



**MINISTERO DELLO SVILUPPO ECONOMICO**  
**DIREZIONE GENERALE PER LA LOTTA ALLA CONTRAFFAZIONE**  
**UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI**

<b>DOMANDA NUMERO</b>	<b>102001900929605</b>
<b>Data Deposito</b>	<b>15/05/2001</b>
<b>Data Pubblicazione</b>	<b>15/11/2002</b>

<b>Sezione</b>	<b>Classe</b>	<b>Sottoclasse</b>	<b>Gruppo</b>	<b>Sottogruppo</b>
A	61	K		

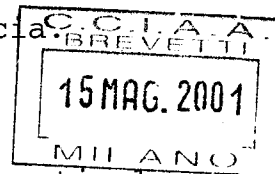
Titolo

<b>FARMACI PER IL MORBO DI ALZHEIMER.</b>
---

Descrizione dell'invenzione industriale a nome:

NICOX S.A., di nazionalità francese, con sede in 1900 Routes des Crêtes, 06560 Valbonne Sophia Antipolis - Francia

\* \* \* \* \*



La presente invenzione riguarda l'uso di una particolare classe di nitroossiderivati di farmaci nella profilassi e terapia del morbo di Alzheimer.

**MI2001A000985**

Il morbo di Alzheimer è una malattia che colpisce soprattutto le persone anziane. Il progressivo invecchiamento della popolazione determina un notevole aumento dell'incidenza di questa malattia: attualmente nei paesi industrializzati i soggetti affetti dal morbo di Alzheimer sono circa 13,5 milioni.

I sintomi iniziali della demenza di Alzheimer includono un declino delle capacità cognitive. Le caratteristiche principali della malattia comprendono le seguenti:

- depositi amiloidei (placche amiloidi) nel parenchima cerebrale e nella parete dei vasi, il componente principale di dette placche è la proteina  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ );
- processo infiammatorio caratterizzato dall'attivazione delle cellule microgliali (microglia) e dalla presenza di astrociti reattivi nell'area peri-placca con produzione di mediatori pro-infiammatori, quali citochine, NO.

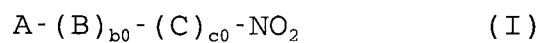
Recentemente è stato osservato che i farmaci anti-infiammatori non-steroidi (NSAIDs) possono essere utili nella profilassi e nella terapia della malattia (Stewart WF, Neurology 48, 626-632, 1997). Questi composti hanno una buona attività antiinfiammatoria a livello cerebrale, tuttavia hanno lo svantaggio di non avere una elevata inibizione della deposizione della placca amiloidea. Pertanto questi composti hanno una efficacia limitata nel prevenire o nel trattamento del morbo di Alzheimer.

Un altro approccio terapeutico per la prevenzione ed il trattamento del morbo di Alzheimer è costituito dalla somministrazione di vaccini a base di beta-amiloide (Schenk D. et Al. Nature 400 (6740) 173-7). Il meccanismo di funzionamento dei vaccini sembra dovuto alla reazione anticorpale contro la proteina beta-amiloide. L'attività dei vaccini nella prevenzione, riduzione e nel trattamento del deposito della placca amiloidea è più elevata rispetto ai farmaci antiinfiammatori. Tuttavia i vaccini presentano lo svantaggio di possedere una elevata immunotossicità legata a iperproduzione anticorpale (Schenk, vedi sopra).

Era sentita l'esigenza di avere a disposizione composti più efficaci nella prevenzione, riduzione e nel trattamento del deposito della placca amiloidea rispetto ai farmaci dell'arte nota.

Costituisce un oggetto della presente invenzione l'uso

nella profilassi e trattamento del morbo di Alzheimer di composti o loro sali aventi la seguente formula generale:



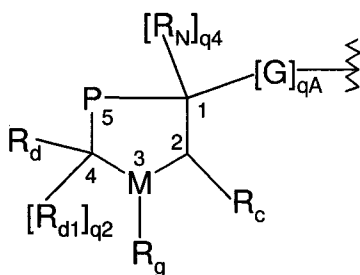
in cui:

$c0$  è un intero ed è 0 oppure 1, preferibilmente 1;

$b0$  è un intero ed è 0 oppure 1, con la condizione che  $c0$  e  $b0$  non possono essere contemporaneamente uguali a zero.

$A = R-T_1-$ , in cui

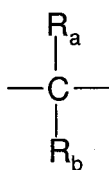
$R$  è il radicale di un farmaco come sotto definito:



(IV)

in cui:

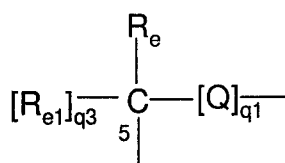
$G$  è uno dei seguenti gruppi:  $-CH=CH-$



(Vg)

$M$  è un atomo di carbonio o di azoto;

$P$  è il seguente gruppo:



(V)

in cui:

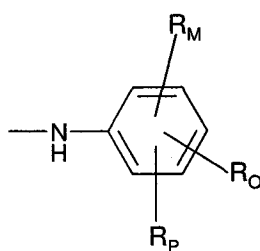
l'atomo di carbonio della formula (V) si trova in posizione 5 dell'anello della formula (IV);

Q è -CH- oppure un atomo di ossigeno;

$q_A, q_1, q_2, q_3, q_4$ , sono interi e indipendentemente l'uno dall'altro sono 1 oppure 0;  $q_2 = q_3 = q_4 = 0$  quando l'anello in formula (IV) è aromatico e  $Q = -CH-$ ;  $q_2 = q_3 = q_4 = 1$  quando l'anello di formula (IV) è saturo a 6 atomi in cui l'eteroatomo è  $Q = O$ , e si trova in posizione 6 dell'anello;

quando  $q_A = 1$  e G è il gruppo di formula (Vg)  $R_a$  ed  $R_b$ , uguali o diversi, sono idrogeno, alchile  $C_1-C_3$ , preferibilmente metile;

$R_c$  è idrogeno, alchile  $C_1-C_3$ , oppure il seguente radicale:



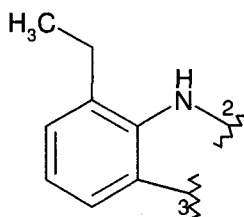
(VI)

in cui  $R_M, R_O, R_P$ , uguali o diversi, possono essere H, alogeno preferibilmente cloro, alchile  $C_1-C_3$ , preferibilmente metile,  $CF_3$ ;

$R_g$  è idrogeno oppure  $OCH_3$  quando l'anello di fig. (IV) è a 6 atomi; oppure è un doppietto elettronico quando

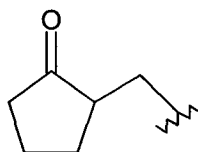
l'anello a 6 atomi è aromatico e  $M = \text{azoto}$ ; oppure è un radicale p.clorobenzoile quando  $q_1 = 0$  ed  $M = \text{azoto}$  e l'anello di fig. (IV) è aromatico; oppure

$R_c$  e  $R_g$  presi assieme sono tali da formare il seguente radicale:



(VII)

$R_d$  in formula (IV) è idrogeno, ossidrile, alchile  $C_1-C_4$  opzionalmente ramificato, fenile, oppure il seguente radicale:

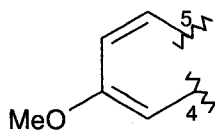


(VIII)

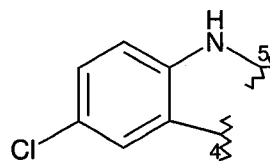
$R_{d1} = \text{idrogeno}$  quando  $q_2 = 1$ ;

$R_e = \text{idrogeno}$ , alogeno preferibilmente F, oppure benzoile; oppure

$R_d$  e  $R_e$  presi assieme sono tali da formare i seguenti radicali:



(IX)



(X)

$R_{e1} = H$  quando  $q_3 = 1$ ;

$R_N$  = alchile  $C_1-C_3$  preferibilmente etile quando  $q_4 = 1$ ;

$T_1 = (CO)_t$  oppure  $(X)_{t'}$ , dove  $X = O, S, NR_{1c}, R_{1c}$  é H oppure un alchile lineare o ramificato, avente da 1 a 5 atomi di carbonio,  $t$  e  $t'$  sono interi ed uguali a zero oppure 1, con la condizione che  $t = 1$  quando  $t' = 0$ ;  $t = 0$  quando  $t' = 1$ ;

$B = -T_B-X_2-T_{BI}-$  in cui

$T_B$  e  $T_{BI}$  sono uguali o diversi;

$T_B = (CO)$  quando la funzione reattiva nel farmaco precursore é  $-OH$  oppure  $-NH_2$ ;  $T_B = X$ , come sopra definito, quando la funzione reattiva nel farmaco precursore é  $-COOH$ ;

$T_{BI} = (CO)_{tx}$  oppure  $(X)_{txx}$ , in cui  $tx$  e  $txx$  hanno il valore di 0 oppure 1; con la condizione che  $tx = 1$  quando  $txx = 0$ ,  $tx = 0$  quando  $txx = 1$ ;  $X$  é come sopra definito;

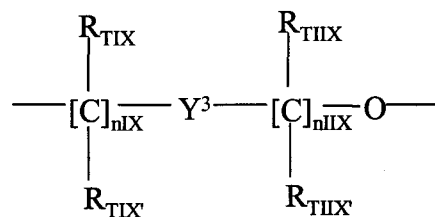
$X_2$  é un pontante bivalente come sotto definito;

$C$  é il radicale bivalente  $-T_C-Y-$  in cui

$T_C = (CO)$  quando  $tx = 0$ ,  $T_C = X$  quando  $txx = 0$ , essendo  $X$  come sopra definito;

$Y$  ha uno dei seguenti significati:

$Y_p$  :



(III)

in cui:

$n_{IX}$  é un intero da 0 a 3 , preferibilmente 1;

$n_{IIX}$  é un intero da 1 a 3 preferibilmente 1;

$R_{TIX}$ ,  $R_{TIX'}$ ,  $R_{TIIX}$ ,  $R_{TIIX'}$ , uguali o diversi tra loro sono H oppure alchile lineare o ramificato  $C_1-C_4$ ; preferibilmente  $R_{TIX}$ ,  $R_{TIX'}$ ,  $R_{TIIX}$ ,  $R_{TIIX'}$  sono H.

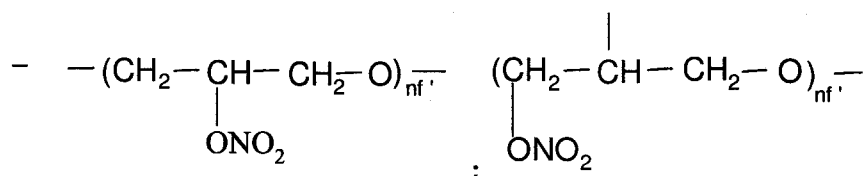
$Y^3$  é un anello eterociclico contenente uno o due atomi di azoto, detto anello eterociclico essendo saturo, insaturo o aromatico, a 5 o 6 atomi;

oppure Y può essere:

$Y_0$ , scelto tra i seguenti:

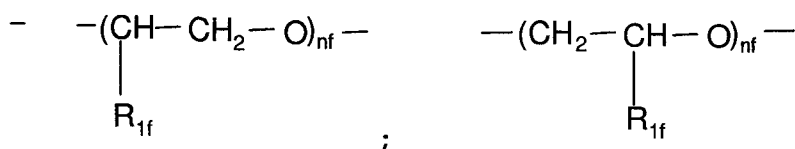
- un gruppo alchilenossi  $R'O$  in cui  $R'$  é  $C_1-C_{20}$  lineare o ramificato quando possibile, avente preferibilmente da 2 a 6 atomi di carbonio, oppure un cicloalchilene avente da 5 a 7 atomi di carbonio, nell'anello cicloalchilenico uno o più atomi di carbonio possono essere sostituiti da eteroatomi, l'anello può avere catene laterali di tipo  $R'$ , essendo  $R'$  come sopra definito;

oppure uno dei seguenti gruppi:



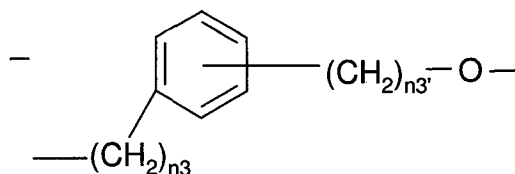
in cui  $nf'$  è un intero da 1 a 6 preferibilmente da 1 a 3;



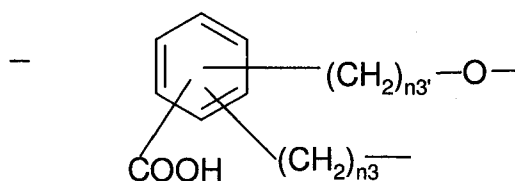


in cui  $\text{R}_{1\text{f}} = \text{H}, \text{CH}_3$  e  $\text{nf}$  è un intero da 1 a 6; preferibilmente da 2 a 4;

oppure  $\text{Y}$  è  $\text{Y}_{\text{Ar}}$  ed è scelto tra i seguenti:



in cui  $\text{n3}$  è un intero da 0 a 3 ed  $\text{n3'}$  è un intero da 1 a 3;



in cui  $\text{n3}$  ed  $\text{n3'}$  hanno il significato sopra indicato;

con la condizione che quando in formula (I) il radicale  $\text{R}$  di formula (IV) del farmaco  $\text{A}$  è diverso da acido ferulico se il radicale bivalente  $\text{Y}$  di  $\text{C}$  è  $\text{R'O}$  allora  $\text{b0} = 1$ ;

-  $\text{X}_2$ , radicale bivalente, è tale che il corrispondente precursore di  $\text{B}$   $-\text{T}_{\text{B}}-\text{X}_2-\text{T}_{\text{BI}}-$  in cui le valenze libere di  $\text{T}_{\text{B}}$  e di  $\text{T}_{\text{BI}}$  sono saturate ciascuna con  $\text{OZ}$ , con  $\text{Z}$  oppure con  $-\text{N}(\text{Z}^{\text{I}})(\text{Z}^{\text{II}})$ , essendo:

-  $\text{Z} = \text{H}, \text{C}_1-\text{C}_{10}$ , preferibilmente  $\text{C}_1-\text{C}_5$  alchile lineare o ramificato quando possibile,

-  $\text{Z}^{\text{I}}, \text{Z}^{\text{II}}$  uguali o diversi hanno i valori di  $\text{Z}$  come

sopra definito, a seconda che  $T_B$  e/o  $T_{BI} = CO$  oppure

X, in funzione dei valori di  $t$ ,  $t'$ ,  $tx$  e  $txx$ ;

soddisfa il seguente test (test 4): determinazione analitica eseguita aggiungendo aliquote di soluzioni metanoliche di concentrazione  $10^{-4}$  M del precursore di B a una soluzione metanolica di DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl); dopo aver conservato la soluzione a temperatura ambiente e al riparo dalla luce per 30 minuti, si legge l'assorbanza della soluzione in esame e di una soluzione contenente solamente DPPH nella stessa quantità, alla lunghezza d'onda di 517 nm; poi si determina la percentuale di inibizione del precursore di B verso la produzione di radicali indotta da DPPH attraverso la formula:

$$(1 - A_s/A_c) \times 100$$

in cui  $A_s$  e  $A_c$  sono rispettivamente i valori di assorbanza della soluzione contenente il composto in esame e DPPH e quello della soluzione contenente solo DPPH.

