

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI MODENA E REGGIO EMILIA

---

Dottorato di ricerca in Scienze e Tecnologie dei Prodotti per la Salute

Ciclo XXV

**Analoghi della Spiroxatrina come potenziali ligandi  
del Recettore NOP: Progettazione, Sintesi,  
Caratterizzazione e Valutazione Biologica**

Candidato: **Dott.ssa Sandra Corrado**

Direttore e Coordinatore della  
Scuola di Dottorato:  
**Prof.ssa Annalisa Tait**

Relatore:  
**Prof.ssa Annalisa Tait**

Anni 2010-2012

# INDICE

## 1. INTRODUZIONE

<b>1.1</b>	<b>Il Sistema N/OFQ-NOP: un potenziale target nella terapia del dolore</b>	<b>1</b>
1.1.1	Il recettore NOP	6
1.1.2	Il neuropeptide Nocicettina	8
1.1.3	Effetti farmacologici della Nocicettina	13
1.1.4	N/OFQ-NOP nella modulazione del dolore	17
<b>1.2</b>	<b>Ligandi per il recettore NOP</b>	<b>20</b>

## 2. SCOPO DELLE RICERCHE 32

## 3. RISULTATI E DISCUSSIONE

<b>3.1</b>	<b>Chimica</b>	<b>37</b>
<b>3.2</b>	<b>Schemi di reazione</b>	<b>74</b>
<b>3.3</b>	<b>Valutazione Farmacologica</b>	<b>89</b>
<b>3.4</b>	<b>Studi Relazione Struttura-Attività</b>	<b>101</b>

## 4. CONCLUSIONI 110

## 5. PARTE SPERIMENTALE

<b>5.1</b>	<b>Materiali e Metodi</b>	<b>111</b>
<b>5.2</b>	<b>Sintesi</b>	<b>113</b>
<b>5.3</b>	<b>Farmacologia</b>	<b>248</b>
<b>5.4</b>	<b>Allegato Parte Sperimentale: Spettri <math>^1\text{H}</math>-<math>^1\text{H}</math> NOESY</b>	<b>250</b>

## 6. BIBLIOGRAFIA 254

# 1. INTRODUZIONE

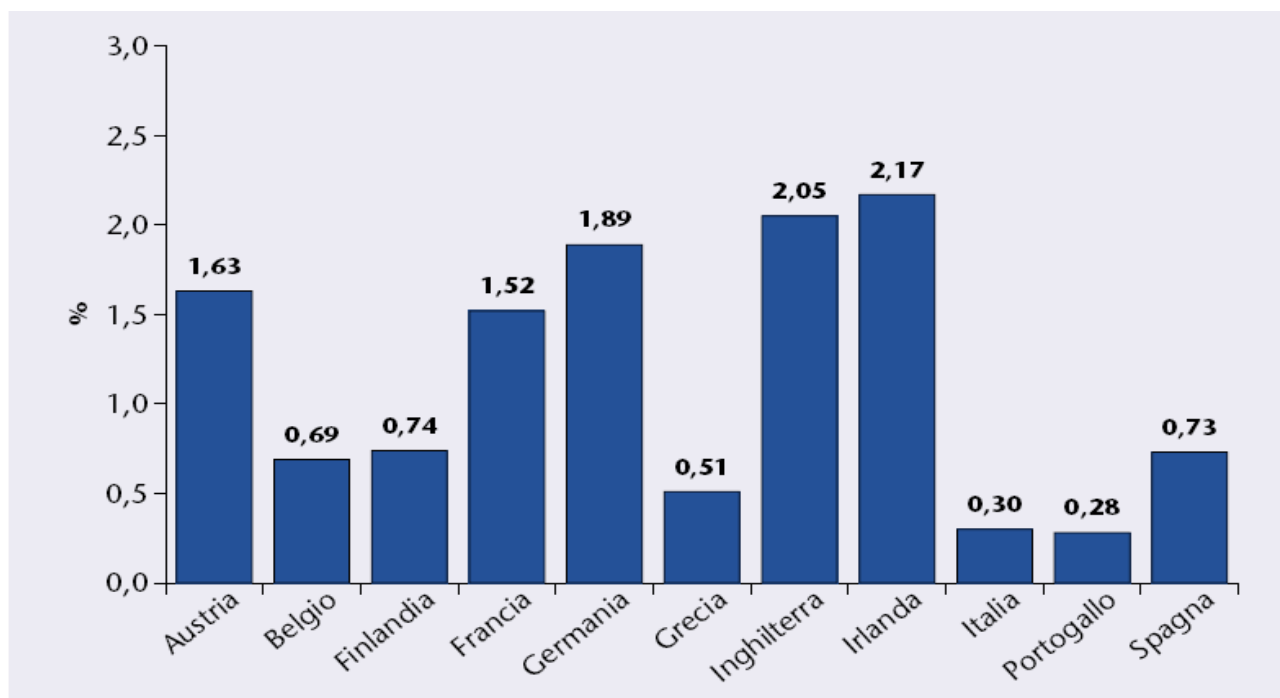
## 1.1 Il Sistema N/OFQ-NOP: un potenziale target nella terapia del dolore

Il dolore è il sintomo più frequente per cui i pazienti chiedono attenzione medica. Sono innumerevoli le patologie e le condizioni cliniche che possono provocare sindromi dolorose croniche e sono altrettanto numerose le persone che ne affette: si stima circa il 20% della popolazione a livello italiano ed europeo, con conseguenti costi sociali elevatissimi. Un'analisi dei dati nazionali delle vendite di farmaci per il periodo 2000-2010, recentemente pubblicata da Chinellato et al.<sup>1</sup>, ha messo in evidenza che negli ultimi 10 anni il consumo di oppioidi analgesici in Italia è aumentato di 24 volte: da 10,0 DDD/100.000 abitanti/day a 238,9 DDD/100.000 abitanti/day\*. Le confezioni di oppiacei (con esclusione della codeina) vendute in Italia sono passate da 2.444.243 nel primo semestre del 2008 a 4.740.368 nel primo semestre del 2011<sup>2</sup>. Secondo gli autori dello studio, tra i cambiamenti legislativi che hanno contribuito a questa crescita, ha avuto un effetto marcato la **Legge n. 38 15 marzo 2010**, che ha abolito il ricettario speciale per la prescrizione dei farmaci oppioidi. Tuttavia al top dei consumi, con 9.10 euro di consumo pro-capite, rimangono i farmaci analgesici non-oppioidi, contro 1.17 euro dei farmaci oppioidi.

Infatti, nonostante i progressi effettuati, l'utilizzo degli oppioidi analgesici in Italia risulta tuttora tra i più bassi in Europa, rappresentando solo lo 0,27% del consumo di farmaci e lo 0,81% del budget farmaceutico del Servizio sanitario nazionale<sup>3</sup>. Ciò indica senza dubbio che nel nostro Paese il dolore acuto e cronico e la sofferenza che ne consegue non sono ancora adeguatamente trattati. Nella **Figura 1** è riportato il rapporto percentuale tra la spesa per i medicinali oppioidi ed il totale della spesa farmaceutica nel 2008 in vari paesi della Comunità europea. L'insieme dei dati porta a concludere che la qualità del controllo del dolore in Italia, nonostante il processo di semplificazione in corso, necessita di ulteriori e importanti miglioramenti.

---

\* **DDD**: è l'unità di misura standard internazionale della prescrizione farmaceutica. Essa rappresenta la dose media giornaliera assunta da un paziente adulto, con riferimento all'indicazione terapeutica principale del farmaco stesso. Normalmente i dati relativi al consumo dei farmaci vengono espressi in numero di DDD per 1000 abitanti al giorno (DDD/1000 abitanti/die) al fine di confrontare i volumi di consumo relativi a popolazioni diverse, ma anche per ottenere una stima approssimativa dell'esposizione ad un determinato farmaco o gruppi di farmaci in una popolazione.



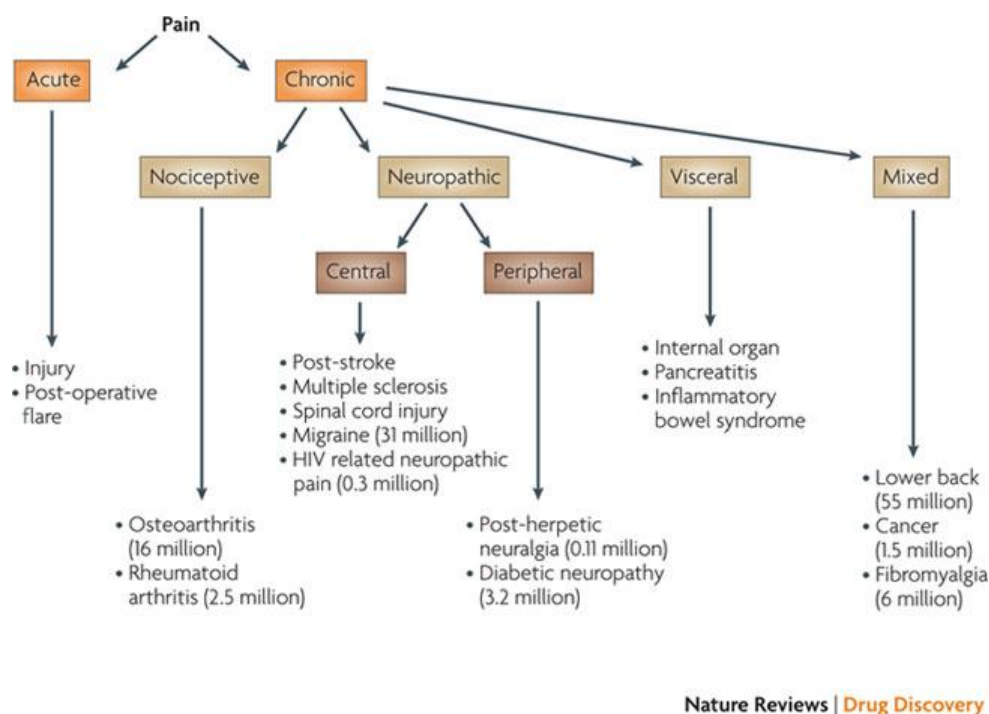
Fonte: elaborazione OsMed su dati IMS.

**Figura 1.** Elaborazione OsMed su dati IMS. % sul totale spesa farmaceutica (2008)

Diversamente, negli Stati Uniti l'abuso di antidolorifici da prescrizione è responsabile di più decessi di eroina e cocaina insieme. A rivelarlo è un rapporto della Brandeis University<sup>4</sup>, che analizza anche i programmi che sono stati avviati per contrastare quella che è diventata una vera e propria epidemia. Solo in un anno, infatti, trentasettemila persone sono morte per overdose da analgesici. Nel decennio compreso tra il 1999 e il 2009 negli Stati Uniti si è passati da circa 20.000 morti a 37.000. Secondo la Società Americana del Dolore, è stato stimato che la prevalenza di dolore cronico negli Stati Uniti è del 33,5 % o 105 milioni di persone. Questo costa più di 100 miliardi di dollari all'anno in spese dirette di cura della salute e perdita di tempo lavorativo<sup>5</sup>.

Distinguere tra i diversi tipi di dolore è importante per un corretto trattamento. Il dolore può essere classificato in base alla sua durata in dolore acuto e cronico. Quest'ultimo può essere ulteriormente distinto in base alla sua origine in: **dolore nocicettivo**, che viene trasmesso dai nocicettori del sito del trauma o del tessuto danneggiato (per esempio, articolazioni infiammate nell'artrite); **dolore neuropatico**, che è originato o causato da una lesione

primaria o da una disfunzione del sistema nervoso centrale e periferico; **dolore viscerale**, che coinvolge gli organi interni; **dolore misto**, che ha una origine mista<sup>5</sup> (**Figura 2**).



**Figura 2.** Classificazione del dolore ed indicazioni rappresentative. E' indicata la prevalenza per alcune condizioni selezionate di dolore cronico negli Stati Uniti. Sorgente: Centri per il controllo delle malattie, Centro Nazionale per le statistiche sulla salute, Fondazione sull'artrite, Istituti Nazionali del diabete e malattie digestive e del rene, Società americana del dolore, Fondazione americana sul dolore.

La gestione attuale del dolore si basa fortemente su agenti conosciuti da molto tempo per la loro attività analgesica, ad esempio

- analgesici periferici:
  - a. non-narcotici (es. paracetamolo);
  - b. farmaci anti-infiammatori non-steroidi o FANS di prima generazione (es. aspirina, ketoprofene, nimesulide..) o i più recenti inibitori selettivi della COX-2 (es. Celecoxib, Rofecoxib, Meloxicam...);
- analgesici narcotici (es. codeina, tramadolo, morfina...);
- agenti termici:
  - a. termoterapia esogena (es. raggi infrarossi, termofori, bagni di luce, impacchi caldi...)

b. termoterapia endogena (es. marconiterapia<sup>†</sup>, radarterapia<sup>‡</sup>...)

Per una corretta pianificazione della terapia antidolorifica, l'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS) ha proposto una classificazione del dolore in tre gradini sulla base della sua intensità e dei farmaci analgesici sulla base della loro potenza antidolorifica (**Figura 3**).



**Figura 3.** Scala analgesica dell'OMS.

L'approccio sequenziale a gradini nella scelta dei farmaci analgesici proposto dall'OMS, prevede il ricorso ai FANS nel caso di dolore lieve, eventualmente introducendo gli adiuvanti se indicati, l'uso di oppiacei deboli, come la codeina, nel caso di dolore da moderato a severo non trattabile con i FANS, anche in questo caso associando degli adiuvanti quando indicati ed infine il ricorso agli analgesici oppiacei forti, come la morfina, quando il dolore sia severo e resistente ai precedenti trattamenti previsti nella scala analgesica dell'OMS.

Tuttavia, mentre il dolore acuto, in particolare il dolore post-traumatico e post-chirurgico, nella maggior parte dei casi può essere adeguatamente trattato con i farmaci analgesici disponibili, il dolore cronico infiammatorio e neuropatico risulta spesso resistente al trattamento. Inoltre, gli stati di dolore cronico sono frequentemente accompagnati da un aumento della sensibilità dolorosa, che può manifestarsi come iperalgesia (aumentata

<sup>†</sup> **Marconiterpia:** procedimento terapeutico che consiste nel sottoporre parti di un organismo umano all'azione di onde radio (frequenza di 27 MHz e lunghezza d'onda di 11 m). Il paziente non viene messo a contatto con gli elettrodi del generatore di corrente, ma solo disposto in modo da intercettare le linee di forza del campo elettrico che, attraversandolo, generano calore. Trova impiego in particolare nel trattamento delle patologie articolari (artrosi, artrite reumatoide...) o nei postumi di distorsioni, lussazioni e fratture.

<sup>‡</sup> **Radarterapia:** procedimento terapeutico che sfrutta le microonde (frequenza di 2450 MHz e lunghezza d'onda di 12 cm) per ottenere un effetto antidolorifico. Tali onde sviluppano nei tessuti trattati un calore che si trasmette in profondità, oltre che vasodilatazione e rilasciamento muscolare. Indicata nel trattamento di artrosi, tendiniti, contratture muscolari...

sensibilità agli stimoli nocivi) o come allodinia (percezione dolorosa suscitata da uno stimolo usualmente innocuo)<sup>6</sup>.

Nonostante gli attuali farmaci analgesici aiutino molti, è stimato che solo un paziente su quattro ottiene un sollievo adeguato dal dolore. Inoltre, dal 2004, la preoccupazione sulla sicurezza cardiovascolare della classe di farmaci COX-2 ha portato ad un continuo declino nelle vendite a favore di FANS e oppioidi<sup>5</sup>. In particolare, i farmaci analgesici oppiacei, o narcotici, rappresentano fino ad oggi lo strumento più potente nella terapia del dolore. Dal punto di vista terminologico, la parola oppiaceo si riferisce a tutte le sostanze naturali contenute nell'oppio e a quelle di sintesi correlate chimicamente alla morfina, capostipite degli analgesici narcotici. Infatti, intorno agli anni '80 si fece la distinzione tra *oppiacei*, ovvero i farmaci esogeni, ed *oppioidi*, cioè le sostanze endogene che rappresentano i naturali ligandi dei recettori oppioidi  $\mu$  (mu),  $\kappa$  (kappa) e  $\delta$  (delta) fisiologicamente presenti a livello centrale e periferico.

Gli oppiacei esplicano la loro azione terapeutica mimando i peptidi oppioidi endogeni. Accanto alla più nota funzione a carico della sensibilità nocicettiva, questo sistema è anche coinvolto nella regolazione di funzioni gastrointestinali, endocrine ed autonome, nei meccanismi di gratificazione, dipendenza, nonché nei processi di memoria ed apprendimento. Anche per quel che concerne gli effetti degli oppiacei, benché siano usati in clinica principalmente per le loro proprietà analgesiche, essi producono una grande varietà di altri effetti, dovuti principalmente alla ampia distribuzione dei peptidi oppioidi e dei loro recettori nel cervello e in periferia.

Gli effetti collaterali più comuni sono: depressione respiratoria, vasodilatazione periferica quindi ipotensione ortostatica e svenimento, ritardo della digestione, nausea, vomito, costipazione, vertigini, confusione mentale, sonnolenza, disforia, tolleranza e dipendenza<sup>7</sup>.

Tutto ciò sta incoraggiando l'individuazione di nuovi target terapeutici per lo sviluppo di agenti analgesici alternativi, con un miglior profilo terapeutico in termini di efficacia e sicurezza.

Negli ultimi anni la ricerca scientifica nel campo delle neuroscienze ha fatto importanti passi in avanti grazie alla scoperta di un nuovo sistema oppioide endogeno coinvolto nella modulazione del processo nocicettivo che ha aperto la strada alla messa a punto di nuove molecole possibilmente dotate di minor potenziale di abuso per il controllo farmacologico del

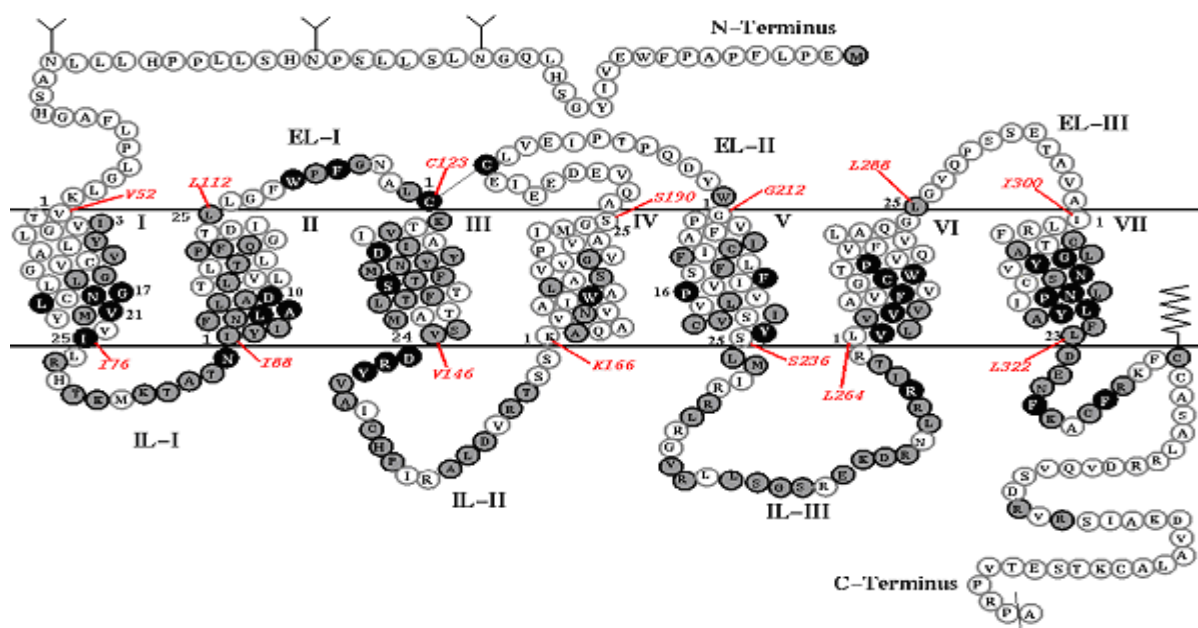
dolore. Accanto ai tre tipi recettori oppioidi classici  $\mu$ ,  $\delta$  e  $\kappa$  un nuovo recettore appartenente alla famiglia degli oppioidi è stato scoperto nel 1994: il **recettore NOP**.

### 1.1.1 Il recettore NOP

Dopo la clonazione del cDNA dei tipi MOP ( $\mu$ ), DOP ( $\delta$ ) e KOP ( $\kappa$ ), avvenuta tra il 1992 e il 1993<sup>7-10</sup>, differenti gruppi di ricerca, impiegando tecniche di biologia molecolare, hanno individuato una quarta sequenza di cDNA codificante per un recettore prima sconosciuto<sup>11-15</sup>.

Esso era caratterizzato da una sequenza di circa 370 amminoacidi la cui struttura primaria mostrava le caratteristiche tipiche dei recettori a 7 domini transmembrana accoppiati a proteina G. Inoltre, questo recettore, i cui geni sono stati identificati nel topo, nell'uomo<sup>11</sup> e nel ratto<sup>15</sup>, presentava un grado di omologia strutturale superiore al 60% con gli altri recettori oppioidi (80% a livello del II, III e VII dominio transmembrana), mentre risulta molto inferiore nella porzione N-terminale, nonché nella II e nella III ansa extracellulare (**Figura 4**)<sup>16</sup>. Questo recettore fu dapprima collettivamente indicato recettore di tipo oppioide **ORL-1** (opioid receptor like-1)<sup>17</sup>. In seguito, un tentativo di riorganizzazione della nomenclatura dei recettori con struttura "oppioida" lo ha designato con il nome di **OP<sub>4</sub>** (per indicare che esso è il quarto membro della famiglia dei recettori oppioidi) ed infine si è raggiunto un generale consenso con la denominazione di **recettore NOP** (**N**ociceptin **O**pioid **P**eptide).

Conseguentemente, questa denominazione indicata dagli appositi comitati della IUPHAR<sup>18</sup>, aggiornata e correntemente accettata dalla comunità scientifica, verrà utilizzata in questa sede per indicare il recettore in oggetto.



**Figura 4.** Struttura del recettore NOP e con in grassetto gli amminoacidi conservati rispetto ai recettori oppioidi classici.

Benché esistano differenze di sequenza tra le varie forme di recettore NOP isolato in differenti specie, permane un'omologia superiore al 90%.

Nonostante l'elevato grado di omologia strutturale, soprattutto con il recettore oppioide  $\kappa$ , i tipici ligandi peptidici e non-peptidici dei recettori oppioidi "classici" non legano il recettore NOP, ad eccezione della buprenorfina, la quale, oltre ad essere un agonista parziale- $\mu$ , lega anche il recettore NOP.

Tuttavia, ancor prima che il ligando naturale del recettore NOP fosse scoperto, i farmacologi rilevarono un'interessante omologia funzionale con i classici recettori per gli oppioidi: il recettore NOP, stabilmente transfettato in cellule CHO (Chinese Hamster Ovary), può essere attivato dal potente agonista oppioide non-selettivo etorfina con concentrazioni tre ordini di grandezza superiori a quelle necessarie per l'interazione con i recettori oppioidi<sup>11,15</sup>. Inoltre, può essere bloccato dall'antagonista oppioide diprenorfina, anche a concentrazioni micromolari, mentre il naloxone, un antagonista oppioide non-selettivo esogeno, mostra un'affinità molto bassa verso il recettore NOP<sup>11</sup>.

Questi dati hanno permesso di determinare che il recettore NOP è un recettore accoppiato a proteina G, (in particolare la  $G_{i/o}$ ) di tipo inibitorio nei confronti dell'enzima adenilato-ciclastasi e che gli oppioidi endogeni non rappresentano i ligandi fisiologici per questo recettore. Nonostante questo però l'attivazione dei recettori oppioidi e del recettore NOP determina degli effetti analoghi:

- inibizione della sintesi di AMP ciclico (cAMP)<sup>19, 20</sup>;
- chiusura dei canali del Ca<sup>2+</sup> voltaggio dipendenti<sup>21</sup>;
- apertura dei canali del tipo “inward rectifier” per il K<sup>+</sup><sup>22</sup>;

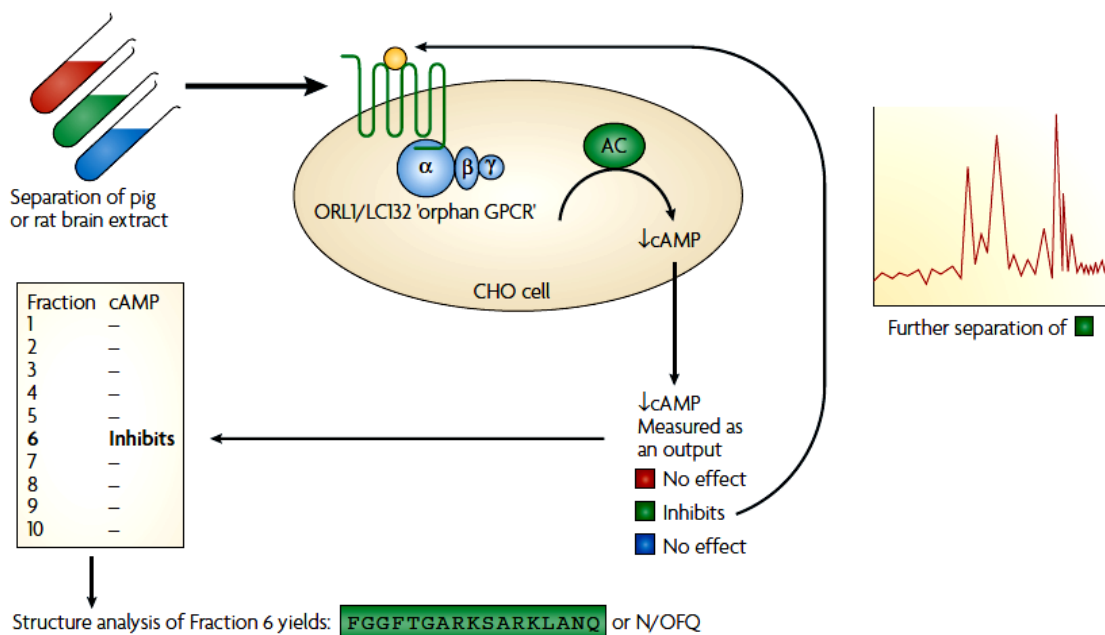
Il recettore NOP non è rimasto “orfano” a lungo dal momento che solo un anno dopo la sua identificazione, verso la fine del 1995, due gruppi di ricerca, uno francese<sup>19</sup> e l'altro svizzero<sup>20</sup>, hanno isolato simultaneamente da estratti di cervello il suo ligando endogeno, chiamandolo rispettivamente **Nocicettina** (N), che stava ad indicare l'effetto di iperalgesia determinato in seguito a somministrazione intracerebroventricolare (icv) nei topi, e **Orfanina-FQ** (OFQ), facendo riferimento al recettore orfano di cui il neuropeptide costituisce l'agonista endogeno e agli aminoacidi N- e C-terminali, costituiti da fenilalanina e glutammina (rispettivamente F e Q nel codice a singola lettera per gli aminoacidi). Pertanto, oggi questo ligando è collettivamente conosciuto come Nocicettina/Orfanina FQ (**N-OFQ**).

### 1.1.2 Il neuropeptide Nocicettina

La nocicettina, ligando endogeno del recettore NOP, fu isolata per la prima volta nel 1995 da due diversi gruppi di ricerca<sup>19,20</sup> utilizzando per la prima volta un approccio di *farmacologia inversa*.

Meunier e collaboratori<sup>19</sup> hanno impiegato purificazioni cromatografiche successive di un estratto acido di cervello di ratto, mentre Reinscheid<sup>20</sup> e collaboratori hanno utilizzato ipotalamo suino come materiale di partenza. Per rivelare la presenza di materiale biologico attivo nelle diverse frazioni cromatografiche, entrambi i gruppi hanno utilizzato la stessa strategia, consistente nel dosaggio biologico dell'inibizione dell'accumulo di cAMP in cellule CHO (Chinese Hamster Ovary) che esprimevano il “recettore orfano”. Basandosi sull'omologia strutturale del recettore NOP con i recettori oppioidi conosciuti, i ricercatori hanno supposto che anche la natura chimica del ligando endogeno e di conseguenza il meccanismo di attivazione del recettore, dovevano essere simili a quelli dei recettori oppioidi classici. Le cellule CHO sono state stimulate con forskolina per attivare l'adenilato-ciclastasi ed aumentare la concentrazione intracellulare di cAMP. Dal momento che il recettore NOP è un recettore accoppiato a proteina G<sub>i/o</sub>, la sua attivazione da parte dell'agonista endogeno determinerà l'inibizione della formazione di AMPc.

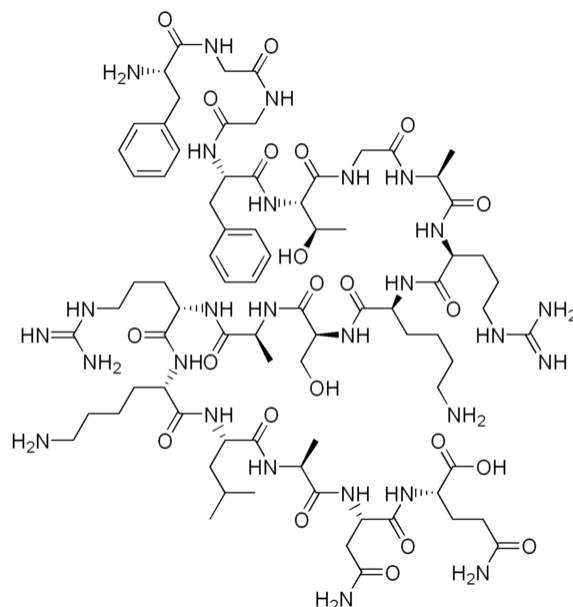
Il materiale biologico di partenza (estratto di cervello di ratto o di suino) è stato “sommministrato” alle cellule in esame, seguito da un certo numero di frazionamenti mirati al dosaggio dell’AMPC. Ciascuna frazione è stata sottoposta ad una separazione cromatografica e questo sistema ha portato all’isolamento dell’agonista endogeno puro, un eptadecapeptide (**Figura 7**) che manifesta alcune analogie con certi peptidi oppioidi già noti, in particolare la *dinorfina A* (**Figura 6**). In contemporanea sono stati condotti esperimenti di controllo con cellule non esprimenti il recettore ricombinante. Il procedimento descritto è illustrato nella **Figura 5**.



**Figura 5.** Identificazione della N/OFQ mediante farmacologia inversa.

Nocicettina	<b>Phe-Gly-Gly-Phe</b> -Thr-Gly-Ala-Arg- <b>Lys-Ser</b> -Ala-Arg- <b>Lys</b> -Leu-Ala- <b>Asn-Gln</b>
Dinorfina A	<b>Tyr-Gly-Gly-Phe</b> -Leu-Arg-Arg-Ile-Arg-Pro-Lys-Leu- <b>Lys</b> -Trp-Asp- <b>Asn-Gln</b>
γ-Endorfina	<b>Tyr-Gly-Gly-Phe</b> -Met-Thr-Ser-Glu- <b>Lys-Ser</b> -Gln-Thr-Pro-Leu-Val-Thr-Leu
Met-enkefalina	<b>Tyr-Gly-Gly-Phe</b> -Met

**Figura 6.** Sequenza aminoacidica della Nocicettina confrontata con quella di alcuni peptidi oppioidi. Le omologie di sequenza e posizione sono evidenziate dai colori.



**Figura 7.** Struttura chimica della Nocicettina.

Al di là delle analogie di struttura con alcuni peptidi oppioidi<sup>19,20</sup>, una caratteristica importante della nocicettina è l'assenza dell'aminoacido tirosina in posizione 1 (presente in tutti i peptidi oppioidi), sostituito dalla fenilalanina. Questa differenza determina una scarsa affinità per i recettori  $\mu$ ,  $\delta$  e  $\kappa$ .

A seguito dell'isolamento del gene che codifica per la nocicettina<sup>19</sup> è stato possibile dedurre la sequenza del polipeptide precursore da cui la nocicettina stessa deriva: poco prima della nocicettina stessa è presente una sequenza peptidica di 35 aminoacidi definita *nocistatina* (**Figura 8**), un peptide non ancora completamente caratterizzato dal punto di vista farmacologico, ma che pare svolgere un'azione da antagonista funzionale della nocicettina. A valle della nocicettina si ritrovano altre due sequenze: 1) una sequenza di 17 aminoacidi avente anch'essa la fenilalanina e la glutammina rispettivamente in posizione ammino- e carbossi- terminale, denominata orfanina FQ2, che manca di affinità per il recettore NOP e pare avere un ruolo nella nocicezione<sup>20</sup>; 2) una sequenza 8 aminoacidi nota come CT.



**Figura 8.** Sequenza schematica del precursore della nocicettina **prepronocicettina/orfaninaFQ (ppN/OFQ)**

Tutti i peptidi oppioidi classici possono considerarsi appartenenti a tre famiglie: le *enkefaline*, le *endorfine* e le *dinorfine*. Ciascuna famiglia deriva da un distinto precursore (la pro-enkefalina, la pro-opiomelanocortina e la pro-dinorfina)<sup>7</sup>.

Sulla base degli studi di relazioni struttura-attività condotti su queste famiglie di ligandi oppioidi endogeni e sulla nocicettina, anche per quest'ultima è stato dimostrato che la sequenza amminoacidica può essere divisa in un tetrapeptide “messaggio” N-terminale (Phe-Gly-Gly-Phe) cruciale per l'attivazione del recettore e di una sequenza “indirizzo” C-terminale di 13 amminoacidi (Thr-Gly-Ala-Arg-Lys-Ser-Ala-Arg-Lys-Leu-Ala-Asn-Gln) importante per il legame con il recettore<sup>23</sup>.

