

DOMANDA DI INVENZIONE NUMERO	102020000003692
Data Deposito	21/02/2020
Data Pubblicazione	21/08/2021

Classifiche IPC

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	07	D	249	06

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	07	D	401	04

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	07	D	405	02

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
C	07	D	405	14

Sezione	Classe	Sottoclasse	Gruppo	Sottogruppo
A	61	K	31	4192

Titolo

COMPOSTI BIFENILICI COME MODULATORI DI SOCE, LORO COMPOSIZIONI E USI
--

Descrizione dell'invenzione industriale dal titolo:

“Composti bifenilici come modulatori del SOCE, loro composizioni e usi”

Di: Università degli Studi del Piemonte Orientale “Amedeo Avogadro”, nazionalità italiana, via Duomo, 6 - 13100 Vercelli

5 **Inventori designati:** Tracey PIRALI, Beatrice RIVA, Marta SERAFINI, Silvio APRILE, Celia CORDERO SANCHEZ, Ambra GROLLA

Depositata il: 21 Febbraio 2020

TESTO DELLA DESCRIZIONE

10 **Campo dell'invenzione**

La descrizione riguarda nuovi composti di 1,2,3-triazolo bifenil-1,4-disostituiti in grado di modulare l'ingresso di calcio mediato dal reticolo endoplasmatico, noto anche come ingresso di calcio capacitativo (Store-Operated Calcium Entry, SOCE), loro composizioni e usi.

15 **Sfondo dell'invenzione**

Il calcio (Ca^{2+}) rappresenta un messaggero ubiquitario che funge da molecola di segnale universale per codificare le informazioni fra le cellule e all'interno delle cellule, regolando una vasta gamma di funzioni cellulari che vanno dalle risposte a breve termine, come la contrazione e la secrezione, al controllo a lungo termine della trascrizione, della
20 divisione cellulare e della morte cellulare. (Jeremy T. Smyth, et al.; 2010. J. Cell. Mol. Med. Vol 14, n. 10, pp. 2337-2349; Lewis Richard S. 2011 Cold Spring Harb Perspect Biol; 3:a003970). L'enorme gradiente attraverso la membrana plasmatica della cellula insieme alla bassissima concentrazione di Ca^{2+} nel citosol (il Ca^{2+} è 10^5 volte più
25 abbondante negli organelli e nel mezzo extracellulare) è quindi diventato una grande opportunità per l'uso di questo ione come secondo messaggero specifico. Un segnale di Ca^{2+} codifica un messaggio attraverso l'esatta localizzazione spaziale nella cellula, l'ampiezza, la durata e la frequenza del suo aumento. Elevate concentrazioni di ioni calcio sono presenti negli organelli intracellulari (in particolare nel reticolo endoplasmatico (RE) e/o reticolo sarcoplasmatico (RS)) e l'apertura di canali del calcio (ad es. RyR,
30 IP3R) situati su queste membrane consente a questo ione di uscire dal deposito ed attivare

segnali cellulari. Anche se sulle membrane di RS/RE sono presenti pompe di Ca^{2+} che sono in grado di riassorbire Ca^{2+} , ci si aspetterebbe che questo organello si esaurisca presto del Ca^{2+} data l'attività dei meccanismi di efflusso della membrana plasmatica. Non è questo il caso poiché nella cellula esiste un dialogo incrociato tra il RE e la membrana plasmatica, rappresentato dal cosiddetto ingresso di Ca^{2+} capacitativo (Store-Operated Ca^{2+} -Entry, SOCE). Il termine SOCE si riferisce alla capacità delle cellule di rilevare una diminuzione della concentrazione di calcio nel RE e di indurre un flusso di questo ione attraverso la membrana plasmatica nella cellula (Putney JW. 2011. *Frontiers in Bioscience* (Edizioni Scholar) 3:980-984).

Il SOCE è associato alla corrente elettrofisiologica I_{CRAC} , descritta per la prima volta da Hoth e Penner (Hoth M, Penner R. 1992. *Nature* 355:353-356). L'esatto meccanismo molecolare dietro questo fenomeno è stato delucidato tra il 2005 e il 2006, quando sono stati scoperti i principali componenti del macchinario del SOCE, i canali di Ca^{2+} attivati dal rilascio di Ca^{2+} (CRAC). I canali del CRAC sono assemblati da due complessi proteici fondamentali: le proteine Orai che formano il poro del canale ionico sulla membrana plasmatica e le proteine Molecola di Interazione Stromale (STIM), che fungono da sensori di calcio sul RE (Berna-Erro A, et al. Redondo PC, Rosado JA. 2012 *Medicine and Biology* 740:349-382; Soboloff J, Rothberg BS, Madesh M, Gill DL. 2012 *Nature Reviews. Molecular Cell Biology* 13:549-565; Lacruz RS, Feske S. 2015. *Annals of the New York Academy of Sciences* 1356:45-79). Oltre a STIM e Orai, va sottolineato che altre proteine cruciali partecipano al meccanismo del SOCE, tra cui i Canali del Potenziale Recettoriale Transitorio (TRPC) (Ong HL, Ambudkar IS. 2015. *Cell Calcium* 58:376-386).

Le proteine STIM sono proteine di membrana bitopiche, altamente conservate tra le specie. Sono stati descritti due membri nella famiglia, STIM1 e STIM2, di cui il primo appare più espresso (Roos et al., 2005; *J Cell Biol.*; 169(3):435-45). Usando un limitato screen di RNAi di cellule S2 di *Drosophila*, è stata identificata STIM di *Drosophila* come avente un ruolo fondamentale nell'attivazione del SOCE, e una conclusione simile è stata raggiunta quasi contemporaneamente per STIM1 e STIM2 umane in uno screen di cellule HeLa (Jeremy T. Smyth, et al.; 2010. *J. Cell. Mol. Med.* Vol 14, n. 10, pp. 2337-2349, Lewis Richard S. 2011 *Cold Spring Harb Perspect Biol*; 3:a003970). STIM1 è stata identificata come un sensore del Ca^{2+} per SOCE in quanto è specializzata per rispondere

a significativi cambiamenti nei segnali del Ca^{2+} del RE. La localizzazione di STIM1 è cruciale per il ruolo del SOCE: quando i depositi di Ca^{2+} sono pieni, STIM1 è localizzata in strutture tubolari in tutta la membrana del RE, ma quando i depositi di svuotano si sposta in strutture puntiformi in siti in cui il RE è a contatto con la membrana plasmatica.

- 5 Questa ri-localizzazione di STIM1 all'interno del RE verso la membrana plasmatica consente l'attivazione e l'interazione diretta o indiretta dei canali Orai. I canali Orai risiedono sulla membrana plasmatica e sono stati descritti tre membri della famiglia (Orai1, Orai2 e Orai3), con Orai1 che è il più abbondante e strettamente connesso all' I_{CRAC} (Jeremy T. Smyth, et al.; 2010. J. Cell. Mol. Med. Vol 14, n. 10, pp. 2337-2349; Lewis Richard S. 2011 Cold Spring Harb Perspect Biol, 3:a003970; Feske S. et al 2005 J Exp Med 202(5):651-62; Nature 11; 441(7090):179-85).
- 10

L'esperimento chiave per esemplificare il SOCE è rappresentato nella Figura 1. In breve, lo svuotamento dei depositi presenti nel RE/RS porta all'apertura di un canale situato sulla membrana plasmatica attraverso il quale il Ca^{2+} può rifluire nella cellula e questi due fenomeni possono essere dissezionati aggiungendo Ca^{2+} alla soluzione extracellulare in seguito alla deplezione dei depositi intracellulari. Questo semplice ma potente approccio sperimentale *in vitro* rimane valido per smascherare il fenomeno negli screening.

15

Le correnti del CRAC sono state inizialmente identificate nei linfociti e nei mastociti e contemporaneamente caratterizzate in diverse linee cellulari come cellule B DT40, epatociti, cellule dendritiche, megacariociti e cellule renali canine Madin-Darby. Nei linfociti e nei mastociti, l'attivazione attraverso il recettore delle cellule T o il recettore Fc induce il rilascio di ioni Ca^{2+} dai depositi intracellulari, determinato dal secondo messaggero inositolo (1,4,5)-trifosfato (IP_3), che determina l'afflusso di ioni Ca^{2+} attraverso i canali del CRAC nella membrana plasmatica.

20

25

I canali del CRAC mediano anche funzioni cruciali dalla secrezione all'espressione genica e alla crescita cellulare e formano un processo essenziale per l'attivazione della risposta immunitaria adattativa. È stato dimostrato che le oscillazioni di Ca^{2+} innescate attraverso la stimolazione del recettore dell'antigene delle cellule T (TCR) coinvolgevano solo la via di afflusso del canale del CRAC capacitativo. Pertanto, l'afflusso di ioni Ca^{2+} mediato dal canale del CRAC capacitativo è fondamentale per l'attivazione dei linfociti. (Anant B. Parekh and James W. Putney Jr. 2005, Physiol Rev

30

85: 757-810.; Hogan G.p., et al 2010, Annu. Rev. Immunol. 28:491-533; Patrick G Hogan e Anjana Rao 2015, Biochem Biophys Res Commun 24, 460(1): 40-49; Feske S, Okamura H, Hogan PG, Rao A. 2003, Biochem Biophys Res Commun, 311(4):1117-32). Al contrario, le correnti di Ca^{2+} capacitative identificate nelle cellule endoteliali, nel muscolo liscio, nelle cellule epidermiche e nelle cellule di cancro della prostata mostrano alterate caratteristiche biofisiche che ne suggeriscono una diversa origine molecolare. Queste evidenze dimostrano che il Ca^{2+} intracellulare svolge un ruolo importante in diverse funzioni cellulari e che la sua concentrazione dipende dall'afflusso di Ca^{2+} attraverso i canali del Ca^{2+} sulla membrana plasmatica e sul RE.

Nei muscoli scheletrici di pazienti affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne (DMD) e di topi mdx (un modello diffuso per lo studio della DMD che ha una mutazione puntiforme nel suo gene DMD), l'assenza della proteina citoscheletrica distrofina si è dimostrata essenziale per il mantenimento di un normale afflusso di calcio. In particolare, è stato riportato che l'afflusso dipendente dal deposito di STIM1, ORAI1 e TRPC1 viene aumentato a seguito della perdita di distrofina, il che suggerisce un coinvolgimento del SOCE in questa patologia letale. (Onopiuk M. 2015 Arch Biochem Biophys, 569:1-9; Sabourin J. 2012 Cell Calcium, 6:445-456).

Inoltre, il ruolo chiave svolto dai canali del CRAC nella salute umana è sottolineato da un crescente elenco di studi genetici che hanno portato all'identificazione di pazienti con mutazioni con perdita o aumento di funzione di STIM1 e/o Orai1, che sono affetti da gravi problemi di salute, come difetti muscolari, immunodeficienza, autoimmunità e disturbi emorragici (Feske S. 2010 European Journal of Physiology, 460:417-435).

Per quanto riguarda le mutazioni con perdita di funzione, sono state descritte almeno tre famiglie non correlate che, a causa di mutazioni diverse, tra cui frame-shift (mutazioni che provocano la perdita del registro di lettura di tutte le triplette di codoni a valle della mutazione stessa, durante la traduzione), non esprimono Orai1 sulla membrana plasmatica dei linfociti T, mancano dell'ingresso di Ca^{2+} capacitativo e non sono quindi in grado di attivare i linfociti T (Feske S, et al. 1996 European Journal of Immunology 26:2119-2126.; McCarl CA, et al. 2009. J Allergy Clin Immunol. 124(6):1311-1318.e7). È inoltre importante sottolineare che sono state riportate famiglie con mutazioni STIM1, che portano alla mancata espressione della proteina, e che sono caratterizzate da

immunodeficienza da cellule T (Picard C, et al. 2009, N Engl J Med. 7, 360(19):1971-80; Byun M, et al. 2010, The Journal of Experimental Medicine, 207:2307-2312; Fuchs S, et al. 2012 Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950) 188:1523-1533). Infine, sebbene l'immunodeficienza sia il segno distintivo della malattia, questi pazienti presentano anche
5 malattie linfoproliferative, autoimmunità, miopatia congenita, anidrosi, riduzione dello smalto dentale e una compromissione della formazione di trombi causata da un difetto dell'attivazione piastrinica. Sebbene alcune mutazioni diano luogo a una ridotta attività che potrebbe essere potenziata farmacologicamente, la maggior parte delle mutazioni produce una riduzione significativa dell'espressione della proteina e pertanto potrebbero
10 essere indicati approcci farmacologici per questi disturbi. Attualmente, le mutazioni con perdita di funzione di STIM1 e Orai1 riportate in letteratura sono le seguenti: p.P165Q, p.R429C, p.R426C, p.E128RfsX9 per STIM1; p.R91W, p.A103E, p.L194P, p.A88SfsX25 e p.H165PfsX1 per Orai1.

Le mutazioni con aumento di funzione di STIM1 e/o Orai1 colpiscono
15 principalmente i muscoli scheletrici e le piastrine, sebbene sia evidente che si tratti di una malattia multiorgano (Lacruz RS, Feske S. 2015. Annals of the New York Academy of Sciences 1356:45-79). La prevalenza dei disturbi non è nota, ma è probabile che la loro prevalenza aggregata sia di circa 1/250.000. Data la rarità del disturbo, rispetto ad altre miopatie, il disturbo non è stato affrontato sistematicamente in clinica e al momento non
20 sono disponibili registri della malattia. Le mutazioni sia in STIM1 che in Orai1 sono collegate a tre disturbi separati ma sovrapponibili: la miopatia con aggregati tubulari, la sindrome di Stormorken e la sindrome piastrinica di York. La miopatia con aggregati tubulari è caratterizzata da combinazioni variabili di mialgie, crampi e rigidità muscolare, con o senza debolezza con una distribuzione prevalentemente prossimale e la presenza di
25 aggregati tubulari, che sono schiere regolari di tubuli derivati dal reticolo sarcoplasmatico (Böhm J, et al.2013. American Journal of Human Genetics 92:271-278; Nesin V, et al. 2014. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 111:4197-4202; Endo Y, et al. 2015. Human Molecular Genetics 24:637-648). La sindrome di Stormorken è caratterizzata da segni miopatici, ma può anche includere una
30 lieve tendenza al sanguinamento dovuta a disfunzione piastrinica, trombocitopenia, anemia, asplenia, miosi congenita, ittiosi, mal di testa ed episodi ricorrenti di simil-ictus (Stormorken H, et al. 1995. Thromb Haemost 74: 1244-1251). Infine, la sindrome

piastrinica di York vede discrasie ematiche come fenotipo principale. Attualmente, le mutazioni con aumento di funzione di STIM1 e Orai1 riportate in letteratura sono le seguenti: p.N80T, p.H72Q, p.G81D, p.D84G, p.D84E, p.L96V, p.F108L, p.F108I, p.H109R, p.H109N, p.I115F, p.R304W, p.R304G per STIM1; p. S97C, p. G98S, p. V107M, p. L138F, p. T184M, p. P245L per Orai1. In breve, le mutazioni di STIM1 risiedono principalmente nei motivi mano-EF leganti il Ca^{2+} , che modificano molto probabilmente l'affinità per gli ioni Ca^{2+} della proteina, con la singola eccezione di una mutazione situata nel lato citosolico della proteina su un dominio superavvolto che è probabile che incida sulla dimerizzazione/oligomerizzazione di STIM1, un innesco putativo dell'apertura del canale di Orai1. Le mutazioni di Orai1 si trovano nei domini transmembrana in posizioni che potrebbero portare all'assunzione che esse partecipino al rivestimento del canale.

Tutti questi dati suggeriscono che i modulatori del SOCE sarebbero utili per il trattamento di malattie causate da un SOCE anormale. Una limitazione fondamentale nello studio del SOCE e del suo ruolo fisio- e fisiopatologico è la mancanza di modulatori potenti e selettivi.

Synta66 (GSK1349571A; (2',5'-dimetossibifenil-4-il)ammide) dell'acido 3-fluoropiridin-4-carbossilico) è un composto sviluppato da Synta Pharmaceuticals e GSK. E esso inibisce l'ICRAC con una IC_{50} di circa 1 μM (Di Sabatino A. 2009. Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950) 183:3454-3462; Ng, S. W. Journal of Biological Chemistry, 2008, 283, 31348-31355; WO2005009954; WO2005009539). Inoltre, è stato riportato che è in grado di ridurre la produzione di citochine nelle cellule T e, in particolare, che inibisce la produzione di IFN-gamma, IL-2 e IL-17, ma non di IL-8 (Di Sabatino A. 2009. Journal of Immunology (Baltimore, Md: 1950) 183:3454-3462). È anche interessante sottolineare che nelle cellule del muscolo liscio vascolare la potenza è superiore di due ordini di grandezza (IC_{50} circa 30 nM) (Li, J. BJP, 2011, 164, 382-393).

Il meccanismo d'azione dettagliato del composto non è noto, sebbene il knockdown mediante siRNA di ORAI nei mastociti suggerisca che potrebbe essere selettivo per Orai1 (Ng, S. W. Journal of Biological Chemistry, 2008, 283, 31348-31355). Inoltre, esperimenti su cellule di muscolo liscio vascolare suggeriscono che non interferisce con raggruppamenti di STIM1, il che aumenta la possibilità che il farmaco non bersagli il meccanismo di STIM1 (Li, J. BJP, 2011, 164, 382-393).

È stato riportato che Synta66 non influisce su: recettori metabotropici del glutammato, muscarinici dell'acetilcolina e del GABA B, recettori del GABA A, AMPA e NMDA, canali ionici controllati da ligando come canali del Na⁺ sensibili alla tetrodotossina, e canali del Ca²⁺ regolati da voltaggio tipo P/Q (Di Sabatino A. 2009.

- 5 Journal of Immunology (Baltimore, Md: 1950). Inoltre, esso non inibisce i canali TRPC5 sovraespressi o TRPC1/5 endogeni (Li, J. BJP, 2011, 164, 382-393).

Un numero crescente di studi sta utilizzato Synta66 per studiare il ruolo fisiologico dei canali del CRAC *in vitro* e in modelli animali; tuttavia, la sua specificità nei confronti delle diverse isoforme di Orai non è ottimale.

- 10 Rimane quindi una necessità insoddisfatta di nuovi modulatori a molecola piccola aventi elevata potenza e specificità nei confronti di STIM1 e/o Orai1 al fine di regolare l'attività dei canali del CRAC, in particolare per il trattamento di malattie e disturbi associati al SOCE.

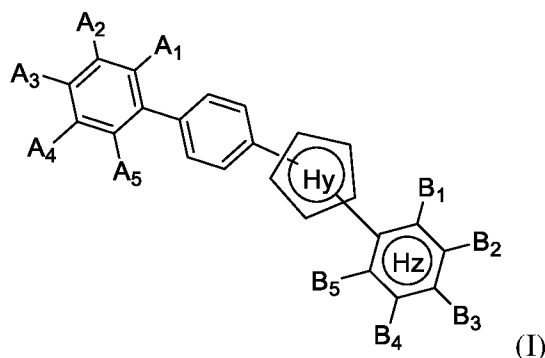
Sintesi dell'invenzione

- 15 Lo scopo della presente descrizione consiste nel fornire nuovi composti in grado di modulare il SOCE.

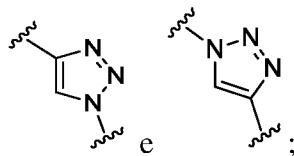
Secondo l'invenzione, lo scopo di cui sopra si ottiene grazie all'oggetto trattato specificamente nelle seguenti rivendicazioni, che sono da intendersi come parte integrante della presente descrizione.

- 20 La presente invenzione fornisce una classe di composti come nuovi modulatori del SOCE e il loro utilizzo in terapia. Più in particolare, l'invenzione fornisce una famiglia di composti di 1,2,3-triazolo bifenil-1,4-disostituiti.

