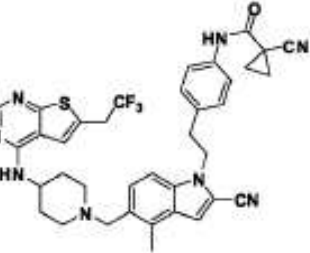
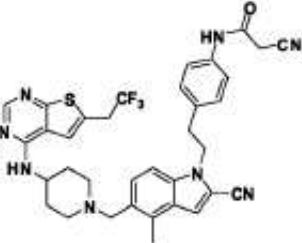
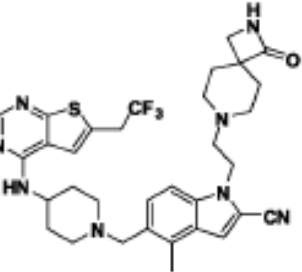
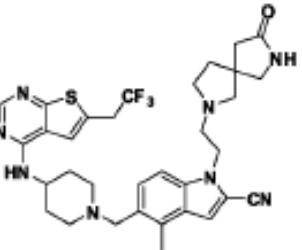
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
281		635,27	636,27 [M+H] ⁺
282		743,30	744,31 [M+H] ⁺
283		728,29	729,30 [M+H] ⁺
284			
285*			

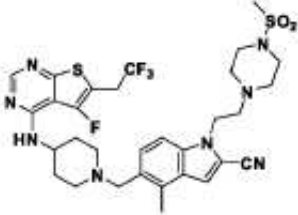
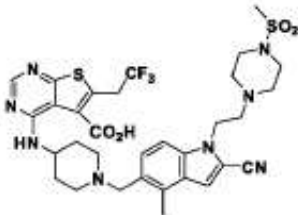
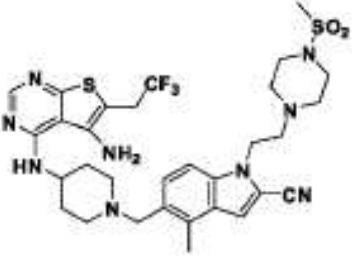
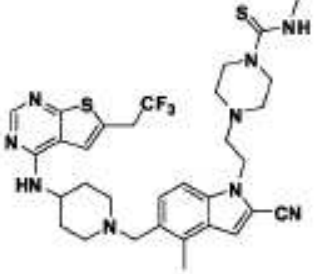
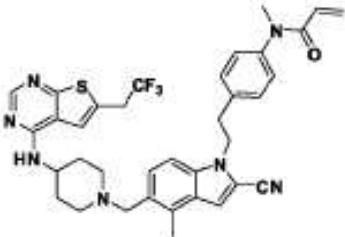
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
286			
287			
288*			
* composto di riferimento.			

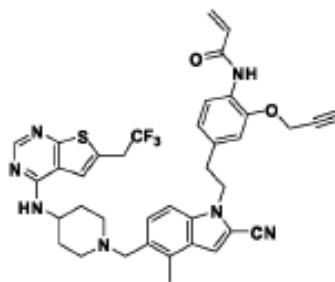
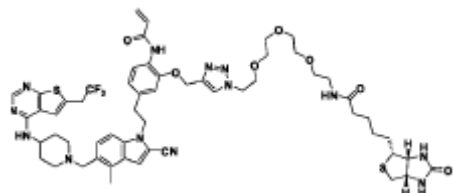
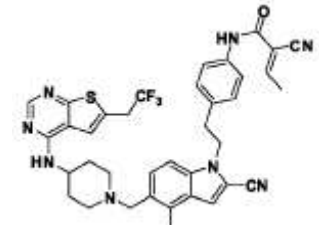
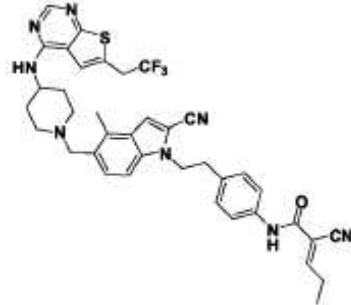
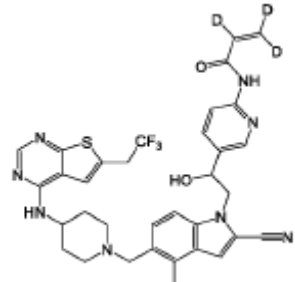
I composti della **Tabella 2** sono forniti soltanto per riferimento come indicato dal fatto che ciascun composto è contrassegnato con un asterisco "*".

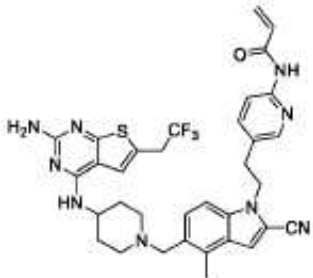
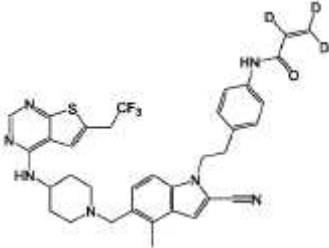
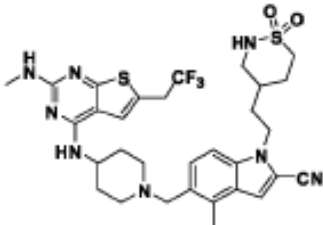
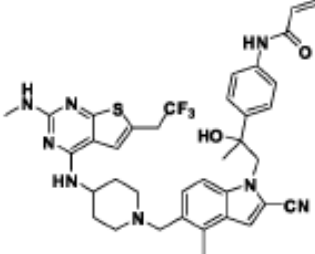
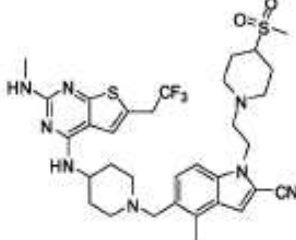
Tabella 2

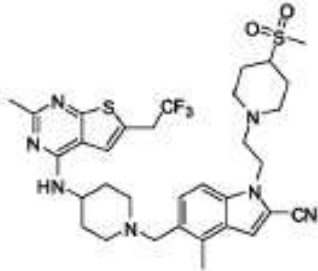
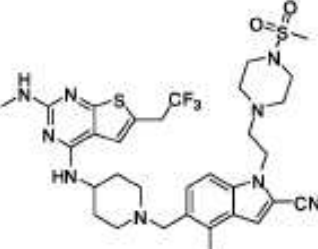
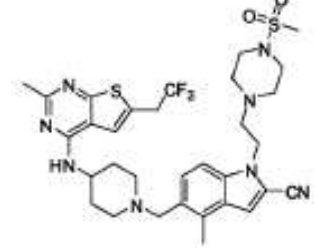
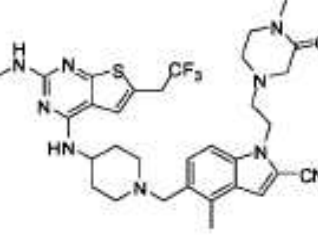
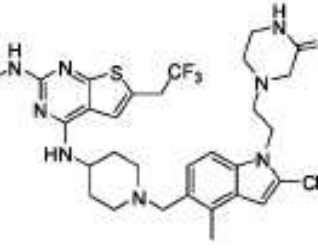
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
1000*			

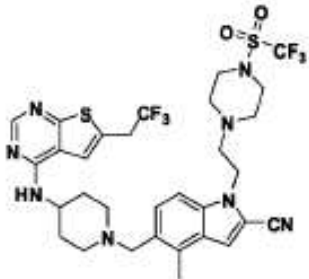
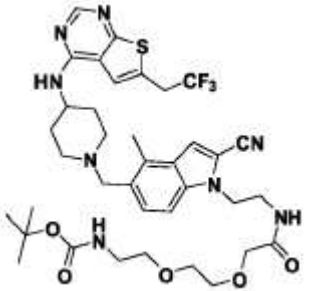
N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
1001*			
1002*			
1003*			
1004*			
1005*			

N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
1006*			
1007*			
1008*			
1009*			
1010*			

N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
1011*			
1012*			
1013*			
1014*			
1015*			

N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
1016*		673,26	337,6 [M+2H] ²⁺
1017*			
1018*			
1019*			
1020*			

N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
1021*			
1022*			
1023*			
1024*			
1025*			

N.	Struttura	MW (calcolato)	m/z (trovato)
1026*			
1027*			
* composto di riferimento.			

Composizioni farmaceutiche

Le composizioni e i metodi della presente divulgazione possono essere usati per trattare un individuo che ne ha necessità. In determinate forme di realizzazione, l'individuo è un mammifero come un essere umano, o un mammifero non umano. Quando somministrato a un animale, come un essere umano, la composizione o il composto viene preferibilmente somministrato come composizione farmaceutica comprendente, per esempio, un composto o sale di Formula (II-A) e un carrier farmaceuticamente accettabile.

In alcune forme di realizzazione, la composizione farmaceutica viene formulata per la somministrazione orale. In altre forme di realizzazione, la composizione farmaceutica viene formulata per iniezione. In ancora più forme di realizzazione, le composizioni

farmaceutiche comprendono un composto come divulgato nella presente e un agente terapeutico aggiuntivo (per esempio, un agente anticancro). Esempi non limitanti di tali agenti terapeutici sono descritti nella presente di seguito.

Vie di somministrazione idonee includono, in via non limitativa somministrazione orale, endovenosa, rettale, per aerosol, parenterale, oftalmica, polmonare, transmucosale, transdermica, vaginale, auricolare, nasale e topica. Inoltre, soltanto a titolo di esempio, il rilascio parenterale include iniezioni intramuscolari, sottocutanee, endovenose, intramidollari, nonché iniezioni intratecali, intraventricolari dirette, intraperitoneali, intralinfatiche e intranasali.

In determinate forme di realizzazione, una composizione di un composto o sale di Formula (II-A) viene somministrata in modo locale piuttosto che sistemico, per esempio, tramite iniezione del composto direttamente in un organo, spesso in una preparazione di deposito o in una formulazione a rilascio prolungato. In forme di realizzazione specifiche, le formulazioni ad azione prolungata vengono somministrate mediante impianto (per esempio, per via sottocutanea o intramuscolare) o mediante iniezione intramuscolare. Inoltre, in altre forme di realizzazione, un composto o sale di Formula (II-A) viene rilasciato in un sistema di rilascio mirato di farmaci, per esempio, in un liposoma rivestito con anticorpo specifico per organo. In tali forme di realizzazione, i liposomi sono mirati e assorbiti selettivamente dall'organo. In ancora altre forme di realizzazione,

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

la composizione è fornita sotto forma di una formulazione a rilascio rapido, sotto forma di una formulazione a rilascio prolungato o sotto forma di una formulazione a rilascio intermedio. Ancora in altre forme di realizzazione, la composizione viene somministrata per via topica.

Il composto di formula (II-A), o un relativo sale farmaceuticamente accettabile, può essere efficace su un ampio intervallo di dosaggio. Per esempio, nel trattamento di esseri umani adulti, dosaggi da 0,01 a 1000 mg al giorno, da 0,5 a 100 mg al giorno, da 1 a 50 mg al giorno e da 5 a 40 mg al giorno sono esempi di dosaggi che possono essere usati in alcune forme di realizzazione. Il dosaggio esatto dipenderà dalla via di somministrazione, dalla forma in cui viene somministrato il composto, dal soggetto da trattare, dal peso corporeo del soggetto da trattare e dalle preferenze e dall'esperienza del medico curante.

In alcune forme di realizzazione, un composto o sale di Formula (II-A) viene somministrato in una singola dose. Tipicamente, tale somministrazione avverrà mediante iniezione, per esempio, iniezione endovenosa, al fine di introdurre rapidamente l'agente. Tuttavia, altri percorsi sono usati a seconda dei casi. In alcune forme di realizzazione, una singola dose di un composto o di un sale di Formula (II-A) viene usata per il trattamento di una condizione acuta.

In alcune forme di realizzazione, un composto o sale di Formula (II-A) viene somministrato in dosi multiple. In alcune forme di

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

realizzazione, il dosaggio è circa una, due, tre volte, quattro volte, cinque volte, sei volte o più di sei volte al giorno. In altre forme di realizzazione, il dosaggio è di circa una volta al mese, una volta ogni due settimane, una volta alla settimana o una volta ogni due giorni. In un'altra forma di realizzazione, un composto o sale di Formula (II-A) e un altro agente vengono somministrati insieme da circa una volta al giorno a circa 6 volte al giorno. In un'altra forma di realizzazione, la somministrazione di un composto o sale di Formula (II-A) e di un agente continua per meno di circa 7 giorni. In ancora un'altra forma di realizzazione, la co-somministrazione continua per più di circa 6 giorni, più di circa 10 giorni, più di circa 14 giorni, più di circa 28 giorni, più di circa due mesi, più di circa sei mesi o un anno o più. In alcuni casi, il dosaggio continuo viene raggiunto e mantenuto per tutto il tempo necessario.

La somministrazione di un composto o di un sale di Formula (II-A) può continuare per tutto il tempo necessario. In alcune forme di realizzazione, un composto della divulgazione viene somministrato per più di 1, più di 2, più di 3, più di 4, più di 5, più di 6, più di 7, più di 14 o più di 28 giorni. In alcune forme di realizzazione, un composto della divulgazione viene somministrato per 28 giorni o meno, per 14 giorni o meno, per 7 giorni o meno, per 6 giorni o meno, per 5 giorni o meno, per 4 giorni o meno, per 3 giorni o meno, per 2 giorni o meno o per 1 giorno o parte di esso. In alcune forme di realizzazione, un composto o sale di Formula (II-A) viene somministrato cronicamente su base continuativa, per esempio, per il

Marco Giovanni Mari
USM-CPT-090

trattamento di effetti cronici.

In alcune forme di realizzazione, un composto o sale di Formula (II-A) viene somministrato in dosaggi. È noto nel settore che a causa della variabilità interindividuale nella farmacocinetica dei composti, è necessaria l'individualizzazione del regime di dosaggio per una terapia ottimale. Il dosaggio per un composto o sale di Formula (II-A) può essere riscontrato mediante sperimentazione di routine alla luce della presente divulgazione.

In alcune forme di realizzazione, un composto o un sale di formula (II-A) è formulato in composizioni farmaceutiche. In forme di realizzazione specifiche, le composizioni farmaceutiche sono formulate in modo convenzionale usando uno o più carrier fisiologicamente accettabili comprendenti eccipienti e ausiliari che facilitano la lavorazione dei composti attivi in preparazioni che possono essere usate farmaceuticamente. La formulazione appropriata dipende dalla via di somministrazione selezionata. Qualsiasi tecnica, carrier ed eccipiente farmaceuticamente accettabile viene usato come adatto per formulare le composizioni farmaceutiche descritte nella presente: Remington: The Science and Practice of Pharmacy, diciannovesima Ed (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Pharmaceutical Sciences di Hoover, John E., Remington, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975; Liberman, H.A. e Lachman, L., Ed., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980; e Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, settima Ed. (Lippincott Williams & Wilkins 1999).

Marco Giovanni Mari
USM 090

Nella presente sono fornite composizioni farmaceutiche comprendenti un composto o sale di Formula (II-A) e uno o più diluenti, uno o più eccipienti o uno o più carrier farmaceuticamente accettabili. In determinate forme di realizzazione, i composti o i sali descritti vengono somministrati come composizioni farmaceutiche in cui un composto o un sale di Formula (II-A) è miscelato con altri ingredienti attivi, come nella terapia di combinazione. Nella presente sono racchiuse tutte le combinazioni di ingredienti attivi esposte nella sezione delle terapie di combinazione di seguito e in tutta questa divulgazione. In forme di realizzazione specifiche, le composizioni farmaceutiche includono uno o più composti di Formula (II-A), o un relativo sale farmaceuticamente accettabile.

Una composizione farmaceutica, come usato nella presente, si riferisce a una miscela di un composto o sale di Formula (II-A) con altri componenti chimici, come carrier, stabilizzanti, diluenti, agenti disperdenti, agenti di sospensione, agenti addensanti e/o eccipienti. In determinate forme di realizzazione, la composizione farmaceutica facilita la somministrazione del composto a un organismo. In alcune forme di realizzazione, praticando i metodi di trattamento o uso forniti nella presente, quantità terapeuticamente efficaci di un composto o sale di Formula (II-A) vengono somministrate in una composizione farmaceutica a un mammifero avente una malattia, disturbo o condizione medica da trattare. In forme di realizzazione specifiche, il mammifero è un essere umano. In determinate forme di realizzazione, le quantità terapeuticamente

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

efficaci variano in base alla gravità della malattia, all'età e alla salute relativa del soggetto, alla potenza del composto usato e ad altri fattori. Un composto o sale di Formula (II-A) può essere usato singolarmente o in combinazione con uno o più agenti terapeutici come componenti di miscele.

In una forma di realizzazione, un composto o un sale di Formula (II-A) viene formulato in una soluzione acquosa. In forme di realizzazione specifiche, la soluzione acquosa è selezionata, soltanto a titolo di esempio, da un tampone fisiologicamente compatibile, come la soluzione di Hank, la soluzione di Ringer, o un tampone salino fisiologico. In altre forme di realizzazione, un composto o sale di Formula (II-A) è formulato per la somministrazione transmucosale. In forme di realizzazione specifiche, le formulazioni transmucosali includono penetranti che sono appropriati per la barriera che deve essere permeata. In ancora altre forme di realizzazione in cui un composto o sale di Formula (II-A) è formulato per altre iniezioni parenterali, formulazioni appropriate includono soluzioni acquose o non acquose. In forme di realizzazione specifiche, tali soluzioni includono tamponi e/o eccipienti fisiologicamente compatibili.

In un'altra forma di realizzazione, un composto o un sale di Formula (II-A) è formulato per la somministrazione orale. Un composto o sale di Formula (II-A) può essere formulato combinando i composti attivi con, per esempio, carrier o eccipienti farmaceuticamente accettabili. In varie forme di realizzazione, un composto o sale di

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

Formula (II-A) è formulato in forme di dosaggio orali che includono, soltanto a titolo esemplificativo, compresse, polveri, pillole, confetti, capsule, liquidi, gel, sciroppi, elisir, impasti, sospensioni e simili.

In determinate forme di realizzazione, preparazioni farmaceutiche per uso orale vengono ottenute miscelando uno o più eccipienti solidi con un composto o sale di Formula (II-A), facoltativamente macinando la miscela risultante e lavorando la miscela di granuli, dopo aver aggiunto ausiliari adatti, se desiderato, per ottenere compresse o nuclei di confetti. In particolare, eccipienti idonei sono riempitivi come gli zuccheri, che includono lattosio, saccarosio, mannitolo o sorbitolo; preparazioni di cellulosa come: per esempio, amido di mais, amido di frumento, amido di riso, amido di patata, gelatina, gomma adragante, metilcellulosa, cellulosa microcristallina, idrossipropilmetilcellulosa, carbossimetilcellulosa sodica; o altri come: polivinilpirrolidone (PVP o povidone) o fosfato di calcio. In forme di realizzazione specifiche, facoltativamente vengono aggiunti agenti disintegranti. Gli agenti disgreganti includono, soltanto a titolo esemplificativo, sodio croscarmelloso reticolato, polivinilpirrolidone, agar, o acido alginico o un relativo sale come l'alginato di sodio.

In una forma di realizzazione, le forme di dosaggio, come i confetti e le compresse, sono dotate di uno o più rivestimenti adatti. In forme di realizzazione specifiche, vengono usate soluzioni

di zucchero concentrate per rivestire la forma di dosaggio. Le soluzioni di zucchero, facoltativamente, contengono componenti aggiuntivi, quali, soltanto a titolo esemplificativo, gomma arabica, talco, polivinilpirrolidone, gel di Carbopol, polietilen glicole, e/o diossido di titanio, soluzioni di lacca, e solventi organici idonei o miscele di solvente. Anche coloranti e/o pigmenti vengono facoltativamente aggiunti ai rivestimenti a scopo di identificazione. Inoltre, i coloranti e/o i pigmenti sono facoltativamente usati per caratterizzare combinazioni differenti di dosi di composto attivo.

In determinate forme di realizzazione, una quantità terapeuticamente efficace di un composto o sale di Formula (II-A) è formulata in altre forme di dosaggio orale. Le forme di dosaggio orali includono capsule dure costituite da gelatina, nonché capsule molli sigillate costituite da gelatina e da un plastificante, come glicerolo o sorbitolo. In forme di realizzazione specifiche, le capsule push-fit contengono gli ingredienti attivi in miscela con uno o più riempitivi. I riempitivi includono, soltanto a titolo esemplificativo, lattosio, leganti come amidi, e/o lubrificanti come talco o stearato di magnesio e, facoltativamente, stabilizzanti. In altre forme di realizzazione, le capsule molli contengono uno o più composti attivi che sono disciolti o sospesi in un liquido adatto. Liquidi idonei includono, soltanto a titolo di esempio, uno o più oli grassi, paraffina liquida o polietilen glicole liquido. In aggiunta, è possibile aggiungere stabilizzanti.

In altre forme di realizzazione, una quantità terapeuticamente

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

efficace di un composto o sale di formula (II-A) è formulata per la somministrazione orale o sublinguale. Le formulazioni adatte alla somministrazione buccale o sublinguale includono, soltanto a titolo di esempio, compresse, pastiglie o gel. In ancora altre forme di realizzazione, un composto o sale di Formula (II-A) è formulato per l'iniezione parentale, incluse formulazioni adatte per l'iniezione in bolo o l'infusione continua. In forme di realizzazione specifiche, le formulazioni per iniezione sono presentate sotto forma di dosaggio unitario (per esempio, in fiale) o in contenitori multi-dose. Facoltativamente, alle formulazioni per iniezione vengono aggiunti conservanti. In ancora altre forme di realizzazione, le composizioni farmaceutiche vengono formulate in una forma idonea per l'iniezione parenterale come sospensioni, soluzioni o emulsioni sterili in veicoli oleosi o acquosi. Le formulazioni per iniezione parenterale contengono facoltativamente agenti di formulazione come agenti sospendenti, stabilizzanti e/o disperdenti. In forme di realizzazione specifiche, le formulazioni farmaceutiche per la somministrazione parenterale includono soluzioni acquose dei composti attivi in forme idrosolubili. In ulteriori forme di realizzazione, una sospensione di un composto o sale di Formula (II-A) viene preparata come sospensioni oleose per iniezione appropriate. I solventi o veicoli lipofili idonei per l'uso nelle composizioni farmaceutiche descritte nella presente includono, soltanto a titolo di esempio, oli grassi come olio di sesamo, o esteri di acidi grassi sintetici, come oleato di etile o trigliceridi, o liposomi. In determinate forme di

Marco Giovanni Mari
USM 090

realizzazione specifiche, le sospensioni acquose per iniezione contengono sostanze che aumentano la viscosità della sospensione, come sodio carbossimetilcellulosa, sorbitolo o destrano. Facoltativamente, la sospensione contiene stabilizzanti o agenti che aumentano la solubilità dei composti per permettere la preparazione di soluzioni estremamente concentrate. In determinate forme di realizzazione, il principio attivo è sotto forma di polvere per la costituzione con un veicolo idoneo, per esempio, acqua sterile priva di pirogeni, prima dell'uso.

In ancora altre forme di realizzazione, un composto o un sale di Formula (II-A) viene somministrato per via topica. Un composto o sale di Formula (II-A) può essere formulato in una varietà di composizioni somministrabili per via topica, come soluzioni, sospensioni, lozioni, gel, paste, bastoncini medicati, balsami, creme o unguenti. Tali composizioni farmaceutiche contengono facoltativamente solubilizzanti, stabilizzanti, agenti enhancer di tonicità, tamponi e conservanti.

Ancora in altre forme di realizzazione, un composto o sale di Formula (II-A) è formulato per la somministrazione transdermica. Le formulazioni transdermiche possono impiegare dispositivi di rilascio transdermico e cerotti di rilascio transdermico e possono essere emulsioni lipofile o soluzioni acquose tamponate, disciolte e/o disperse in un polimero o un adesivo. In varie forme di realizzazione, tali cerotti sono costruiti per la distribuzione continua, pulsatile, oppure su richiesta degli agenti farmaceutici.

Marco Giovanni Mari
USM 090

In ulteriori forme di realizzazione, il rilascio transdermico di un composto o di un sale di Formula (II-A) viene realizzato per mezzo di cerotti iontoforetici e simili. In determinate forme di realizzazione, i cerotti transdermici forniscono un rilascio controllato di un composto o di un sale di formula (II-A). In forme di realizzazione specifiche, la velocità di assorbimento viene rallentata usando membrane di controllo della velocità o intrappolando il composto all'interno di una matrice polimerica o gel. In forme di realizzazione alternative, gli enhancer di assorbimento vengono usati per aumentare l'assorbimento. Gli enhancer di assorbimento o carrier includono solventi farmaceuticamente accettabili assorbibili che assistono il passaggio attraverso la cute. Per esempio, in una forma di realizzazione, i dispositivi transdermici sono sotto forma di una fasciatura comprendente un elemento di carrier, un serbatoio contenente un composto o sale di Formula (II-A), facoltativamente con carrier, facoltativamente una barriera di controllo della velocità per rilasciare il composto alla cute dell'ospite a una velocità controllata e predeterminata nell'arco di un periodo di tempo prolungato, e mezzi per fissare il dispositivo alla cute.

In altre forme di realizzazione, un composto o sale di Formula (II-A) è formulato per la somministrazione per inalazione. Varie forme idonee per la somministrazione per inalazione includono, in via non limitativa, aerosol, nebbie o polveri. Composizioni farmaceutiche di un composto o sale di Formula (II-A) vengono convenientemente

Marco Giovanni Mari
USM 090

rilasciate sotto forma di una presentazione spray in aerosol da confezioni pressurizzate o un nebulizzatore, con l'uso di un propellente adatto (per esempio, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, diossido di carbonio o un altro gas adatto). In forme di realizzazione specifiche, l'unità di dosaggio di un aerosol pressurizzato viene determinata fornendo una valvola per rilasciare una quantità misurata. In determinate forme di realizzazione, vengono formulate capsule e cartucce di, per esempio, soltanto a titolo esemplificativo, gelatina per l'uso in un inalatore o insufflatore contenenti una miscela in polvere di un composto o sale di Formula (II-A) e una base in polvere idonea come lattosio o amido.

In ancora altre forme di realizzazione, un composto o sale di Formula (II-A) è formulato in composizioni rettali come clisteri, gel rettali, schiume rettali, aerosol rettali, supposte, supposte di gelatina o clisteri di ritenzione, contenenti basi per supposta convenzionali come burro di cacao o altri gliceridi, nonché polimeri sintetici come polivinilpirrolidone, PEG e simili. In forme di supposta delle composizioni, viene prima sciolta una cera bassofondente come, in via non limitativa, una miscela di gliceridi di acidi grassi, facoltativamente in combinazione con burro di cacao.