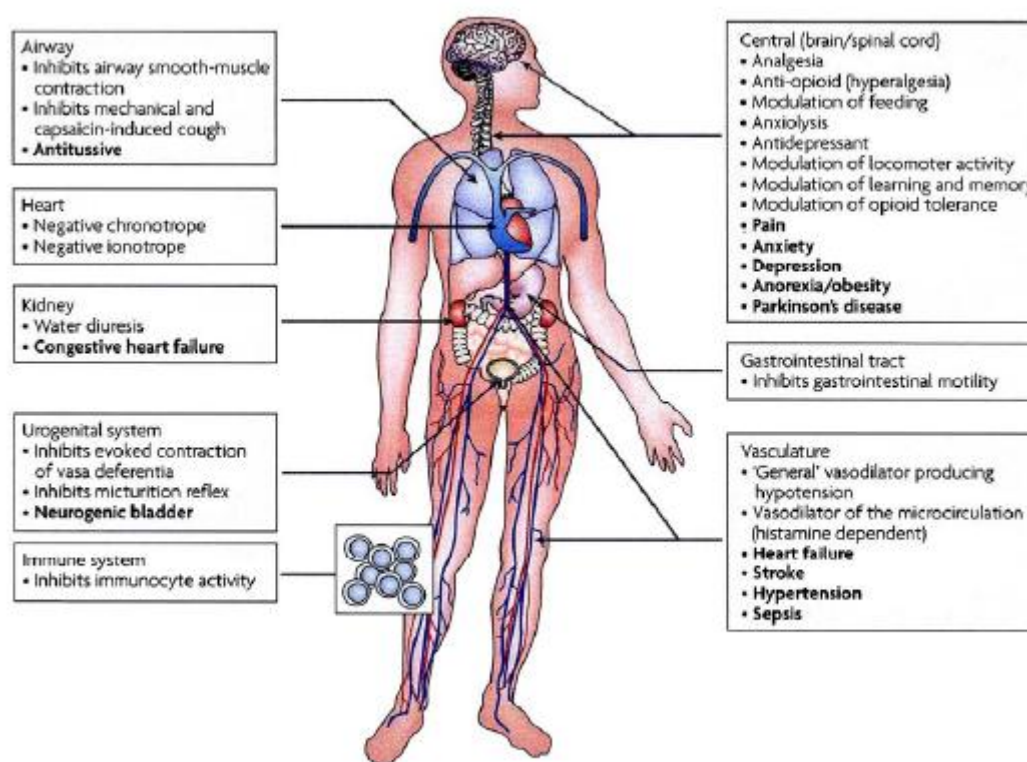
Inoltre, studi di troncamento C-terminale sulla N/OFQ hanno dimostrato che N/OFQ(1-13)NH<sub>2</sub> mantiene la piena capacità di legarsi con il recettore ed è la più corta sequenza che conserva la stessa attività biologica del peptide naturale, mentre l'affinità cala drasticamente con i frammenti N/OFQ(1-11) e (1-7)<sup>24,25</sup>. Risultati simili sono stati ottenuti *in vitro* per quanto riguarda l'attività biologica di tali frammenti<sup>26</sup>. Inaspettatamente, anche la N/OFQ(6-17) e (12-17) mostrano un'elevata affinità per il recettore NOP<sup>27</sup>. Questo complesso di osservazioni indica che la parte strutturale significativa della nocicettina è rappresentata dalla sua porzione interna altamente basica contenente la doppia coppia di amminoacidi basici (Ala<sup>8</sup>-Arg<sup>9</sup> e Arg<sup>12</sup>-Lys<sup>13</sup>), che è considerata cruciale per l'interazione con il residuo negativo presente nel II loop extracellulare del recettore NOP<sup>28</sup>; questo è valido sia in termini di riconoscimento che di attivazione del suo recettore.

Infatti, altri studi condotti sostituendo la Phe<sup>1</sup> della N/OFQ con la Tyr (come negli oppioidi classici), hanno rilevato che la [Tyr<sup>1</sup>]N/OFQ-NH<sub>2</sub> e la [Tyr<sup>1</sup>]N/OFQ(1-13)-NH<sub>2</sub> si comportano come agonisti misti sia per il recettore NOP che per i recettori oppioidi, mentre la [Tyr<sup>1</sup>]N/OFQ(1-9)-NH<sub>2</sub> e la [Tyr<sup>1</sup>]N/OFQ(1-5)-NH<sub>2</sub> legano solo i recettori oppioidi classici. Questo suggerisce che (5-13) è la sequenza “indirizzo” necessaria per il legame con il recettore NOP ma non con gli altri recettori oppioidi<sup>28</sup>.

Per quanto riguarda la distribuzione della nocicettina e del suo recettore, studi di biologia molecolare ne hanno rivelato la presenza sia in tutte le regioni del S.N.C. (cervello e midollo spinale), sia in alcuni tessuti periferici.

All'interno del S.N.C. il recettore NOP è stato individuato nell'ipotalamo, nell'amigdala, nella corteccia piriforme, nel rafe dorsale e nel nucleus coeruleus. Esso è presente anche nella corteccia, nel lateral septum, nel talamo, nell'ippocampo, nella sostanza grigia periacqueduttale e nel midollo spinale<sup>12, 13</sup>. Per quanto concerne i tessuti periferici, il recettore

NOP è stato individuato nell'intestino, nel fegato, nella milza, nel sistema cardiovascolare, respiratorio, urogenitale e immunitario<sup>14, 19</sup> (**Figura 9**). A livello del S.N.C. la distribuzione della nocicettina sembra più limitata rispetto a quella del suo recettore. La nocicettina è presente tra l'altro nell'area preottica, nel setto, nell'amigdala e nell'eminenza mediana. Invece bassi livelli del peptide sembrano presenti in numerose aree in cui il recettore, al contrario, risulta altamente espresso, come ad esempio nella corteccia, nel nucleo soprachiasmaottico, nel nucleo sopraottico, nei nuclei paraventricolare e ventromediale dell'ipotalamo e nel rafe dorsale<sup>29</sup>. Infine, livelli elevati della nocicettina sono stati riscontrati negli strati superficiali delle corna dorsali del midollo spinale, nel complesso trigeminale ed in altre aree coinvolte nella trasmissione del dolore, tra cui la sostanza grigia periacqueduttale<sup>30,31</sup>.



**Figura 9.** Effetti pleotropici relativi all'attivazione del recettore NOP negli apparati principali. In grassetto sono indicate le potenziali applicazioni terapeutiche.

L'elevata distribuzione del sistema N/OFQ-NOP suggerisce il suo potenziale coinvolgimento in molti processi centrali, in particolare modulazione del dolore, apprendimento, attenzione, memoria, stress, ansia, locomozione, assunzione di cibo, meccanismi di ricompensa/dipendenza, immunità, attività urogenitali, cardiovascolari e respiratorie etc<sup>32,33</sup>.

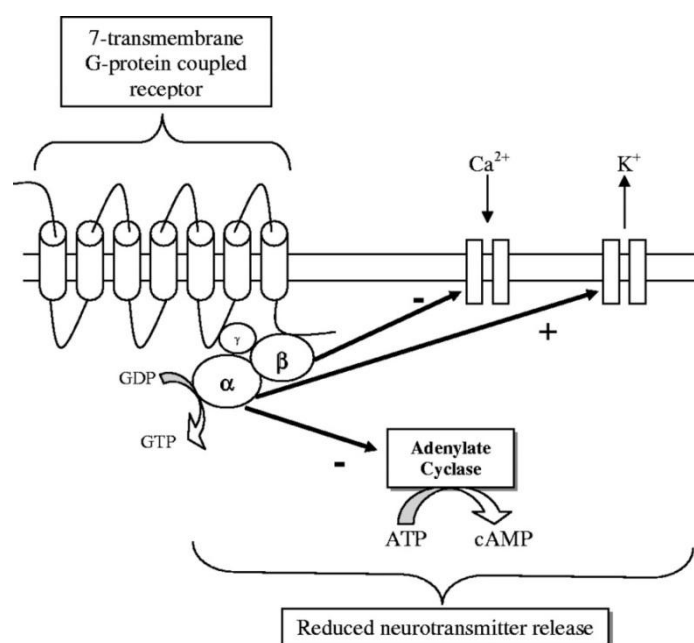
In particolare, gli effetti del recettore NOP nei tessuti periferici sono simili a quelli dei recettori oppioidi classici.

Nel S.N.C. invece, la distribuzione del recettore NOP appare simile a quella degli altri recettori oppioidi in alcuni circuiti neuronali e differente in altri. Queste somiglianze/differenze anatomiche suggeriscono che il recettore NOP nel S.N.C. medi effetti simili, diversi e anche opposti rispetto agli oppioidi classici<sup>33</sup>.

### 1.1.3 Effetti farmacologici della Nocicettina

Le risposte evocate dalla nocicettina a livello cellulare sono simili a quelle ottenute da altri agonisti di recettori accoppiati alle proteine Gi/Go (GPCR) a 7 domini transmembrana.

In cellule transfettate, la nocicettina inibisce marcatamente l'enzima adenilato ciclasi<sup>19,20</sup> stimolato con forskolina e la corrente del  $Ca^{2+}$ <sup>34</sup> voltaggio dipendente, mentre determina l'apertura del canale del  $K^+$  del tipo "inward rectifier"<sup>35</sup> (**Figura 10**). La modulazione della conduttività ionica è presumibilmente associata all'inibizione dell'eccitabilità neuronale e al rilascio di trasmettitori presinaptici.



**Figura 10.** Meccanismo di trasduzione del segnale da parte dei recettori GPCR.

Il coinvolgimento del sistema N/OFQ-NOP in numerose funzioni nervose centrali e periferiche è stato fino ad oggi studiato (a) con oligonucleotidi antisenso che bloccano il

recettore NOP o i geni prepronocicettina, (b) con anticorpi diretti contro la nocicettina o (c) con topi in cui il recettore NOP o i geni precursori del peptide sono stati geneticamente eliminati<sup>33</sup>.

Alcuni dei principali ruoli del sistema in esame nei networks neuronali sono riassunti di seguito.

A livello del SNC è stato osservato che la nocicettina inibisce, con meccanismi ancora da chiarire, sia la liberazione di glutammato che di GABA dai terminali nervosi a livello della colonna spinale<sup>36,37,46</sup>.

Relativamente al sistema nervoso simpatico, questo neuropeptide è in grado di deprimere la trasmissione neuromuscolare a livello del vaso deferente di topo<sup>26,38</sup>, ratto e coniglio<sup>39</sup>.

In questo ambito, alcuni test eseguiti su tratti isolati di arterie renali, mesenteriche, femorali di gatto dove era stata indotta una pre-contrazione con fenilefrina hanno evidenziato l'attività rilassante della nocicettina sul muscolo liscio. A livello periferico il ligando endogeno influenza le funzioni cardiovascolari: quando somministrata intravena nel ratto (iv), il peptide riduce la pressione arteriosa, il ritmo e il flusso cardiaci, le resistenze sistemiche vascolari<sup>40,43</sup>; questi effetti sono simili a quelli prodotti dagli oppiacei classici e più specificatamente a quelli della morfina utilizzata in clinica.

Analoghi effetti a livello centrale sono stati osservati a seguito di somministrazione intracerebroventricolare (icv) del peptide; tale osservazione (simili effetti sia in seguito a somministrazione periferica che centrale) ha sollevato la possibilità che la nocicettina possieda la capacità di attraversare la barriera ematoencefalica<sup>40</sup>.

In relazione al sistema parasimpatico, alcuni risultati indicano che la nocicettina è in grado di bloccare la liberazione di acetilcolina causata dalla stimolazione luminosa nella retina di coniglio<sup>41</sup> ed inibisce parzialmente la liberazione di acetilcolina da terminazioni nervose anche a livello della trachea<sup>42</sup>.

L'inibizione della broncocostrizione tachichinergica da parte della N/OFQ<sup>49</sup> indica per gli agonisti NOP un possibile ruolo nella cura di tosse e asma<sup>50</sup>.

N/OFQ agisce anche sul tratto urogenitale: la somministrazione iv continua (20µg/kg/min) nel ratto cosciente aumenta in modo marcato il flusso urinario evidenziando allo stesso tempo un effetto antinatriuretico, favorendo la formazione di urina povera di Na<sup>+</sup><sup>44</sup>. La Nocicettina potrebbe perciò essere utilizzata come diuretico in grado di produrre una diuresi di "acqua libera" per il controllo della ritenzione di liquidi nei pazienti. Essa sopprime il riflesso della

minzione indipendentemente dalla depressione delle funzioni cardiovascolari e coinvolge, almeno in parte, l'inibizione di neurotrasmettitori eccitatori da parte dei nervi post-gangliari.

Gli effetti evocati da questo neuropeptide sull'attività locomotoria, risultano ancora controversi. In particolare si è osservato che basse dosi (10-100 ng) di N/OFQ somministrate icv stimolano l'attività locomotoria<sup>45</sup>, mentre dosi superiori (>1µg) riducono tale attività causando atassia, perdita della coordinazione, dell'equilibrio e del tono muscolare<sup>46</sup>. Nessun effetto motorio si osserva in seguito a somministrazione intratecale; il suo effetto sulla locomozione è esercitato solo a livello cerebrale.

La nocicettina inoltre induce stimolazione del comportamento esplorativo<sup>20</sup>, effetti associati ad una nota proprietà ansiolitiche e anti-stress del peptide<sup>47</sup>: se somministrata ai roditori, i topi knockout per la Nocicettina (cioè non grado di sintetizzare il peptide endogeno) manifestano una maggiore ansia quando posti in un ambiente nuovo o minaccioso.

Per quanto riguarda gli effetti sul tono dell'umore, studi ottenuti combinando approcci farmacologici e genetici hanno indicato che il blocco della segnalazione del sistema N/OFQ-recettore NOP produce effetti antidepressivi a livello cerebrale in differenti specie animali e in diversi modelli sperimentali suggerendo che il recettore NOP come bersaglio molecolare candidato allo sviluppo di farmaci antidepressivi innovativi<sup>51</sup>.

L'inibizione del rilascio di diversi neurotrasmettitori, tra cui serotonina<sup>52</sup>, dopamina<sup>53,54</sup>, Met-enkefalina etc suggeriscono un coinvolgimento di questo sistema nell'inibizione delle vie di ricompensa nella tossicodipendenza. Inoltre, è stata dimostrata la presenza di alti livelli di mRNA per il recettore NOP nel nucleo accumbens, dove N/OFQ inibisce il rilascio di dopamina nel ratto, in risposta alla morfina somministrata per via intravenosa. Ciò indica una potenziale utilità degli agonisti NOP come ansiolitici e nel trattamento da abuso di droghe/oppiacei<sup>55,56</sup>. Infatti è noto da tempo che il nucleus accumbens è implicato in numerose funzioni che includono il rinforzo, la gratificazione da farmaco e il comportamento locomotore<sup>57</sup>.

La nocicettina si è dimostrata capace di modificare in senso inibitorio le vie di gratificazione indotte da altre sostanze, quali alcool e morfina<sup>55</sup>. E' stato recentemente osservato che l'uso cronico di alte dosi di morfina accelera la liberazione e la biosintesi di nocicettina nel cervello di ratto per antagonizzare l'effetto degli oppioidi. Questo effetto sembra che possa giocare un ruolo nello sviluppo della tolleranza alla morfina. E' stato inoltre suggerito che la nocicettina possa servire come controllo a feed-back negativo ritardato sull'analgesia oppioide<sup>58,59</sup>.

Un comportamento di rinforzo influenzato dal nucleus accumbens e dall'ipotalamo è quello della nutrizione. E' stato dimostrato un chiaro aumento nell'effetto centrale gratificante delle sostanze d'abuso negli animali sottoposti a restrizione di cibo<sup>60</sup>. Più recentemente è stato dimostrato che somministrazioni di nocicettina nel nucleo ipotalamico ventromediale o nel nucleus accumbens, stimolano l'assunzione di cibo e aumentano l'appetito sia nei topi saziati che non saziati: ciò suggerisce per gli antagonisti del recettore NOP un possibile utilizzo come nootropici e anoressizzanti<sup>48,61</sup>.

La Nocicettina inoltre modula la secrezione ormonale lungo l'asse ipotalamo-ipofisaria, inibisce l'ormone di rilascio delle gonadotropine (*Gonadotropin Releasing Hormone-GnRH*), le  $\beta$ -endorfine e i neuroni dopaminergici<sub>A12</sub>. L'inibizione dell'ormone GnRH determina un calo nella secrezione di LH e FSH a livello dell'ipofisi anteriore con conseguente effetto sul ciclo riproduttivo, mentre l'inibizione dei neuroni dopaminergici<sub>A12</sub> incrementa la secrezione di prolattina.

E' stato osservato che la nocicettina è in grado di diminuire la liberazione di tachichinine, come la sostanza P<sup>62</sup>, a livello del terminale periferico di neuroni afferenti primari con un'azione non modificata dal naloxone<sup>63</sup>. Questi risultati, oltre ad indicare che la nocicettina può essere efficace nel sopprimere i fenomeni infiammatori neurogeni (che comportano cioè liberazione di tachichinine), suggerisce anche che la stessa azione di inibizione di neurotrasmettitori possa verificarsi anche a livello delle terminazioni centrali delle medesime fibre afferenti primarie, vale a dire nel midollo spinale.

Sin dalla sua scoperta, molti studi sono stati focalizzati sul coinvolgimento del sistema nocicettina-recettore NOP nella modulazione del dolore nei compartimenti spinali, sopraspinali e periferici. Infatti, le numerose caratteristiche che accomunano questo sistema con gli oppioidi classici, tra cui l'omologia strutturale, la co-localizzazione di questi due sistemi in specifiche aree coinvolte nella nocicezione e la stessa via intracellulare di trasduzione del segnale innescata dall'attivazione del recettore, hanno da sempre suggerito il suo intervento nei processi di modulazione del dolore.

Tuttavia, nonostante questo stretto rapporto con gli oppioidi classici e nonostante siano stati fatti molti passi avanti nella comprensione del coinvolgimento di diversi neuropeptidi nel processo nocicettivo, il ruolo della N/OFQ risulta ancora controverso e molto più complesso

rispetto a quello degli altri oppioidi. I dati fino ad oggi disponibili suggeriscono che la N/OFQ può intervenire nel processo nocicettivo ad almeno tre livelli, dove essa modula la nocicezione in direzioni opposte: la corda spinale, i siti sopraspinali e le terminazioni periferiche delle fibre nervose afferenti primarie (nocicettori)<sup>6</sup>. In conformità con un ruolo nella nocicezione, l'espressione della N/OFQ e del suo recettore è particolarmente abbondante in diverse aree coinvolte nella modulazione del dolore, come le corna dorsali del midollo spinale, il nucleo *raphe magnus* e la sostanza grigia periacqueduttale<sup>64</sup>.

### 1.1.4 N/OFQ-NOP nella modulazione del dolore

Il nome **nocicettina** fu attribuito da Meunier e coll. in seguito all'osservazione che questo neuropeptide, somministrato nel topo in concentrazioni nanomolari per via intracerebroventricolare (icv), produceva iperalgesia sia nel test della piastra calda<sup>19</sup>, sia in quello del "tail-flick"<sup>20</sup>.

È stato successivamente dimostrato che l'effetto di iperalgesia è solo apparente, in quanto dovuto al blocco dell'analgesia stress-indotta mediata dagli oppioidi: lo stress provocato dall'iniezione intracerebroventricolare determina il rilascio di neuropeptidi oppioidi endogeni a livello centrale e il loro effetto analgesico è bloccato dalla dose di N/OFQ somministrata<sup>32</sup>.

Infatti, è stata descritta un'attività anti-opioide della nocicettina<sup>65</sup>: se somministrata a livello sopraspinale, essa è in grado di contrastare l'effetto analgesico dei farmaci agonisti oppioidi  $\mu$ ,  $\delta$  e  $\kappa$  che agiscono a questo livello, inclusa la morfina.

La natura pro-nocicettiva, pro-allodinica e iperalgesica della N/OFQ sembra ulteriormente confermata dall'osservazione che, riducendo l'espressione del suo recettore mediante la somministrazione di oligonucleotidi antisenso per il NOP, si ottiene un effetto opposto, vale a dire un innalzamento della soglia nocicettiva<sup>26</sup>.

Tuttavia, con il procedere degli studi effettuati, il quadro generale delle azioni fisiologiche prodotte dalla nocicettina e dal suo recettore a carico della trasmissione del dolore si è rivelato più complesso: i trattamenti con N/OFQ hanno riportato diversi risultati, ovvero iperalgesia, anti-analgesia e ma anche analgesia<sup>6</sup>. Inoltre si è visto che l'effetto finale della N/OFQ è dipendente da diverse variabili, come la via di somministrazione, il tipo di lesione, la dose somministrata, la specie, il sesso e il tipo di metodica sperimentale utilizzata<sup>6,66</sup>.

Infatti, mentre la somministrazione icv della nocicettina blocca l'effetto analgesico degli oppioidi  $\mu$ ,  $\delta$  e  $\kappa$  e produce iperalgesia, la somministrazione intratecale (it) potenzia l'effetto

della morfina ed ha un'azione antinocicettiva di per sé simile a quella degli oppioidi classici, non presente in topi di controllo (knockout) in cui il recettore NOP o i geni precursori del peptide sono stati geneticamente eliminati<sup>67</sup>.

L'azione anti-oppioide della nocicettina sembra essere legata alla presenza nel tronco encefalico (in particolare nella parte rostroventromediale) di due differenti tipi cellulari : le cellule "on" e le cellule "off"<sup>6,32</sup>. Le cellule "on" inibiscono l'azione delle cellule "off" e vengono a loro volta inibite dall'attivazione dei recettori  $\mu$  da parte della morfina. Le cellule "off" proiettano sulle corna dorsali spinali riducendo l'ascesa dell'informazione nocicettiva lungo i neuroni di terzo ordine del tratto spinotalamico. Quando la morfina inibisce le cellule "on", le cellule "off" sono libere di dare l'effetto antinocicettivo. La nocicettina invece inibisce sia le cellule "on" sia le "off" determinando così un aumento della trasmissione nocicettiva. Ovviamente l'inibizione delle cellule "off" andrà a invertire ogni azione degli oppioidi endogeni o esogeni sulle cellule "on", spiegando così quella che viene definita l'azione anti- oppioide della nocicettina.

Il complesso quadro degli effetti della N/OFQ nella trasmissione nocicettiva non può essere spiegato solo esaminando il suo ruolo a livello soprasspinale. Infatti, la porzione superficiale del corno dorsale del midollo spinale, dove terminano i neuroni afferenti primarie amielinici, rappresenta un'importante struttura per la trasmissione degli stimoli dolorosi. Qui è stata dimostrata la presenza di alti livelli di mRNA per la nocicettina e per il suo recettore<sup>6</sup>.

Mentre la somministrazione soprasspinale di N/OFQ determina un effetto iperalgesico, molti studi dimostrano che l'azione esercitata da questo peptide a livello spinale è invece opposta in quanto determina un effetto antinocicettivo in un'ampia gamma di modelli animali (almeno a concentrazioni nm)<sup>6,68,69</sup>. La neurotrasmissione rapida eccitatoria ed inibitoria nel cordone spinale è mediata rispettivamente dagli amminoacidi L-glutammato e glicina, insieme al GABA. E' stato osservato che la nocicettina, come gli oppioidi classici, è in grado di inibire la neurotrasmissione glutammatergica eccitatoria senza interferire con quella della glicina e del GABA<sup>6</sup>. Questa inibizione, non modificata dal naloxone, è assente nei topi knockout: ciò indica che è mediata specificatamente dal recettore NOP.

Alla luce delle conoscenze acquisite, la nocicettina possiede caratteristiche peculiari che la distinguono dagli altri peptidi oppioidi e che oggi fanno ritenere che se dal punto di vista strutturale e filogenetico questo sistema endogeno faccia parte del sistema oppioide, dal punto di vista biologico e fisiologico rappresenta un sistema a sé che addirittura si oppone a quello degli oppioidi<sup>7</sup>.

I differenti effetti associati alla nocicettina suggeriscono la presenza di molteplici e complessi meccanismi di attivazione, pertanto sin dalla sua scoperta, gli scienziati non hanno risparmiato nessuno sforzo nello sviluppo di agonisti e antagonisti puri e selettivi per il recettore NOP: i ligandi endogeni infatti rappresentano un utile strumento per chiarire il ruolo fisiologico e fisiopatologico del sistema N/OFQ-NOP e, in definitiva, anche per identificare dei possibili agenti terapeutici attivi sul recettore NOP.

A tal fine, gli studi in questo settore hanno portato alla scoperta di ligandi a struttura peptidica o non peptidica, capaci di legarsi al recettore NOP

Dal 1998 ad oggi, sono stati depositati più di 200 brevetti relativi a ligandi del recettore NOP solo negli Stati Uniti<sup>66</sup>. Ciononostante, sono pochissimi, ad oggi, i composti in fase di valutazione clinica per la somministrazione nell'uomo.

Visto l'ampia gamma di azioni biologiche modulate dal recettore NOP, la sfida maggiore in questo campo è sviluppare degli ligandi NOP selettivi per una specifica indicazione terapeutica.

Ad esempio, la somministrazione di un antagonista NOP attivo a livello centrale (quindi in grado di passare la barriera ematoencefalica) con finalità antidepressive o analgesiche, potrebbe determinare livelli elevati dell'antagonista a livello periferico. Ciò potrebbe avere conseguenze problematiche in pazienti con insufficienza cardiaca, incontinenza urinaria o iperattività delle vie aeree<sup>32</sup>.

Un'altra sfida è rappresentata dallo sviluppo di molecole altamente selettive per il recettore NOP rispetto agli altri recettori oppioidi, anche se negli ultimi anni c'è un interesse crescente nel design di ligandi NOP non-selettivi, in modo tale da combinare in un unico farmaco l'efficacia analgesica e le proprietà ansiolitiche/antidepressive, senza peraltro lo sviluppo di dipendenza e tolleranza, come accade per gli oppioidi classici<sup>6</sup>. Un altro approccio terapeutico vantaggioso potrebbe essere l'incorporazione di un ligando NOP in una formulazione multi-target con un altro farmaco. Ad esempio, somministrando la morfina in combinazione con un antagonista del recettore NOP, si potrebbe ridurre l'effetto di tolleranza associato all'assunzione di oppiacei<sup>6,66</sup>.

Le aspettative in questo settore della ricerca sono molto alte e le future acquisizioni potranno auspicabilmente aiutare gli operatori sanitari ad utilizzare al meglio gli strumenti terapeutici più idonei nel controllo del dolore.

## 1.2 Ligandi per il recettore NOP

Sulla base del grande potenziale terapeutico del sistema N/OFQ-NOP, molte compagnie farmaceutiche e gruppi di ricerca accademici negli ultimi anni hanno rivolto il loro interesse nello sviluppo di potenziali agenti clinici per vari stati patologici, aventi come target il recettore NOP.

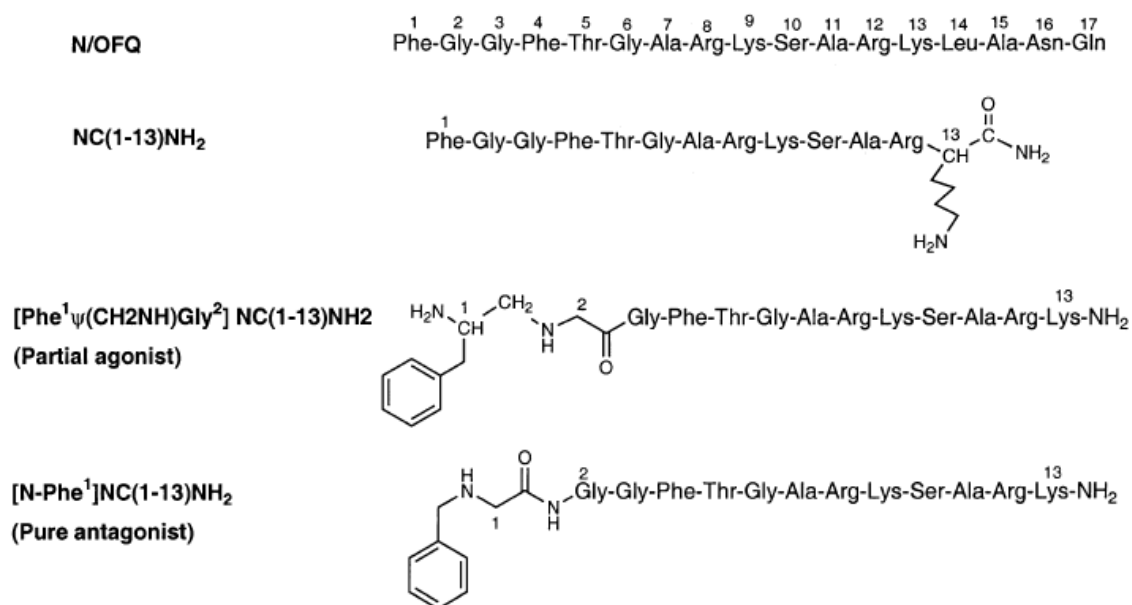
Per quanto riguarda gli agonisti-NOP, come precedentemente menzionato, potrebbero trovare impiego come antitussivi, antiasmatici, ansiolitici, ipotensivi, vasodilatatori e nel trattamento del dolore neuropatico, della tossicodipendenza, dell'insufficienza cardiaca congestizia, dell'anoressia, della costipazione (anche anche nel caso in cui questa sia presente come effetto collaterale degli oppioidi ) e contro il reflusso gastro-esofageo<sup>70</sup>.

L'applicazione degli antagonisti NOP potrebbe invece riguardare il trattamento dei disturbi cognitivi attraverso il miglioramento di memoria e apprendimento. È stata inoltre recentemente dimostrata la loro utilità nei disturbi locomotori, quali il morbo di Parkinson<sup>71</sup> andando ad incrementare il rilascio di dopamina a livello del *Corpus Striatum*.

I ligandi del recettore NOP si dividono in due gruppi: **peptidici** e **non-peptidici**. I ligandi peptidici derivano da modificazioni a livello di specifici aminoacidi della nocicettina o dallo screening di librerie combinatorie di peptidi, mentre l'individuazione dei ligandi non-peptidici inizialmente ruotava attorno allo screening degli oppioidi già esistenti<sup>72</sup>.

### Agonisti e antagonisti peptidici del recettore NOP

Uno dei primi ligandi peptidici sviluppato per il recettore NOP è N/OFQ(1–13)NH<sub>2</sub> (o NC(1–13)NH<sub>2</sub>)<sup>23</sup> (**Figura 11**), il derivato peptidico troncato privo dei 4 residui aminoacidici C terminali. Come accennato precedentemente, la sequenza 1-13–amide della nocicettina naturale risulta essere un agonista pienamente attivo sul recettore NOP con una potenza assai simile a quella della sequenza naturale composta da 17 aminoacidi<sup>24,25</sup>.



**Fig. 11.** Nocicettina e ligandi peptidici del recettore ORL-1.

L'amidazione N-terminale lo protegge dalla degradazione ad opera delle carbossipeptidasi. Gli studi sulle relazioni struttura-attività (SAR) hanno permesso di chiarire che il tetrapeptide N-terminale Phe-Gly-Gly-Phe è essenziale per l'attività e che Phe<sup>4</sup>, non Phe<sup>1</sup>, sembra essere importante per l'attivazione del recettore. Su questa base, la ricerca nel campo della chimica farmaceutica è stata rivolta allo sviluppo di analoghi di questa sequenza in grado di esprimere un'attività nei confronti del recettore NOP. Come risultato di questa linea di ricerca, lo stesso gruppo di ricerca ha sintetizzato un derivato in cui il legame peptidico Phe<sup>1</sup>-Gly<sup>2</sup> è stato modificato mediante riduzione a funzione amminica (CH<sub>2</sub>-NH al posto di CO-NH), ottenendo così uno "pseudopeptide". Quest'ultima definizione designa infatti la perdita delle caratteristiche di un legame peptidico tra la fenilalanina in posizione 1 e la glicina in posizione 2, rispettivamente. Questo analogo della nocicettina(1-13) amide, denominato **([Phe<sup>1</sup>ψ(CH<sub>2</sub>NH)Gly<sup>2</sup>]NC(1-13)NH<sub>2</sub>)** (**Figura 11**), verrà di seguito indicato con la sigla [F/G]N/OFQ(1-13)NH<sub>2</sub>. Esso è stato oggetto di numerosi studi *in vivo* ed *in vitro* in cui si è osservato, con una certa delusione, che agiva come antagonista, agonista parziale, o anche agonista completo, a seconda del preparato tissutale preso in considerazione.

Lo spostamento del raggruppamento benzilico dall'atomo di carbonio a nella Phe<sup>1</sup> all'atomo di azoto ha fornito un buon antagonista puro<sup>73</sup> dotato di elevata selettività per il NOP ma di scarsa potenza (pA<sub>2</sub> = 6.43), denominato **[Nphe<sup>1</sup>]N/OFQ(1-13)NH<sub>2</sub>** (**Figura 11**).

L'inserimento della sequenza Arg-Lys nelle posizioni 14 e 15 della nocicettina ha fornito un composto ad attività agonista<sup>74</sup> di elevata potenza (pEC<sub>50</sub> nel test del dotto

deferente di ratto pari a 8.13, in confronto ad un pEC<sub>50</sub> di 7.14 per la nocicettina nello stesso test) denominato [Arg<sup>14</sup>, Lys<sup>15</sup>]N/OFQ.