La presente descrizione fornisce composti di formula (I):



- 25 in cui



l'anello Hy è selezionato tra

l'anello Hz è selezionato tra un gruppo arile o eteroarile;

A₁, A₂, A₃, A₄ e A₅ sono identici o diversi l'uno dall'altro e indipendentemente selezionati tra H, CF₃, Br, I, Cl, F, OH, OR₁, SR₁, NH₂, NHR₁, NR₁R₂, S(O)R₁, S(O)₂R₁,
 5 NHCOR₁, NHSO₂R₁, CONHR₁, CONR₁R₂, SO₂NHR₁, COOH, COOR₁, NO₂, CN, un gruppo O-eterociclico a 5-6 elementi;

A₁ e A₂, o A₂ e A₃, o A₃ e A₄, o A₄ e A₅ possono formare insieme un gruppo O-eterociclico a 5-6 elementi fuso all'anello di fenile al quale sono attaccati;

B₁, B₂, B₃, B₄ e B₅ sono indipendentemente selezionati tra H, CH₂COOH, COOH,
 10 COOR₃, CN, CF₃, Br, I, Cl, F e 1H-tetrazol-5-ile;

R₁ e R₂ sono identici o diversi l'uno dall'altro e indipendentemente selezionati tra un gruppo C₁₋₈ alchile non sostituito o sostituito, un gruppo C₂₋₈ alchenile non sostituito o sostituito, un gruppo C₂₋₈ alchinile non sostituito o sostituito, un gruppo C₃₋₆ cicloalchile non sostituito o sostituito, arile non sostituito o sostituito, eterociclico non sostituito o
 15 sostituito, un gruppo (CH₂)_n-C₁₋₈ alchile, (CH₂)_n-C₂₋₈ alchenile, (CH₂)_n-C₂₋₈ alchinile, (CH₂)_n-cicloalchile, (CH₂)_n-arile e (CH₂)_n-eteroarile, in cui n è un numero intero da 1 a 4;

R₃ è selezionato tra un gruppo C₁₋₈ alchile non sostituito o sostituito, un gruppo C₂₋₈ alchenile non sostituito o sostituito, un gruppo C₂₋₈ alchinile non sostituito o sostituito, un gruppo C₃₋₆ cicloalchile non sostituito o sostituito, arile non sostituito o
 20 sostituito, eterociclico non sostituito o sostituito, un gruppo (CH₂)_m-C₁₋₈ alchile, (CH₂)_m-C₂₋₈ alchenile, (CH₂)_m-C₂₋₈ alchinile, (CH₂)_m-cicloalchile, (CH₂)_m-arile e (CH₂)_m-eteroarile, in cui m è un numero intero da 1 a 4;

relativi idrati e/o solvati e/o sali farmaceuticamente accettabili.

La presente descrizione si riferisce a composti di 1,2,3-triazolo bifenil-1,4-disostituiti di formula (I) con un'attività specifica su SOCE.
 25

La presente descrizione si riferisce anche all'utilizzo di composti di formula (I) per l'uso nel trattamento *in vivo* di condizioni patologiche legate a mutazioni con perdita o aumento di funzione di STIM1/Orai1, distrofie muscolari, malattie infiammatorie, in cui la modulazione del SOCE è vantaggiosa.

La presente descrizione fornisce inoltre composizioni farmaceutiche che comprendono almeno un composto di formula (I) e un veicolo farmaceuticamente accettabile. La composizione farmaceutica può inoltre comprendere uno o più agenti terapeutici addizionali.⁷

5 **Breve descrizione dei disegni**

L'invenzione verrà ora descritta nel dettaglio, puramente a titolo di esempio illustrativo e non limitativo, con riferimento alle figure allegate, in cui:

- Figura 1: Traccia rappresentativa dell'Ingresso di Calcio Capacitativo (SOCE).

10 Gli esperimenti sono stati eseguiti prima e durante l'esposizione delle cellule ad una soluzione priva di Ca^{2+} . In assenza di Ca^{2+} , i depositi di Ca^{2+} intracellulari sono stati svuotati mediante 2,5-t-butilidrochinone (tBHQ, 50 μM ; Sigma-Aldrich, Italia), un veleno per la SERCA, e quindi calcio 2 mM è stato nuovamente aggiunto alla soluzione extracellulare.

15 **- Figura 2: Risposta del calcio a modulatori del SOCE.**

(A) Cellule HEK sono state piastrate in una piastra da 6 pozzetti rivestita con polid-lisina e incubate per una notte. Dopo 24 ore, le cellule sono state caricate con Fura-2 AM 5 μM e poste in una soluzione extracellulare contenente Ca^{2+} 0 mM. I depositi sono stati svuotati con tBHQ 50 μM e l'afflusso di calcio è stato stimolato mediante aggiunta
20 di Ca^{2+} 2 mM da solo (Ctrl), oppure in combinazione con: composto privo di attività (4-(1-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)-3-fluoropiridina) e i composti acido 3-(1-(3'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico, acido 3-(1-(4-(2,3-diidrobenczo[b][1,4]diossin-6-il)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico e acido 3-(1-(2',3'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico che regolano
25 negativamente il SOCE. Le risposte del calcio sono espresse come variazioni di intensità di fluorescenza prima e dopo l'aggiunta dei modulatori selezionati.

(B) Cellule HEK sono state saggiate per una risposta del calcio a differenti concentrazioni di acido 3-(1-(2',3'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico e acido 3-(1-(4-(2,3-diidrobenczo[b][1,4]diossin-6-il)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (0,1-0,3-1-3-10-30-100 μM) utilizzando il dosaggio con Fura-2 AM. Le
30 curve concentrazione-risposta rappresentano la AUC% di entrambi i composti rispetto al

controllo positivo.

- Figura 3: Il SOCE è potenziato nei miotubi da topi KI-STIM1^{I115F}

SOCE indotto da tBHQ in miotubi da topi di tipo selvatico (WT) o KI-STIM1^{I115F}. Le tracce sono la media di almeno 180 miotubi da 6 piastre in due differenti giorni di
5 esperimento. In tutti i punti temporali, sono stati utilizzati miotubi di 4 animali (2 maschi, 2 femmine) per ogni condizione.

- Figura 4: Valutazione degli effetti dell'acido 3-(1-(3'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico in miotubi da topi KI-STIM1^{I115F}

L'acido 3-(1-(3'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (10
10 μ M) compromette il SOCE nei miotubi da topi KI-STIM1^{I115F}. Nel dettaglio, il composto è in grado di determinare la reversione della sovra-attivazione della proteina mutata STIM1. Le tracce sono la media di almeno 180 miotubi da 6 piastre in due differenti giorni di esperimento.

- Figura 5: Il SOCE è potenziato in miotubi da topi mdx.

15 SOCE indotto da tBHQ in miotubi da topi di tipo selvatico (WT) o mdx. Le tracce sono la media di almeno 180 miotubi da 6 piastre in due differenti giorni di esperimento. In tutti i punti temporali, sono stati utilizzati miotubi di 4 animali (2 maschi, 2 femmine) per ogni condizione.

- Figura 6: Valutazione degli effetti dell'acido 3-(1-(4-(2,3-diidrobenzo[*b*][1,4]diossin-6-il)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico in miotubi da topi mdx.

L'acido 3-(1-(3'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (10
25 μ M) compromette il SOCE nei miotubi da topi mdx. Nel dettaglio, il composto è in grado di determinare la reversione della sovra-attivazione della proteina mutata DMD. Le tracce sono la media di almeno 180 miotubi da 6 piastre in due differenti giorni di esperimento.

- Figura 7: Vettore di targeting F118.3 TV.

La base scambiata (indicata da una stella) nell'esone 3 di Stim1 (indicata da una
punta di freccia) viene inserita insieme alla cassetta di resistenza alla neomicina
fiancheggiata da FRT. Il braccio lungo di omologia ha una lunghezza di 5,3 kb, mentre il
30 braccio corto di omologia si estende per 2,8 kb (LA e SA; indicati da caselle). Sono
indicati gli enzimi di restrizione utilizzati per la conferma. Il vettore di targeting può
essere linearizzato con NotI prima dell'elettroporazione.

Descrizione dettagliata dell'invenzione

Nella descrizione che segue, vengono forniti numerosi dettagli specifici per consentire la piena comprensione delle forme di realizzazione. Le forme di realizzazione possono essere messe in pratica senza uno o più dei dettagli specifici, o con altri
5 procedimenti, componenti, materiali, ecc. In altri casi, strutture, materiali, od operazioni ben note/noti non sono mostrate/mostrati o descritte/descritti nel dettaglio per evitare di confondere aspetti delle forme di realizzazione.

Il riferimento in tutta la presente descrizione a “una (aggettivo numerale) forma di realizzazione” o “una (articolo indeterminativo) forma di realizzazione” indica che
10 un/una particolare aspetto, struttura, o caratteristica descritto/descritta in connessione con la forma di realizzazione è incluso/inclusa in almeno una delle forme di realizzazione. Quindi, le forme delle espressioni “in una (aggettivo numerale) forma di realizzazione” o “in una (articolo indeterminativo) forma di realizzazione” in vari punti in tutta la presente descrizione non sono necessariamente tutte riferite alla stessa forma di realizzazione.

15 Inoltre, i/le particolari aspetti, strutture, o caratteristiche possono venire combinati/combinati in qualsiasi modo in una o più forme di realizzazione.

I titoli forniti in questa sede sono solo per convenienza e non interpretano l’ambito o il significato delle forme di realizzazione.

Il termine “alchile” come qui usato si riferisce a un gruppo monovalente a catena
20 lineare o ramificata derivato da un idrocarburo insaturo da uno a otto atomi di carbonio. I gruppi alchile della presente invenzione possono essere opzionalmente sostituiti.

Il termine “alchenile” come qui usato si riferisce a un gruppo monovalente a catena lineare o ramificata derivato da un idrocarburo da due a otto atomi di carbonio avente almeno un doppio legame carbonio-carbonio. I gruppi alchenile della presente
25 invenzione possono essere opzionalmente sostituiti.

Il termine “alchinile” come qui usato si riferisce a un gruppo monovalente a catena lineare o ramificata derivato da un idrocarburo da due a otto atomi di carbonio avente almeno un triplo legame carbonio-carbonio. I gruppi alchinile della presente invenzione possono essere opzionalmente sostituiti.

30 Il termine “arile” come qui usato si riferisce a un sistema ad anello carbociclico mono- o biciclico avente almeno un anello aromatico che può essere opzionalmente sostituito. Il gruppo arile può essere fuso a un anello di cicloesano, cicloesene,

ciclopentano o ciclopentene, nel qual caso il gruppo arile può essere attaccato attraverso l'anello a cui è attaccato o attraverso l'anello aromatico stesso. I gruppi arile della presente invenzione possono essere opzionalmente sostituiti.

Il termine “eteroarile” come qui usato si riferisce a un gruppo arile come definito sopra contenente uno, due, tre o quattro eteroatomi indipendentemente selezionati dal gruppo costituito da azoto, ossigeno e zolfo. Preferibilmente, il gruppo eteroarile è rappresentato da benzimidazolile, benzofurile, benzotiazolile, benzotienile, benzossazolile, furile, imidazolinile, imidazolile, indolile, isochinolile, isotiazolidinile, isotiazolile, isossazolile, ossadiazolile, ossazolidinile, ossazolile, pirazolidinile, pirazinile, pirazolile, pirazolinile, piridazinile, piridile, pirimidinile, pirimidile, pirrolile, chinolile, chinossaloile, tetraidrofurile, tetraidroisochinolile, tetraidrochinolile, tetrazolile, tiadiazolile, tiazolidinile, tiazolile, tienile, triazolile e simili. Più preferibilmente, il gruppo eteroarile è rappresentato da eterocicli contenenti azoto come piridile, triazolile e simili.

Il termine “cicloalchile” come qui usato si riferisce a un idrocarburo monovalente saturo ciclico o biciclico da tre a sei atomi di carbonio. I gruppi cicloalchile della presente invenzione possono essere opzionalmente sostituiti.

Il termine “alogeno” come qui usato si riferisce a F, Cl, Br, o I.

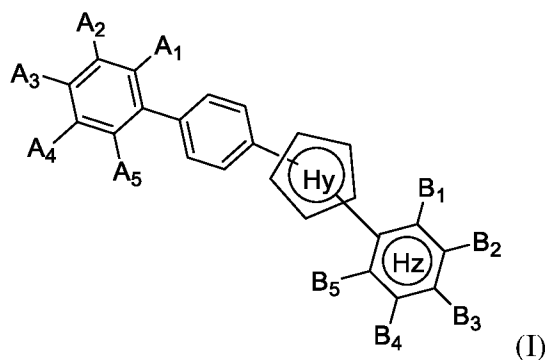
Il termine “eterociclico” come qui usato si riferisce a un anello a 4, 5, 6 o 7 elementi contenente uno, due o tre eteroatomi indipendentemente selezionati dal gruppo costituito da azoto, ossigeno e zolfo. Gli anelli a 4 e 5 elementi hanno 0, 1 o 2 doppi legami e gli anelli a 6 e 7 elementi hanno 0, 1, 2 o 3 doppi legami. Gli atomi di azoto e zolfo possono essere opzionalmente ossidati e l'atomo di azoto può opzionalmente essere quaternizzato. Il termine “eterociclico” include anche gruppi biciclici, triciclici e tetraciclici in cui un anello eterociclico è fuso con uno o due anelli selezionati tra un anello di arile, un anello di cicloesano, un anello di cicloesene, un anello di ciclopentano, un anello ciclopentene o un altro anello eterociclico monociclico. Gli eterocicli di questo tipo possono essere attaccati attraverso l'anello a cui sono fusi o attraverso l'anello eterociclico stesso. Gli eterocicli includono, senza limitazioni, acridinile, benzimidazolile, benzofurile, benzotiazolile, benzotienile, benzossazolile, biotinile, cinnolinile, diidrofurile, diidroindolile, diidropiranile, diidrotienile, ditiazolile, diossanile, diossolanile, furile, omopiperidinile, imidazolidinile, imidazolinile,

imidazolile, indolile, isochinolile, isotiazolidinile, isotiazolile, isossazolile, morfolinile, ossadiazolile, ossazolidinile, ossazolile, piperazinile, piperidinile, piranile, pirazolidinile, pirazinile, pirazolile, pirazolinile, piridazinile, piridile, pirimidinile, pirimidile, pirrolidinile, pirrolinile, pirrolile, chinolinile, chinossaloile, tetraidrofurile, tetraidroisochinolile, tetraidrochinolile, tetrazolile, tiadiazolile, tiazolidinile, tiazolile, tienile, tiomorfolinile, triazolile e simili. I gruppi eterociclici della presente invenzione possono essere opzionalmente sostituiti. Preferibilmente, il gruppo eterociclico è selezionato da eterocicli contenenti azoto come piridile, triazolile, e eterocicli contenenti ossigeno come diossanile e diossolanile.

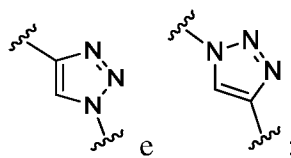
L'espressione "sali farmaceuticamente accettabili" come qui usata si riferisce a quei sali che sono, nell'ambito di un valido giudizio medico, adatti all'uso a contatto con tessuti dell'uomo e animali inferiori senza indurre eccessiva tossicità, irritazione, risposta allergica e simili e sono commisurati ad un ragionevole rapporto beneficio/rischio.

L'espressione "idrati e/o solvati farmaceuticamente accettabili" come qui usata si riferisce a una forma cristallina di una sostanza che contiene una o più molecole di acqua e/o solvente.

In una forma di realizzazione, la presente invenzione fornisce un composto di formula (I):



in cui



l'anello Hy è selezionato tra

l'anello Hz è selezionato tra un gruppo arile o eteroarile;

A₁, A₂, A₃, A₄ e A₅ sono identici o diversi l'uno dall'altro e indipendentemente selezionati tra H, CF₃, Br, I, Cl, F, OH, OR₁, SR₁, NH₂, NHR₁, NR₁R₂, S(O)R₁, S(O)₂R₁,

NHCOR₁, NHSO₂R₁, CONHR₁, CONR₁R₂, SO₂NHR₁, COOH, COOR₁, NO₂, CN, un gruppo O-eterociclico a 5-6 elementi;

A₁ e A₂, o A₂ e A₃, o A₃ e A₄, o A₄ e A₅ possono formare insieme un gruppo O-eterociclico a 5-6 elementi fuso all'anello di fenile al quale sono attaccati;

- 5 B₁, B₂, B₃, B₄ e B₅ sono indipendentemente selezionati tra H, CH₂COOH, COOH, COOR₃, CN, CF₃, Br, I, Cl, F e 1*H*-tetrazol-5-ile;

- R₁ e R₂ sono identici o diversi l'uno dall'altro e indipendentemente selezionati tra un gruppo C₁₋₈ alchile non sostituito o sostituito, un gruppo C₂₋₈ alchenile non sostituito o sostituito, un gruppo C₂₋₈ alchinile non sostituito o sostituito, un gruppo C₃₋₆ cicloalchile non sostituito o sostituito, arile non sostituito o sostituito, eterociclico non sostituito o sostituito, un gruppo (CH₂)_n-C₁₋₈ alchile, (CH₂)_n-C₂₋₈ alchenile, (CH₂)_n-C₂₋₈ alchinile, (CH₂)_n-cicloalchile, (CH₂)_n-arile e (CH₂)_n-eteroarile, in cui n è un numero intero da 1 a 4;

- R₃ è selezionato tra un gruppo C₁₋₈ alchile non sostituito o sostituito, un gruppo C₂₋₈ alchenile non sostituito o sostituito, un gruppo C₂₋₈ alchinile non sostituito o sostituito, un gruppo C₃₋₆ cicloalchile non sostituito o sostituito, arile non sostituito o sostituito, eterociclico non sostituito o sostituito, un gruppo (CH₂)_m-C₁₋₈ alchile, (CH₂)_m-C₂₋₈ alchenile, (CH₂)_m-C₂₋₈ alchinile, (CH₂)_m-cicloalchile, (CH₂)_m-arile e (CH₂)_m-eteroarile, in cui m è un numero intero da 1 a 4;

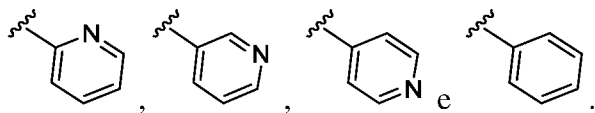
 relativi idrati e/o solvati e/o sali farmaceuticamente accettabili.

- 20 In una o più forme di realizzazione, in cui R₁, R₂ e R₃, se presenti, sono indipendentemente selezionati tra un gruppo C₁₋₈ alchile sostituito, un gruppo C₂₋₈ alchenile sostituito, un gruppo C₂₋₈ alchinile sostituito, un gruppo C₃₋₆ cicloalchile sostituito, arile sostituito, eterociclico sostituito, il singolo sostituito o i diversi sostituenti sono indipendentemente selezionati tra alogeno, CH₃, CH₂F, CHF₂, CF₃, OR₂,
25 CN, COOR₄, CONR₄R₅, NR₄R₅, NHCOR₄, NHSO₂R₄, S(O)R₄, S(O)₂R₄, e SO₂NHR₄,

 in cui R₄ e R₅ sono identici o diversi e indipendentemente selezionati tra H, un gruppo C₁₋₈ alchile non sostituito o sostituito con uno o più atomi di alogeno, e un gruppo C₃₋₆ cicloalchile non sostituito o sostituito con uno o più atomi di alogeno.

- In una o più forme di realizzazione preferite, R₁, R₂ e R₃ sono selezionati tra
30 metile, etile, terz-butile, isopropile, fenile e benzile non sostituiti.

 In una o più forme di realizzazione preferite, l'anello H_z è selezionato tra



In una o più forme di realizzazione preferite, il sostituito A_1 è selezionato tra H, F, OMe, un gruppo O-eterociclico a 5-6 elementi.

In una o più forme di realizzazione preferite, il sostituito A_2 è selezionato tra H, OMe, SMe, OH, un gruppo O-eterociclico a 5-6 elementi.

In una o più forme di realizzazione preferite, il sostituito A_3 è selezionato tra H, OMe, un gruppo O-eterociclico a 5-6 elementi.

In una o più forme di realizzazione preferite, il sostituito A_4 è selezionato tra H, OMe, un gruppo O-eterociclico a 5-6 elementi.

In una o più forme di realizzazione preferite, il sostituito A_5 è selezionato tra H, OMe, un gruppo O-eterociclico a 5-6 elementi.

In una o più forme di realizzazione preferite, due gruppi adiacenti in posizione A_1 , A_2 , A_3 , A_4 o A_5 formano un gruppo O-eterociclico a 5-6 elementi fuso con un anello di fenile a cui essi sono attaccati, il gruppo eterociclico fuso con l'anello di fenile essendo selezionato tra diidrobenzodiossinile o benzodiossolile.

In una o più forme di realizzazione preferite, il sostituito B_1 è selezionato tra H e F.

In una o più forme di realizzazione preferite, il sostituito B_2 è selezionato tra H, CH_2COOH , COOH , COOMe , CN, e 1*H*-tetrazol-5-ile.