Il criterio di accettazione dei composti precursori di B secondo questo test è il seguente: il test 4 è soddisfatto dai composti precursori di B se la percentuale di inibizione come sopra definita è maggiore o uguale del 50%.

Quando nella formula (IV)  $q_A = 1$  e G è il gruppo di formula (Vg) in cui  $R_a$  è metile e  $R_b$  è idrogeno,  $q_2 = q_4 = 0$ ,  $M = C$ , e in formula (V)  $q_1 = 1$ ,  $Q = -CH-$  e  $q_3 = 0$ , l'anello di formula (IV) comprendente M e Q è un anello aromatico a 6

atomi di carbonio e gli altri sostituenti sono come qui di seguito definiti:

- quando  $R_c = R_g = R_e = H$  e  $R_d$  è isobutile, il farmaco precursore di R così definito è ibuprofene;
- quando  $R_c = R_g = H$  e  $R_d$  è fenile ed  $R_e$  è F, il farmaco precursore di R così definito è flurbiprofene;
- quando  $R_c = R_g = H$  e  $R_d$  ed  $R_e$  formano assieme il radicale di formula (IX), il farmaco precursore di R così definito è naproxene;
- quando  $R_c = R_g = R_e = H$  e  $R_d$  è il radicale di formula (VIII), il farmaco precursore di R così definito è loxoprofene;
- quando  $R_c = R_g = R_d = H$  ed  $R_e =$  benzoile, il farmaco precursore di R così definito è ketoprofene;
- quando  $R_c = R_g = H$  e  $R_d$  ed  $R_e$  formano assieme il radicale di formula (X), il farmaco precursore di R così definito è carprofene;

quando nella formula (IV)  $q_A = 0$ ,  $q_2 = q_4 = 0$ ,  $R_d = R_g = H$ ,  $M = C$ , e in formula (V)  $q_1 = 1$ ,  $Q = -CH-$ ,  $q_3 = 0$ ,  $R_e = H$ , l'anello di formula (IV) comprendente M e Q è un anello aromatico a 6 atomi di carbonio e gli altri sostituenti sono come qui di seguito definiti:

- quando  $R_c$  è il radicale di formula (VI) in cui  $R_M = R_P = H$ ,  $R_0 = CF_3$  e si trova in posizione meta rispetto al gruppo

-NH-, il farmaco precursore di R così definito è l'acido flufenamico;

- quando  $R_c$  è il radicale di formula (VI) in cui  $R_M = R_p = Cl$  e si trovano nelle due posizioni orto rispetto al gruppo -NH-,  $R_o = CH_3$  e si trova in posizione para rispetto al gruppo -NH-, il farmaco precursore di R così definito è l'acido meclofenamico;

- quando  $R_c$  è il radicale di formula (VI) in cui  $R_M = H$ ,  $R_p = Cl$  e si trova in posizione meta rispetto al gruppo -NH-,  $R_o = CH_3$  in posizione orto rispetto al gruppo -NH- e rispetto all'atomo di cloro, il farmaco precursore di R così definito è l'acido tolfenamico;

quando nella formula (IV)  $q_A = 0$ ,  $M = N$ ;  $q_2 = q_4 = 0$ ,  $R_d = H$ ; e nella formula (V)  $q_1 = 1$ ,  $q_3 = 0$ ,  $R_e = H$ ,  $Q = -CH-$ ;  $R_g$  è il doppietto elettronico libero sull'atomo di azoto, l'anello di formula (IV) comprendente M e Q è un anello piridinico,  $R_c$  è il radicale di formula (VI) in cui  $R_M = R_p = H$ ,  $R_o = CF_3$  e si trova in posizione meta rispetto al gruppo -NH-, il farmaco precursore di R così definito è l'acido niflumico;

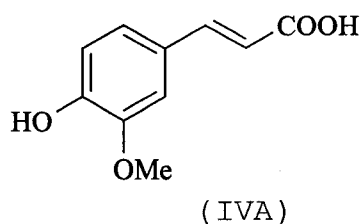
quando nella formula (IV)  $q_A = 1$  e G è il gruppo di formula (Vg) in cui  $R_a = R_b = H$ ;  $M = C$ ,  $R_d = R_g = H$ ,  $q_2 = q_4 = 0$ ; e nella formula (V)  $q_1 = 1$ ,  $Q = -CH-$ ,  $R_e = H$ ,  $q_3 = 0$ ; l'anello della formula (IV) comprendente M e Q è un anello aromatico a 6 atomi di carbonio;  $R_c$  è il radicale di formula (VI) in cui  $R_M = R_p = Cl$  e si trovano nelle due posizioni orto

rispetto al gruppo  $\text{-NH-}$ ,  $R_0 = \text{H}$ ; il farmaco precursore di R così definito è il diclofenac;

quando nella formula (IV)  $q_A = 1$  e G è il gruppo di formula (Vg) in cui  $R_a = R_b = \text{H}$ ;  $M = \text{C}$ ,  $q_2 = q_4 = 1$ ,  $R_d = R_{d1} = \text{H}$ ,  $R_N = \text{etile}$ , e nella formula (V)  $q_1 = 1$ ,  $q_3 = 1$ ,  $Q = \text{O}$ ,  $R_e = R_{e1} = \text{H}$ ; l'anello della formula (IV) comprendente M e Q è un anello saturo a 6 atomi;  $R_g$  e  $R_c$  assieme formano il radicale di formula (VII), il farmaco precursore del radicale R così definito è etodolac;

quando nella formula (IV)  $q_A = 1$  e G è il gruppo di formula (Vg) in cui  $R_a = R_b = \text{H}$ ;  $M = \text{N}$ ,  $q_2 = q_4 = 0$ ; e in formula (V)  $q_3 = q_1 = 0$ , l'anello in formula (IV) comprendente M corrisponde a quello del pirrolo;  $R_g = \text{p.clorobenzoile}$ ;  $R_c = \text{CH}_3$ ;  $R_d$  con  $R_e$  di formula (V) assieme formano il radicale di formula (IX), il farmaco precursore del radicale R così definito è indometacina;

quando nella formula (IV)  $q_A = 1$  e  $G = \text{-HC=CH-}$ ,  $q_2 = q_4 = 0$ ,  $M = \text{C}$ , e in formula (V)  $q_1 = 1$ ,  $Q = \text{-CH-}$ ,  $q_3 = 0$  e  $R_e = \text{H}$ , l'anello di formula (IV) comprendente M e Q è un anello aromatico a 6 atomi di carbonio;  $R_c = \text{H}$ ,  $R_g = \text{OCH}_3$ ,  $R_d = \text{OH}$ , il composto precursore del radicale R così definito è l'acido ferulico di formula (IVA)



Il composto precursore di B che soddisfa il test 4 é scelto preferibilmente nelle seguenti classi di composti:

- amminoacidi, scelti tra i seguenti: L-carnosina, anserina, selenocisteina, selenometionina, penicilamina, N-acetilpenicilamina, cisteina, N-acetilcistena, glutathione o suoi esteri, preferibilmente estere etilico o isopropilico;
- idrossiacidi, scelti tra i seguenti: acido gallico, acido ferulico, acido gentisico, acido citrico, acido caffeico, diidrocaffeico, acido p-cumarico, acido vanillico;
- polialcooli aromatici ed eterociclici, scelti tra i seguenti: acido nordiidroguaiaretico, quercetina, catechina, kaempferolo, sulfuretina, acido ascorbico, acido isoascorbico, idrochinone, gossypol, acido reductico, metossiidrochinone, idrossiidrochinone, propil gallato, saccarosio, 3,5-di-tertbutil-4-idrossibenziltio glicolato, alcool p-cumarico, 4-idrossi-feniletilalcool, alcool coniferilico, allopurinolo;
- composti contenenti almeno una funzione acida libera, scelti tra i seguenti: acido 3,3'-tiodipropionico, acido fumarico, acido diidrossimaleico, acido edetico.

I composti precursori di B dei gruppi sopra indicati vengono preparati secondo i metodi noti in letteratura e descritti, ad esempio, nel "The Merck Index", 12a Ed. (1996),

qui integralmente incorporato per riferimento.

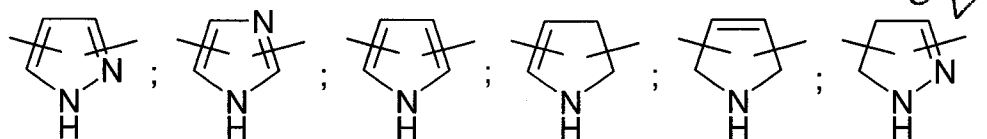
Il test 4 é un saggio colorimetrico che consente di stabilire se i precursori di B sono in grado di inibire la produzione di radicali da parte di DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) (M.S. Nenseter et Al., Atheroscler. Thromb. 15, 1338-1344, 1995). Vengono preparate soluzioni 100  $\mu$ M in metanolo delle sostanze in esame, ed una aliquota di esse viene aggiunta a una soluzione 0,1 M metanolica di DPPH. Dopo aver conservato le soluzioni a temperatura ambiente e al riparo dalla luce per 30 minuti si misura l'assorbanza alla lunghezza d'onda di 517 nm. Si determina la diminuzione di assorbanza rispetto a quella della soluzione che contiene la stessa concentrazione di DPPH. La capacit  del composto in esame di inibire la produzione di radicali viene espressa attraverso la seguente formula:

$$(1 - A_s/A_c) \times 100$$

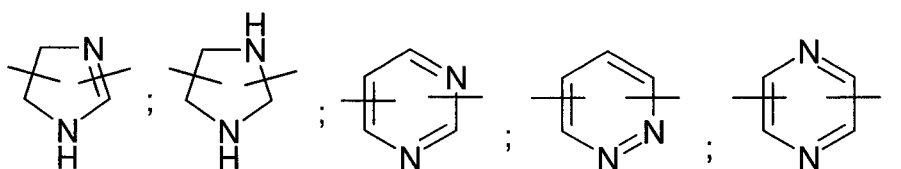
in cui  $A_s$  e  $A_c$  sono rispettivamente i valori di assorbanza della soluzione contenente il composto in esame assieme a DPPH e della soluzione contenente solo DPPH.

Il precursore di B soddisfa il test 4 se la capacit  di inibire la produzione di radicali, come sopra definita,   uguale o maggiore del 50% alla concentrazione indicata ( $10^{-4}$  M).

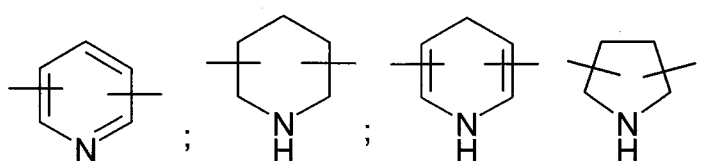
Preferibilmente  $Y^3$    scelto tra i seguenti:



(Y1) (Y2) (Y3) (Y4) (Y5) (Y6)



(Y7) (Y8) (Y9) (Y10) (Y11)



(Y12) (Y13) (Y14) (Y15)

Preferibilmente  $Y^3$  é un anello aromatico a 6 atomi, contenente un atomo di azoto, detto anello aromatico avente le due valenze libere in posizione 2 e 6.

Il preferito di  $Y^3$  é Y12 (piridile) sostituito in posizione 2 e 6. I legami possono trovarsi anche in posizione non simmetrica. Ad esempio Y12 (piridile) può essere sostituito anche in posizione 2 e 3; Y1 (pirazolo) può essere 3,5-disostituito.

I precursori di Y come definiti dalla formula (III), in cui la valenza libera dell'ossigeno é saturata con H e la valenza libera del carbonio terminale é saturata o con un gruppo carbossilico oppure ossidrilico, sono prodotti reperibili in commercio o possono essere ottenuti con metodi noti nell'arte.

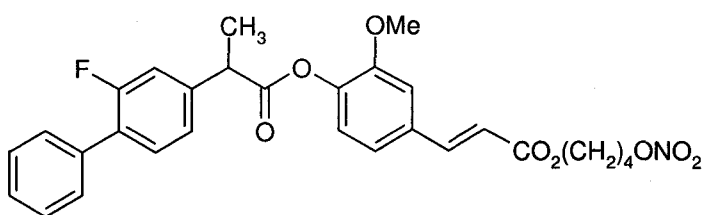


In formula (I) i precursori di B preferiti per la sintesi dei nitrossiderivati utilizzabili nella presente invenzione sono i seguenti: acido ferulico, N-acetilcisteina, cisteina, acido caffeico, acido idrocaffeico e gentisico; i farmaci precursori preferiti di R sono i seguenti: ibuprofene, flurbiprofene, naproxene, acido ferulico di formula (IVA).