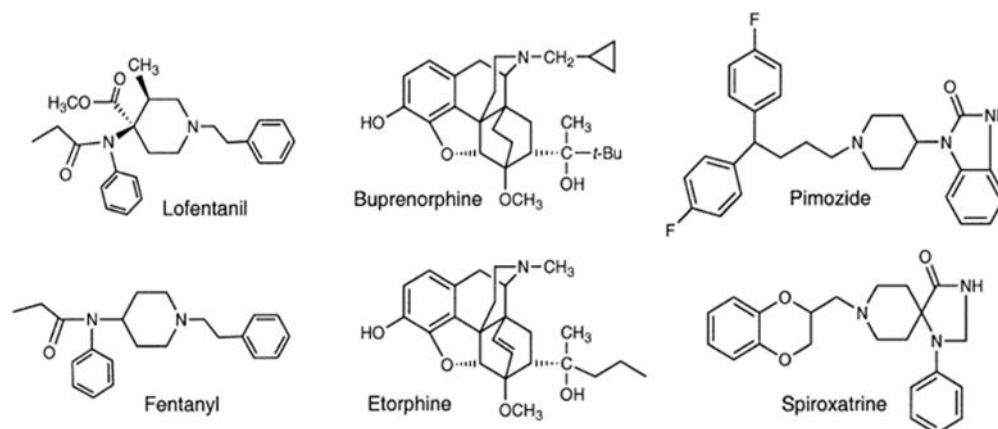
Combinando le modifiche strutturali che avevano portato ad una potente attività agonista a lunga durata (Arg<sup>14</sup>, Lys<sup>15</sup>) e quelle che avevano portato ad antagonismo puro (NPhe<sup>1</sup>), il gruppo di ricerca di G. Calò nel 2002<sup>75</sup> ha individuato un potente antagonista selettivo, [NPhe<sup>1</sup>, Arg<sup>14</sup>, Lys<sup>15</sup>]NC-NH<sub>2</sub>, chiamato anche **UFP-101**, la cui potenza è di almeno un ordine di grandezza superiore a quella di [NPhe<sup>1</sup>]NC(1-13)NH<sub>2</sub>. Inoltre, nel saggio “tail-withdrawal”, UFP-101 non solo inibisce l'effetto pronocicettivo indotto da N/OFQ, ma provoca di per sé un effetto antinocicettivo, simile a quello osservato con l'antagonista [NPhe<sup>1</sup>]NC(1-13)NH<sub>2</sub>, ma più duraturo. Questo effetto analgesico è simile a quello visto con l'antagonista peptidico estere metilico della retro-nocicettina e con l'antagonista non-peptidico a struttura chinolinica JTC-801. Ciò fornisce una prova che gli antagonisti ORL-1 possono essere sviluppati come agenti analgesici. Inoltre UFP-101 ha mostrato di prevenire la depressione dell'attività locomotoria.

Negli ultimi anni si è assistito ad un interesse crescente verso lo sviluppo e la valutazione di ligandi peptidici del recettore NOP, o della Nocicettina stessa (ad esempio, per uso endovescicale), come possibili farmaci per uso umano. I peptidi infatti offrono numerosi vantaggi, tra cui l'elevata selettività, un metabolismo prevedibile (il metabolismo della Nocicettina nella specie umana è ormai noto) ed una maggiore sicurezza (con un profilo di effetti collaterali ridotto)<sup>32</sup>.

### **Agonisti e antagonisti non-peptidici del recettore NOP**

Da quando si è scoperto che il recettore NOP appartiene alla famiglia dei recettori degli oppioidi, diversi gruppi di ricerca hanno esaminato l'interazione di composti oppiacei noti con questo recettore.

Numerosi composti attivi a livello del SNC hanno mostrato una buona affinità per il recettore NOP. Il *carbetapentano* (antitussivo antagonista del recettore NMDA del glutammato), il *rimcazolo* (antagonista dei recettori  $\sigma_1$  e  $\sigma_2$ ), il *lofentanile* (oppiaceo a struttura anilidopiperidinica  $\mu$ -selettivo) e il suo analogo chiuso *fentanile*, l'*etorfina* (agonista non-selettivo dei recettori oppioidi derivato dall'oripavina), il neurolettico *pimozide*, la *buprenorfina* (agonista parziale del recettore  $\mu$ ) e la *spiroxatrina* (agonista parziale del recettore 5-HT), sono tutti farmaci in grado di interagire con il recettore NOP<sup>48</sup> (**Figura 12**).



**Figura 12.** Strutture di oppiacei e neurolettici conosciuti come ligandi per il recettore NOP.

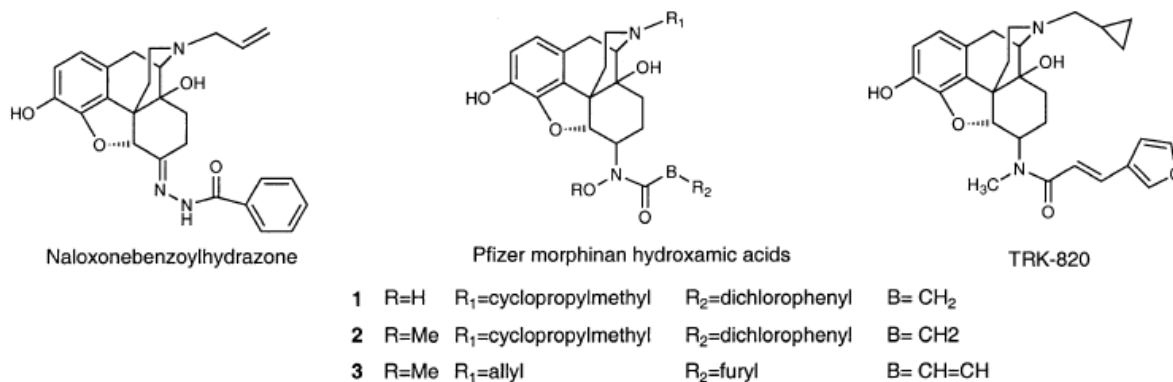
E' stato quindi osservato che il recettore NOP riconosce composti con struttura apparentemente molto diversa. Sono state individuate 5 classi strutturali di ligandi non-peptidici del recettore NOP, elencate di seguito:

#### ❖ Morfinani

Nel 1998, un brevetto della Pfizer ha riportato una serie di acidi morfinan-idrossamici 6-sostituiti (**Figura 13**), ad attività antagonista sul recettore NOP ( $IC_{50} < 50$ ) e ad attività agonista sui recettori oppioidi  $\mu$ ,  $\kappa$  e  $\delta$ <sup>48</sup>. Questi composti dovrebbero mostrare una buona attività analgesica, anche se non sono disponibili i dati sulla loro attività biologica. Nel 1999, Seki et al.<sup>78</sup>, in collaborazione con la giapponese Toray Industries, riportarono che l'agonista  $\kappa$  derivato del morfinano Nalfurafine (TRK-820, **Figura 13**), in fase di sviluppo dal 2003 in Europa e in Fase II in Giappone per il trattamento del prurito, antagonizzava gli effetti di N/OFQ sull'accumulo di cAMP in cellule CHO ed aveva un'affinità di legame 380 nM verso hNOP. Ha inoltre una potenza 4000 volte maggiore rispetto alla morfina sia su ileo di cavia che su vaso deferente di topo ( $IC_{50} = 4.8$  e 36 pM rispettivamente).

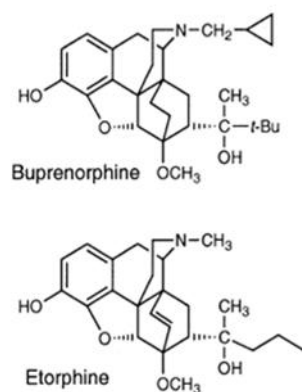
TRK-820, un 6-N-metilammido morfinano, è strutturalmente molto simile agli acidi idrossamici della Pfizer. Pertanto, lo scheletro morfinanico può fornire un buon lead per ottenere un profilo antagonista verso NOP unito ad un'attività agonista oppioide per una nuova classe di analgesici. Un altro oppiaceo che è stato indicato come "lead" per il design di ligandi selettivi per il recettore NOP è il morfinano il naloxone benzoilidrazone (NalBzOH), un derivato dell'antagonista  $\mu$  Naloxone, il primo ligando non-peptidico descritto in letteratura. Esso è un agonista oppioide  $\kappa$  ed un antagonista  $\mu$  e possiede un effetto anti-nocicettivo *in vivo*. NalBzOH antagonizza gli effetti di N/OFQ sull'accumulo di cAMP nelle cellule CHO (Chinese Hamster Ovary) e ha un'affinità di legame  $\sim 25$  nM<sup>76,77</sup>. NalBzOH non

blocca soltanto gli effetti pro nocicettivi di N/OFQ *in vivo*, ma produce anche un effetto anti-nocicettivo per sè<sup>76</sup>. In modo interessante, quest'effetto anti-nocicettivo è completamente abolito in recettori NOP di topi knockout, suggerendo che questo recettore giochi un ruolo importante nella determinazione della soglia nocicettiva.



**Figura 13.** Strutture di morfinani come ligandi NOP.

Anche la buprenorfina e l'etorfina (**Figura 14**), degli agonista  $\mu$  parziali, posseggono una modesta affinità per il recettore NOP ( $K_i = 285$  nM e  $0.53$   $\mu$ M rispettivamente). Introdotta nel 1982 per il trattamento del dolore, si ritiene che l'efficacia analgesica della buprenorfina sia mediata dal recettore NOP stesso.



**Figura 14.**

### ❖ Benzimidazopiperidine

Il primo antagonista puro non-peptidico NOP ad essere scoperto è stato un benzimidazolinone, **J-113397**, pubblicato da Kawamoto (1999) e brevettato dalla Banyu Pharmaceutical nel 1998<sup>48</sup>. Il composto lead **4** illustrato nell **Figura 15**, identificato tramite una libreria chimica, era un agonista a bassa affinità per NOP. L'introduzione di un gruppo  $\alpha$ -metilico sul gruppo N-benzilico della piperidina e di sostituenti sull'anello fenilico come nel

composto **5** (2-clorofenile), aumenta notevolmente l'affinità per il NOP. Ciò porta ad un'affinità nanomolare del ligando, il quale è anche un agonista NOP non selettivo. Introducendo sul gruppo N-benzilico un sostituito metil-cicloottanico fortemente lipofilo, come nel composto **6**, si trasformava il composto in un antagonista, anche se con bassa selettività. L'introduzione di un sostituito etilico sull'azoto benzimidazolinonico e un gruppo 3-idrossimetilico sull'anello piperidinico, riduceva l'affinità per gli altri recettori oppioidi e portava ad un antagonista puro potente e altamente selettivo per il NOP. L'isomero (3R, 4R) del composto **J-113397** aveva un'affinità di legame 400 volte maggiore rispetto al suo enantiomero. Il composto **7**, un analogo fluorurato racemico, nel saggio GTP $\gamma$ S presenta una potenza equivalente come antagonista rispetto a J-113397 (IC<sub>50</sub> 5.8 nM)<sup>48</sup>. Gli effetti di J-113397 sono stati caratterizzati *in vitro* su recettori NOP ricombinanti e in tessuti isolati<sup>79-82</sup>. In saggi *in vivo*, J-113397, per somministrazione sottocutanea (sc) alle dosi di 10-30 mg/kg, inibiva l'iperalgia prodotta dalla somministrazione icv di N/OFQ. Un dato contrastante è quello secondo il quale la somministrazione it o icv di J-11397 nel ratto aumenta il comportamento nocifensivo tra cui il leccamento della zampa nel "test della formalina". Sono pertanto necessari ulteriori studi per chiarire il ruolo degli antagonisti di NOP nell'analgia. La Pfizer, inoltre, ha riportato, tre serie di benzimidazoli, quali i composti **10 a-b** (Figura 15), come antagonisti di NOP, utili per l'analgia<sup>83,84</sup>. Mentre il loro sostituito N-piperidinico era simile a quello delle serie benzimidazolinoniche **8** e **9**, sempre brevettate dalla Pfizer, il sito primario di modificazione era la posizione 2-benzimidazolica, dove sono state valutate numerose ammine a catena aperta e cicliche. Tuttavia, non sono riportati dati biologici<sup>48</sup>.

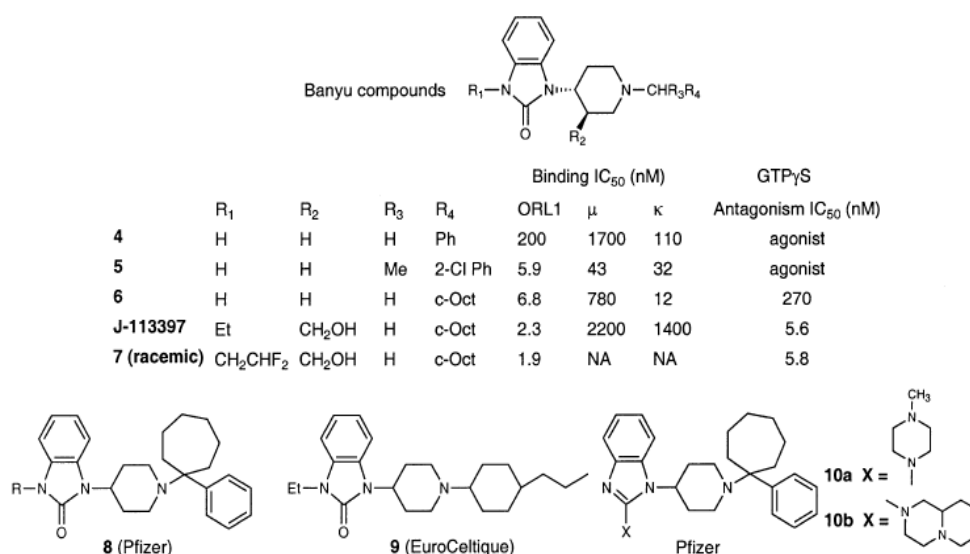
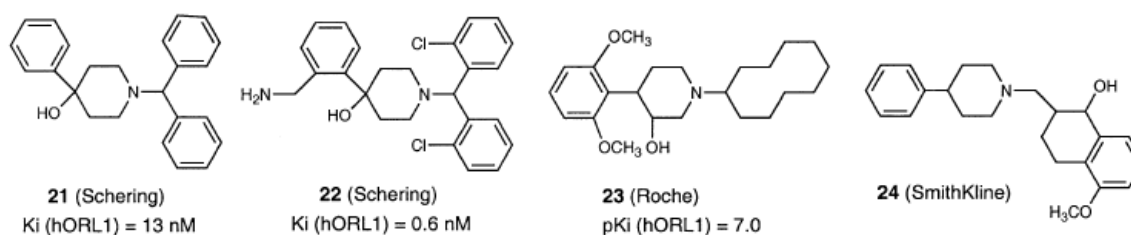


Figura 15. Strutture di benzimidazopiperidine come ligandi NOP.

### ❖ Aril piperidine

Mentre i primi ligandi riportati dalla Banyu e dalla Roche contenevano eterocicli spiro- e benzo- fusi in posizione 4 dell'anello piperidinico centrale, la Schering ha riportato una serie di fenil-piperidine come agonisti NOP in un ampio brevetto che includeva anche benzimidazolinoni e triaspirodecanoni<sup>85</sup>. Gli agonisti NOP **21** e **22** (**Figura 16**) sono stati brevettati per il trattamento della tosse<sup>86</sup>. Hoffman La Roche ha anche brevettato una serie di fenilpiperidine, ad esempio il composto **23**, come ligandi NOP, ma senza riportare dettagli biologici<sup>87</sup>.

Infine, Smith Kline Beecham ha brevettato una serie di fenilpiperidine, come il composto **24**, come ligandi NOP per diversi disordini legati a questo recettore. Le affinità di legame per questi composti rientrano nel range tra 1 e 1000 nM<sup>48</sup>.

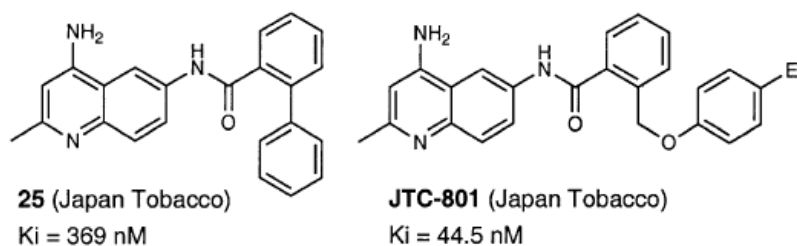


**Figura 16.** Strutture di arilpiperidine come ligandi NOP.

### ❖ 4-aminochinoline

Esse rappresentano una classe chimica completamente nuova di ligandi NOP riportati da Japan Tobacco Inc. in un brevetto del 1999<sup>88</sup>. Il ligando ottimizzato, **JTC-801** (**Figura 17**) è stato ottenuto tramite un estensivo studio SAR sul composto lead **25**, il quale possiede un'affinità NOP di 369 nM. Le analisi SAR hanno anche stabilito che il gruppo amminico primario in posizione 4 della chinolina e un residuo ammidico non-sostituito, sono importanti per il legame. L'affinità di legame per il NOP di JTC-801 è 44,5 nM. Il composto antagonizzava completamente l'inibizione dell'accumulo di cAMP da parte della nocicettina. Inoltre, se somministrato *in vivo* per via orale o endovenosa, a dosi di 0,1-1 mg/kg antagonizza la allodinia indotta da N/OFQ nei topi e ha aumentato la latenza nel test della piastra calda sul topo. Questi effetti non erano inibiti dal naloxone. JTC-801 è stato scelto come candidato per trial clinici per l'analgesia grazie alla sua biodisponibilità per via orale, più favorevole rispetto a quella di altri analoghi più potenti di questa serie. E' interessante osservare che l'antagonista NOP a struttura benzimidazolinonica, J-113397, non ha effetti

analgesici per sé in modelli simili di nocicezione. Questa dicotomia negli effetti analgesici da parte dei due antagonisti di NOP strutturalmente differenti, richiede ulteriori indagini.



**Figura 17.** Strutture di aminochinoline attive sul NOP.

### ❖ Spiropiperidine

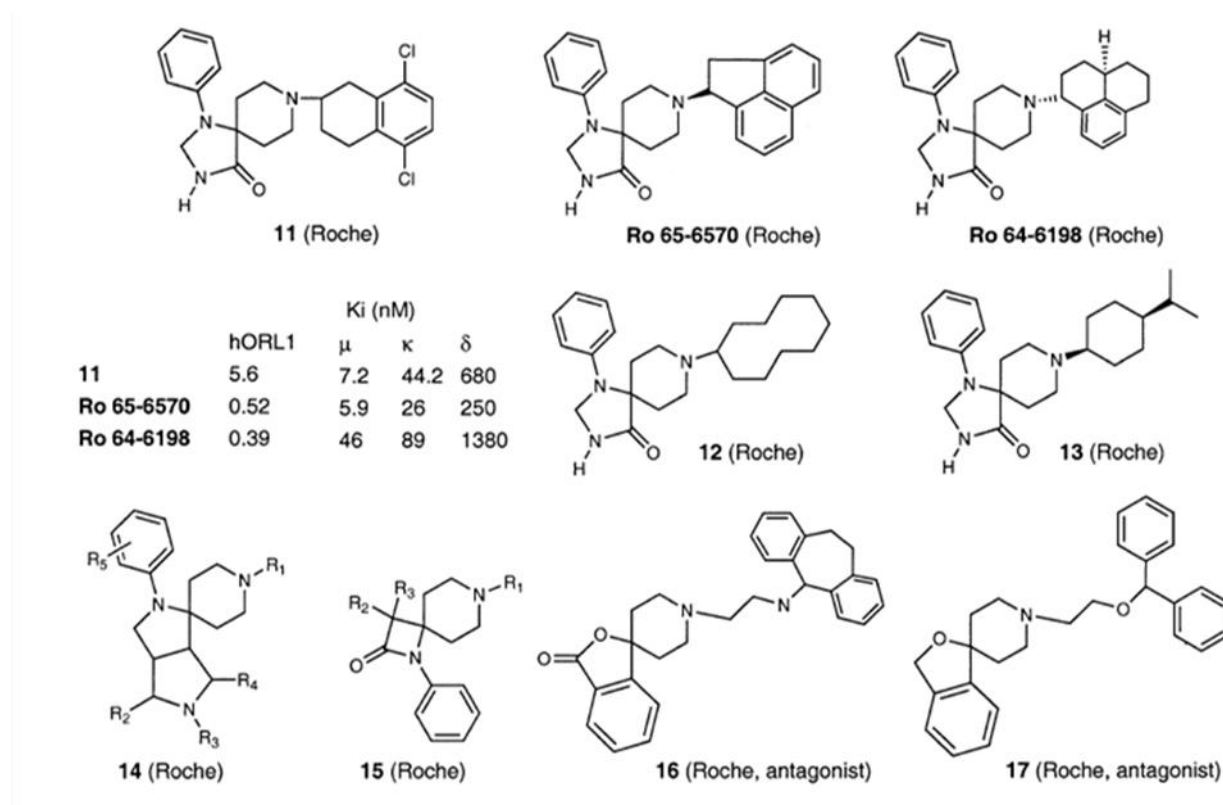
Nello stesso periodo in cui la Banyu si occupava di benzimidazolinoni, Hoffman La Roche riportò una serie di composti con il nucleo del 1,3,8-triazaspiro[4,5]decan-4-one, scoperti tramite High Throughput Screening<sup>48</sup>. In seguito all'osservazione che la **spiroxatrina**, un agonista parziale dei recettori 5-HT<sub>1A</sub> a struttura spiropiperidinica, aveva anche una moderata ma non selettiva attività agonista per il recettore NOP (K<sub>i</sub>=118 nM)<sup>99</sup>, le ricerche delle compagnie farmaceutiche si sono indirizzate verso le modifiche strutturali di tale composto. Il composto lead **11**, illustrato nella **Figura 18**, era un ligando potente, ma non selettivo di hNOP, ed anche un agonista pieno in saggi funzionali<sup>89-91</sup>. La sostituzione del sostituente sull'azoto 2-tetralinil-piperidinico con il gruppo più ingombrante acenaftilico (per dare **Ro 65-6570**) e con il gruppo ancora più pesante esaidrofenalenilico<sup>48</sup> (per dare **Ro 64-6198**), è risultata in un'affinità subnanomolare dei questi ligandi verso il recettore NOP, con una selettività di più di 100 volte rispetto al recettore per gli oppioidi. Sostituenti aliciclici sull'azoto piperidinico, come il ciclodecile (**12**) e il 4-isopropilcicloesile (**13**), conferiscono potenza elevata e selettività a questi agonisti NOP<sup>92</sup>.

Benché Ro 65-670 mostri effetti ansiolitici, è selettivo soltanto dalle 5 alle 10 sul recettore  $\mu$ <sup>100</sup>. Dall'altra parte, Ro 64-6198 è molto più selettivo e mostra un buonissimo profilo ansiolitico, comparabile alle benzodiazepine, in diversi modelli sperimentali di ansia *in vivo*<sup>93</sup>. Come agonista solo leggermente meno potente della stessa N/OFQ, Ro 64-6198 può essere usato potenzialmente nella terapia di malattie come l'anoressia e l'ansia<sup>48</sup>, dove un agonista di NOP potrebbe dimostrare dei benefici. Tuttavia, è stato dimostrato che ad alte dosi, Ro 64-6198 mostra affinità per i recettori  $\sigma$  e quelli della dopamina<sup>94-97</sup>.

La Roche ha anche brevettato diverse serie di spiro-piperidine modificate nella porzione eterociclica imidazolinica, come i composti **14** e **15** (**Figura 18**), ad azione agonista, derivati del diazasp[3,5]nonano.

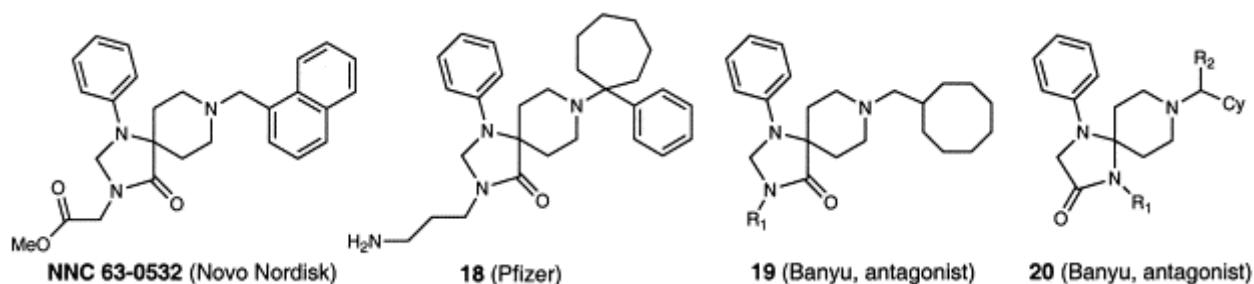
Ulteriori modificazioni della porzione eterociclica, così come del sostituente sull'azoto piperidinico, hanno portato ad una serie di benzofurani spirofusi, come i composti **16** e **17** (**Figura 18**), brevettati dalla Roche come antagonisti NOP<sup>98</sup>.

La Novo Nordisk ha anche riportato la sintesi e la caratterizzazione una serie di 1,3,8-triazaspirodecanoni simili ai composti della Roche, partendo dalla **spiroxatrina** come composto lead<sup>99,101</sup>.



**Figura 18.** Strutture di spiro-piperidine come ligandi NOP.

Anche la Pfizer e la Banyu hanno brevettato una serie di triazaspirodecanoni (composto **18**, **19** e **20**, **Figura 19**) agonisti del recettore NOP, utili come analgesici. La serie rappresentata dal composto **19**, è molto simile ai ligandi della Roche e della Pfizer, Ro 64-6198 e **18** rispettivamente, mentre i ligandi con struttura generale **20** sono composti isomerici, con una spiro-giunzione leggermente differente tra l'anello piperidinico e quello imidazolinico<sup>102,103</sup>.



**Figura 19.** Strutture di triazaspirodecanoni come ligandi NOP.

La non-reperibilità di dati farmacologici su questi composti, rende difficoltosa la definizione di requisiti strutturali di affinità e selettività per NOP<sup>48</sup>.

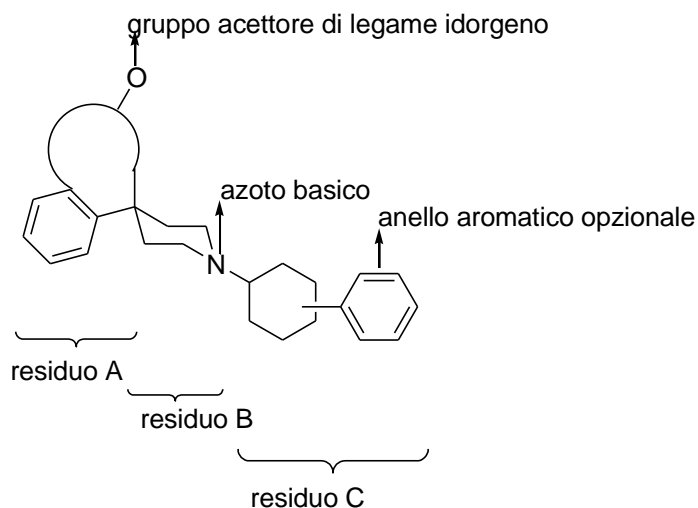
Tuttavia, grazie agli studi di SAR effettuati da Zaveri e coll. nel 2005<sup>104</sup>, è stato possibile ottenere un modello farmacoforo 2-D preliminare, il quale ha rappresentato un buon punto di partenza per la comprensione dei parametri strutturali che giocano un ruolo importante nell'interazione e nella selettività di una molecola nei confronti del recettore NOP.

Nello sviluppo di ligandi NOP devono essere presi in esame (a) l'affinità di legame al recettore, (b) la selettività per il recettore NOP rispetto agli altri recettori oppioidi e (c) l'attività intrinseca (agonista/antagonista).

Dall'analisi dei risultati conseguiti da Zaveri, si nota che i primi due fattori, cioè affinità di legame e selettività, possono di solito essere modulati insieme, mentre l'attività intrinseca può essere modulata tramite un distinto corredo di lineamenti strutturali<sup>104</sup>. Quasi tutti i ligandi per il recettore NOP che sono stati riportati, sia agonisti che antagonisti, mostrano caratteristiche strutturali simili e si adattano al modello farmacoforico 2-D rappresentato nella **Figura 20**. La maggior parte dei ligandi è caratterizzata da un nucleo centrale aliciclico contenente un azoto basico protonabile, una frazione eterociclica che dista dall'azoto protonabile almeno 3 atomi di carbonio, ed una frazione lipofila sull'azoto basico.

I tre elementi farmacoforici sono stati indicati nel modo seguente:

- (1) la porzione eterociclica è stata denominata come residuo **A**;
- (2) l'azoto basico è stato indicato come residuo **B**;
- (3) la frazione lipofila sull'azoto basico come residuo **C**.



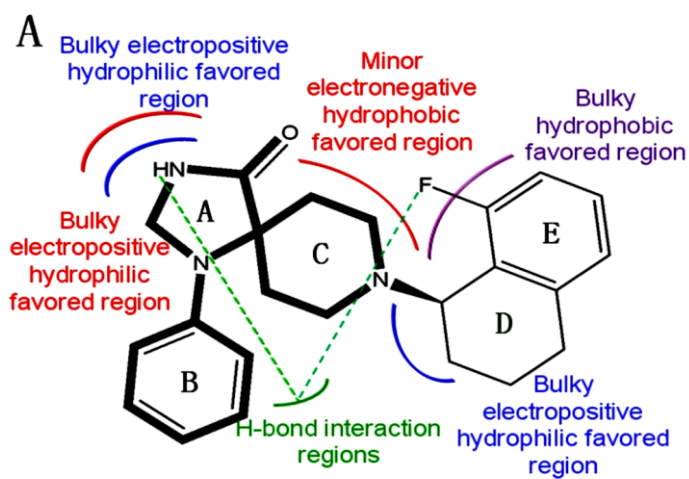
**Figura 20.** Farmacoforo 2-D raffigurante i 3 elementi comuni presenti nella maggior parte dei ligandi NOP descritti finora in letteratura<sup>104</sup>.

Zaveri e coll. propongono l'ipotesi che la porzione eterociclica A sia un determinante importante dell'affinità del legame e della selettività nei confronti dei recettori oppioidi, mentre la frazione C lipofila gioca un ruolo nell'attività intrinseca del ligando a livello del recettore. Inoltre, nella stessa classe di ligandi NOP, classificati in base alla porzione eterociclica A, risulta possibile modulare l'attività intrinseca del ligando per generare agonisti ed antagonisti come desiderato scegliendo una appropriata porzione lipofila C.

I risultati di questo studio, effettuato su una classe strutturale di ligandi NOP, sono stati poi confermati dalle attività riportate per altre classi<sup>104</sup>. Quindi questa analisi fornisce un approccio razionale per il *drug desing* di potenti e selettivi NOP agonisti ed antagonisti con un potenziale terapeutico. L'ottimizzazione di tutti e tre gli elementi del farmacoforo, come sostiene Zaveri, condurrà ad un incremento dell'affinità di legame e di selettività, ma solo le variazioni nella frazione C sembrano determinare l'attività agonista-antagonista della molecola. Questo comportamento è simile a quello osservato nei ligandi oppiacei, dove la sostituzione dell'N-metile negli agonisti morfina ed ossimorfone con un N-allile o N-ciclopropilmetile rispettivamente, determina uno spostamento dell'attività intrinseca verso quella degli antagonisti nalorfina e nalossone.

Recentemente, questo modello farmacoforico è stato confermato da studi di *homology modeling* e *docking* condotti sul recettore NOP da Bao e coll.<sup>70</sup>. In particolare, è stato costruito un modello del recettore NOP e del suo sito di legame. Sul modello così ottenuto sono stati condotti studi di docking su una serie di composti a struttura spiro-piperidinica ad attività agonista nota nei confronti del recettore esaminato. Le principali interazioni del

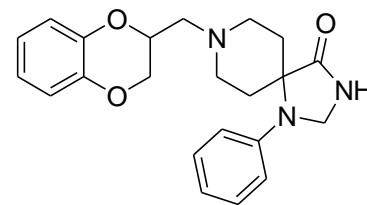
composto più attivo sia *in vitro* che *in silico* nella tasca di legame del recettore NOP sono riportate nella **Figura 21**.



**Figura 21.** Interazioni principali di un composto a struttura spiro-piperidinica nel sito di legame del recettore NOP<sup>70</sup>.

## 2. SCOPO DELLE RICERCHE

Oggetto di studio del mio dottorato di ricerca è stato lo sviluppo di nuovi potenziali ligandi del recettore NOP, prendendo come riferimento la struttura spiropiperidinica della *Spiroxatrina* (**schema 1**), un agonista parziale del recettore 5-HT<sub>1A</sub> e  $\alpha_{2c}$  adrenergico che ha anche mostrato una moderata affinità per il recettore NOP ( $K_i = 118$  nM)<sup>99</sup>, circa 1000 volte meno potente rispetto alla nocicettina ( $pEC_{50} = 6.10$  vs  $pEC_{50}$  (N/OFQ) = 9.54).

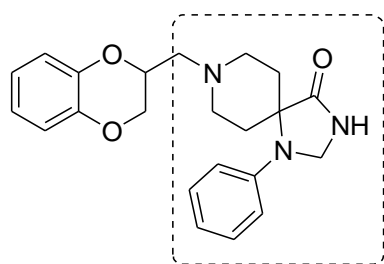


**Spiroxatrina**

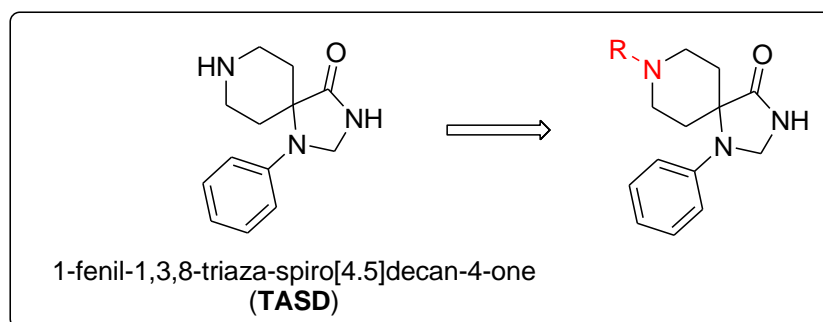
Sulla base di questi risultati, la Spiroxatrina è stata scelta come lead compound da molti gruppi di ricerca, con l'obiettivo di individuare un nuovo modello farmacoforico per lo sviluppo di ligandi più selettivi e potenti per il recettore NOP e di ottenere dei nuovi composti di interesse farmaceutico. Fino ad oggi sono state studiate ed individuate moltissime molecole strutturalmente correlate alla Spiroxatrina, attive sul recettore NOP<sup>70, 99-103</sup>.

Recentemente, Thompson e coll. hanno pubblicato la struttura cristallina del recettore NOP in complesso con un antagonista peptido-mimetico<sup>144</sup>. Tuttavia, tale struttura cristallina è difficilmente utilizzabile per la progettazione di ligandi agonisti a causa della diversa conformazione che il recettore assume nel passaggio dallo stato inattivato a quello attivato. Pertanto, la mancanza della struttura cristallina del recettore NOP in complesso con un agonista rende gli studi SAR su piccole molecole non-peptidiche uno strumento particolarmente importante per la comprensione dei requisiti strutturali essenziali per l'interazione con il recettore NOP e di conseguenza, per lo sviluppo di nuovi ligandi più attivi e selettivi.