In una o più forme di realizzazione preferite, B_3 è H.

In una o più forme di realizzazione preferite, il sostituito B_4 è selezionato tra H, CH_2COOH , COOH , COOMe , CN, e 1*H*-tetrazol-5-ile.

In una o più forme di realizzazione preferite, il sostituito B_5 è selezionato tra H e F.

Rispetto ai composti descritti nella presente invenzione, Synta66 mostra una considerevole citotossicità a 10 μM , con una vitalità cellulare residua del 76% dopo 24 ore. Nelle stesse condizioni, i modulatori del SOCE 1,2,3-triazolo bifenil-1,4-disostituiti descritti non sono citotossici, con una vitalità cellulare superiore al 90% dopo 24 ore. Inoltre, i modulatori bifenilici mantengono una potenza paragonabile a quella del Synta66 nell'inibire l'attività del SOCE con valori di IC_{50} nel range nanomolare in entrambi i casi.

I composti di formula (I) qui descritti sono utili per il trattamento di una condizione patologica dipendente da una aumentata/diminuita attività del SOCE.

Di conseguenza, i composti di formula (I) sono utili per la prevenzione o per il trattamento di:

- 5 - Malattie legate a mutazioni con perdita o aumento di funzione di STIM1/Orai1, che includono, senza limitazioni, immunodeficienze (immunodeficienza da cellule T, malattie linfoproliferative, autoimmunità, miopatia congenita, anidrosi, disturbi dello smalto dentale, e una compromissione nella formazione di trombi dovuta a un difetto dell'attivazione piastrinica) miopatia ad aggregati tubulari (TAM), sindrome di Stormorken e sindrome piastrinica di York.
- 10 - Distrofie muscolari, che includono la distrofia muscolare di Duchenne.
- Malattie infiammatorie, che includono pancreatite acuta lieve e severa, pancreatite cronica e pancreatite post-ERCP.

I composti di formula (I) possono essere somministrati attraverso diverse vie appropriate alla condizione da trattare. Vie appropriate includono orale, parenterale (tra cui sottocutanea, intramuscolare, endovenosa, intraarteriosa, intradermica, intratecale e epidurale), transdermica, rettale, nasale, topica (tra cui buccale e sublinguale), vaginale, intraperitoneale, intrapolmonare e intranasale.

I composti di formula (I) possono essere formulati in una composizione farmaceutica in forma di compressa, capsula, soluzione acquosa, granulato, polvere, sospensione, crema, sciroppo, gel, emulsione e simili.

Il dosaggio dipende da una serie di fattori che includono l'età, il peso e la condizione del paziente e la via di somministrazione. Nonostante il dosaggio giornaliero possa variare da un individuo ad un altro, il composto/i composti verrà somministrato/verranno somministrati a un essere umano adulto in un range di 0,0001-50 mg/kg di peso corporeo come singola dose giornaliera o da 0,01 a 1 mg/kg come dosi giornaliere ripetute.

Le compresse contengono il composto/i composti di formula (I) in miscela con eccipienti farmaceutici non tossici adatti alla produzione di compresse. Eccipienti di esempio possono essere: diluenti inerti, come carbonato di sodio, lattosio, destrosio, cellulosa, ecc.; agenti granulanti e disgreganti come amido di mais, glicolato, acido alginico; agenti leganti come gelatina o acacia; agenti lubrificanti, per esempio magnesio

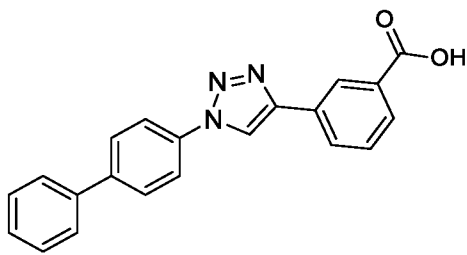
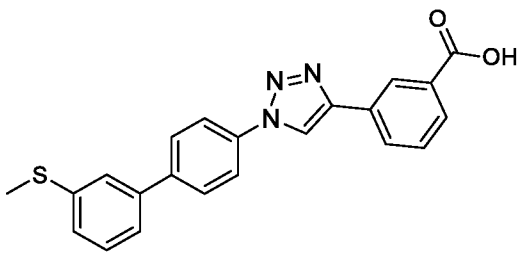
di silice o stearato di calcio, acido stearico o talco. Per preparare le supposte, per esempio, una miscela di gliceridi di acido grasso o burro di cacao può essere inizialmente fusa e il composto/i composti di formula (I) viene sciolto/vengono sciolti omogeneamente per agitazione. La miscela omogenea viene quindi raffreddata in stampi di dimensioni convenienti. Le preparazioni liquide, che includono soluzioni, sospensioni ed emulsioni, contengono il composto/i composti di formula (I) in una miscela di eccipienti adatti alla produzione di sospensioni acquose come carbossimetilcellulosa sodica, metilcellulosa, resina, alginato di sodio e gomme naturali o sintetiche. Infine, la preparazione liquida può contenere appropriati coloranti, aromi, stabilizzanti, conservanti, e agenti addensanti se desiderato.

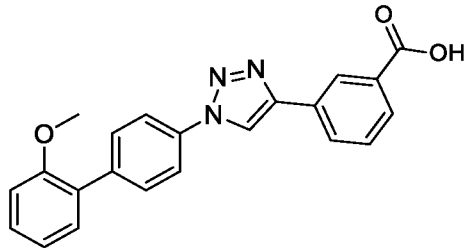
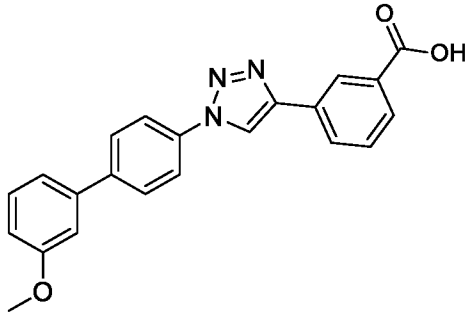
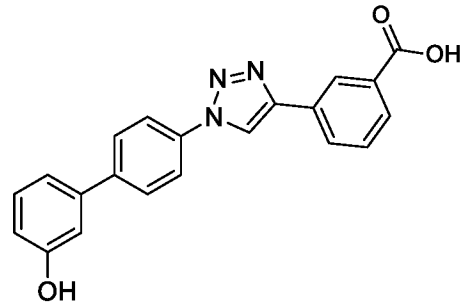
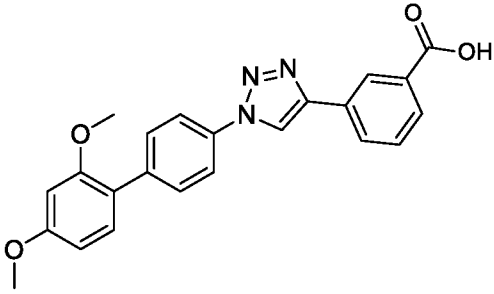
I composti della presente invenzione possono anche essere co-somministrati con uno o più agenti terapeutici addizionali. In una forma di realizzazione preferita, detti agenti terapeutici addizionali includono, senza limitazioni, farmaci anti-infiammatori non steroidei (come indometacina) e farmaci anti-infiammatori steroidei.

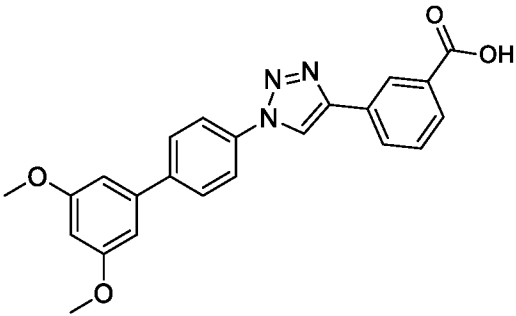
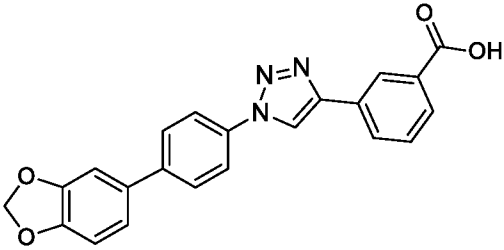
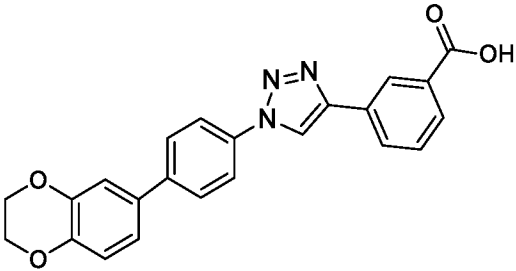
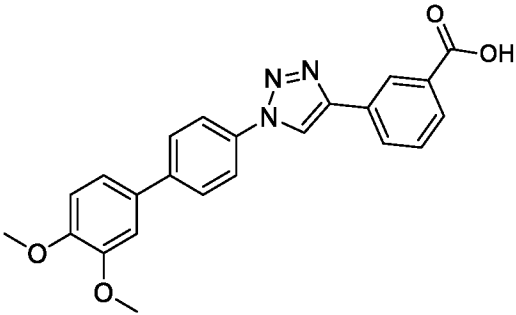
Inoltre, più di un composto secondo la formula (I) può essere co-somministrato.

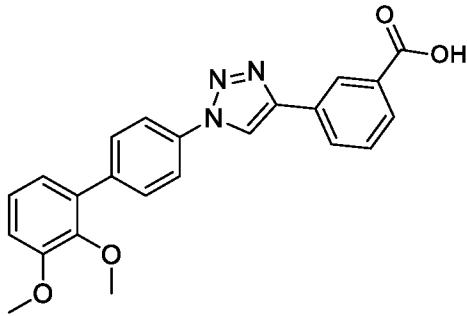
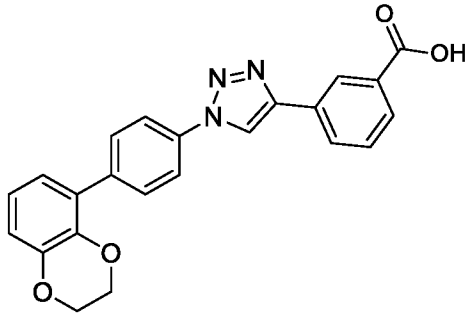
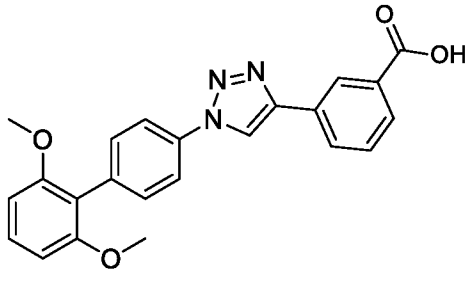
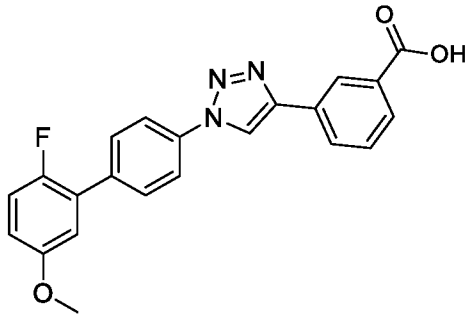
I composti di formula (I) includono, senza limitazioni, i composti mostrati in Tabella 1.

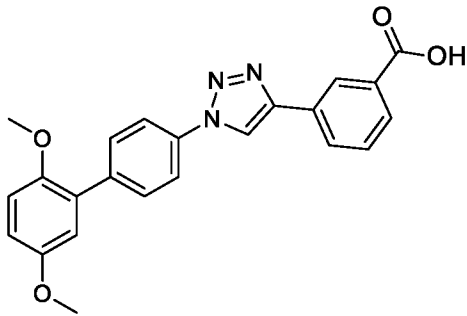
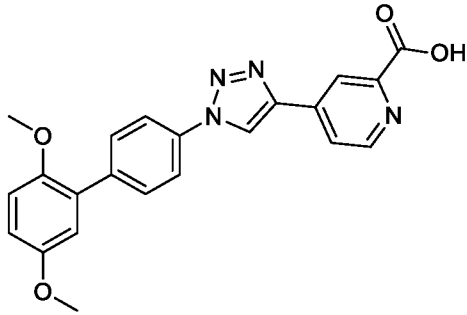
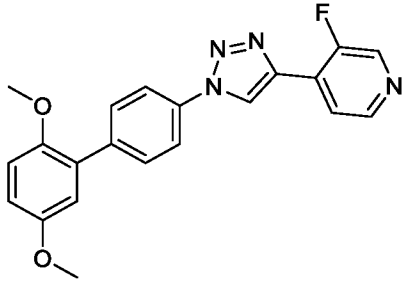
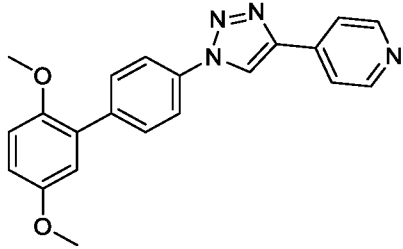
Tabella 1

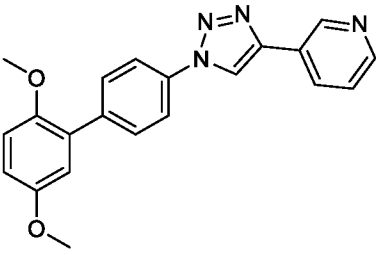
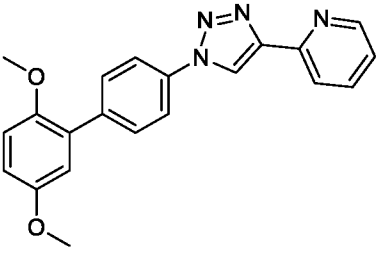
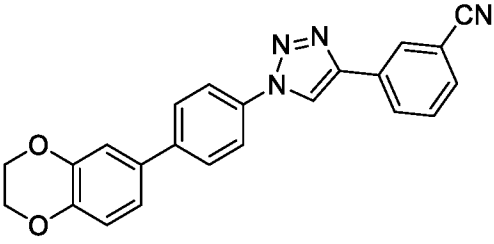
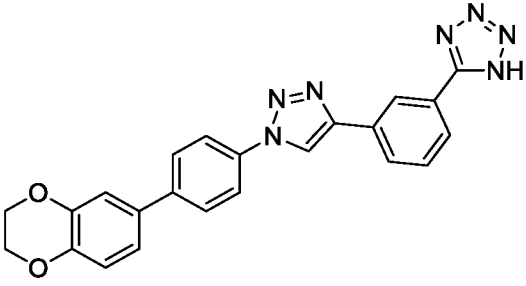
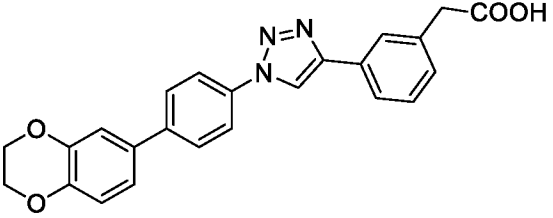
Nome del composto e (numero)	Struttura
Acido 3-(1-([1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)benzoico (10)	
Acido 3-(1-(3'-(metiltio)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)benzoico (11)	

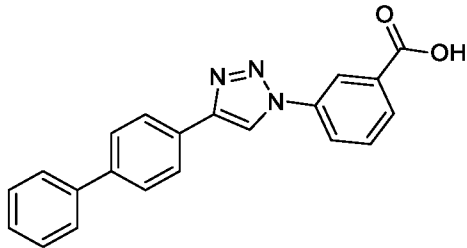
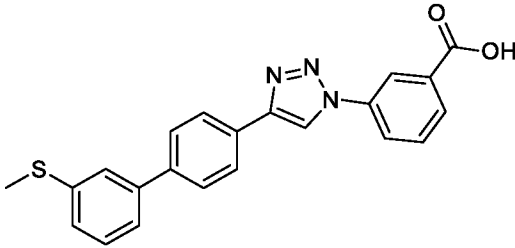
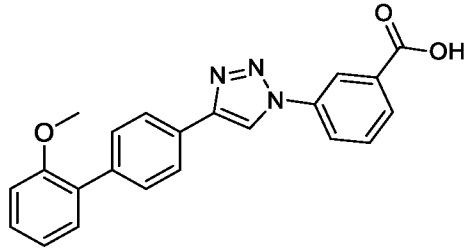
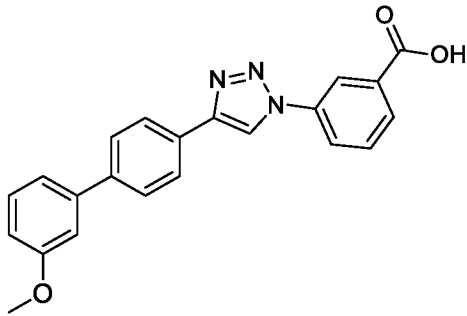
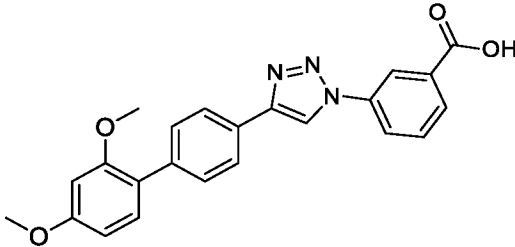
Nome del composto e (numero)	Struttura
Acido 3-(1-(2'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)benzoico (12)	
Acido 3-(1-(3'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)benzoico (13)	
Acido 3-(1-(3'-idrossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)benzoico (14)	
Acido 3-(1-(2',4'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)benzoico (15)	

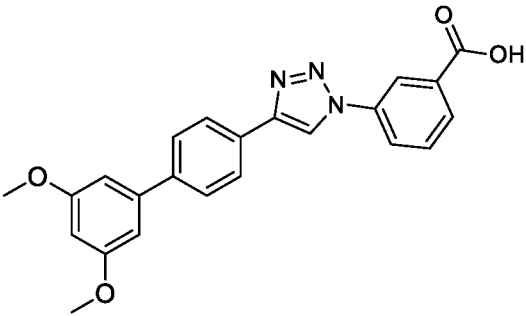
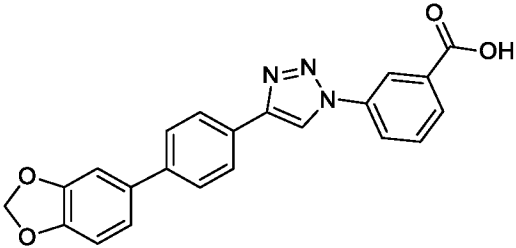
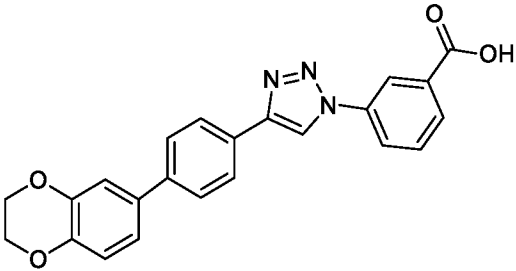
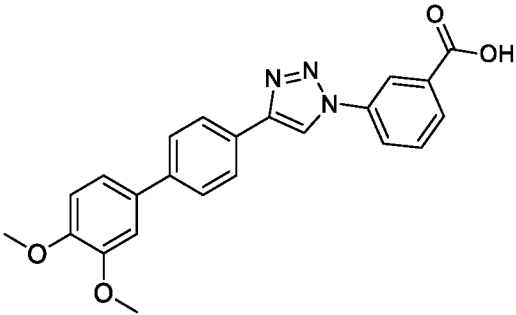
Nome del composto e (numero)	Struttura
Acido 3-(1-(3',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (16)	
Acido 3-(1-(4-(benzo[<i>d</i>][1,3]dioxol-5-il)fenil)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (17)	
Acido 3-(1-(4-(2,3-diidrobenzo[<i>b</i>][1,4]dioxin-6-il)fenil)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (18)	
Acido 3-(1-(3',4'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (19)	