In determinate forme di realizzazione, le composizioni farmaceutiche sono formulate in qualsiasi modo convenzionale usando uno o più carrier fisiologicamente accettabili comprendenti eccipienti e ausiliari che facilitano la lavorazione dei composti

Marco Giovanni Mari
USM 090

attivi in preparazioni che possono essere usate a livello farmaceutico. La formulazione appropriata dipende dalla via di somministrazione selezionata. Eventuali tecniche, carrier, ed eccipienti farmaceuticamente accettabili possono essere usati facoltativamente come idoneo. Composizioni farmaceutiche comprendenti un composto o un sale di Formula (II-A) sono prodotte in un modo convenzionale, come, soltanto a titolo di esempio, mediante processi di miscelazione convenzionale, discioglimento, granulazione, pastigliatura, levigatura, emulsificazione, incapsulamento, intrappolamento o compressione.

Le composizioni farmaceutiche includono almeno un carrier, un diluente o un eccipiente farmaceuticamente accettabili e un composto o un sale di Formula (II-A), a volte indicato nella presente come un agente o un ingrediente attivo. L'ingrediente attivo può essere sotto forma di acido libero o base libera o in una forma di sale farmaceuticamente accettabile. Inoltre, un composto o sale di Formula (II-A) può essere in forme non solvate o solvate con solventi farmaceuticamente accettabili come acqua ed etanolo. Inoltre, le composizioni farmaceutiche includono facoltativamente altri medicinali o agenti farmaceutici, carrier, adiuvanti, come conservanti, stabilizzanti, agenti bagnanti o emulsionanti, promotori di soluzione, sali per regolare la pressione osmotica, tamponi e/o altre sostanze terapeuticamente preziose.

I metodi per la preparazione di composizioni che includono un composto o sale di Formula (II-A) includono la formulazione dei

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

composti con uno o più eccipienti o veicoli inerti, farmaceuticamente accettabili per formare un solido, semisolido o liquido. Le composizioni solide includono, in via non limitativa, polveri, compresse, granuli dispersibili, capsule, cialde, e supposte. Le composizioni liquide includono soluzioni in cui viene disciolto un composto, emulsioni comprendenti un composto, o una soluzione contenente liposomi, micelle, o nanoparticelle comprendenti un composto o un sale di Formula (II-A). Le composizioni semisolide includono, in via non limitativa, gel, sospensioni e creme. La forma delle composizioni farmaceutiche di un composto o sale di Formula (II-A) include soluzioni o sospensioni liquide, forme solide idonee per la soluzione o la sospensione in un liquido prima dell'uso, o come emulsioni. Queste composizioni contengono anche facoltativamente quantità minori di sostanze ausiliarie atossiche, come agenti bagnanti o emulsionanti, agenti che tamponano il pH, e così via.

In alcune forme di realizzazione, una composizione farmaceutica comprendente un composto o un sale di formula (II-A) assume la forma di un liquido in cui gli agenti sono presenti in soluzione, in sospensione o in entrambi. Tipicamente, quando la composizione viene somministrata come soluzione o sospensione, una prima porzione dell'agente è presente in soluzione e una seconda porzione dell'agente è presente in forma particellare, in sospensione in una matrice liquida. In alcune forme di realizzazione, una composizione liquida include una formulazione in gel. In altre forme di realizzazione, la composizione liquida è acquosa.

In determinate forme di realizzazione, le sospensioni acquose contengono uno o più polimeri come agenti di sospensione. I polimeri includono polimeri idrosolubili come polimeri cellulosici, per esempio, idrossipropil metilcellulosa, e polimeri idrosolubili come polimeri contenenti carbossile reticolato. Determinate composizioni farmaceutiche descritte nella presente comprendono un polimero mucoadesivo, selezionato, per esempio, tra carbossimetilcellulosa, carbomer (polimero dell'acido acrilico), poli(metilmetacrilato), poliacrilammide, policarbofilo, copolimero acido acrilico/butil acrilato, alginato di sodio e destrano.

Composizioni farmaceutiche includono anche, facoltativamente, agenti solubilizzanti per aiutare nella solubilità di un composto descritto nella presente. Il termine "agente solubilizzante" include generalmente agenti che determinano la formazione di una soluzione micellare o di una vera soluzione dell'agente. Determinati tensioattivi non ionici accettabili, per esempio, il polisorbato 80, sono utili come agenti solubilizzanti, così come i glicoli, i poliglicoli, per esempio, il polietilene glicole 400, e gli eteri di glicole oftalmicamente accettabili.

Composizioni farmaceutiche includono facoltativamente uno o più agenti di regolazione del pH o agenti tampone, inclusi acidi come acido acetico, boricco, citrico, lattico, fosforico e cloridrico; basi come idrossido di sodio, fosfato di sodio, borato di sodio, citrato di sodio, acetato di sodio, lattato di sodio e tris-idrossimetilamminometano; e tamponi come citrato/destrano, bicar-

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

bonato di sodio e cloruro di ammonio. Tali acidi, basi e tamponi sono inclusi in una quantità richiesta per mantenere il pH della composizione in un intervallo accettabile.

Inoltre, composizioni utili includono anche, facoltativamente, uno o più sali in una quantità richiesta per portare l'osmolalità della composizione in un intervallo accettabile. Tali sali includono quelli che hanno cationi di sodio, potassio o ammonio e cloruro, citrato, ascorbato, borato, fosfato, bicarbonato, solfato, tiosolfato o bisolfito; sali adatti includono cloruro di sodio, cloruro di potassio, tiosolfato di sodio, bisolfito di sodio e solfato di ammonio.

Composizioni farmaceutiche includono facoltativamente uno o più conservanti per inibire l'attività microbica. Conservanti adatti includono sostanze contenenti mercurio come merfen e timerosale; diossido di cloro stabilizzato; e composti di ammonio quaternario come cloruro di benzalconio, bromuro di cetiltrimetilammonio e cloruro di cetilpiridinio.

Le composizioni farmaceutiche possono includere uno o più tensioattivi per accrescere la stabilità fisica o per altri scopi. Tensioattivi non ionici adatti includono gliceridi di acidi grassi di poliossietilene e oli vegetali, per esempio, olio di ricino idrogenato di poliossietilene (60); e poliossietilen alchileteri e alchilfenil eteri, per esempio, ottoxinol 10, ottoxinol 40.

Le composizioni farmaceutiche possono includere uno o più antiossidanti per accrescere la stabilità chimica laddove richiesto.

Marco Giovanni Mari
USM-CPT-090

Antiossidanti adatti includono, soltanto a titolo di esempio, acido ascorbico e metabisolfito di sodio.

In determinate forme di realizzazione, le composizioni in sospensione acquosa sono confezionate in contenitori monodose non richiudibili. In alternativa, vengono usati contenitori richiudibili a dose multipla, nel qual caso è tipico includere un conservante nella composizione.

In determinate forme di realizzazione, vengono impiegati sistemi di rilascio per composti farmaceutici idrofobici. Liposomi ed emulsioni sono esempi di veicoli o carrier di distribuzione utili nella presente. In determinate forme di realizzazione, vengono impiegati anche solventi organici come N-metilpirrolidone. In ulteriori forme di realizzazione, un composto o sale di Formula (II-A) viene rilasciato usando un sistema a rilascio prolungato, come matrici semipermeabili di polimeri idrofobici solidi contenenti l'agente terapeutico. Nella presente è possibile usare vari materiali a rilascio prolungato. In alcune forme di realizzazione, le capsule a rilascio prolungato rilasciano i composti per un tempo da alcune settimane fino a più di 100 giorni. In base alla natura chimica e alla stabilità biologica del reagente terapeutico, vengono impiegate strategie aggiuntive per la stabilizzazione proteica.

In determinate forme di realizzazione, le formulazioni descritte nella presente comprendono uno o più antiossidanti, agenti chelanti dei metalli, composti contenenti tiolo e/o altri agenti stabilizzanti generali. Esempi di tali agenti stabilizzanti includono, a titolo

esemplificativo ma non esaustivo: (a) da circa 0,5% a circa 2% p/v di glicerolo, (b) da circa 0,1% a circa 1% p/v di metionina, (c) da circa 0,1% a circa 2% p/v di monotioglicerolo, (d) da circa 1 mM a circa 10 mM di EDTA, (e) da circa 0,01% a circa 2% p/v di acido ascorbico, (f) dallo 0,003% a circa 0,02% p/v di polisorbato 80, (g) dallo 0,001% a circa 0,05% p/v. di polisorbato 20, (h) arginina, (i) eparina, (j) destrano solfato, (k) ciclodestrine, (l) polisolfato di pentosano e altri eparinoidi, (m) cationi divalenti come magnesio e zinco; o (n) relative combinazioni.

In alcune forme di realizzazione, la concentrazione di un composto o sale di Formula (II-A) fornito in una composizione farmaceutica è inferiore a circa: 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 19%, 18%, 17%, 16%, 15%, 14%, 13%, 12%, 11%, 10%, 9%, 8%, 7%, 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0,5%, 0,4%, 0,3%, 0,2%, 0,1%, 0,09%, 0,08%, 0,07%, 0,06%, 0,05%, 0,04%, 0,03%, 0,02%, 0,01%, 0,009%, 0,008%, 0,007%, 0,006%, 0,005%, 0,004%, 0,003%, 0,002%, 0,001%, 0,0009%, 0,0008%, 0,0007%, 0,0006%, 0,0005%, 0,0004%, 0,0003%, 0,0002%, o 0,0001% p/p, p/v o v/v.

In alcune forme di realizzazione, la concentrazione di un composto o sale di Formula (II-A) fornito in una composizione farmaceutica è superiore a circa: 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 19,75%, 19,50%, 19,25%, 19%, 18,75%, 18,50%, 18,25%, 18%, 17,75%, 17,50%, 17,25%, 17%, 16,75%, 16,50%, 16,25%, 16%, 15,75%, 15,50%, 15,25%, 15%, 14,75%, 14,50%, 14,25%, 14%, 13,75%, 13,50%, 13,25%, 13%, 12,75%, 12,50%, 12,25%, 12%, 11,75%, 11,50%, 11,25%,

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

11%, 10,75%, 10,50%, 10,25%, 10%, 9,75%, 9,50%, 9,25%, 9%, 8,75%,
8,50%, 8,25%, 8%, 7,75%, 7,50%, 7,25%, 7%, 6,75%, 6,50%, 6,25%, 6%,
5,75%, 5,50%, 5,25%, 5%, 4,75%, 4,50%, 4,25%, 4%, 3,75%, 3,50%,
3,25%, 3%, 2,75%, 2,50%, 2,25%, 2%, 1,75%, 1,50%, 1,25%, 1%, 0,5%,
0,4%, 0,3%, 0,2%, 0,1%, 0,09%, 0,08%, 0,07%, 0,06%, 0,05%, 0,04%,
0,03%, 0,02%, 0,01%, 0,009%, 0,008%, 0,007%, 0,006%, 0,005%, 0,004%,
0,003%, 0,002%, 0,001%, 0,0009%, 0,0008%, 0,0007%, 0,0006%, 0,0005%,
0,0004%, 0,0003%, 0,0002%, o 0,0001% p/p, p/v, o v/v.

In alcune forme di realizzazione, la concentrazione di un composto o sale di Formula (II-A) è nell'intervallo da approssimativamente 0,0001% ad approssimativamente 50%, da approssimativamente 0,001% ad approssimativamente 40%, da approssimativamente 0,01% ad approssimativamente 30%, da approssimativamente 0,02% ad approssimativamente 29%, da approssimativamente 0,03% ad approssimativamente 28%, da approssimativamente 0,04% ad approssimativamente 27%, da approssimativamente 0,05% ad approssimativamente 26%, da approssimativamente 0,06% ad approssimativamente 25%, da approssimativamente 0,07% ad approssimativamente 24%, da approssimativamente 0,08% ad approssimativamente 23%, da approssimativamente 0,09% ad approssimativamente 22%, da approssimativamente 0,1% ad approssimativamente 21%, da approssimativamente 0,2% ad approssimativamente 20%, da approssimativamente 0,3% ad approssimativamente 19%, da approssimativamente 0,4% ad approssimativamente 18%, da approssimativamente 0,5% ad approssimativamente 17%, da approssimativamente 0,6% ad approssimativamente 16%, da approssimativamente

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

0,7% ad approssimativamente 15%, da approssimativamente 0,8% ad approssimativamente 14%, da approssimativamente 0,9% ad approssimativamente 12%, da approssimativamente 1% ad approssimativamente 10% p/p, p/v o v/v.

In alcune forme di realizzazione, la concentrazione di un composto o sale di Formula (II-A) è nell'intervallo da approssimativamente 0,001% ad approssimativamente 10%, da approssimativamente 0,01% ad approssimativamente 5%, da approssimativamente 0,02% ad approssimativamente 4,5%, da approssimativamente 0,03% ad approssimativamente 4%, da approssimativamente lo 0,04% ad approssimativamente il 3,5%, da approssimativamente 0,05% ad approssimativamente 3%, da approssimativamente 0,06% ad approssimativamente 2,5%, da approssimativamente 0,07% ad approssimativamente 2%, da approssimativamente 0,08% ad approssimativamente 1,5%, da approssimativamente 0,09% ad approssimativamente 1%, da approssimativamente 0,1% ad approssimativamente 0,9% p/p, p/v o v/v.

In alcune forme di realizzazione, la quantità di un composto o sale di Formula (II-A) è uguale o inferiore a circa: 10 g, 9,5 g, 9,0 g, 8,5 g, 8,0 g, 7,5 g, 7,0 g, 6,5 g, 6,0 g, 5,5 g, 5,0 g, 4,5 g, 4,0 g, 3,5 g, 3,0 g, 2,5 g, 2,0 g, 1,5 g, 1,0 g, 0,95 g, 0,9 g, 0,85 g, 0,8 g, 0,75 g, 0,7 g, 0,65 g, 0,6 g, 0,55 g, 0,5 g, 0,45 g, 0,4 g, 0,35 g, 0,3 g, 0,25 g, 0,2 g, 0,15 g, 0,1 g, 0,09 g, 0,08 g, 0,07 g, 0,06 g, 0,05 g, 0,04 g, 0,03 g, 0,02 g, 0,01 g, 0,009 g, 0,008 g, 0,007 g, 0,006 g, 0,005 g, 0,004 g, 0,003 g, 0,002 g, 0,001 g, 0,0009 g, 0,0008 g, 0,0007 g, 0,0006 g, 0,0005 g, 0,0004 g, 0,0003 g, 0,0002

Marco Giovanni Mari
USM-CPT-090

g, o 0,0001 g.

In alcune forme di realizzazione, la quantità di un composto o sale di Formula (II-A) è superiore a circa: 0,0001 g, 0,0002 g, 0,0003 g, 0,0004 g, 0,0005 g, 0,0006 g, 0,0007 g, 0,0008 g, 0,0009 g, 0,001 g, 0,0015 g, 0,002 g, 0,0025 g, 0,003 g, 0,0035 g, 0,004 g, 0,0045 g, 0,005 g, 0,0055 g, 0,006 g, 0,0065 g, 0,007 g, 0,0075 g, 0,008 g, 0,0085 g, 0,009 g, 0,0095 g, 0,01 g, 0,015 g, 0,02 g, 0,025 g, 0,03 g, 0,035 g, 0,04 g, 0,045 g, 0,05 g, 0,055 g, 0,06 g, 0,065 g, 0,07 g, 0,075 g, 0,08 g, 0,085 g, 0,09 g, 0,095 g, 0,1 g, 0,15 g, 0,2 g, 0,25 g, 0,3 g, 0,35 g, 0,4 g, 0,45 g, 0,5 g, 0,55 g, 0,6 g, 0,65 g, 0,7 g, 0,75 g, 0,8 g, 0,85 g, 0,9 g, 0,95 g, 1 g, 1,5 g, 2 g, 2,5 g, 3 g, 3,5 g, 4 g, 4,5 g, 5 g, 5,5 g, 6 g, 6,5 g, 7 g, 7,5 g, 8 g, 8,5 g, 9 g, 9,5 g, o 10 g.

In alcune forme di realizzazione, la quantità di uno o più composti della divulgazione è nell'intervallo 0,0001-10 g, 0,0005-9 g, 0,001-8 g, 0,005-7 g, 0,01-6 g, 0,05-5 g, 0,1-4 g, 0,5-4 g o 1-3 g.

Per l'uso nelle applicazioni terapeutiche descritte nella presente, sono forniti anche kit e articoli di produzione. In alcune forme di realizzazione, tali kit comprendono un carrier, un pacchetto o un contenitore che è compartimentato per ricevere uno o più contenitori come fiale, provette e simili, ciascuno dei contenitori comprendendo uno degli elementi separati da usare in un metodo descritto nella presente. Contenitori adatti includono, per esempio, flaconi, fiale, siringhe e provette. I contenitori sono formati da

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

una varietà di materiali come il vetro o la plastica.

Gli articoli di produzione forniti nella presente contengono materiali di imballaggio. I materiali di imballaggio per l'uso nel confezionamento di prodotti farmaceutici includono quelli che si trovano, per esempio, nei brevetti statunitensi nn. 5.323.907, 5.052.558 e 5.033.252. Esempi di materiali di imballaggio farmaceutico includono, in via non limitativa, confezioni blister, flaconi, tubetti, inalatori, pompe, sacche, fiale, contenitori, siringhe, flaconi e un qualsiasi altro materiale di imballaggio idoneo per una formulazione selezionata e per la modalità di somministrazione e il trattamento designati. Per esempio, l'uno o più contenitori includono un composto o sale di Formula (II-A), facoltativamente in una composizione o in combinazione con un altro agente come divulgato nella presente. I contenitori hanno facoltativamente una porta di accesso sterile (per esempio, il contenitore è un sacchetto per soluzione endovenosa o una fiala avente un tappo perforabile da un ago da iniezione ipodermico). Tali kit comprendono facoltativamente un composto con una descrizione o etichetta identificativa o istruzioni relative al suo uso nei metodi descritti nella presente.

Per esempio, un kit include tipicamente uno o più contenitori aggiuntivi, ciascuno con uno o più di vari materiali (come reagenti, facoltativamente in forma concentrata, e/o dispositivi) desiderabili da un punto di vista commerciale e dell'utilizzatore per l'uso di un composto descritto nella presente. Esempi non limitativi di tali

Marco Giovanni Mari
USM 090

materiali includono, in via non limitativa, tamponi, diluenti, filtri, aghi, siringhe; etichette di carrier, confezioni, contenitori, fiale e/o provette che elencano i contenuti e/o le istruzioni per l'uso e i foglietti illustrativi del pacchetto con le istruzioni per l'uso. Sarà tipicamente incluso un insieme di istruzioni. Un'etichetta è facoltativamente sul o associata al contenitore. Per esempio, un'etichetta è su un contenitore quando lettere, numeri o altri caratteri che formano l'etichetta sono fissati, stampati o incisi nel contenitore stesso, un'etichetta è associata a un contenitore quando è presente all'interno di un recipiente o di un carrier che contiene anche il contenitore, per esempio, come un foglietto illustrativo. Inoltre, viene usata un'etichetta per indicare che il contenuto deve essere usato per una specifica applicazione terapeutica. Inoltre, l'etichetta indica le istruzioni per l'uso del contenuto, come nei metodi descritti nella presente. In determinate forme di realizzazione, la composizione farmaceutica è presentata in una confezione o in un dispositivo dispensatore che contiene una o più forme di dosaggio unitario contenenti un composto fornito nella presente. Per esempio, la confezione contiene una lamina metallica o plastica, come con una confezione in blister. Oppure, la confezione o il dispositivo dispensatore è accompagnato da istruzioni per la somministrazione. Oppure, la confezione o il dispensatore è accompagnato da una comunicazione associata al contenitore in forma prescritta dall'agenzia governativa che regola la produzione, l'uso o la vendita

di prodotti farmaceutici, la quale comunicazione riflette l'approvazione da parte dell'agenzia della forma del farmaco per la somministrazione umana o veterinaria. Tale comunicazione, per esempio, è l'etichettatura approvata dall'U.S. Food and Drug Administration per la prescrizione di farmaci, o il foglietto illustrativo approvato. In alcune forme di realizzazione, le composizioni contenenti un composto fornito nella presente formulate in un veicolo farmaceutico compatibile vengono preparate, poste in un contenitore appropriato, ed etichettate per il trattamento di una condizione indicata.

Metodi

Come menzionato sopra, i riferimenti a metodi di trattamento nei paragrafi successivi di questa descrizione devono essere interpretati come riferimenti ai composti, alle composizioni farmaceutiche e ai medicinali della presente invenzione per l'uso in un metodo di trattamento del corpo umano (o animale) mediante una terapia (o per la diagnosi).

La presente divulgazione fornisce un metodo per inibire l'interazione di menina e una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione MLL, o una duplicazione tandem parziale di MLL) comprendente mettere a contatto una cellula con una quantità efficace di un composto o sale di formula (II-A). L'inibizione dell'interazione di menina e di una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione MLL o una duplicazione tandem parziale di MLL) può essere valutata e dimostrata in un'ampia gamma

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

di modi noti nella tecnica. Esempi non limitativi includono una dimostrazione di (a) una diminuzione del legame di menina a una o più proteine o frammenti proteici (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione MLL, una duplicazione tandem parziale di MLL o un relativo frammento peptidico); (b) una diminuzione della proliferazione cellulare e/o della vitalità cellulare; (c) un aumento della differenziazione cellulare; (d) una diminuzione dei livelli di bersagli a valle di MLL1, MLL2, una proteina di fusione di MLL e/o una duplicazione tandem parziale di MLL (per esempio, *Hoxa9*, *DLX2* e *Meis1*); e/o (e) una diminuzione del volume tumorale e/o del tasso di crescita del volume tumorale. I kit e i saggi disponibili in commercio possono essere usati per determinare uno o più di quanto sopra.

La divulgazione fornisce anche metodi per l'uso dei composti o delle composizioni farmaceutiche della presente divulgazione per trattare condizioni patologiche, incluse, in via non limitativa, condizioni implicate da menina, MLL, MLL1, MLL2 e/o proteine di fusione di MLL (per esempio, un cancro).

In alcune forme di realizzazione, è fornito un metodo per il trattamento di un cancro, il metodo comprendendo somministrare una quantità efficace di una qualsiasi delle composizioni farmaceutiche precedenti comprendente un composto o sale di Formula (II-A) a un soggetto che ne ha necessità. In alcune forme di realizzazione, il cancro è mediato da una proteina di fusione MLL. In altre forme di realizzazione, il cancro è leucemia, cancro mammario, cancro

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

prostatico, cancro pancreatico, cancro polmonare, cancro epatico, cancro cutaneo o un tumore cerebrale. In determinate forme di realizzazione, il cancro è una leucemia. In alcune forme di realizzazione, il cancro comprende un tumore solido.

In alcune forme di realizzazione, la divulgazione fornisce un metodo per trattare un disturbo in un soggetto che ne necessita, in cui il metodo comprende determinare se il soggetto ha una proteina di fusione MLL e, se si determina che il soggetto ha una proteina di fusione MLL, somministrare al soggetto una dose terapeuticamente efficace di un composto o sale di Formula (II-A).

Le proteine di fusione MLL sono state anche identificate in neoplasie ematologiche (per esempio, cancri che colpiscono sangue, midollo osseo e/o linfonodi). Di conseguenza, determinate forme di realizzazione sono dirette alla somministrazione di un composto o sale di Formula (II-A) a un paziente che necessita di un trattamento di una malignità ematologica. Tali malignità includono, in via non limitativa, leucemie e linfomi. Per esempio, i composti attualmente divulgati possono essere usati per il trattamento di malattie come leucemia linfoblastica acuta (ALL), leucemia mielogena acuta (LMA), leucemia linfocitica cronica (CLL), piccolo linfoma linfocitico (SLL), leucemia mielogena cronica (LMC), leucemia monocitica acuta (AMoL), leucemia a cellule capellute e/o altre leucemie. In altre forme di realizzazione, i composti possono essere usati per il trattamento di linfomi come tutti i sottotipi di linfoma di Hodgkins o linfoma non Hodgkins.

La determinazione del fatto se un tumore o un cancro comprende una proteina di fusione MLL può essere effettuata valutando la sequenza nucleotidica codificante la proteina di fusione MLL, valutando la sequenza amminoacidica della proteina di fusione MLL o valutando le caratteristiche di una presunta proteina di fusione MLL.

I metodi per rilevare una sequenza nucleotidica di proteina di fusione MLL sono noti agli esperti nella tecnica. Questi metodi includono, in via non limitativa, saggi di polimorfismo di lunghezza di frammento con reazione a catena della polimerasi (PCR-RFLP), saggi di polimorfismo di conformazione a singolo filamento con reazione a catena della polimerasi (PCR-SSCP), saggi di PCR in tempo reale, sequenziamento PCR, saggi di amplificazione PCR allele-specifica mutante (MASA), sequenziamento diretto, reazioni di estensione di primer, elettroforesi, saggi di ligazione degli oligonucleotidi, saggi di ibridizzazione, saggi TaqMan, saggi di genotipizzazione SNP, saggi di fusione ad alta risoluzione e saggio in microarray. In alcune forme di realizzazione, la proteina di fusione MLL viene identificata usando un metodo di sequenziamento diretto di regioni specifiche (per esempio, esone 2 e/o esone 3) in MLL o gene partner di fusione, per esempio. Questa tecnica identificherà tutte le possibili mutazioni nella regione sequenziata.

I metodi per rilevare una proteina di fusione MLL sono noti agli esperti nella tecnica. Questi metodi includono, in via non limitativa, il rilevamento di una proteina di fusione MLL usando un agente legante (per esempio, un anticorpo) specifico per la proteina

Marco Giovanni Mari
USM 090

di fusione, elettroforesi proteica e Western blotting, e sequenziamento peptidico diretto.

I metodi per determinare se un tumore o un cancro comprende una proteina di fusione MLL possono usare una varietà di campioni. In alcune forme di realizzazione, il campione viene prelevato da un soggetto avente un tumore o un cancro. In alcune forme di realizzazione, il campione viene prelevato da un soggetto avente un cancro o un tumore. In alcune forme di realizzazione, il campione è un campione fresco di tumore/cancro. In alcune forme di realizzazione, il campione è un campione di congelato tumore/cancro. In alcune forme di realizzazione, il campione è un campione incorporato in paraffina fissato in formalina. In alcune forme di realizzazione, il campione viene elaborato in un lisato cellulare. In alcune forme di realizzazione, il campione viene trasformato in DNA o RNA.