Il nostro studio SAR ha ruotato attorno a modifiche strutturali della porzione 1,4-benzodiossanic della Spiroxatrina, mantenendo invariata la porzione feniltriazaspirodecanonica.



**Spiroxatrina**

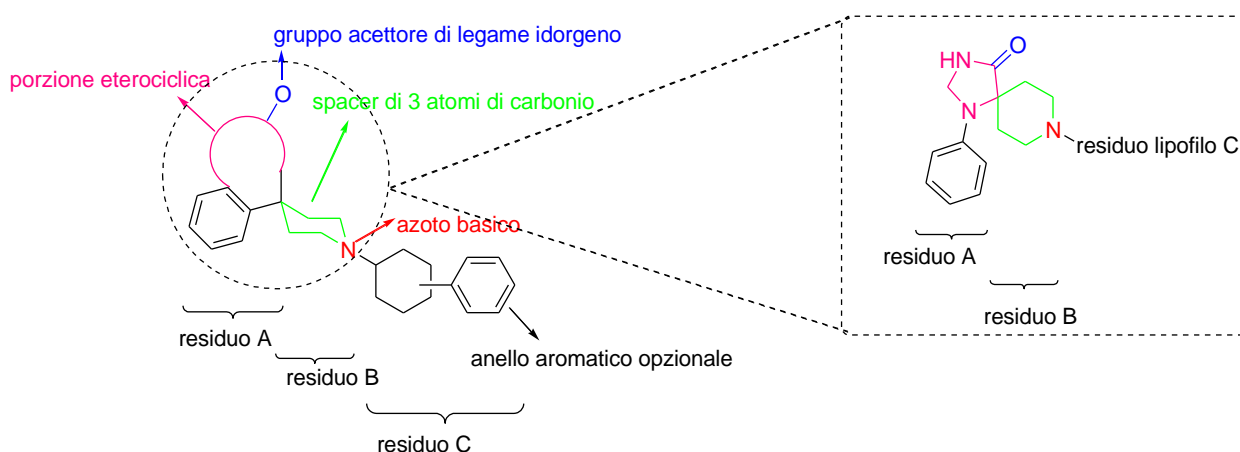


**Schema 1**

La funzione triazaspirodecanonica della Spiroxatrina, comune a molte molecole attive verso il recettore NOP<sup>70, 99-103</sup>, si è rivelata uno scaffold di grande interesse, in quanto si adatta ampiamente al modello farmacoforico 2-D proposto da Zaveri e coll. nel 2005<sup>104</sup>. Secondo tale modello, costruito sulla base di studi SAR relativi a piccole molecole ad attività agonista ed antagonista per il recettore NOP, gli elementi farmacoforici coinvolti in interazioni importanti con il recettore NOP sono:

- (1) una porzione eterociclica contenente un gruppo accettore di legami idrogeno (residuo **A**);
- (2) un nucleo centrale aliciclico contenente un azoto basico protonabile che dista dalla porzione eterociclica almeno 3 atomi di carbonio (residuo **B**);
- (3) una frazione lipofila sull'azoto basico (residuo **C**).

Nell'immagine riportata di seguito si può osservare che la funzione triazaspirodecanonica presenta due dei tre elementi essenziali del farmacoforo proposto da Zaveri, ovvero i residui A e B:

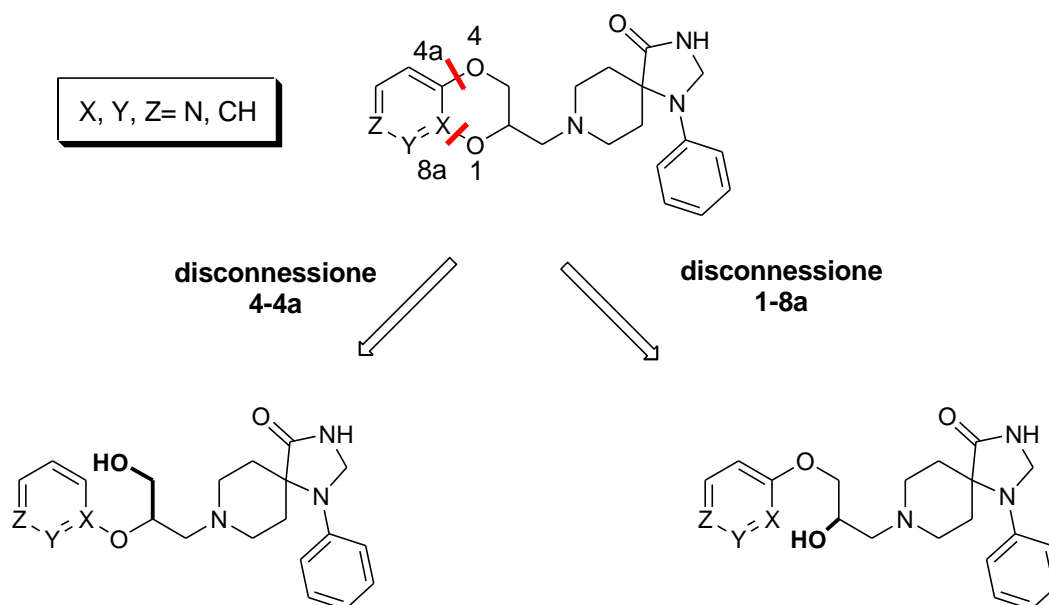


Zaveri ipotizza che la porzione eterociclica A sia un determinante importante dell'affinità e della selettività nei confronti del recettore, come anche la frazione B contenente l'azoto basico protonabile, il quale formerebbe un ponte salino stabile con un sito anionico (es. residuo di aspartato) che rappresenta un punto di ancoraggio fondamentale per l'interazione recettoriale. Inoltre, le modifiche nella frazione C sembrano determinare l'attività agonista-antagonista della molecola. Pertanto, nella stessa classe di ligandi NOP, classificati in base alla porzione eterociclica A, risulta possibile modulare l'attività intrinseca del ligando per generare agonisti ed antagonisti scegliendo una appropriata porzione lipofila C.

Nel nostro studio abbiamo esaminato scaffold di diversa natura come possibili “porzioni C” del suddetto modello farmacoforico, alchilando l’azoto piperidinico dell’1-fenil-1,3,8-triazaspiro[4.5]decan-4-one, disponibile commercialmente, con diversi nuclei (R).

In particolare:

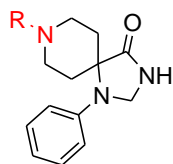
- nella *serie A* è stato valutato un residuo 1,4-diossolanico-5-spirosostituito sulla cui posizione 8 sono stati introdotti atomi a polarità crescente: carbonio (**1**, **2**, **3**), zolfo (**4**), ossigeno (**5**) ed azoto (**8**). Inoltre sono stati preparati derivati in cui l’N-8 è stato funzionalizzato con residui accettori di legami ad idrogeno (**9**, **10**, **11**, **12**) e residui lipofili ingombrati stericamente (**6**, **7**, **11**, **12**).
- nella *serie B* è stata valutata la sostituzione isosterica del carbonio in posizione 5, 6, 7 e 8 della porzione 1,4-benzodiossanica della Spiroxatrina con un atomo di azoto (5-azaspiroxatrina 3-sostituita **13a**)
- nella *serie C* è stata presa in considerazione la disconnessione dei legami 4-4a e 1-8a della porzione 1,4-benzodiossanica della Spiroxatrina e dei suoi isosteri azotati con ottenimento di derivati alcolici primari e secondari del propandiolo (**14-19**)



- nei derivati della *serie D* è stata effettuata una dislocazione dell’O-1 o dell’O-4 del nucleo benzodiossanico della Spiroxatrina all’esterno dell’anello ottenendo derivati 2- e 3-sostituiti del 4-cromanone (**20**, **23**) e del 4-cromanolo (**21**, **22** e **24**).

- I derivati della *serie E* rappresentano i prodotti di sostituzione isosterica dell'O-1 dei composti della serie D con un gruppo CH<sub>2</sub>. L'eliminazione del ponte etereo nel nucleo del 4-cromanone e del 4-cromanolo porta all'ottenimento dei derivati dell' $\alpha$ -tetralone (3,4-diidro-2*H*-naftalen-1-one) (**25**) e dell'1-tetralinolo (1,2,3,4-tetraidro-naftalen-1-olo) (**26** e **27**).
- i composti della *Serie F* rappresentano i prodotti di deidrogenazione dei derivati cromanonici appartenenti alla *Serie D*, con formazione di un doppio legame C2=C3 nell'anello eterociclico B ed ottenimento dei derivati 2- e 3-sostituiti del cromone (o 1-benzopiran-4-one).  
Sono stati ottenuti due isomeri posizionali, in cui la porzione spiropiperidinica è inserita in posizione 3 (**28**) o 2 (**30**) del nucleo cromonico tramite un ponte etilenico e l'analogo 3-sostituito del composto **28** in cui la porzione spiropiperidinica è legata direttamente al nucleo cromonico (**29**).
- i derivati della *Serie G* rappresentano i prodotti di rimozione dell'ossigeno in posizione 1 nell'anello diossanico della Spiroxatrina, sostituito con un gruppo alchilico insaturo (-CH= derivato del 2*H*-cromene **31**) o saturo (-CH<sub>2</sub>- derivati del cromano variamente sostituiti **32-39**).

Tabella 1. Composti di alchilazione del 1-fenil-1,3,8-triazaspiro[4.5]decan-4-one



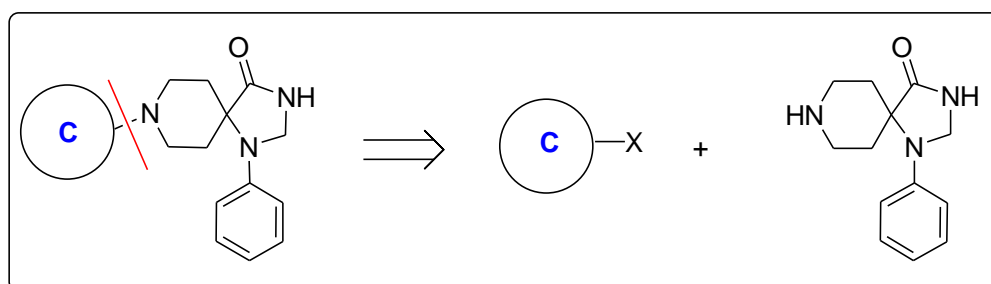
Serie	Descrizione	R
A	Derivati del 1,4-spirodiossolano	 X= -, CH <sub>2</sub> , CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> , O, S, NH, N-Etile, N-Benzile, N-Tosile, N-Mesile, N-Acetile, N-Boc.
B	Derivati del 5-aza-benzodiossolano	
C	Derivati alcolici primari e secondari del propandiolo	 Ar= fenile, piridina
D	Derivati del 4-cromanone e del 4-cromanolo	
E	Derivati del tetralone e del tetralinolo	
F	Derivati del cromone (o cromenone)	 n= 0, 1
G	Derivati del cromene e del cromano	 X= H, F; R, R'= H, CH <sub>3</sub> ; n= 0,1,2
H	Derivati della tetralina (1,2,3,4-tetraidro-naftalene) e dell'indano	 R= H, OCH <sub>3</sub> ; n= 0,1

### 3. RISULTATI E DISCUSSIONE

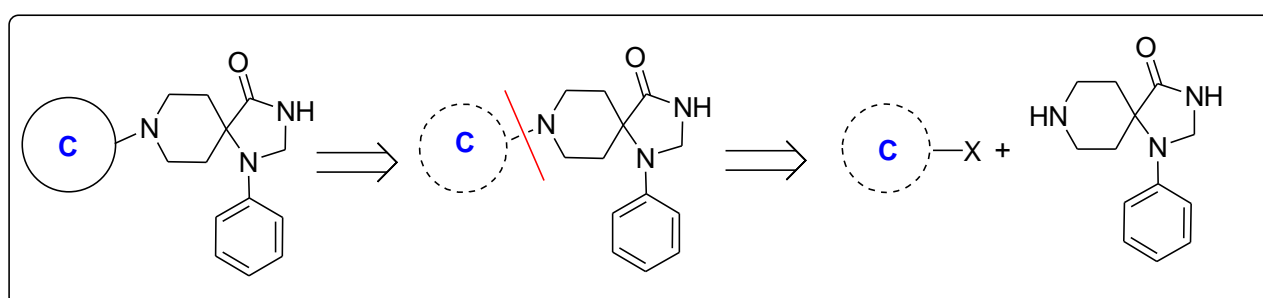
#### 3.1 Chimica

L'approccio sintetico ai derivati delle *Serie A-H* ha previsto in ogni caso la formazione del legame fra l'1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one (TASD), disponibile commercialmente, e i vari residui C mediante sostituzione nucleofila da parte dell'azoto piperidinico. Tale sostituzione può interessare il residuo C preformato e quindi rappresentare l'ultimo step sintetico (**Schema A**).

In alcuni casi, il derivato triazaspirodecanonico ottenuto ha richiesto una successiva reazione di ciclizzazione, dealchilazione, alchilazione, idrolisi, tosilazione, mesilazione, riduzione e disidratazione per fornire il prodotto finale (**Schema B**).



Schema A



Schema B

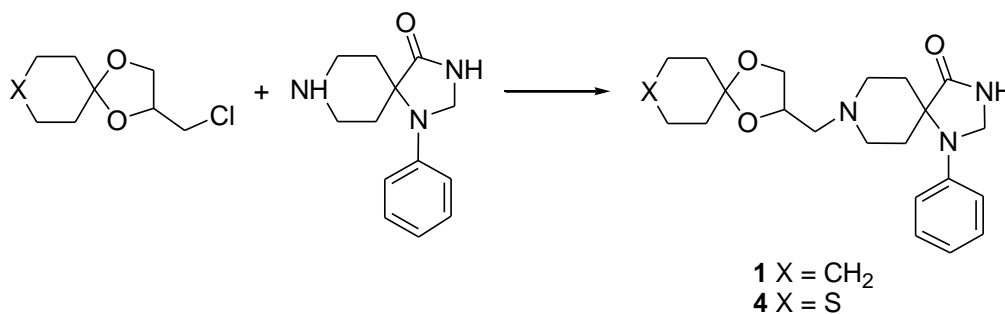
La sostituzione nucleofila è stata condotta su:

- cloro-derivati
- bromo-derivati
- tosil-derivati
- trimetilammonio-derivati
- epossidi

**Sostituzioni nucleofile su cloro-derivati**

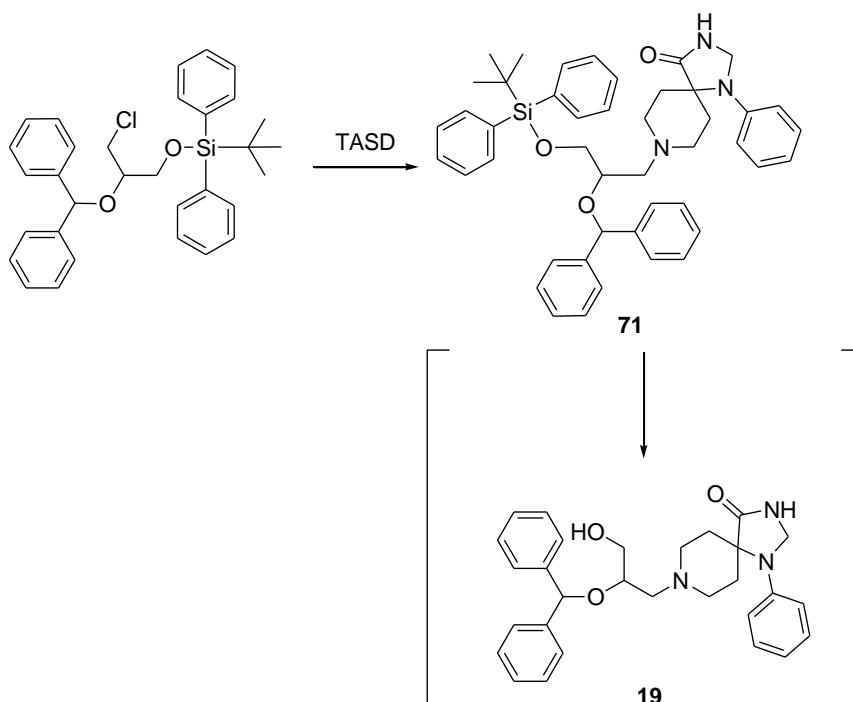
Le reazioni sono state condotte secondo 5 modalità principali

- I. 2-metossietanolo, refluxo, KI
- II. DMSO a T ambiente [Nikam<sup>105</sup>] e successivo riscaldamento fino a 120 °C
- III. DMF, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 120 °C [Heine<sup>106</sup>]
- IV. 2-metossietanolo, KI, riscaldamento in forno a microonde [150 °C, 30 minuti, ramping 10 minuti, 180 Watt, 150 PSI]
- V. acetonitrile, refluxo, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, KI

**Serie A**

Composto	Modalità	Durata reazione	Resa d. t. %
<b>1</b>	I	20 ore	~ 2
<b>1</b>	II	5 giorni T ambiente 1 giorno 80 °C 14 ore 100 °C 1 giorno 120 °C	6.7
<b>1</b>	III	27 ore	26
<b>4</b>	III	21 ore 27 ore (+ KI)	8.5

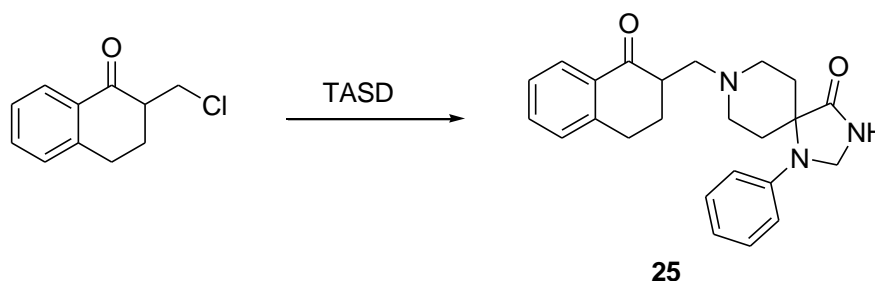
## Serie C



Composto	Modalità	Durata reazione	Resa d. t. %
<b>71</b>	IV	30'	22

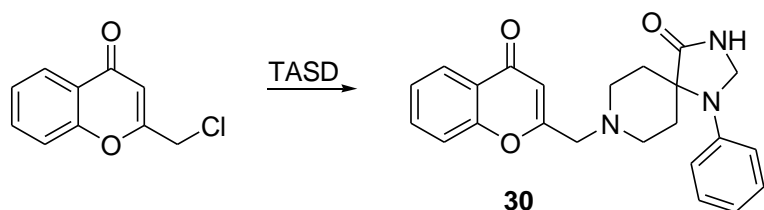
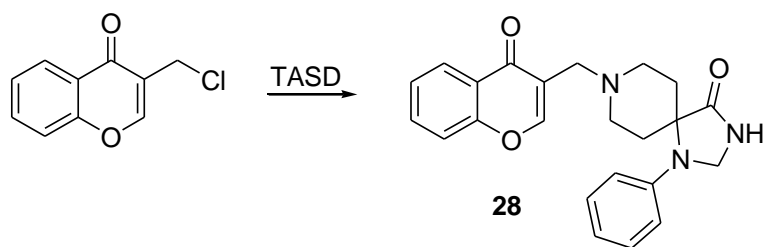
La sostituzione nucleofila è stata seguita da deprotezione mediante tetrabutyl-ammonio-floruro che ha fornito l'atteso derivato **19** con una resa pari al 47% d. t.

## Serie E



Composto	Modalità	Durata reazione	Resa d. t. %
<b>25</b>	V	4 h	77

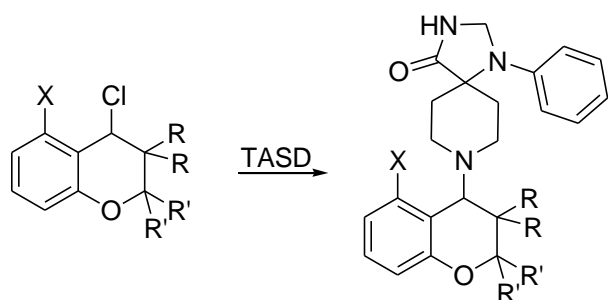
Serie F



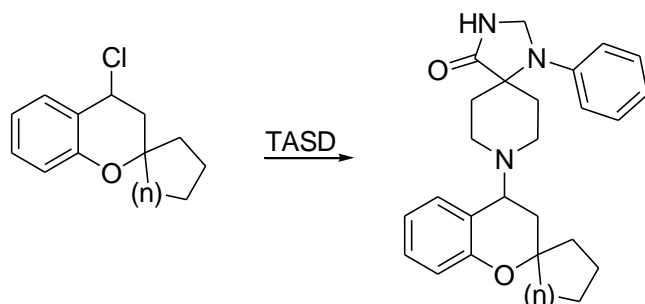
Composto	Modalità	Durata reazione	Resa d. t. %
<b>28</b>	V	1 h	quantitativa
<b>30</b>	V	2 h	85

Serie G

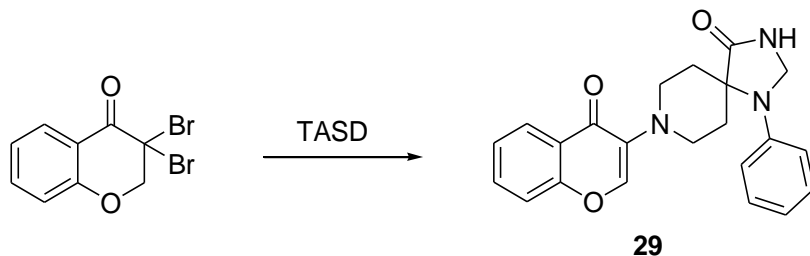
La reazione è stata condotta secondo la modalità V.



Composto	X	R	R'	Durata reazione (h)	Resa d. t. %
<b>33</b>	H	H	H	2	49
<b>34</b>	F	H	H	5	52
<b>35</b>	H	CH <sub>3</sub>	H	8	36
<b>36</b>	H	H	CH <sub>3</sub>	12	42



Composto	n	Durata reazione (h)	Resa d. t. %
<b>37</b>	0	12	53
<b>38</b>	1	4	38
<b>39</b>	2	5	50

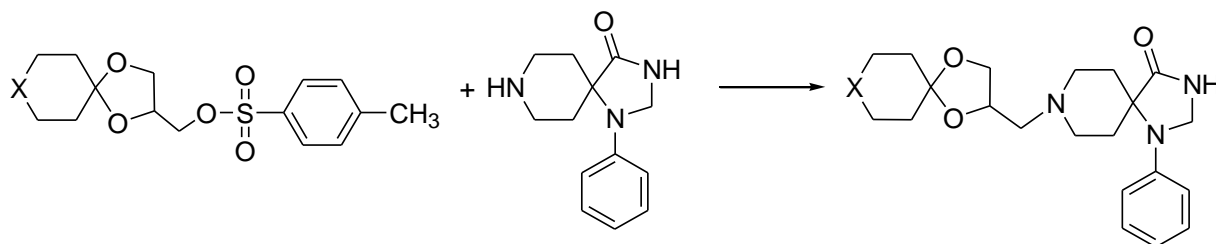
**Sostituzioni nucleofile su bromo-derivati***Serie F*

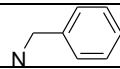
Il 3,3-dibromo-cromanon, in acetonitrile a ricadere per 48 ore, a seguito di eliminazione di un atomo di bromo associata *in situ* a sostituzione nucleofila con fenil-triazaspiro-decanone, in ambiente basico per  $K_2CO_3$ , ha fornito il composto **29** con una resa del 52% d. t.

**Sostituzioni nucleofile su tosil-derivati**

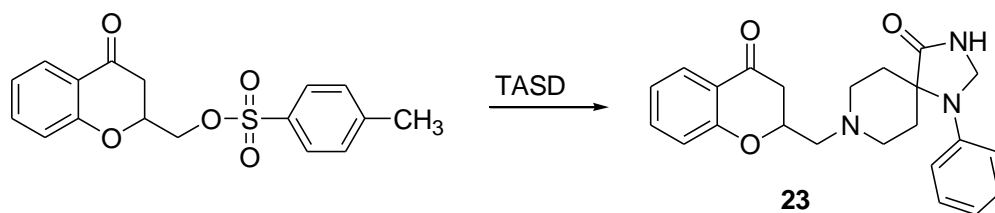
Le reazioni sono state condotte secondo 2 modalità principali

- I. DMF, refluxo,  $Na_2CO_3$ , [Heine<sup>106</sup>]
- II. acetonitrile, refluxo,  $Na_2CO_3$

*Serie A*

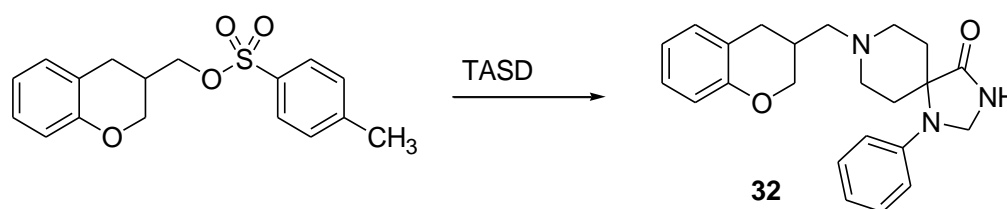
Composto	X	Modalità	Durata reazione	Resa d. t. %
<b>1</b>	CH <sub>2</sub>	I	5 h 45'	53
<b>2</b>	CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub>	I	2 h	44
<b>3</b>	-	I	4h 30'	76
<b>4</b>	S	I	5h 45'	62
<b>5</b>	O	I	5h 45'	52
<b>7</b>		I	3h	46
<b>9</b>	N-COCH <sub>3</sub>	I	1h 30'	86
<b>10</b>	N-C(=O)OC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	I	2h 30'	76

## Serie D



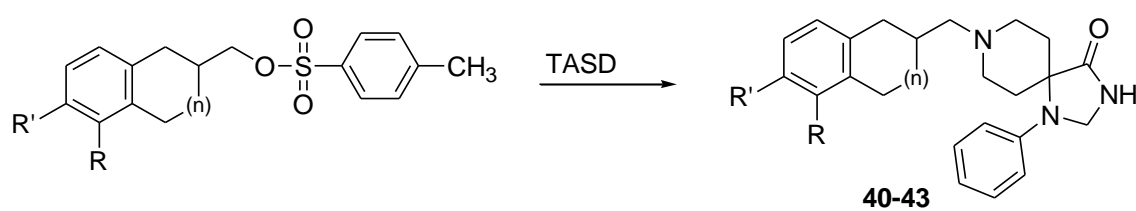
Composto	Modalità	Durata reazione	Resa d. t. %
23	II	41 h	36

## Serie G



Composto	Modalità	Durata reazione	Resa d. t. %
32	II	6 h	43

## Serie H

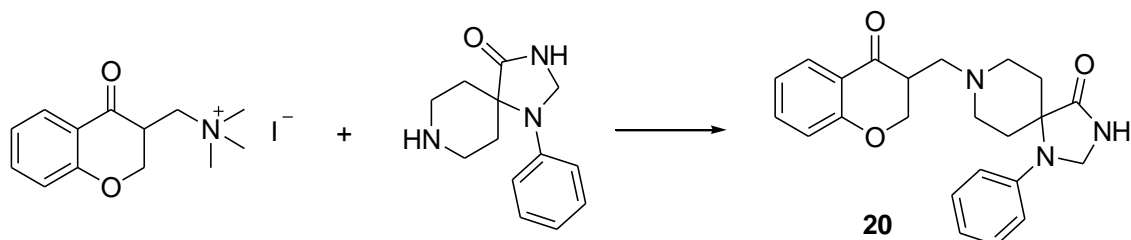


Composto	(n)	R	R'	Modalità	Durata reazione	Resa d. t. %
40	1	CH	H	II	6 h	43%
41	1	CH	OCH <sub>3</sub>	II	6 h	26%
42	1	CH	H	II	6 h	48%
43	0	CH	H	II	6 h	40%

### Sostituzioni nucleofile su trimetilammonio-derivati

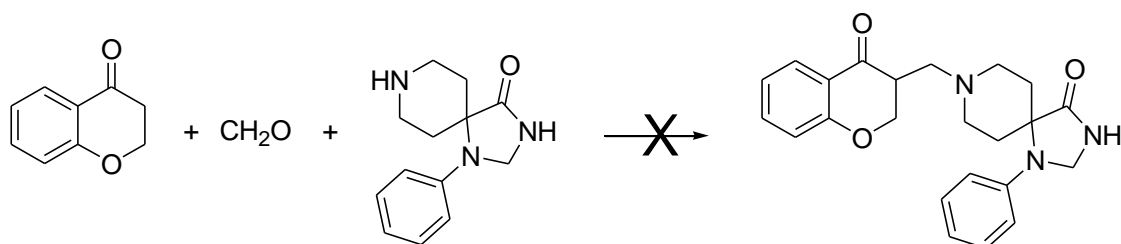
#### Serie D

La reazione è stata condotta in acetonitrile a T ambiente in presenza di  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .



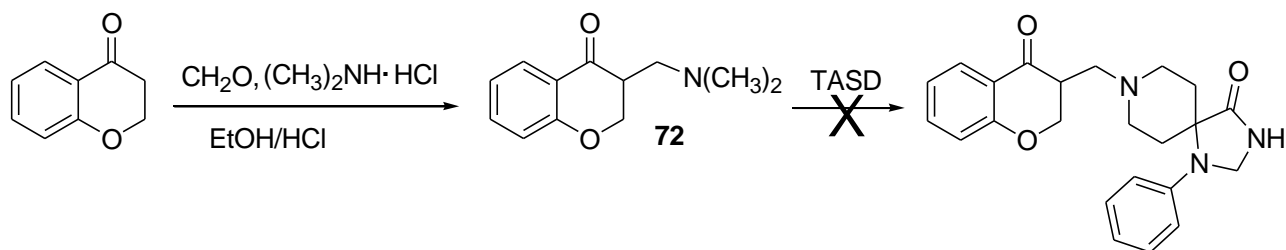
Composto	Durata reazione	Resa d. t. %
<b>20</b>	4 h	95

In un primo momento per la sintesi del derivato **20** era stata prevista una reazione di Mannich tra l'1-fenil-1,3,8-triazaspiro[4,5]decan-4-one e il croman-4-one in presenza di *p*-formaldeide.



In particolare è stata studiata la reazione sia a partire da 4-cromanone che da 1-indanone (con l'intento di ottenere gli analoghi con restringimento di anello) in etanolo saturo di HCl a refluxo, variando sistematicamente sia le condizioni operative che sperimentali, senza riuscire ad isolare l'atteso prodotto di reazione.

In un secondo momento è stato adottato il metodo riportato nel brevetto di Vogt et al per l'ottenimento dell'analogo derivato tetralonico<sup>116</sup>, che prevede di condurre prima la reazione di Mannich con dimetilammina cloridrato per poi far reagire il  $\beta$ -dimetilamino-chetone ottenuto con l'1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one.

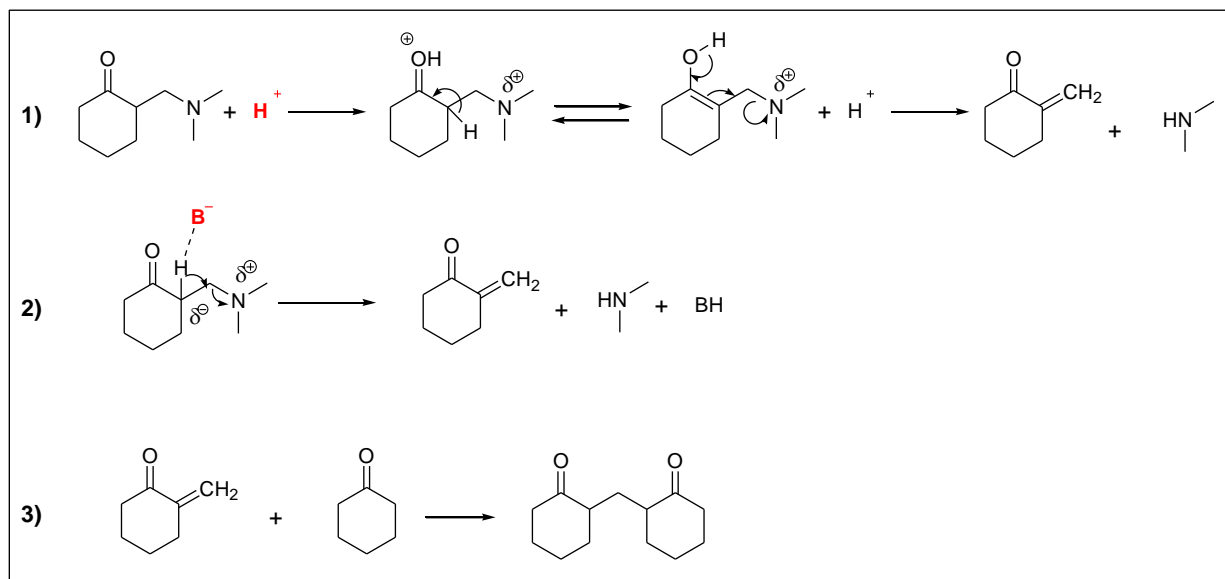


Infatti, come riportato in letteratura<sup>117</sup>, molte basi di Mannich non possono essere preparate per condensazione diretta a causa di una scarsa reattività dell'ammina o del chetone di partenza, ma nella maggior parte dei casi si possono ottenere per transaminazione a partire dal dimetilaminometil-derivato del chetone selezionato. Questo approccio si basa su due principi:

- ✓ l'elevata reattività della dimetilammina cloridrato nelle reazioni di Mannich, la quale porta al  $\beta$ -dimetilamino-chetone con rese eccellenti
- ✓ l'instabilità intrinseca delle basi di Mannich, che in presenza di un'ammina libera nell'ambiente di reazione (l'1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one nel nostro caso), possono cedere il loro amino-gruppo per legare l'ammina libera<sup>117-119</sup>.

I dimetilaminometil-derivati **72** e **73** (l'analogo derivato dell'indanone) sono stati ottenuti con buone rese ma la loro reazione con 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one, condotta in etanolo a refluxo, non ha fornito i risultati desiderati, nonostante siano state, anche in questo caso, ampiamente variate le condizioni sperimentali.