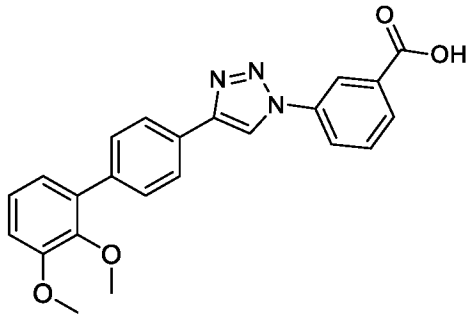
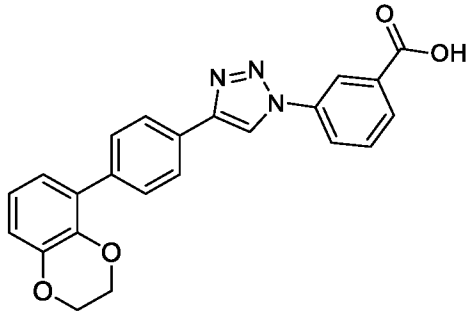
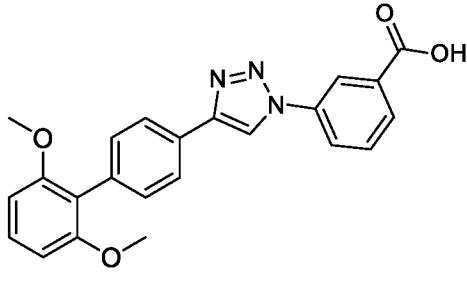
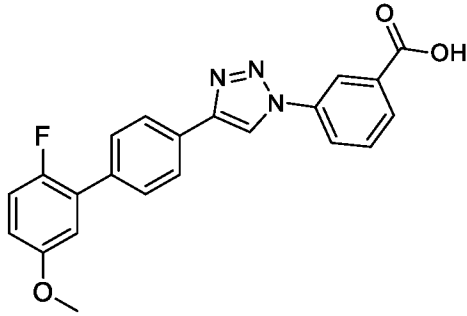
Nome del composto e (numero)	Struttura
Acido 3-(1-(2',3'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (20)	
Acido 3-(1-(4-(2,3-diidrobenzo[<i>b</i>][1,4]diossin-5-il)fenil)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (21)	
Acido 3-(1-(2',6'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (22)	
Acido 3-(1-(2'-fluoro-5'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (23)	

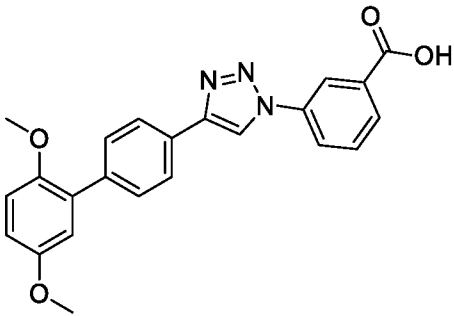
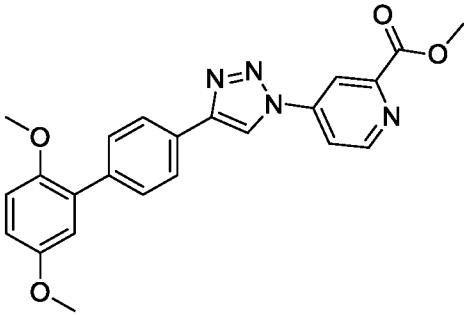
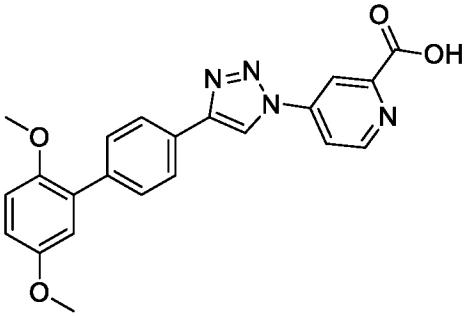
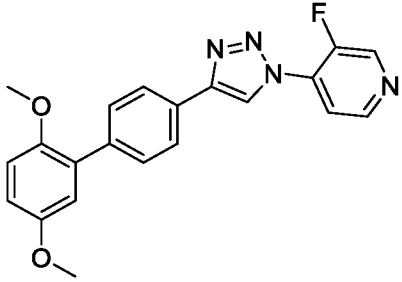
Nome del composto e (numero)	Struttura
Acido 3-(1-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (24)	
Acido 4-(1-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)picolinico (25)	
4-(1-(2',5'-Dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)-3-fluoropiridina (26)	
4-(1-(2',5'-Dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)piridina (27)	

Nome del composto e (numero)	Struttura
3-(1-(2',5'-Dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)piridina (28)	
2-(1-(2',5'-Dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)piridina (29)	
3-(1-(4-(2,3-Diidrobenzo[<i>b</i>][1,4]diossin-6-il)fenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)benzonnitrile (30)	
5-(3-(1-(4-(2,3-Diidrobenzo[<i>b</i>][1,4]diossin-6-il)fenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)fenil)-1 <i>H</i> -tetrazolo (31)	
Acido 2-(3-(1-(4-(2,3-diidrobenzo[<i>b</i>][1,4]diossin-6-il)fenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)fenil)acetico (32)	

Nome del composto e (numero)	Struttura
Acido 3-(4-([1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)benzoico (33)	
Acido 3-(4-(3'-(metiltio)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)benzoico (34)	
Acido 3-(4-(2'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)benzoico (35)	
Acido 3-(4-(3'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)benzoico (36)	
Acido 3-(4-(2',4'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)benzoico (37)	

Nome del composto e (numero)	Struttura
Acido 3-(4-(3',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (38)	
Acido 3-(4-(4-(benzo[d][1,3]dioxol-5-il)fenil)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (39)	
Acido 3-(4-(4-(2,3-dihydrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)fenil)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (40)	
Acido 3-(4-(3',4'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (41)	

Nome del composto e (numero)	Struttura
Acido 3-(4-(2',3'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (42)	
Acido 3-(4-(4-(2,3-diidrobenzo[<i>b</i>][1,4]diossin-5-il)fenil)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (43)	
Acido 3-(4-(2',6'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (44)	
Acido 3-(4-(2'-fluoro-5'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (45)	

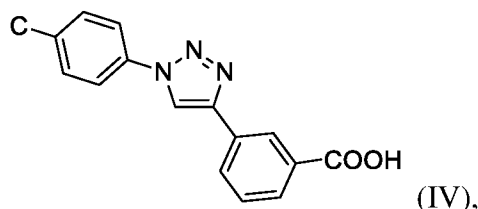
Nome del composto e (numero)	Struttura
Acido 3-(4-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (46)	
Metil 4-(4-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-1-il)picolinato (47)	
Acido 4-(4-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-1-il)picolinico (48)	
4-(4-(2',5'-Dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1<i>H</i>-1,2,3-triazol-1-il)-3-fluoropiridina (49)	

Nome del composto e (numero)	Struttura
4-(4-(2',5'-Dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)piridina (50)	
3-(4-(2',5'-Dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)piridina (51)	

Sintesi Generale dei Composti di Formula (I)

Gli schemi seguenti mostrano un procedimento per preparare i composti di formula (I) della presente descrizione. Per una descrizione più dettagliata delle singole fasi di reazione, si vedano gli Esempi riportati qui di seguito. Gli esperti del settore comprenderanno che possono essere utilizzate altre vie di sintesi per sintetizzare i composti dell'invenzione. Sebbene specifici prodotti di partenza e reagenti siano mostrati negli Schemi e appresso discussi, altri prodotti di partenza e reagenti possono essere facilmente sostituiti per ottenere una varietà di derivati e/o di condizioni di reazione. Inoltre, molti dei composti preparati con i procedimenti appresso descritti possono essere ulteriormente modificati alla luce della presente descrizione, usando la chimica convenzionale ben nota agli esperti del settore.

In dettaglio, i composti di formula (IV)

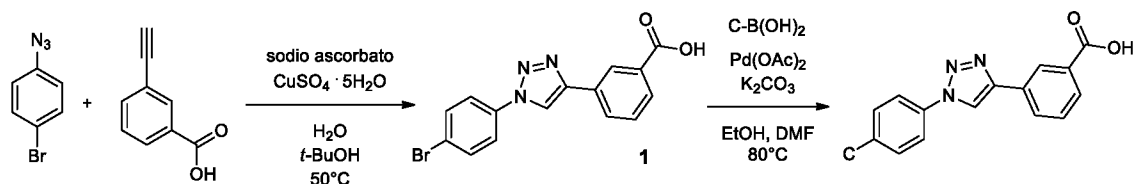


in cui C è selezionato tra 2-metossifenile, 3-metossifenile, fenile, 3-metiltiofenile, 2,4-

dimetossifenile, 3,5-dimetossifenile, benzo[*d*][1,3]diossolile, diidrobenezo[*b*][1,4]diossinile, 2,3-dimetossifenile, 2,6-dimetossifenile, 3,4-dimetossifenile, 2-fluoro-5-metossifenile e 3-idrossifenile, possono venire preparati come mostrato nel seguente **Schema a**:

5

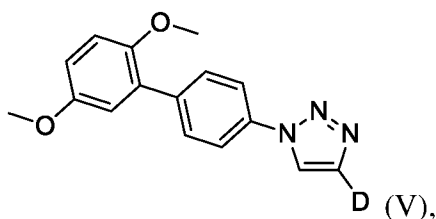
Schema a



I composti di Formula IV sono sintetizzati usando la reazione di accoppiamento incrociato di Suzuki. Sebbene gli acidi boronici siano disponibili in commercio o possano essere sintetizzati seguendo metodologie di sintesi note nel settore, il bromuro di arile **1** (intermedio **1**) è preparato mediante la cicloaddizione 1,3-dipolare azide-alchino, catalizzata da rame (I) generato *in situ* mediante sodio ascorbato. La reazione di “click” tra 1-azido-4-bromobenzene e acido 3-etinilbenzoico fornisce l’intermedio **1**.

10

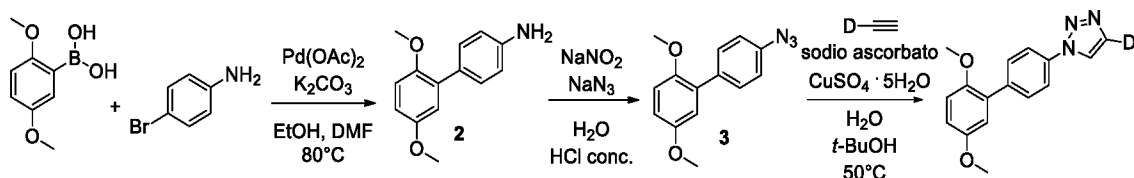
I composti di formula (V)



in cui D è selezionato tra piridin-4-ile, piridin-3-ile, piridin-2-ile, 3-fluoropiridin-4-ile, 3-carbossifenile, 2-carbossi-piridin-4-ile e (2-metossicarbonil)piridin-4-ile, possono essere preparati come mostrato nel seguente **Schema b**:

15

Schema b

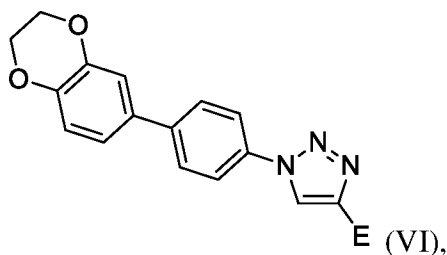


I composti di Formula V sono sintetizzati usando la cicloaddizione 1,3-dipolare azide-alchino, catalizzata da rame (I) generato *in situ* mediante sodio ascorbato. Sebbene gli alchini siano disponibili in commercio o possano essere sintetizzati seguendo metodologie di sintesi note nel settore, l’azide **3** è sintetizzata come mostrato nello

20

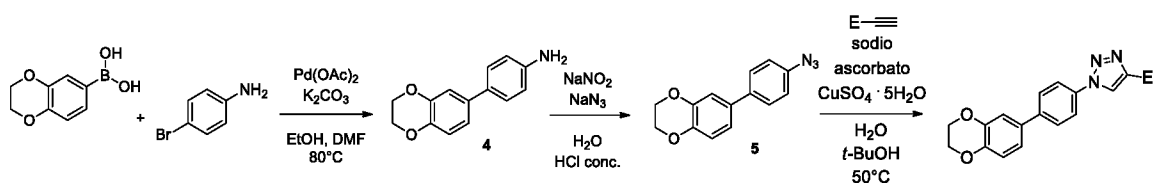
Schema b. L'acido (2,5-dimetossifenil)boronico e la 4-bromoanilina reagiscono in una reazione di accoppiamento incrociato di Suzuki ottenendo l'intermedio **2**. Quindi, un protocollo di diazotazione-azidazione fornisce l'azide **3** (intermedio **3**), che viene sottoposta a reazioni di "click chemistry" con alchini differenti.

5 I composti di formula (VI)



in cui E è selezionato tra (1*H*-tetrazol-5-il)fenile, (carbossimetil)fenile e 3-cianofenile, possono essere preparati come mostrato nel seguente **Schema c**:

Schema c

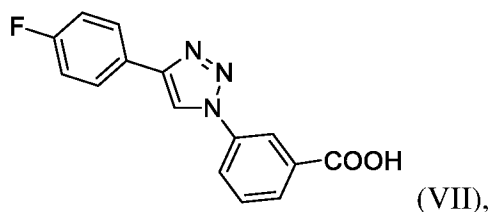


10

I composti di Formula VI sono sintetizzati mediante la cicloadizione 1,3-dipolare azide-alchino, catalizzata da rame (I) generato *in situ* mediante sodio ascorbato. Sebbene gli alchini siano disponibili in commercio o possano essere sintetizzati seguendo metodologie di sintesi note nel settore, l'azide **5** è sintetizzata come mostrato nello Schema c. L'acido (2,3-diidrobenczo[*b*][1,4]diossin-6-il)boronico e la 4-bromoanilina reagiscono in una reazione di accoppiamento incrociato di Suzuki ottenendo l'intermedio **4**. Quindi, un protocollo di diazotazione-azidazione fornisce l'azide **5** (intermedio **5**), che viene sottoposta a reazioni di "click chemistry" con alchini differenti.

15

I composti di formula (VII)

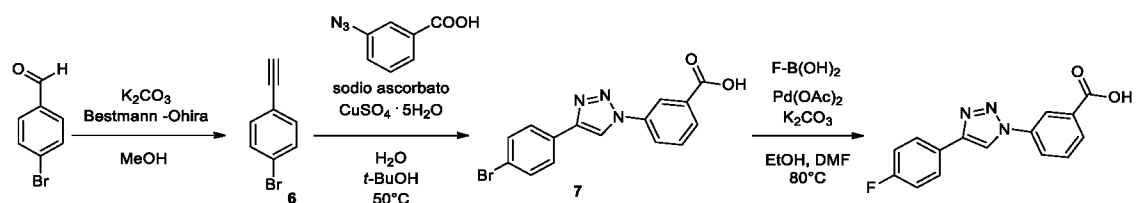


20

in cui F è selezionato tra 2-metossifenile, 3-meossifenile, fenile, 3-metiltiofenile, 2,4-dimetossifenile, 3,5-dimetossifenile, benzo[*d*][1,3]diossolile,

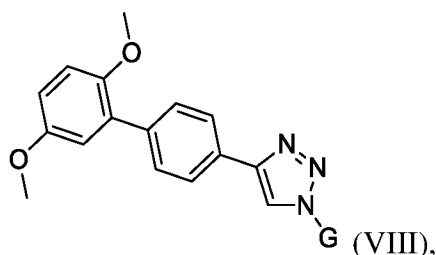
diidrobenczo[*b*][1,4]diossinile, 2,3-dimetossifenile, 2,6-dimetossifenile, 3,4-dimetossifenile, 2-fluoro-5-metossifenile e 3-idrossifenile, possono essere preparati come mostrato nel seguente **Schema d**:

Schema d



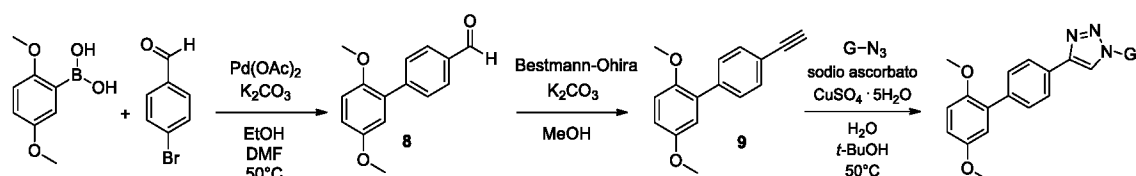
I composti di Formula VII sono sintetizzati usando la reazione di accoppiamento incrociato di Suzuki. Sebbene gli acidi boronici siano disponibili in commercio o possano essere sintetizzati seguendo metodologie di sintesi note nel settore, il bromuro di arile **7** è preparato partendo dalla 4-bromobenzaldeide che reagisce in presenza del reattivo di Bestmann-Ohira, fornendo l'intermedio **6**. **6** reagisce con l'acido 3-azidobenzoico mediante la cicloaddizione 1,3-dipolare azide-alchino, catalizzata da rame (I) generato *in situ* mediante sodio ascorbato, fornendo il composto **7**.

I composti di formula (VIII)



in cui G è selezionato tra piridin-4-ile, piridin-3-ile, piridin-2-ile, 3-fluoropiridin-4-ile, 3-carbossifenile, 2-carbossi-piridin-4-ile e (2-metossicarbonil)piridin-4-ile, possono essere preparati come mostrato nel seguente **Schema e**:

Schema e



I composti di Formula VIII sono sintetizzati usando la cicloaddizione 1,3-dipolare azide-alchino, catalizzata dal rame (I) generato *in situ* mediante sodio ascorbato. Sebbene le azidi siano sintetizzate seguendo metodologie di sintesi note nel settore, l'alchino **9** è

preparato come mostrato nello Schema e. L'acido (2,5-dimetossifenil)boronico e la 4-bromobenzaldeide reagiscono in una reazione di accoppiamento incrociato di Suzuki ottenendo l'intermedio **8**. Quindi, **8** reagisce in presenza del reattivo di Bestmann-Ohira, fornendo l'alchino **9** (intermedio **9**).

5 Le reazioni chimiche descritte negli Esempi seguenti possono venire facilmente adattate alla preparazione di una serie di altri modulatori del SOCE della presente invenzione, e procedimenti alternativi per la preparazione dei composti di formula (I) appartengono alla ordinaria conoscenza generale degli esperti del settore.

Per esempio, la sintesi di composti non esemplificati secondo l'invenzione può
10 venire eseguita con successo mediante modifiche evidenti agli esperti del settore, per esempio proteggendo opportunamente gruppi interferenti, utilizzando altri reagenti adatti noti nel settore oltre a quelli descritti, e/o apportando modifiche ordinarie delle condizioni di reazione. In alternativa, altre reazioni descritte in questa sede o note nel settore saranno riconosciute come aventi applicabilità per la preparazione di altri composti
15 dell'invenzione.

Esempio 1: Sintesi di acido 3-(1-(4-bromofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (Intermedio 1).

Ad una sospensione di 1-azido-4-bromobenzene (2,78 g, 14,04 mmol) in acqua (26 ml) e *t*-BuOH (26 ml) si aggiunge acido 3-etinilbenzoico (2,05 g, 14,04 mmol).
20 Quindi, vengono aggiunti 1,4 ml di una soluzione acquosa di sodio ascorbato 1 M e rame solfato pentaidrato (34,9 mg, 0,14 mmol) e la miscela viene agitata energicamente per 48 h. Il prodotto volatile viene quindi rimosso e il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia sui colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 2:8 ed acetato di etile/metanolo 8:2 come eluenti, ottenendo il composto 1 come solido giallo (4,22 g, 12,27
25 mmol, 87%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,54 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,14 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,98-7,94 (m, 3H), 7,86-7,83 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 7,60 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H). MS: M-1 343.

30 **Esempio 2: Sintesi di 2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-ammina (Intermedio 2).**

4-Bromoanilina (2 g, 11,63 mmol) viene solubilizzata in DMF (23 ml) ed etanolo

(23 ml) sotto atmosfera di azoto. Acido 2,5-dimetossifenilboronico (3,17 g, 17,44 mmol), Pd(OAc)₂ (26,1 mg, 0,116 mmol) e K₂CO₃ (3,2 g, 23,26 mmol) vengono aggiunti nell'ordine. La miscela viene agitata a 80°C per 3 h e a temperatura ambiente per una notte. La miscela di reazione viene filtrata sotto vuoto su un tampone di celite, risciacquata con etanolo ed evaporata. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 7:3 come eluente, ottenendo il composto 2 come solido giallo (2,61 g, 11,40 mmol, 98%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,39 (d, *J* = 6,9 Hz, 2H), 6,97-6,88 (m, 2H), 6,84 (s, 1H), 6,70 (d, *J* = 6,9 Hz, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,76 (s, 3H). MS: M+1 230.

Esempio 3: Sintesi di 4'-azido-2,5-dimetossi-1,1'-bifenile (Intermedio 3).