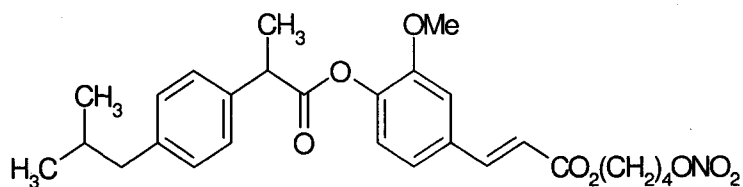
I composti di formula (I) preferiti per l'uso secondo la seguente invenzione sono i seguenti:

- acido [1,1'-bifenil]-4-acetico-, 2-fluoro-alfa-metil-, 2-metossi-4-[(1E)-3-[4-(nitroossi)butossi]-3-oxo-1-propenil]fenilestere (XII);
- acido alfa-metil-4-(2-metilpropil)benzenacetico-, 2-metossi-4-[(1E)-3-[4-(nitroossi)butossi]-3-oxo-1-propenil]fenilestere (XIII);
- acido 6-metossi-alfa-metil-2-naftalenacetico-, 2-metossi-4-[(1E)-3-[4-(nitroossi)butossi]-3-oxo-1-propenil]fenilestere (XIV);
- (S)-N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere-, (S)-6-metossi-alfa-metil-2-naftalenacetato (XV);
- (S)-N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere-, 2-fluoro-alfa-metil-[1,1-bifenil]-4-acetato (XVI);
- (S)-N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere-, 1-(4-clorobenzoil)-5-metossi-2-metil-1H-indol-3-acetato (XVII);

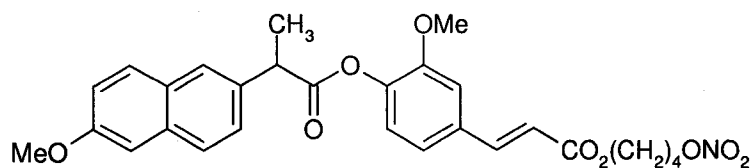
- (S)-N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere-, alfa-metil-4-(2-metilpropil)benzeneacetato (XVIII);
- acido 2-[(2,6-diclorofenil)ammino]benzeneacetico-, 2-metossi-4-[(1E)-3-[4-(nitroossi)butossi]-3-oxo-1-propenil]fenilestere (XIX);
- (S)-N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere-, 2-[(2,6-diclorofenil)ammino]benzeneacetato (XX);



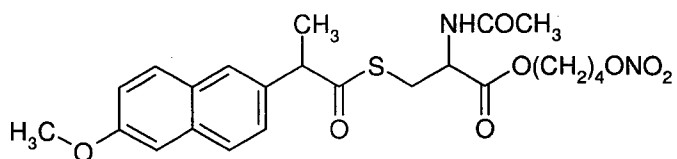
(XII)



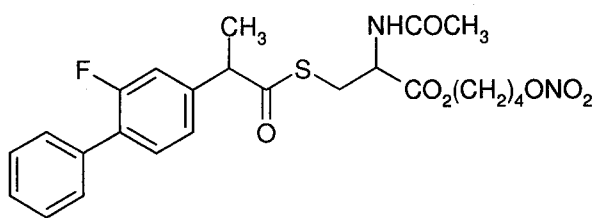
(XIII)



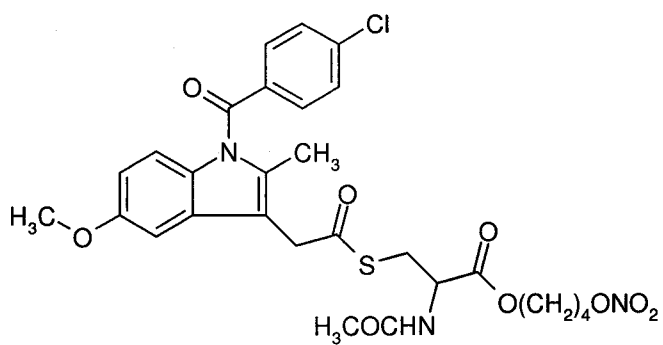
(XIV)



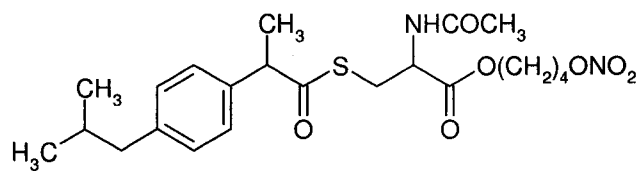
(XV)



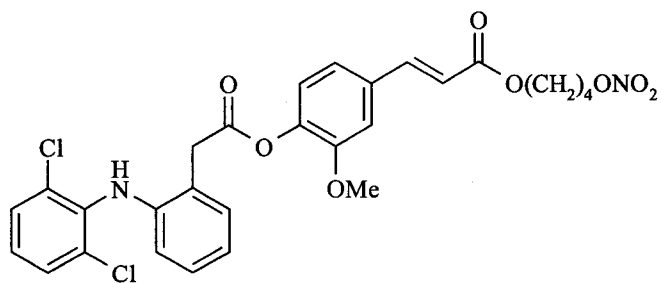
(XVI)



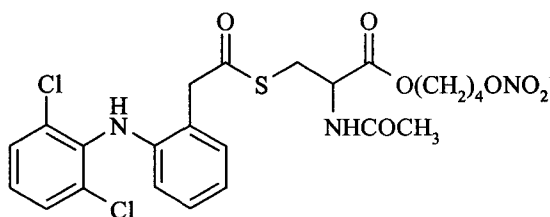
(XVII)



(XVIII)



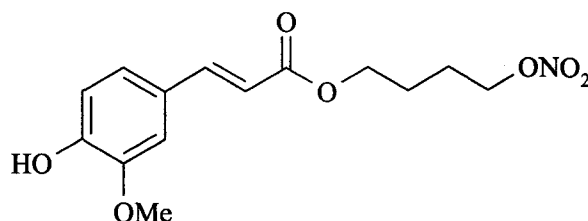
(XIX)



(XX)

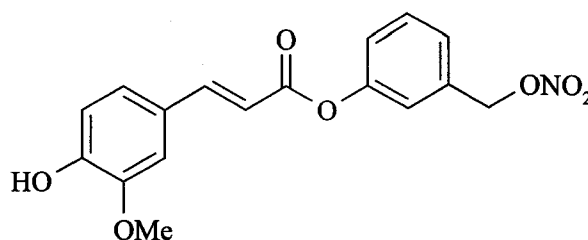
Altri composti preferiti dell'invenzione sono quelli in cui in formula (I) il farmaco precursore di R ha formula (IVA),  $b_0 = 0$  e  $c_0 = 1$  e C è  $Y_0$  oppure  $Y_{Ar}$  oppure  $Y_p$ , in particolare si possono citare i seguenti composti:

- acido trans 3-(4-idrossi-3-metossifenil)-2-propenoico-, 4-(nitroossi)butil estere (XXI)



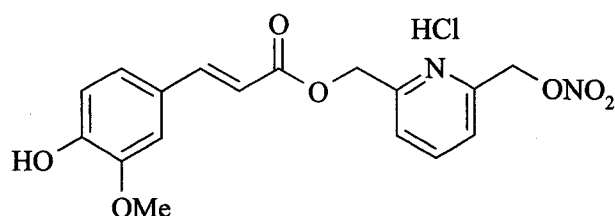
(XXI)

- acido trans 3-(4-idrossi-3-metossifenil)-2-propenoico-, 3-(nitrossimetil)fenil estere (XXII)



(XXII)

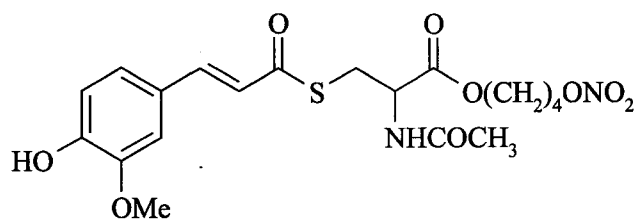
- acido trans 3-(4-idrossi-3-metossifenil)-2-propenoico-, 6-(nitroossimetil)-2-piridinilmetilestere cloridrato (XXIII)



(XXIII)

Altri composti preferiti dell'invenzione sono quelli in cui in formula (I) il farmaco precursore di R ha formula (IVA),  $b_0 = 1$  e  $c_0 = 1$  e C è  $Y_0$  oppure  $Y_{Ar}$ , in particolare si possono citare i seguenti composti:

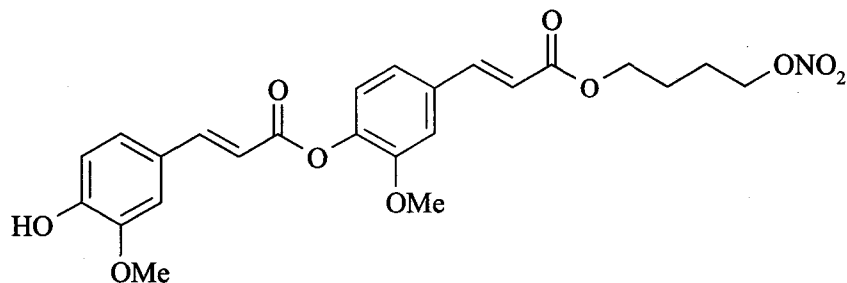
- (S)-N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere, trans-3-(4-idrossi-3-metossifenil)-2-propenoato (XXIV)



(XXIV)

Il composto preferito è il seguente:

- acido trans-3-(4-idrossi-3-metossifenil)-2-propenoico, 2-metossi-4-[(1E)-3-[4-(nitroossi)butossi]-3-oxo-1-prope-nil]fenilestere (XXV)



(XXV)

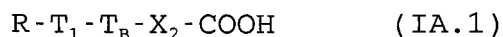
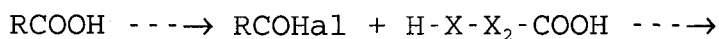
I nitroossiderivati del composto di formula (IVA) risultano nuovi.

Questi composti si possono preparare utilizzando ad esempio i seguenti schemi di sintesi.

Le reazioni vengono effettuate con metodi ben noti nell'arte, che consentono di ottenere i legami tra farmaco precursore, il composto precursore di B e il radicale bivalente C come sopra definiti.

1a. Se il farmaco ha formula generale R-COOH, il gruppo funzionale del composto precursore di B che si lega alla funzione carbossilica del farmaco ha formula XZ, essendo X come sopra definito e Z = H, le reazioni che si effettuano dipendono dalla natura del secondo gruppo reattivo presente nel composto precursore di B.

1a.1 Se il secondo gruppo reattivo presente nel composto precursore di B é un gruppo carbossilico, lo schema generale della sintesi prevede la formazione iniziale dell'alogenuro dell'acido R-COHal (Hal = Cl, Br) e la successiva reazione con il gruppo HX del composto precursore di B:



X<sub>2</sub>, T<sub>1</sub>, T<sub>B</sub> essendo come sopra definiti.

Se nei due composti in reazione sono presenti altri gruppi funzionali COOH e/o HX, essi devono venire protetti prima della reazione secondo i metodi noti nell'arte; ad esempio come descritto nel volume di Th.

W. Greene : "Protective groups in organic synthesis",  
Harward University Press, 1980.

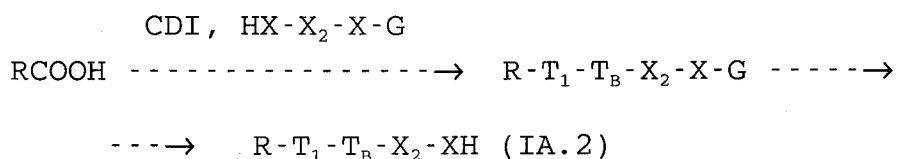
L'acilalogenuro  $\text{RCOHal}$  viene preparato secondo i  
metodi noti nell'arte, ad esempio mediante tionil o  
ossalil cloruro, alogenuri di  $\text{P}^{\text{III}}$  o  $\text{P}^{\text{V}}$  in solventi inerti  
nelle condizioni di reazione, come ad esempio toluene,  
cloroformio, DMF, ecc.

In particolare, se il gruppo  $\text{HX}$  del composto  
precursore di  $\text{B}$  é  $\text{NH}_2$ , oppure  $\text{OH}$  o  $\text{SH}$ , il farmaco  
precursore di formula  $\text{R-COOH}$  viene prima convertito nel  
corrispondente acil alogenuro  $\text{RCOHal}$ , come sopra indi-  
cato, e poi fatto reagire con il gruppo  $\text{HX}$  del composto  
precursore di  $\text{B}$  in presenza di una base organica, come  
triethylammina, piridina, ecc. impiegando un solvente  
inerte nelle condizioni di reazione come toluene,  
tetraidrofurano, ecc. a una temperatura compresa tra  $0^\circ\text{C}$   
e  $25^\circ\text{C}$ .

In alternativa alla sintesi precedente, il farmaco  
precursore di formula  $\text{R-COOH}$  può essere trattato con un  
agente attivante il carbossile scelto tra  $\text{N,N'}$ -carbonil-  
diimidazolo (CDI),  $\text{N}$ -idrossibenzotriazolo e dicicloesil-  
carbodiimide in solvente come ad esempio DMF, THF, clo-  
roformio ecc. a una temperatura compresa tra  $-5^\circ\text{C}$  e  $50^\circ\text{C}$   
e il composto ottenuto fatto reagire in situ con la fun-  
zione reattiva del composto precursore di  $\text{B}$  per ottenere

il composto di formula (IA.1).

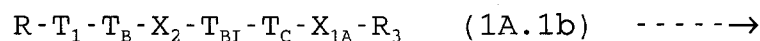
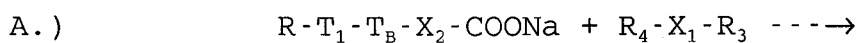
1a.2 Se il composto precursore di B contiene due gruppi funzionali XZ, uguali o diversi tra loro, essendo X come sopra definito e Z = H, il farmaco precursore avente formula R-COOH viene prima trattato con un agente attivante il carbossile, come sopra descritto in 1a.1, e poi con il composto precursore di B, dopo aver protetto uno dei due gruppi reattivi HX, ad esempio con un gruppo acetilico oppure ter-butilossicarbonile, ripristinando la funzione iniziale alla fine della sintesi. Lo schema é il seguente:



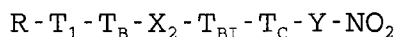
in cui X, T<sub>1</sub>, T<sub>B</sub>, X<sub>2</sub> sono come sopra definiti e G é un gruppo protettivo della funzione HX.