La divulgazione riguarda anche un metodo per trattare un disturbo iperproliferativo in un mammifero che comprende somministrare al mammifero una quantità terapeuticamente efficace di un composto o di un sale di Formula (II-A). In alcune forme di realizzazione, il metodo si riferisce al trattamento di un cancro come leucemia mieloide acuta, cancro negli adolescenti, carcinoma adrenocorticale infanzia, cancri correlati all'AIDS (per esempio, linfoma e sarcoma di Kaposi), cancro anale, cancro dell'appendice, astrocitomi, teratoide atipico, carcinoma basocellulare, cancro del dotto biliare, cancro della vescica, cancro osseo, glioma del tronco

Marco Giovanni Mari
USM 090

encefalico, tumore cerebrale, cancro mammario, tumori bronchiali, linfoma di Burkitt, tumore carcinoide, teratoide atipico, tumori embrionali, tumore a cellule germinali, linfoma primario, cancro cervicale, tumori infantili, cordoma, tumori cardiaci, leucemia linfatica cronica (LLC), leucemia mieloide cronica (LMC), disturbi mieloproliferativi cronici, cancro del colon, cancro coloretale, craniofaringioma, linfoma cutaneo a cellule T, carcinoma duttale extraepatico in situ (DCIS), tumori embrionali, carcinoma del sistema nervoso centrale, carcinoma endometriale, ependimoma, carcinoma esofageo, estesioneuroblastoma, sarcoma di Ewing, tumore a cellule germinali extracraniche, tumore a cellule germinali extragonadici, cancro oculare, istiocitoma fibroso delle ossa, cancro della cistifellea, cancro gastrico, tumore carcinoide gastrointestinale, tumori stromali gastrointestinali (GIST), tumore a cellule germinali, tumore trofoblastico gestazionale, leucemia a cellule capellute, cancro a testa e collo, cancro al cuore, cancro epatico, linfoma di Hodgkin, cancro ipofaringeo, melanoma intraoculare, tumori delle cellule insulari, tumori neuroendocrini del pancreas, cancro del rene, cancro della laringe, cancro del labbro e del cavo orale, cancro epatico, carcinoma lobulare in situ (LCIS), cancro polmonare, linfoma, cancro al collo squamoso metastatico con primitivo occulto, carcinoma del tratto mediano, cancro alla bocca sindromi da neoplasia endocrina multipla, mieloma multiplo/neoplasia plasmacellulare, micosi fungoide, sindromi mielodisplastiche, neoplasie mielodisplastiche/mieloproliferative, mieloma multiplo, carcinoma a

cellule di merkel, mesotelioma maligno, istiocitoma fibroso maligno delle ossa e osteosarcoma, cancro a cavità nasale e seni paranasali, cancro nasofaringeo, neuroblastoma, linfoma non-Hodgkin, cancro polmonare non a piccole cellule (NSCLC), cancro orale, cancro a labbro e cavità orale, cancro orofaringeo, cancro ovarico, cancro pancreatico, papillomatosi, paraganglioma, cancro del seno paranasale e della cavità nasale, cancro paratiroideo, cancro del pene, cancro faringeo, blastoma pleuropolmonare, linfoma primario del sistema nervoso centrale (SNC), cancro prostatico, cancro rettale, cancro a cellule transizionali, retinoblastoma, rabdomiosarcoma, cancro alle ghiandole salivari, cancro cutaneo, cancro allo stomaco (gastrico), cancro polmonare a piccole cellule, cancro all'intestino tenue, sarcoma dei tessuti molli, linfoma a cellule T, cancro testicolare, cancro alla gola, timoma e carcinoma timico, cancro tiroideo, cancro a cellule transizionali a pelvi renale e uretere, tumore trofoblastico, cancri insoliti dell'infanzia, cancro uretrale, sarcoma uterino, cancro vaginale, cancro vulvare o cancro indotto da virus. In alcune forme di realizzazione, il metodo riguarda il trattamento di un disturbo iperproliferativo non canceroso come iperplasia benigna della cute (per esempio, psoriasi), restenosi, o prostata (per esempio, ipertrofia prostatica benigna (IPB)). In alcuni casi, il metodo si riferisce al trattamento di leucemia, malignità ematologica, cancro del tumore solido, cancro prostatico (per esempio, cancro prostatico resistente alla castrazione), cancro mammario, sarcoma di Ewing, sarcoma osseo, sarcoma osseo primario,

leucemia prolinfocitaria a cellule T, glioma, glioblastoma, cancro epatico (per esempio, carcinoma epatocellulare), o diabete. In alcuni casi, la leucemia comprende LMA, LLA, leucemia a linee miste o leucemie con duplicazioni tandem parziali di MLL.

In determinate forme di realizzazione particolari, la divulgazione si riferisce a metodi per il trattamento di cancro polmonari, i metodi comprendono somministrare una quantità efficace di uno qualsiasi dei composti descritti sopra (o una composizione farmaceutica comprendente gli stessi) a un soggetto che ne ha necessità. In determinate forme di realizzazione il cancro polmonare è un carcinoma polmonare non a piccole cellule (NSCLC), per esempio, adenocarcinoma, carcinoma polmonare a cellule squamose o carcinoma polmonare a grandi cellule. In altre forme di realizzazione, il cancro polmonare è un carcinoma polmonare a piccole cellule. Altri cancro polmonari trattabili con i composti divulgati includono, in via non limitativa, cancro ghiandolari, tumori carcinoidi e carcinomi indifferenziati.

I soggetti che possono essere trattati con un composto della divulgazione, o un sale, estere, profarmaco, solvato, tautomero, stereoisomero, isotopologo, idrato o derivato farmaceuticamente accettabile del composto, secondo i metodi della presente divulgazione includono, per esempio, soggetti che sono stati diagnosticati come aventi leucemia mieloide acuta, leucemia mieloide acuta, cancro negli adolescenti, carcinoma adrenocorticale infantile, tumori correlati all'AIDS (per esempio, linfoma e sarcoma di Kaposi),

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

cancro anale, cancro dell'appendice, astrocitomi, teratoide atipico, carcinoma basocellulare, cancro del dotto biliare, cancro della vescica, cancro osseo, glioma del tronco encefalico, tumore cerebrale, cancro mammario, tumori bronchiali, linfoma di Burkitt, tumore cerebrale, cancro mammario, tumori bronchiali, linfoma di Burkitt, tumore carcinoide, teratoide atipico, tumori embrionali, tumore a cellule germinali, linfoma primario, cancro cervicale, tumori infantili, cordoma, tumori cardiaci, leucemia linfocitica cronica (LLC), leucemia mieloide cronica (LMC), malattie mieloproliferative croniche, cancro del colon, cancro coloretale, craniofaringioma, linfoma cutaneo a cellule T, carcinoma duttale extraepatico in situ (DCIS), tumori embrionali, carcinoma del SNC, cancro endometriale, ependimoma, cancro esofageo, estesioneuroblastoma, sarcoma di Ewing, tumore extracranico delle cellule germinali, tumore extragonadico delle cellule germinali, cancro agli occhi, istiocitoma fibroso dell'osso, cancro alla cistifellea, cancro gastrico, tumore carcinoide gastrointestinale, tumori stromali gastrointestinali (GIST), tumore a cellule germinali, tumore trofoblastico gestazionale, leucemia a cellule capellute, cancro a testa e collo, cancro cardiaco, cancro epatico, linfoma di Hodgkin, cancro ipofaringeo, melanoma intraoculare, tumori delle cellule insulari, tumori neuroendocrini del pancreas, cancro renale, cancro laringeo, cancro a labbro e cavità orale, cancro epatico, carcinoma lobulare in situ (LCIS), cancro polmonare, linfoma, cancro al collo squamoso metastatico con primitivo occulto, carcinoma del

tratto mediano, cancro della bocca sindromi neoplastiche endocrine multiple, mieloma multiplo/neoplasma cellulare, micosi fungoide, sindromi mielodisplastiche, neoplasie mielodisplastiche/mielo-proliferative, mieloma multiplo, carcinoma a cellule di Merkel, mesotelioma maligno, istiocitoma fibroso maligno delle ossa e osteosarcoma, cancro a cavità nasale e seni paranasali, cancro nasofaringeo, neuroblastoma, linfoma non-Hodgkin, cancro polmonare non a piccole cellule (NSCLC), cancro orale, cancro a labbro e cavità orale, cancro orofaringeo, cancro ovarico, cancro pancreatico, papillomatosi, paraganglioma, cancro a seno paranasale e cavità nasale, cancro paratiroideo, cancro al pene, cancro faringeo, blastoma pleuropolmonare, linfoma primitivo del sistema nervoso centrale (SNC), cancro prostatico, cancro rettale, cancro a cellule transizionali, retinoblastoma, rabdomiosarcoma, cancro delle ghiandole salivari, cancro della pelle, cancro allo stomaco (gastrico), cancro polmonare a piccole cellule, cancro all'intestino tenue, sarcoma dei tessuti molli, linfoma a cellule T, cancro ai testicoli, cancro alla gola, timoma e carcinoma timico, cancro alla tiroide, cancro a cellule transizionali della pelvi renale e dell'uretere, tumore trofoblastico, tumori insoliti dell'infanzia, cancro uretrale, sarcoma uterino, cancro vaginale, cancro vulvare, cancro indotto da virus, leucemia, malignità ematologica, cancro tumorale solido, cancro prostatico, cancro prostatico resistente alla castrazione, cancro mammario, sarcoma di Ewing, sarcoma osseo, sarcoma osseo primario, leucemia prolinfocitica a cellule T, glioma,

glioblastoma, carcinoma epatocellulare, cancro epatico o diabete. In alcune forme di realizzazione, i soggetti che sono trattati con i composti della divulgazione includono soggetti a cui è stato diagnosticato un disturbo iperproliferativo non canceroso come iperplasia benigna della pelle (per esempio, psoriasi), restenosi o della prostata (per esempio, ipertrofia prostatica benigna (IPB)).

La divulgazione fornisce inoltre metodi per modulare l'interazione di menina e di una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione MLL o una duplicazione tandem parziale di MLL) mettendo a contatto menina con una quantità efficace di un composto o sale di formula (II-A). La modulazione può essere l'inibizione o l'attivazione dell'attività proteica di menina, di uno o più dei suoi partner di legame, e/o di uno o più dei bersagli a valle di menina o di uno o più dei suoi partner di legame. In alcune forme di realizzazione, la divulgazione fornisce metodi per inibire l'interazione di menina e una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione MLL, o una duplicazione tandem parziale di MLL) mettendo a contatto menina con una quantità efficace di un composto o sale di formula (II-A). In alcune forme di realizzazione, la divulgazione fornisce metodi per inibire l'interazione di menina e una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione MLL o una duplicazione tandem parziale di MLL) mettendo a contatto una cellula, un tessuto o un organo che esprime menina, MLL1, MLL2, una proteina di fusione MLL e/o una duplicazione tandem parziale di MLL. In alcune forme di realizzazione, la divulgazione fornisce

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

metodi per inibire l'attività proteica nel soggetto includenti, a titolo esemplificativo ma non esaustivo, roditori e mammiferi (per esempio, umani) somministrando al soggetto una quantità efficace di un composto o sale di formula (II-A). In alcune forme di realizzazione, la modulazione percentuale supera il 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%. In alcune forme di realizzazione, la percentuale di inibizione supera il 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% o 90%.

In alcune forme di realizzazione, la divulgazione fornisce metodi per inibire l'interazione di menina e di una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione di MLL o una duplicazione tandem parziale di MLL) in una cellula mettendo a contatto la cellula con una quantità di un composto della divulgazione sufficiente per inibire l'interazione di menina e di una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione di MLL o una duplicazione tandem parziale di MLL) nella cellula. In alcune forme di realizzazione, la divulgazione fornisce metodi per inibire l'interazione di menina e una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione di MLL o una duplicazione tandem parziale di MLL) in un tessuto mettendo a contatto il tessuto con una quantità di un composto o sale di Formula (II-A) sufficiente per inibire l'interazione di menina e una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione di MLL o una duplicazione tandem parziale di MLL) nel tessuto. In alcune forme di realizzazione, la divulgazione fornisce metodi per inibire l'interazione di menina e

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione MLL o una duplicazione tandem parziale di MLL) in un organismo mettendo a contatto l'organismo con una quantità di un composto o sale di Formula (II-A) sufficiente per inibire l'interazione di menina e una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione MLL o una duplicazione tandem parziale di MLL) nell'organismo. In alcune forme di realizzazione, la divulgazione fornisce metodi per inibire l'interazione di menina e di una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione MLL o una duplicazione tandem parziale di MLL) in un animale mettendo a contatto l'animale con una quantità di un composto della divulgazione sufficiente per inibire l'interazione di menina e di una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione MLL o una duplicazione tandem parziale di MLL) nell'animale. In alcune forme di realizzazione, la divulgazione fornisce metodi per inibire l'interazione di menina e di una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione MLL o una duplicazione tandem parziale di MLL) in un mammifero mettendo a contatto il mammifero con una quantità di un composto della divulgazione sufficiente per inibire l'interazione di menina e di una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione MLL o una duplicazione tandem parziale di MLL) nel mammifero. In alcune forme di realizzazione, la divulgazione fornisce metodi per inibire l'interazione di menina e di una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione di MLL o una duplicazione tandem parziale di MLL) in un essere umano

mettendo a contatto l'essere umano con una quantità di un composto della divulgazione sufficiente per inibire l'interazione di menina e di una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione di MLL o una duplicazione tandem parziale di MLL) nell'essere umano. La presente divulgazione fornisce metodi per il trattamento di una malattia mediata dall'interazione di menina e una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione MLL, o una duplicazione tandem parziale di MLL) in un soggetto che necessita di tale trattamento.

La divulgazione fornisce anche metodi per trattare un disturbo mediato dall'interazione di menina con una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione MLL o una duplicazione tandem parziale di MLL) somministrando a un soggetto che ne necessita una quantità terapeuticamente efficace di un composto o sale di formula (II-A).

La divulgazione fornisce inoltre metodi per trattare un disturbo mediato da riarrangiamento cromosomico sul cromosoma 11q23 in un soggetto necessità di ciò somministrando al soggetto una quantità terapeuticamente efficace di un composto o sale di formula (II-A).

La divulgazione fornisce anche metodi per il trattamento di una malattia o condizione somministrando una quantità efficace di un composto o sale di Formula (II-A) a un soggetto affetto dalla malattia o condizione.

La divulgazione fornisce inoltre metodi per il trattamento di una malattia o condizione mediante somministrazione di un composto o

Marco Giovanni Mari
USM 090

sale di Formula (II-A) a un soggetto affetto dalla malattia o condizione, in cui il composto si lega a menina e inibisce l'interazione di menina con una o più proteine (per esempio, MLL1, MLL2, una proteina di fusione MLL o una duplicazione tandem parziale di MLL).

La divulgazione fornisce inoltre metodi per stabilizzare menina, comprendenti mettere a contatto menina con un composto o un sale di Formula (II-A). In alcune forme di realizzazione, la fase di contatto comprende il contatto di menina con una quantità del composto sufficiente per stabilizzare menina. In alcune forme di realizzazione, la fase di contatto avviene *in vivo*. In alcune forme di realizzazione, la fase di contatto avviene *in vitro*. In alcune forme di realizzazione, la fase di contatto avviene in una cellula.

La presente divulgazione fornisce anche metodi per terapie di combinazione in cui un agente noto per modulare altre vie, o altri componenti della stessa via, o anche insiemi sovrapposti di enzimi bersaglio vengono usati in combinazione con un composto o un sale di Formula (II-A). Tale terapia include, a titolo esemplificativo ma non esaustivo, la combinazione di uno o più composti della divulgazione con agenti chemioterapici, anticorpi terapeutici e trattamento con radiazioni, per fornire un effetto terapeutico sinergico o additivo.

Ove desiderato, un composto o una composizione farmaceutica della presente divulgazione può essere usato in combinazione con inibitori di Notch e/o inibitori di c-Myb. Ove desiderato, un composto o una composizione farmaceutica della presente divulgazione

Marco Giovanni Mari
USBM 090

può essere usato in combinazione con inibitori di MLL-WDR5 e/o inibitori di Dot11.

Molti chemioterapici sono attualmente noti nel settore e possono essere usati in combinazione con un composto della divulgazione. In alcune forme di realizzazione, il chemioterapico è selezionato dal gruppo consistente in inibitori mitotici, agenti alchilanti, antimetaboliti, antibiotici intercalanti, inibitori dei fattori di crescita, inibitori del ciclo cellulare, enzimi, inibitori delle topoisomerasi, modificatori delle risposte biologiche, anti-ormoni, inibitori dell'angiogenesi, e antiandrogeni.

Esempi non limitativi sono agenti chemioterapici, agenti citotossici e piccole molecole non peptidiche come Gleevec® (Imatinib Mesilato), Velcade® (bortezomib), Casodex (bicalutammide), Iressa® (gefitinib) e Adriamicina, nonché una serie di agenti chemioterapici. Esempi non limitativi di agenti chemioterapici includono agenti alchilanti come tiotepa e ciclofosfamide (CYTOXANTM); alchil solfonati come busolfano, improsolfano e piposolfano; aziridine come benzodopa, carboquone, meturedopa, e uredopa; etilenimine e metilamelammine incluse altretamina, trietilenemelammina, trietilenefosforammide, trietilenetiofosforammide e trimetilolomelammina; mostarde azotate come clorambucile, clomafazina, colofosfammide, estramustina, ifosfammide, mecloretamina, mecloretamina ossido cloridrato, melfalan, novembichina, fenesterina, prednimustina, trofosfammide, mostarda uracilica; nitrosuree come carmustina, clorozotocina, fotemustina, lomustina, nimustina, ranimustina;

antibiotici come aclacinomisina, actinomicina, authramicina, azaserina, bleomicina, cactinomicina, calicheamicina, carabicina, carminomicina, carzinofilina, CasodexTM, cromomicina, dactinomicina, daunorubicina, detorubicina, 6-diazo-5-oxo-L-norleucina, doxorubicina, epirubicina, esorubicina, idarubicina, marcellomicina, mitomicina, acido micofenolico, nogalammina, olivomicina, peplomicina, potfiromicina, puromicina, talamicina, rodorubicina, streptonigrina, streptozocina, tubercidina, ubenimex, zinostatina, zorubicina; antimetaboliti come metotressato e 5-fluorouracile (5-FU); analoghi dell'acido folico come denopterina, metotressato, pteropterina, trimetressato; analoghi della purina come fludarabina, 6-mercaptopurina, tiamiprina, tioguanina; analoghi della pirimidina come ancitabina, azacitidina, 6-azauridina, carmofur, citarabina, dideossiuridina, doxifluridina, enocitabina, floxuridina, androgeni come calusterone, dromostanolone propionato, epitiostanolo, mepitiostano, testolattone; anti-adrenergici come amminoglutetimide, mitotano, trilostano; un rigeneratore dell'acido folico come acido frolinico; aceglatone; aldofosfammide glicoside; acido amminolevulinico; amsacrina; bestrabucile; bisantrene; edatraxato; defofammina; demecolcina; diazichinone; elfomitina; elliptinio acetato; etoglucide; gallio nitrato; idrossiurea; lentinan; lonidamina; mitoguazone; mitoxantrone; mopidamol; nitracrina; pentostatina; fenamet; pirarubicina; acido podofillinico; 2-etilidrazide; procarbazina; PSK.RTM.; razoxano; sizofiran; spirogermanio; acido tenuazonico; diazichinone; 2,2',2''-

Marco Giovanni Mari
USM 090

triclorotrietilammina; uretano; vindesina; dacarbazina; mannomustina; mitobronitolo; mitolattolo; pipobroman; gacitosina; arabinoside ("Ara-C"); ciclofosfamina; tiotepa; taxani, per esempio, paclitaxel (TAXOLTM, Bristol-Myers Squibb Oncology, Princeton, NJ) e docetaxel (TAXOTERETM, Rhne-Poulenc Rorer, Antony, Francia); acido retinoico; esperamicine; capecitabina; e sali, acidi o derivati farmaceuticamente accettabili di uno qualsiasi di quanto detto sopra. Come condizionatori cellulari chemioterapici adatti sono inclusi anche agenti anti-ormonali che agiscono per regolare o inibire l'azione ormonale sui tumori, come gli anti-estrogeni, inclusi per esempio, tamoxifene, (NolvadexTM), raloxifene, 4(5)-imidazoli inibitori dell'aromatasi, 4-idrossitamossifene, triossifene, keossifene, LY117018, onapristone e toremifene (Fareston); e anti-androgeni come flutammide, nilutammide, bicalutammide, leuprolide, e goserelina; clorambucile; gemcitabina; 6-tioguanina; mercaptopurina; metotressato; analoghi del platino come cisplatino e carboplatino; vinblastina; platino; etoposide (VP-16); ifosfamide; mitomicina C; mitoxantrone; vincristina; vinorelbina; navelbina; novantrone; teniposide; daunomicina; amminopterina; xeloda; ibandronato; camptotecina-11 (CPT-11); inibitore delle topoisomerasi RFS 2000; difluorometilomitina (DMFO). Laddove desiderato, i composti o la composizione farmaceutica della presente divulgazione possono essere usati in combinazione con farmaci anticancro comunemente prescritti come Herceptin®, Avastin®, Erbitux®, Rituxan®, Taxol®, Arimidex®, Taxotere®, ABVD, Avicine, Abagovomab, Acridina carbossammide,

Adecatumumab, 17-N-Allilammino-17-demetossigeldanamicina, Alpharadin, Alvocidib, 3-amminopiridina-2-carbossaldeide tiosemicarbazone, Amonafide, Anthracenedione, Immunotossine anti-CD22, Antineoplastico, Erbe anticancro, Apaziquone, Atiprimod, Azatioprina, Belotecan, Bendamustina, BIBW 2992, Biricodar, Brostallicina, Briostatina, Butionina solfossimmina, CBV (chemioterapia), Caliculina, agenti antineoplastici aspecifici del ciclo cellulare, Acido dicloroacetico, Discodermolide, Elsamitrucin, Enocitabina, Epotilone, Eribulina, Everolimus, Exatecan, Exisulind, Ferruginolo, Forodesina, Fosfestrol, regime di chemioterapia con ICE, IT-101, Imexon, Imiquimod, Indolocarbazolo, Irofulven, Laniquidar, Larotaxel, Lenalidomide, Lucantone, Lurtotecan, Mafosfamide, Mitozolomide, Nafoxidina, Nedaplatin, Olaparib, Ortataxel, PAC-1, Pawpaw, Pixantrone, Inibitore del proteasoma, Rebeccamicina, Resiquimod, Rubitecan, SN-38, Salinosporamide A, Sapacitabina, Stanford V, Swainsonine, Talaporfin, Tariquidar, Tegafur-uracile, Temodar, Tesetaxel, Triplatino tetranitrato, Tris(2-cloroetil)ammina, Troxacitabina, Uramustina, Vadimezan, Vinflunina, ZD6126 o Zosuquidar.

Questa divulgazione si riferisce inoltre a un metodo per usare un composto o sale di Formula (II-A) o una composizione farmaceutica fornita nella presente, in combinazione con la terapia radiante per inibire una crescita cellulare anomala o trattare il disturbo iperproliferativo nel mammifero. Le tecniche per somministrare una terapia radiante sono note nel settore, e queste tecniche possono essere usate nella terapia di combinazione descritta nella presente.

Marco Giovanni Mari
USBM 090

È possibile determinare la somministrazione di un composto della divulgazione in questa terapia di combinazione come descritto nella presente.

La radioterapia può essere somministrata attraverso uno degli svariati metodi o una combinazione di metodi, fra cui senza limiti la terapia a raggi esterni, la radioterapia interna, la radiazione implantare, la radiochirurgia stereotassica, la radioterapia sistemica, la radioterapia e la brachiterapia interstiziale permanente o temporanea. Il termine "brachiterapia", come usato nella presente, si riferisce alla radioterapia distribuita da un materiale radioattivo confinato nello spazio inserito nel corpo in corrispondenza o in prossimità di un tumore o di un altro sito di malattia del tessuto proliferativo. Il termine indica senza limiti l'esposizione agli isotopi radioattivi (per esempio, At-211, I-131, I-125, Y-90, Re-186, Re-188, Sm-153, Bi-212, P-32, e isotopi radioattivi di Lu). Fonti di radiazioni adatte per l'uso come un condizionatore di cellule della presente divulgazione includono sia i solidi che i liquidi. A titolo di esempio non limitativo, la sorgente di radiazioni può essere un radionuclide, come I-125, I-131, Yb-169, Ir-192 come sorgente solida, I-125 come sorgente solida o altri radionuclidi che emette fotoni, particelle beta, radiazioni gamma o altri raggi terapeutici. Il materiale radioattivo può anche essere un fluido costituito da qualsiasi soluzione di uno o più radionuclidi, per esempio, una soluzione di I-125 o I-131, oppure un fluido radioattivo può essere prodotto usando una sospensione di un fluido

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

adatto contenente piccole particelle di radionuclidi solidi, come Au-198, Y-90. Inoltre, i radionuclidi possono essere incorporati in un gel o in microsfele radioattive.

I composti o le composizioni farmaceutiche della divulgazione possono essere usati in combinazione con una quantità di una o più sostanze selezionate tra agenti anti-angiogenesi, inibitori della trasduzione del segnale, agenti antiproliferativi, inibitori della glicolisi o inibitori dell'autofagia.

Agenti anti-angiogenesi, come inibitori di MMP-2 (metalloproteinasi della matrice 2), inibitori di MMP-9 (metalloproteinasi della matrice 9) e inibitori di COX-11 (cicloossigenasi 11), possono essere usati in combinazione con un composto della divulgazione e composizioni farmaceutiche descritte nella presente. Gli agenti anti-angiogenesi includono, per esempio, rapamicina, temsirolimus (CCI-779), everolimus (RAD001), sorafenib, sunitinib e bevacizumab. Esempi di inibitori utili delle COX-II includono CELEBREXTM (alecoxib), valdecoxib e rofecoxib. Esempi di inibitori utili della metalloproteinasi della matrice sono descritti in WO 96/33172 (pubblicato il 24 ottobre 1996), WO 96/27583 (pubblicato il 7 marzo 1996), domanda di brevetto europeo n. 97304971.1 (depositata l'8 luglio 1997), domanda di brevetto europeo n. 99308617.2 (depositata il 29 ottobre 1999), WO 98/07697 (pubblicato il 26 febbraio 1998), WO 98/03516 (pubblicato il 29 gennaio 1998), WO 98/34918 (pubblicato il 13 agosto 1998), WO 98/34915 (pubblicato il 13 agosto 1998), WO 98/33768 (pubblicato il 6

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

agosto 1998), WO 98/30566 (pubblicato il 16 luglio 1998), pubblicazione di brevetto europeo 606,046 (pubblicato il 13 luglio 1994), pubblicazione di brevetto europeo 931, 788 (pubblicato il 28 luglio 1999), WO 90/05719 (pubblicato il 31 maggio 1990), WO 99/52910 (pubblicato il 21 ottobre 1999), WO 99/52889 (pubblicato il 21 ottobre 1999), WO 99/29667 (pubblicato il 17 giugno 1999), domanda di brevetto internazionale n. PCT/IB98/01113 (depositata il 21 luglio 1998), domanda di brevetto europeo n. 99302232,1 (depositata il 25 marzo 1999), domanda di brevetto inglese n. 9912961,1 (depositata il 3 giugno 1999), domanda provvisoria statunitense n. 60/148,464 (depositata il 12 agosto 1999), brevetto statunitense 5.863.949 (rilasciato il 26 gennaio 1999), brevetto statunitense 5.861.510 (rilasciato il 19 gennaio 1999) e pubblicazione di brevetto europeo 780,386 (pubblicata il 25 giugno 1997). Gli inibitori di MMP-2 e MMP-9 preferiti sono quelli che hanno poca o nessuna attività inibente MMP-1. Sono più preferiti quelli che inibiscono selettivamente MMP-2 e/o AMP-9 rispetto alle altre metalloproteinasie della matrice (per esempio, MAP-1, MMP-3, MMP-4, MMP-5, MMP-6, MMP-7, MMP-8, MMP-10, MMP-11, MMP-12 e MMP-13). Alcuni esempi specifici di inibitori di MMP utili nella divulgazione sono AG-3340, RO 32-3555 e RS 13-0830.