Ad una soluzione di 2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-ammina (2 g, 8,73 mmol) in acqua (40 ml), si aggiunge HCl al 37% (3,5 ml) e la miscela risultante viene raffreddata a 0°C. Quindi, si aggiunge una soluzione di NaNO₂ (0,60 g, 8,73 mmol) in acqua (2 ml) e, dopo 10 min, si aggiunge goccia a goccia una soluzione di NaN₃ (0,68 g, 10,48 mmol) in acqua (2 ml). La miscela di reazione viene agitata a temperatura ambiente per 5 h, diluita con EtOAc e lavata con acqua (×2). Lo strato organico viene essiccato su solfato di sodio e il prodotto volatile viene rimosso sotto vuoto. Il materiale grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 98:2 come eluente, ottenendo il composto 3 come solido arancio (1,33 g, 5,24 mmol, 60%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 8,31 (d, *J* = 7,1 Hz, 2H), 7,75 (d, *J* = 7,1 Hz, 2H), 6,92-6,83 (m, 3H), 3,85 (s, 3H), 3,79 (s, 3H).

Esempio 4: Sintesi di 4-(2,3-diidrobenczo[b][1,4]diossin-6-il)anilina (Intermedio

4).

4-Bromoanilina (0,5 g, 2,91 mmol) viene solubilizzata in DMF (5 ml) ed etanolo (5 ml) sotto atmosfera di azoto. Acido (2,3-diidrobenczo[b][1,4]diossin-6-il)boronico (0,52 mg, 2,91 mmol), Pd(OAc)₂ (19,6 mg, 0,029 mmol) e K₂CO₃ (0,80 g, 5,82 mmol) vengono aggiunti nell'ordine. La miscela viene agitata a 80°C per 6 h e a temperatura ambiente per una notte. La miscela di reazione viene filtrata sotto vuoto su un tampone di celite, risciacquata con etanolo ed evaporata. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 8:2 come

eluente, ottenendo il composto 4 come solido giallo (0,65 g, 2,86 mmol, 98%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,37 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 7,09 (s, 1H), 7,04 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,93 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,72 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 4,26-4,23 (m, 4H). MS: M+1 228.

Esempio 5: Sintesi di 6-(4-azidofenil)-2,3-diidro[b][1,4]diossina (Intermedio 5).

Ad una soluzione di 2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-ammina (475 mg, 2,09 mmol) in acqua (9 ml), si aggiunge HCl al 37% (831 µl) e la miscela risultante viene raffreddata a 0°C. Quindi, si aggiunge una soluzione di NaNO₂ (144 mg, 2,09 mmol) in acqua (2 ml) e, dopo 10 minuti, si aggiunge goccia a goccia una soluzione di NaN₃ (163 mg, 2,51 mmol) in acqua (2 ml). La miscela di reazione viene agitata a temperatura ambiente per 1 h, diluita con EtOAc e lavata con acqua (×1) e con soluzione acquosa di HCl 3 N (×1). Lo strato organico viene essiccato su solfato di sodio e il prodotto volatile viene rimosso sotto vuoto. Il materiale grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 98:2 come eluente, ottenendo il composto 5 come solido giallo scuro (386 mg, 1,53 mmol, 73%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,50 (d, *J* = 6,8 Hz, 2H), 7,10-7,07 (m, 4H), 6,92 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 4,28-4,22 (m, 4H).

Esempio 6: Sintesi di 1-bromo-4-etinilbenzene (Intermedio 6).

Ad una soluzione di 4-bromobenzaldeide (2,15 g, 11,62 mmol) in MeOH (22 ml), K₂CO₃ (3,21 g, 23,24 mmol) e dimetil-(1-diazo-2-ossopropil)fosfonato (2,61 g, 17,43 mmol) vengono aggiunti nell'ordine sotto azoto. La miscela viene agitata a temperatura ambiente per una notte, quindi il solvente viene rimosso sotto vuoto, si aggiunge acqua e lo strato acquoso viene estratta con CH₂Cl₂ (×5). Le fasi organiche vengono raccolte, essiccate su solfato di sodio ed evaporate. Il materiale grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 9:1 ed etere di petrolio/acetato di etile 8:2 come eluenti, ottenendo il composto 6 come solido arancio (1,12 g, 6,26 mmol, 54%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 7,45 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,34 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 3,11 (s, 1H). MS: M+1 180.

Esempio 7: Sintesi di acido 3-(4-(4-bromofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (Intermedio 7).

Ad una sospensione di 1-bromo-4-etinilbenzene (1 g, 5,52 mmol) in acqua (6 ml) e *t*-BuOH (6 ml) si aggiunge acido 3-azidobenzoico (0,89 g, 5,52 mmol). Quindi, vengono
5 aggiunti 55 µl di una soluzione acquosa di sodio ascorbato 1 M e rame solfato pentaidrato (13,7 mg, 0,055 mmol) e la miscela viene energicamente agitata per una notte. Il prodotto volatile viene quindi rimosso e il materiale grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 3:7 ed acetato di etile come eluenti, ottenendo il composto 7 come solido giallo chiaro (1,23 g, 3,59 mmol,
10 65%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,50 (s, 1H), 8,46 (s, 1H), 8,19 (d, *J*=7,6 Hz, 1H), 8,06 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,92 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,78-7,69 (m, 3H). MS: M-1 343.

Esempio 8: Sintesi di 2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-carbaldeide (Intermedio 8).

Ad una soluzione di 4-bromobenzaldeide (500 mg, 2,70 mmol) in DMF (8 ml) ed acqua (2 ml), acido (2,5-dimetossifenil)boronico (540 mg, 2,97 mmol), Pd(OAc)₂ (11,2 mg, 0,05 mmol) e K₂CO₃ (933 mg, 6,75 mmol) vengono aggiunti nell'ordine sotto
15 atmosfera di azoto. La miscela viene agitata a 50°C per 3 h. La miscela di reazione viene filtrata sotto vuoto su un tampone di celite, diluita con dietiletere e lavata con acqua (×3). La fase organica viene essiccata su solfato di sodio ed evaporata. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 98:2
20 come eluente, ottenendo il composto 8 come solido arancio (647 mg, 2,67 mmol, 99%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 10,06 (s, 1H), 7,89 (d, *J* = 7,7 Hz, 2H), 7,69 (d, *J* = 7,7 Hz, 2H), 7,08-6,91 (m, 3H), 3,79 (s, 3H), 3,73 (s, 3H). MS: M+1 243.
25

Esempio 9: Sintesi di 4'-etinil-2,5-dimetossi-1,1'-bifenile (Intermedio 9).

Ad una soluzione di 2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-carbaldeide (636 mg, 2,63 mmol) in MeOH (6 ml), K₂CO₃ (727 mg, 5,26 mmol), dimetil-(1-diazo-2-ossopropil)fosfonato (759 g, 3,95 mmol) vengono aggiunti nell'ordine sotto azoto. La
30 miscela viene agitata a temperatura ambiente per una notte, quindi il solvente viene rimosso, si aggiunge acqua e lo strato acquoso viene estratto con CH₂Cl₂ (×3). Le fasi organiche vengono raccolte, essiccate su solfato di sodio ed evaporate. Il materiale grezzo

viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 98:2 come eluente, ottenendo il composto 9 come solido bianco (514 g, 2,16 mmol, 82%).

Dati analitici:

5 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 7,59-7,49 (m, 4H), 6,93-6,85 (m, 3H), 3,86 (s, 3H), 3,76 (s, 3H), 3,10 (s, 1H). MS: $M+1$ 239.

Esempio 10: Sintesi di acido 3-(1-([1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (10).

Acido 3-(1-(4-bromofenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (100 mg, 0,29 mmol)
10 viene solubilizzato in DMF (500 μl) ed etanolo (500 μl) sotto atmosfera di azoto. Acido fenilboronico (79 mg, 0,44 mmol), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (1,96 mg, 0,0029 mmol) e K_2CO_3 (80 mg, 0,58 mmol) vengono aggiunti nell'ordine. La miscela viene agitata a 80°C per 3 h e a temperatura ambiente per una notte. La miscela di reazione viene filtrata sotto vuoto su un tampone di celite, risciacquata con etanolo ed evaporata. Il prodotto grezzo viene
15 purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 4:6 come eluente, ottenendo il composto 10 come solido giallo (39.5 mg, 0,12 mmol, 40%).

Dati analitici:

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 9,52 (s, 1H), 8,61 (s, 1H), 8,20 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H), 8,09 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,98-7,85 (m, 3H), 7,77 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,63 (t, $J =$
20 7,5 Hz, 1H), 7,54-7,50 (m, 2H), 7,43 (d, $J = 7,5$ Hz, 1H). MS: $M+1$ 342.

Esempio 11: Sintesi di acido 3-(1-(3'-(metiltio)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (11).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 10. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna
25 usando acetato di etile/metanolo 9:1 come eluente, ottenendo il composto 11 come solido bianco (89,8 mg, 0,23 mmol, 80%).

Dati analitici:

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 9,55 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,18 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 8,08 (d, $J = 9,3$ Hz, 2H), 7,97-7,95 (m, 3H), 7,60 (d, $J = 9,3$ Hz, 2H), 7,52 (d, $J =$
30 7,9 Hz, 1H), 7,45 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,31 (d, $J = 6,2$ Hz, 1H), 2,58 (s, 3H). MS: $M+1$ 388.

Esempio 12: Sintesi di acido 3-(1-(2'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-

triazol-4-il)benzoico (12).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 10. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile come eluente, ottenendo il composto 12 come solido giallo (72 mg, 0,19 mmol, 67%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,45 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,18 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H), 8,03-7,95 (m, 3H), 7,74 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,53 (t, *J* = 6,9 Hz, 1H), (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,24-7,14 (m, 2H), 3,82 (s, 3H). MS: M+1 372.

Esempio 13: Sintesi di acido 3-(1-(3'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (13).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 10. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile/metanolo 9:1 come eluente, ottenendo il composto 13 come solido bianco (73 mg, 0,20 mmol, 68%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): 9,45 (s, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,19 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 8,05 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H), 7,94-7,91 (m, 3H), 7,64 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,42 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 7,32 (d, *J* = 6,8 Hz, 1H), 7,28 (s, 1H), 6,98 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 3,84 (s, 3H). MS: M+1 372.

Esempio 14: Sintesi di acido 3-(1-(3'-idrossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (14).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 10. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile/metanolo 9:1 ed acetato di etile/metanolo 8:2 come eluenti, ottenendo il composto 14 come solido giallo scuro (19 mg, 0,05 mmol, 18%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD): δ 8,96 (s, 1H), 8,59 (s, 1H), 8,15 (s, 1H), 8,03 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,92 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,58 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,18-7,15 (m, 3H), 7,04-6,99 (m, 2H), 6,82 (d, *J* = 5,8 Hz, 2H). MS: M-1 356.

Esempio 15: Sintesi di acido 3-(1-(2',4'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (15).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 10. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile/metanolo 9:1 come eluente, ottenendo il composto 15 come solido giallo chiaro (100 mg, 0,25 mmol, 86%).

5 Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,47 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,17 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,99-7,95 (m, 3H), 7,69 (d, *J* = 9,2 Hz, 2H), 7,62 (t, *J* = 8,2 Hz, 1H) 7,32 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,71 (s, 1H), 6,66 (d, *J* = 6,2 Hz, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,81 (s, 3H). MS: M+1 402.

10 **Esempio 16:** Sintesi di acido 3-(1-(3',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (16).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 10. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile/metanolo 9:1 come eluente, ottenendo il composto 16 come solido bianco (100 mg, 0,25 mmol, 86%).

15 Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,51 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,17 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 8,06 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,95-7,93 (m, 3H), 7,61 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 6,89 (s, 2H), 6,55 (s, 1H), 3,83 (s, 3H), 3,73 (s, 3H). MS: M+1 402.

20 **Esempio 17:** Sintesi di acido 3-(1-(4-(benzo[d][1,3]diossol-5-il)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (17).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 10. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile/metanolo 9:1 come eluente, ottenendo il composto 17 come solido giallo (37 mg, 0,10 mmol, 33%).

25 Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,51 (s, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,17 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 8,03 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,95 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,87 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,61 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,42 (s, 1H), 7,27 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,04 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 6,09 (s, 2H). MS: M+1 386.

30 **Esempio 18:** Sintesi di acido 3-(1-(4-(2,3-diidrobenczo[b][1,4]diossin-6-il)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (18).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta

nell'Esempio 10. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile/metanolo 9:1 come eluente, ottenendo il composto 18 come solido bianco (87 mg, 0,22 mmol, 75%).

Dati analitici:

5 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 9,50 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,03-7,94 (m, 4H), 7,86 (d, $J = 7,9$ Hz, 2H), 7,62 (t, $J = 8,2$ Hz, 1H), 7,27-7,23 (m, 2H), 6,97 (d, $J = 8,2$ Hz, 1H), 4,29-4,22 (m, 4H). MS: $M+1$ 400.

Esempio 19: Sintesi di acido 3-(1-(3',4'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (19).

10 Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 10. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile/metanolo 9:1 ed acetato di etile/metanolo 8:2 come eluenti, ottenendo il composto 19 come solido giallo chiaro (50 mg, 0,12 mmol, 43%).

Dati analitici:

15 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 9,47 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,17 (d, $J = 7,1$ Hz, 1H), 8,03 (d, $J = 8,2$ Hz, 2H), 7,97-7,90 (m, 3H), 7,62 (t, $J = 7,9$ Hz, 1H), 7,33-7,29 (m, 2H), 7,07 (d, $J = 7,9$ Hz, 1H), 3,99 (s, 3H), 3,88 (s, 3H). MS: $M+1$ 402.

Esempio 20: Sintesi di acido 3-(1-(2',3'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (20).

20 Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 10. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile/metanolo 9:1 ed acetato di etile/metanolo 8:2 come eluenti, ottenendo il composto 20 come solido giallo (88 mg, 0,22 mmol, 76%).

Dati analitici:

25 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 9,46 (s, 1H), 8,57 (s, 1H), 8,18 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H), 8,05 (d, $J = 7,1$ Hz, 2H), 7,98 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H), 7,74 (d, $J = 7,1$ Hz, 2H), 7,64 (t, $J = 6,8$ Hz, 1H), 7,18-7,14 (m, 2H), 7,03 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H) 3,88 (s, 3H), 3,77 (s, 3H). MS: $M+1$ 402.

Esempio 21: Sintesi di acido 3-(1-(4-(2,3-diidrobenczo[b][1,4]diossin-5-il)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (21).

30 Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 10. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna

usando etere di petrolio/acetato di etile 1:9 ed acetato di etile/metanolo 9:1 come eluenti, ottenendo il composto 21 come solido giallo chiaro (88 mg, 0,22 mmol, 76%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,44 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,15 (d, *J* = 5,9 Hz, 1H), 8,03-7,97 (m, 3H), 7,67 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,61 (t, *J* = 7,5 Hz, 1H), 6,94-6,93 (m, 3H), 4,32-4,28 (m, 4H). MS: M+1 400.

Esempio 22: Sintesi di acido 3-(1-(2',6'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (22).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 10. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile/metanolo 9:1 ed acetato di etile/metanolo 8:2 come eluenti, ottenendo il composto 22 come solido giallo chiaro (60 mg, 0,15 mmol, 52%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,40 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,15 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H), 7,97-7,95 (m, 4H), 7,84 (d, *J* = 6,9 Hz, 1H), 7,62-7,58 (m, 1H), 7,47 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,35 (t, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,79 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 3,71 (s, 6H). MS: M+1 402.

Esempio 23: Sintesi di acido 3-(1-(2'-fluoro-5'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (23).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 10. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile/metanolo 9:1 come eluente, ottenendo il composto 23 come solido bianco (52 mg, 0,13 mmol, 46%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,45 (s, 1H), 8,54 (s, 1H), 8,16 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 8,08 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H), 7,95 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,82 (d, *J* = 7,8 Hz, 2H), 7,64-7,59 (m, 1H), 7,27 (t, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,13-7,12 (m, 1H), 7,01-6,98 (m, 1H), 3,81 (s, 3H). MS: M+1 390.

Esempio 24: Sintesi di acido 3-(1-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzoico (24).

Ad una sospensione di 4'-azido-2,5-dimetossi-1,1'-bifenile (74 mg, 0,29 mmol) in acqua (460 µl) e *t*-BuOH (460 µl) si aggiunge acido 3-etinilbenzoico (42 mg, 0,29 mmol). Quindi, si aggiungono 29 µl di una soluzione acquosa di sodio ascorbato 1 M e

rame solfato pentaidrato (0,72 mg, 0,0029 mmol) e la miscela viene energicamente agitata per una notte. Il prodotto volatile viene quindi rimosso e il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 6:4 come eluente, ottenendo il composto 24 come solido giallo chiaro (49 mg, 0,12 mmol, 42%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 9,20 (s, 1H), 8,66 (s, 1H), 8,28 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,04 (d, *J* = 6,6 Hz, 2H), 7,73 (d, *J* = 6,6 Hz, 2H), 7,67-7,53 (m, 2H), 7,08 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,01-6,92 (m, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,79 (s, 3H). MS: M+1 402.

Esempio 25: Sintesi di acido 4-(1-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)picolinico (25).

Metil-4-(1-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)picolinato viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 24. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 4:6 come eluente, ottenendo metil-4-(1-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)picolinato come solido giallo (39 mg, 0,09 mmol, 32%).

Il composto (39 mg, 0,09 mmol), viene solubilizzato in acetone (390 µl) ed acqua (390 µl). Si aggiunge NaOH (7,2 mg, 0,18 mmol) e la miscela viene agitata a temperatura ambiente per 1 h. Il prodotto volatile viene quindi rimosso e il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile/metanolo 7:3 come eluente, ottenendo il composto 25 come solido giallo chiaro (21 mg, 0,05 mmol, 58%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,72 (s, 1H), 8,70-8,56 (m, 3H), 8,01 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,75 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,75 (s, 1H), 6,96 (m, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,73 (s, 3H). MS: M+1 403.

Esempio 26: Sintesi di 4-(1-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)-3-fluoropiridina (26).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 24. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 6:4 come eluente, ottenendo il composto 26 come solido giallo (34 mg, 0,09 mmol, 31%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 8,60-8,50 (m, 3H), 8,31 (d, *J* = 6,1 Hz, 1H), 7,85 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,73 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 6,97-6,89 (m, 3H), 3,83 (s, 3H), 3,75 (s, 3H). MS: M+1 377.

Esempio 27: Sintesi di 4-(1-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)piridina (27).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 24. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 4:6 come eluente, ottenendo il composto 27 come solido biancastro (38 mg, 0,11 mmol, 37%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 8,36 (s, 1H), 7,82 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H), 7,73-7,64 (m, 4H), 7,52 (s, 1H), 6,97-6,90 (m, 4H), 3,82 (s, 3H), 3,80 (s, 3H). MS: M+1 359.

Esempio 28: Sintesi di 3-(1-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)piridina (28).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 24. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 5:5, etere di petrolio/acetato di etile 3:7 ed etere di petrolio/acetato di etile 2:8 come eluenti, ottenendo il composto 28 come solido giallo (68 mg, 0,19 mmol, 65%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 9,11 (s, 1H), 8,63 (s, 1H), 8,31-8,29 (m, 2H), 7,83 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,72 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,43 (s, 1H), 6,97-6,91 (m, 3H), 3,94 (s, 3H), 3,79 (s, 3H). MS: M+1 359.

Esempio 29: Sintesi di 2-(1-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-4-il)piridina (29).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 24. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 7:3 come eluente, ottenendo il composto 29 come solido giallo (52 mg, 0,15 mmol, 50%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, CDCl₃): δ 8,65-8,59 (m, 2H), 8,26 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,85-7,78 (m, 3H), 7,70 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,25 (t, *J* = 6,6 Hz, 1H), 6,95-6,86 (m, 3H), 3,82

(s, 3H), 3,77 (s, 3H). MS: M+1 359.

Esempio 30: Sintesi di 3-(1-(4-(2,3-diidrobenczo[b][1,4]diossin-6-il)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)benzonitrile (30).