In tutte le miscele di reazione è stato isolato un composto contraddistinto da maggiore lipofilia rispetto al chetone di partenza e caratterizzato mediante spettroscopia  $H^1$ -NMR come derivato  $\alpha,\beta$ -insaturo del chetone di partenza che può risultare dall'eliminazione dell'ammina sia in ambiente acido che basico. Il vinil-chetone formatosi inoltre può reagire con il chetone di partenza e formare un dimero, di cui si è accertata la presenza mediante analisi LCMSIT in un grezzo di reazione relativo al derivato dell'indanone (vedi: **Schema 2**: reazioni collaterali delle condensazioni di Mannich).



**Schema 2:** Reazioni collaterali delle condensazioni di Mannich.

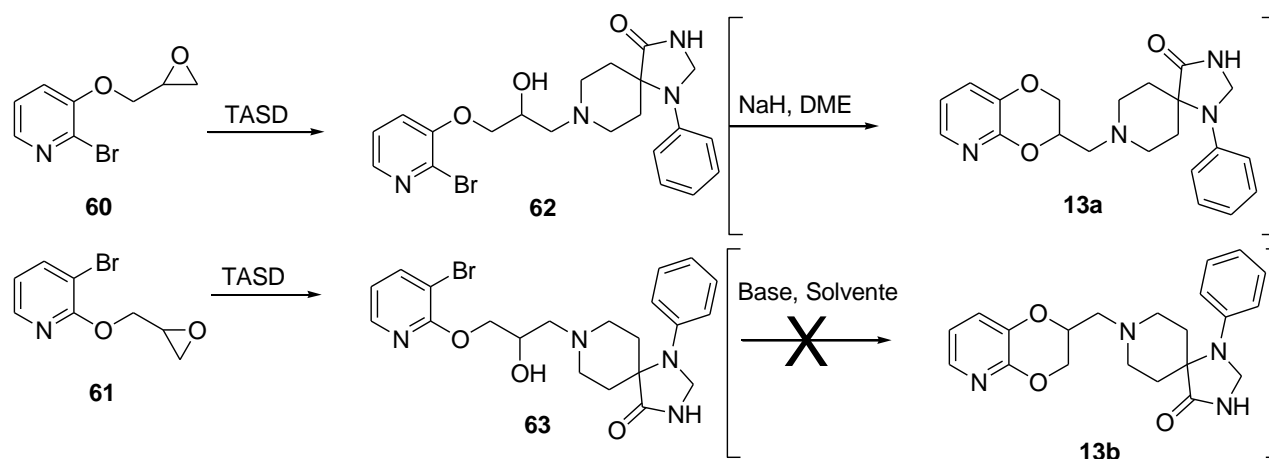
L'ultimo approccio adottato ha previsto la quaternizzazione dei dimetilamminometil-derivati in quanto i sali di ammonio quaternario dovrebbero essere più stabili e più reattivi nella reazione di transaminazione con l'1-fenil-1,3,8-triazaspiro[4,5]decan-4-one.

Questo nuovo approccio, come sopra riportato, ha dato risultati positivi nel caso del derivato del cromanone ma non nel caso dell'indanone il cui sale d'ammonio è risultato decisamente meno stabile.

### *Sostituzioni nucleofile su epossidi*

#### *Serie B*

#### Schema B



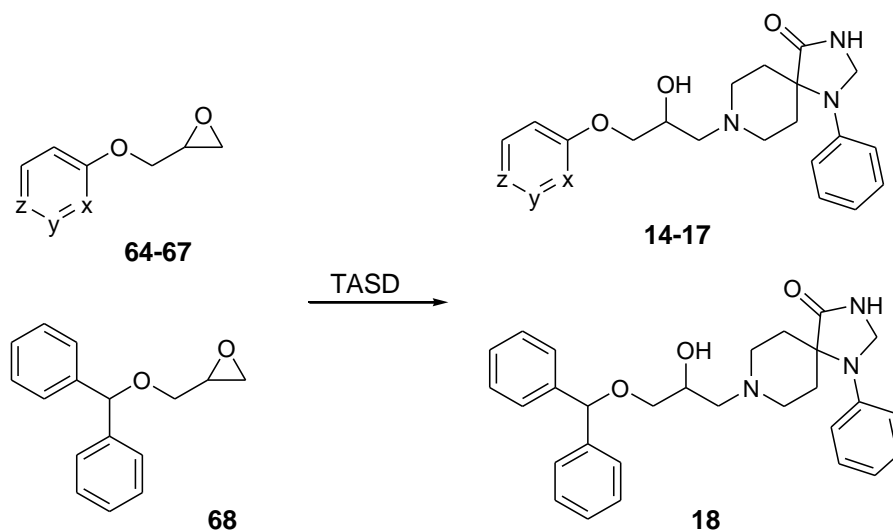
Composto	Solvente	T °C	Durata reazione	Resa d. t. %
<b>62</b>	THF	reflusso	1 h 45'	79
<b>63</b>	THF	reflusso	1h 15'	58

La ciclizzazione di **62** e **63** a derivati diossinopiridinici, è stata condotta in presenza di sodio idruro come base in grado di indurre la deprotonazione dell'alcool<sup>114</sup>.

L'alcol deprotonato può così fungere da nucleofilo maggiormente efficace nei confronti dell'atomo di carbonio che reca il bromo come gruppo uscente. Questa reazione ha consentito di isolare, sebbene con rese sempre inferiori al 20%, l'attesa 5-aza-spirotrina 3-sostituita (**13a**), mentre a partire dall'alcol 3-bromo-piridinico **63** non si è osservata la formazione del prodotto di ciclizzazione nonostante siano state ampiamente variate le condizioni di reazione. Ciò può essere spiegato in base al diverso effetto elettronico esercitato dall'azoto piridinico sul carbonio in posizione 2, dove l'attacco nucleofilo è favorito in virtù dell'effetto mesomerico elettronattrattore, e sul carbonio in posizione 3, dove al contrario l'attacco nucleofilo è sfavorito.

### Serie C

#### Schema A

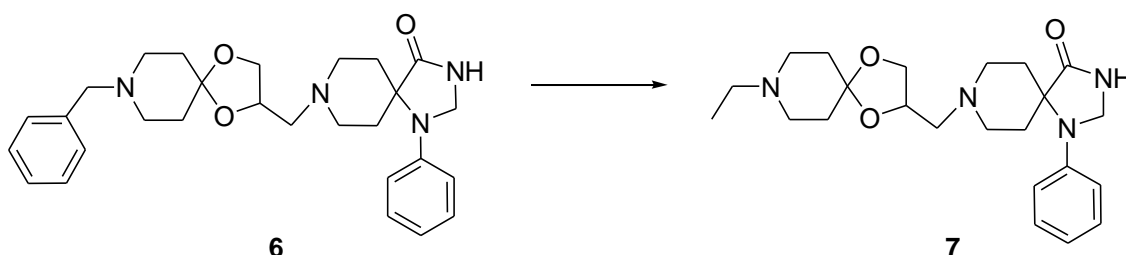


Composto	x	y	z	Solvente	T °C	Durata reazione	Resa d. t. %
<b>14</b>	CH	CH	CH	DMF	70	2 h e 45'	57
<b>15</b>	N	CH	CH	DMF	40	10 h	30
<b>16</b>	CH	N	CH	DMF	40	3.5 h	66
<b>17</b>	CH	CH	N	DMF	60	1 h	38
<b>18</b>	-	-	-	THF	reflusso	11 h	78

## Reazioni successive alla sostituzione nucleofila (Schema B)

### Serie A

❖ debenzilazione e successiva N-alchilazione dell'N-benzilderivato **6** per idrogenolisi catalitica in etanolo



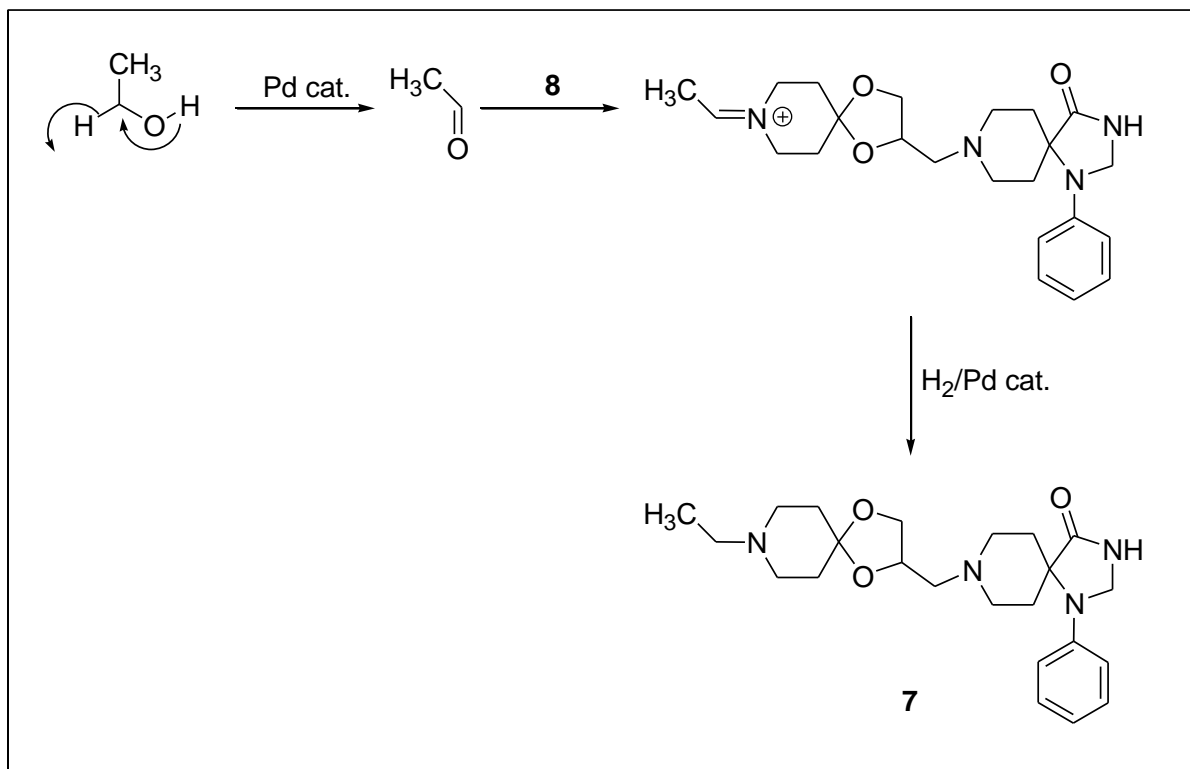
L'N-benzilderivato **6** è stato sottoposto a idrogenazione catalitica in etanolo in presenza del catalizzatore Pd/C 10%, nel tentativo di liberare la funzione amminica secondaria ed ottenere l'8-(1,4-diossa-8-aza-spiro[4.5]dec-2-ilmetil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**8**).

Dall'analisi spettroscopica NMR del prodotto di reazione si è accertato che non si ottiene l'atteso derivato di debenzilazione **8**, bensì il derivato N-etilsostituito (**7**) come confermato anche dai dati del QTOF in cui si rileva un picco a 415.27 invece che 387.23.

Il fallimento delle reazioni di N-debenzilazione attraverso idrogenolisi catalitica in presenza di solventi alcolici quali etanolo o metanolo è stato riportato anche da Bailey<sup>107</sup> che osserva una analoga N-alchilazione.

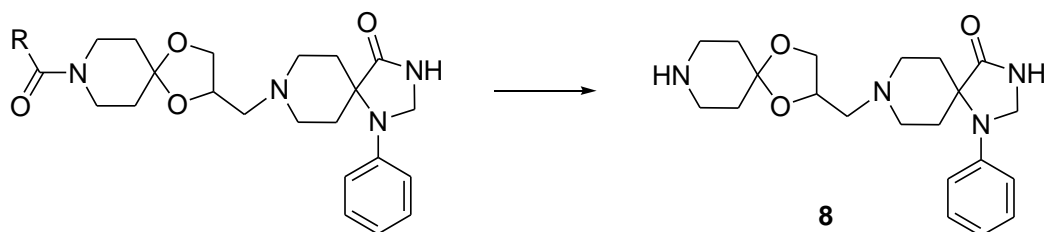
Il probabile meccanismo di reazione è quello proposto da Fu e Cook<sup>108,109</sup>, secondo il quale il catalizzatore inizialmente ossida il solvente alcolico ad aldeide, che reagisce con l'ammina deprotetta, alchilandola (**Schema 3**).

Una possibile soluzione a questo problema potrebbe prevedere di condurre l'idrogenolisi in un solvente alcolico la cui corrispondente aldeide sia meno stabile, quale il trifluoroetanolo (TFE)<sup>107</sup>, o in un solvente non alcolico come l'etile acetato o il diclorometano. Tuttavia, anche a seguito di un tentativo di idrogenazione catalitica in etile acetato, si è recuperato unicamente il prodotto di partenza **6**.



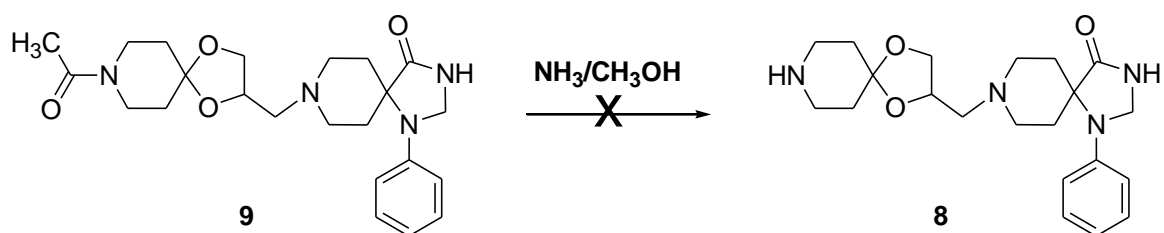
**Schema 3:** Meccanismo di N-alcilazione con idrogenolisi catalitica

- ❖ idrolisi dei derivati ammidici N-Acetile (**9**) ed N-Boc (**10**) a composto **8**



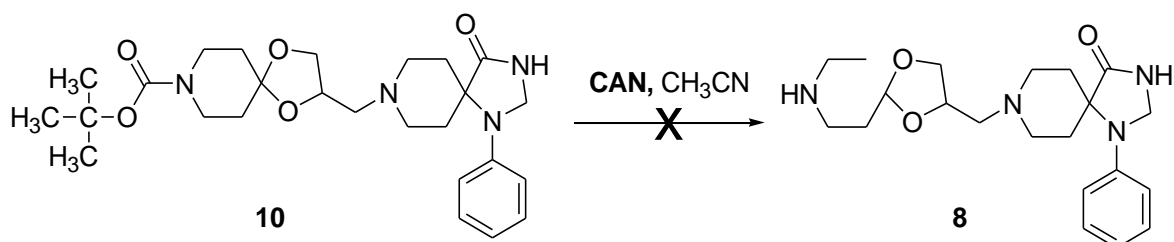
Sono stati valutati vari approcci:

- secondo Arai<sup>110</sup>:



dopo trattamento con una soluzione 7 N di ammoniaca metanolica a temperatura ambiente per 44 ore e successivo riscaldamento in forno a microonde a 130°C per 3 ore, si recupera solo il prodotto di partenza

○ secondo Hwu<sup>113</sup>:

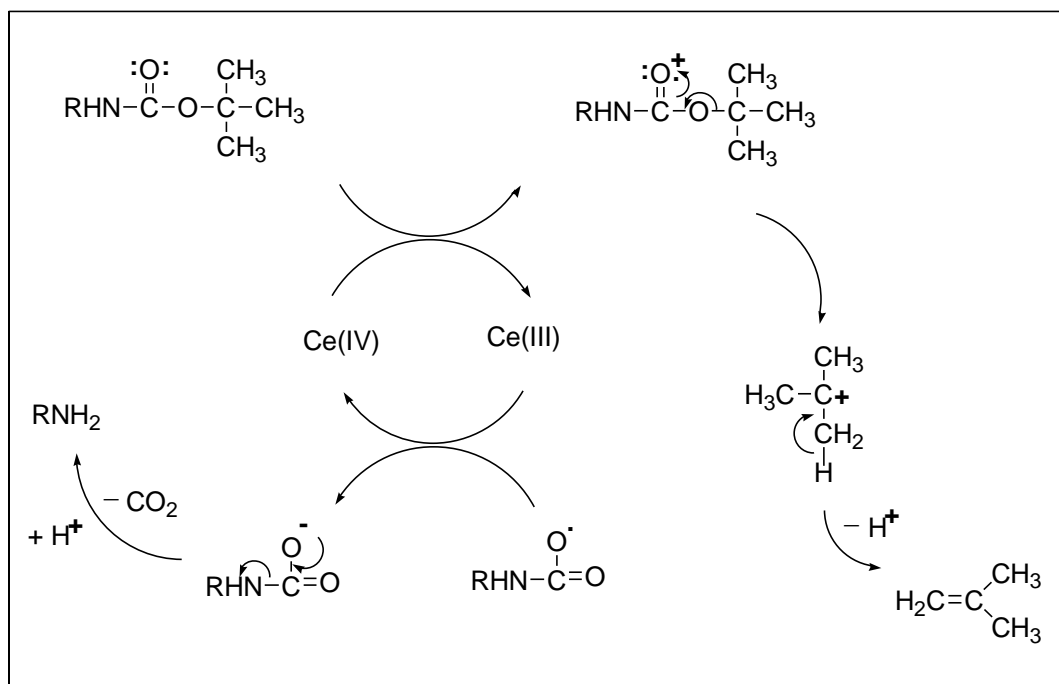


Il prodotto con la funzione amminica Boc-protetta (**10**) è stato trattato con 0.2 equivalenti di Cerio Ammonio Nitrato (CAN) in acetonitrile a refluxo.

Secondo Hwu la rimozione del gruppo Boc avviene attraverso la riduzione del Ce(IV) a Ce(III) e la contemporanea ossidazione del gruppo carbonilico ai corrispondenti cationi radicalici. Questi ultimi, per successiva frammentazione, forniscono il catione *t*-butilico ed i radicali carbossilato. La rigenerazione del Ce(IV) da Ce(III) durante la riduzione dei radicali carbossilato ad anioni carbossilato giustifica l'uso di CAN in quantità catalitiche. La successiva perdita di CO<sub>2</sub> e la protonazione portano all'ammina libera desiderata. (**Schema 4**) Questa metodica è particolarmente interessante date le condizioni di reazione poco aggressive: pH neutro, breve durata di reazione e uso di quantità catalitiche di cerio ammonio nitrato. Nel nostro caso però pur modificando ripetutamente le condizioni di reazione

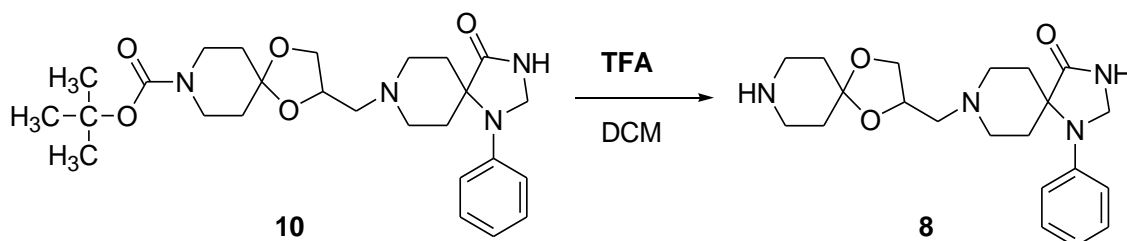
- ✓ temperatura di reazione: (a) temperatura ambiente (b) a ricadere
- ✓ equivalenti di CAN
- ✓ tempi di reazione

non è mai stato possibile isolare il prodotto desiderato.



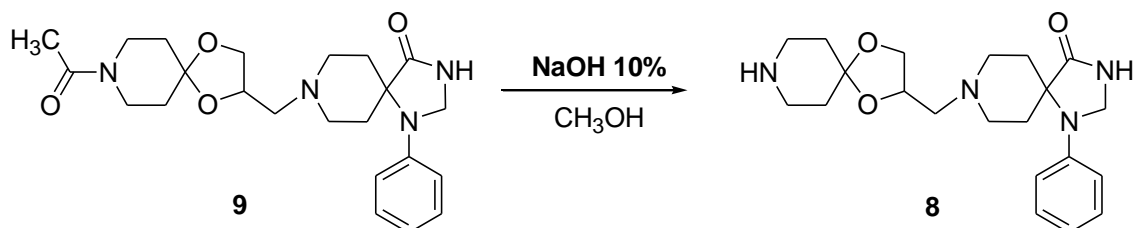
**Schema 4.** Meccanismo d'azione del CAN.

○ secondo Srinivasan<sup>112</sup>:



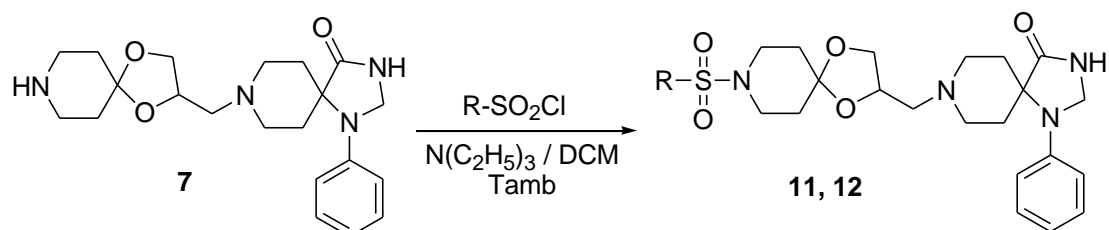
la N-Boc deprotezione con acido trifluoroacetico in soluzione in diclorometano anidro è stata condotta inizialmente con 10 equivalenti di TFA, aggiunti a piccole aliquote nel corso di 4 ore e 30 minuti a 50 °C, con un resa del 44% d. t. Se si utilizzano 30 equivalenti in 10 minuti a temperatura ambiente la resa sale al 61%. Entrambi i grezzi di reazione non hanno necessitato di purificazione mediante flash cromatografia.

○ secondo Dilbeck<sup>111</sup>:



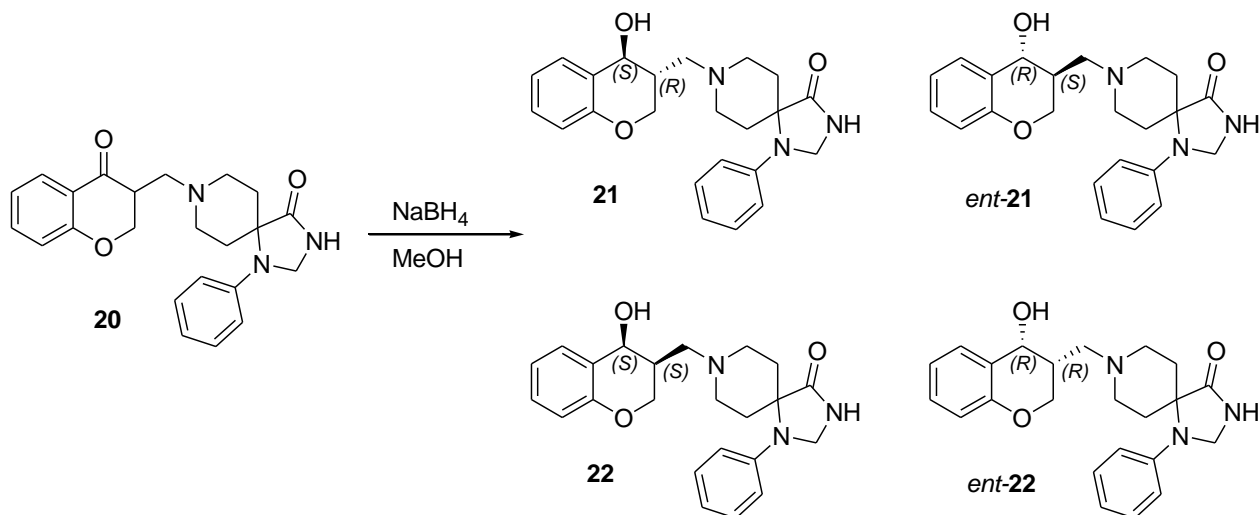
solubilizzando il composto **9** in metanolo e trattandolo con 1.9 equivalenti di NaOH al 10% a 80 °C per 6-8 ore è stato isolato l'atteso composto **7** (resa 96% d. t.).

❖ Tosilazione e mesilazione del composto **7** a **11** e **12**.



Composto	R	Durata reazione	Resa d. t. %
<b>11</b>	H <sub>3</sub> C-	1 h 15'	54
<b>12</b>	H <sub>3</sub> C-	15'	47

## Serie D

❖ Riduzione dei derivati **20** e **23** del cromanone a derivati del cromanolo

La riduzione del gruppo chetonico in posizione 4 del composto **20**, condotta con 4 equivalenti di sodio boroidruro in metanolo anidro, ha portato istantaneamente alla formazione dei quattro stereoisomeri corrispondenti alle due coppie diastereomeriche nelle quali i sostituenti prioritari sui carboni 3 e 4 del nucleo del cromanolo si trovano rispettivamente in relazione *trans* (**21**, *ent*-**21**) oppure *cis* (**22**, *ent*-**22**).

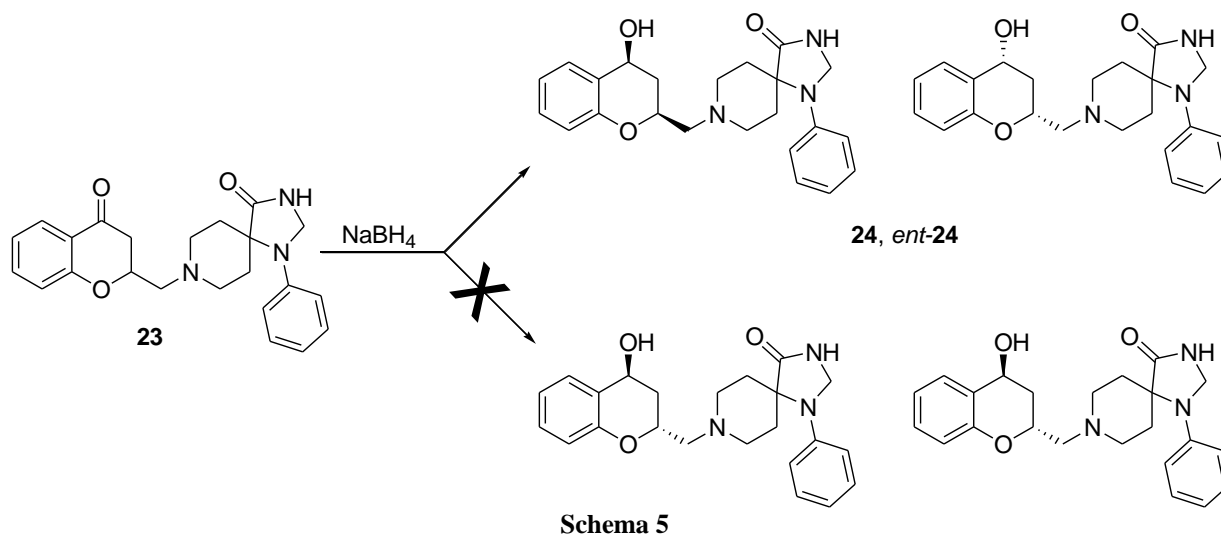
Il completamento della reazione viene segnalato dal passaggio da una sospensione bianca a una soluzione limpida, in quanto i derivati alcolici sono più solubili nel solvente di reazione rispetto al prodotto di partenza.

Le coppie diastereomeriche, sono state separate mediante:

- 1) purificazione preliminare con metodica flash cromatografica, che ha consentito di recuperare la coppia *trans* pura (**21**, *ent*-**21**) con una resa del 50% d. t., mentre la coppia *cis* (**22**, *ent*-**22**) è stata eluita quasi interamente in miscela con un 15% della coppia *trans*;
- 2) la coppia *cis* è stata isolata con una resa del 30% d. t. mediante lavaggio con etile acetato. In particolare, la coppia *cis* è risultata insolubile in molti solventi, tra cui diclorometano, cloroformio, etile acetato, acetonitrile ed etere etilico, poco solubile in metanolo e diossano.

Per il momento, non è stato effettuato nessun tentativo di separazione degli enantiomeri.

La relazione *trans* oppure *cis* è stata stabilita mediante esperimenti  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  NOESY. In particolare, nella coppia **21**, ent-**21** è presente effetto NOE tra l'H-3 e l'ossidrile in posizione 4 del nucleo cromanolico, evidenziando un'isomeria di tipo *trans* tra l'OH e il feniltriazaspirodecanone. Al contrario, tale effetto non è presente nella coppia **22**, ent-**22** in cui i due sostituenti principali sul C-3 e sul C-4 del cromanoolo sono in relazione *cis* (vedi allegato parte sperimentale).



La riduzione del gruppo chetonico in posizione 4 del composto **23** è stata condotta nelle stesse condizioni applicate al derivato 3 sostituito (**20**). Anche in questo caso, la reazione ha avuto un decorso molto rapido (30 minuti) ma, contrariamente a quanto si è verificato per i derivati 3-sostituiti **21** e **22**, ha fornito quantitativamente la sola coppia diastereomerica (**24**, ent-**24**) a configurazione *cis* [ $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  NOESY] (**Schema 5**).

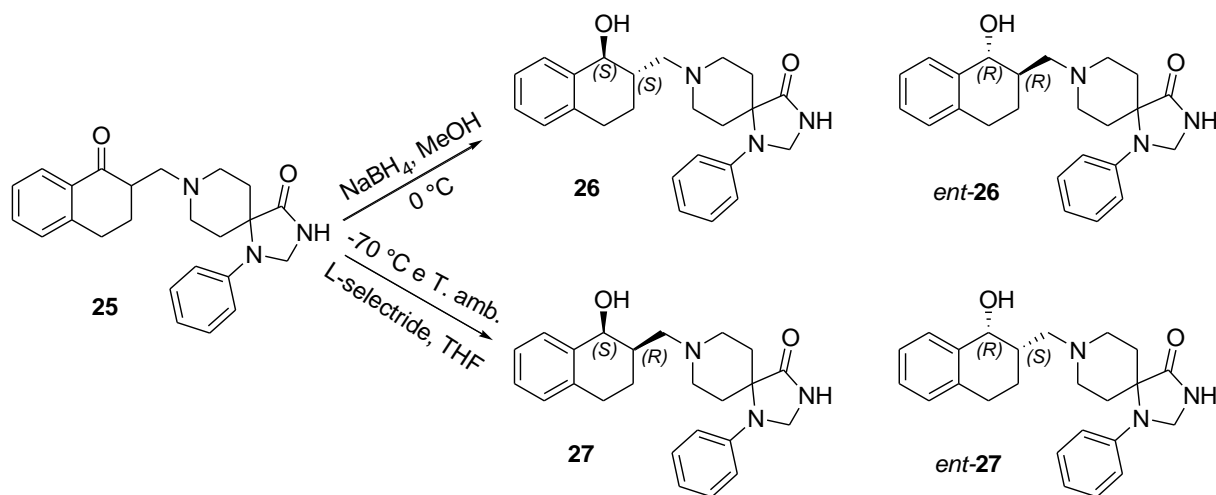
La reazione è stata ripetuta utilizzando come agente riducente 4 equivalenti di L-selectride (litio tri-sec-butillboroidruro) a  $-70\text{ }^\circ\text{C}$  in tetraidrofurano, agente riducente utilizzato con successo da Vogt et al. nel caso degli analoghi derivati tetralonici<sup>116</sup>, ma anche in questo caso è stata ottenuta esclusivamente la coppia *cis* fra l'altro con resa inferiore (28% d. t.).

L'ottenimento della sola coppia a configurazione *cis* probabilmente è legato alla formazione di interazioni polari tra i sostituenti in posizione 2 e 4 del nucleo del cromanoolo, che si vengono a trovare dalla stessa parte rispetto al piano della molecola, stabilizzando questo tipo di configurazione.

Per il momento, non è stato effettuato nessun tentativo di separazione degli enantiomeri **24**, ent-**24**.

## Serie E

- ❖ Riduzione del derivato tetralonico 2-sostituito **25** a derivati del tetralinolo



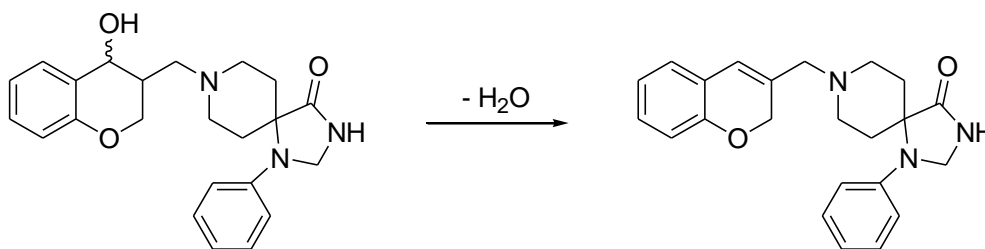
Per riduzione del gruppo chetonico del composto **25**, sono stato ottenuti i derivati del tetralinolo sotto forma di quattro stereoisomeri corrispondenti a due coppie diastereomeriche nelle quali i sostituenti prioritari sui carboni 1 e 2 del nucleo del tetralinolo si trovano rispettivamente in relazione *trans* (**26**, *ent-26*) oppure *cis* (**27**, *ent-27*).

La riduzione del composto **25** con 3 equivalenti di sodio boridruro in metanolo anidro ha fornito con una resa dell'87% d. t. una sola coppia diastereomerica che, in base ai dati  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  NOESY, risulta avere configurazione *trans* (**26**, *ent-26*). In particolare, non è presente effetto NOE tra l'H-1 e l'H-2 del tetralinolo, in quanto sono disposti da parti opposte rispetto al piano della molecola (vedi allegato parte sperimentale).

Il trattamento del derivato **25** con L-selectride (3 equivalenti) a  $-70\text{ }^\circ\text{C}$  in tetraidrofurano<sup>116</sup> ha portato invece all'ottenimento della coppia con configurazione *cis* (**27**, *ent-27*), come confermato dall'analisi  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  NOESY (resa 20% d. t.). In questo caso, è ben visibile effetto NOE tra l'H-1 e l'H-2 del tetralinolo (vedi allegato parte sperimentale).