Inibitori di autofagia includono, in via non limitativa cloroquina, 3-metiladenina, idrossicloroquina (Plaquenil™), bafilomicina A1, 5-ammino-4-imidazolo carbossammide riboside (AICAR), acido okadaico, tossine algali autofagia-soppressive che inibiscono le fosfatasi proteiche di tipo 2 A o di tipo 1, analoghi di cAMP e

Marco Giovanni Mari
USBM 99-090

farmaci che elevano i livelli di cAMP come adenosina, LY204002, N6-mercaptopurina riboside e vinblastina. Inoltre, si può anche usare antisenso o siRNA che inibisce l'espressione di proteine che includono, in via non limitativa, ATG5 (che sono implicate nell'autofagia).

In alcune forme di realizzazione, i composti descritti nella presente sono formulati o somministrati in combinazione con barriere tissutali liquide o solide note anche come lubrificanti. Esempi di barriere tissutali includono, in via non limitativa, polisaccaridi, poliglicani, seprafilm, interceed e acido ialuronico.

In alcune forme di realizzazione, i medicinali che vengono somministrati in combinazione con i composti descritti nella presente includono qualsiasi farmaco adatto rilasciato mediante inalazione, per esempio, analgesici, per esempio, codeina, diidromorfina, ergotamina, fentanile o morfina; preparati anginosi, per esempio, diltiazem; antiallergici, per esempio, cromoglicato, chetotifene o nedocromil; antinfettivi, per esempio, cefalosporine, penicilline, streptomicina, solfonamidi, tetracicline o pentamidina; antistaminici, per esempio, metaprilene; anti-infiammatori, per esempio, beclometasone, flunisolide, budesonide, tipredano, triamcinolone acetonide o fluticasone; antitosse, per esempio, noscapina; broncodilatatori, per esempio, efedrina, adrenalina, fenoterolo, formoterolo, isoprenalina, metaproterenolo, fenilefrina, fenilpropanolamina, pirbuterolo, reproterolo, rimiterolo, salbutamolo, salmeterolo, terbutalina, isoetarina, tulobuterolo, orciprenalina o

Marco Giovanni Mari
USM 090

(-)-4-ammino-3,5-dicloro- α -[[[6-[2-(2-piridinil)etossi]esil]-ammino]metil]benzenmetanolo; diuretici, per esempio, amiloride; anticolinergici, per esempio, ipratropio, atropina o oxitropio; ormoni, per esempio, cortisone, idrocortisone o prednisolone; xantine, per esempio, aminofillina, colina teofillinato, lisina teofllinato o teofillina; e proteine e peptidi terapeutici, per esempio, insulina o glucagone. Sarà chiaro a una persona esperta nel settore che, laddove appropriato, i medicinali sono usati sotto forma di sali (per esempio, come sali di un metallo alcalino o un'ammina o come sali da addizione di un acido) o come esteri (per esempio, esteri di un alchile inferiore) o come solvati (per esempio, idrati) per ottimizzare l'attività e/o la stabilità del medicinale.

Altri agenti terapeutici esemplificativi utili per una terapia di combinazione includono, in via non limitativa, agenti come descritto sopra, radioterapia, antagonisti ormonali, ormoni e loro fattori di rilascio, farmaci tiroidei e antitiroidei, estrogeni e progestinici, androgeni, ormone adrenocorticotropo; steroidi della corteccia surrenale e loro analoghi sintetici; inibitori della sintesi e delle azioni degli ormoni corticosurrenali, dell'insulina, degli agenti ipoglicemizzanti orali, e della farmacologia del pancreas endocrino, agenti che influenzano la calcificazione e il turnover osseo: calcio, fosfato, ormone paratiroideo, vitamina D, calcitonina, vitamine come vitamine idrosolubili, complesso vitaminico B, acido ascorbico, vitamine liposolubili, vitamine A, K, ed E, fattori di crescita, citochine, chemochine, agonisti e

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

antagonisti del recettore di muscarinico; agenti anticolinesterasici; agenti che agiscono sulla giunzione neuromuscolare e/o sui gangli autonomi; catecolamine, farmaci simpaticomimetici e agonisti o antagonisti del recettore di adrenergico; e agonisti e antagonisti del recettore di della 5-idrossitriptamina (5-HT, serotonina).

Gli agenti terapeutici possono anche includere agenti per il dolore e l'infiammazione come antagonisti dell'istamina e dell'istamina, antagonisti della bradichinina e della bradichinina, 5-idrossitriptamina (serotonina), sostanze lipidiche che vengono generate dalla biotrasformazione dei prodotti dell'idrolisi selettiva di fosfolipidi di membrana, eicosanoidi, prostaglandine, trombossani, leucotrieni, aspirina, agenti antinfiammatori non steroidei, agenti analgesici-antipiretici, agenti che inibiscono la sintesi di prostaglandine e trombossani, inibitori selettivi della cicloossigenasi inducibile, inibitori selettivi della cicloossigenasi-2 inducibile, autacoidi, ormoni paracrini, somatostatina, gastrina, citochine che mediano le interazioni coinvolte nelle risposte immunitarie umorali e cellulari, autacoidi derivati da lipidi, eicosanoidi, agonisti β -adrenici, ipropratio, glucocorticoidi, metilxantine, bloccanti dei canali del sodio, agonisti dei recettori degli oppioidi, bloccanti dei canali del calcio, stabilizzatori di membrana e inibitori dei leucotrieni.

Ulteriori agenti terapeutici contemplati nella presente includono diuretici, vasopressina, agenti che influenzano la conservazione renale dell'acqua, rennina, angiotensina, agenti utili

nel trattamento dell'ischemia miocardica, agenti antipertensivi, inibitori dell'enzima convertente l'angiotensina, antagonisti del recettore β -adrenergico, agenti per il trattamento dell'ipercolesterolemia, e agenti per il trattamento della dislipidemia.

Altri agenti terapeutici contemplati includono farmaci usati per il controllo dell'acidità gastrica, agenti per il trattamento di ulcere peptiche, agenti per il trattamento di una malattia da reflusso gastroesofageo, agenti procinetici, antiemetici, agenti usati nella sindrome dell'intestino irritabile, agenti usati per la diarrea, agenti usati per la stitichezza, agenti usati per una malattia intestinale infiammatoria, agenti usati per una malattia biliare, agenti usati per una malattia pancreatica. Agenti terapeutici usati per trattare le infezioni da protozoi, farmaci usati per trattare malaria, amebiasi, giardiasi, tricomoniasi, tripanosomiasi e/o leishmaniosi e/o farmaci usati nella chemioterapia dell'elmintiasi. Altri agenti terapeutici includono agenti antimicrobici, solfonammidi, trimetoprim-solfametossazolo chinoloni, e agenti per infezioni del tratto urinario, penicilline, cefalosporine, e altri antibiotici β -lattamici, un agente comprendente un aminoglicoside, inibitori della sintesi proteica, farmaci usati nella chemioterapia della tubercolosi, malattia del complesso del micobatterio avium, e lebbra, agenti antifungini, agenti antivirali inclusi agenti non retrovirali e agenti antiretrovirali.

Esempi di anticorpi terapeutici che possono essere combinati con

un composto della divulgazione includono, in via non limitativa, anticorpi anti-recettore di tirosina chinasi (cetuximab, panitumumab, trastuzumab), anticorpi anti CD20 (rituximab, tositumomab) e altri anticorpi come alemtuzumab, bevacizumab e gemtuzumab.

Inoltre, i metodi usati nella presente contemplan agenti terapeutici usati per l'immunomodulazione, come immunomodulatori, agenti immunosoppressori, tolerogeni e immunostimolanti. Inoltre, agenti terapeutici che agiscono sul sangue e sugli organi che formano il sangue, agenti ematopoietici, fattori di crescita, minerali e vitamine, farmaci anticoagulanti, trombolitici e antiaggreganti piastrinici.

Per il trattamento del carcinoma renale, si può combinare un composto della presente divulgazione con sorafenib e/o avastin. Per il trattamento di un disturbo endometriale, si può combinare un composto della presente divulgazione con doxorubicina, taxotere (taxolo) e/o cisplatino (carboplatino). Per il trattamento del cancro ovarico, si può combinare un composto della presente divulgazione con cisplatino (carboplatino), taxotere, doxorubicina, topotecan e/o tamoxifene. Per il trattamento del cancro mammario, si può combinare un composto della presente divulgazione con taxotere (taxolo), gemcitabina (capecitabina), tamoxifene, letrozolo, Tarceva, lapatinib, PD0325901, avastin, erceptina, OSI-906 e/o OSI-930. Per il trattamento del cancro polmonare, si può combinare un composto della presente divulgazione con taxotere (taxolo), gemcitabina, cisplatino, pemetrexed, Tarceva, PD0325901 e/o avastin.

Marco Giovanni Mari
USM-CPT-090

Ulteriori agenti terapeutici che possono essere combinati con un composto della divulgazione si trovano in "The Pharmacological Basis of Therapeutics" di Goodman and Gilman, decima edizione, edito da Hardman, Limbird e Gilman e in Physician's Desk Reference.

I composti divulgati nella presente possono essere usati in combinazione con gli agenti divulgati nella presente o altri agenti adatti, a seconda della condizione da trattare. Pertanto, in alcune forme di realizzazione l'uno o più composti della divulgazione saranno co-somministrati con altri agenti come descritto sopra. Quando usati in terapia di combinazione, i composti descritti nella presente vengono somministrati con il secondo agente simultaneamente o separatamente. Questa somministrazione in combinazione può includere la somministrazione simultanea dei due agenti nella stessa forma di dosaggio, la somministrazione simultanea in forme di dosaggio separate e la somministrazione separata. Vale a dire che un composto descritto nella presente e uno qualsiasi degli agenti descritti sopra possono essere formulati insieme nella stessa forma di dosaggio e somministrati simultaneamente. In alternativa, un composto della divulgazione e uno qualsiasi degli agenti sopra descritti possono essere somministrati simultaneamente, in cui entrambi gli agenti sono presenti in formulazioni separate. In un'altra alternativa, un composto della presente divulgazione può essere somministrato appena seguito da e uno qualsiasi degli agenti descritti sopra, o viceversa. In alcune forme di realizzazione del protocollo di somministrazione separato, un composto della

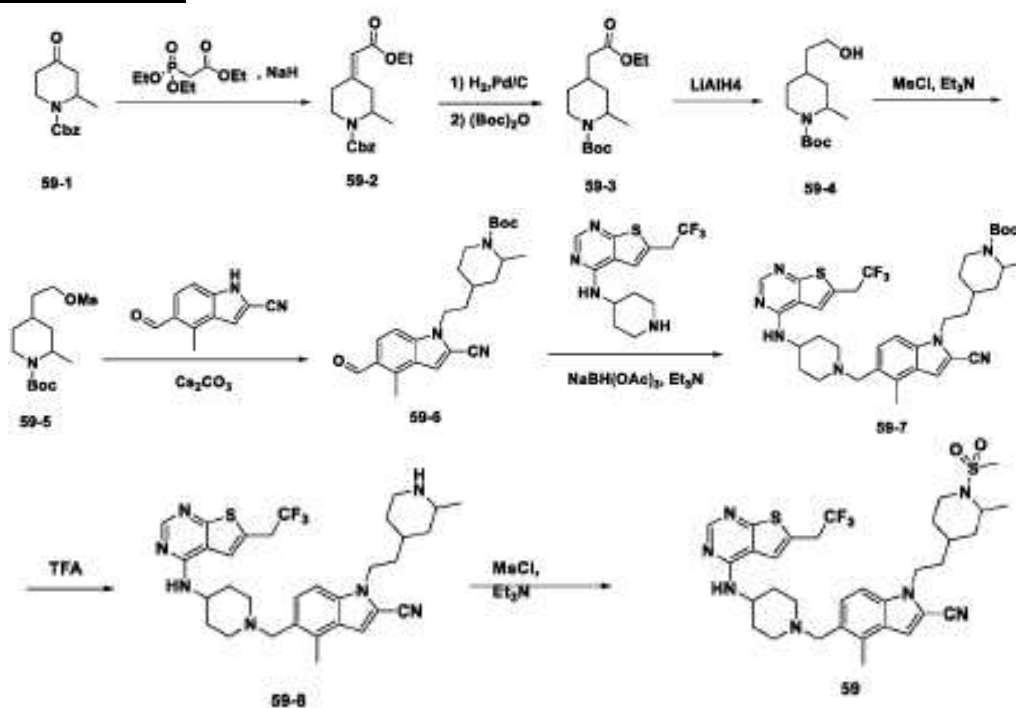
Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

divulgazione e uno qualsiasi degli agenti descritti sopra vengono somministrati a distanza di pochi minuti, o a distanza di poche ore, o a distanza di alcuni giorni.

I seguenti esempi sono forniti al fine di illustrare varie forme di realizzazione della divulgazione e non sono intesi limitare la presente divulgazione in alcun modo. I presenti esempi, insieme ai metodi e alle composizioni descritti nella presente, sono attualmente rappresentativi di forme di realizzazione preferite, sono esemplificativi e non sono intesi come limitazioni sull'ambito della divulgazione.

Esempi

Esempio di riferimento 1: sintesi del composto di riferimento 59 nella Tabella 1.



Fase A: preparazione del Composto di riferimento 59-2: A una soluzione di etil-2-(dietossilfosforil) acetato (1,91 g, 8,5 mmol) in

THF (30 ml) è stato aggiunto NaH (421 mg, 10,5 mmol) a 0°C. La reazione è stata agitata a 0°C per 0,5 ore prima di aggiungere **59-1** (2 g, 8 mmol). La miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 5 ore. È stata aggiunta acqua ghiacciata (50 ml) e il prodotto estratto con acetato di etile (50 ml × 2). Lo strato organico combinato è stato lavato con soluzione salina (50 ml), essiccato su solfato di sodio e concentrato sottovuoto. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia flash (eluato con EtOAc al 20% in etere di PET) per fornire 2,15 g di **59-2** come solido di colore bianco (resa: 85%).

Fase B: preparazione del Composto di riferimento 59-3: A una soluzione di **59-2** (905 mg, 2,85 mmol) in MeOH (20 ml) è stato aggiunto (BOC)₂O (1,24 g, 5,71 mmol) e il catalizzatore Pd/C. La miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 8 h sotto H₂. La TLC mostrava che la reazione era completa. La reazione è stata filtrata e concentrata. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice (eluato al 20% di EtOAc in etere di PET) per dare **59-3** come solido (740 mg, resa: 91%).

Fase C: preparazione del Composto di riferimento 59-4: A una soluzione di **59-3** (670 mg, 2,35 mmol) in THF (20 ml) è stato aggiunto LiAlH₄ (179 mg, 4,7 mmol) a 0°C. La reazione è stata agitata a 0°C per 2 h, quindi sono stati aggiunti 0,2 ml di H₂O, 0,2 ml di NaOH al 15% e 0,5 ml di H₂O. La miscela è stata agitata a temperatura ambiente per 1 ora. La miscela è stata filtrata e la soluzione organica è stata concentrata. Il residuo è stato purificato mediante

cromatografia su colonna di gel di silice (eluato al 40% di EtOAc in etere di PET) per dare **59-4** come solido (525 mg, resa: 92%).

Fase D: preparazione del Composto di riferimento 59-5: A una soluzione di **59-4** (486 mg, 2 mmol) e Et₃N (404 mg, 4 mmol) in CH₂Cl₂ (20 ml) è stato aggiunto MsCl (344 mg, 3 mmol) a 0°C. La reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 1 ora. La TLC mostrava che la reazione era completa. Lo strato organico combinato è stato lavato con H₂O e una soluzione salina, essiccato su solfato di sodio e concentrato sottovuoto per fornire 500 mg di **59-5** come solido di colore bianco (resa: 78%).

Fase E: preparazione del Composto di riferimento 59-6: Una miscela di **59-5** (500 mg, 1,56 mmol), Cs₂CO₃ (846 mg, 2,33 mmol) e 5-formil-4-metil-1H-indol-2-carbonitrile (143 mg, 0,78 mmol) è stata miscelata in DMF (20 ml). La miscela di reazione è stata riscaldata a 85°C per 3 h. EtOAc (200 ml) è stato aggiunto alla miscela risultante. La fase organica combinata è stata lavata con H₂O e una soluzione salina, essiccata su solfato di sodio e concentrata. Il residuo è stato purificato mediante colonna flash (eluato con 30% di EtOAc in etere di PET) per fornire 278 mg di **59-6** come solido di colore bianco (resa: 43%).

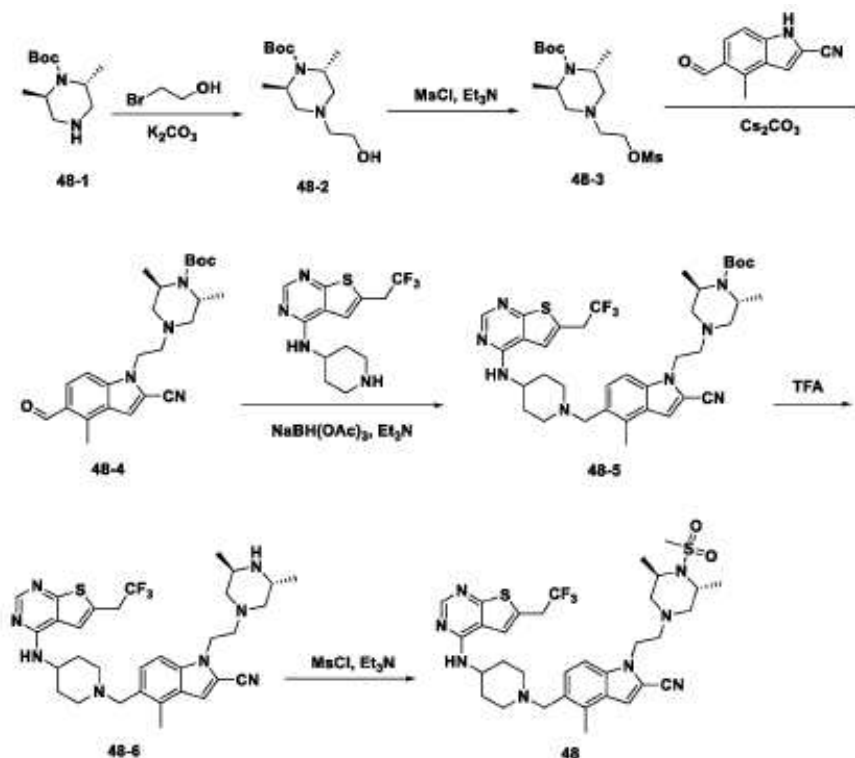
Fase F: preparazione del Composto di riferimento 59-7: Una miscela di **59-6** (278 mg, 0,68 mmol), N-(piperidin-4-il)-6-(2,2,2-trifluoroetil)tieno[2,3-d]pirimidin-4-ammina (280 mg, 0,88 mmol) ed Et₃N (412 mg, 4,08 mmol) in CH₂Cl₂ (20 ml) è stata agitata a temperatura ambiente per 1 ora. NaBH(OAc)₃ (865 mg, 4,08 mmol) è

stato aggiunto alla reazione sotto bagno di ghiaccio e la miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per tutta la notte. Il solvente è stato rimosso sottovuoto e il residuo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice (MeOH eluito al 2,5% in diclorometano) per dare **59-7** come solido di colore bianco (400 mg, resa: 82%).

Fase G: preparazione del Composto di riferimento 59-8: Una soluzione di **59-7** (200 mg, 0,28 mmol) in TFA (15 ml) è stata agitata a temperatura ambiente per 2 ore. Il solvente è stato rimosso ed è stata aggiunta una soluzione di NH₃ (7N) in MeOH (10 ml). La miscela risultante è stata concentrata e il residuo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice (eluito il 10% di MeOH in diclorometano) per fornire **59-8** come olio (164 mg, resa: 96%).

Fase H: preparazione del Composto di riferimento 59: A una soluzione di **59-8** (127 mg, 0,21 mmol) ed Et₃N (43 mg, 0,42 nmol) in CH₂Cl₂ (20 ml) è stato aggiunto MsCl (29 mg, 0,25 mmol) a 0 °C. La reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 1 ora. La TLC mostrava che la reazione era completa. La fase organica combinata è stata lavata con H₂O e una soluzione salina, essiccata su solfato di sodio, e concentrata sottovuoto per fornire 45 mg di 59 come solido di colore bianco (resa: 31%). ¹H NMR (400 MHz, DMSO) δ: 8.33(s, 1H), 7.87(s, 1H), 7.67(s, 1H) 7.45-7.56 (m, 3H), 4.35-4.32 (m, 2H), 4.08-4.02 (m, 4H), 3.57-3.54 (m, 3H), 3.17(m, 1H, 2.88-2.83(m, 6H), 2.54 (s, 3H), 2,20-1.47 (m, 12H), 1.25 (d, 3H). ESI-MS m/z: 688,84 (M+H).

Esempio di riferimento 2: sintesi del composto di riferimento 48
nella Tabella 1.



Fase A: preparazione del Composto di riferimento 48-2: Una miscela di **48-1** (300 mg, 1,40 mmol), 2-bromoetano (347 mg, 2,80 mmol) e K₂CO₃ (772 mg, 5,60 mmol) in CH₃CN (30 ml) è stata agitata a 90°C in N₂ per tutta la notte. La TLC mostrava che la reazione era completa. Il solido è stato rimosso mediante filtrazione e il solvente è stato rimosso sottovuoto. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice (eluito al 2,5% di MeOH in diclorometano) per dare **48-2** come olio di colore giallo (296 mg, resa: 82%).

Fase B: preparazione del Composto di riferimento 48-3: A una miscela di **48-2** (296 mg, 1,15 mmol) e Et₃N (232 mg, 2,30 mmol) in diclorometano (20 ml) è stato aggiunto MsCl (197 mg, 1,73 mmol) a

0°C. La miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 1 h. La TLC mostrava che la reazione era completa. NaHCO₃ acquoso saturo è stato aggiunto alla miscela di reazione. Lo strato organico è stato separato, lavato con una soluzione salina, essiccato su Na₂SO₄ anidro e concentrato. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice (petrolio eluito) per fornire **48-3** come olio (270 mg, resa: 70%).

Fase C: preparazione del Composto di riferimento 48-4: Una miscela di **48-3** (270 mg, 0,8 mmol), 5-formil-4-metil-1H-indol-2-carbonitrile (123mg, 0,67 mmol) e Cs₂CO₃ (524 mg, 1,6 mmol) in DMF (10 ml) è stata agitata a 80°C sotto N₂ per tutta la notte. Il solido è stato rimosso mediante filtrazione prima che la miscela di reazione fosse diluita con acqua ed acetato di etile. Lo strato organico è stato separato, lavato con una soluzione salina, essiccato su Na₂SO₄ anidro, concentrato e purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice (acetato di etile al 20% eluito in petrolio) per dare **48-4** come olio (169 mg, resa: 50%). ESI-MS *m/z*: 424,54 (M+H).

Fase D: preparazione del Composto di riferimento 48-5: Una miscela di **48-4** (169 mg, 0,4 mmol), N-(piperidin-4-il)-6-(2,2,2-trifluoroetil)tieno[2,3-d]pirimidin-4-ammina (190 mg, 0,6 mmol) ed Et₃N (242 mg, 2,4 mmol) in CH₂Cl₂ (20 ml) è stata agitata a temperatura ambiente per 1 ora. NaBH(OAc)₃ (508 mg, 2,4 mmol) è stato aggiunto alla reazione sotto raffreddamento con bagno di ghiaccio e la reazione della miscela è stata agitata a temperatura ambiente per tutta la notte. Il solvente è stato rimosso sottovuoto e il residuo è

stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice (MeOH 2,5% eluito in diclorometano) per dare **48-5** come olio (174 mg, resa: 60%). ESI-MS m/z : 724,88 (M+H).

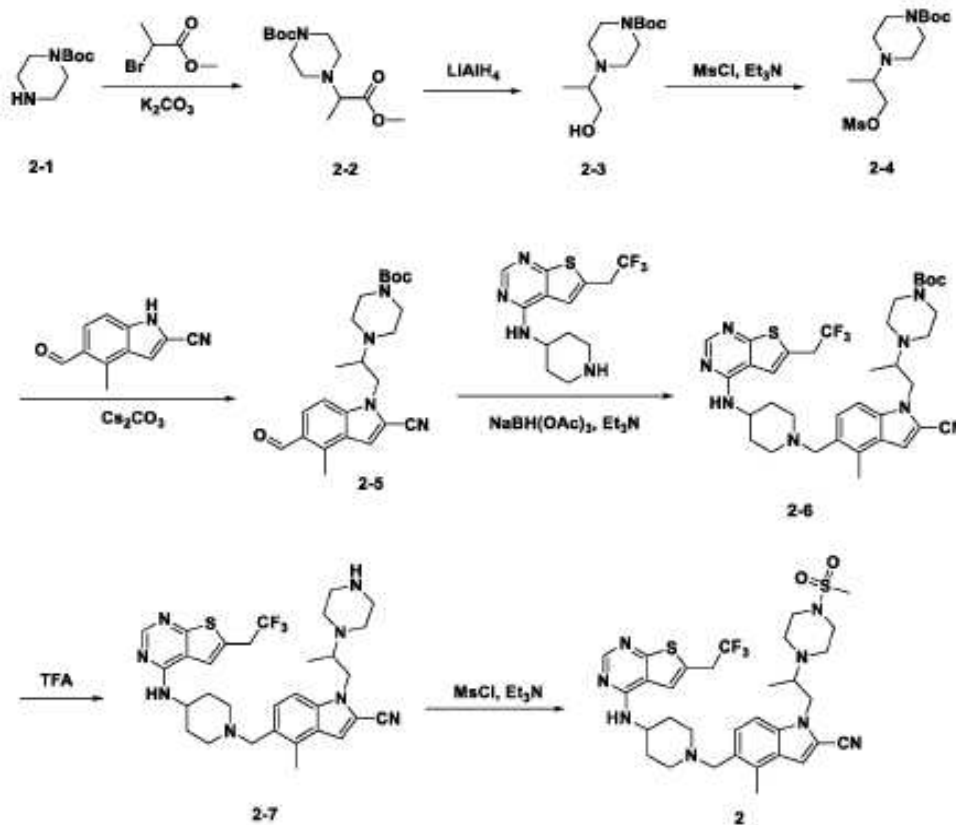
Fase E: preparazione del Composto di riferimento 48-6: A una soluzione di **48-5** (174 mg, 0,24 mmol) in CH_2Cl_2 (15 ml) è stato aggiunto TFA (5 ml). La reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 2 ore prima della rimozione del solvente. È stata aggiunta una soluzione di NH_3/MeOH (7N, 10 ml) e la miscela risultante è stata concentrata. Il residuo è purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice (eluito il 10% di MeOH in diclorometano) per dare **48-6** come olio (120 mg, resa: 80%). ESI-MS m/z : 624,30 (M+H).