Ad una soluzione di Cu(OAc)₂ (5,27 mg, 0,029 mmol) in THF (53 µl), si aggiunge
5 TBTA (tris(benziltriazolilmetil)ammina) (15 mg, 0,029 mmol) e la miscela viene agitata
a temperatura ambiente per 30 min. Una soluzione di intermedio 3 (150 mg, 0,58 mmol)
in THF (1 ml), una soluzione di 3-etinilbenzonitrile (74 mg, 0,58 mmol) in THF (1 ml) e
58 µl di una soluzione acquosa di sodio ascorbato 1 M vengono aggiunte nell'ordine. La
miscela di reazione viene agitata a temperatura ambiente per 3 h. Il prodotto volatile viene
10 rimosso e il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando
acetato di etile/metanolo 9:1 come eluente, ottenendo il composto 30 come solido giallo
(198 mg, 0,52 mmol, 90%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,45 (s, 1H), 8,35 (s, 1H), 8,30 (d, *J* = 7,7 Hz,
15 1H), 7,94 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 7,88-7,86 (m, 3H), 7,73 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,26-7,23 (m,
2H), 6,97 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 4,31-4,28 (m, 4H). MS: M+1 381.

Esempio 31: Sintesi di 5-(3-(1-(4-(2,3-diidrobenczo[b][1,4]diossin-6-il)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenil)-1H-tetrazolo (31).

Il composto 30 (100 mg, 0,26 mmol) viene solubilizzato in DMF (3 ml), NaN₃ (20
20 mg, 0,31 mmol) e NH₄Cl (16 mg, 0,31 mmol) vengono aggiunti nell'ordine. La miscela
viene agitata a 120°C per 48 h. Quindi, si aggiunge goccia a goccia HCl 3 N fino a pH 6.
Lo strato acquoso viene estratto con acetato di etile (×6) e le fasi organiche vengono
raccolte, essiccate su solfato di sodio ed evaporate. Il prodotto grezzo viene purificato
mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 2:8 ed acetato
25 di etile come eluente, ottenendo il composto 31 come solido giallo scuro (39 mg, 0,09
mmol, 35%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, CD₃OD): δ 8,94 (s, 1H), 8,42 (s, 1H), 7,95 (d, *J* = 8,2 Hz,
2H), 7,76 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,66 (t, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,37-7,33 (m, 2H), 7,17-7,15 (m,
30 2H), 6,98 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 4,30-4,27 (m, 4H). MS: M+1 424.

Esempio 32: Sintesi di acido 2-(3-(1-(4-(2,3-diidrobenczo[b][1,4]diossin-6-il)fenil)-1H-1,2,3-triazol-4-il)fenil)acetico (32).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 30. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile ed acetato di etile/metanolo 8:2 come eluenti, ottenendo il composto 32 come solido giallo scuro (98 mg, 0,24 mmol, 41%).

5 Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,21 (s, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,87-7,80 (m, 4H), 7,40 (d, *J* = 7,9 Hz, 2H), 7,26 (t, *J* = 8,5 Hz, 1H), 7,25-7,20 (m, 3H), 5,51 (s, 2H), 4,30-4,27 (m, 4H). MS: M+1 414.

10 **Esempio 33:** Sintesi di acido 3-(4-([1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (33).

Acido 3-(4-(4-bromofenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (100 mg, 0,29 mmol) viene solubilizzato in DMF (500 µl) ed etanolo (500 µl) sotto atmosfera di azoto. Acido fenilboronico (79 mg, 0,44 mmol), Pd(OAc)₂ (1,96 mg, 0,0029 mmol) e K₂CO₃ (80 mg, 0,58 mmol) vengono aggiunti nell'ordine. La miscela viene agitata a 80°C per 3 h e a
15 temperatura ambiente per una notte. La miscela di reazione viene filtrata sotto vuoto su un tampone di celite, risciacquata con etanolo ed evaporata. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile come eluente, ottenendo il composto 33 come solido bianco (54 mg, 0,16 mmol, 55%).

Dati analitici:

20 ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,48 (s, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,13-8,03 (m, 5H), 7,83-7,69 (m, 4H), 7,49 (m, 2H), 7,38 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H). MS: M+1 342.

Esempio 34: Sintesi di acido 3-(4-(3'-(metiltio)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (34).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta
25 nell'Esempio 33. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 5:5 come eluente, ottenendo il composto 34 come solido giallastro (111 mg, 0,29 mmol, 99%).

Dati analitici:

30 ¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,49 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,13-8,03 (m, 4H), 7,83 (d, *J* = 8,3 Hz, 2H), 7,70 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,58 (s, 1H), 7,51 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,43 (t, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,28 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 2,56 (s, 3H). MS: M-1 386.

Esempio 35: Sintesi di acido 3-(4-(2'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-

triazol-1-il)benzoico (35).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 33. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile/metanolo 9:1 come eluente, ottenendo il composto 35 come solido
5 bianco (24 mg, 0,06 mmol, 22%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,41 (s, 1H), 8,51 (s, 1H), 8,19 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 8,00 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 7,71-7,62 (m, 3H), 7,37-7,35 (m, 3H), 7,13-7,05 (m, 3H), 3,81 (s, 3H). MS: M+1 372.

10 **Esempio 36:** Sintesi di acido 3-(4-(3'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (36).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 33. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile/metanolo 9:1 come eluente, ottenendo il composto 36 come solido
15 bianco (66 mg, 0,18 mmol, 61%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,53 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,25 (d, *J* = 7,7 Hz, 1H), 8,07-8,05 (m, 3H), 7,84-7,75 (m, 3H), 7,40-7,27 (m, 3H), 6,96 (d, *J* = 7,7, 1H), 3,84 (s, 3H). MS: M+1 372.

20 **Esempio 37:** Sintesi di acido 3-(4-(2',4'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (37).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 33. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile/metanolo 9:1 come eluente, ottenendo il composto 37 come solido
25 giallo (114 mg, 0,28 mmol, 98%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,41 (s, 1H), 8,47 (s, 1H), 8,13 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 8,04 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,96 (d, *J* = 7,1 Hz, 2H), 7,71 (d, *J* = 6,6 Hz, 1H), 7,55 (d, *J* = 7,1 Hz, 2H), 7,27 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 6,67-6,61 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,78 (s, 3H).

30 MS: M+1 402.

Esempio 38: Sintesi di acido 3-(4-(3',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (38).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 33. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile/metanolo 9:1 come eluente, ottenendo il composto 38 come solido giallo (115 mg, 0,29 mmol, 99%).

5 Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,50 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,14 (d, *J* = 7,1 Hz, 1H), 8,06-8,04 (m, 3H), 7,82 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,70 (t, *J* = 7,1 Hz, 1H), 6,94-6,87 (m, 2H), 6,52 (s, 1H), 3,82 (s, 3H), 3,78 (s, 3H) MS: M+1 402.

10 **Esempio 39: Sintesi di acido 3-(4-(4-(benzo[d][1,3]diossol-5-il)fenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (39).**

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 33. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio /acetato di etile 1:9 come eluente, ottenendo il composto 39 come solido giallastro (65 mg, 0,17 mmol, 58%).

15 Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,48 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 8,22 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 8,05-7,94 (m, 3H), 7,79-7,74 (m, 3H), 7,33 (s, 1H), 7,23 (t, *J* = 8,2 Hz, 1H), 7,02 (d, *J* = 8,2 Hz, 1H), 6,11 (s, 2H). MS: M+1 386.

20 **Esempio 40: Sintesi di acido 3-(4-(4-(2,3-diidrobenzo[b][1,4]diossin-6-il)fenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (40).**

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 33. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile come eluente, ottenendo il composto 40 come solido giallo chiaro (115 mg, 0,29 mmol, 99%).

25 Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,49 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 8,22 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,02 (d, *J* = 8,5 Hz, 2H), 7,79-7,77 (m, 3H), 7,27-7,22 (m, 3H), 6,95 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 4,34-4,28 (m, 4H). MS: M+1 400.

30 **Esempio 41: Sintesi di acido 3-(4-(3',4'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (41).**

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 33. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna

usando acetato di etile/metanolo 9:1 ed acetato di etile/metanolo 8:2 come eluenti, ottenendo il composto 41 come solido bianco (65 mg, 0,16 mmol, 56%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,41 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 8,16 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 8,08-8,02 (m, 3H), 7,79 (d, *J* = 8,0 Hz, 2H), 7,71 (t, *J* = 7,9 Hz, 1H), 7,30-7,27 (m, 2H), 7,06 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 3,88 (s, 3H), 3,82 (s, 3H). MS: M+1 402.

Esempio 42: Sintesi di acido 3-(4-(2',3'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (42).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 33. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile/metanolo 9:1 ed acetato di etile/metanolo 8:2 come eluenti, ottenendo il composto 42 come solido bianco (88 mg, 0,22 mmol, 76%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,53 (s, 1H), 8,56 (s, 1H), 8,18-8,07 (m, 4H), 7,77 (t, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,66 (d, *J* = 7,3 Hz, 2H), 7,21-7,15 (m, 2H), 7,03 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 3,91 (s, 3H), 3,62 (s, 3H). MS: M+1 402.

Esempio 43: Sintesi di acido 3-(4-(4-(2,3-diidrobenczo[b][1,4]diossin-5-il)fenil)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (43).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 33. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile/metanolo 9:1 ed acetato di etile/metanolo 8:2 come eluenti, ottenendo il composto 43 come solido giallo chiaro (105 mg, 0,26 mmol, 91%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,42 (s, 1H), 8,49 (s, 1H), 8,11-7,99 (m, 4H), 7,70 (t, *J* = 7,2 Hz, 1H), 7,63 (d, *J* = 7,4 Hz, 2H), 6,93-6,90 (m, 3H), 4,29-4,26 (m, 4H). MS: M+1 400.

Esempio 44: Sintesi di acido 3-(4-(2',6'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (44).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 33. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile, acetato di etile/metanolo 9:1, ed acetato di etile/metanolo 8:2 come eluenti, ottenendo il composto 44 come solido giallo chiaro (53 mg, 0,13 mmol, 46%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,40 (s, 1H), 8,55 (s, 1H), 8,15 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 8,06 (d, *J* = 7.4 Hz, 1H), 7,96-7,92 (m, 3H), 7,72-7,70 (m, 4H), 7,29 (t, *J* = 7,4 Hz, 1H), 3,69 (s, 6H). MS: M+1 402.

5 **Esempio 45: Sintesi di acido 3-(4-(2'-fluoro-5'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (45).**

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 33. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 2:8 come eluente, ottenendo il composto 45 come
10 solido giallo (46 mg, 0,12 mmol, 41%).

Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,49 (s, 1H), 8,50 (s, 1H), 8,24 (d, *J* = 7,9 Hz, 1H), 8,08-8,06 (m, 3H), 7,80-7,70 (m, 3H), 7,25 (t, *J* = 7,1 Hz, 1H), 7,12-7,11 (m, 1H), 6,99-6,98 (m, 1H), 3,78 (s, 3H). MS: M+1 390.

15 **Esempio 46: Sintesi di acido 3-(4-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)benzoico (46).**

Ad una sospensione di 4'-etinil-2,5-dimetossi-1,1'-bifenile (100 mg, 0,42 mmol) in acqua (425 µl) e *t*-BuOH (425 µl) si aggiunge acido 3-azidobenzoico (68 mg, 0,42 mmol). Quindi, si aggiungono 42 µl di una soluzione acquosa di sodio ascorbato 1 M e
20 rame solfato pentaidrato (1,04 mg, 0,0042 mmol) e la miscela viene energicamente agitata per una notte. Il prodotto volatile viene quindi rimosso e il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 3:7 come eluente, ottenendo il composto 46 come solido giallastro (167 mg, 0,42 mmol, 99%).

25 Dati analitici:

¹H-NMR (300 MHz, (CD₃)₂CO): δ 9,18 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,26 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,15 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 8,05 (d, *J* = 6,9 Hz, 2H), 7,77 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,65 (d, *J* = 6,9 Hz, 2H), 7,04 (d, *J* = 9,0 Hz, 1H), 6,97-6,89 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,76 (s, 3H). MS: M+1 402.

30 **Esempio 47: Sintesi di metil 4-(4-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)picolinato (47).**

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta

nell'Esempio 46. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 4:6 come eluente, ottenendo il composto 47 come solido giallastro (107 mg, 0,26 mmol, 61%).

Dati analitici:

5 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$): δ 9,38 (s, 1H), 8,93 (d, $J = 4,6$ Hz, 1H) 8,65 (s, 1H), 8,26 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H) 8,05 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,67 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,05 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 6,95-6,91 (m, 2H), 4,03 (s, 3H), 3,81 (s, 3H), 3,77 (s, 3H). MS: $M+1$ 417.

Esempio 48: Sintesi di acido 4-(4-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)picolinico (48).

10 Il composto 47 (49 mg, 0,12 mmol), viene solubilizzato in acetone (490 μl) ed acqua (490 μl). Si aggiunge NaOH (9,6 mg, 0,24 mmol) e la miscela viene agitata a temperatura ambiente per 2 h. Il prodotto volatile viene quindi allontanato e il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando acetato di etile/metanolo 8:2 ed acetato di etile/metanolo 7:3 come eluenti, ottenendo il composto
15 48 come solido giallo chiaro (36 mg, 0,09 mmol, 75%).

Dati analitici:

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 9,71 (s, 1H), 8,70-8,62 (m, 3H), 8,02 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,63 (d, $J = 8,0$ Hz, 2H), 7,09 (d, $J = 9,6$ Hz, 1H), 6,94-6,92 (m, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,76 (s, 3H). MS: $M+1$ 403.

20 **Esempio 49:** Sintesi di 4-(4-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)-3-fluoropiridina (49).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 46. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 7:3 come eluente, ottenendo il composto 49 come
25 solido giallo (95 mg, 0,25 mmol, 60%).

Dati analitici:

$^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 8,75 (s, 1H), 8,64 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 8,48 (s, 1H), 8,22 (d, $J = 6,0$ Hz, 1H), 7,96 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,66 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 6,96-6,89 (m, 3H), 3,82 (s, 3H), 3,76 (s, 3H). MS: $M+1$ 377.

30 **Esempio 50:** Sintesi di 4-(4-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)piridina (50).

Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta

nell'Esempio 46. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 9:1 come eluente, ottenendo il composto 50 come solido giallo (119 mg, 0,33 mmol, 79%).

Dati analitici:

5 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 9,55 (s, 1H), 8,85 (s, 1H), 8,04-8,01 (m, 2H), 7,99 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,66 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,06 (d, $J = 6,9$ Hz, 1H) 6,94-9,93 (m, 3H), 3,77 (s, 3H), 3,74 (s, 3H). MS: $M+1$ 359.

Esempio 51: Sintesi di 3-(4-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-1,2,3-triazol-1-il)piridina (51).

10 Il composto del titolo viene sintetizzato secondo la procedura descritta nell'Esempio 46. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna usando etere di petrolio/acetato di etile 5:5 come eluente, ottenendo il composto 51 come solido giallastro (117 mg, 0,33 mmol, 78%).

Dati analitici:

15 $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CDCl_3): δ 9,08 (s, 1H), 8,72 (s, 1H), 8,27-8,21 (m, 2H), 7,95 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,65 (d, $J = 8,3$ Hz, 2H), 7,53 (t, $J = 5,2$ Hz, 1H), 6,96-6,88 (m, 3H), 3,82 (s, 3H), 3,78 (s, 3H). MS: $M+1$ 359.

Saggi Biologici

L'esperimento chiave per esemplificare l'ingresso di Ca^{2+} capacitativo (SOCE),
20 come viene indicato attualmente, è rappresentato in Figura 1. In breve, lo svuotamento dei depositi di RE/RS determina l'apertura di un canale della membrana plasmatica attraverso il quale il Ca^{2+} può rifluire nella cellula e questi due fenomeni possono venire dissezionati aggiungendo Ca^{2+} alla soluzione extracellulare dopo la deplezione dei depositi intracellulari. Questo approccio sperimentale semplice ma potente rimane valido
25 per smascherare il fenomeno in screening.

Colture cellulari e modelli animali

Cellule HEK, di rene embrionale umano, sono state ottenute da ATCC (ATCC[®] CRL-1573[™], Rockville, MD, USA) e sono state coltivate nel Mezzo di Eagle Modificato da Dulbecco (DMEM; Sigma-Aldrich, Italia) integrato con il 10% di FBS
30 inattivato a caldo (Gibco, Italia), l-glutammina 50 mg/ml (Sigma-Aldrich, Italia),

penicillina 10 U/ml e streptomicina 100 mg/ml (Sigma-Aldrich, Italia), a 37°C in atmosfera umidificata con CO₂ al 5%. Per gli esperimenti, le cellule sono state piastrate su vetrini coprioggetto a concentrazioni di 5×10^4 per ml (vetrini coprioggetto di 24 mm di diametro in piastre a 6 pozzetti).

Al fine di dimostrare l'effetto dei composti e di sviluppare una strategia terapeutica per disturbi genetici rari con aumento di funzione, abbiamo generato una colonia di topi portatori di una mutazione puntiforme knock-in p.I115F (KI-STIM1^{I115F}) su un fondo C57Bl/6N. Inoltre, per valutare gli effetti dei composti sulla distrofia muscolare di Duchenne, abbiamo usato topi mdx distrofina-deficienti (C57BL/10ScSn-Dmdmdx/J) acquistati presso The Jackson Laboratory.

La cura e l'allevamento degli animali sono stati effettuati secondo le linee guida istituzionali, in conformità con le leggi e le politiche nazionali e internazionali. I topi sono stati alloggiati in gabbie ventilate poste in stanze monitorate a 22±1°C con cicli luce/buio di 12 h, hanno avuto accesso a cibo e acqua ad libitum e sono stati svezzati in base al sesso a 23 giorni dalla nascita. Le procedure sono state approvate dal comitato etico e veterinario locale (Università del Piemonte Orientale) e autorizzate dall'autorità nazionale (Istituto Superiore di Sanità; numero di autorizzazione N. 194/2019-PR).

I fondatori KI-STIM1^{I115F} in un fondo C57Bl/6N sono stati ottenuti dalla PolyGene transgenics (CH, <https://www.polygene.ch/>). In breve, questo modello di topo knock-in è stato generato mediante ricombinazione omologa in cellule staminali embrionali (SE) transfettate mediante elettroporazione sull'esone 3 del gene Stim1, situato sul cromosoma 7, inserendo la mutazione c.343A>T (corrispondente alla sostituzione dell'isoleucina con la fenilalanina; I115F).

Per l'elettroporazione è stato utilizzato il vettore di targeting linearizzato F118.3 TV (Figura 7), con una cassetta di resistenza alla neomicina FRT-fiancheggiata, inserita in una regione non sospetta nell'introne 3 di Stim1.

L'integrità del vettore di targeting è stata confermata dal sequenziamento delle regioni esoniche e dall'analisi delle restrizioni, utilizzando i seguenti enzimi di restrizione: HindIII (7,2 kb / 2,9 kb / 1,7 kb / 1,2 kb), PstI (8,3 kb / 2,7 kb / 1,3 kb / 0,7 kb), PvuII (3,5 kb / 2,8 kb / 2,5 kb / 1,1 kb / 0,9 kb / 0,8 kb / 0,6 kb / 0,4 kb / 0,3 kb / 0,15 kb) e BglII (5,5 kb / 2,9 kb / 2,2 kb / 1,3 kb / 1,0 kb / 0,05 kb). La selezione con G418 è stata utilizzata per mantenere stabile la transfezione, i cloni ottenuti sono stati analizzati

e validati mediante PCR e Southern blot usando l'enzima di restrizione BstEII e una sonda esterna in 3' (sonda LA). Questa sonda ha una dimensione di 463 bp ed è stata generata utilizzando i seguenti primer:

F118.20 5'- TGCCAGTTTCCCTATCAG-3' (SEQ ID No.: 1);

5 F118.21 5'- CCTAAGGATGGGATGTAACC-3 (SEQ ID No.: 2).

I cloni SE selezionati sono stati iniettati in 49 blastocisti da topi C57Bl/6N grigi. Quarantuno blastocisti sopravvissuti sono stati trasferiti in due topi adottivi CD-1. Le chimere risultanti sono state accoppiate ai topi Flp-deleter grigi. La progenie delle chimere è stata selezionata per la delezione mediata da Flp della cassetta della neomicina e la corrispondente presenza del sito FRT rimanente.

10 Allo svezzamento, i topi sono stati identificati con il procedimento del buco all'orecchio e il pezzo di tessuto ottenuto è stata utilizzata per eseguire la genotipizzazione utilizzando il kit PCR BIO Rapid Extract PCR Kit (PCR Biosystems, UK). L'estrazione del DNA è stata eseguita secondo le istruzioni del produttore (5x PCR BIO Rapid Extract Buffer A, 10x PCR BIO Rapid Extract Buffer B).