## 2. Sintesi del nitrossiderivato.

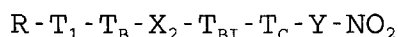
2a.1 Se il composto che si ottiene alla fine del precedente passaggio 1a. ha formula (IA.1), si può convertire l'acido nel corrispondente sale sodico e seguire poi metodi noti nell'arte per preparare il composto finale, ad esempio secondo uno degli schemi di sintesi seguenti:



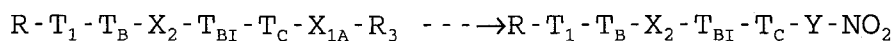
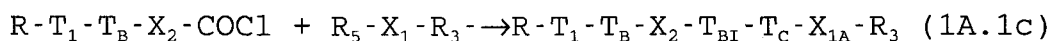




in cui  $T_1$ ,  $T_B$ ,  $X_2$ ,  $T_{BI}$ ,  $T_C$  sono come sopra definiti,  $R_4$  é scelto tra Cl, Br, Y é come sopra definito,  $X_{1A}$  é il radicale Y privo dell'atomo di ossigeno,  $R_3$  é Cl, Br, Iodio, OH. Se  $R_3 = OH$  il composto di formula (1A.1b) viene sottoposto ad alogenazione, ad es. con  $PBr_3$ ,  $PCl_5$ ,  $SOCl_2$ ,  $PPh_3 + I_2$ , e poi fatto reagire con  $AgNO_3$  in solvente organico come acetonitrile, tetraidrofurano. Se  $R_3$  é Cl, Br, Iodio, il composto di formula (1A.1b) viene fatto reagire direttamente con  $AgNO_3$  come sopra indicato.



C.)



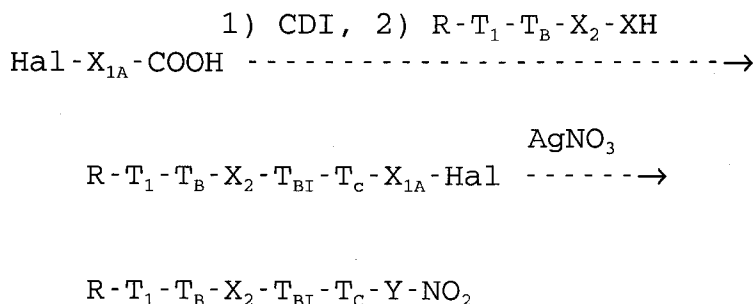
in cui  $R_5 = OH$  oppure  $NHR_{1C}$ , essendo  $R_{1C}$ ,  $R_3$  e gli altri simboli come sopra definiti.

Le reazioni sopra illustrate sono ben note nell'arte. Si vedano ad esempio le domande di brevetto a nome della Richiedente WO 94/12463, WO 95/09831 e WO 95/30641.

Se  $X_{1A}$  é un alchile lineare  $C_4$ , si fa reagire il corrispondente acido  $R-T_1-T_B-X_2-COOH$  con trifenilfosfina in presenza di un agente alogenante come  $CBr_4$  oppure N-

bromosuccinimide in tetraidrofurano ottenendo il composto (1A.1c) in cui  $R_3 = \text{Br}$ .

2a.2 Se il composto ottenuto alla fine del passaggio precedente 1a. ha formula (IA.2), il nitrossiderivato corrispondente viene ottenuto trattando un acido alogeno-carbossilico di formula  $\text{Hal-X}_{1A}\text{-COOH}$ , essendo  $X_{1A}$  come sopra definito, dapprima con un agente attivante il carbossile come descritto in 1A.1, e poi con il composto di formula (IA.2), ottenendo un alogeno derivato, che viene isolato e poi sciolto in solvente organico, (rif. paragrafo 2a.1), e trattato con nitrato d'argento. Lo schema di reazione complessivo é il seguente:



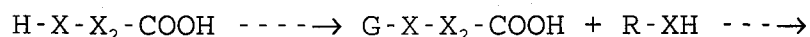
in cui  $T_1$ ,  $T_B$ ,  $X_2$ ,  $T_{BI}$ ,  $T_C$ ,  $Y$  sono come sopra definiti.

In alternativa, si può usare l'alogenuro  $\text{Hal-X}_1\text{-COCl}$  in cui  $\text{Hal}$  é preferibilmente bromo, che viene fatto reagire con il composto di formula (IA.2).

1b. Se il precursore del farmaco ha la funzione reattiva  $\text{HX}$ , in cui  $X$  é come sopra definito, invece di un gruppo carbossilico, i due gruppi funzionali presenti sul composto precursore di B possono essere i seguenti:

1b.1 Un gruppo carbossilico, che reagisce con la funzione HX del precursore del farmaco, ed un gruppo HX, essendo quest'ultimo gruppo reattivo del composto precursore di B uguale o diverso dal gruppo funzionale del precursore del farmaco. La formula del composto precursore di B é del tipo  $H-X-X_2-COOH$ , in cui X e  $X_2$  sono come sopra definiti.

La funzione  $H-X-$  del composto precursore di B viene protetta secondo i metodi noti nell'arte e il carbossile viene fatto reagire, come sopra indicato, secondo il seguente schema:



Alla fine della reazione si ripristina la funzione HX del composto precursore di B.

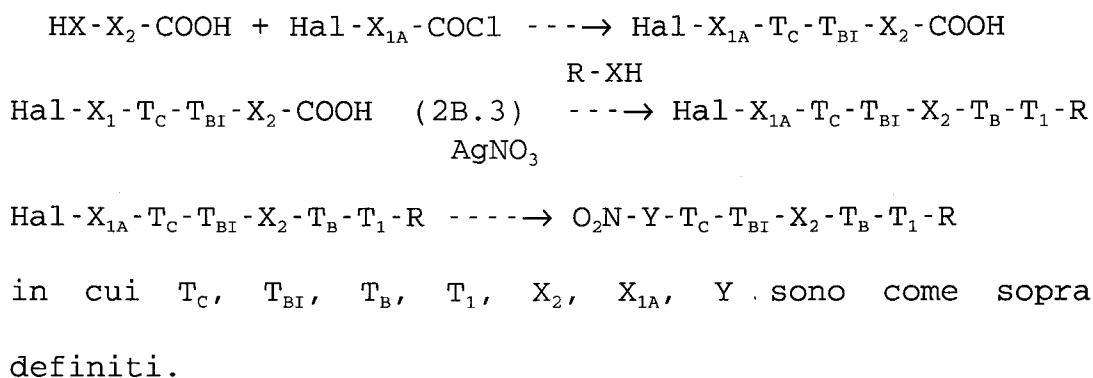
1b.2 Se il composto precursore di B contiene due gruppi carbossilici, viene trattato con una quantità equimolare di un agente attivante il carbossile nelle condizioni in precedenza descritte in 1a.1, e poi fatto reagire con la funzione reattiva HX della molecola del precursore del farmaco. Eventuali altre funzioni reattive di tipo HX presenti nei due composti devono essere protette come in precedenza indicato. Si ottiene alla fine un composto di formula  $R-T_1-T_B-X_2-COOH$  (1B.2).

2b. Sintesi del nitrossiderivato.

2b.1 Per ottenere il nitrossiderivato finale partendo dal composto di formula  $R-T_1-T_B-X_2-X-H$  (1B.1), ottenuto alla fine della sintesi descritta in 1b.1, si fa reagire il composto (1B.1) con un alogenoacido di formula  $Hal-X_{1A}-COOH$  che sia stato trattato come descritto in precedenza nel paragrafo 1a.1, oppure con il corrispondente cloruro dell'alogenoacido. Il composto risultante viene sciolto in solvente organico, ad esempio acetonitrile o tetraidrofurano, e si fa reagire con nitrato di argento.

2b.2 Per ottenere il nitrossiderivato finale partendo dal composto di formula  $R-T_1-T_B-X_2-COOH$  (1B.2), ottenuto alla fine della sintesi descritta in 1b.2, si trasforma l'acido nel corrispondente sale sodico, si fa reagire con un composto  $R_4-X_{1A}-R_3$ , in precedenza definito nella schema di reazione A. del paragrafo 2a.1, ottenendo secondo il medesimo procedimento ivi indicato il nitrossiderivato finale. In alternativa, se  $X_{1A}$  é un alchile lineare  $C_4$ , si fa reagire l'acido (1B.2) con trifenilfosfina in presenza di un agente alogenante come  $CBR_4$  o N-bromosuccinimide in tetraidrofurano e il composto risultante sciolto in solvente organico ad esempio acetonitrile, tetraidrofurano, viene fatto reagire con argento nitrato.

2b.3 In alternativa al procedimento di sintesi secondo 1b.1 e 2b.1, é possibile far reagire in un primo passaggio la funzione HX- del composto precursore di B HX-X<sub>2</sub>-COOH con il cloruro acilico di un alogenoacido di formula Hal-X<sub>1A</sub>-COCl, in cui Hal é preferibilmente Br, e successivamente la funzione carbossilica del composto così ottenuto, con il precursore del farmaco R-HX. Nel terzo ed ultimo passaggio il gruppo -Hal viene sostituito con -ONO<sub>2</sub> secondo il procedimento descritto in 2b.1. Lo schema di reazione é il seguente:



Nel precedente schema la nitratura può essere in alternativa effettuata sul composto acido di formula (2B.3).

Quando i composti di formula (I) utilizzabili nella presente invenzione hanno uno o più centri chirali, essi possono essere in forma racemica o come miscele di diastereoisomeri, come singoli enantiomeri o singoli diastereoisomeri; se presentano asimmetria geometrica si possono utilizzare i composti nella forma cis o trans.

Quando nella molecola dei composti di formula (I) è presente un gruppo funzionale salificabile, ad esempio un azoto amminico o eterociclico, è possibile utilizzare i sali corrispondenti dei suindicati composti, ottenibili per reazione in solvente organico come ad esempio acetonitrile, tetraidrofurano, con una quantità equimolecolare del corrispondente acido, organico od inorganico.

Esempi di acidi organici utilizzabili sono i seguenti: acido ossalico, tartarico, maleico, succinico, citrico.

Esempi di acidi inorganici utilizzabili sono i seguenti: acido nitrico, cloridrico, solforico, fosforico. Preferiti sono acido nitrico e cloridrico.

E' stato trovato che i nitroossiderivati utilizzati nella presente invenzione sono in grado di prevenire la deposizione della placca amiloidea, con efficacia alquanto superiore ai prodotti dell'arte nota. Non è noto tuttora il loro meccanismo di azione in quanto è stato trovato che non esercitano alcun effetto inibitorio sul processo infiammatorio a carico della microglia. I risultati dell'invenzione sono ancora più sorprendenti se si considera che i composti utilizzati nella presente invenzione sono in grado di rilasciare sistemicamente ossido nitrico, che nella patologia di Alzheimer è riconosciuto come uno dei mediatori pro-infiammatori che vengono rilasciati in seguito all'attivazione delle cellule microgliali. Non era prevedibile che

l'impiego di questi composti nella profilassi e terapia del morbo di Alzheimer risultasse efficace.

I composti utilizzati nella presente invenzione inoltre presentano ottima tollerabilità, anche dopo trattamento a lungo termine. Data l'elevata efficacia e tollerabilità, si possono usare anche in condizioni di patologia molto avanzata.

I suddetti composti sono formulati nelle corrispondenti composizioni farmaceutiche per uso parenterale, orale secondo le tecniche ben note nel ramo, unitamente agli usuali eccipienti; si veda ad esempio il volume "Remington's Pharmaceutical Sciences 15a Ed.".

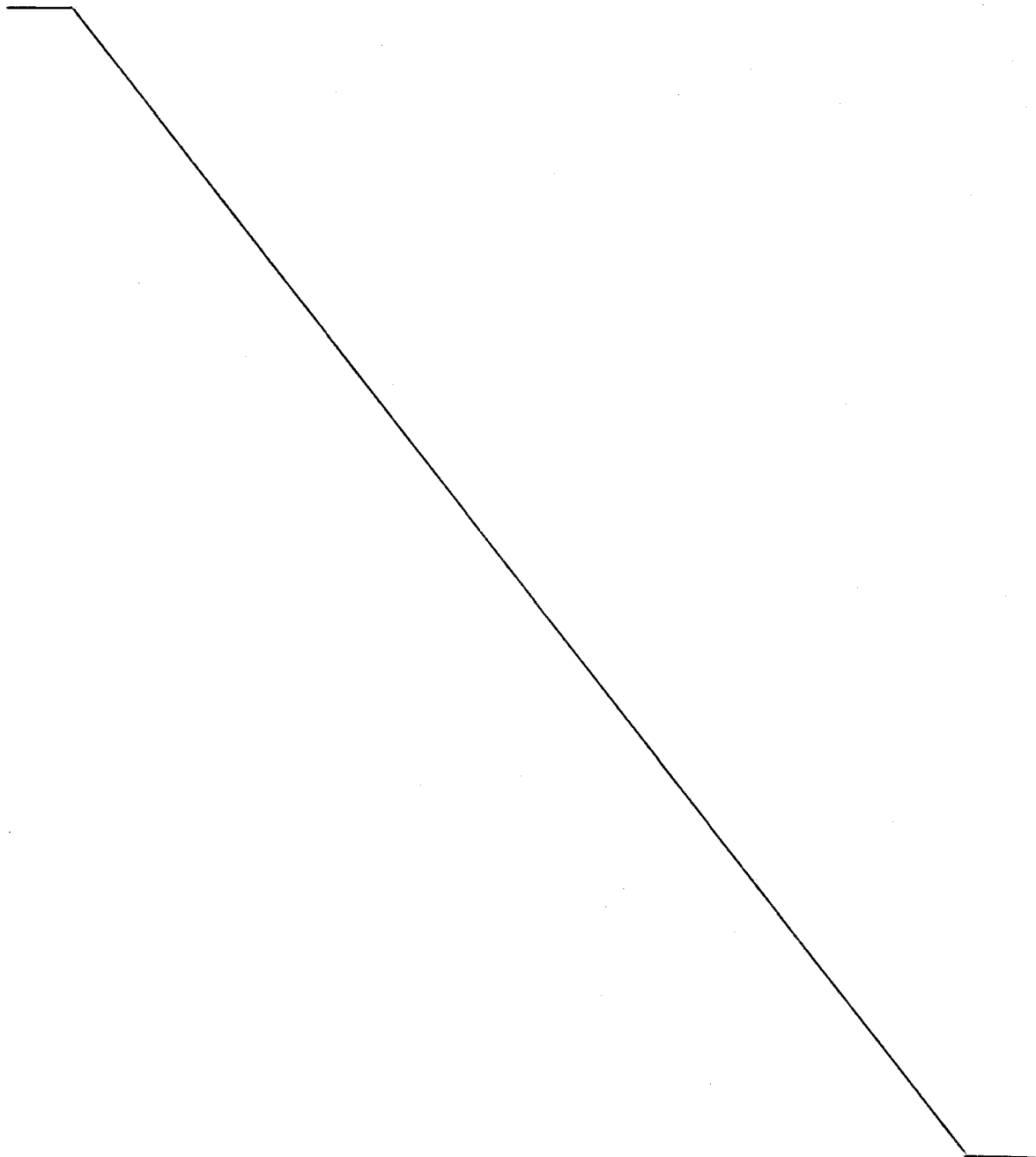
La quantità su base molare del principio attivo in queste formulazioni é uguale o inferiore alla massima posologia indicata per i farmaci precursori. Si possono usare anche dosi superiori data la loro ottima tollerabilità. Le dosi giornaliere dei farmaci precursori si possono trovare nelle pubblicazioni del ramo, come ad esempio nel "Physician's Desk reference".