Fase F: preparazione del Composto di riferimento 48: A una miscela di **48-6** (120 mg, 0,192 mmol) e Et_3N (39 mg, 0,384 mmol) in CH_2Cl_2 (10 ml) è stata aggiunta lentamente metansolfonil cloruro (33 mg, 0,288 mmol) in CH_2Cl_2 (5 ml) a -20°C sotto N_2 . La miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 2 ore. La TLC mostrava che la reazione era completa. NaHCO_3 acquoso saturo è stato aggiunto alla miscela di reazione. Lo strato organico è stato separato, lavato con una soluzione salina, essiccato su Na_2SO_4 anidro, concentrato e purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice (eluito al 10% di MeOH in diclorometano) per dare il prodotto finale **48** come solido (54 mg, resa: 40%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.48 (s, 1H), 7.38 (d, 1H), 7.21 (s, 1H), 7.15 (d, 1H), 7.08 (s, 1H), 5.10 (d, 1H), 4.34 (m, 2H), 4.24 (m, 1H), 3.87 (m, 2H), 3.65 (m, 4H), 2.93 (m,

5H), 2.71 (m, 2H), 2.63 (m, 2H), 2.57 (s, 3H), 2.29 (m, 2H), 2.21 (m, 2H), 2.10 (d, 2H), 1.61 (m, 2H), 1.31 (d, 6H); ESI-MS m/z : 702,27 (M+H).

Esempio di riferimento 3: sintesi del composto di riferimento 2 nella

Tabella 1.



Fase A: preparazione del Composto di riferimento 2-2: A una sospensione di K_2CO_3 (3,6 g, 26,5 mmol) e terz-butil piperazina-1-carbossilato (1,0 g, 5,3 mmol) in CH_3CN (15 ml) è stato aggiunto metil 2-bromopropanoato (2,2 g, 13,4 mmol). La reazione è stata agitata a $80^\circ C$ per 10 ore. La TLC mostrava che la reazione era completa. La miscela di reazione è stata lasciata raffreddare a temperatura ambiente, quindi, il solido è stato rimosso per filtrazione e il solvente è stato rimosso sottovuoto. Il residuo è stato purificato mediante cromatografia su colonna su gel di silice

(CH₂Cl₂/MeOH = 50:1) per fornire *tert*-butil 4-(1-metossi-1-ossopropan-2-il)piperazina-1-carbossilato (**2-2**) come olio di colore marrone (1,4 g, resa: 99%).

Fase B: preparazione del Composto di riferimento 2-3: A una soluzione di *tert*-butil 4-(1-metossi-1-ossopropan-2-il)piperazina-1-carbossilato (540 mg, 2 mmol) in THF (10 ml) è stato aggiunto LiAlH₄ (1,0 ml, 2,5 moli in THF) a 0°C goccia a goccia. La miscela di reazione è stata agitata alla stessa temperatura per 2 h. La TLC mostrava che la reazione era completa. La reazione è stata estinta con EtOAc. La reazione è stata ripartita tra EtOAc e H₂O, e la fase organica è stata lavata con una soluzione salina ed essiccata su Na₂SO₄. Il solvente è stato rimosso sottovuoto e il residuo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice (CH₂Cl₂/MeOH = 20:1) per dare *tert*-butil 4-(1-idrossipropan-2-il)piperazina-1-carbossilato (**2-3**) come olio di colore marrone (300 mg, resa: 65%).

Fase C: preparazione del Composto di riferimento 2-5: A una soluzione di *tert*-butil 4-(1-idrossipropan-2-il)piperazina-1-carbossilato (200 mg, 0,82 mmol) e Et₃N (171 mg, 1,64 mmol) in CH₂Cl₂ (10 ml) è stato aggiunto MsCl (112 mg, 0,98 mmol) a 0°C. La reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 30 min. La reazione è stata estinta con NaHCO₃, lavata con una soluzione salina ed essiccata su Na₂SO₄. Il solvente è stato rimosso sottovuoto per dare *tert*-butil 4-(1-((metilsolfonil)ossi)propan-2-il)piperazina-1-carbossilato (**2-4**), usato nella fase successiva senza ulteriore purificazione.

A una miscela di Cs_2CO_3 (682 mg, 2,1 mmol) e 5-formil-4-metil-1H-indol-2-carbonitrile (77 mg, 0,42 mmol) in DMF è stato aggiunto tert-butil 4-(1-((metilsolfonil)ossi)propan-2-il)piperazina-1-carbossilato in DMF. La reazione è stata agitata a 100°C per 10 ore. La miscela di reazione è stata ripartita tra EtOAc e H_2O , e la fase organica è stata lavata con una soluzione salina ed essiccata su Na_2SO_4 . Il solvente è stato rimosso sottovuoto e il residuo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice (pet. etere/EtOAc = 5:1~3:1) per dare tert-butil 4-(1-(2-ciano-5-formil-4-metil-1H-indol-1-il)propan-2-il)piperazina-1-carbossilato (**2-5**) come solido di colore giallo (90 mg, resa: 53%).

Fase D: preparazione del Composto di riferimento 2-6: Una miscela di tert-butil 4-(1-(2-ciano-5-formil-4-metil-1H-indol-1-il)propan-2-il)piperazin-1-carbossilato (90 mg, 0,22 mmol), 6-(2,2,2-trifluoroetil)-N-(piperidin-4-il)tieno-[2,3-d]pirimidin-4-ammina (100 mg, 0,26 mmol) ed Et_3N (130 mg, 1,32 mmol) in CH_2Cl_2 (10 ml) è stata agitata a temperatura ambiente per 1 ora prima di aggiungere $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (280 mg, 1,32 mmol). La miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per tutta la notte e in seguito ripartita tra CH_2Cl_2 e NaHCO_3 . La fase organica è stata lavata con una soluzione salina ed essiccata su Na_2SO_4 . Il solvente è stato rimosso sotto vuoto e il residuo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice (CH_2Cl_2 :MeOH = 50:1~20:1) per dare tert-butil 4-(1-(2-ciano-4-metil-5-((4-((6-(2,2,2-trifluoroetil)tieno[2,3-d]pirimidin-4-il)ammino) piperidin-1-il)metil)-1H-indol-1-il)propan-

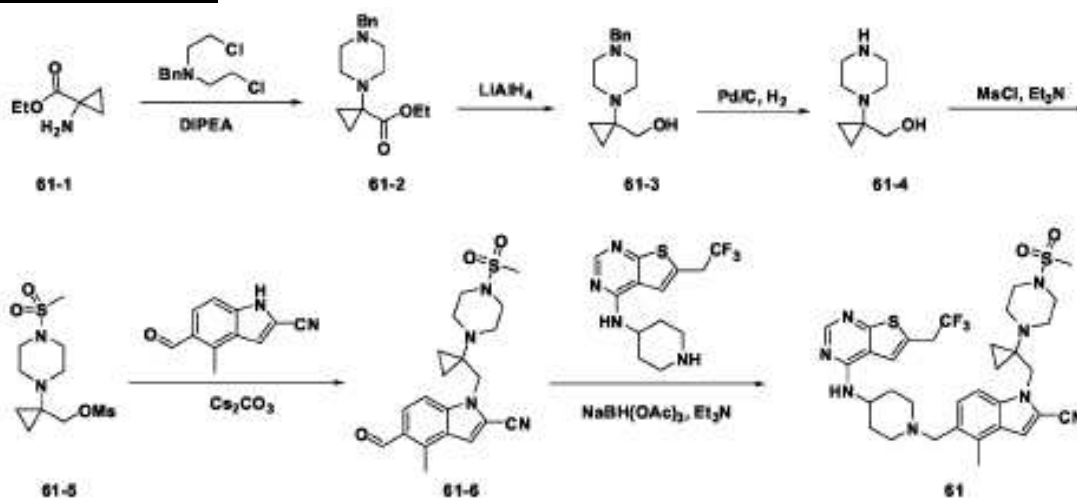
2-il)piperazina-1-carbossilato (**2-6**) come solido di colore giallo (130 mg, resa: 81%).

Fase E: preparazione del Composto di riferimento 2-7: A una soluzione di terz-butil 4-(2-(2-ciano-4-metil-5-((4-((6-(2,2,2-trifluoroetil)tieno[2,3-d]pirimidin-4-il)ammino)piperidin-1-il)metil)-1H-indol-1-il)-1-idrossietil)piperidin-1-carbossilato (130 mg, 0,21 mmol) in CH₂Cl₂ (3 ml) è stato aggiunto TFA (2 ml). La reazione è stata agitata per 4 ore prima che il solvente venisse rimosso sottovuoto. Il residuo è stato diluito con CH₂Cl₂ e lavato con NaHCO₃. La fase organica è stata lavata con una soluzione salina ed essiccata su Na₂SO₄. Il solvente è stato rimosso sottovuoto e il residuo (**2-7**) è stato usato senza ulteriore purificazione come schiuma gialla (100 mg, resa: 98%).

Fase F: preparazione del Composto di riferimento 2: A una soluzione di 4-metil-1-(2-(piperazin-1-il)propil)-5-((4-((6-(2,2,2-trifluoroetil)tieno[2,3-d]pirimidin-4-il)ammino)piperidin-1-il)metil)-1H-indol-2-carbonitrile (60 mg, 0,1 mmol) e Et₃N (36 mg, 0,4 mmol) in CH₂Cl₂ (10 ml) è stato aggiunto MsCl (21 mg, 0,2 mmol) a 0°C. La reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 30 min. La reazione è stata estinta mediante NaHCO₃, lavata con una soluzione salina ed essiccata su Na₂SO₄. Il solvente è stato rimosso e il residuo è stato purificato mediante Prep-TLC (CH₂Cl₂:MeOH = 15:1) per fornire 4-metil-1-(2-(4-(metilsolfonil)piperazin-1-il) propil)-5-((4-((6-(2,2,2-trifluoroetil)tieno[2,3-d]pirimidin-4-il)ammino)piperidin-1-il)metil)-1H-indol-2-carbonitrile (composto 2) come solido di

colore bianco (10 mg, resa: 20%). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) 8.48(s, 1H), 7.36(d, 1H), 7.20(s, 1H), 7.00–7.15(m, 2H), 5.16 (d, 1H), 4.20–4.40(m, 2H), 4.00–4.10(m, 1H), 3.60–3.70 (m, 4H), 3.10–3.30(m, 5H), 2.80–2.90 (m, 4H), 2.77 (s, 3H), 2.57 (s, 3H), 1.56–2.53(m, 8H), 1.08 (d, 3H). ESI-MS m/z : 689,25 (M+H).

Esempio di riferimento 4: sintesi del composto di riferimento 61 nella Tabella 1.



Fase A: preparazione del Composto di riferimento 61-2: Una miscela di etil 1-amminociclopropanecarbossilato cloridrato (2,4 g, 14,5 mmol), N-benzil-2-cloro-N-(2-cloroetil)etanamina cloridrato (4,26 g, 15,8 mmol) e N,N-Diisopropiletilamina (25 ml) in etanolo (32 ml) è stata agitata a riflusso per 16 ore. La miscela di reazione è stata concentrata a secchezza. Il residuo è stato ripartito tra diclorometano e acqua. Le due fasi sono state separate, e la fase acquosa è stata estratta con diclorometano. Gli strati organici combinati sono stati concentrati. Il residuo è stato purificato mediante colonna di gel di silice (etere PET/EtOAc = 1:0~10:1) per dare etile 1-(4-benzilpiperazin-1-il)ciclopropanecarbossilato (**61-2**,

1,8 g, resa: 43%) come olio di colore giallo. ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 7.37-7.27 (m, 5H), 4.19-4.13 (m, 2H), 3.54 (s, 2H), 3.00 (brs, 2H), 2.39 (brs, 2H), 1.31-1.26 (m, 5H), 7.52 (m 1H), 0.93-0.91 (m, 2H).

Fase B: preparazione del Composto di riferimento 61-3: A una miscela di etil 1-(4-benzilpiperazin-1-il)ciclopropancarbossilato (880 mg, 3 mmol) in THF (12 ml) è stato aggiunto LiAlH_4 (290 mg, 6 mmol) lentamente a 0°C . La miscela risultante è stata agitata a 0°C per 1 h. È stata aggiunta acqua (0,5 ml) seguita da acetato di etile (20 ml). Il solido è stato rimosso per filtrazione e il solvente è stato rimosso. Il residuo è stato purificato mediante colonna di gel di silice (etere PET/EtOAc = 3:1) per dare (1-(4-benzilpiperazin-1-il)ciclopropil)metanolo (**61-3**, 660 mg, resa: 88%) come solido di colore bianco.

Fase C: preparazione del Composto di riferimento 61-4: Una miscela di (1-(4-benzilpiperazin-1-il)ciclopropil)metanolo (600 mg, 2,4 mmol) e Pd/C (10%, 50 mg) in etanolo (10 ml) è stata agitata a 50°C durante la notte sotto H_2 . La miscela di reazione è stata filtrata e il filtrato è stato concentrato per fornire (1-(piperazin-1-il)ciclopropil)metanolo (**61-4**) come olio (400 mg, resa: 96%). Il prodotto grezzo è stato usato nella fase successiva senza ulteriore purificazione.

Fase D: preparazione del Composto di riferimento 61-5: A una miscela di (1-(piperazin-1-il)ciclopropil)metanolo (400 mg, 2,5 mmol) in diclorometano (10 ml) è stata aggiunta Et_3N (1,1 ml, 7,5 mmol), seguita da una miscela di metansolfonil cloruro (925 mg, 7,5 mmol) in

diclorometano (5 ml). La miscela risultante è stata agitata a temperatura ambiente per 4 ore. La miscela di reazione è stata diluita con acqua e CH₂Cl₂. La fase organica è stata essiccata su Na₂SO₄, e concentrata per fornire un prodotto grezzo (1-(4-(metilsolfonil)piperazin-1-il)ciclopropil)metil metansolfonato (**61-5**) come olio di colore marrone (500 mg).

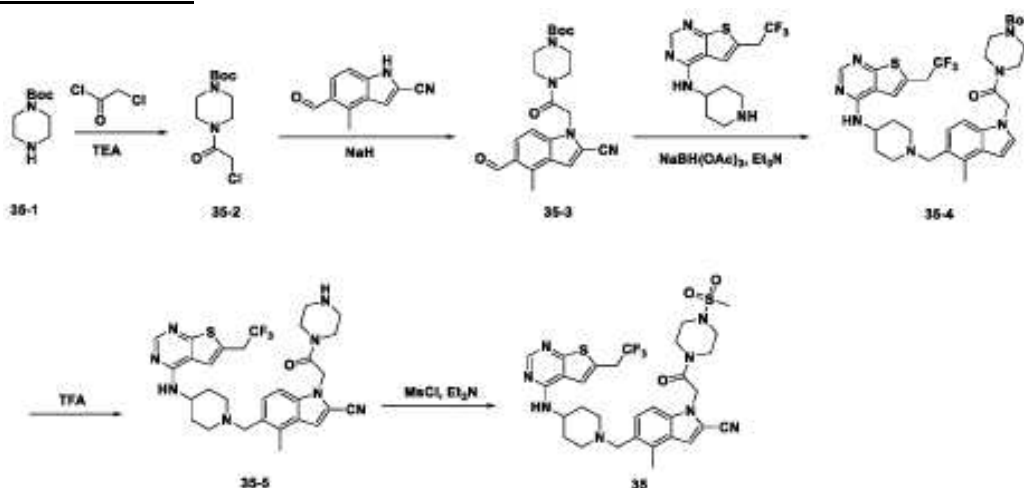
Fase E: preparazione del Composto di riferimento 61-6: Una miscela di (1-(4-(metilsolfonil)piperazin-1-il)ciclopropil)metil metansolfonato grezzo (500 mg), 5-formil-4-metil-1H-indol-2-carbonitrile (200 mg, 1,1 mmol), e K₂CO₃ (800 mg, 5,8 mmol) in acetonitrile è stata agitata a 80°C per tutta la notte. La miscela è stata filtrata e il filtrato è stato concentrato a secchezza. Il residuo è stato purificato mediante colonna di gel di silice (etere PET/EtOAc = 3:1) per dare 5-formil-4-metil-1-((1-(4-(metilsolfonil)piperazin-1-il)ciclopropil)metil)-1H-indol-2-carbonitrile (**61-6**, 330 mg) come solido di colore marrone. ESI-MS *m/z*: 401 (M+H).

Fase F: preparazione del Composto di riferimento 61: Una miscela di 5-formil-4-metil-1-((1-(4-(metilsolfonil)piperazin-1-il)ciclopropil)metil)-1H-indol-2-carbonitrile (330 mg, grezzo), N-(piperidin-4-il)-6-(2,2,2-trifluoroetil)tieno[2,3-d]pirimidin-4-ammina cloridrato (391 mg, 1,1 mmol), ed Et₃N (0,5 ml) in diclorometano (12 ml) è stata agitata a temperatura ambiente per tutta la notte. La miscela di reazione è stata diluita con acqua e CH₂Cl₂. Lo strato organico è stato separato, essiccato su Na₂SO₄ e concentrato. Il residuo è stato purificato mediante colonna di gel di silice (diclorometano/metanolo

= 50:1~30:1) per dare un prodotto grezzo. Il prodotto grezzo è stato purificato mediante Prep-TLC con diclorometano/metanolo (NH_3 7N/MeOH) = 50:1 per dare il prodotto (composto **61**) come solido incolore (12 mg). ESI-MS m/z : 701 (M+H). ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3) δ : 8.46 (s, 1H), 7.20–7.28 (m, 3H), 4.30–4.36 (m, 3H), 3.84 (brs, 2H), 3.61–3.68 (m, 2H), 3.09–3.13 (m, 6H), 2.76 (s, 3H), 2.64–2.66 (m, 4H), 2.59 (s, 3H), 2.40–2.48 (m, 2H), 2.14–2.18 (m, 2H), 1.87–1.90 (m, 2H), 0.79–0.82 (t, 2H), 0.61–0.64 (t, 2H).

Esempio di riferimento 5: sintesi del composto di riferimento 35

nella Tabella 1.



Fase A: preparazione del Composto di riferimento 35-2: Una miscela di tert-butyl piperazine-1-carbossilato (1,9 g, 10 mmol) e Et_3N (3 g, 30 mmol) in CH_2Cl_2 (40 ml) è stata agitata a 0°C prima di aggiungere lentamente 2-cloroacetil cloruro (2,2 g, 20 mmol). La miscela di reazione è stata agitata a 0°C sotto N_2 per 4 h. La TLC mostrava che la reazione era completa. La miscela di reazione è stata ripartita tra CH_2Cl_2 e H_2O , e la fase organica è stata lavata con una soluzione salina ed essiccata su Na_2SO_4 . Il solvente è stato rimosso

sottovuoto e il residuo (**35-2**) è stato usato senza ulteriori purificazioni come olio di colore giallo chiaro (2,5 g, resa: 95%).

Fase B: preparazione del Composto di riferimento 35-3: A una miscela di N-(piperidin-4-il)-6-(2,2,2-trifluoroetil)tieno[2,3-d]pirimidin-4-ammina (1 g, 4 mmol), e 5-formil-4-metil-1H-indol-2-carbonitrile (540 mg, 3 mmol) in THF (10 ml) è stato aggiunto NaH (180 mg, 4,5 mmol) a 0°C. La miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 16 ore. La miscela di reazione è stata quindi ripartita tra EtOAc e H₂O, e la fase organica è stata lavata con una soluzione salina ed essiccata su Na₂SO₄. Il solvente è stato rimosso sottovuoto e il residuo purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice (etere PET:EtOAc = 10: 1~ 1:1) per fornire tert-butil 4-(2-(2-ciano-5-formil-4-metil-1H-indol-1-il)acetil)piperazina-1-carbossilato (**35-3**) come solido di colore giallo chiaro (60 mg, resa: 4%).

Fase C: preparazione del Composto di riferimento 35-4: Una miscela di metil tert-butil 4-(2-(2-ciano-5-formil-4-metil-1H-indol-1-il)acetil)piperazina-1-carbossilato (40 mg, 0,1 mmol), N-(piperidin-4-il)-6-(2,2,2-trifluoroetil)tieno[2,3-d]pirimidin-4-ammina cloridrato (60 mg, 0,2 mmol) e Et₃N (60 mg, 0,6 mmol) in CH₂Cl₂ (5 ml) è stata agitata a temperatura ambiente per 2 ore. NaBH(OAc)₃ (120 mg, 0,6 mmol) è stato quindi aggiunto alla reazione con raffreddamento in bagno di ghiaccio. La miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per tutta la notte. La reazione è stata ripartita tra CH₂Cl₂ e NaHCO₃, e la fase organica è stata lavata con

una soluzione salina ed essiccata su Na_2SO_4 . Il solvente è stato rimosso sotto vuoto e il residuo è stato purificato mediante cromatografia su colonna di gel di silice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH} = 100:1\sim 20:1$) per dare tert-butyl 4-(2-(2-ciano-4-metil-5-((4-((6-(2,2,2-trifluoroetil)tieno[2,3-d]pirimidin-4-il)ammino)piperidin-1-il)metil)-1H-indol-1-il)acetil)piperazina-1-carbossilato (**35-4**) come solido di colore giallo (40 mg, resa: 55%).

Fase D: preparazione del Composto di riferimento 35-5: Una soluzione di tert-butyl 4-(2-(2-ciano-4-metil-5-((4-((6-(2,2,2-trifluoroetil)tieno[2,3-d]pirimidin-4-il)ammino)piperidin-1-il)metil)-1H-indol-1-il)acetil)piperazin-1-carbossilato (40 mg, 0,06 mmol) in $\text{HCl}\cdot\text{MeOH}$ (10 ml) è stata agitata a temperatura ambiente per 16 ore. La TLC mostrava che la reazione era completa. Il solvente è stato rimosso sottovuoto e il residuo (**35-5**) è stato usato senza ulteriore purificazione nella fase successiva come solido di colore giallo (35 mg, resa: 85%).

Fase E: preparazione del Composto di riferimento 35: A una miscela di 4-metil-1-(2-osso-2-(piperazin-1-il)etil)-5-((4-((6-(2,2,2-trifluoroetil)tieno[2,3-d]pirimidin-4-il)ammino)piperidin-1-il)metil)-1H-indol-2-carbonitrile (35 mg, 0,05 mmol) ed Et_3N (15 mg, 0,15 mmol) in CH_2Cl_2 (10 ml) è stata aggiunto lentamente MsCl (12 mg, 0,1 mmol) a 0°C . La miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 4 ore e quindi suddivisa tra CH_2Cl_2 e NaHCO_3 . La fase organica è stata lavata con una soluzione salina ed essiccata su Na_2SO_4 . Il solvente è stato rimosso sottovuoto e il residuo è stato

purificato mediante Prep-TLC (CH₂Cl₂:MeOH = 20:1) per fornire 4-metil-1-(2-(4-(metilsolfonil)piperazin-1-il)-2-ossoetil)-5-((4-((6-(2,2,2-trifluoroetil)tieno[2,3-d]pirimidin-4-il)ammino)piperidin-1-il)metil)-1H-indol-2-carbonitrile (composto **35**) come solido di colore bianco (16 mg, resa: 56%). ¹HNMR(400 MHz, CDCl₃) 8.42 (s, 1H), 7.84~7.76 (m, 1H), 7.33~7.22 (m, 3H), 5.15 (s, 2H), 4.37-4.08 (m, 2H), 3.78 (s, 3H), 3.69-3.61 (m, 2H), 3.44-3.30 (m, 5H), 2.86 (s, 3H), 2.70~2.54 (m, 4H), 2.15~2.06 (m, 3H), 1.35~1.23 (m, 4H), 0.91~0.85 (m, 2H).

Esempio 6: *saggio di polarizzazione di fluorescenza.* Questo esempio illustra un saggio efficace nel monitoraggio del legame di MLL a menina. Sono stati effettuati esperimenti di competizione di polarizzazione di fluorescenza (FP) per determinare l'efficacia con cui un composto inibisce l'interazione menina-MLL, riportata come valore di IC₅₀. Un peptide etichettato con fluoresceina contenente il motivo di legame a menina ad alta affinità che si trova in MLL è stato prodotto secondo Yokoyama et al. (Cell, 2005, 123(2): 207-218). Il legame del peptide etichettato (1,7 kDa) alla molto più grande menina (-67 kDa) è accompagnato da un cambiamento significativo nel tempo di correlazione rotazionale del fluoroforo, con conseguente aumento sostanziale nella polarizzazione di fluorescenza e nell'anisotropia di fluorescenza (eccitazione a 500 nm, emissione a 525 nm). L'efficacia con cui un composto inibisce l'interazione menina-MLL è stata misurata in un esperimento di competizione FP, in cui una diminuzione dell'anisotropia di fluorescenza è correlata

all'inibizione dell'interazione ed è stata usata come lettura per la determinazione di IC_{50} .

La **Tabella 3** mostra le attività biologiche di composti selezionati in un saggio di polarizzazione di fluorescenza. I numeri di composto corrispondono ai numeri e alle strutture forniti nelle **Tabelle 1 e 2** e negli **Esempi 1-5**.