15 I mioblasti primari di tipo selvatico e KI-STIM1^{115F} sono stati ottenuti dai seguenti muscoli: gastrocnemio, tibiale anteriore, quadricipite femorale, estensore lungo delle dita, soleo, bicipite brachiale e diaframma. Ogni muscolo è stato posto in una piastra da 60 mm in tampone fosfato isototonico (PBS), rimosso dal tendine e separato longitudinalmente e successivamente tagliato in pezzi più piccoli. I piccoli frammenti sono stati incubati con Pronase® (Protease, *Streptomyces griseus*, Calbiochem®, 25 KU) per 1 ora a 37°C sotto sbattimento e il prodotto è stato neutralizzato con Mezzo di Eagle Modificato da Dulbecco (DMEM, Sigma-Aldrich, Italia), incrementato con il 10% di FBS inattivato a caldo (Gibco, Italia), L-glutammina 50 mg/ml (Sigma-Aldrich, Italia),
20 penicillina 10 U/ml e streptomycin 100 mg/ml (Sigma-Aldrich, Italia), e l'1% di estratto embrionale di pollo (Sigma-Aldrich, Italia). I tessuti sono stati quindi tagliati in pezzi più piccoli passando attraverso pipette da 10 e 5 ml, il surnatante ottenuto è stato filtrato in un filtro da 40 µm e centrifugato a RT per 10 minuti a 1200 giri al minuto. I pellet sono stati nuovamente risospesi e i mioblasti sono posti in una piastra da 100 mm in DMEM,
30 integrato con il 10% di Siero Bovino Fetale inattivato a caldo (Gibco, Italia), L-glutammina 50 mg/ml (Sigma-Aldrich, Italia), penicillina 10 U/ml, streptomycin 100 mg/ml (Sigma-Aldrich, Italia) e l'1% di estratto embrionale di pollo (Sigma-Aldrich,

Italy) per 90 minuti a 37°C, in atmosfera umidificata con CO₂ al 5%, per permettere il deposito dei detriti. I surnatanti sono stati quindi centrifugati e posti in una piastra da 35 mm trattata con gelatina al 2% in DMEM (Sigma-Aldrich, Italia) incrementato con il 20% di Siero Bovino Fetale inattivato a caldo (Gibco, Italia), il 10% di Siero di Cavallo (Gibco, Italia), L-glutammina 50 mg/ml (Sigma-Aldrich, Italia), penicillina 10 U/ml e streptomicina 100 mg/ml (Sigma-Aldrich, Italia), l'1% di estratto embrionale di pollo (Sigma-Aldrich, Italy) e FGF 10 ng/ml (Peprotech, UK) a 37°C in atmosfera umidificata con CO₂ al 5% per 6-7 giorni con una sostituzione del mezzo ogni 24-36 ore. Per la differenziazione in miotubi, i mioblasti sono stati trasferiti per 24 ore in un mezzo di differenziazione costituito da DMEM con il 5% di siero di cavallo e l'1% di penicillina-streptomicina.

Per gli esperimenti, i miotubi sono stati inoltre mantenuti nello stesso mezzo di coltura per ulteriori 24 ore, dopo la piastratura su vetrini coprioggetto ad una concentrazione di 20×10^4 per pozzetto (vetrini coprioggetto di 24 mm di diametro in piastre da 6 pozzetti), e mantenuti in DMEM integrato con il 5% di FBS inattivato a caldo (Gibco, Italia), L-glutammina 50 mg/ml (Sigma-Aldrich, Italia), penicillina 10 U/ml e streptomicina 100 mg/ml (Sigma-Aldrich, Italia), a 37°C in atmosfera umidificata con CO₂ al 5%. Gli esperimenti sono stati effettuati 6-7 giorni dopo l'estrazione a P2 e P3.

Valutazione biologica di composti che hanno SOCE come bersaglio mediante misurazioni di Ca²⁺ con Fura-2.

I composti sono stati testati su cellule HEK in un'analisi a singola cellula usando Fura-2 AM su vetrini coprioggetto. Le cellule HEK sono state caricate con Fura-2 AM 5 µM in presenza dello 0,02% di Pluronic-127 (entrambi della Life Technologies, Italia) e sulfonpirazone 10 µM in tampone Krebs-Ringer (KRB, NaCl 135 mM, KCl 5 mM, KH₂PO₄ 0,4 mM, MgSO₄ 1 mM, glucosio 5,5 mM, HEPES 20 mM, pH 7.4) contenente CaCl₂ 2 mM (30 min, temperatura ambiente). Successivamente le cellule sono state lavate e incubate con KRB per ulteriori 30 minuti per consentire la de-esterificazione di Fura-2 AM. Per misurare l'ingresso di calcio capacitativo, sono stati monitorati i cambiamenti nel Ca²⁺ citosolico dopo la deplezione dei depositi di Ca²⁺ intracellulari. Gli esperimenti sono stati condotti prima e durante l'esposizione delle cellule alla soluzione priva di Ca²⁺. In assenza di Ca²⁺, i depositi di Ca²⁺ intracellulari sono stati svuotati mediante inibizione

della pompa del Ca^{2+} vescicolare con 2,5-t-butilidrochinone (tBHQ, 50 μM ; Sigma-Aldrich, Italia). Una nuova aggiunta di Ca^{2+} 2 mM ha consentito la valutazione del SOCE. Durante gli esperimenti i vetrini coprioggetto sono stati montati in una camera di acquisizione e posizionati sulla base di un microscopio epi-fluorescente Leica DMI6000
5 dotato di obiettivo S Fluor $\times 40/1.3$. Fura-2 è stato eccitato con 340 e 380 nm alternati utilizzando un monocromatore Polychrome IV (Till Photon-ics, Germania) e la luce di emissione della sonda è stata filtrata attraverso un filtro passabanda 520/20 e acquisita da una fotocamera CCD raffreddata (Hamamatsu, Giappone). I segnali di fluorescenza sono stati acquisiti ed elaborati utilizzando il software MetaFluor (Molecular Device, Sun-
10 Nyvale, CA, USA). Per quantificare le differenze nelle ampiezze dei flussi transitori di Ca^{2+} , i valori di rapporto sono stati normalizzati usando la formula $\Delta F/F_0$.

La percentuale di modulazione del SOCE da parte dei composti è stata determinata in base al valore dell'afflusso di calcio indotto da tBHQ in cellule Hek. I dati sono stati analizzati usando Microsoft Excel e GraphPad Prism. Gli esempi sono riportati in Tabella
15 2 e 3.

Tabella 2

Cellule Hek	
Nome del composto e (numero)	% di inibizione
Acido 3-(1-(3'-(metiltio)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)benzoico (11)	72,6 $\pm$ 13,6 (10 μM)
Acido 3-(1-(2'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)benzoico (12)	47,2 $\pm$ 7,2 (10 μM)
Acido 3-(1-(3'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)benzoico (13)	85,0 $\pm$ 9,0 (3 μM)
Acido 3-(1-(2',4'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)benzoico (15)	68,1 $\pm$ 4,2 (10 μM) 56,4 $\pm$ 21,0 (3 μM)
Acido 3-(1-(3',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)benzoico (16)	77,4 $\pm$ 4,7 (10 μM) 73,8 $\pm$ 11,3 (3 μM)
Acido 3-(1-(4-(benzo[d][1,3]diossol-5-il)fenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)benzoico (17)	37,3 $\pm$ 4,2 (10 μM)
Acido 3-(1-(4-(2,3-diidrobenczo[b][1,4]diossin-6-il)fenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)benzoico (18)	82,7 $\pm$ 4,0 (10 μM) 77,5 $\pm$ 8,2 (3 μM)
Acido 3-(1-(3',4'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)benzoico (19)	54,3 $\pm$ 6,3 (3 μM)
Acido 3-(1-(2',3'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)benzoico (20)	96,5 $\pm$ 2,4 (3 μM)
Acido 3-(1-(4-(2,3-diidrobenczo[b][1,4]diossin-5-il)fenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)benzoico (21)	70,9 $\pm$ 7,9 (3 μM)
Acido 3-(1-(2'-fluoro-5'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)benzoico (23)	74,7 $\pm$ 6,3 (3 μM)
Acido 3-(1-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)benzoico (24)	85,8 $\pm$ 6,5 (3 μM)
Acido 4-(1-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-4-il)picolinico (25)	79,9 $\pm$ 4,1 (10 μM)
Acido 3-(4-(2'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)benzoico (35)	59,6 $\pm$ 5,43 (10 μM)

Cellule Hek	
Nome del composto e (numero)	% di inibizione
Acido 3-(4-(3'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)benzoico (36)	87,0 ± 1,1 (10 µM)
Acido 3-(4-(2',4'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)benzoico (37)	77,1 ± 0,9 (10 µM) 53,0 ± 3,8 (3 µM)
Acido 3-(4-(3',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)benzoico (38)	86,2 ± 4,2 (10 µM)
Acido 3-(4-(3',4'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)benzoico (41)	39,6 ± 7,6 (3 µM)
Acido 3-(4-(2',3'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)benzoico (42)	93,2 ± 5,1 (3 µM)
Acido 3-(4-(4-(2,3-diidrobenczo[<i>b</i>][1,4]diossin-5-il)fenil)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)benzoico (43)	44,1 ± 17,1 (3 µM)
Acido 3-(4-(2'-fluoro-5'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)benzoico (45)	88,9 ± 7,5 (3 µM)
Acido 3-(4-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)benzoico (46)	87,8 ± 2,9 (10 µM) 78,7 ± 3,8 (3 µM)
Metil 4-(4-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)picolinato (47)	73,5 ± 1,4 (10 µM)
Acido 4-(4-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)picolinico (48)	57,2 ± 8,3 (10 µM)

Tabella 3

Cellule Hek	
Nome del composto e (numero)	Attività residua del SOCE
Acido 3-(4-(2',6'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1 <i>H</i> -1,2,3-triazol-1-il)benzoico (44)	122,79 ± 0,89 (3 µM)

Modulazione farmacologica del SOCE in miotubi da modello murino STIM1-mutato (KI-STIM1^{I115F})

Miotubi sono stati generati da 4 animali in ciascuna condizione. Abbiamo inoltre analizzato se il SOCE in miotubi WT si fosse modificato nell'arco della vita di questi animali. Per fare questo, abbiamo impiegato un protocollo classico per l'ingresso di Ca²⁺, in cui si esegue la deplezione dei depositi con *t*BHQ in tampone privo di Ca²⁺ e dopo 10 minuti le cellule vengono perfuse in una soluzione contenente Ca²⁺ (2 mM).

I miotubi da 4 topi di tipo selvatico (WT) e 4 topi KI-STIM1^{I115F} sono stati caricati con Fura-2 AM 5 µM e collocati in una soluzione extracellulare contenente Ca²⁺ 0 mM. La deplezione dei depositi è stata effettuata con *t*BHQ 50 µM e dopo 10 minuti le cellule vengono perfuse in una soluzione contenente Ca²⁺ (2 mM) in presenza o assenza del composto selezionato (acido 3-(1-(3'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico). Come si può osservare in Figura 3, i miotubi da KI-STIM1^{I115F} mostrano un SOCE significativamente aumentato rispetto WT già a 1 mese. Questo aumento del SOCE è stato mantenuto in tutti i punti temporali esaminati (1, 3, 6 e 12 mesi). È inoltre

interessante notare che, il SOCE da miotubi WT risultava più alto negli animali più giovani (1 mese) e diminuito nei successivi punti temporali.

L'effetto del composto acido 3-(1-(4-(2,3-diidrobenczo[*b*][1,4]diossin-6-il)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico sui miotubi è presentato in Figura 4. Come si può osservare, il composto è in grado operare la reversione della sovra-attivazione di proteine STIM1-mutate (Figura 4).

Modulazione farmacologica del SOCE da miotubi di modello murino DMD (mdx)

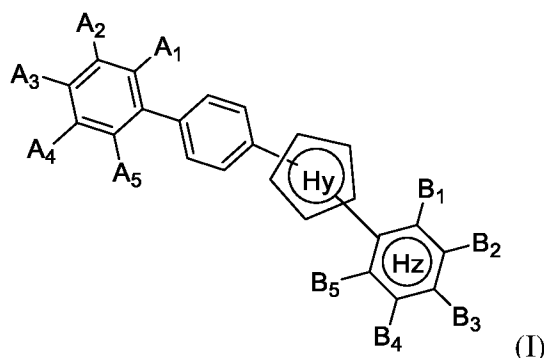
Miotubi sono stati generati da 4 animali in ciascuna condizione. Abbiamo analizzato se il SOCE fosse aumentato in miotubi da topi mdx rispetto a miotubi da topi WT. Per fare questo, abbiamo impiegato un protocollo classico per l'ingresso di Ca^{2+} , in cui si esegue la deplezione dei depositi con *t*BHQ in tampone privo di Ca^{2+} e dopo 10 minuti le cellule vengono perfuse in una soluzione contenente Ca^{2+} (2 mM).

I miotubi da 4 topi di tipo selvatico (WT) e 4 topi mdx sono stati caricati con Fura-2 AM 5 μM e collocati in una soluzione extracellulare contenente Ca^{2+} 0 mM. La deplezione dei depositi è stata effettuata con *t*BHQ 50 μM e dopo 10 minuti le cellule vengono perfuse in una soluzione contenente Ca^{2+} (2 mM) in presenza o assenza del composto selezionato (acido 3-(1-(3'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico). Come si può osservare in Figura 5, i miotubi da topi mdx mostrano un SOCE significativamente aumentato rispetto WT già a 3 mesi.

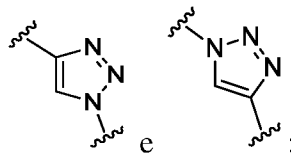
L'effetto del composto acido 3-(1-(4-(2,3-Diidrobenczo[*b*][1,4]diossin-6-il)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico sui miotubi è presentato in Figura 6. Come si può osservare, il composto è in grado operare la reversione della sovra-attivazione del SOCE in un modello murino DMD (Figura 6).

RIVENDICAZIONI

1. Composto di formula (I)



in cui



5 l'anello Hy è selezionato tra

l'anello Hz è selezionato tra un gruppo arile o eteroarile;

A₁, A₂, A₃, A₄ e A₅ sono identici o diversi l'uno dall'altro e indipendentemente selezionati tra H, CF₃, Br, I, Cl, F, OH, OR₁, SR₁, NH₂, NHR₁, NR₁R₂, S(O)R₁, S(O)₂R₁, NHCOR₁, NHSO₂R₁, CONHR₁, CONR₁R₂, SO₂NHR₁, COOH, COOR₁, NO₂, CN, un gruppo O-eterociclico a 5-6 elementi;

A₁ e A₂, o A₂ e A₃, o A₃ e A₄, o A₄ e A₅ possono formare insieme un gruppo O-eterociclico a 5-6 elementi fuso all'anello di fenile al quale sono attaccati;

B₁, B₂, B₃, B₄ e B₅ sono indipendentemente selezionati tra H, CH₂COOH, COOH, COOR₃, CN, CF₃, Br, I, Cl, F e 1H-tetrazol-5-ile;

15 R₁ e R₂ sono identici o diversi l'uno dall'altro e indipendentemente selezionati tra un gruppo C₁₋₈ alchile non sostituito o sostituito, un gruppo C₂₋₈ alchenile non sostituito o sostituito, un gruppo C₂₋₈ alchinile non sostituito o sostituito, un gruppo C₃₋₆ cicloalchile non sostituito o sostituito, arile non sostituito o sostituito, eterociclico non sostituito o sostituito, un gruppo (CH₂)_n-C₁₋₈ alchile, (CH₂)_n-C₂₋₈ alchenile, (CH₂)_n-C₂₋₈ alchinile, 20 (CH₂)_n-cicloalchile, (CH₂)_n-arile e (CH₂)_n-eteroarile, in cui n è un numero intero da 1 a 4;

R₃ è selezionato tra un gruppo C₁₋₈ alchile non sostituito o sostituito, un gruppo C₂₋₈ alchenile non sostituito o sostituito, un gruppo C₂₋₈ alchinile non sostituito o sostituito, un gruppo C₃₋₆ cicloalchile non sostituito o sostituito, arile non sostituito o sostituito, eterociclico non sostituito o sostituito, un gruppo (CH₂)_m-C₁₋₈ alchile, (CH₂)_m-

C₂₋₈ alchenile, (CH₂)_m-C₂₋₈ alchinile, (CH₂)_m-cicloalchile, (CH₂)_m-arile e (CH₂)_m-eteroarile, in cui m è un numero intero da 1 a 4;

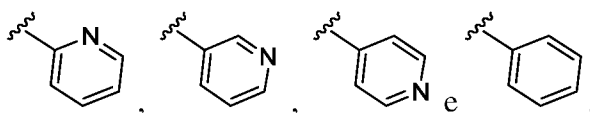
relativi idrati e/o solvati e/o sali farmaceuticamente accettabili.

2. Composto secondo la rivendicazione 1, in cui quando R₁, R₂ e R₃, se presenti, sono indipendentemente selezionati tra un gruppo C₁₋₈ alchile sostituito, un gruppo C₂₋₈ alchenile sostituito, un gruppo C₂₋₈ alchinile sostituito, un gruppo C₃₋₆ cicloalchile sostituito, arile sostituito, eterociclico sostituito, il singolo sostituito o i diversi sostituenti sono indipendentemente selezionati tra alogeno, CH₂F, CHF₂, CF₃, OR₂, CN, COOR₄, CONR₄R₅, NR₄R₅, NHCOR₄, NHSO₂R₄, S(O)R₄, S(O)₂R₄, e SO₂NHR₄,

in cui R₄ e R₅ sono uguali o differenti e indipendentemente selezionati tra H, un gruppo C₁₋₈ alchile non sostituito o sostituito con uno o più atomi di alogeno, e un gruppo C₃₋₆ cicloalchile non sostituito o sostituito con uno o più atomi di alogeno.

3. Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui R₁, R₂ e R₃ sono selezionati tra metile, etile, terz-butile, isopropile, pentan-2-ile, piridin-4-ile benzile non sostituiti.

4. Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui l'anello

H_z è selezionato tra .

5. Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui A₁ è selezionato tra H, F, OMe, un gruppo O-eterociclico a 5-6 elementi.

6. Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui A₂ è selezionato tra H, OMe, SMe, OH, un gruppo O-eterociclico a 5-6 elementi.

7. Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui A₃, A₄ e A₅ sono indipendentemente selezionati tra H, OMe, un gruppo O-eterociclico a 5-6 elementi.

8. Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui due

gruppi adiacenti alla posizione A₁, A₂, A₃, A₄ o A₅ formano insieme un gruppo O-eterociclico a 5-6 elementi fuso con l'anello di fenile a cui sono attaccati, il gruppo eterociclico fuso con l'anello di fenile essendo selezionato tra diidrobenzodiossinile o benzodiossolile.

5 **9.** Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui B₁ e B₅ sono indipendentemente selezionati tra H e F.

10. Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui B₂ e B₄ sono indipendentemente selezionati tra H, CH₂COOH, COOH, COOMe, CN, e 1*H*-tetrazol-5-ile.

10 **11.** Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, in cui B₃ è H.

12. Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, selezionato tra:

Acido 3-(1-([1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico;

15 Acido 3-(1-(3'-(metiltio)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico;

Acido 3-(1-(2'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico;

Acido 3-(1-(3'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico;

Acido 3-(1-(3'-idrossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico;

Acido 3-(1-(2',4'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico;

20 Acido 3-(1-(3',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico;

Acido 3-(1-(4-(benzo[*d*][1,3]diossol-5-il)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico;

Acido 3-(1-(4-(2,3-diidrobenczo[*b*][1,4]diossin-6-il)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico;

Acido 3-(1-(3',4'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico;

25 Acido 3-(1-(2',3'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico;

Acido 3-(1-(4-(2,3-diidrobenczo[*b*][1,4]diossin-5-il)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico;

Acido 3-(1-(2',6'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico;

- Acido 3-(1-(2'-fluoro-5'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico;
- 5 Acido 3-(1-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)benzoico;
Acido 4-(1-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)picolinico;
4-(1-(2',5'-Dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)-3-fluoropiridina;
4-(1-(2',5'-Dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)piridina;
3-(1-(2',5'-Dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)piridina;
2-(1-(2',5'-Dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)piridina;
3-(1-(4-(2,3-Diidrobenzo[*b*][1,4]diossin-6-il)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-
- 10 il)benzonitrile;
5-(3-(1-(4-(2,3-Diidrobenzo[*b*][1,4]diossin-6-il)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)fenil)-1*H*-tetrazolo;
Acido 2-(3-(1-(4-(2,3-diidro benzo[*b*][1,4]diossin-6-il)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)fenil)acetico;
- 15 Acido 3-(4-([1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzoico;
Acido 3-(4-(3'-(metiltio)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzoico;
Acido 3-(4-(2'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzoico;
Acido 3-(4-(3'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzoico;
Acido 3-(4-(2',4'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzoico;
- 20 Acido 3-(4-(3',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzoico;
Acido 3-(4-(4-(benzo[*d*][1,3]diossol-5-il)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzoico;
Acido 3-(4-(4-(2,3-diidrobenzo[*b*][1,4]diossin-6-il)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzoico;
- 25 Acido 3-(4-(3',4'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzoico;
Acido 3-(4-(2',3'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzoico;
Acido 3-(4-(4-(2,3-diidrobenzo[*b*][1,4]diossin-5-il)fenil)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzoico;
- 30 Acido 3-(4-(2',6'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzoico;
Acido 3-(4-(2'-fluoro-5'-metossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzoico;
- Acido 3-(4-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)benzoico;
Metil 4-(4-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)picolinato;

Acido 4-(4-(2',5'-dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)picolinico;
4-(4-(2',5'-Dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)-3-fluoropiridina;
4-(4-(2',5'-Dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)piridina;
3-(4-(2',5'-Dimetossi-[1,1'-bifenil]-4-il)-1*H*-1,2,3-triazol-1-il)piridina;

5 **13.** Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, per l'uso come agente terapeutico.

14. Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, per l'uso nel trattamento di una condizione patologica dipendente da una aumentata/diminuita attività del SOCE.

10 **15.** Composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, per l'uso nel trattamento di patologie collegate a mutazioni con perdita o aumento di funzione di STIM1/Orai1, distrofie muscolari, disordini infiammatori.

15 **16.** Composizione farmaceutica comprendente almeno un composto secondo una qualsiasi delle rivendicazioni 1 a 12 e un carrier e/o veicolo farmaceuticamente accettabile.

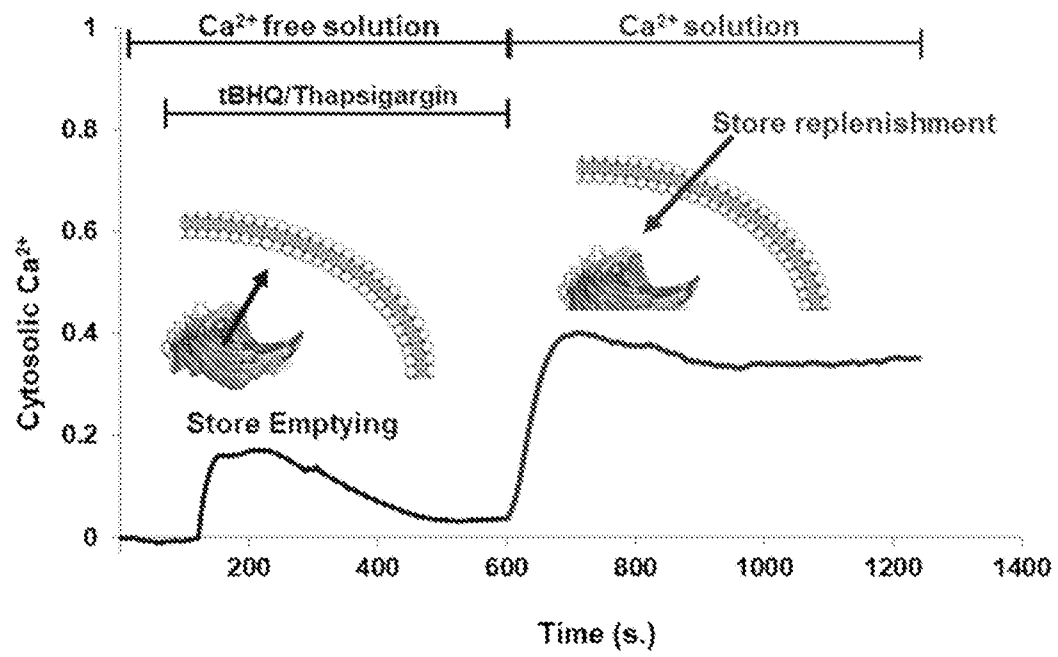
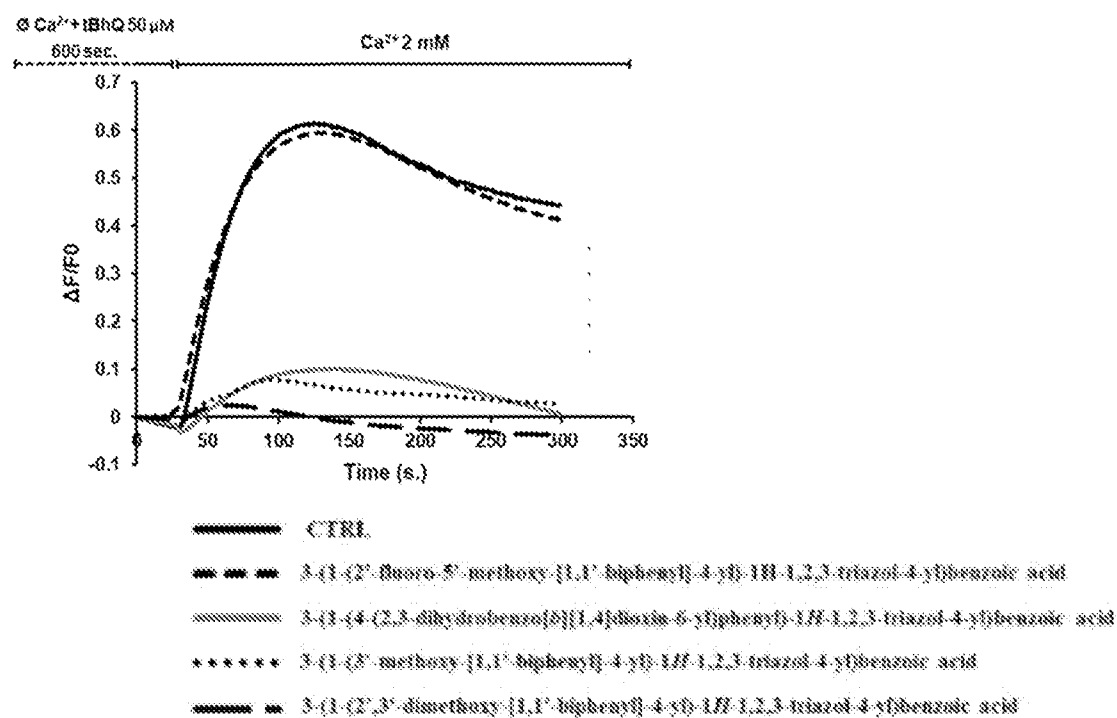


Figure 1

A



B

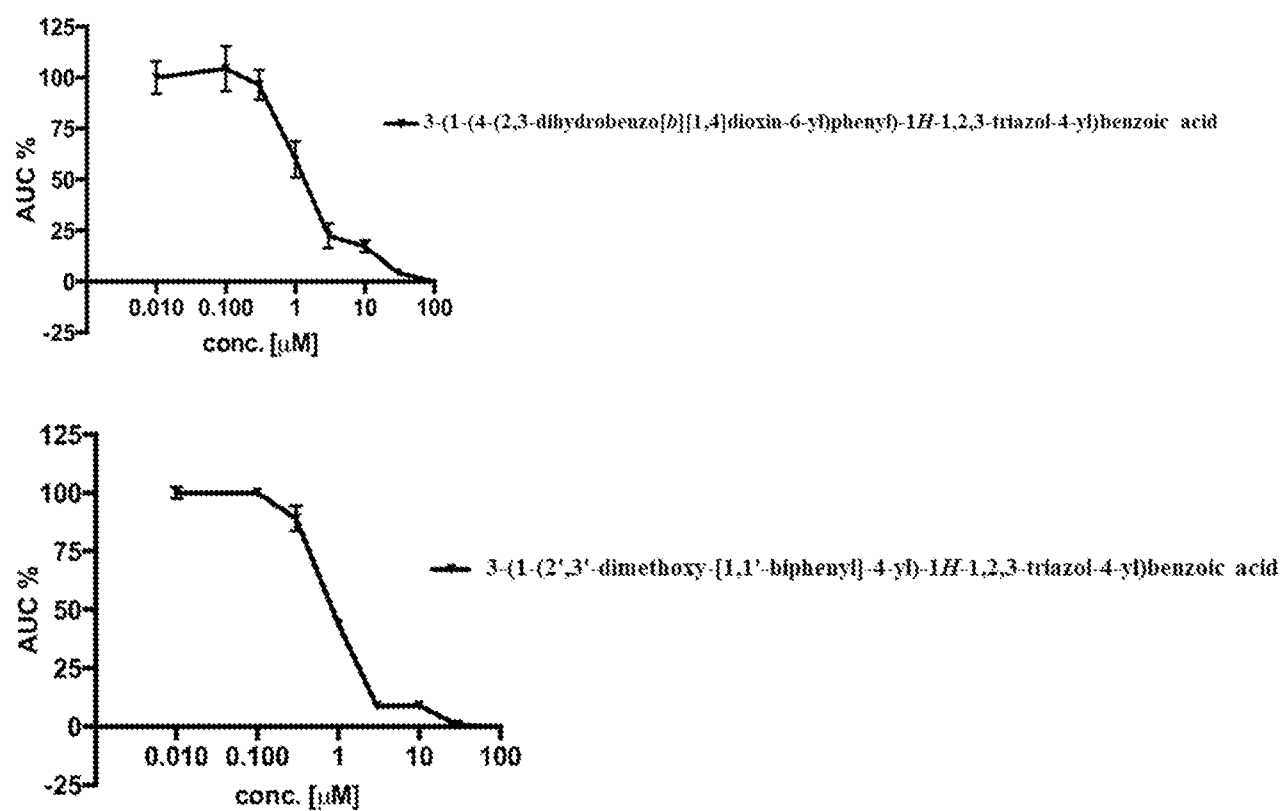


Figure 2

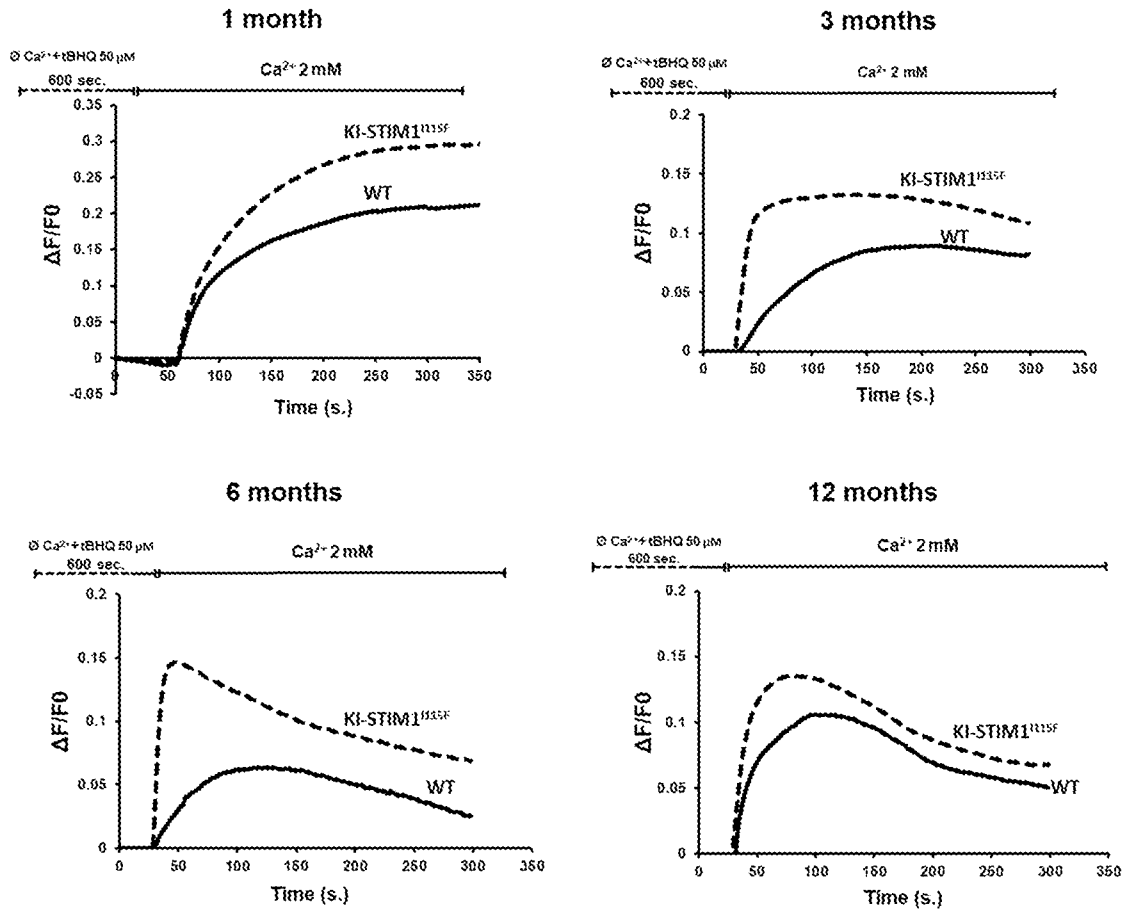


Figure 3

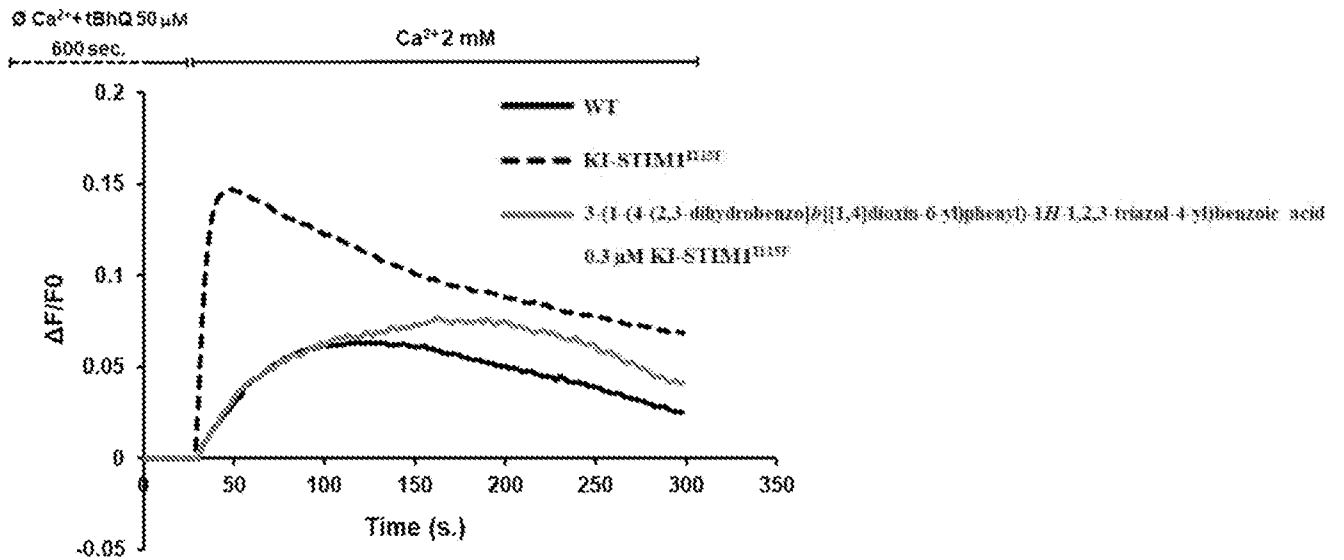


Figure 4

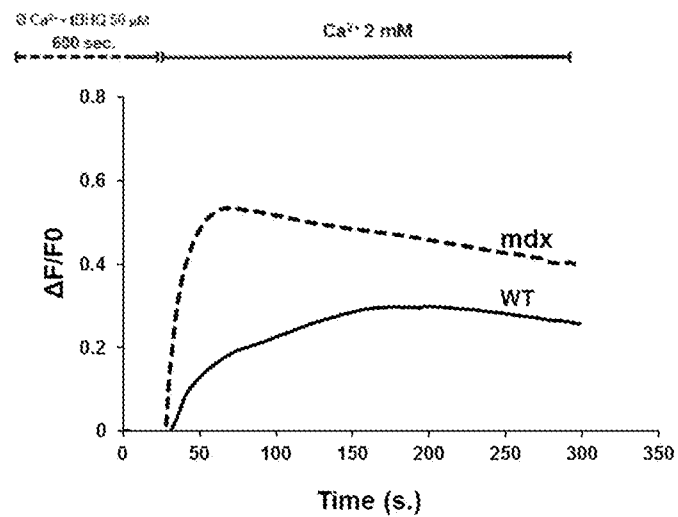


Figure 5

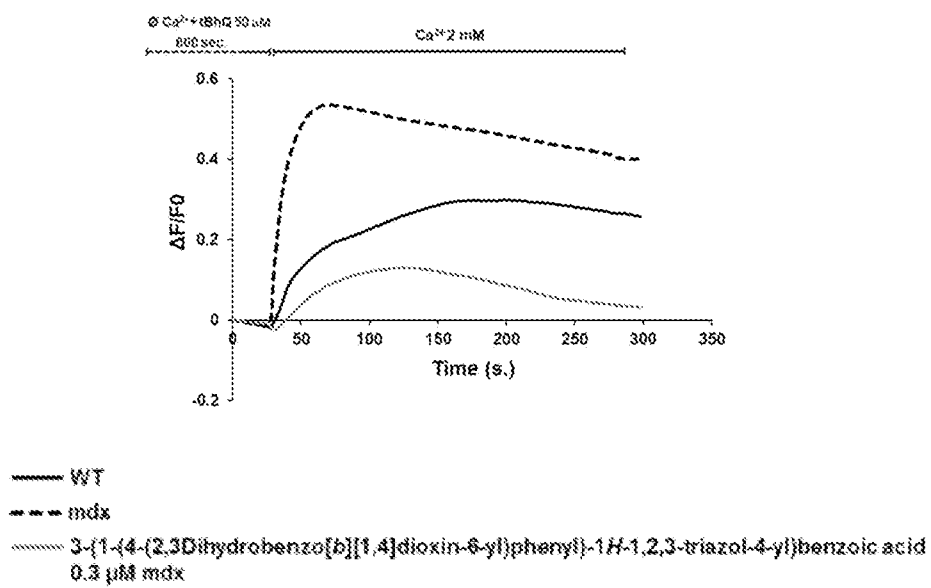


Figure 6

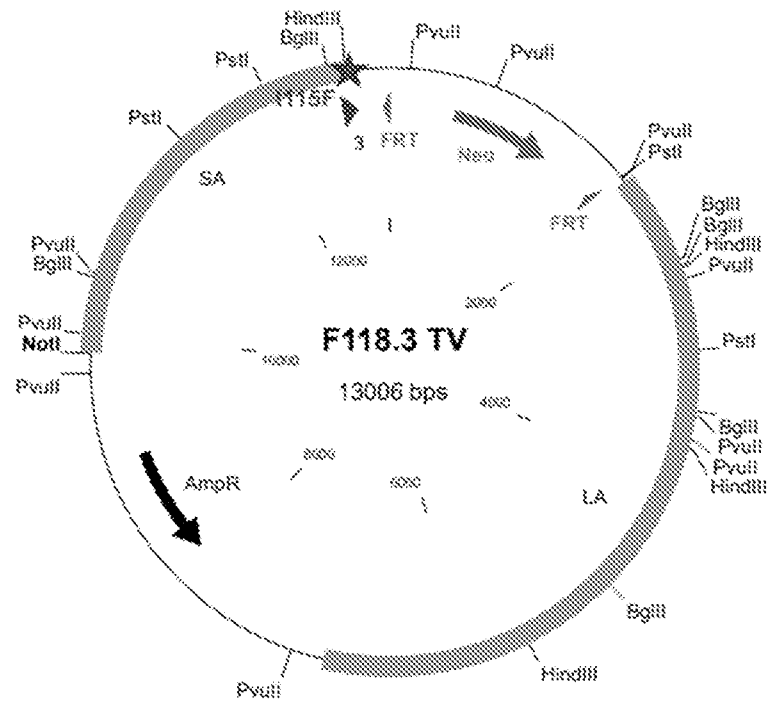


Figure 7