Opzionalmente, l'uso secondo la presente invenzione può essere realizzato utilizzando i composti di formula (I) in combinazione con uno o più vaccini a base di beta-amiloide.

Il vaccino a base di beta-amiloide viene preparato con metodi noti, ad esempio come descritto nel lavoro di Schenk et al. (1999) "Immunization with amyloid-beta attenuates Al-

zheimer-disease-like pathology in the PDAPP mouse" Nature 400(6740):173-7). In questo caso è possibile ridurre la quantità di vaccino somministrata con conseguente riduzione degli effetti collaterali di natura immunologica del vaccino come indicato sopra.

I seguenti esempi illustrano l'invenzione e non sono limitativi del suo scopo.





## ESEMPIO 1

Sintesi di (S)- N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere,  
-(S)-6-metossi- alfa-metil-2-naftalenacetato di formula (XV)

a) Sintesi di (S)-N-acetil-S-(6-metossi- $\alpha$ -metil-2-naftalen acetil)cisteina

A una soluzione di acido 6-metossi- $\alpha$ -metil-2-naftalenacetico (10 g, 43,4 mmoli) in cloroformio (100 ml) e N,N-dimetilformamide (6 ml) si aggiunge 1,1'-carbonildiimidazolo (CDI) (7,04 g, 43,4 mmoli). Dopo 15 minuti la soluzione ottenuta viene trattata con (S)-N-acetilcisteina (7,08 g, 43,4 mmoli) e si lascia a temperatura ambiente per 12 ore. La miscela di reazione si lava con HCl 5%, poi con acqua ed infine con salamoia. La fase organica viene anidrificata con sodio solfato e poi evaporata a pressione ridotta. Il residuo ottenuto viene purificato per cromatografia su gel di silice eluendo con acetato di etile. Si ottengono 11,66 g del prodotto atteso nella forma di un solido bianco p.f. 122-126°C.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 7,71-7,65 (3H, m), 7,34 (1H, dd), 7,16-7,09 (2H, m), 6,36 (1H, d), 4,67 (1H, m), 4,00 (1H, q), 3,90 (3H, s) 3,32 (2H, t), 1,84 (3H, s), 1,59 (3H, d).

b) Sintesi di (S)-N-acetil-cisteina 4-(bromobutil) estere-S-(6-metossi- $\alpha$ -metil-2-naftalenacetato

A una soluzione del composto sintetizzato nel passaggio precedente (11,3 g, 30,1 mmoli) in tetraidrofurano (200 ml) si aggiungono trifenilfosfina (23,7 g, 90,3 mmoli) e tetrabromuro

di carbonio (28,85 g, 90,3 mmoli). La miscela di reazione viene lasciata sotto agitazione per 24 ore a temperatura ambiente. Si allontana il solvente per evaporazione a pressione ridotta. Si purifica il grezzo ottenuto per cromatografia su gel di silice eluendo con n-esano/etile acetato 7/3. Si ottengono 4 g dell'estere nella forma di un solido bianco con p.f. 67-71°C.

c) Sintesi di (S)- N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere, -(S)-6-metossi- alfa-metil-2-naftalenacetato

A una soluzione dell'estere ottenuto alla fine del precedente passaggio (1 g, 1,96 mmoli) in acetonitrile (20 ml) si aggiunge argento nitrato (0,66 g, 3,92 mmoli). La miscela di reazione viene scaldata per 7 ore al riflusso al riparo dalla luce. Si allontana per filtrazione il sale formatosi e si evapora la soluzione a pressione ridotta. Il residuo ottenuto viene purificato per cromatografia su gel di silice eluendo con n-esano/etile acetato 7/3. Si ottengono 0,47 g del prodotto finale nella forma di un solido bianco con p.f. 56-59°C.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) : 7,80-7,68 (3H, m), 7,37(1H, d), 7,20-7,13 (2H, m), 6,12 (1H, d) 4,40 (2H, dd), 4,26 (1H, m), 4,15-3,87 (3H, m), 3,92 (3H, s), 3,33 (2H, d), 1,86 (3H, d), 1,74-1,67 (4H, m), 1,61 (3H, d).

Analisi elementare:

Calcolato	C: 56,08%	H: 5,73%	N: 5,71%	S: 6,51%
Trovato	C: 55,99%	H: 5,68%	N: 5,60%	S: 6,35%

## ESEMPIO 2

Sintesi di (S)-N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere, -alfa-metil-4-(2-metilpropil)benzeneacetato avente formula (XVIII) (NO ibuprofen)

a) Sintesi di (S)-N-acetil-S-{ $\alpha$ -metil[4-(2-metilpropil)benzene]acetil)cisteina

A una soluzione di acido  $\alpha$ -metil[4-(2-metilpropil)benzene] acetico (10 g, 48,48 mmoli) in cloroformio (100 ml) e N,N-dimetilformamide (6 ml) si aggiunge 1,1'-carbonildiimidazolo (7,86 g, 48,48 mmoli). Dopo 1 ora la soluzione ottenuta viene trattata con (S)-N-acetilcisteina (7,91 g, 48,47 mmoli) e si lascia a temperatura ambiente per 24 ore. La miscela di reazione si lava con HCl 5%, poi con acqua ed infine con salamoia. La fase organica viene anidrificata con sodio solfato e poi evaporata a pressione ridotta. Il residuo ottenuto viene purificato per cromatografia su gel di silice eluendo con acetato di etile. Si ottengono 13,3 g del prodotto atteso nella forma di un olio.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 10,17 (1H, s) 7,13 (2H, d) 6,54 (1H, d), 4,76 (1H, m), 3,93 (1H, q), 3,42-3,30 (2H, m), 2,49 (2H, d), 1,85-1,83 (4H, m), 1,55 (3H, d), 0,93 (6H, d).

b) Sintesi di (S)-N-acetilcisteina-4-(bromo)butilestere, -alfa-metil-4-(2-metilpropil)benzeneacetato

A una soluzione del composto sintetizzato nel passaggio precedente (12,8 g, 36,4 mmoli) in tetraidrofurano (100 ml) si

aggiungono trifenilfosfina (28,65 g, 109,23 mmoli) e tetrabromuro di carbonio (36,23 g, 109,23 mmoli). La miscela di reazione viene lasciata sotto agitazione per 48 ore a temperatura ambiente. Si allontana il solvente per evaporazione a pressione ridotta. Si purifica il grezzo ottenuto per cromatografia su gel di silice eluendo con cicloesano/etile acetato 1/1. Si ottengono 5,79 g dell'estere nella forma di un olio.

c) Sintesi di (S)-N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere, -alfa-metil-4-(2-metilpropil)benzeneacetato

A una soluzione dell'estere ottenuto alla fine del precedente passaggio (5,5 g, 11,3 mmoli) in acetonitrile (100 ml) si aggiunge argento nitrato (2,69 g, 15,8 mmoli). La miscela di reazione viene scaldata per 24 ore al riflusso al riparo dalla luce. Si allontana per filtrazione il sale formatosi e si evapora la soluzione a pressione ridotta. Il residuo ottenuto viene purificato per cromatografia su gel di silice eluendo con cicloesano/etile acetato 7/3. Si ottengono 1,18 g del prodotto atteso nella forma di un olio.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 7,27-7,09 (4H, m), 6,19 (1H, d), 4,75 (1H, m), 4,47 (2H, t), 4,15-4,02 (2H, m), 3,86 (1H, q), 3,31 (2H, d), 2,44 (2H, d), 1,89 (3H, d), 1,86-1,76 (5H, m), 1,51 (3H, d), 0,89 (6H, d).

Analisi elementare:

Calcolato	C: 56,39%	H: 6,88%	N: 6,00%	S: 6,84%
Trovato	C: 56,22%	H: 6,79%	N: 5,88%	S: 6,92%

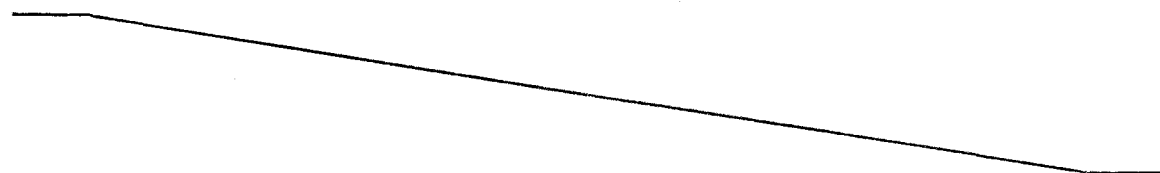
## ESEMPIO 3

Sintesi di (S)-N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere, 1-(4-cloro benzoil)-metossi-2-metil-1H-indol-3-acetato di formula (XVII)

a) Sintesi di (S)-N-acetil-S-[1-(4-clorobenzoil)-5-metossi-2-metil-1H-indol-3-acetil]cisteina

A una soluzione di acido 1-(4-clorobenzoil)-5-metossi-2-metil-1H-indol-3-acetico (10 g, 28,00 mmoli) in cloroformio (100 ml) e N,N-dimetilformamide (2 ml) si aggiunge 1,1'-carbonyldiimidazolo (4,53 g, 28,00 mmoli). Dopo 1 ora la soluzione ottenuta viene trattata con (S)-N-acetilcisteina (4,56 g, 28,00 mmoli) e si lascia a temperatura ambiente per 24 ore. La miscela di reazione si lava con HCl 5%, poi con acqua ed infine con salamoia. La fase organica viene anidrificata con sodio solfato e poi evaporata a pressione ridotta. Il residuo ottenuto viene purificato per cromatografia su gel di silice eluendo con acetato di etile. Si ottengono 7,79 g del prodotto atteso nella forma di un solido giallo p.f. 129°C.

$^1\text{H-NMR}$  (DMSO- $d_6$ ): 12,90 (1H, s), 8,21 (1H, d), 7,69-7,64 (4H, m), 7,06 (1H, d), 6,96 (1H, d), 6,73 (1H, dd), 4,33 (1H, m), 4,02 (2H, s), 3,77 (3H, s), 3,33-2,96 (2H, m), 2,22 (3H, s), 1,78 (3H, s).



b) Sintesi di (S)- N-acetilcisteina-4-(bromo)butilestere, 1-(4-cloro benzoil)-metossi-2-metil-1H-indol-3-acetato

A una soluzione del composto ottenuto nel passaggio precedente (3,09 g, 6,14 mmoli) in N,N dimetilformamide (50 ml) si aggiunge sodio etilato (0,42 g, 6,14 mmoli) e, dopo 30 minuti, 1,4-dibromobutano (2,18 ml, 18,00 mmoli) sciolto in 25 ml di N, N dimetilformamide. La miscela di reazione viene lasciata sotto agitazione per 20 ore a temperatura ambiente, quindi si diluisce con etere etilico e si lava con acqua. Dopo aver anidrificato la fase organica con solfato di sodio si allontana il solvente per evaporazione a pressione ridotta. Si purifica il grezzo ottenuto per cromatografia su gel di silice eluendo con cicloesano/etile acetato 1/1. Si ottengono 1,7 g dell'estere nella forma di un solido di color giallo con p.f. 130-134°C.

c) Sintesi di (S)- N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere, 1-(4-clorobenzoil)-metossi-2-metil-1H-indol-3-acetato

A una soluzione dell'estere ottenuto alla fine del precedente passaggio (1,6 g, 2,5 mmoli) in acetonitrile (30 ml) si aggiunge argento nitrato (0,6 g, 3,51 mmoli). La miscela di reazione viene scaldata per 8 ore al riflusso al riparo dalla luce. Si allontana per filtrazione il sale formatosi e si evapora la soluzione a pressione ridotta. Il residuo ottenuto viene purificato per cromatografia su gel di silice eluendo con cicloesano/etile acetato 4/6. Si ottengono 1,2 g del pro-

dotto finale nella forma di un olio.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 7,66 (2H, d), 7,48 (2H, d), 6,90 (2H, m), 6,68 (1H, m), 6,14 (1H, d), 4,77 (1H, m), 4,43 (2H, t), 4,08 (2H, m), 3,87 (2H, s), 3,83 (3H, s), 3,34 (2H, d), 2,38 (3H, s), 1,90 (3H, s), 1,78-1,70 (4H, m).

Analisi elementare:

Calcolato C: 54,24% H: 4,88% N: 6,80% S: 5,17% Cl: 5,72%

Trovato C: 54,32% H: 4,93% N: 6,91% S: 5,13% Cl: 5,84%

#### ESEMPIO 4

Sintesi di (S)- N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere, 2-fluoro-alfa-metil-[1,1-bifenil]-4-acetato di formula (XVI)

Il composto viene sintetizzato secondo il procedimento descritto nell'esempio 1. La sostanza si presenta come un olio. Resa: 26%.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 7,41-7,38 (6H, m), 7,10 (2H, m), 6,22 (1H, d), 4,78 (1H, m), 4,46 (2H, t), 4,13 (2H, t), 3,92 (1H, q), 3,36 (2H, d), 1,93 (3H, d), 1,76 (4H, d), 1,55 (3H, d).