Tabella 3

	Meno di 50 nM (++++)	Da 50 µM a meno di 250 nM (+++)	Da 250 nM a 1000 nM (++)	Più di 1000 nM (+)
IC₅₀	6*, 8*, 10*, 12*, 13*,	2*, 4*, 5*, 7*,	1*, 3*,	9*, 15*, 16*,
MLL 4-	14*, 18*, 20*, 22*,	11*, 17*, 19*,	24*,	23*, 35*, 47*,
43 di	27*, 28*, 64*, 65*,	21*, 25*, 29*,	26*,	60*, 62*, 71*,
Menina	73*, 80*, 85*, 88*,	30*, 43*, 46*,	44*,	170, 200*, 242,
(nM)	89*, 90*, 92*, 93*,	48*, 49*, 54*,	45*,	252, 1010*,
	115*, 119*, 123*, 129*,	61*, 68*, 69*,	52*,	1012*
	131*, 132, 134,	70*, 72*, 74*,	53*,	
	135, 136, 138, 139,	84*, 87*, 91*,	55*,	
	141*, 147, 148*, 149,	94*, 116*,	56*,	
	151, 154*, 158, 163*,	117*, 120*,	57*,	
	165, 166, 172, 175*,	121*, 122*,	58*,	
	176*, 177, 178*, 181*,	124*, 125*,	59*,	
	182*, 183, 184, 186,	126*, 127*,	66*,	
	187, 189*, 191*, 192,	128*, 130*,	67*,	
	193, 194, 196, 197,	133*, 137,	82*,	
	202*, 203*, 204*, 205,	140*, 142*,	118*,	
	206*, 207*, 209*, 210,	143*, 144*,	157*,	
	212*, 213*, 214, 215*,	145*, 146,	169*,	
	216*, 217*, 219*, 220*,	150*, 152*,	173*,	
	221*, 222, 225, 226,	153*, 155*,	201,	
	229*, 233*, 239, 243,	156*, 159*,	1000*,	
	244, 246, 247, 248,	160*, 161*,	1001*,	
	249, 250, 251, 281,	162*, 164*,	1011*	
	282, 283, 1020*, 1021*,	167, 168*, 171,		
	1022*, 1024*, 1025*,	174, 179, 180,		
	1026*, 1027*	185, 188*,		
		190*, 195*,		
		198, 199*, 208,		
		211, 230*, 241,		
		245, 280*,		
		1002*, 1003*,		
		1013*, 1023*		

* composto di riferimento.

Esempio 7: saggio omogeneo di fluorescenza a risoluzione temporale (HTRF). Un saggio omogeneo di fluorescenza a risoluzione temporale (HTRF) viene usato come saggio secondario per confermare i risultati del saggio FP. In alcune forme di realizzazione, il saggio HTRF è il saggio primario e il saggio FP viene usato come saggio

secondario per confermare i risultati. L'HTRF si basa sul trasferimento di energia non radiativa dell'emissione di lunga durata dal donatore di criptato di europio (Eu^{3+} -criptato) all'accettore di alloficocianina (XL665), combinato con il rilevamento risolto nel tempo. Un donatore di Eu^{3+} -criptato viene coniugato con l'anticorpo monoclonale anti-6His di topo (che si lega al menino etichettato con His) e l'accettore XL665 è coniugato alla streptavidina (che si lega al peptide MLL biotinilato). Quando questi due fluorofori sono riuniti dall'interazione di menina con il peptide MLL, il trasferimento di energia all'accettore determina un aumento dell'emissione di fluorescenza a 665 nm e un aumento del rapporto HTRF (intensità di emissione a 665 nm/intensità di emissione a 620 nm). L'inibizione dell'interazione menina-MLL separa il donatore dall'accettore, determinando una diminuzione dell'emissione a 665 nm e una diminuzione del rapporto HTRF.

Esempio 8: *saggio di impegno di menina.* Preparazione del campione: 2,5 μl di composto 100 μM vengono aggiunti a 47,5 μl di menina 526 nM in PBS (composto 500 nM di menina 5 μM in concentrazione finale di DMSO al 5%). La reazione viene incubata a temperatura ambiente per periodi di tempo variabili ed estinta con 2,5 μl di acido formico al 4% (FA, concentrazione finale dello 0,2%). Metodo: Per raccogliere i dati dei campioni sotto il controllo del software XCalibur sono stati usati un autocampionatore Thermo Finnigan Surveyor, un rilevatore UV PDA Plus e una pompa MS insieme a uno spettrometro di massa a trappola ionica lineare LTQ. Un campione

da 5 µl in modalità "no waste" è stato iniettato su un Phenomenex Jupiter 5 u 300 A C5 (colonna di guardia) 2 × 4,00 mm a 45 °C. Composizione fase mobile: Tampone A (acqua 95:5:acetonitrile, 0,1% FA) e Tampone B (acetonitrile, 0,1% FA). L'eluizione a gradiente è stata usata con una fase mobile iniziale di 85:15 (tampone A:B) e una portata di 250 µl/min. A seguito di iniezione, 85:15 A:B è stato mantenuto per 1,3 min, il tampone B è stato aumentato al 90% per 3,2 min, mantenuto per 1 minuto, quindi riportato alle condizioni iniziali in 0,1 min e mantenuto per 2,4 min. Il tempo di esecuzione totale è di 8 min. Per i primi 2 min del metodo del campione è stata usata una valvola di deviazione post-colonna impiegata per dirigere i sali di volume vuoti verso i rifiuti. L'iniezione di bianco di Tampone A viene usata tra ciascuna delle iniezioni del campione. È stato usato un lavaggio con ago di acetonitrile 1:1:acqua con 0,1% di FA. La sorgente di ionizzazione elettrospray (ESI) ha usato una temperatura capillare di 300°C, un flusso di gas di guaina di 40 unità, un flusso di gas aux di 20 unità, un flusso di gas di spazzamento di 3 unità, una tensione di spruzzo di 3,5 kV, una lente a tubo di 120 V. Raccolta dati: La raccolta dei dati è stata effettuata nella modalità di scansione completa a ioni positivi 550-1500 Da, 10 microscansioni, tempo massimo di ione di 200 ms. Analisi dei dati: Gli spettri di massa delle proteine sono stati acquisiti come file di dati XCalibur. Le migliori scansioni sono state aggiunte usando XCalibur Qual Browser. Gli spettri sono stati visualizzati usando "Vista/elenco spettri" con un'opzione di visualizzazione per

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT090

visualizzare tutti i picchi. Il menu Modifica/Copia cella è stato usato per copiare lo spettro di massa negli appunti del PC. Lo spettro negli appunti del PC è stato incollato in Excel. Le prime due colonne (m/z e Intensità sono state mantenute e la terza colonna (Relativa) è stata eliminata. Le restanti due colonne sono state quindi salvate come file delimitato da tabulazioni (m/z e intensità) come filename.txt da Excel. Il programma Masslynx Databridge è stato quindi usato per convertire il file delimitato da tabulazione nomefile.txt nel formato Masslynx. In alcuni casi, in Masslynx è stata applicata una calibrazione esterna usando uno spettro di mioglobina (convertito in modo simile) per correggere i valori m/z dei dati della proteina menina m/z. Il software MaxEnt1 della suite software MassLynx è stato usato per la deconvoluzione dello spettro di massa per ottenere il MW medio delle proteine. La percentuale di formazione di addotti covalenti è stata determinata dallo spettro deconvoluto e usata per calcolare la velocità di reazione (k) della reazione covalente.

Esempio 9: *saggio di proliferazione cellulare.* La capacità di un composto della presente divulgazione di inibire la crescita di cellule, come cellule di leucemia umana, cellule di leucemia mieloide acuta, cellule con una fusione MLL, cellule di controllo senza una fusione VCaP, LNCaP, 22RV1, DU145, LNCaP-AR, MV4;11, KOPN-8, ML-2, MOLM-13, RS4;11, SEM, cellule di midollo osseo (BMC), MLL-AF9, MLL-AF4, MLL-ENL, MLL-CBP, MLL-GAS7, MLL-AF1p, MLL-AF6, HM-2, E2A-HLF, REH, U937, K562, KG-1, HL-60 and NB4 viene saggiata usando un saggio

di vitalità cellulare, come il saggio di vitalità cellulare luminescente Promega CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay (Promega Technical Bulletin, 2015, "CellTiter-Glo® Luminescent Cell Viability Assay": 1-15). Le cellule vengono piastrate a concentrazioni rilevanti, per esempio, circa 1×10^5 - 2×10^5 cellule per pozzetto in una piastra a 96 pozzetti. Un composto della presente divulgazione viene aggiunto a una concentrazione fino a circa 2 μM con otto diluizioni seriali di 2 volte per ciascun composto. Le cellule vengono incubate a 37°C per un periodo di tempo, per esempio, 72 ore; quindi, vengono contate le cellule nei pozzetti di controllo. I terreni vengono cambiati per ripristinare i numeri di cellule vitali alla concentrazione originale e i composti vengono riforniti nuovamente. La proliferazione viene misurata circa 72 ore dopo usando reagenti Promega CellTiter-Glo®, secondo le istruzioni del kit. Determinati composti divulgati nella presente hanno mostrato valori di GI_{50} inferiori a 250 nM o inferiori a 50 nM quando testati in cellule MV4;11. Come usato negli Esempi, il valore di GI_{50} di un composto è la concentrazione del composto per il 50% dell'inibizione massima della proliferazione cellulare.

La **Tabella 4** mostra le attività biologiche di composti selezionati in un saggio di proliferazione cellulare. I numeri di composto corrispondono ai numeri e alle strutture forniti nelle **Tabelle 1 e 2** e negli **Esempi 1-5**.

Tabella 4

	Meno di 10 nM (++++)	Da 10 nM a meno di 50 nM (+++)	Da 50 nM a meno di 250 nM (++)	Da 250 nM a 1000 nM (+)
MLL-AF9	132, 135, 151, 163*,	10*, 80*, 138,		9*
BMC GI₅₀ (nM)	165, 172, 177, 183, 199*, 203*, 205, 207*, 214	139, 171, 174, 175*, 176*, 181*, 217*		
* composto di riferimento.				

Esempio 10: *analisi RT-PCR di bersagli a valle della proteina di fusione di MLL.* L'effetto di un composto della presente divulgazione sull'espressione di uno o più bersagli a valle della proteina di fusione MLL viene valutato mediante RT-PCR. Le cellule, come la cellula di leucemia umana, cellula di leucemia mieloide acuta, cellule con una fusione MLL, cellule di controllo senza una fusione MLL, VCaP, LNCaP, 22RV1, DU145, LNCaP-AR, MV4;11, KOPN-8, ML-2, MOLM-13, RS4;11, SEM, cellule di midollo osseo (bmc), le cellule MLL-AF9, MLL-AF4, MLL-ENL, MLL-CBP, MLL-GAS7, MLL-AF1p, MLL-AF6, HM-2, E2A-HLF, REH, U937, K562, KG-1, HL-60 e NB4, vengono trattate con una concentrazione efficace di un composto divulgato nella presente per circa 7 giorni o meno, quindi l'RNA totale viene estratto dalle cellule usando qualsiasi kit disponibile come un kit RNeasy mini (QIAGEN) secondo le istruzioni del produttore. L'RNA totale viene trascritto inversamente usando un kit High Capacity cDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems) e la quantificazione relativa dei trascritti genici rilevanti (per esempio, *Hoxa9*, *DLX2* e *Meis1*) viene determinata mediante PCR in tempo reale. È previsto che l'inibizione efficace dell'interazione menina-MLL abbia come risultato la

Marco Giovanni Mari
 USBM-CPT-090

sottoregolazione dei bersagli a valle di MLL, inclusi *Hoxa9*, *DLX2* e *Meis1*.

Esempio 11: *studi di farmacocinetica nei topi.* La farmacocinetica degli inibitori di menina-MLL viene determinata in topi C57BL/6 femmina dopo dosaggio endovenoso (iv) a 15 mg/kg e dosaggio orale (po) a 30 mg/kg. I composti vengono disciolti nel veicolo contenente il 25% (v/v) di DMSO, il 25% (v/v) di PEG-400 e il 50% (v/v) di PBS. I campioni di sangue in serie (50 µl) vengono raccolti nell'arco di 24 h, centrifugati a 15,000 rpm per 10 min e conservati per l'analisi. Le concentrazioni plasmatiche dei composti vengono determinate mediante il metodo LC-MS/MS sviluppato e convalidato per questo studio. Il metodo LC-MS/MS consiste in un sistema HPLC Agilent 1200 e la separazione cromatografica del composto testato viene ottenuto usando una colonna Agilent Zorbax Extend-C18 (5 cm × 2,1 mm, 3,5 µm; Waters). Per il rilevamento si usa uno spettrometro di massa AB Sciex QTrap 3200 dotato di una sorgente di ionizzazione elettrospray (ABI-Sciex, Toronto, Canada) nella modalità di monitoraggio a reazione multipla a ioni positivi (MRM). Tutti i parametri farmacocinetici sono calcolati con metodi non compartimentali usando WinNonlin® versione 3,2 (Pharsight Corporation, Mountain View, CA, USA).

Esempio 12: *studio di efficacia nel modello tumorale di xenotrapianto di topo.* Topi immunodeficienti, come topi nudi femmina (nu/nu) di 8-10 settimane di età, vengono usati per studi di efficacia *in vivo* in conformità con le linee guida approvate da

IACUC. Cellule leucemiche, come cellule leucemiche umane MV4-11 disponibili da ATCC, vengono impiantate per via sottocutanea tramite ago in topi nudi femmina (5×10^6 cellule/topo). Quando il tumore raggiunge una dimensione di circa 150-250 mm³ nei topi, i topi portatori di tumore vengono assegnati in modo casuale a un gruppo di controllo con veicolo o a un gruppo di trattamento composto (8 animali per gruppo). Gli animali vengono trattati con un composto della presente divulgazione mediante sonda gastrica orale o iniezione intraperitoneale in una quantità e frequenza appropriate che possono essere determinate dal tecnico esperto senza sperimentazione indebita. Il volume tumorale sottocutaneo nei topi nudi e il peso corporeo dei topi vengono misurati due volte alla settimana. I volumi tumorali vengono calcolati misurando due diametri perpendicolari con pinze ($V = (\text{lunghezza} \times \text{larghezza}^2)/2$). La percentuale di inibizione della crescita tumorale (%TGI = $1 - [\text{variazione del volume tumorale nel gruppo di trattamento}/\text{variazione del volume tumorale nel gruppo di controllo}] \times 100$) viene usata per valutare l'efficacia antitumorale. La significatività statistica viene valutata usando un t-test a due campioni a una coda. $P < 0,05$ è considerato statisticamente significativo.

Esempio 13: *studio di efficacia nel modello di xenotrapianto di tumore prostatico.* Topi immunodeficienti, come topi maschi CB17 di 4-6 settimane con immunodeficienza combinata grave (SCID), vengono usati per studi di efficacia *in vivo* in conformità con le linee guida approvate da IACUC. Cellule di cancro prostatico parentale, come

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

cellule VCaP o LNCaP-AR, vengono impiantate per via sottocutanea in topi maschi CB.17.SCID ($3-4 \times 10^6$ cellule nel 50% di Matrigel). Quando il tumore raggiunge una dimensione palpabile di circa 80 mm^3 , i topi portatori di tumore vengono assegnati in modo casuale a un gruppo di controllo con veicolo o di trattamento composto (6 o più animali per gruppo). Gli animali vengono trattati con un composto della presente divulgazione mediante iniezione intraperitoneale in una quantità e frequenza appropriate come può essere determinato dal tecnico esperto senza sperimentazione indebita. In un esempio, i topi vengono trattati con 40 mg/kg di un composto della presente divulgazione ogni giorno mediante iniezione i.p. per due settimane, quindi 5 giorni alla settimana successivamente. Il volume tumorale sottocutaneo e il peso corporeo dei topi vengono misurati due volte alla settimana. I volumi tumorali vengono calcolati misurando due diametri perpendicolari con pinze ($V = (\text{lunghezza} \times \text{larghezza}^2)/2$).

Esempio 14: studio di efficacia nel modello di xenotrapianto di tumore prostatico resistente alla castrazione (VCaP). Topi immunodeficienti, come topi maschi CB17 di 4-6 settimane con immunodeficienza combinata grave (SCID), vengono usati per studi di efficacia *in vivo* in conformità con le linee guida approvate da IACUC. Cellule di cancro prostatico parentale, come cellule VCaP, vengono impiantate per via sottocutanea in topi maschi CB.17.SCID ($3-4 \times 10^6$ cellule in 50% Matrigel). Quando il tumore raggiunge una dimensione di circa $200-300 \text{ mm}^3$, i topi portatori di tumore vengono fisicamente castrati e i tumori osservati per la regressione e la

ricrescita a circa 150 mm³. I topi portatori di tumore vengono assegnati in modo casuale a un gruppo di trattamento con veicolo di controllo o composto (6 o più animali per gruppo). Gli animali vengono trattati con un composto della presente divulgazione mediante iniezione intraperitoneale in una quantità e frequenza appropriate come può essere determinato dal tecnico esperto senza sperimentazione indebita. In un esempio, i topi vengono trattati quotidianamente con 40 mg/kg di un composto della presente divulgazione mediante iniezione i.p. Il volume tumorale sottocutaneo e il peso corporeo dei topi vengono misurati due volte alla settimana. I volumi tumorali vengono calcolati misurando due diametri perpendicolari con pinze ($V = (\text{lunghezza} \times \text{larghezza}^2)/2$).

Esempio 15: *studio di efficacia nel modello di xenotrapianto di tumore prostatico resistente alla castrazione (LNCaP-AR).* Topi immunodeficienti, come topi maschi CB17 di 4-6 settimane con immunodeficienza combinata grave (SCID), vengono usati per studi di efficacia *in vivo* in conformità con le linee guida approvate da IACUC. Topi CB.17.SCID vengono castrati chirurgicamente e lasciati recuperare per 2-3 settimane prima di impiantare cellule di cancro prostatico parentale, come cellule LNCaP-AR, per via sottocutanea in ($3-4 \times 10^6$ cellule in Matrigel al 50%). Quando il tumore raggiunge una dimensione di circa 80-100 mm³, i topi portatori di tumore vengono assegnati in modo casuale a un gruppo di trattamento con veicolo di controllo o composto (6 o più animali per gruppo). Gli animali vengono trattati con un composto della presente divulgazione

mediante iniezione intraperitoneale in una quantità e frequenza appropriate come può essere determinato dal tecnico esperto senza sperimentazione indebita. In un esempio, i topi vengono trattati quotidianamente con 60 mg/kg di un composto della presente divulgazione mediante iniezione i.p. per 27 giorni. Il volume tumorale sottocutaneo e il peso corporeo dei topi vengono misurati due volte alla settimana. I volumi tumorali vengono calcolati misurando due diametri perpendicolari con pinze ($V = (\text{lunghezza} \times \text{larghezza}^2)/2$).

Esempio 16: *saggio di spostamento termico cellulare (CETSA)*. Per gli esperimenti CETSA con lisato cellulare, le cellule coltivate da linee cellulari (per esempio, HEK293, campioni di midollo osseo) vengono raccolte e lavate con PBS. Le cellule vengono diluite in tampone chinamico (KB) (Tris(idrossimetil)-amminometano cloridrato 25 mM (Tris-HCl, pH 7,5), beta-glicerofosfato 5 mM, ditiotreitolo 2 mM (DTT), ossido di vanadio e sodio 0,1 mM, cloruro di magnesio 10 mM) o in soluzione salina tamponata con fosfato (PBS) (tampone fosfato 10 mM (pH 7,4), cloruro di potassio 2,7 mM e cloruro di sodio 137 mM). Tutti i tamponi sono integrati con il cocktail inibitore delle proteasi Complete. Le sospensioni cellulari vengono congelate-scongelate tre volte usando azoto liquido. La frazione solubile (lisato) viene separata dai detriti cellulari mediante centrifugazione a 20000 x g per 20 minuti a 4°C. I lisati cellulari vengono diluiti con un tampone appropriato e divisi in due aliquote, di cui una viene trattata con il farmaco e l'altra con il diluente

dell'inibitore (controllo). Dopo 10-30 minuti di incubazione a temperatura ambiente i rispettivi lisati vengono suddivisi in aliquote più piccole (50µl) e riscaldati singolarmente a temperature differenti per 3 minuti seguiti da raffreddamento per 3 minuti a temperatura ambiente. Le temperature appropriate sono determinate negli esperimenti preliminari CETSA. I lisati riscaldati vengono centrifugati a 20000 x g per 20 minuti a 4°C al fine di separare le frazioni solubili dai precipitati. I surnatanti vengono trasferiti in nuove microprovette e analizzati mediante elettroforesi su gel di poliacrilammide di sodio dodecil solfato (SDS-PAGE) seguita da analisi western blot.

Per gli esperimenti su cellule intatte, le cellule trattate con farmaci degli esperimenti in vitro di cui sopra vengono riscaldate come descritto in precedenza, seguite dall'aggiunta di KB (30µl) e lisate usando 2 cicli di congelamento-scongelo con azoto liquido. Le frazioni solubili vengono isolate e analizzate mediante Western blot.

Per gli esperimenti sui topi in vivo, vengono usati lisati di tessuti congelati. Gli organi congelati (per esempio, fegato o reni) vengono scongelati su ghiaccio e risciacquati brevemente con PBS. Gli organi vengono omogeneizzati in PBS freddo usando smerigliatrici tissutali seguite da 3 cicli di congelamento-scongelo usando azoto liquido. I lisati tissutali vengono separati dai detriti cellulari e dai lipidi. I lisati tissutali vengono diluiti con inibitori della proteasi contenenti PBS, suddivisi in aliquote da

50µl e riscaldati a temperature differenti. Le frazioni solubili vengono isolate e analizzate mediante Western blot.

Si prevede che le aliquote trattate con uno o più dei composti divulgati nella presente mostrino una maggiore stabilizzazione termica di menina rispetto alle aliquote di controllo.

Esempio 17: *esperimenti dot-blot simil CETSA su proteine purificate.* La proteina purificata (0,5 µg) viene aggiunta ai pozzetti di una piastra per PCR e il volume regolato a 50 µl mediante aggiunta di tampone o lisati cellulari e ligandi a seconda della configurazione sperimentale. I campioni vengono riscaldati per il tempo e la temperatura designati in un termociclatore. Dopo il riscaldamento, i campioni vengono immediatamente centrifugati per 15 min a 3000 x g e filtrati usando una piastra filtrante Multiscreen HTS 96 pozzetti da 0,65 µm. 3 µl di ciascun filtrato vengono tamponati su una membrana di nitrocellulosa. L'anticorpo primario e il coniugato secondario vengono usati per l'immunoblotting. Tutte le membrane sono bloccate con tampone di blocco; vengono usati i protocolli standard di trasferimento e Western blot raccomandati dai produttori. Tutti gli anticorpi vengono diluiti in tampone di blocco. Viene sviluppato il dot-blot. Le intensità di chemiluminescenza vengono rilevate e visualizzate. Le immagini di dot blot grezze vengono elaborate. Il fondo viene sottratto e le intensità vengono quantificate. I grafici sono tracciati e adattati usando la dose-risposta sigmoidale (pendenza variabile).

Esempio 18: *saggio di proliferazione cellulare.* La capacità di

un composto della presente divulgazione di inibire la crescita di cellule è stata saggiata in entrambe le linee cellulari di leucemia MLL (per esempio, MV4;11, MOLM13 e/o KOPN8) e nelle linee cellulari di controllo (per esempio, K562, REH, U937, KG-1, e/o HL-60) usando il saggio di proliferazione cellulare MTT (ATCC® 30-1010K). Uno o più composti divulgati nella presente, per esempio, un composto fornito nella Tabella 3 avente un valore di IC₅₀ inferiore a 1 µM, preferibilmente inferiore a 50 nM (una misurazione che riflette la capacità del composto di interrompere l'interazione menina-MLL, misurata secondo l'Esempio 6), inibisce la proliferazione delle linee cellulari di leucemia MLL (cellule MV4;11 e MOLM13) pur avendo un effetto inibitorio molto più debole sulla proliferazione delle linee cellulari di controllo (per esempio, cellule K562 e REH) alla stessa concentrazione. Le cellule sono state piastrate a circa 1×10⁵ cellule per pozzetto in una piastra a 96 pozzetti. Un composto della presente divulgazione è stato aggiunto a una concentrazione fino a circa 2 µM con sette diluizioni seriali di 2 volte per ciascun composto. Le cellule sono state incubate a 37°C per 72 ore, quindi, sono state contate le cellule nei pozzetti di controllo. I terreni sono stati cambiati per ripristinare i numeri di cellule vitali alla concentrazione originale e i composti sono stati nuovamente forniti. La proliferazione è stata misurata 96 ore dopo usando reagenti MTT, secondo le istruzioni del kit. Il valore di GI₅₀ di un composto della presente divulgazione, come il Composto B di Figura 4, era di 35 nM in cellule MV4;11 (MLL-AF4 AML), 75 nM in cellule MOLM13 (MLL-AF9

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

AML), 1500 nM in cellule K562 e 2000 nM in cellule REH, come misurato mediante il saggio di proliferazione cellulare MTT. Il valore di GI_{50} di un composto della presente divulgazione, come il Composto C della Figura 8, era 15 nM in cellule MV4;11 (LMA MLL-AF4), 16 nM in cellule MOLM13 (LMA MLL-AF9), 20 nM in cellule KOPN8 (LMA MLL-ENL), 1500 nM in cellule REH, superiore a 6000 nM in cellule K562 e superiore a 6000 nM in cellule U937, come misurato mediante il saggio di proliferazione cellulare MTT. Il valore di GI_{50} di un composto della presente divulgazione, come il Composto D della Figura 11, era 10 nM in cellule MV4;11 (LMA MLL-AF4), 17 nM in cellule MOLM13 (LMA MLL-AF9), 18 nM in cellule KOPN8 (LMA MLL-ENL), superiore a 2000 nM in cellule HL-60 e superiore a 2000 nM in cellule U937. Le cellule REH, K562, KG-1 e U937 sono linee cellulari di controllo senza fusioni di MLL. Determinati composti divulgati nella presente hanno mostrato valori di GI_{50} nell'intervallo da 1500 nM a più di 6000 nM quando testati in cellule REH, K562, KG-1 e U937. Determinati composti divulgati nella presente hanno mostrato valori di GI_{50} nell'intervallo da 5 nM a 25 nM quando testati in cellule MV4;11 (AML MLL-AF4), cellule MOLM13 (AML MLL-AF9), cellule di midollo osseo murino (AML rMML-AF9), cellule KOPN8 (AML MLL-ENL), cellule RS4;11 (ALL MLL-AF4) o cellule SEM (ALL MLL-AF4).

Esempio 19: *studio di efficacia nel modello tumorale di xenotrapianto di topo.* Uno o più composti divulgati nella presente, per esempio, un composto fornito in Tabella 3 avente un valore di IC_{50} inferiore a 1 μ M, preferibilmente inferiore a 50 nM (una misurazione

che riflette la capacità del composto di interrompere l'interazione menina-MLL, misurata secondo l'Esempio 6), forniscono la soppressione della crescita tumorale MV4;11 (leucemia umana) in modelli di xenotrapianto murino. Topi nudi femminili (nu/nu) immunocompromessi di 8-10 settimane di età sono stati usati per studi di efficacia *in vivo* in conformità con le linee guida IACUC. Cellule leucemiche MV4;11 umane disponibili da ATCC sono state impiantate per via sottocutanea in topi nudi femmina (5×10^6 cellule/topo). Quando il tumore ha raggiunto una dimensione compresa tra circa 150 e 250 mm³, i topi portatori di tumore sono stati assegnati in modo casuale a un gruppo di controllo con veicolo o a un gruppo di trattamento con composto (8 topi per gruppo). Ai topi in ciascun gruppo di trattamento è stato somministrato un composto della presente divulgazione mediante sonda gastrica orale al dosaggio indicato (50 mg/kg, BID; 50 gm/kg, qd; 100 mg/kg, bid; 100 mg/kg, qd; 200 mg/kg, qd.; o 200 mg/kg, bid). Il volume tumorale sottocutaneo e il peso corporeo del topo sono stati misurati due volte alla settimana. I volumi tumorali sono stati calcolati misurando due diametri perpendicolari con pinze ($V = (\text{lunghezza} \times \text{larghezza}^2)/2$). Come mostrato nella Figura 4, un composto fornito nella Tabella 3 avente un valore di IC₅₀ inferiore a 50 nM (una misurazione che riflette la capacità del composto di interrompere l'interazione menina-MLL, misurata secondo l'Esempio 6), etichettato come Composto B nella figura, ha inibito la crescita tumorale e indotto la regressione tumorale rispetto al gruppo di controllo con veicolo in modo dose-

dipendente. Come mostrato nella Figura 8, un composto fornito nella Tabella 3 avente un valore di IC_{50} inferiore a 50 nM (una misurazione che riflette la capacità del composto di interrompere l'interazione menina-MLL, misurata secondo l'Esempio 6), etichettato come Composto C nella figura, ha inibito la crescita tumorale e indotto la regressione tumorale rispetto al gruppo di controllo con veicolo in modo dipendente dalla dose.