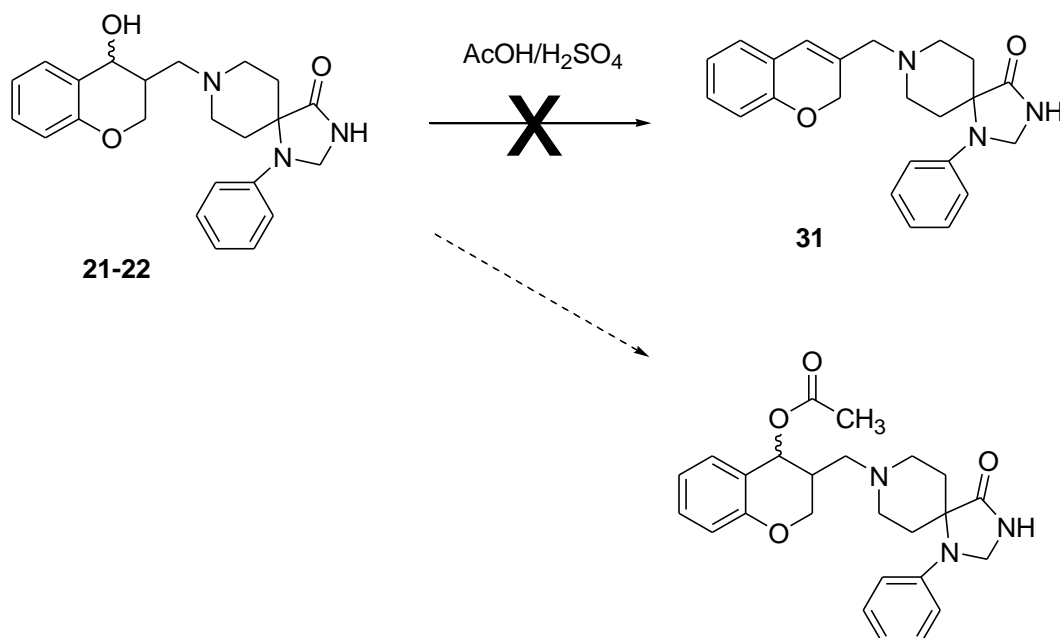
## Serie G

- ❖ Disidratazione dei derivati del cromanolo a cromene



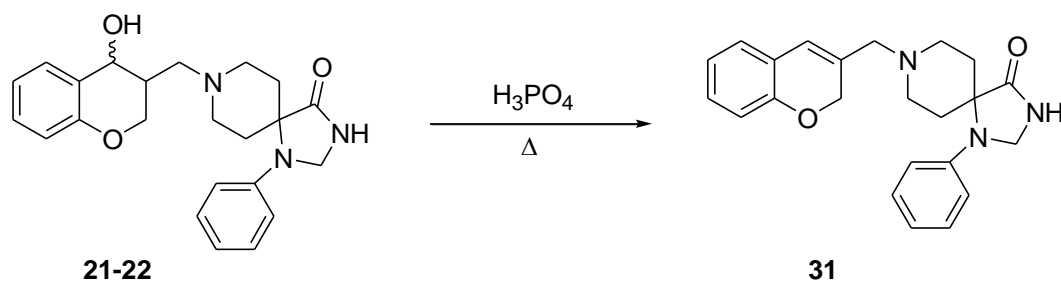
Sono state valutate due procedure di disidratazione:

- 1) *disidratazione con una miscela di acido acetico glaciale (AcOH) e acido solforico concentrato:*



La reazione è stata eseguita seguendo le condizioni riportate da Cozzi e coll.<sup>129</sup> per l'ottenimento di derivati dell'1,2-diidronaftalene, ovvero trattando i derivati **21**, **22** con una miscela 1:7 acido solforico concentrato/acido acetico glaciale. Dopo 15 minuti a temperatura ambiente, l'analisi cromatografica TLC ha evidenziato l'esaurimento dell'alcool di partenza e la formazione di un prodotto caratterizzato da maggiore lipofilia. In base ai dati LCMSIT e NMR registrati, è stato accertato che tale composto non corrisponde a quello atteso, ma all'estere acetico dei derivati **21**, **22** (**Schema 6**).

Al fine di favorire la disidratazione dell'alcool di partenza piuttosto che l'esterificazione con acido acetico, è stata aumentata la temperatura a 100 °C ma anche in questo caso non è stato recuperato il prodotto atteso ma si è osservata solo degradazione dell'alcool di partenza.

2) *disidratazione con acido fosforico concentrato:*

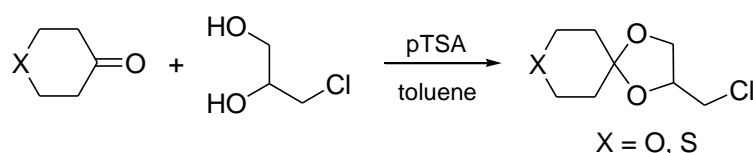
Poiché l'acido solforico è spesso causa di una parziale carbonizzazione e porta alla formazione di molti sottoprodotti, si è effettuato un secondo tentativo di disidratazione scegliendo come catalizzatore l'acido fosforico concentrato, che non presenta tale inconveniente.

Questa prova di reazione è stata eseguita solubilizzando il cromanoolo 3-sostituito nella minima quantità richiesta di  $\text{H}_3\text{PO}_4$  e aumentando gradualmente il riscaldamento da temperatura ambiente fino a  $100\text{ }^\circ\text{C}$ . Con questa procedura sintetica il composto **31** è stato isolato con una resa del 24% d. t. ed è risultato che la temperatura ottimale per l'ottenimento del prodotto atteso è intorno ai  $50\text{ }^\circ\text{C}$ , in quanto a temperature più basse non è stata osservata la formazione di alcun prodotto di reazione, mentre a temperature più alte si è osservata la degradazione del composto **31** neo-formato in maniera direttamente proporzionale all'aumentare del riscaldamento.

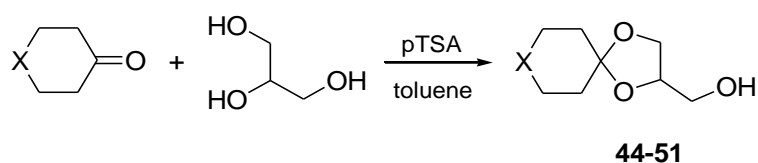
## PREPARAZIONE DEGLI INTERMEDI:

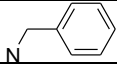
## Serie A

I derivati 2-clorometil-1,4-diossolanici 5-spirosostituiti sono stati ottenuti in virtù del loro carattere acetalico, per condensazione tra l'opportuno chetone e 1-cloropropan-2,3-diolo. Le reazioni di ciclizzazione sono state condotte in presenza di una quantità catalitica di acido p-toluensolfonico (0.05-0.08 equivalenti) in toluene. La miscela viene scaldata a refluxo in presenza dell'apparecchio di Dean-Stark che permette che i vapori della miscela azeotropica (p.e. <100 °C), una volta condensati dal refrigerante, ricadano in un cilindro laterale in cui l'acqua si separa dallo strato toluenico superiore. Quest'ultimo trabocca poi sistematicamente nel pallone di reazione.



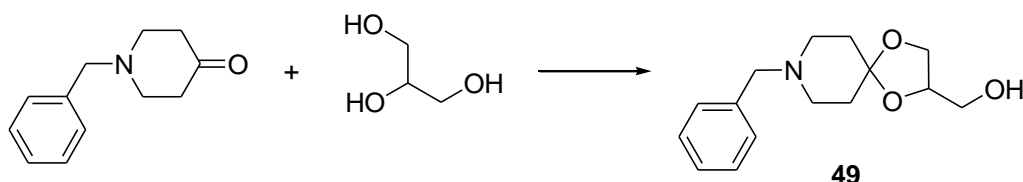
Analogamente, gli intermedi 2-idrossimetil-1,4-diossolanici 5-spirosostituiti (**44-51**), da convertire successivamente nei tosilderivati, sono stati ottenuti per condensazione tra l'opportuno chetone e glicerolo.



Composto	X	Resa (% d.t.)	Composto	X	Resa (% d. t.)
<b>44</b>	CH <sub>2</sub>	98	<b>48</b>	O	95
<b>45</b>	CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub>	68	<b>49</b>		35
<b>46</b>	-	85	<b>50</b>	N-COCH <sub>3</sub>	85
<b>47</b>	S	quant.	<b>51</b>	N-C(=O)OC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	12

Queste reazioni di ciclizzazione richiedono, di norma, tempi brevi, danno rese praticamente quantitative e i prodotti ottenuti non necessitano di purificazione cromatografica.

Nel caso del derivato del 1-benzil-piperidin-4-one (8-benzil-1,4-diossa-8-aza-spiro[4,5]dec-2-il)-metanolo, **49**) sono stati necessari quantitativi maggiori di glicerolo (7 equivalenti) e p-TSA e la durata della reazione è stata protratta fino a 24-48 ore, senza peraltro giungere a completezza con una resa media del 35 % d. t.



La reazione è stata condotta anche in forno a microonde impostando i seguenti parametri:

- “OPEN VESSEL”,
- temperatura: 160 °C,
- durata: 2 ore,
- ramping: 10 minuti,
- potenza: 300 watt,

nelle stesse condizioni di reazione delle altre ciclizzazioni: soluzione toluenica a refluxo con refrigerante e apparecchio di Dean-Stark.

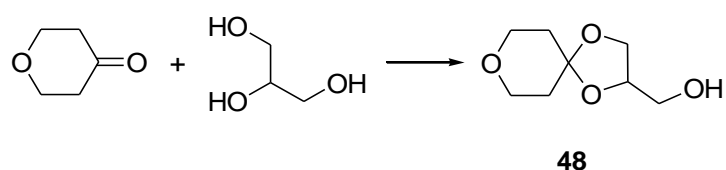
Al termine del 1° ciclo, attraverso un'analisi TLC si osserva che nella miscela di reazione è presente ancora molto prodotto di partenza. La miscela di reazione, dopo filtrazione è stata nuovamente messa a reagire mantenendo gli stessi parametri del ciclo precedente, aggiungendo 5 equivalenti di glicerolo e aumentando il tempo di reazione fino a 5 ore.

Al termine del secondo ciclo, dall'analisi TLC si osserva che nella miscela di reazione è ancora presente solo prodotto di partenza, per cui si è deciso di abbandonare l'uso del microonde e condurre la reazione per via classica, seguita da purificazione cromatografica mediante sistema automatizzato SP1. In questo modo **49** è stato isolato con una resa del 35 % d. t., molto più bassa rispetto a quella degli altri derivati idrossimetilenici sintetizzati, probabilmente a causa del maggior ingombro sterico del chetone di partenza.

Le stesse problematiche sono state riscontrate per il composto **51**, derivato del N-Boc-piperidone (N-*tert*-Butossicarbonil-4-piperidone), per il quale sono state effettuate due prove di ciclizzazione: la prima è durata circa 20 ore, senza portare all'esaurimento del

chetone di partenza, la seconda è stata interrotta dopo 5 ore e 30 minuti perché, attraverso periodiche analisi della miscela di reazione mediante TLC, non si sono rilevate modifiche sostanziali rispetto alla situazione registrata dopo le prime 2-3 ore. Le rese della prima e seconda reazione di ciclizzazione sono infatti tra loro paragonabili (15% e 12% rispettivamente) e per entrambe il grezzo di reazione è stato purificato mediante flash cromatografia con il sistema automatizzato SP1. La purificazione per cromatografia si è resa necessaria per separare il Boc-piperidone di partenza dal prodotto desiderato.

Nel caso del composto **48** invece, si sono riscontrati dei problemi al momento del work-up.

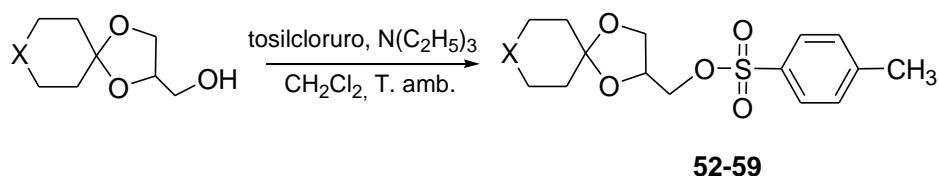


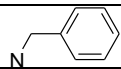
Di norma per questo tipo di ciclizzazioni il work up prevede:

- evaporazione del toluene a pressione ridotta,
- 2 lavaggi della fase organica con una soluzione satura di sodio bicarbonato,
- un ultimo lavaggio con H<sub>2</sub>O,
- estrazione della fase acquosa con diclorometano.

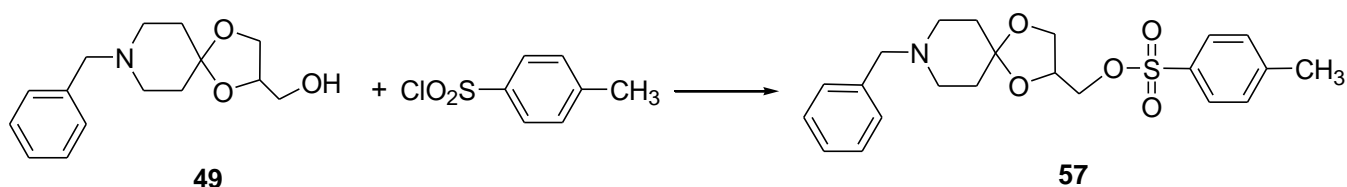
Dall'analisi TLC di fine work-up si osserva la presenza di molto prodotto nella fase acquosa, si tratta infatti di una molecola contenente 4 atomi di O, che le impartiscono un netto carattere idrofilo. Dopo alcuni inutili tentativi di modifica delle condizioni di estrazione si è deciso di procedere mediante semplice decantazione-filtrazione dei residui di glicerolo e p-TSA ed evaporazione del toluene a pressione ridotta. In questo modo **48** è stato isolato con ottime rese (95% d. t.).

Le reazioni di tosilazione sono state effettuate con 1.5-2.5 equivalenti di cloruro di tosilile in diclorometano anidro, in presenza di trietilammina (2-3 equivalenti), sotto flusso d'azoto.



Composto	X	Resa (% d. t.)	Composto	X	Resa (% d. t.)
52	CH <sub>2</sub>	48	56	O	48
53	CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub>	71	57		43
54	-	19	58	N-COCH <sub>3</sub>	58
55	S	64	59	N-C(=O)OC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	63

La reazione libera HCl, pertanto la presenza di trietilammina è fondamentale per sottrarre l'acido dall'equilibrio favorendo il completamento della reazione mantenendo la neutralità nell'ambiente di reazione. Si tratta comunque di reazioni che difficilmente vanno a completamento e necessitano di successive purificazioni cromatografiche, le rese generalmente sono comprese tra il 40 e il 70 % d. t.



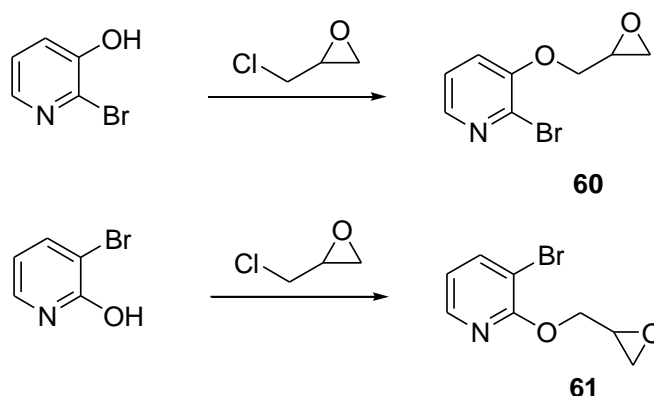
Nel caso di **49** la reazione è stata condotta anche in forno a microonde utilizzando 4-dimetilammino-piridina (DMAP) al posto della trietilammina e impostando i seguenti parametri:

- temperatura: 50 °C,
- durata: 5 minuti,
- ramping: 1 minuto,
- pressione: 150 PSI,
- potenza: 100 watt.

Dopo il primo ciclo ne sono stati eseguiti ancora uno della durata di 10 minuti e uno di 5 minuti per complessivi 20 minuti, contro le 7 ore necessarie per via classica, con una resa paragonabile a quella ottenuta con la reazione effettuata per via classica (~ 40% d. t.). Nonostante questa metodica sia vantaggiosa dal punto di vista della tempistica, si è deciso di abbandonarla perché i vials da microonde disponibili potevano contenere solo piccole quantità di reagenti e quindi sarebbe stato necessario effettuare numerosi cicli per ottenere le quantità di prodotto necessarie per poter condurre le reazioni successive.

## Serie B

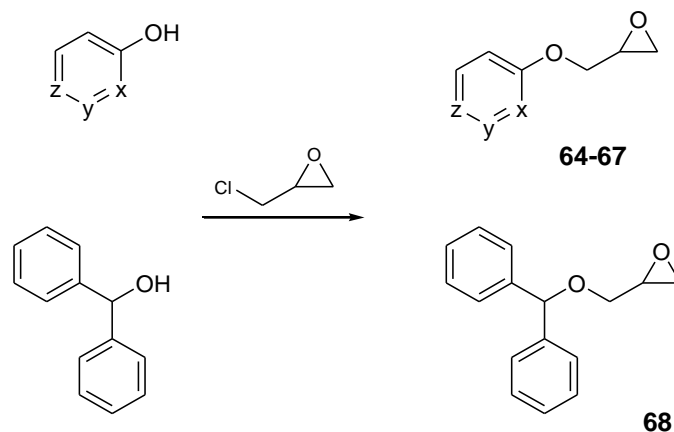
Gli epossidi **60** e **61** sono stati ottenuti nelle condizioni riportate da Lazar e coll.<sup>114</sup>, a partire rispettivamente dalla 2-bromo-3-idrossipiridina e dalla 3-bromo-3-idrossipiridina, con un forte eccesso (10 equivalenti) di epiclorigrina in presenza di sodio idruro e riscaldando a 60°C per 1 ora: in entrambi i casi è stato ottenuto il prodotto desiderato con una resa pari all'86% d.t.



## Serie C

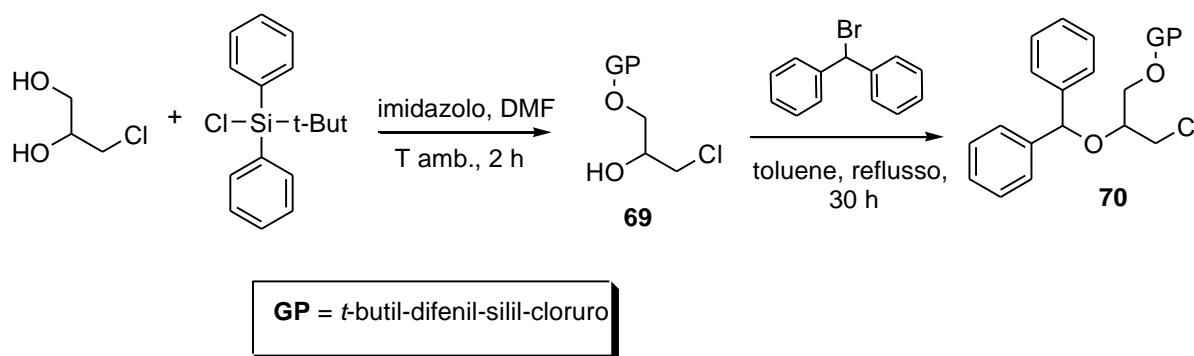
Le idrossipiridine, rispetto alle bromoidrossipiridine utilizzate per l'ottenimento dei derivati della *serie B*, si sono rivelate particolarmente reattive e gli epossidi ottenuti instabili anche a basse temperature, è stato quindi necessario:

- ✓ diminuire gli equivalenti di epiclorigrina (da 10 a 2.5);
- ✓ abbassare la temperatura di reazione a 40 °C, per evitare la facile degradazione pirolitica del prodotto di reazione: la necessità di non superare i 40 °C ha impedito l'allontanamento della dimetilformamide dal grezzo di reazione durante il work-up, di conseguenza questo solvente è stato mantenuto anche durante la successiva sostituzione nucleofila al posto del tetraidrofurano previsto inizialmente;



Composto	x	y	z	T °C	Durata reazione	Resa % d. t.
64	CH	CH	CH	40	1h e 30'	quantitativa
65	N	CH	CH	40	1h e 30'	60
66	CH	N	CH	40	1h e 30'	21
67	CH	CH	N	60	1h	86
68				60	23 h	35

Il (2-benzidrilossi-3-cloro-propossi)-ter-butyl-difenil-silano (**70**) è stato ottenuto a partire dal 3-cloro-1,2-propandiolo, il cui gruppo alcolico primario è stato protetto con *tert*-butil-difenil-silil-cloruro per favorire l'attacco selettivo in posizione 2, per reazione con bromodifenilmetano.



Nel caso di bromo benzene e 2-bromopiridina la reazione non ha fornito gli intermedi attesi, nonostante siano state variate le condizioni di reazione.

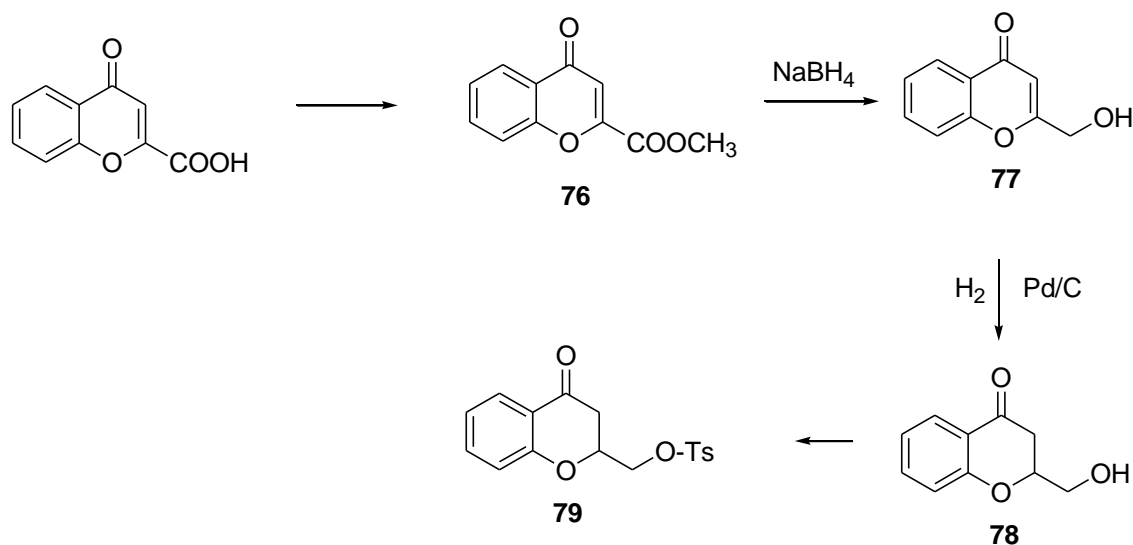
In particolare sono stati valutati:

- ✓ innalzamento della temperatura fino a 160 °C

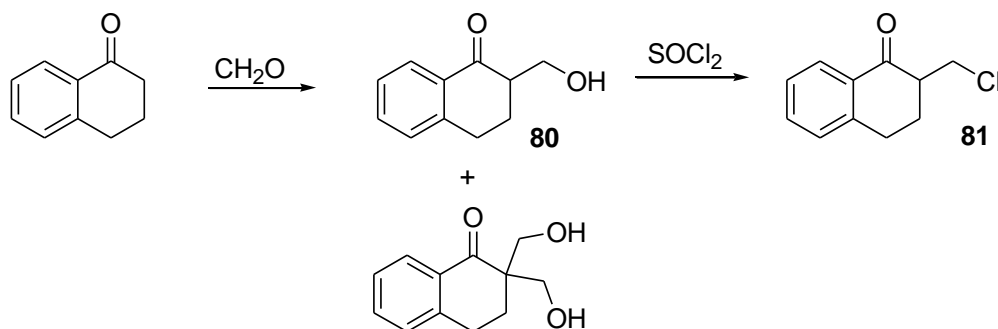
- ✓ aumento degli equivalenti di 3-cloro-propandiolo protetto da 3 a 5
- ✓ utilizzo di tre diversi tipi di basi a forza crescente ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , *t*-BuOK, NaH)
- ✓ aumento del tempo di reazione
- ✓ riscaldamento classico tramite bagno al silicone
- ✓ riscaldamento al microonde.

## Serie D

Il 2-idrossimetil-cromone **77** è stato sintetizzato come proposto da Baziard-Mouysset e coll.<sup>124</sup>, a partire dall'acido cromon-2-carbossilico, commercialmente disponibile, per esterificazione e successiva riduzione con  $\text{NaBH}_4$  in metanolo. L'idrogenazione catalitica di **77** con Pd/C al 10% in metanolo<sup>125</sup> ha fornito l'atteso 2-idrossimetil-croman-4-one **78** in basse rese (27%). L'intermedio **78** è stato poi convertito nel corrispondente tosil-derivato **79**



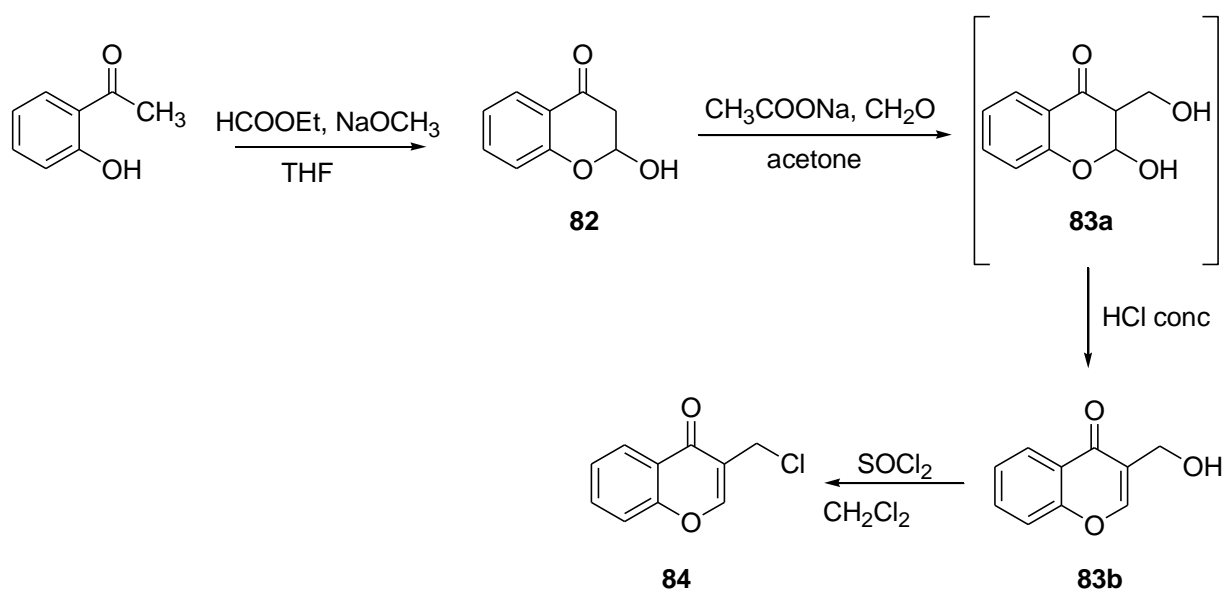
## Serie E



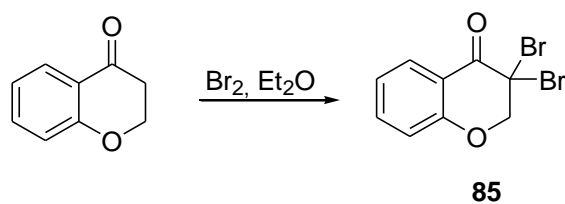
Il trattamento dell' $\alpha$ -tetralone con 3.8 equivalenti di formaldeide soluzione acquosa al 37% in presenza di 1 equivalente di  $K_2CO_3$ , utilizzando come solvente una miscela 1:1  $H_2O$ /acetone<sup>126</sup>, fornisce dopo 12 ore a 40 °C il 2-idrossimetil-tetralone (**80**), con una resa del 44% d. t., accanto al derivato bis-idrossimetilenico. L'intermedio **80** è stato quantitativamente convertito nel corrispondente clorometil-derivato **81**, mediante trattamento con tionilcloruro.

### Serie F

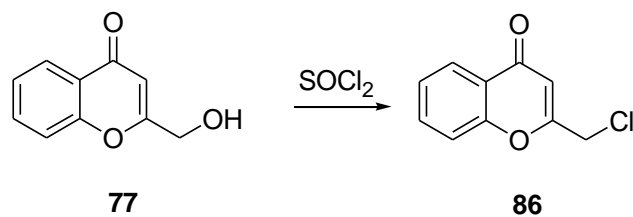
Il 3-idrossimetil-cromone (**83b**), è stato preparato secondo la procedura descritta da Bolós e coll.<sup>127</sup> e trasformato nel cloro derivato per reazione con cloruro di tionile



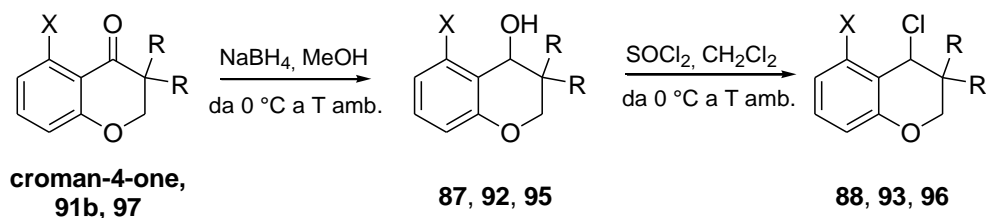
Il 3,3-dibromo-cromanone **85** è stato ottenuto con resa quantitativa per reazione del 4-cromanone con acqua di bromo come agente alogenante ed etere dietilico come solvente, a refluxo per 2 ore.



Il 2-idrossimetil-cromone (**77**) è stato convertito nel corrispondente 2-clorometil-derivato **86** mediante trattamento con cloruro di tionile.

*Serie G*

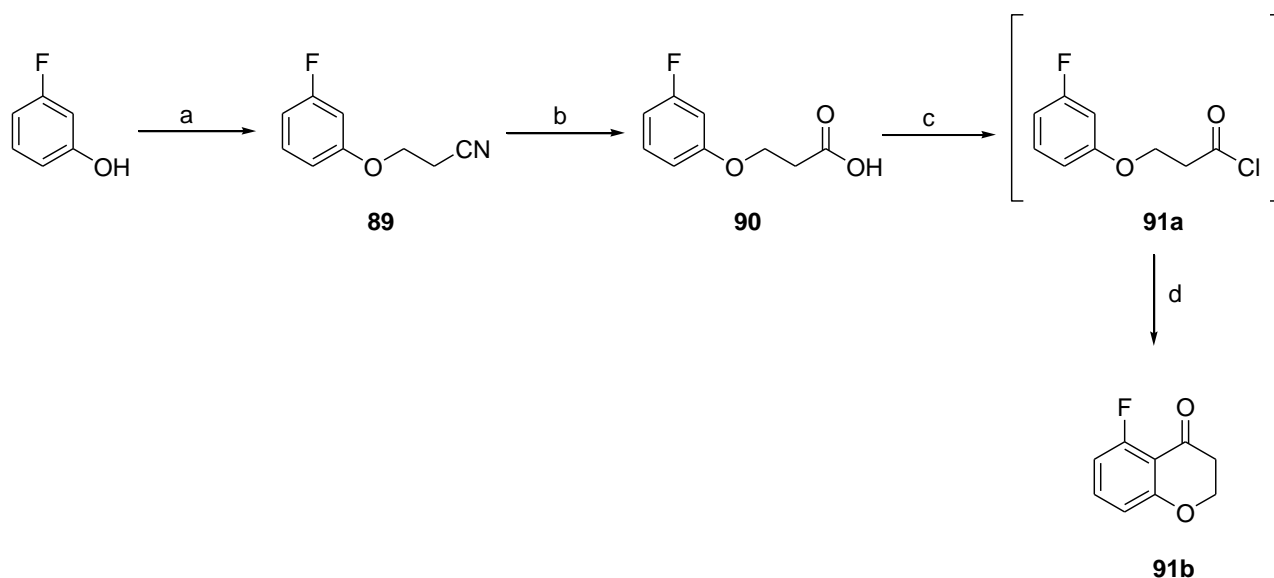
I cloro-derivati **88**, **93** e **96** sono stati ottenuti con cloruro di tionile in diclorometano a partire dagli alcoli **87**, **92** e **95** provenienti dalla riduzione con sodio boridruro del croman-4-one opportunamente sostituito.



Composto	X	R
<b>87, 88</b>	H	H
<b>91b-93</b>	F	H
<b>94-96</b>	H	CH <sub>3</sub>

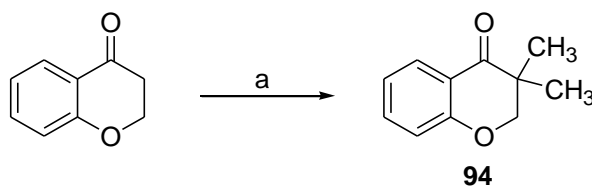
Fatta eccezione per il croman-4-one, disponibile commercialmente, i cromanoni sostituiti sono stati sintetizzati secondo i protocolli riportati in letteratura:

- 5-fluoro-cromanone (**91**)<sup>130</sup>:



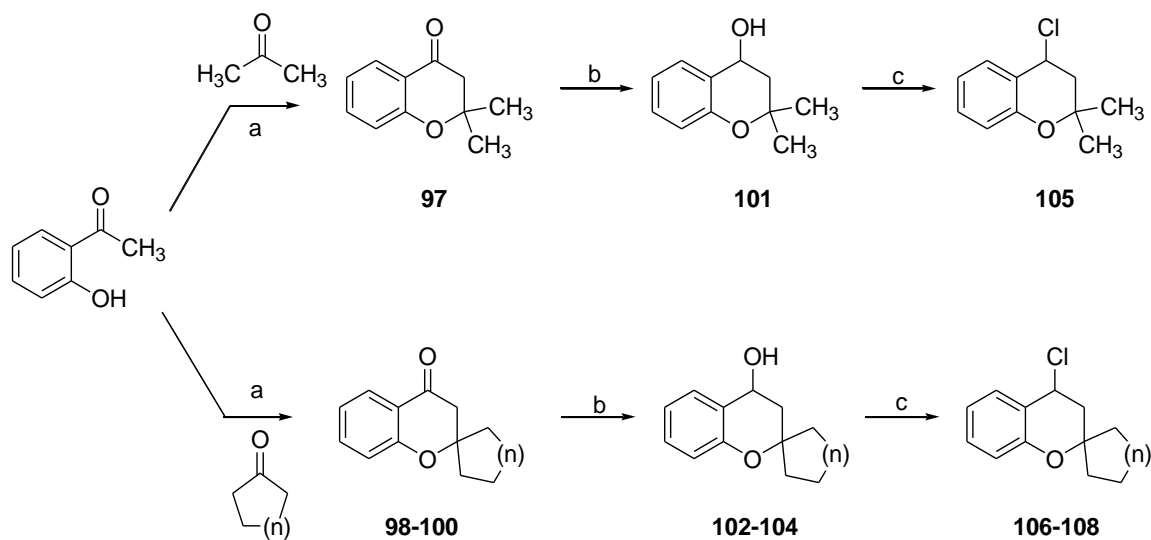
**Condizioni:** a) Acrilonitrile, Triton B, 70 °C, 24 h; b) HCl conc., 100 °C, 20 h; c) SOCl<sub>2</sub>, toluene, 0 °C → t. a., 1.5 h; d) acido triflico, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -70 °C → t. a., 2 h.