Analisi elementare:

Calcolato C: 56,91% H: 5,37% N: 5,55% S: 6,33% F: 3,75%

Trovato C: 56,99% H: 5,41% N: 5,66% S: 6,41% F: 3,83%

## ESEMPIO 5

Sintesi di acido alfa-metil-4-(2-metilpropil)benzeneacetico, 2-metossi-4-[(1E)-3-[4-(nitroossi)butossi]-3-oxo-1-propenil]fenilestere di formula (XIII)

a) Sintesi dell'acido trans-3-[4-[ $\alpha$ -metil-[4-(-2-metilpropil)benzene]acetilossi]-3-metossifenil]-2-propenoico

A una soluzione di acido  $\alpha$ -metil-[4-(2-metilpropil)benzene]acetico (5,03 g, 24,4 mmoli) in tetraidrofurano (100 ml) e N,N-dimetilformamide (5 ml) si aggiunge 1,1-carbonildiimidazolo (4,25 g, 24,8 mmoli). Dopo 1 ora la soluzione ottenuta si tratta con acido ferulico (4,90 g, 25 mmoli), si aggiunge sodio etilato (89 mg) e si lascia a temperatura ambiente sotto agitazione per 12 ore. La miscela di reazione si lava con HCl 5%, poi con acqua ed infine con salamoia. La fase organica si anidrifica con sodio solfato e si evapora pressione ridotta.

Il residuo ottenuto viene purificato per cromatografia su gel di silice, eluendo con etile acetato/n-esano 7/3. Si ottengono 5,1 g del prodotto atteso come solido bianco con p.f. 131-137°C.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 7,72 (1H, d), 7,32 (2H, dd), 7,26 (1H, m), 7,16-7,07 (4H, m), 6,98 (1H, d), 6,37 (1H, d), 3,99 (1H, q), 3,73 (3H, s), 2,47 (2H, d), 1,88 (1H, m), 1,63 (3H, d), 0,92 (6H, d).



b) sintesi di acido benzenacetico, alfa-metil-4-(2-metil-propil), 2-metossi-4-[(1E)-3-[4-(bromo)butossi]-3-oxo-1-propenil]fenilestere

A una soluzione del composto sintetizzato nel passaggio precedente (5,33 g, 14 mmoli) in N,N-dimetilformamide (130 ml) si aggiunge, sotto agitazione, sodio etilato (1,2 g, 16 mmoli). Dopo 1 ora alla miscela ottenuta si aggiunge 1,4-dibromobutano (10 g, 46 mmoli) e si lascia reagire a temperatura ambiente per 12 ore. La miscela di reazione si lava con HCl 5%, poi con acqua ed infine con salamoia, la fase organica si anidrifica con sodio solfato e si evapora a pressione ridotta. Il residuo ottenuto si purifica per cromatografia su gel di silice eluendo con n-esano/etile acetato 8/2. Si ottengono 4,46 g del prodotto atteso.

c) Sintesi di acido benzenacetico, alfa-metil-4-(2-metil-propil), 2-metossi-4-[(1E)-3-[4-(nitroossi)butossi]-3-oxo-1-propenil]fenilestere

A una soluzione del composto sintetizzato nel passaggio precedente (4 g, 7,72 mmoli) in acetonitrile (70 ml) si aggiunge argento nitrato (2,58 g, 15 mmoli). La miscela di reazione viene scaldata al riflusso per 2 ore al riparo dalla luce. Al termine si allontana per filtrazione il sale formatosi e si evapora la soluzione a pressione ridotta. Il residuo che si recupera viene purificato per cromatografia su gel di silice, eluendo con n-esano/etile acetato 8/2. Si ottengono

2,4 g del composto atteso come olio.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>): 7,62 (1H, d), 7,32 (2H, d), 7,15 (2H, d), 7,16-7,05 (2H, m), 6,96 (1H, d), 6,35 (1H, d), 4,51 (2H, t), 4,24 (2H, t), 3,99 (1H, q), 3,74 (3H, s), 2,48 (2H, d), 1,89-1,83 (5H, m), 1,62 (3H, d), 0,92 (6H, d).

Analisi elementare:

Calcolato C: 64,91% H: 6,66% N: 2,82%

Trovato C: 64,83% H: 6,52% N: 2,69%

#### ESEMPIO 6

Sintesi di acido [1,1'-bifenil]-4-acetico, 2-fluoro-alfa-metil,2-metossi-4-[(1E)-3-[4-(nitroossi)butossi]-3-oxo-1-propenil]fenilestere di formula (XII) (NO-flurbiprofen)

Il composto viene sintetizzato secondo il procedimento descritto nell'esempio 5. La resa globale del processo é 32%. La sostanza si presenta come un solido amorfo.

<sup>1</sup>H- NMR (CDCl<sub>3</sub>): 7,40-7,25 (9H, m), 7,07-7,01 (2H, d), 6,98 (1H, m), 6,38 (1H, d), 4,44 (2H, t), 4,46 (2H, t), 4,21 (2H, t), 4,04 (1H, q), 3,73 (3H, s), 1,72 (4H, m), 1,65 (3H, d).

Analisi elementare:

Calcolato C: 64,79% H: 5,25% N: 2,62% F: 3,53%

Trovato C: 64,85% H: 5,31% N: 2,74% F: 3,48%

## ESEMPIO 7

Valutazione dell'effetto di ibuprofen e del nitrossi derivato del flurbiprofen (NO-flurbiprofen) sulla riduzione dei depositi amiloidici (Proteina A $\beta$ ) nella corteccia cerebrale frontale e sull'attivazione della microglia misurata nella corteccia cerebrale frontale

In questo esperimento si sono utilizzati topi transgenici (APPM-PS1M) portatori dei geni umani e mutati per la proteina precursore della proteina  $\beta$ -amiloide (APP, da cui si forma per proteolisi la proteina A $\beta$  delle placche amiloidi) e per la proteina presenilina-1 (PS1). Le mutazioni in queste proteine causano la demenza di Alzheimer in alcune famiglie in cui la malattia presenta un carattere autosomico dominante. I topi portatori del doppio-transgene APP mutata + PS-1 mutata (APPM/PS1M) rappresentano un ottimo modello per lo studio della demenza di Alzheimer in quanto sviluppano placche amiloidi e neuroinfiammazione simili a quelli riscontrati nella patologia umana (Holcomb L. et Al. Nat. Med. 4:97 (1998)).

Tre gruppi composti ciascuno di 12 topi transgenici (APPM/PS1M) aventi all'inizio dell'esperimento 7 mesi di età, ricevevano con la dieta giornaliera ibuprofen e, rispettivamente, NO-flurbiprofen (rif. Es. 6).

La dose pro die somministrata di ciascun composto era di 60 mg/kg per 5 mesi. Il terzo gruppo era il gruppo controllo

e riceveva solo la dieta giornaliera. Al termine del quinto mese gli animali venivano sacrificati mediante iniezione intra-peritoneale di pentobarbital (100 mg/kg). I cervelli sono stati rimossi e i due emisferi sono stati separati. Gli emisferi sono stati dapprima trattati per 24 ore con una soluzione di paraformaldeide (4% volume), poi per un periodo di 8 ore ciascuno, con soluzioni a concentrazioni crescenti di tampone fosfato di Soreson, rispettivamente di 10%, 20% e 30%. Gli emisferi sono stati quindi congelati e sezionati lungo un piano orizzontale e le sezioni sono state conservate a 4°C in DPBS (Dulbecco phosphate buffer saline) con sodio azide.

L'entità dei depositi amiloidi è stata valutata su una parte delle sezioni ottenute mediante colorazione con Rosso Congo (Sheehan DC, Hrapchak BB, eds. Theory and Practice of Histotechnology, 2<sup>nd</sup> ed. Mosby, St. Louis (MO), 1980, pp. 177-178; Thompson SW, ed. Selected Histochemical and Histo-pathological Methods. Charles C. Thomas, Springfield (IL), 1966, pp.402-405), e su una seconda parte delle sezioni di cervello mediante trattamento con anticorpo policlonale specifico verso il peptide A $\beta$  per identificare mediante metodo immunochimico i depositi A $\beta$ .

Un'altra parte delle sezioni ottenute dalla corteccia frontale é stata analizzata mediante analisi immunoistochimica utilizzando anticorpi diretti contro indicatori di attiva-

zione microgliale: anti-MHC-II, diretto contro il complesso di istocompatibilità di tipo II, anti-CRIII che riconosce il recettore 3 del complemento. L'espressione di questi indicatori risulta aumentata nella microglia attivata. La presenza di microglia è stata quantificata mediante analisi videodensitometrica e le cellule microgliali positive per MHC-II sono state contate manualmente in diversi campi di ogni sezione di cervello ed i risultati sono stati espressi come numero medio di cellule MHC-II positive per sezione di tessuto.

I risultati sono riportati nelle Tabelle 1 e 2.

I risultati riportati in Tabella 1 mostrano che NO-flurbiprofen induce una riduzione notevole del deposito delle placche amiloidiche (depositi A $\beta$ ) negli animali trattati rispetto a ibuprofen.

L'attività di ibuprofen risulta notevolmente inferiore a quella dei composti secondo la presente invenzione.

I risultati riportati in Tabella 2 sono espressi come rapporto tra la media del numero di cellule microgliali attivate (MCH-II positive) contate nelle sezioni cerebrali dei tre gruppi di animali e la media del numero di cellule microgliali attivate contate nelle sezioni cerebrali del gruppo di controllo. Detti risultati mostrano che nel gruppo di topi trattati con NO-flurbiprofen il numero delle cellule microgliali è circa 25 volte superiore a quello dei controlli e che nel gruppo trattato con ibuprofen il numero delle cellule

attivate è circa 6 volte superiore a quello dei controlli.

#### ESEMPIO 8

Valutazione dei danni gastrici indotti da flurbiprofen e ibuprofen rispetto ai corrispondenti nitroossi-derivati secondo la presente invenzione

La tollerabilità gastrica di questi farmaci è stata valutata nei topi (gruppi di 10 topi ciascuno) trattati a breve o lungo termine rispettivamente con NO-flurbiprofen come sopra definito, una dose equimolare di flurbiprofen, oppure con ibuprofen o con una dose equimolecolare di NO-ibuprofen.

Le dosi somministrate ed i risultati ottenuti sono riportati in Tabella 3 e mostrano che la somministrazione di flurbiprofen provoca danni gastrici, mentre NO-flurbiprofen non danneggia la mucosa gastrica ed è più tollerato.

#### ESEMPIO 9

Confronto dell'efficacia di NO-flurbiprofen e del nitroossibutil derivato dell'aspirina (NO-ASA) e il nitroossi butil derivato del flurbiprofen (NO-C<sub>4</sub>-flurbiprofen) nell'inibire la neurodegenerazione cerebrale in ratti trattati con LPS

Il nitroossibutil derivato dell'aspirina (NO-ASA) e il nitroossi butil derivato del flurbiprofen (NO-C<sub>4</sub>- flurbiprofen) sono stati sintetizzati secondo il metodo riportato nella domanda di brevetto WO 95/30641 a nome della Richiedente.

72 ratti F-344 maschi di 3 mesi sono stati suddivisi in 4 gruppi, che venivano infusi cronicamente con LPS (lipopolisac-

caride) per 30 giorni e ricevevano una volta al giorno, per lo stesso periodo di tempo, mediante iniezione sottocutanea rispettivamente NO-ASA (90 mg/kg equivalenti a 302  $\mu$ mol/Kg), NO-flurbiprofen (14  $\mu$ mol/kg), NO-C<sub>4</sub>-flurbiprofen (15 mg/Kg equivalenti a 41,5  $\mu$ mol /kg) o solo lo stesso volume di solvente (controlli). Il solvente era costituito da una miscela dimetilolfossido/etanolo/olio di ricino 20/5/75 in volume.

Al termine i ratti venivano sacrificati mediante iniezione letale con pentobarbital.

#### Procedure di Fissazione dei tessuti cerebrali

Il cervello di ogni ratto é stato perfuso in situ dapprima con una soluzione salina fredda contenente 1 U/ml di eparina, successivamente con paraformaldeide 4% in tampone fosfato 0,1 M (pH 7,4). I cervelli sono stati sezionati, fissati ulteriormente per 1 h nello stesso fissativo e incubati per una notte in una soluzione crioprotettiva contenente 20% in peso di sucrosio. I tessuti congelati sono stati gradualmente riscaldati a -20°C e sezioni seriali frontali sono state tagliate mediante un criostato. Le sezioni sono state raccolte in tampone fosfato e utilizzate immediatamente o conservate per una notte.

Le sezioni sono state lavate ed incubate in tampone fosfato (PBS) ed incubate per una notte a temperatura ambiente con anticorpi primari diretti contro epitomi specifici. La microglia attivata é stata visualizzata utilizzando l'anticorpo

OX-6 diretto contro il complesso di istocompatibilità di classe II (MHC-II). Le sezioni sono state incubate per 1 h con l'anticorpo secondario biotinilato (anti-IgG di topo, ottenuto nel cavallo) e poi con avidina coniugata con perossidasi (1 h). In seguito, le sezioni sono state trattate per 1-5 min con 0,05% di una soluzione di 3,3'-diamminobenzidina tetraidroclo-ridrato, che è il substrato della perossidasi. La reazione di colorazione é stata terminata mediante lavaggi con PBS.

Le sezioni sono state quindi analizzate mediante microscopia. Il numero di cellule microgliali positive per OX-6 nel giro dentato e nelle aree CA1-4 dell'ippocampo sono state con-tate in sezioni di cervello identiche provenienti da ogni rat-to.

I risultati, espressi come percentuale di inibizione del processo neurodegenerativo rispetto ai controlli sono riporta-ti in Tabella IV e dimostrano che il nitroossiderivato del flurbiprofen (NO-flurbiprofen) secondo l'invenzione è più ef-ficace nell'inibire il processo neurodegenartivo indotto da LPS sia rispetto a NO-ASA che rispetto a NO-C<sub>4</sub>-flurbiprofen. In particolare NO-flurbiprofen ha la stessa efficacia in questo test a 1/3 della dose utilizzata per NO-C<sub>4</sub>-flurbiprofen. L'attività di NO-ASA è invece molto inferiore rispetto a quel-la dei due precedenti composti.