Esempio 20: *studio di efficacia su modello murino di leucemia MLL da xenotrapianto.* Uno o più composti divulgati nella presente, per esempio, un composto fornito in Tabella 3 avente un valore di IC_{50} inferiore a 1 μ M, preferibilmente inferiore a 50 nM (una misurazione che riflette la capacità del composto di interrompere l'interazione menina-MLL, misurata secondo l'Esempio 6), forniscono la soppressione della crescita tumorale di MV4;11 in un modello murino di leucemia MLL da xenotrapianto. Topi NSG femmina immunocompromessi di 8-10 settimane sono stati usati per studi di efficacia *in vivo* in conformità con le linee guida IACUC. Cellule leucemiche umane esprimenti luciferasi MV4;11 (MV4;11-luc) sono state innestate per via endovenosa tramite iniezione nella vena della coda (1×10^7 cellule/animale). Quando la luminescenza media delle cellule ha raggiunto circa $1,5 \times 10^6$, i topi portatori di tumore sono stati assegnati in modo casuale a un gruppo di controllo con veicolo o a un gruppo di trattamento con composto (5 animali per gruppo). Agli animali in ciascuno dei gruppi di trattamento è stato somministrato un composto differente della presente divulgazione mediante sonda

gastrica orale (120 mg/kg b.i.d., 150 mg/kg b.i.d., 200 mg/kg b.i.d., o 200 mg/kg q.d.). Il peso corporeo è stato misurato quotidianamente, mentre la luminescenza media è stata misurata 6 giorni dopo l'inizio del trattamento con il composto o il veicolo.

Come mostrato nella figura 5, un regime di trattamento di 200 mg/kg b.i.d. del Composto B della presente divulgazione ha inibito la crescita tumorale e indotto la regressione tumorale rispetto al gruppo di controllo con veicolo. Al contrario, un composto fornito nella Tabella 3 avente un valore di IC_{50} superiore a 1 μ M (una misurazione che riflette la capacità del composto di interrompere l'interazione menina-MLL, misurata secondo l'Esempio 6), etichettato Composto A in Figura 5, ha inibito la crescita tumorale ma non ha indotto la regressione tumorale rispetto al gruppo di controllo con veicolo quando somministrato a 200 mg/kg b.i.d. Come mostrato nella Figura 11, un regime di trattamento con 120 mg/kg b.i.d. del composto 165-a fornito nella Tabella 3 avente un valore di IC_{50} inferiore a 50 nM (una misurazione che riflette la capacità del composto di interrompere l'interazione menina-MLL, misurata secondo l'Esempio 6) e il composto etichettato D nelle figure hanno inibito la crescita tumorale e indotto la regressione tumorale rispetto al gruppo di controllo con veicolo.

Gli animali sono stati sacrificati al Giorno 7 del trattamento e i campioni di midollo osseo raccolti e preparati per l'analisi dell'espressione genica. I livelli di espressione dei geni bersaglio della proteina di fusione MLL *HOXA9*, *DLX2* e/o *MEIS1* sono stati

Marco Giovanni Mari
USBM-CP-090

misurati mediante qRT-PCR e sono presentati nella figura 6, nella figura 9 e nella figura 12 come variazioni di piega normalizzate rispetto all'espressione di *GAPDH*. L'espressione del marcatore di differenziazione CD11 b è stata elevata in campioni di midollo osseo da animali trattati con il Composto B, animali trattati con il Composto C e animali trattati con il Composto D, suggerendo che queste cellule subiscono la differenziazione. Inoltre, i livelli di espressione di *MEIS1* e *HOXA9* sono stati sostanzialmente ridotti dopo il trattamento con il Composto B, il Composto C o il Composto D, coerentemente con l'inibizione della progressione della leucemia indotta da questo composto.

Esempio 21: studio di sopravvivenza su modello murino di leucemia *MLL* da xenotrapianto. Per gli studi di sopravvivenza nel modello di xenotrapianto MV4;11, a topi NSG femmina di età compresa tra 6 e 8 settimane sono state iniettate per via endovenosa 1×10^7 cellule MV4;11 esprimenti luciferasi che ospitano la traslocazione *MLL-AF4*. Al giorno 12 dopo il trapianto, il trattamento è stato iniziato con il Composto B, 120 mg/kg, b.i.d., p.o. o il veicolo (20% di 2-idrossipropil- β -ciclodestrina con il 5% di Cremophor) ed è stato continuato per 22 giorni consecutivi. Come mostrato nella Figura 7, il Composto B della presente divulgazione ha esteso il tempo di sopravvivenza mediano rispetto al gruppo di controllo con veicolo. I topi trattati con Composto B hanno avuto un tempo di sopravvivenza mediano di 54 giorni, mentre i topi nel gruppo di controllo con veicolo hanno avuto un tempo di sopravvivenza mediano di 37 giorni,

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT-090

indicando un beneficio di sopravvivenza di 17 giorni (46%) per i topi trattati con il composto.

Per gli studi di sopravvivenza nel modello di xenotrapianto MOLM13, a topi NSG femmina di età compresa tra 6 e 8 settimane sono state iniettate per via endovenosa $0,5 \times 10^6$ cellule MOLM13 che recano la traslocazione MLL-AF9. Al giorno 4 dopo il trapianto, il trattamento è stato iniziato con il Composto C, 75 mg/kg, b.i.d., p.o. o veicolo (20% 2-idrossipropil- β -ciclodestrina con il 5% di Cremophor) ed è stato continuato per 16 giorni consecutivi nei topi trattati con il composto o fino allo sviluppo della leucemia terminale nei topi trattati con il veicolo. Come mostrato nella Figura 10, il Composto C della presente divulgazione ha esteso il tempo di sopravvivenza mediano rispetto al gruppo di controllo con veicolo.

Allo stesso modo, un regime di trattamento di 120 mg/kg b.i.d. del Composto D è stato iniziato al giorno 6 dopo il trapianto di MOLM13 e continuato per 16 giorni consecutivi nei topi trattati con il composto o fino a quando si è sviluppata la leucemia terminale nei topi trattati con il veicolo. Come mostrato nella Figura 13, il Composto D della presente divulgazione ha esteso il tempo di sopravvivenza mediano a 24 giorni, rispetto a un tempo di sopravvivenza mediano di 16 giorni per i topi nel gruppo di controllo con veicolo, indicando un beneficio di sopravvivenza di 18 giorni (75%) per i topi trattati con il composto.

Sebbene siano state mostrate e descritte nella presente forme di

Marco Giovanni Mari
USBM-CPT090

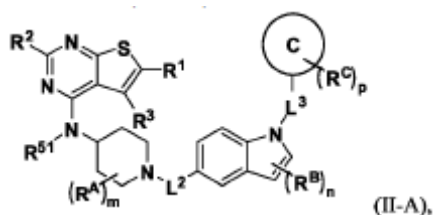
realizzazione preferite della presente divulgazione, risulterà ovvio agli esperti del settore che tali forme di realizzazione sono fornite soltanto a titolo di esempio.

* * * * *

Marco Giovanni Mari
USM 090

RIVENDICAZIONI

1. Composto di formula (II-A):



o un suo sale farmaceuticamente accettabile, in cui:

C è selezionato da piperidinile e piperazinile;

L² è -CH₂-;

L³ è -CH₂CH(R⁵⁶)-, e R⁵⁶ è metile;

R¹ è C₁₋₃ aloalchile;

R² è selezionato da alogeno, -OR⁵², -N(R⁵²)₂, -CN, C₁₋₃ alchile, C₁₋₃ alchil-OR⁵², C₁₋₃ alchil-N (R⁵²)₂, C₁₋₃ aloalchile, C₂₋₃ alchenile e C₂₋₃ alchinile;

R³ è selezionato da idrogeno, alogeno, -OH, -N(R⁵²)₂, -CN, -C(O)OR⁵², C₁₋₃ alchile e C₁₋₃ aloalchile;

R^A e R^B sono ciascuno indipendentemente selezionati in ciascuna occorrenza da alogeno, -CN, -OR⁵², -N(R⁵²)₂, -NR⁵³R⁵⁴, -C(O)R⁵², -C(O)OR⁵², -OC(O)R⁵², -NR⁵²C(O)R⁵², -C(O)N(R⁵²)₂, -C(O)NR⁵³R⁵⁴, =O, C₁₋₁₀ alchile, C₂₋₁₀ alchenile e C₂₋₁₀ alchinile;

R^C è selezionato da -C(O)R⁵², -S(=O)R⁵², -S(=O)₂R⁵², -S(=O)₂N(R⁵²)₂, -S(=O)₂NR⁵³R⁵⁴, -NR⁵²S(=O)₂R⁵², =O, C₁₋₃ alchile e C₁₋₃ aloalchile, o due gruppi R^C fissati a differenti atomi possono formare insieme un ponte C₁₋₃;

m e p sono ciascuno indipendentemente un numero intero da 0 a 6;

n è un numero intero da 1 a 4;

R⁵¹ è selezionato da idrogeno e C₁₋₆ alchile;

R⁵² è indipendentemente selezionato in ciascuna occorrenza da idrogeno; e C₁₋₂₀ alchile, C₂₋₂₀ alchenile, C₂₋₂₀ alchinile, eteroalchile da 1 a 6 elementi, C₃₋₁₂ carbociclo, ed eterociclo da 3 a 12 elementi, ciascuno dei quali è facoltativamente sostituito con alogeno, -CN, -NO₂, -NH₂, -NHCH₃, -NHCH₂CH₃, =O, -OH, -OCH₃, -OCH₂CH₃, C₃₋₁₂ carbociclo, o eterociclo da 3 a 6 elementi; e

R⁵³ e R⁵⁴ sono presi insieme all'atomo di azoto a cui sono fissati per formare un eterociclo.

2. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui m è 0 ed n è un numero intero da 1 a 3.

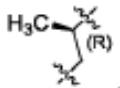
3. Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui L³ è selezionato da



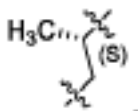
e



4. Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 2, in cui L³ è

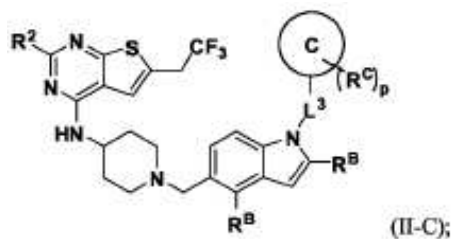


5. Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 2, in cui L³ è



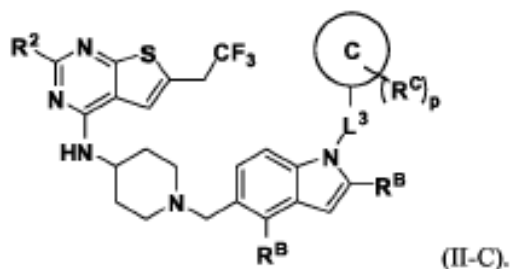
6. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui il composto ha la struttura di Formula (II-C):

Marco Giovanni Mari
USM 1000000090

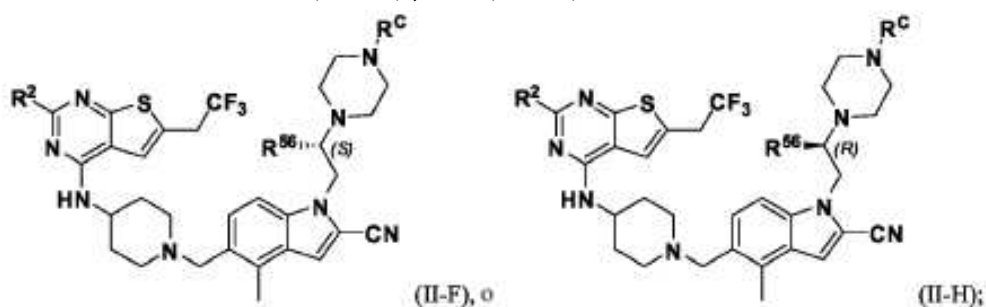


o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

7. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui il composto ha la struttura di Formula (II-C):

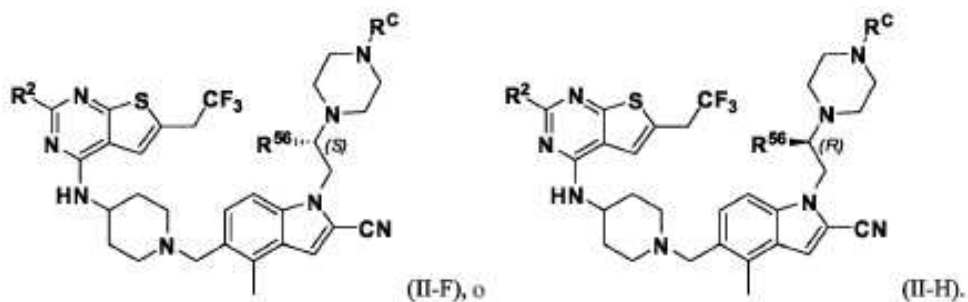


8. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui il composto ha la struttura di Formula (II-F), o (II-H):



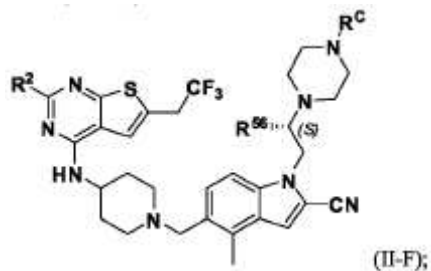
o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

9. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui il composto ha la struttura di Formula (II-F), o (II-H):



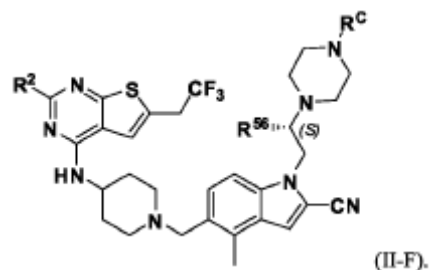
10. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui il composto ha

la struttura di Formula (II-F):

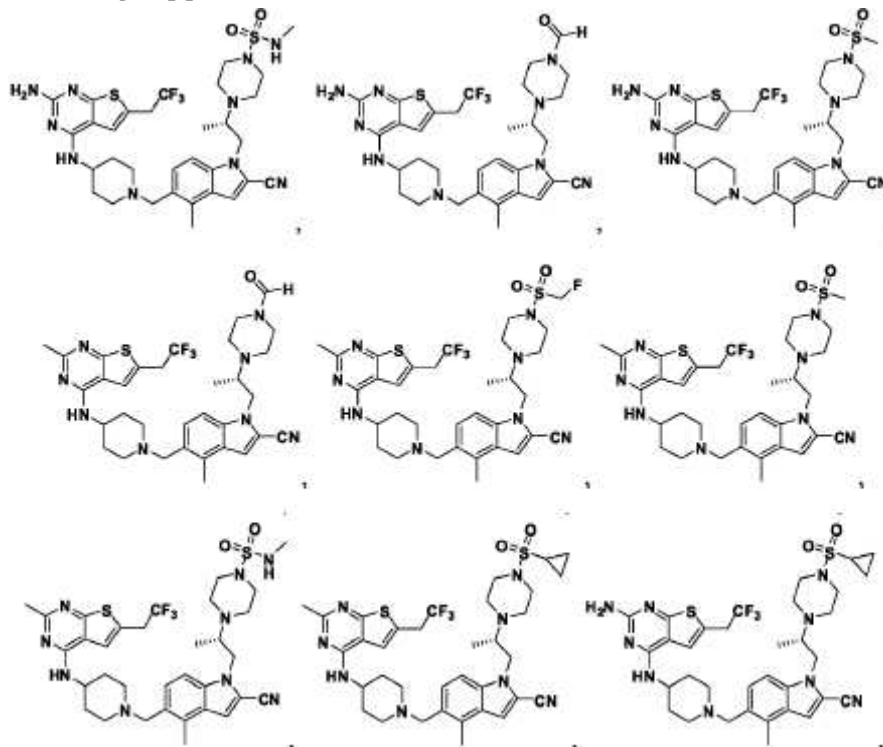


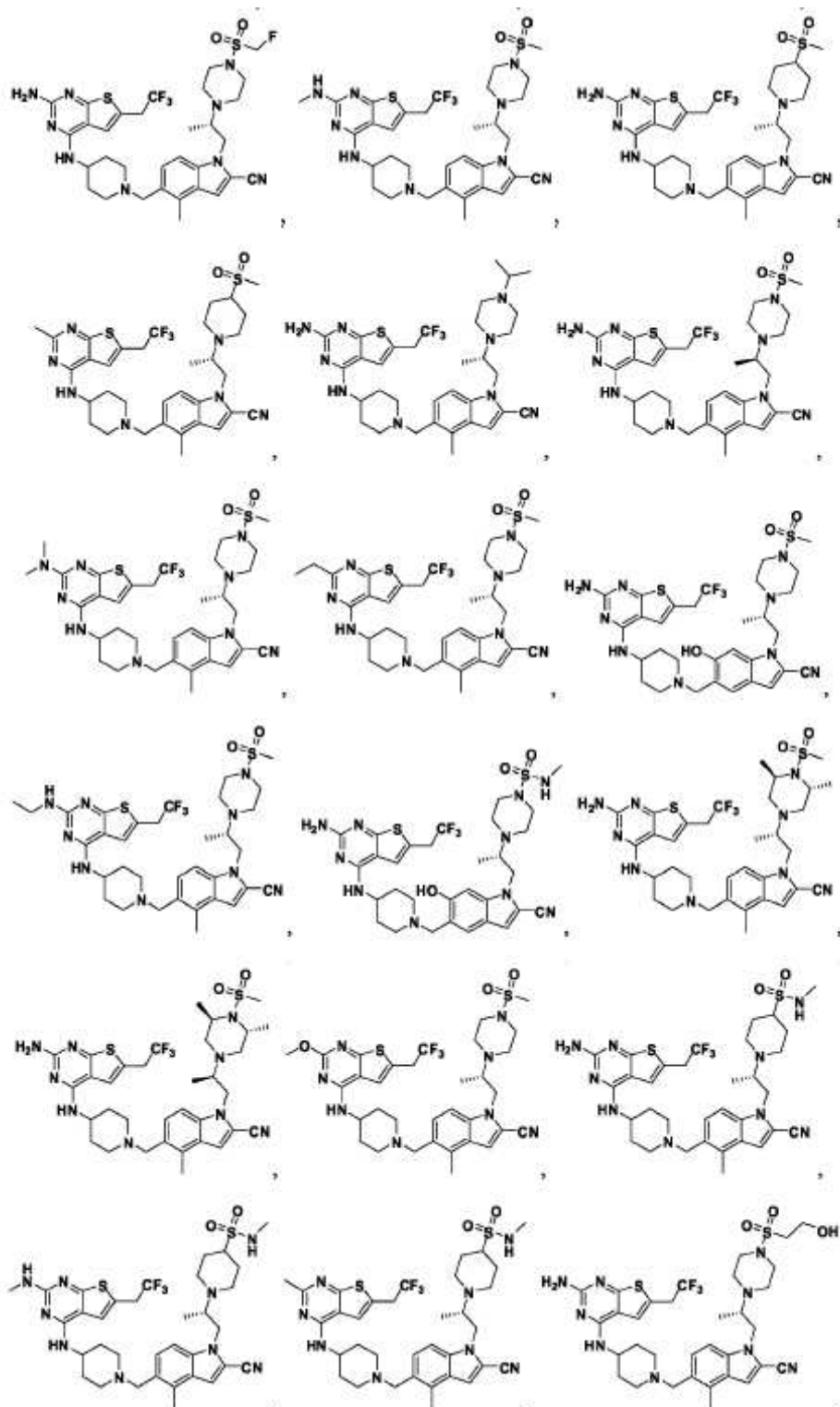
o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

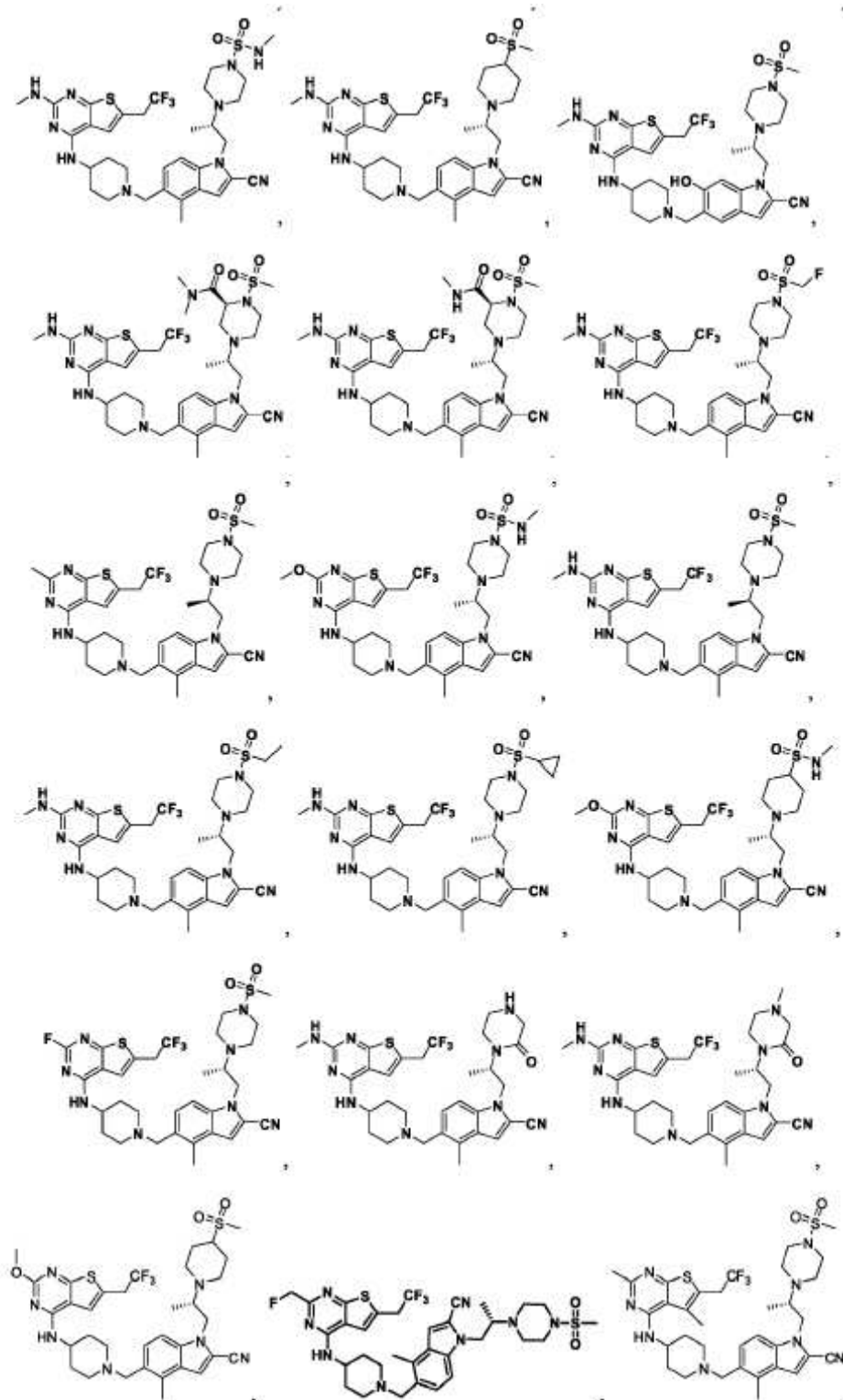
11. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui il composto ha la struttura di Formula (II-F):