- 3,3-dimetil-croman-4-one (**94**)<sup>131</sup>:



**Condizioni:** a) CH<sub>3</sub>I, *t*BuOK, THF, -70 °C → t. a., 24 h.

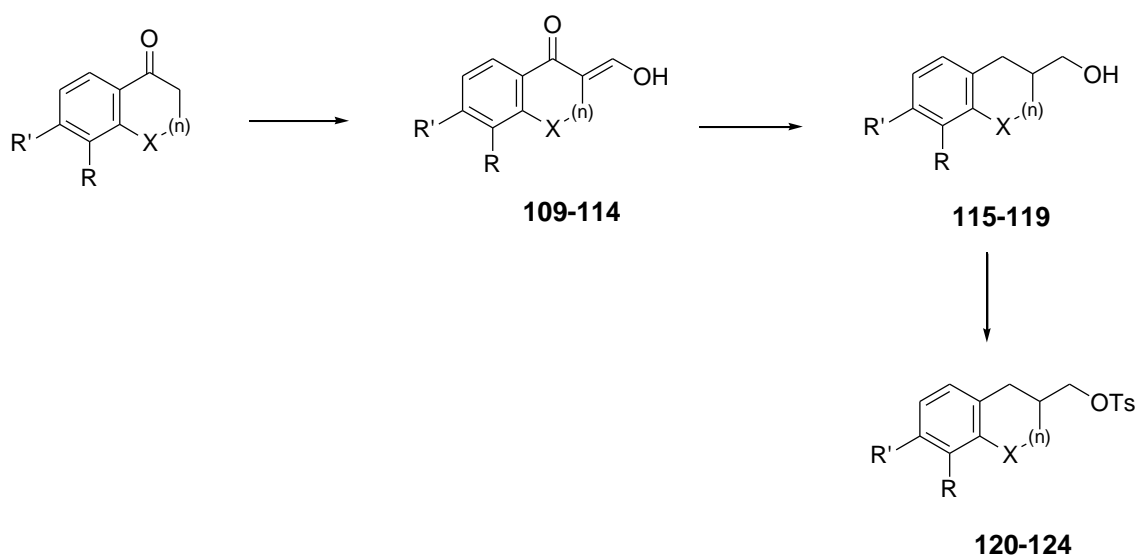
I cloro derivati **105**, **106-108** sono stati ottenuti a partire dai corrispondenti alcoli derivanti a loro volta dalla riduzione dei cromanoni corrispondenti



**Condizioni:** a) acetone, ciclopentanone, cicloesaneone o cicloeptanone, pirrolidina, EtOH, refluxo [Ref. 132]; b)  $\text{NaBH}_4$ , MeOH,  $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{t. a.}$ ; c)  $\text{SOCl}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ,  $0^\circ\text{C} \rightarrow \text{t. a.}$

Composto	n
98, 102, 106	0
99, 103, 107	1
100, 104, 108	2

## Serie H

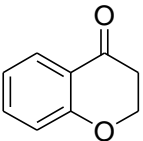
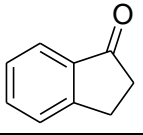
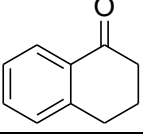


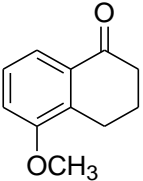
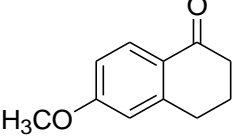
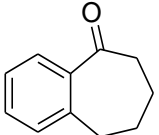
Composto	(n)	X	R	R'
<b>109, 115, 120</b>	1	O	H	H
<b>110, 116, 121</b>	1	CH	H	H
<b>111, 117, 122</b>	1	CH	OCH <sub>3</sub>	H
<b>112, 118, 123</b>	1	CH	H	OCH <sub>3</sub>
<b>113, 119, 124</b>	0	CH	H	H
<b>114</b>	2	CH	H	H

Il passaggio di conversione dei derivati chetonici commerciali nei corrispondenti derivati idrossi-metilenici **109-114**, è stato realizzato con etilformiato e una quantità catalitica di etanolo, conducendo la reazione in etere etilico, in presenza di una base forte in grado di indurre la deprotonazione in  $\alpha$  al carbonile. Per questo tipo di reazione in letteratura è previsto l'utilizzo di diverse basi (sodio idruro, sodio metallico, potassio *t*-butossido e sodio *t*-butossido) e solventi (toluene, acetonitrile o etere etilico)<sup>133-136</sup>. Per ottenere i derivati **109** e **113** (Tabella 2), sono state inizialmente utilizzate le condizioni sperimentali suggerite da Prasad e Rastogi per l'ottenimento del derivato **114**<sup>136</sup>, che prevedono l'uso di NaH in etere etilico. Tuttavia, le basse rese di queste prove ci hanno spinto a trovare delle condizioni sperimentali più vantaggiose, che vedono nella coppia solvente/base etere etilico/sodio *t*-butossido e nell'aggiunta di quantità catalitiche di etanolo, le variabili migliori per ottimizzare in maniera significativa sia la resa che la durata della reazione (Tabella 2).

Pertanto, queste condizioni sono state applicate all'ottenimento di tutti gli altri derivati idrossi-metilenici.

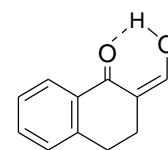
Tabella 2

Inter.	Chetone	Base	Eq. HCOOEt	Agg. Etanolo	t	T° C	Solvente	Resa
<b>109</b>		NaH (2.9 eq.)	5	no	16 h	0° C → 80° C	CH <sub>3</sub> CN	0 %
		NaH (1.5 eq.)	come solvente	no	12 h	0° C → t. a.	/	16 %
		NaOtBu (2 eq.)	2	si	1 h	0° C → t. a.	Et <sub>2</sub> O	70 %
<b>113</b>		NaH (1.2 eq.)	2	no	19 h	0° C → t. a.	CH <sub>3</sub> CN	35 %
		NaOtBu (1.8 eq.)	1.8	si	15'	0° C → t. a.	Et <sub>2</sub> O	90 %
<b>110</b>		NaOtBu (1.5 eq.)	1.2	si	15'	0° C → t. a.	Et <sub>2</sub> O	72 %

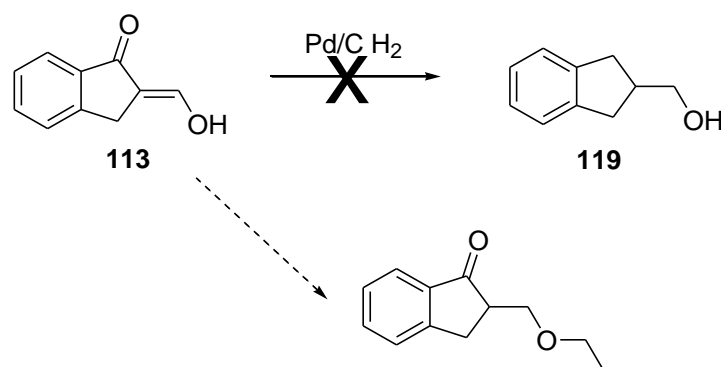
111		NaOtBu (2 eq.)	2	si	1 h	0° C → t. a.	Et <sub>2</sub> O	88 %
112		KOtBu (2 eq.)	2	si	1 h	0° C → t. a.	Et <sub>2</sub> O	61 %
114		NaOtBu (2 eq.)	2	si	1 h	0° C → t. a.	Et <sub>2</sub> O	97 %

In base al comportamento cromatografico i derivati idrossimetilenici del tetralone, **110**, **111** e **112**, sono risultati più apolari rispetto al chetone di partenza, nonostante la presenza del gruppo enolico, che dovrebbe conferire alla molecola un maggior carattere idrofilo.

Tale comportamento probabilmente è legato alla formazione di un ponte idrogeno intramolecolare tra il gruppo idrossilico e l'ossigeno chetonico<sup>134</sup>, che nei derivati del 4-cromanone, del 1-indanone e del 1-benzosuberone e (**109**, **113** e **114**) non è presente per motivi conformazionali



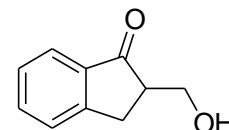
Per la riduzione ad alcoli **115-119**, in un primo momento è stato seguito l'approccio riportato da Prasad e Rastogi<sup>136</sup>, ovvero un'idrogenazione catalitica con Pd/C 10% a 50 psi in etanolo. La prima prova, condotta sul derivato dell'indanone (**113**), non ha originato il prodotto atteso, ma il 2-etossimetil-indan-1-one, come si è accertato dall'analisi spettroscopica NMR.



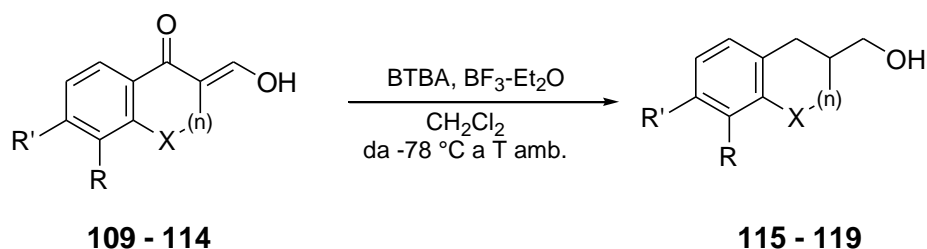
Ciò è sicuramente legato all'utilizzo dell'etanolo come solvente di reazione ed è un fenomeno che accompagna spesso le idrogenazioni catalitiche in presenza di solventi alcolici. Il

probabile meccanismo di alchilazione è analogo a quello visto per l'ottenimento del composto **8** a partire dall'*N*-benzilderivato **6**<sup>107-109</sup>.

Alla luce di questi dati, si è eseguita un'ulteriore prova utilizzando come solvente il diclorometano. Anche in questo caso, tuttavia, non si è ottenuto il prodotto desiderato, ma il derivato  $\alpha$ -carbonilico 2-idrossimetil-indanone.



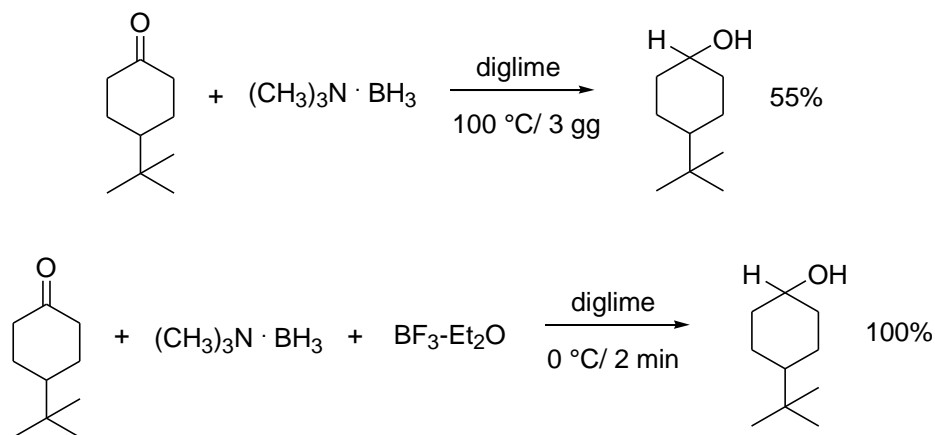
I risultati insoddisfacenti sopra riportati ci hanno spinto a seguire il protocollo sintetico, descritto da Pearce e coll.<sup>134</sup> per l'ottenimento del derivato **118**. L'agente riducente in questo caso è rappresentato dal complesso borano-*t*-butilammina (BTBA), in presenza di boro trifluoruro eterato (BF<sub>3</sub>-Et<sub>2</sub>O) in quantità equimolari (5 eq.), a -78 °C in diclorometano.



Composto	(n)	X	R	R'	Resa 115-119 (% d. t.)
<b>109, 115</b>	1	O	H	H	37%
<b>110, 116</b>	1	CH	H	H	20%
<b>111, 117</b>	1	CH	OCH <sub>3</sub>	H	41%
<b>112, 118</b> <sup>134</sup>	1	CH	H	OCH <sub>3</sub>	26%
<b>113, 119</b>	0	CH	H	H	37%
<b>114</b>	2	CH	H	H	0%

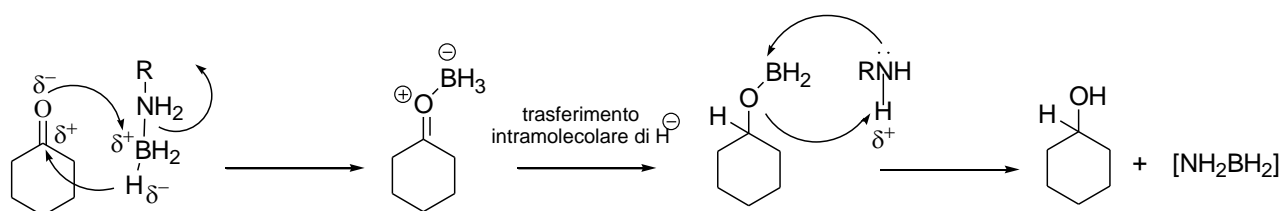
L'utilizzo del BF<sub>3</sub>-Et<sub>2</sub>O permette di ridurre non solo i tempi di reazione, ma anche la quantità di BTBA che sarebbe richiesta di norma per un risultato apprezzabile, in quanto agisce da acido di Lewis ed attiva il carbonile verso la riduzione da parte del borano<sup>137, 138</sup>. Questo interessante fenomeno secondo il quale i complessi ammino-boranici hanno un potere riducente maggiore in ambiente acido, fu scoperto da Jones nel 1959<sup>137</sup>. Egli riporta la riduzione del 4-*t*-butilcicloesanoone con un complesso trimetilammina-borano in diglime sia in assenza che in presenza dell'acido di Lewis BF<sub>3</sub>-Et<sub>2</sub>O: senza BF<sub>3</sub>-Et<sub>2</sub>O la riduzione è

incompleta anche dopo riscaldamento a 100 °C per 3 giorni, mentre con il  $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$  il chetone di partenza si riduce quantitativamente in 2 minuti a 0 °C.

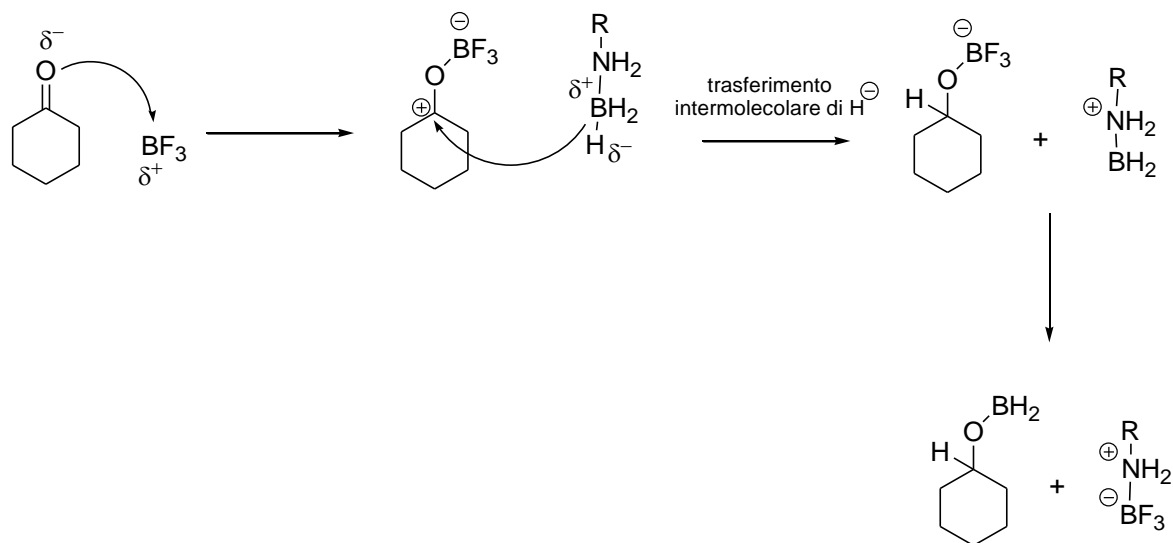


La velocità di reazione dei complessi ammino-boranici aumenta all'aumentare dell'acidità del ambiente<sup>139</sup>. La reazione di riduzione prevede inizialmente la lenta formazione di un complesso chetone-borano, seguita da un rapido trasferimento intramolecolare dell'idruro (**Schema 7.1**). Affinché ciò avvenga, è necessaria la dissociazione del  $\text{BH}_3$  dal complesso ammina-borano, ma essa è estremamente lenta a temperatura ambiente.

Diversamente, in presenza di un acido di Lewis come il trifluoruro di boro, la riduzione acido-catalizzata prevede l'iniziale formazione di un complesso tra il gruppo carbonilico e l'acido di Lewis, seguita dal trasferimento intermolecolare di uno ione idruro dall'ammina-borano (**Schema 7.2**). In questo caso, la barriera energetica è inferiore e ciò consente una maggiore velocità di reazione.



**Schema 7.1:** meccanismo di riduzione mediante complesso ammina-borano in assenza di  $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$



**Schema 7.2:** meccanismo di riduzione mediante complesso ammina-borano in presenza di  $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$

La nuova via sintetica adottata, ci ha permesso, seppur con basse rese (comprese tra il 21 e il 41% d. t.), di isolare tutti gli intermedi idrossimetilenici **115-119**, ad eccezione del derivato del benzosuberone, per il quale sono state valutate diverse condizioni di reazione senza alcun esito positivo.

In particolare sono stati valutati:

- ampio range di equivalenti di  $\text{BF}_3\text{-Et}_2\text{O}$  e BTBA: abbiamo provato sia a ridurre le quantità di entrambi i reattivi (fino ad 1 equivalente) per valutare un'eventuale degradazione del prodotto di reazione nell'ambiente di reazione utilizzato di norma, sia ad aumentarle (fino a 6 equivalenti), per valutare un'eventuale ridotta reattività del prodotto di partenza rispetto agli altri intermedi;
- ordine delle aggiunte dei reattivi;
- diverse modalità di workup: la procedura usuale prevede l'aggiunta di HCl 1 N che ha la funzione di eliminare l'eccesso di borano nella miscela di reazione, distruggendo il legame B-H e decomplessando il complesso borano *t*-butilammina<sup>138</sup>. Nel caso del derivato del benzosuberano, abbiamo provato sia ad effettuare l'aggiunta di HCl prevista a  $-78^\circ\text{C}$ , sia ad evitarla del tutto, per valutare un eventuale coinvolgimento dell'ambiente acido troppo forte nel mancato ottenimento del prodotto voluto.

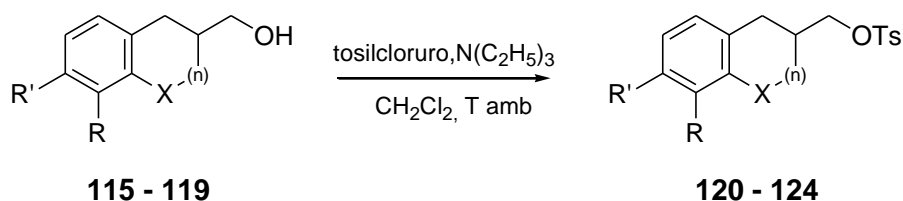
L'esito negativo di tutte le prove effettuate, ci ha fatto giungere alla conclusione che l'intermedio **114**, caratterizzato da un ciclo a 7 termini, potrebbe essere meno reattivo rispetto agli altri, come si può desumere anche dallo studio di Andrews<sup>140</sup>, che esaminando la

chemoselettività dei complessi ammino-boratici come agenti riducenti di aldeidi e chetoni, ha evidenziato la seguente scala di selettività:

aldeidi aromatiche ed alifatiche > cicloesانونe > chetoni alifatici ed aromatici  
aciclici > cicloalcanoni a 5 termini > cicloalcanoni a 7 termini.

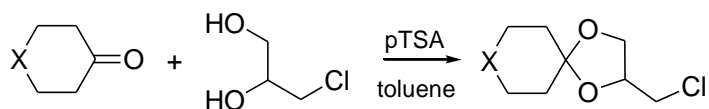
Inoltre, si è deciso di effettuare un'ulteriore prova di riduzione tornando alle condizioni originarie suggerite da Prasad e Rastogi<sup>136</sup>, ovvero ricorrendo ad un'idrogenazione catalitica con Pd/C 10% a 50 psi in diclorometano. Monitorando la reazione per 89 ore, non si è osservata la formazione di alcun prodotto, ma viene recuperato interamente l'intermedio di partenza, al contrario di quanto si è verificato per il derivato **113**, che dalla stessa procedura sintetica ha originato il prodotto parzialmente ridotto 2-idrossimetil-indan-1-one. Questo confermerebbe una minore reattività del composto **114**.

Gli alcoli **115-119** sono stati convertiti nei corrispondenti esteri *p*-toluensolfonici **120-124** facendoli reagire con un eccesso di cloruro di toside (1.5 equivalenti) in diclorometano, in presenza di trietilammina (2 equivalenti).

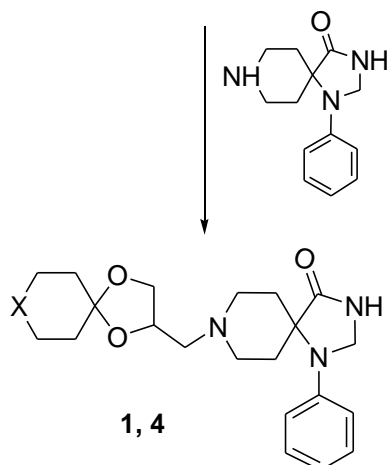


Composto	(n)	X	R	R'	Resa 120-124 (% d. t.)
<b>115, 120</b>	1	O	H	H	52%
<b>116, 121</b>	1	CH	H	H	86%
<b>117, 122</b>	1	CH	OCH <sub>3</sub>	H	59%
<b>118, 123</b>	1	CH	H	OCH <sub>3</sub>	60%
<b>119, 124</b>	0	CH	H	H	47%

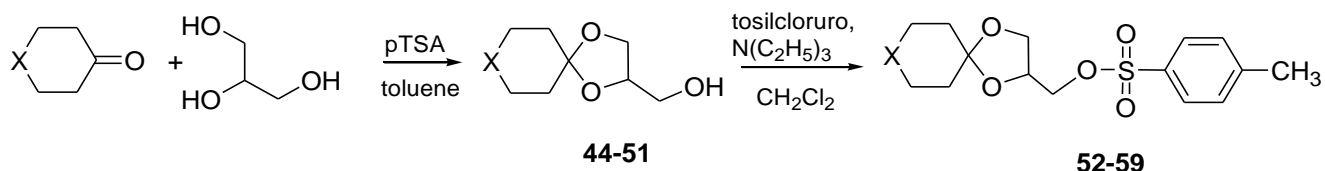
## 3.2 Schemi di reazione per i composti 1-43



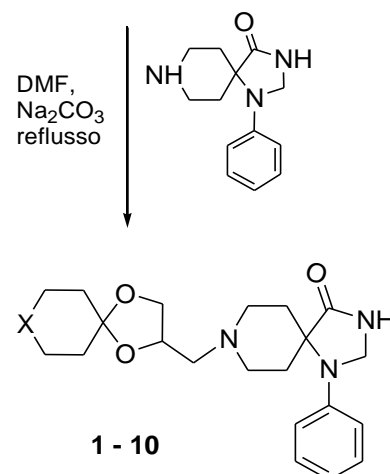
Serie A



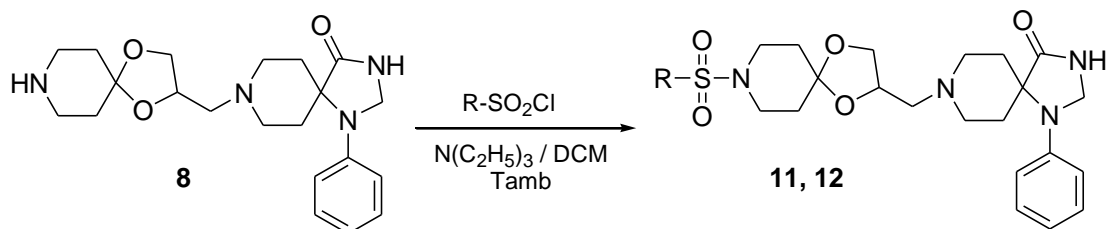
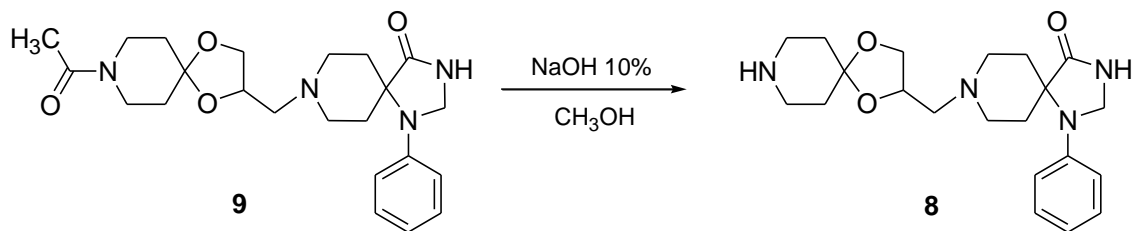
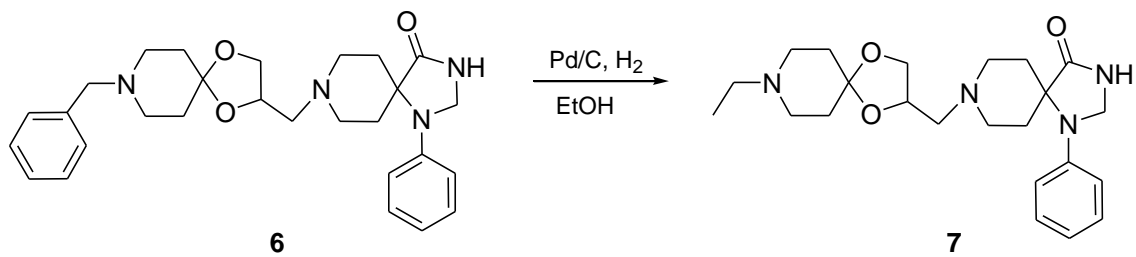
Composto	X
1	CH <sub>2</sub>
4	S

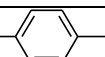


Composto	X
1	CH <sub>2</sub>
2	CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub>
3	-
4	S
5	O
6	
9	N-COCH <sub>3</sub>
10	N-C(=O)OC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>

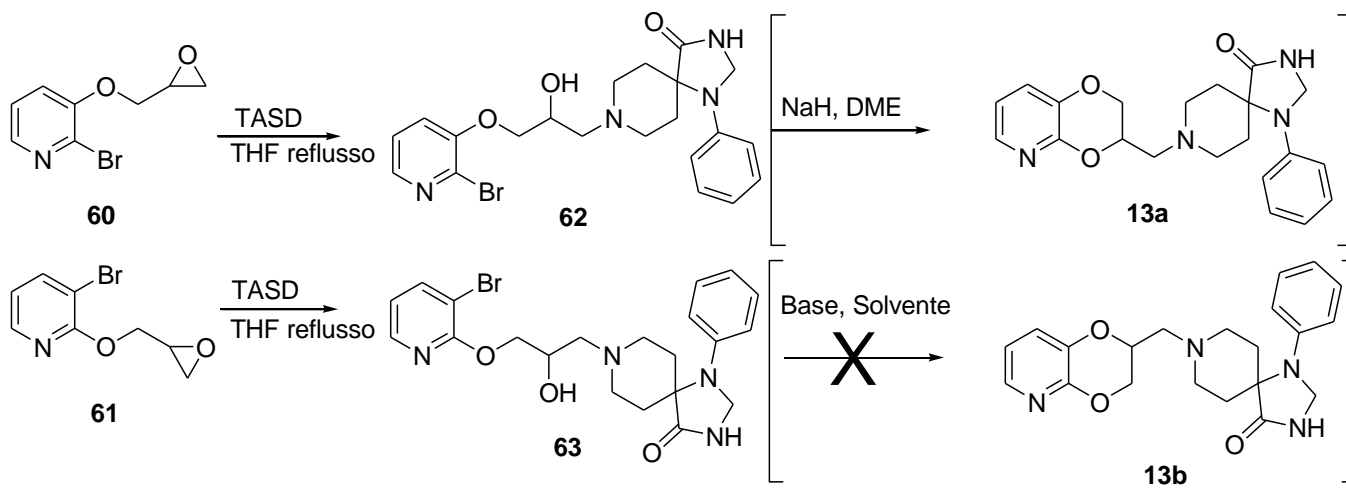
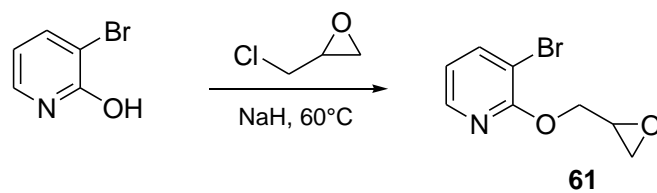
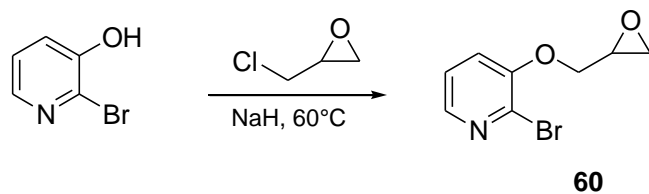


1 - 10

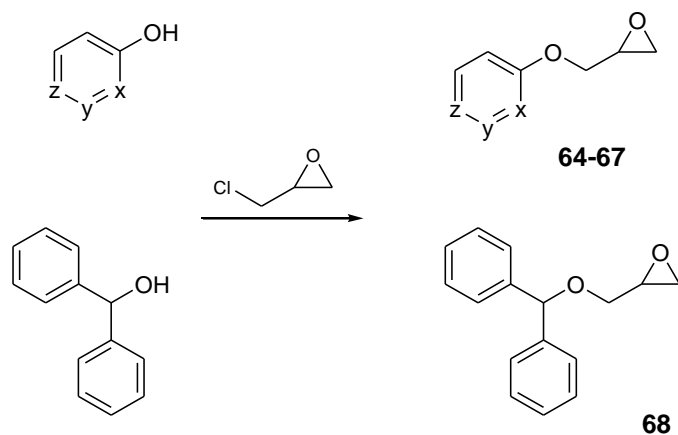


Composto	R
11	H <sub>3</sub> C- 
12	H <sub>3</sub> C-

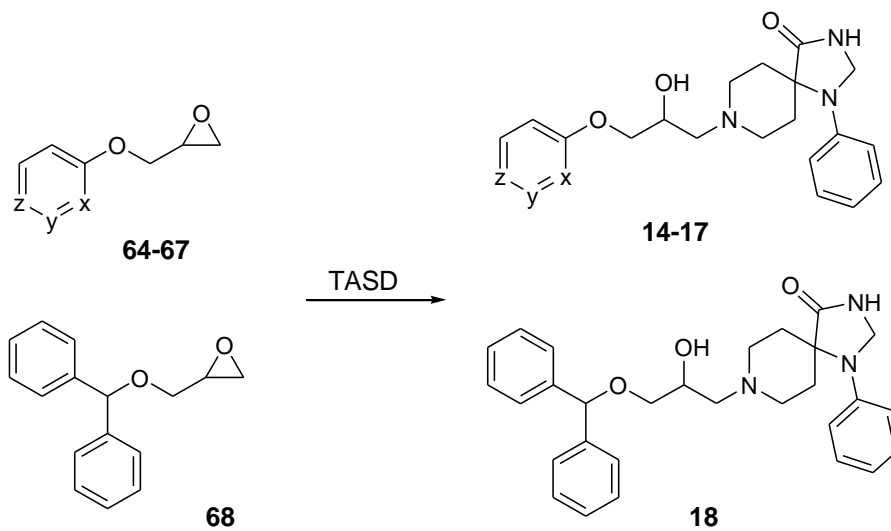
## Serie B



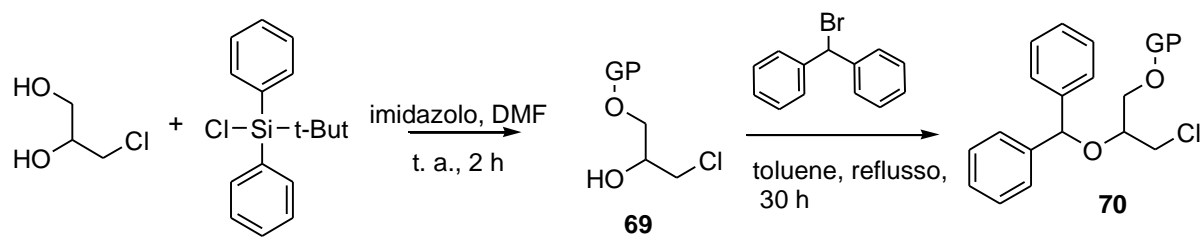
Serie C



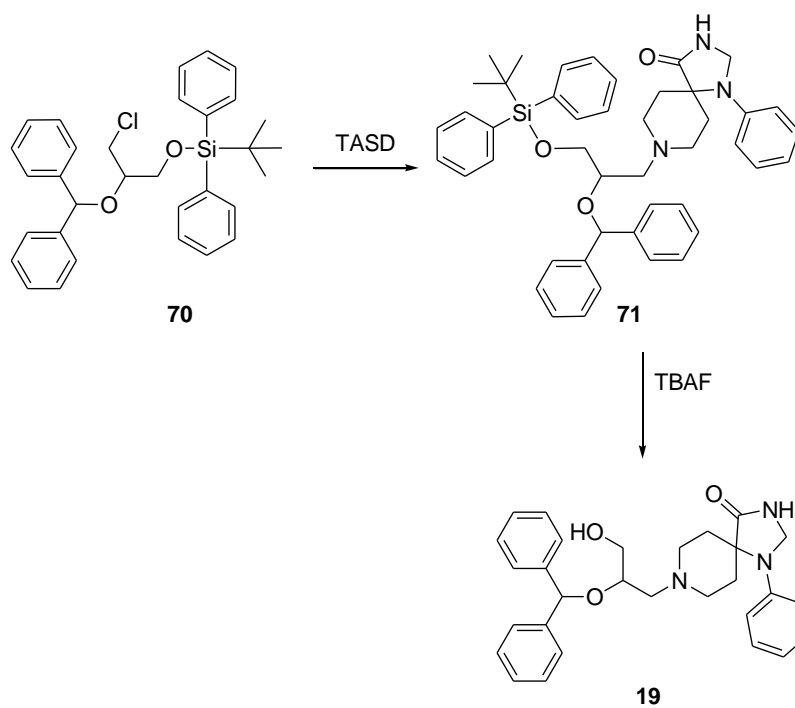
Composto	x	y	z
<b>64</b>	CH	CH	CH
<b>65</b>	N	CH	CH
<b>66</b>	CH	N	CH
<b>67</b>	CH	CH	N