---

---



Tabella 1

<p>Inibizione del deposito della placca amiloidica in topi trans-genici (APP+PS1) in seguito al trattamento con ibuprofen e NO-flurbiprofene, rispettivamente.</p> <p>I controlli non hanno ricevuto alcun trattamento farmacologico</p>		
Trattamento	% Inibizione (metodo istochimico <sup>1</sup> )	%Inibizione (metodo immunochimico <sup>2</sup> )
Controlli	0	0
NO-Flurbiprofen	40	45
Ibuprofen	14	27

<sup>1</sup> Colorazione con congo red;

<sup>2</sup> Dosaggio A $\beta$  I con metodo immunocitochimico

Tabella 2

<p>Analisi immuno-istochimica dell'attivazione delle cellule microgliali in seguito al trattamento con ibuprofen e NO-flurbiprofene, rispettivamente.</p> <p>I controlli non hanno ricevuto alcun trattamento farmacologico. I risultati sono espressi come rapporto tra il numero medio di cellule microgliali in ciascun gruppo di ratti rispetto a quello dei controlli (<math>R_{ATT}</math>)</p>	
Trattamento	$R_{ATT}$
Controlli	1
NO-Flurbiprofen	25
Ibuprofen	6

Tabella 3

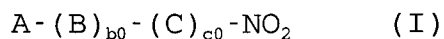
Tossicità gastrica di ibuprofen e flurbiprofen rispetto a NO-ibuprofen and NO-flurbiprofen rispettivamente					
Composti	Dose (mg/kg)	Danno Gastrico Score	Composti	Dose (mg/kg)	Danno Gastrico Score
Ibuprofen	3	1	Flurbiprofen	1	5
	10	1		3	10
	30	3,5		10	10
	100	16,5		30	19
NO- Ibuprofen	6,8	0,5	NO-flurbiprofen	2,2	0
	22,7	0,5		6,6	0
	68	2		22	0
	227	0,5		66	0

Tabella 4

Confronto dell'efficacia di NO-flurbiprofen, del nitroossibutil derivato dell'aspirina (NO-ASA) e il nitroossi butil derivato del flurbiprofen (NO-C <sub>4</sub> -flurbiprofen) nell'inibire la neurodegenerazione cerebrale in ratti trattati con LPS.		
Trattamento	Dose $\mu$ mol	% di inibizione neurodegenerazione
Controlli	-	0
NO-ASA	302	27,5
NO-C <sub>4</sub> -Flurbiprofen	41,5	71
NO-Flurbiprofen	14	71

## RIVENDICAZIONI

1. Uso per la preparazione di farmaci nella profilassi e trattamento del morbo di Alzheimer di composti, o loro sali, aventi la seguente formula generale:



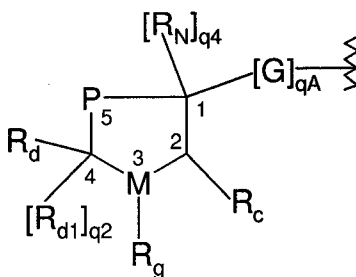
in cui:

$c_0$  è un intero ed è 0 oppure 1, preferibilmente 1;

$b_0$  è un intero ed è 0 oppure 1, con la condizione che  $c_0$  e  $b_0$  non possono essere contemporaneamente uguali a zero.

$A = R-T_1-$ , in cui

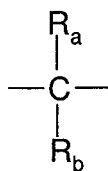
$R$  è il radicale di un farmaco come sotto definito:



(IV)

in cui:

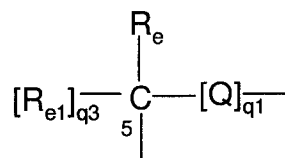
$G$  è uno dei seguenti gruppi:  $-CH=CH-$ ,



(Vg)

$M$  è un atomo di carbonio o di azoto;

$P$  è il seguente gruppo:



(V)

in cui:

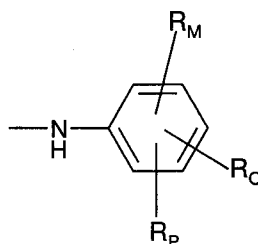
l'atomo di carbonio della formula (V) si trova in posizione 5 dell'anello della formula (IV);

Q è -CH- oppure un atomo di ossigeno;

$q_A$ ,  $q_1$ ,  $q_2$ ,  $q_3$ ,  $q_4$ , sono interi e indipendentemente l'uno dall'altro sono 1 oppure 0;  $q_2 = q_3 = q_4 = 0$  quando l'anello in formula (IV) è aromatico e  $Q = -CH-$ ;  $q_2 = q_3 = q_4 = 1$  quando l'anello di formula (IV) è saturo a 6 atomi in cui l'eteroatomo è  $Q = O$ , e si trova in posizione 6 dell'anello;

quando  $q_A = 1$  e G è il gruppo di formula (Vg)  $R_a$  ed  $R_b$ , uguali o diversi, sono idrogeno, alchile  $C_1-C_3$  preferibilmente metile;

$R_c$  in formula (IV) è idrogeno, alchile  $C_1-C_3$ , oppure il seguente radicale:

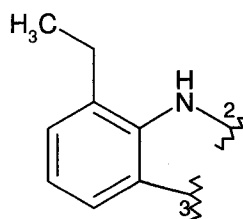


(VI)

in cui  $R_M$ ,  $R_O$ ,  $R_P$ , uguali o diversi, possono essere H, alogeno preferibilmente cloro, alchile  $C_1-C_3$  preferibilmente metile,  $CF_3$ ;

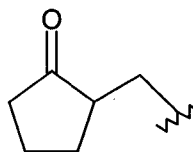
$R_g$  è idrogeno oppure  $-OCH_3$ , quando l'anello di fig. (IV) è a 6 atomi; oppure è un doppietto elettronico quando l'anello a 6 atomi è aromatico e  $M$  = azoto; oppure è un radicale p.clorobenzoile quando  $q_1 = 0$  ed  $M$  = azoto e l'anello di fig. (IV) è aromatico; oppure

$R_c$  e  $R_g$  presi assieme sono tali da formare il seguente radicale:



(VII)

$R_d$  in formula (IV) è idrogeno, ossidrile, alchile  $C_1-C_4$  opzionalmente ramificato, fenile, oppure il seguente radicale:

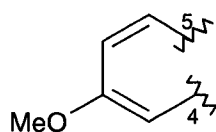


(VIII)

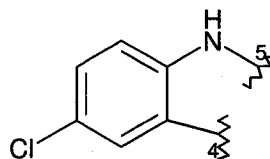
$R_{d1}$  = idrogeno quando  $q_2 = 1$ ;

$R_e$  (formula V) = idrogeno, alogeno preferibilmente F, oppure benzoile; oppure

$R_d$  e  $R_e$  presi assieme sono tali da formare i seguenti radicali:



(IX)



(X)

$R_{e1}$  (formula V) = H quando  $q_3 = 1$ ;

$R_N$  (formula IV) = alchile  $C_1-C_3$  preferibilmente etile quando  $q_4 = 1$ ;

$T_1 = (CO)_t$  oppure  $(X)_{t'}$ , dove  $X = O, S, NR_{1c}, R_{1c}$  é H oppure un alchile lineare o ramificato, avente da 1 a 5 atomi di carbonio,  $t$  e  $t'$  sono interi ed uguali a zero oppure 1, con la condizione che  $t = 1$  quando  $t' = 0$ ;  $t = 0$  quando  $t' = 1$ ;

$B = -T_B-X_2-T_{BI}-$  in cui

$T_B$  e  $T_{BI}$  sono uguali o diversi;

$T_B = (CO)$  quando la funzione reattiva nel farmaco precursore é -OH oppure -NH<sub>2</sub>;  $T_B = X$ , come sopra definito, quando la funzione reattiva nel farmaco precursore é -COOH;

$T_{BI} = (CO)_{tx}$  oppure  $(X)_{txx}$ , in cui  $tx$  e  $txx$  hanno il valore di 0 oppure 1; con la condizione che  $tx = 1$  quando  $txx = 0$ ,  $tx = 0$  quando  $txx = 1$ ;  $X$  é come sopra definito;

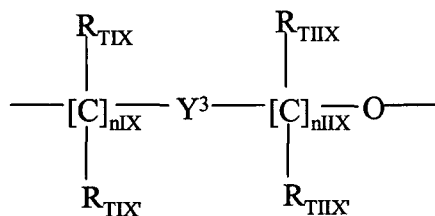
$X_2$  é un pontante bivalente come sotto definito;

$C$  é il radicale bivalente  $-T_c-Y-$  in cui

$T_c = (CO)$  quando  $tx = 0$ ,  $T_c = X$  quando  $txx = 0$ , essendo  $X$  come sopra definito;

$Y$  ha uno dei seguenti significati:

$Y_p$  :



(III)

in cui:

$n_{IX}$  é un intero da 0 a 3 , preferibilmente 1;

$n_{IIX}$  é un intero da 1 a 3 preferibilmente 1;

$R_{TIX}$ ,  $R_{TIX'}$ ,  $R_{TIIX}$ ,  $R_{TIIX'}$ , uguali o diversi tra loro sono H oppure alchile lineare o ramificato  $C_1$ - $C_4$ ; preferibilmente  $R_{TIX}$ ,  $R_{TIX'}$ ,  $R_{TIIX}$ ,  $R_{TIIX'}$  sono H.

$Y^3$  é un anello eterociclico contenente uno o due atomi di azoto, detto anello eterociclico essendo saturo, insaturo o aromatico, a 5 o 6 atomi;

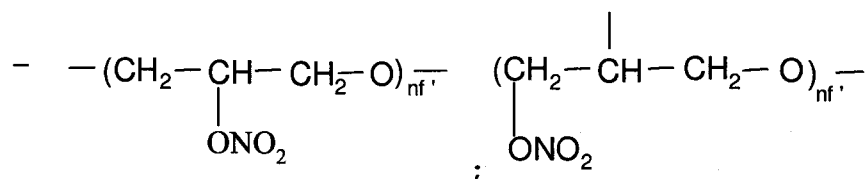
oppure  $Y$  può essere:

$Y_0$ , scelto tra i seguenti:

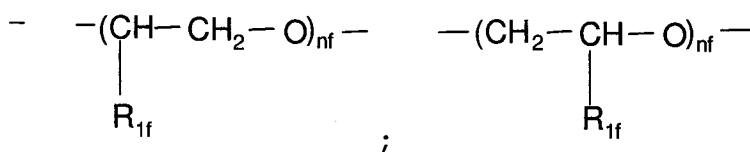
- un gruppo alchilenossi  $R'O$  in cui  $R'$  é  $C_1$ - $C_{20}$  lineare o ramificato quando possibile, avente preferibilmente da 2 a 6 atomi di carbonio, oppure un cicloalchilene avente da 5 a 7 atomi di carbonio, nell'anello cicloalchilenico uno o più atomi di carbonio possono essere sostituiti da eteroatomi, l'anel-



lo può avere catene laterali di tipo R', essendo R' come sopra definito; oppure uno dei seguenti gruppi:

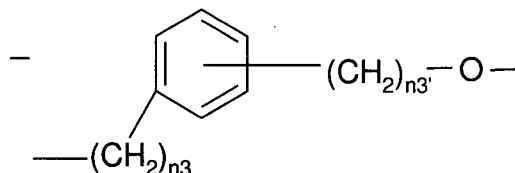


in cui  $nf'$  è un intero da 1 a 6 preferibilmente da 1 a 3;

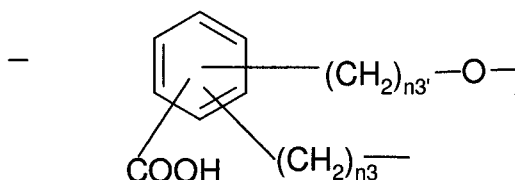


in cui  $R_{1f} = \text{H, CH}_3$  e  $nf$  è un intero da 1 a 6; preferibilmente da 2 a 4;

oppure Y è  $Y_{Ar}$  ed è scelto tra i seguenti:



in cui  $n3$  è un intero da 0 a 3 ed  $n3'$  è un intero da 1 a 3;



in cui  $n3$  ed  $n3'$  hanno il significato sopra indicato;

con la condizione che quando in formula (I) il radicale R di formula (IV) del farmaco A è diverso da acido ferulico se il radicale bivalente Y di C è R'O allora  $b_0 = 1$ ;

$X_2$ , radicale bivalente, é tale che il corrispondente precursore di B  $-T_B-X_2-T_{BI}-$  in cui le valenze libere di  $T_B$  e di  $T_{BI}$  sono saturate ciascuna con OZ, con Z oppure con  $-N(Z^I)(Z^{II})$ , essendo:

- $Z = H, C_1-C_{10}$ , preferibilmente  $C_1-C_5$  alchile lineare o ramificato quando possibile,
- $Z^I, Z^{II}$  uguali o diversi hanno i valori di Z come sopra definito, a seconda che  $T_B$  e/o  $T_{BI} = CO$  oppure X, in funzione dei valori di t, t', tx e txx;

soddisfa il seguente test (test 4): determinazione analitica eseguita aggiungendo aliquote di soluzioni metanoliche di concentrazione  $10^{-4}$  M del precursore di B a una soluzione metanolica di DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl); dopo aver conservato la soluzione a temperatura ambiente e al riparo dalla luce per 30 minuti, si legge l'assorbanza della soluzione in esame e di una soluzione contenente solamente DPPH nella stessa quantità, alla lunghezza d'onda di 517 nm; poi si determina la percentuale di inibizione del precursore di B verso la produzione di radicali indotta da DPPH attraverso la formula:

$$(1 - A_s/A_c) \times 100$$

in cui  $A_s$  e  $A_c$  sono rispettivamente i valori di assorbanza della soluzione contenente il composto in esame e DPPH e quello della soluzione contenente solo DPPH.

Il criterio di accettazione dei composti precursori di B secondo questo test é il seguente: il test 4 é soddisfatto dai composti precursori di B se la percentuale di inibizione come sopra definita é maggiore o uguale del 50%.