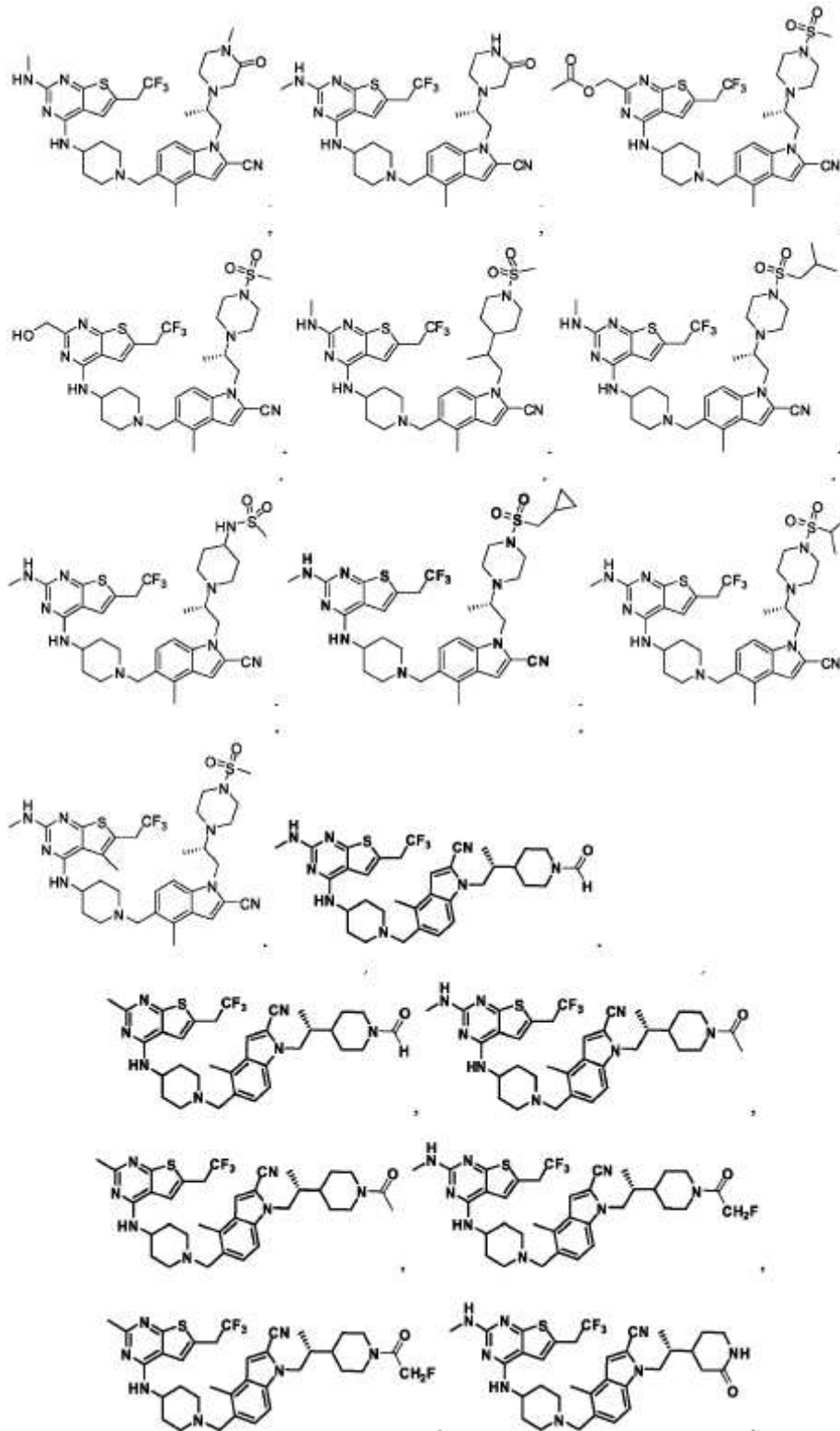


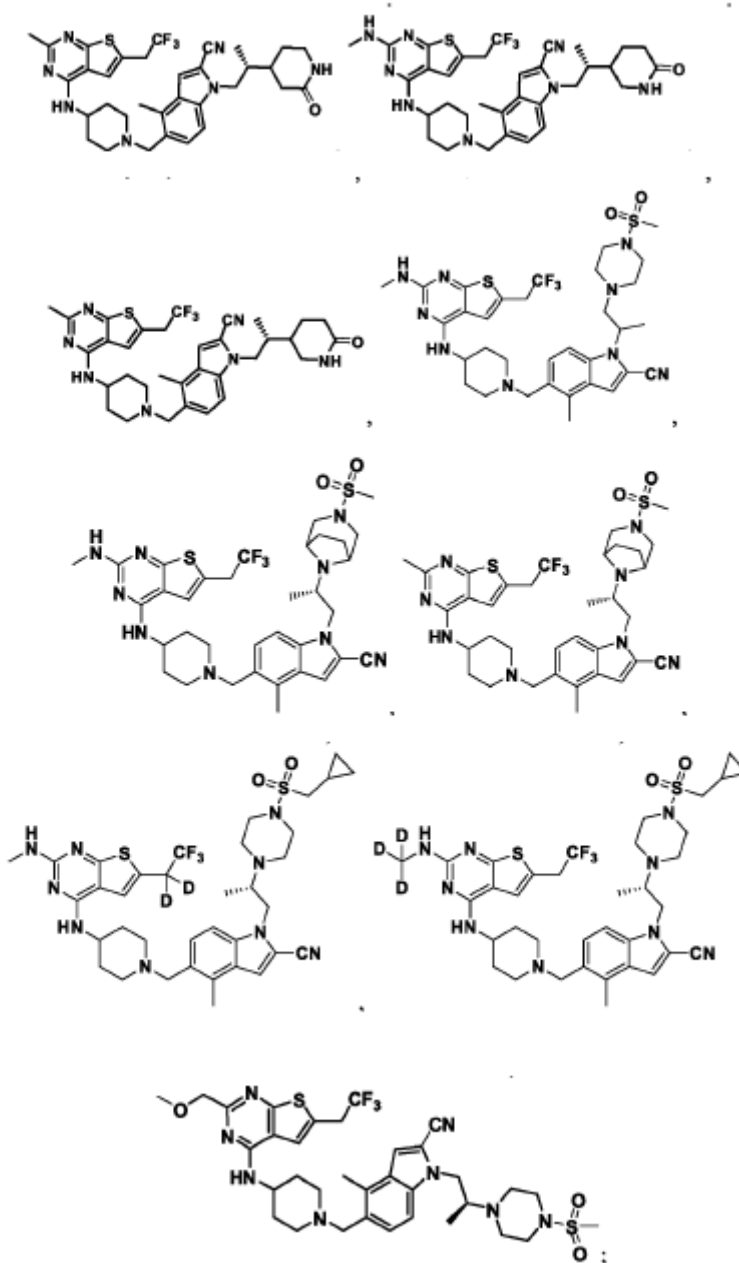
12. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui il composto è selezionato dal gruppo consistente in:





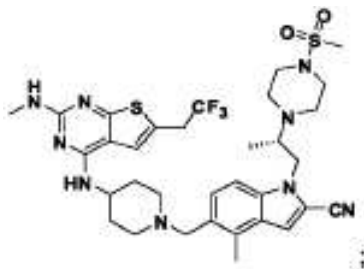






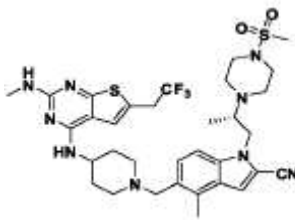
o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

13. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui il composto è:



o un suo sale farmaceuticamente accettabile.

14. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui il composto è:



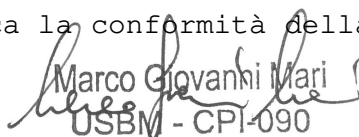
15. Composizione farmaceutica comprendente un composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti e un veicolo farmaceuticamente accettabile.

16. Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 1 a 14, per uso nel trattamento di una malattia o condizione.

17. Composto per uso secondo la rivendicazione 16, in cui la malattia o condizione è una leucemia, una malignità ematologica, un cancro tumorale solido, cancro prostatico, cancro mammario, cancro epatico, un tumore cerebrale o diabete.

18. Composto per uso secondo la rivendicazione 17, in cui la malattia o condizione è una leucemia.

Si certifica la conformità della traduzione.


Marco Giovanni Mari
USBM - CPI-090


Marco Giovanni Mari
USBM - CPI-090

FIG. 1

Sequenza amminoacidica di menina umana, isoforma 1 (SEQ ID NO: 1):

MGLKAAQKTLFPLRSIDDVVRFAAELGREEPDLVLLSLVLGFVEHFLAVNRVIPTNVPE
LTFQPSPAPDPPGGLTYFPVADLSIIAALYARFTAQIRGAVDLSLYPREGGVSSRELVKK
VSDVIWNSLSRSYFKDRAHIQSLFSFITGWSPVGTKLDSSGVAFVAVGACQALGLRDVHL
ALSEDHAWVVPFGNGEQTA EVTWHGKGNEDRRGQTVNAGVAERSWLYLKGSYMRCDRME
VAFMVCAINPSIDLHTDSLELLQLQKLLWLLYDLGHLERYPMAL/ENLADLELEPTPGR
PDPLTLYHKGIASAKTYRDEHIYPMYLAGYHCRNRNVREALQAWADTATVIQDYNCR
EDEE IYKEFFE VANDV I PNLKKAASILEAGEERPGEQSQGTQSQGSALQDPECFALLR
FYDGICKWEEGSPTPVLHVGWATFLVQSLGRFEGQVRQKVRIVSREAEAEAEAE PWGEEA
REGRRRGPRRESKPEEPPPKKPPALDKGLGTGQGAVSGPPRKPPGT VAGTARGPEGGSTA
QVPAPTASPPPEGPVLTFSKMKMKMELLVATKINS SAIKQLTAQSQVQMKKQKVSTP
SDYTL SFLKRQRKGL

FIG. 2

Sequenza amminoacidica di menina umana, isoforma 2 (SEQ ID NO: 2):

MGLKAAQKTLFPLRSIDDVVRLFAAELGREEPDLVLLSLVLGFVEHFLAVNRVPTNVPE
LTFQPSAPDPPGGGLTYFPVADLSIIAALYARFTAQIRGAVDLSLYPREGGVS SRELVKK
VSDVINSLSRSYFKDRAHIQSLFSFITGTKLDSSGVAFVAVGAQQALGLRDVHLALSED
HANVVFGPNGEQTAEVTWHGKGNEDRRGQTVNAGVAERSWLYLKG SYMRCDRIMEVAFMV
CAINPSIDLHTDSLELLQLQQKLLWLLYDLGHLERYPMALGNLADLEELEPTPGRPDPLT
LYHKGIASAKTYRDEHIYPYMYLAGYHCRNRNVREALQAWADTATVIQDYNCREDEEI
YKEFFEVDVFNLLKEAASLLEAGEERPGEQSQGTQSQGSALQDPECFAHLLRFYDGI
CKWEEGSPFPVLHVGWATFLVQSLGRFEGQVRQKVRIVSREAEAAEAEPWGEAREGRR
RGPRRESKPEEPPPKKPALDRKLGTTGGAVSGPPRPPGTVAGTARGPEGGSTAQVPAP
TASPPPEGFVLTFFQSEMKGKMKELLVATKINSSAIKLQLTAQSQVQMKQKRVSTP SDYTL
SFLKRQRNGL

FIG. 3

Sequenza amminoacidica di menina umana, isoforma 3 (SEQ ID NO: 3):

MGLKAAQKTLFPLRSIDDVVRLFAAELGEEPDLVLLSLVLGFVEHFLAVNRVIPTNVPE
LTFQPSAPDPFGGLTYFPVADLSIIAALYARFTAQIRGAVDLSLYPREGGVSSRELVKK
VSDVIWNSLSRSYFKDRAHIQSLFSFITGKLDSSGVAFVWGACQALGLRDVHLALSED
HANSWLYLKGSYMRCDRKMVAFMVCAINPSIDLHTDSLELLQLQKLLWLLYDLGHLE
YPMALGNLADLEELEPTPGRPDPLTYHKGIASAKTYRDEHIYPMYLAGYHCRNRNVR
EALQAWADTATVIQDYNCREDEEIKYKFFEVANDVIENLLKEAASLLEAGEERPGEQSQ
GTQSQGSALQDPECFAHLLRFYDGIKWEEGSPTPLVHVGWATFLVQSLGRFEGQVRQKV
RIVSREAEAAEAEEFWGEEAREGRRRGPRRESKPEEPPPPKKPALDKGLGTGQGAIVSGPF
RKPPGTVAGTARGPEGGSTAQVPAFTASPPPEGPVLTFPQSEMKGMKELLVATKINSSAI
KLQLTAQSQVQMKRQKVSTPSDYTLFLKQRKGL

FIG. 4

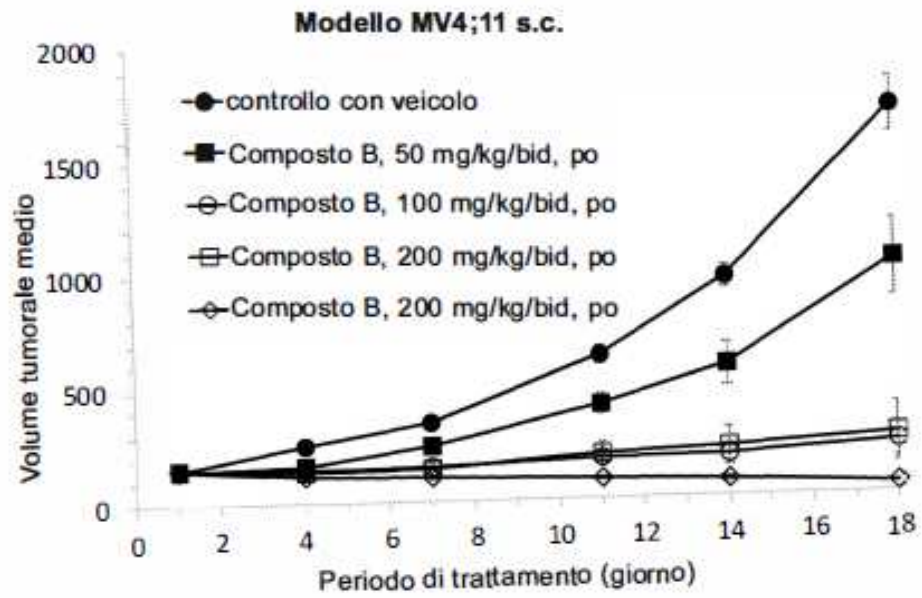


FIG. 5

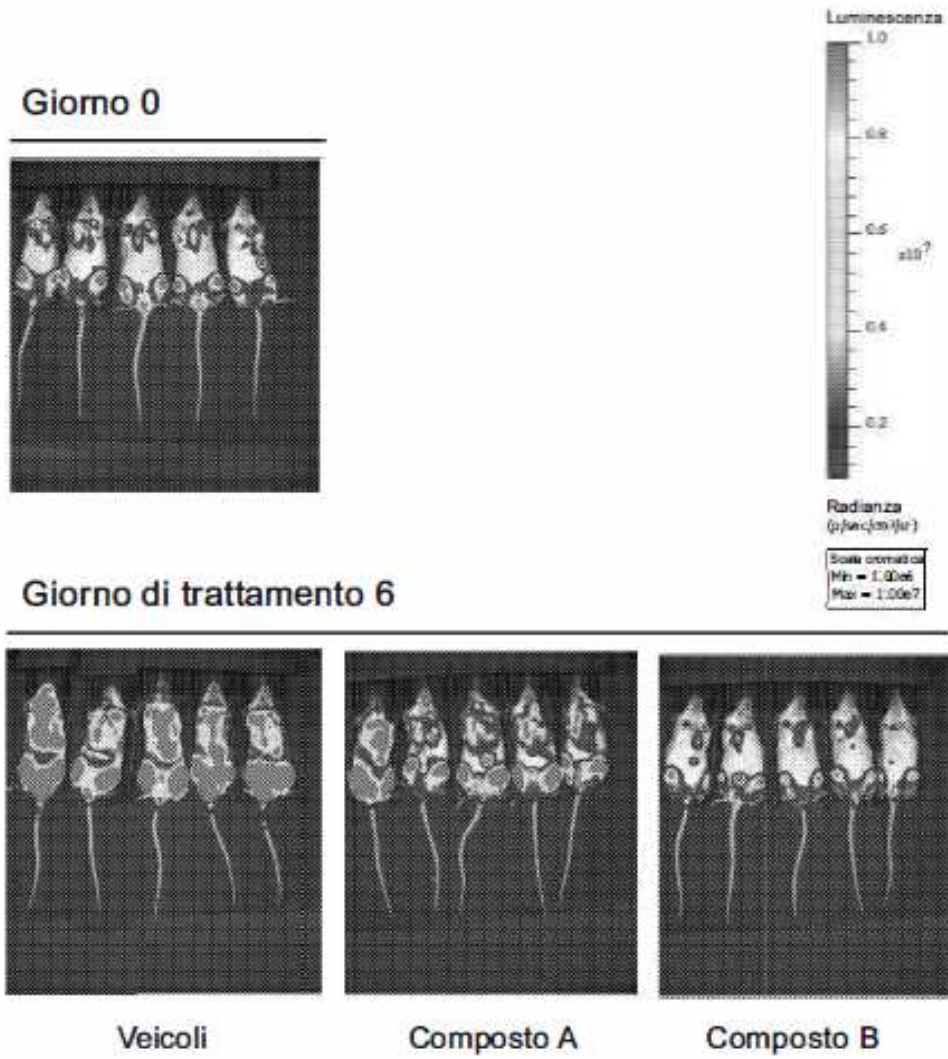


FIG. 6

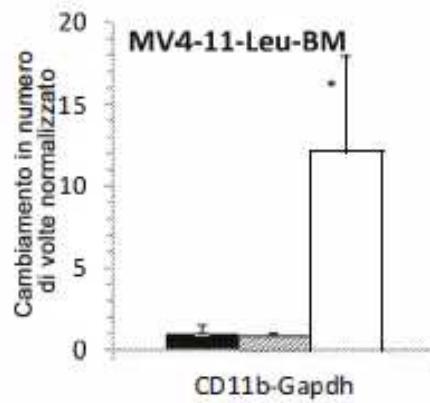
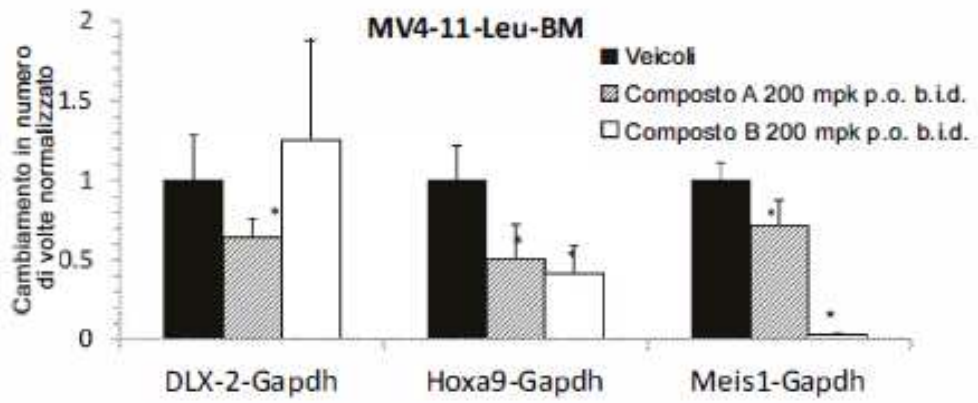


FIG. 7

Proporzioni di sopravvivenza: Curva di sopravvivenza di MV4-11 luc: Composto B

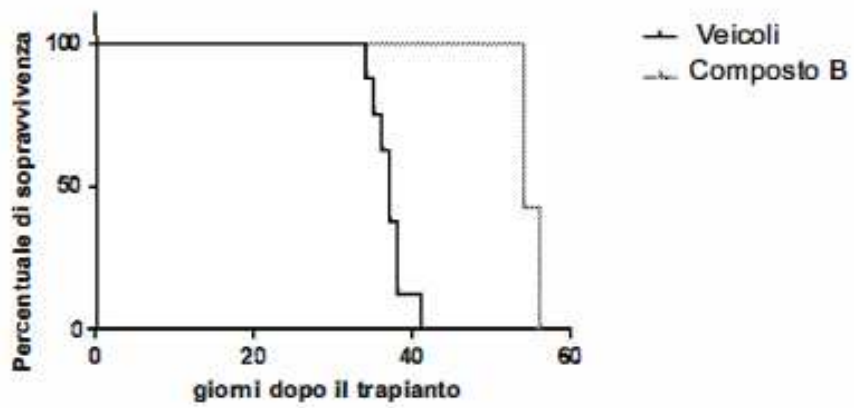


FIG. 8

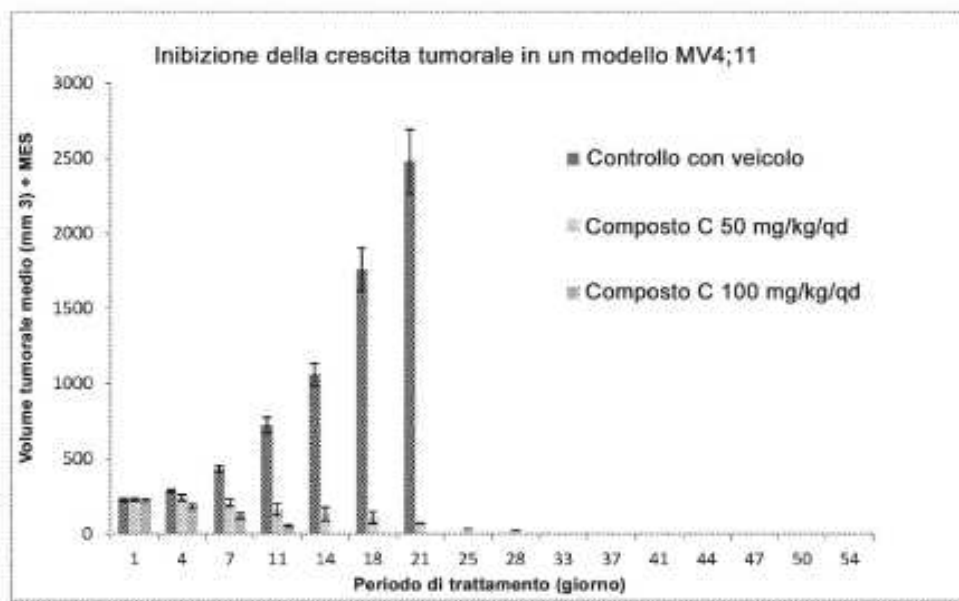


FIG. 9

Modulazione dell'espressione genica

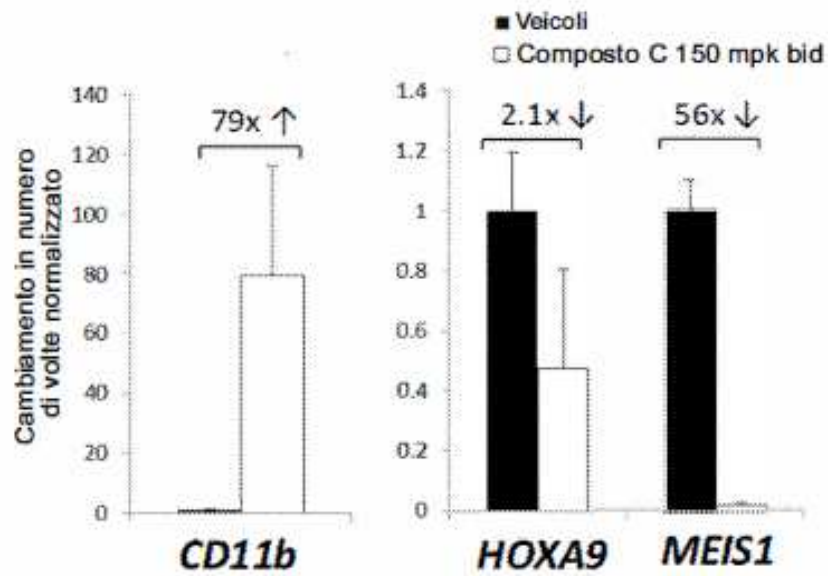


FIG. 10

Curve di sopravvivenza nel MOLM13

Proporzioni di sopravvivenza: Composto C 75 mg/kg b.i.d.

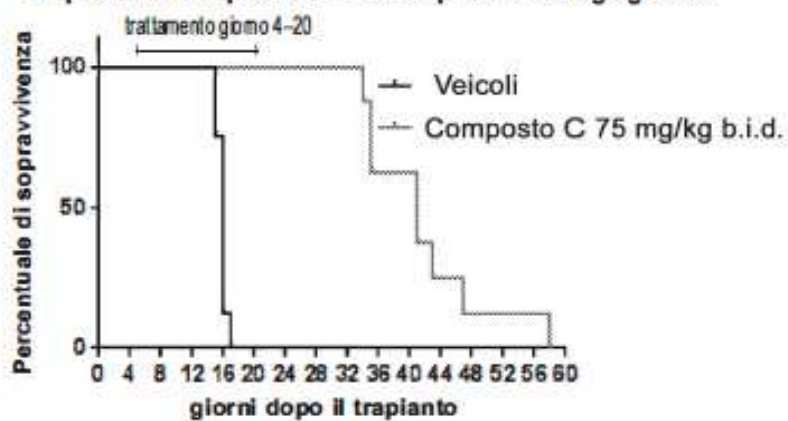
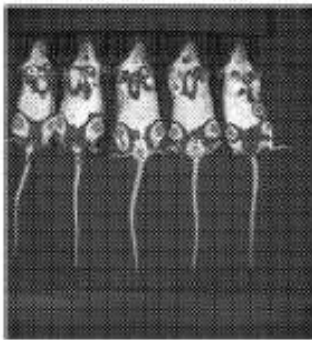
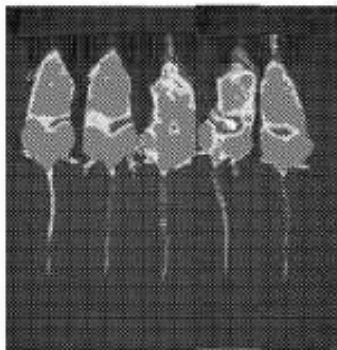


FIG. 11

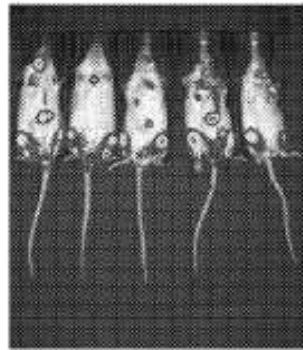
Giorno 0



Giorno di trattamento 6



Veicoli



Composto D

Luminiscenza



Radianza
(p/sec/cm²/sr)

Scala cromatica
Min = 1.000e6
Max = 1.000e7

FIG. 12

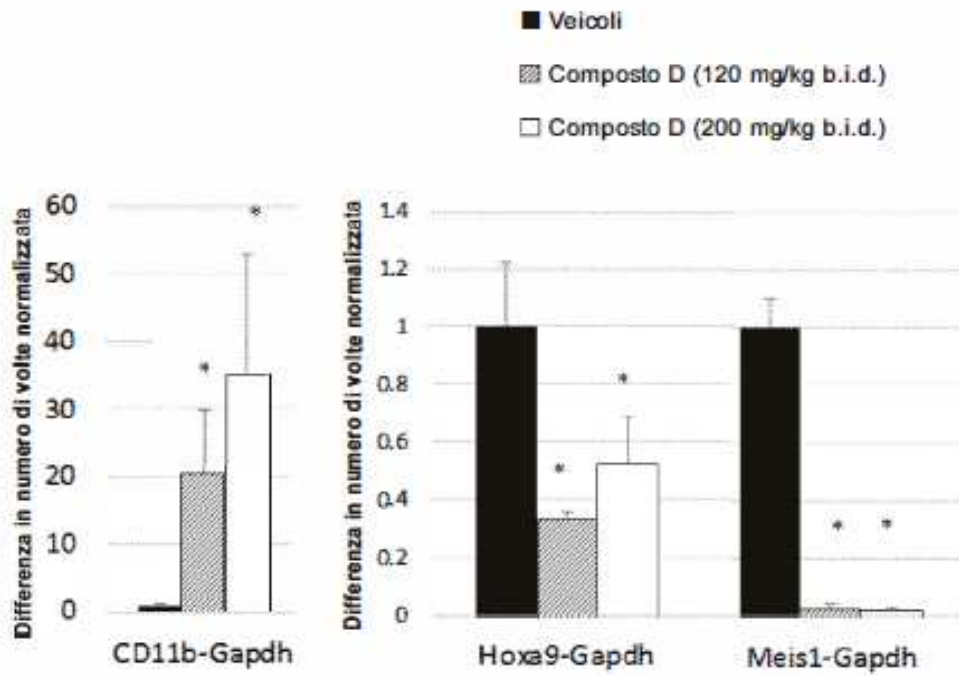


FIG. 13

Proporzioni di sopravvivenza: Curva di sopravvivenza di MOLM13: Composto D