2. Uso secondo la rivendicazione 1, in cui:

- quando nella formula (IV)  $q_A = 1$  e G è il gruppo di formula (Vg) in cui  $R_a$  è metile e  $R_b$  è idrogeno,  $q_2 = q_4 = 0$ ,  $M = C$ , e in formula (V)  $q_1 = 1$ ,  $Q = -CH-$  e  $q_3 = 0$ , l'anello di formula (IV) comprendente M e Q è un anello aromatico a 6 atomi di carbonio e gli altri sostituenti sono come qui di seguito definiti:
- quando  $R_c = R_g = R_e = H$  e  $R_d$  è isobutile, il farmaco precursore di R così definito è ibuprofene;
- quando  $R_c = R_g = H$  e  $R_d$  è fenile ed  $R_e$  è F, il farmaco precursore di R così definito è flurbiprofene;
- quando  $R_c = R_g = H$  e  $R_d$  ed  $R_e$  formano assieme il radicale di formula (IX), il farmaco precursore di R così definito è naproxene;
- quando  $R_c = R_g = R_e = H$  e  $R_d$  è il radicale di formula (VIII), il farmaco precursore di R così definito è loxoprofene;

- quando  $R_c = R_g = R_d = H$  ed  $R_e = \text{benzoile}$ , il farmaco precursore di R così definito è ketoprofene;
- quando  $R_c = R_g = H$  e  $R_d$  ed  $R_e$  formano assieme il radicale di formula (X), il farmaco precursore di R così definito è carprofene;
- quando nella formula (IV)  $q_A = 0$ ,  $q_2 = q_4 = 0$ ,  $R_d = R_g = H$ ,  $M = C$ , e in formula (V)  $q_1 = 1$ ,  $Q = -CH-$ ,  $q_3 = 0$ ,  $R_e = H$ , l'anello di formula (IV) comprendente M e Q è un anello aromatico a 6 atomi di carbonio e gli altri sostituenti sono come qui di seguito definiti:
  - quando  $R_c$  è il radicale di formula (VI) in cui  $R_M = R_p = H$ ,  $R_o = CF_3$  e si trova in posizione meta rispetto al gruppo  $-NH-$ , il farmaco precursore di R così definito è l'acido flufenamico;
  - quando  $R_c$  è il radicale di formula (VI) in cui  $R_M = R_p = Cl$  e si trovano nelle due posizioni orto rispetto al gruppo  $-NH-$ ,  $R_o = CH_3$  e si trova in posizione para rispetto al gruppo  $-NH-$ , il farmaco precursore di R così definito è l'acido meclofenamico;
  - quando  $R_c$  è il radicale di formula (VI) in cui  $R_M = H$ ,  $R_p = Cl$  e si trova in posizione meta rispetto al gruppo  $-NH-$ ,  $R_o = CH_3$  in posizione orto rispetto al gruppo  $-NH-$  e rispetto all'atomo di cloro, il farmaco precursore di R così definito è l'acido tolfenamico;

- quando nella formula (IV)  $q_A = 0$ ,  $M = N$ ;  $q_2 = q_4 = 0$ ,  $R_d = H$ ; e nella formula (V)  $q_1 = 1$ ,  $q_3 = 0$ ,  $R_e = H$ ,  $Q = -CH-$ ;  $R_g$  è il doppietto elettronico libero sull'atomo di azoto, l'anello di formula (IV) comprendente M e Q è un anello piridinico,  $R_c$  è il radicale di formula (VI) in cui  $R_M = R_P = H$ ,  $R_0 = CF_3$  e si trova in posizione meta rispetto al gruppo  $-NH-$ , il farmaco precursore di R così definito è l'acido niflumico;

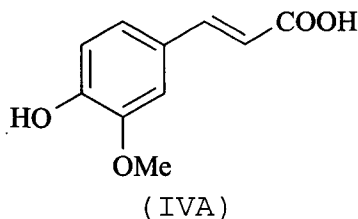
- quando nella formula (IV)  $q_A = 1$  e G è il gruppo di formula (Vg) in cui  $R_a = R_b = H$ ;  $M = C$ ,  $R_d = R_g = H$ ,  $q_2 = q_4 = 0$ ; e nella formula (V)  $q_1 = 1$ ,  $Q = -CH-$ ,  $R_e = H$ ,  $q_3 = 0$ ; l'anello della formula (IV) comprendente M e Q è un anello aromatico a 6 atomi di carbonio;  $R_c$  è il radicale di formula (VI) in cui  $R_M = R_P = Cl$  e si trovano nelle due posizioni orto rispetto al gruppo  $-NH-$ ,  $R_0 = H$ ; il farmaco precursore di R così definito è il diclofenac;

- quando nella formula (IV)  $q_A = 1$  e G è il gruppo di formula (Vg) in cui  $R_a = R_b = H$ ;  $M = C$ ,  $q_2 = q_4 = 1$ ,  $R_d = R_{d1} = H$ ,  $R_N = \text{etile}$ , e nella formula (V)  $q_1 = 1$ ,  $q_3 = 1$ ,  $Q = O$ ,  $R_e = R_{e1} = H$ ; l'anello della formula (IV) comprendente M e Q è un anello saturo a 6 atomi;  $R_g$  e  $R_c$  assieme formano il radicale di formula (VII), il farmaco precursore del radicale R così definito è etodolac;

- quando nella formula (IV)  $q_A = 1$  e G è il gruppo di formula (Vg) in cui  $R_a = R_b = H$ ;  $M = N$   $q_2 = q_4 = 0$ ; e in

formula (V)  $q_3 = q_1 = 0$ , l'anello in formula (IV) comprendente M corrisponde a quello del pirrolo;  $R_g = p\text{-clorobenzoile}$ ;  $R_c = CH_3$ ;  $R_d$  con  $R_e$  di formula (V) assieme formano il radicale di formula (IX), il farmaco precursore del radicale R così definito è indometacina.

3. Uso secondo la rivendicazione 1, in cui quando nella formula (IV)  $q_A = 1$  e  $G = -HC=CH-$ ,  $q_2 = q_4 = 0$ ,  $M = C$ , e in formula (V)  $q_1 = 1$ ,  $Q = -CH-$ ,  $q_3 = 0$  e  $R_e = H$ , l'anello di formula (IV) comprendente M e Q è un anello aromatico a 6 atomi di carbonio;  $R_c = H$ ,  $R_g = OCH_3$ ,  $R_d = OH$ , il farmaco precursore del radicale R così definito è l'acido ferulico di formula (IVA)

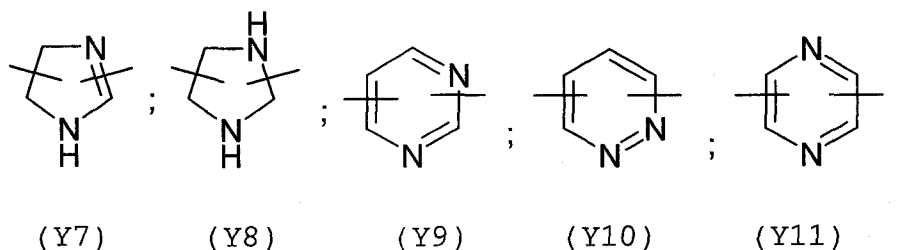
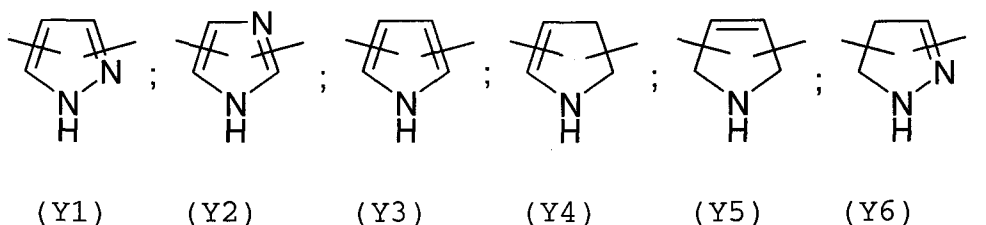


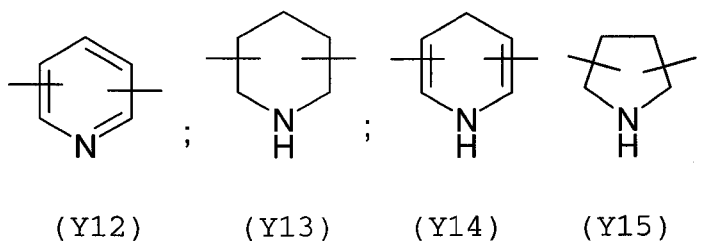
4. Uso secondo le rivendicazioni 1-3 in cui il composto precursore di B che soddisfa il test 4 è scelto nelle seguenti classi di composti:
- amminoacidi, scelti tra i seguenti: L-carnosina, anserina, selenocisteina, selenometionina, penicilamina, N-acetilpenicilamina, cisteina, N-acetilcistena, glutatione o suoi esteri, preferibilmente estere etilico o isopropilico;
  - idrossiacidi, scelti tra i seguenti: acido gallico, acido ferulico, acido gentisico, acido citrico, aci-

do caffeico, diidrocaffeico, acido p-cumarico, acido vanillico;

- polialcool aromatici ed eterociclici, scelti tra i seguenti: acido nordiidroguaiaretico, quercetina, catechina, kaempferolo, sulfuretina, acido ascorbico, acido isoascorbico, idrochinone, gossypol, acido reductico, metossiidrochinone, idrossiidrochinone, propil gallato, saccarosio, 3,5-di-tertbutil-4-idrossibenziltio glicollato, alcool p-cumarico, 4-idrossi-feniletalalcool, alcool coniferilico, allo-purinolo;
- composti contenenti almeno una funzione acida libera, scelti tra i seguenti: acido 3,3'-tiodipropionico, acido fumarico, acido diidrossimaleico, acido edetico.

5. Uso secondo le rivendicazioni 1-4 in cui  $Y^3$  nella formula (III) é scelto tra i seguenti:





6. Uso secondo la rivendicazione 5, in cui  $Y^3$  é un anello aromatico a 6 atomi, contenente un atomo di azoto e avente le due valenze libere rispettivamente in posizione 2 e 6.
7. Uso secondo la rivendicazione 6 in cui  $Y^3$  é Y12 (piridile) sostituito in posizione 2 e 6, o avente i due legami anche in posizione non simmetrica.
8. Uso secondo le rivendicazioni 1-7 in cui i precursori di B di formula (I) per la sintesi dei nitrossiderivati utilizzabili nella presente invenzione sono i seguenti: acido ferulico, N-acetilcisteina, cisteina, acido caffeico, acido idrocaffeico e gentisico; e i farmaci precursori di R sono i seguenti: ibuprofene, flurbiprofene, naproxene, acido ferulico.
9. Uso secondo le rivendicazioni 1-8 in cui i composti di formula (I) sono i seguenti:
  - acido [1,1'-bifenil]-4-acetico, 2-fluoro-alfa-metil-, 2-metossi-4-[(1E)-3-[4-(nitroossi)butossi]-3-oxo-1-propenil]fenilestere (XII);
  - acido alfa-metil-4-(2-metilpropil) benzenacetico-, 2-metossi-4-[(1E)-3-[4-(nitroossi)butossi]-3-oxo-1-prope-



nil]fenilestere (XIII);

- acido 6-metossi-alfa-metil-2-naftalenacetico-, 2-metossi-4-[(1E)-3-[4-(nitroossi)butossi]-3-oxo-1-propenil]

fenilestere (XIV);

- (S)-N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere-, (S)-6-metossi-alfa-metil-2-naftalenacetato (XV);

- (S)-N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere-, 2-fluoro-alfa-metil-[1,1-bifenil]-4-acetato (XVI);

- (S)-N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere-, 1-(4-clorobenzoil)-5-metossi-2-metil-1H-indol-3-acetato (XVII);

- (S)-N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere-, alfa-metil-4-(2-metilpropil)benzeneacetato (XVIII);

- acido 2-[(2,6-diclorofenil)ammino]benzeneacetico-, 2-metossi-4-[(1E)-3-[4-(nitroossi)butossi]-3-oxo-1-propenil] fenilestere (XIX);

- (S)-N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere-, 2-[(2,6-diclorofenil)ammino]benzeneacetato (XX);

- acido trans-3-(4-idrossi-3-metossifenil)-2-propenoico-, 4-(nitroossi)butil estere (XXI)

- acido trans 3-(4-idrossi-3-metossifenil)-2-propenoico-, 3-(nitrossimetil)fenil estere (XXII)

- acido trans 3-(4-idrossi-3-metossifenil)-2-propenoico, 6-(nitroossimetil)-2-piridinilmetil estere (XXIII)

- (S)-N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere-,

trans-3-(4-idrossi-3-metossifenil)-2-propenoato (XXIV)

- acido trans-3-(4-idrossi-3-metossifenil)-2-propenoico-, 2-metossi-4-[(1E)-3-[4-(nitroossi)butossi]-3-oxo-1-propenil]fenilestere (XXV).

10. Uso secondo le rivendicazioni 1-9 in cui se i composti di formula (I) hanno uno o più centri chirali, essi sono utilizzati in forma racemica o come miscele di diastereoisomeri, come singoli enantiomeri o singoli diastereoisomeri; se presentano asimmetria geometrica sono utilizzati i composti nella forma cis o trans.
11. Uso secondo le rivendicazioni 1-10 in cui i composti di formula (I) vengono utilizzati in combinazione con uno o più vaccini a base di beta-amiloide.
12. Miscele di composti come definite nella rivendicazione 11.
13. Composti secondo la rivendicazione 9 scelti fra:
  - acido trans 3-(4-idrossi-3-metossifenil)-2-propenoico-, 4-(nitroossi)butil estere (XXI)
  - acido trans 3-(4-idrossi-3-metossifenil)-2-propenoico-, 3-(nitrossimetil)fenil estere (XXII)
  - acido trans 3-(4-idrossi-3-metossifenil)-2-propenoico, 6-(nitrossimetil)-2-piridinilmetil estere (XXIII)
  - (S)-N-acetilcisteina-4-(nitroossi)butilestere-, trans-3-(4-idrossi-3-metossifenil)-2-propenoato (XXIV)
  - acido trans-3-(4-idrossi-3-metossifenil)-2-propenoico-

co-, 2-metossi-4-[(1E)-3-[4-(nitroossi)butossi]-3-oxo-1-propenil]fenilestere (XXV).

Milano, 15 MAG. 2001

p. NICOX S.A.

SAMA PATENTS

Daniele Sama