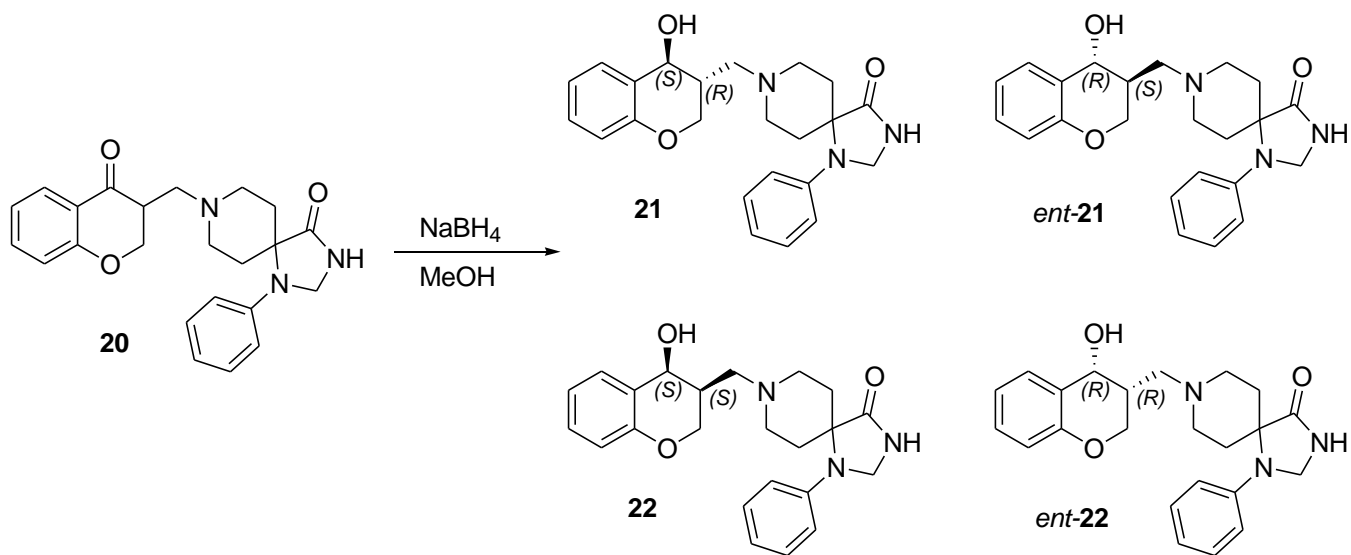
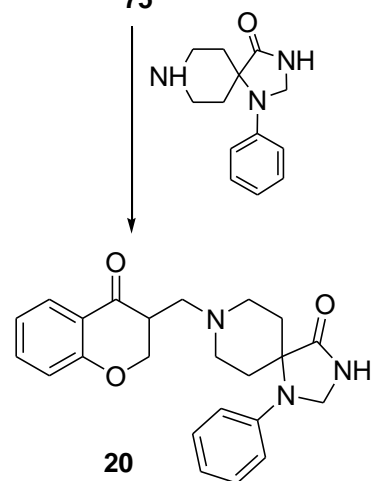
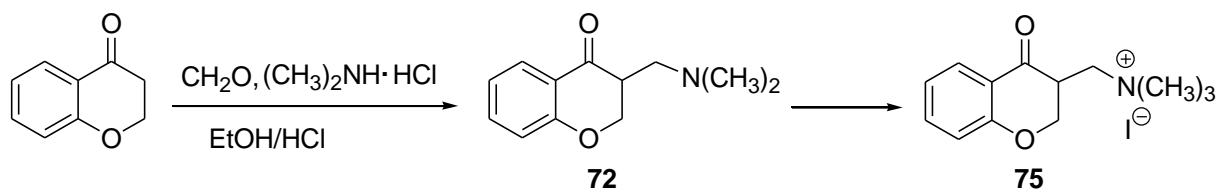
Composto	x	y	z
<b>14</b>	CH	CH	CH
<b>15</b>	N	CH	CH
<b>16</b>	CH	N	CH
<b>17</b>	CH	CH	N

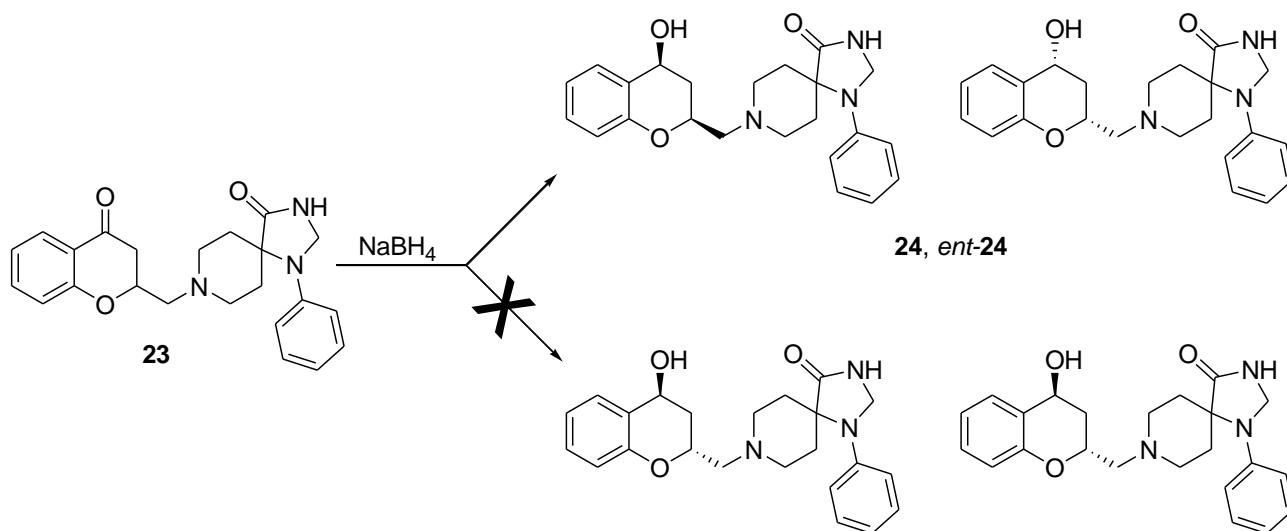
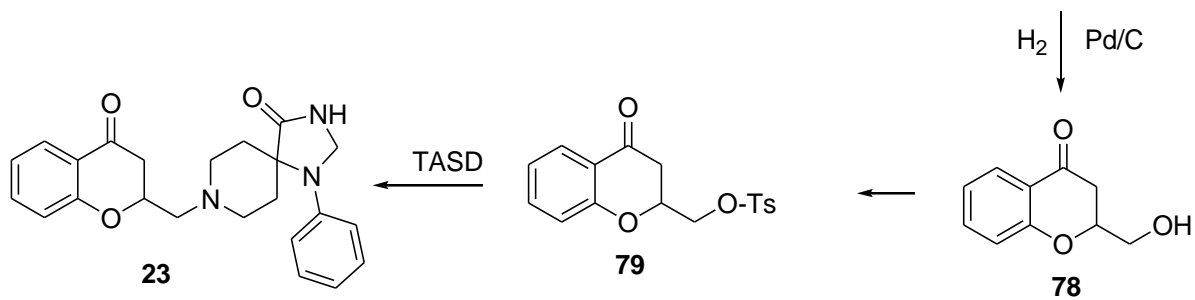
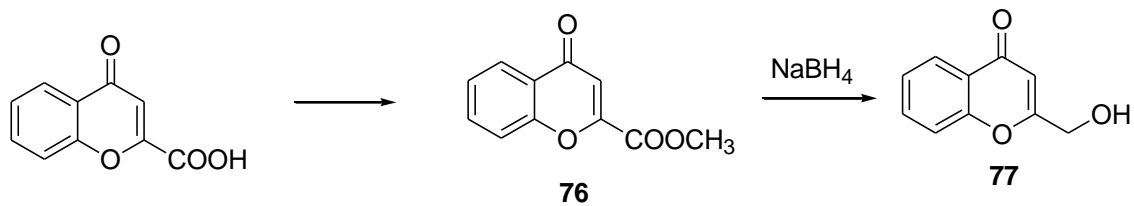


**GP = *t*-butil-difenil-silil-cloruro**

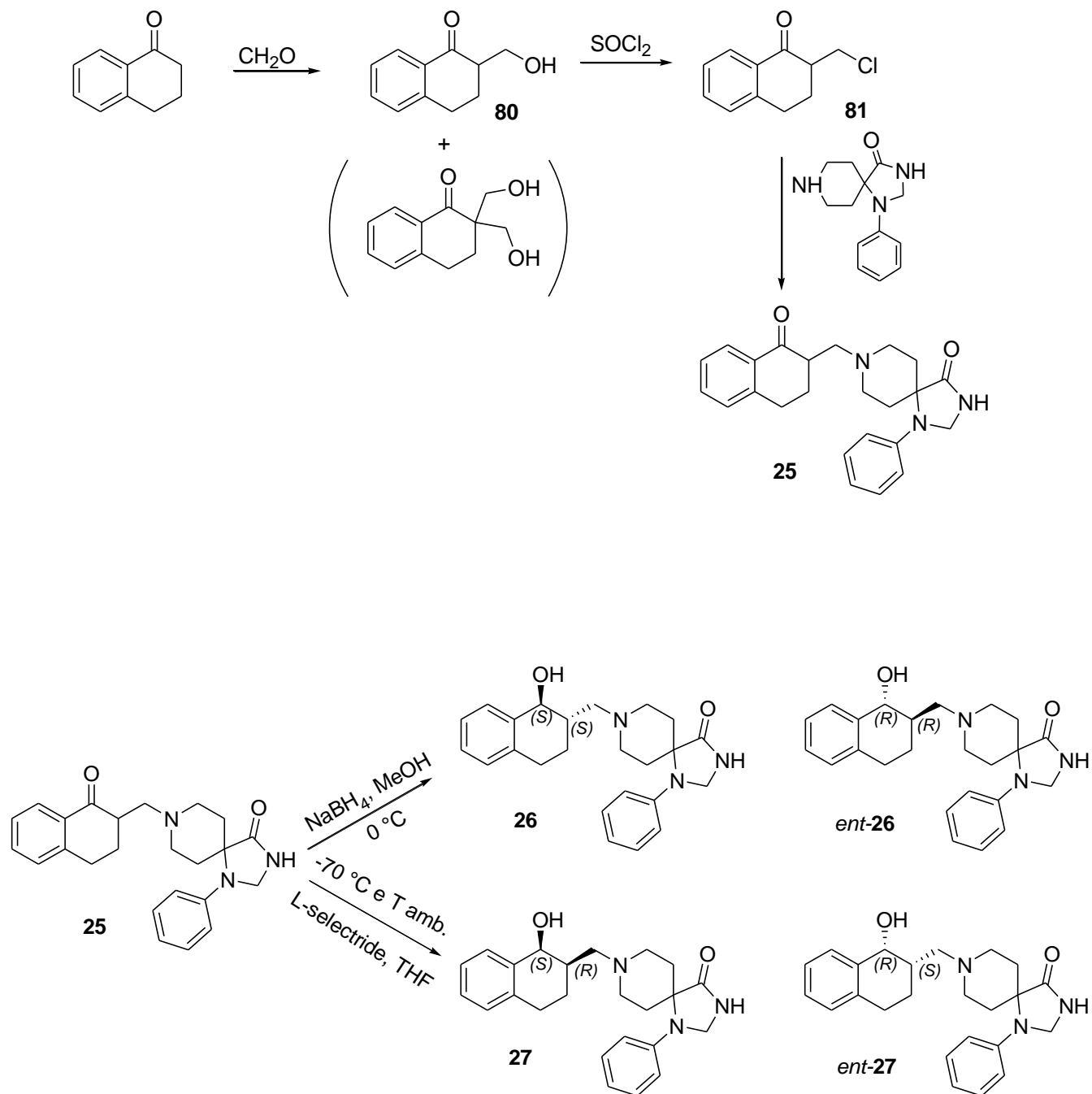


## Serie D

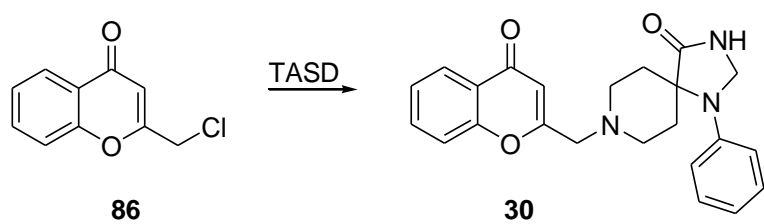
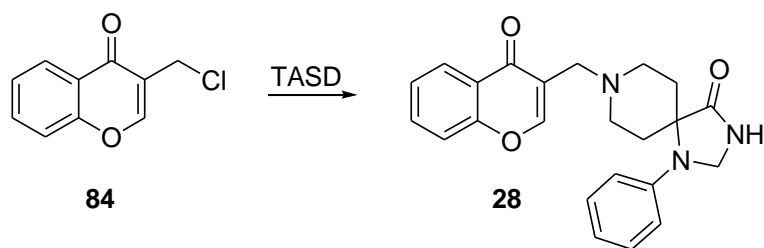
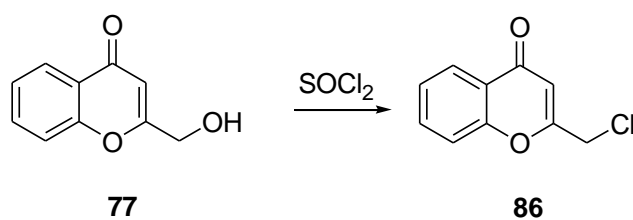
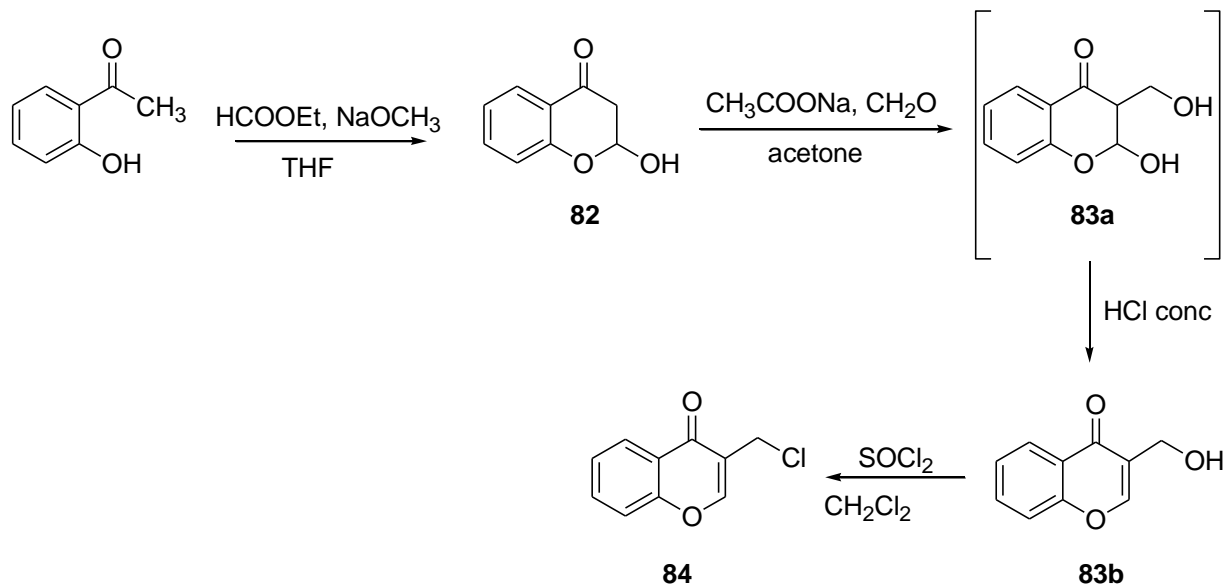


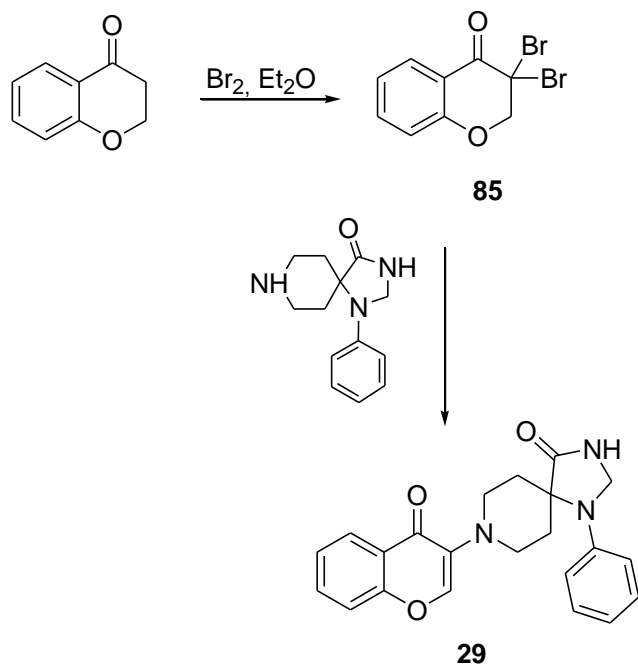


## Serie E

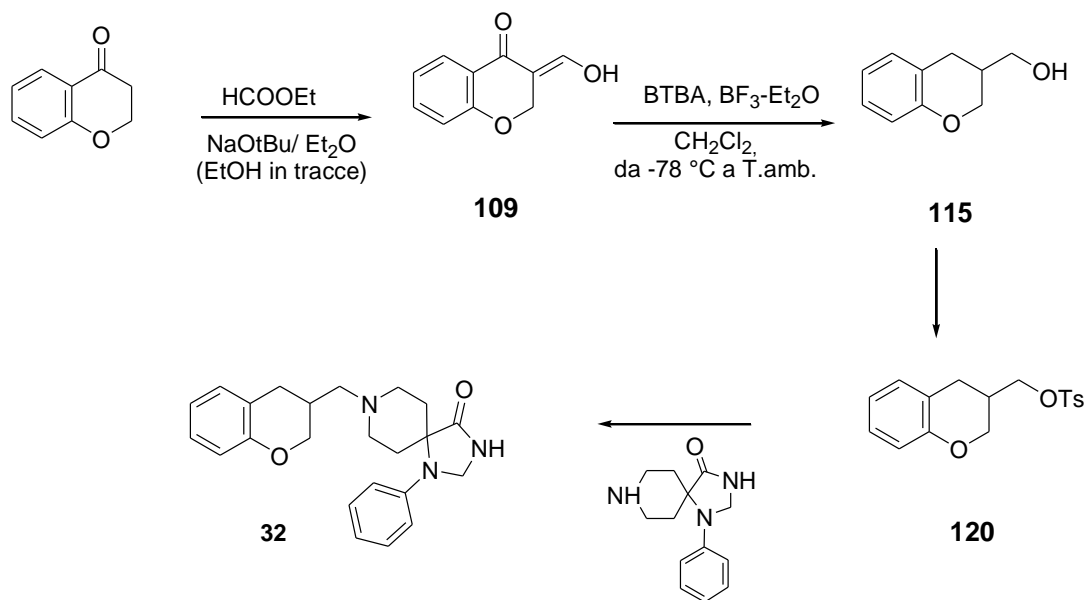
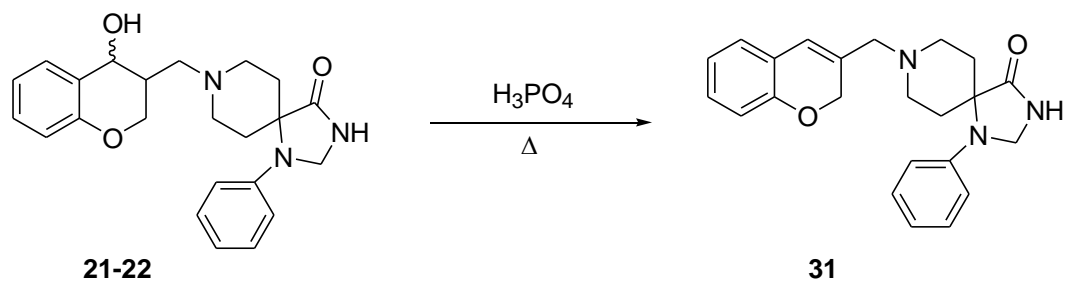


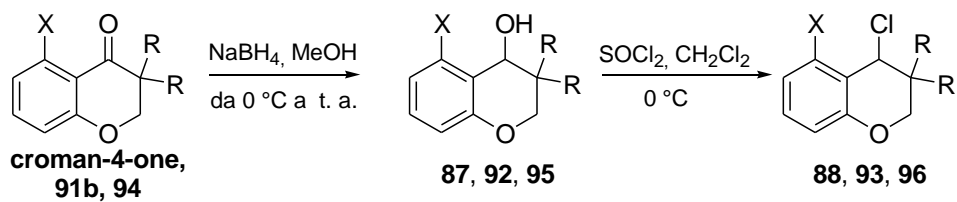
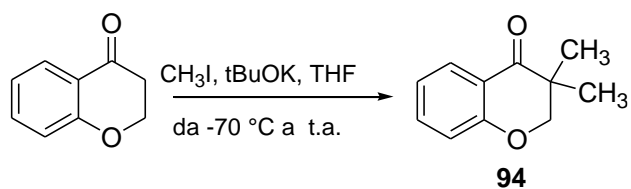
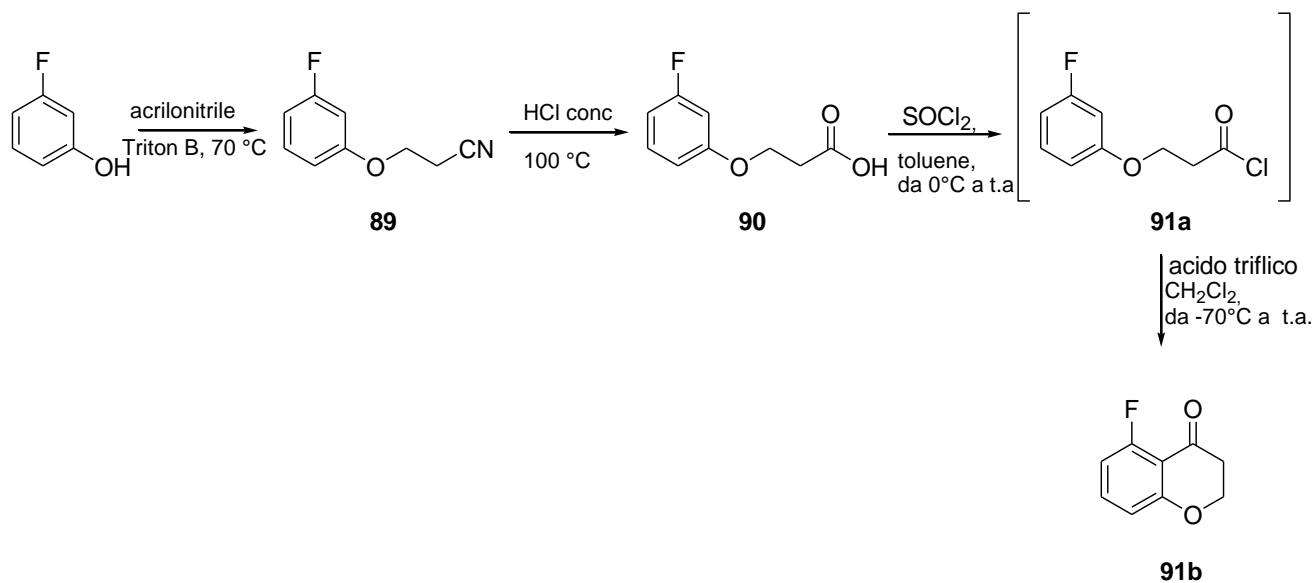
## Serie F



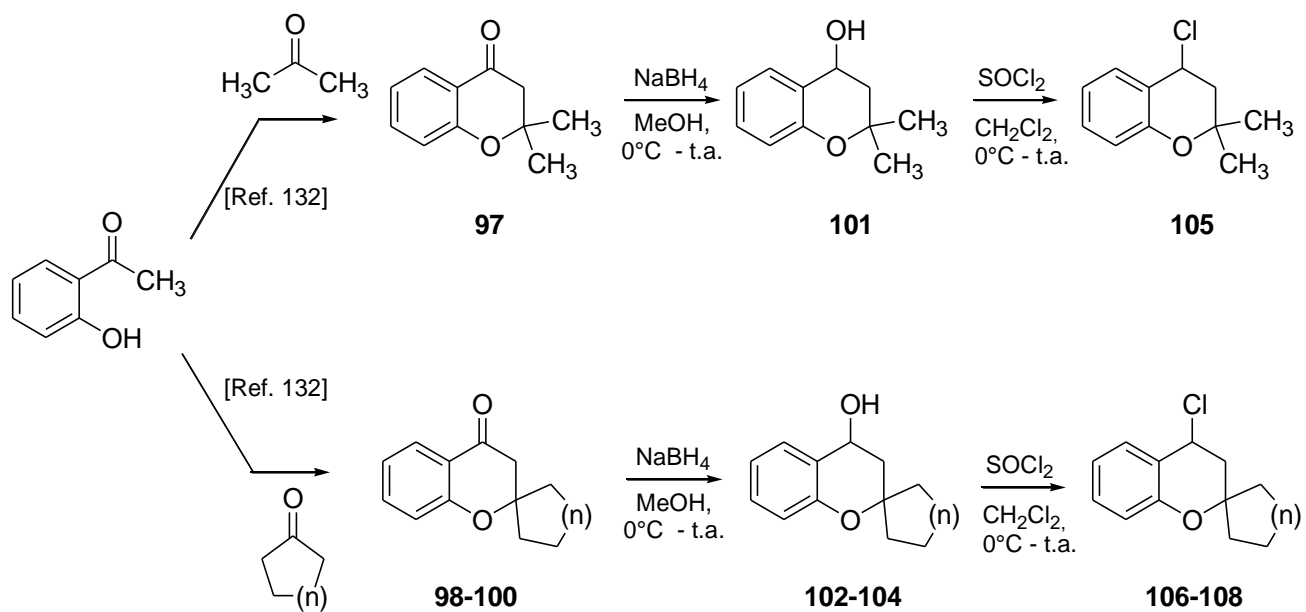


## Serie G

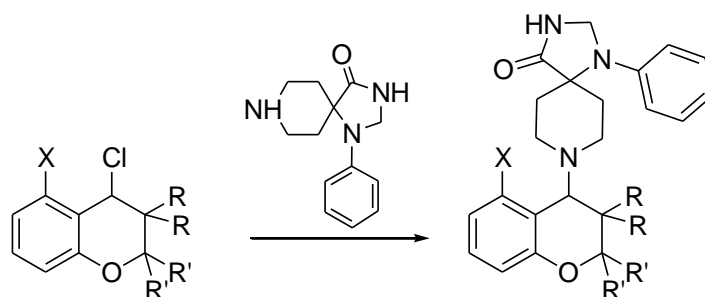




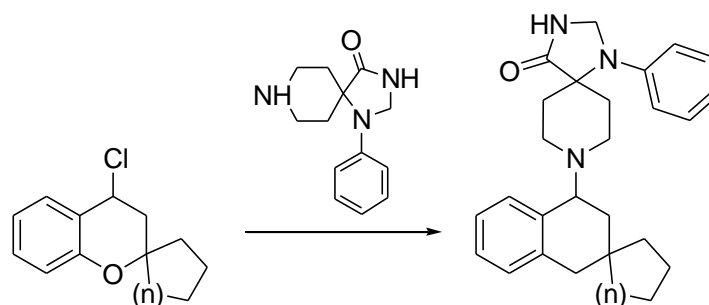
Composto	X	R
<b>87, 88</b>	H	H
<b>92, 93</b>	F	H
<b>95-96</b>	H	CH <sub>3</sub>



Composto	n
98, 102, 106	0
99, 103, 107	1
100, 104, 108	2

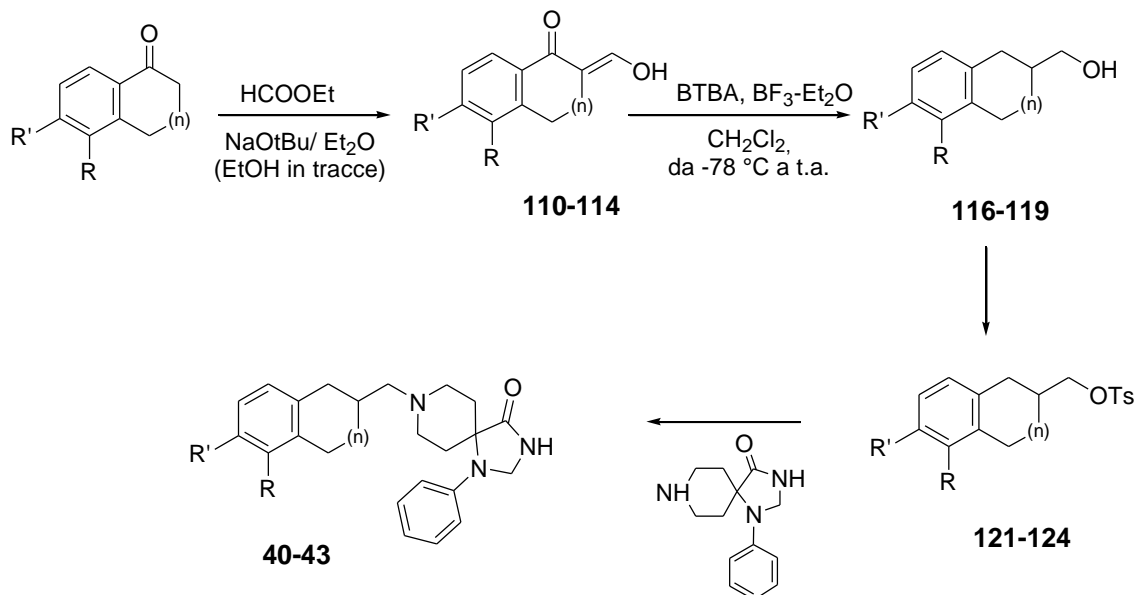


Composto	X	R	R'
33	H	H	H
34	F	H	H
35	H	CH <sub>3</sub>	H
36	H	H	CH <sub>3</sub>



Composto	n
37	0
38	1
39	2

## Serie H



Composto	(n)	R	R'
<b>110, 116, 121, 40</b>	1	H	H
<b>111, 117, 122, 41</b>	1	$\text{OCH}_3$	H
<b>112, 118, 123, 42</b>	1	H	$\text{OCH}_3$
<b>113, 119, 124, 43</b>	0	H	H
<b>114</b>	2	H	H

### 3.3 Valutazione Farmacologica

Tutti i composti sintetizzati sono stati sottoposti alla valutazione farmacologica presso i laboratori di Farmacologia del Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale dell'Università di Ferrara, prevalentemente sotto forma di sali di ossalato.

L'attività dei composti **1-43** per il recettore NOP è stata valutata mediante saggi di mobilizzazione di  $\text{Ca}^{2+}$  intracellulare in colture di cellule ovariche di criceto cinese (*Chinese Hamster Ovary*, CHO) co-esprimenti in modo stabile il recettore NOP ricombinante umano ( $\text{CHO}_{\text{hNOP}}$ ) e la proteina chimerica  $\text{G}\alpha_{\text{qi5}}$  modificata a livello C-terminale. Come controllo sono state utilizzate cellule CHO esprimenti la proteina chimerica  $\text{G}\alpha_{\text{qi5}}$ , ma non il recettore NOP. Come standards di riferimento per il test di attività sono stati utilizzati il ligando endogeno Nocicettina/Orfanina FQ (N/OFQ) ed un potente e selettivo antagonista del recettore NOP, SB-612111. Nelle cellule  $\text{CHO}_{\text{hNOP}}$  co-esprimenti la proteina chimerica  $\text{G}\alpha_{\text{qi5}}$ , lo standard N/OFQ induce un incremento del rilascio intracellulare di calcio in funzione della sua concentrazione, mostrando una potenza elevata ( $\text{pEC}_{50}$  **9.89**) ed effetti massimali di  $240 \pm 7$  sui livelli basali (**Figura 22a**)<sup>141</sup>. I saggi di inibizione della risposta sono stati condotti testando concentrazioni crescenti (10 pM - 10  $\mu\text{M}$ ) del NOP-antagonista standard SB-612111 contro concentrazioni fisse di N/OFQ (3 nM), corrispondente approssimativamente all' $\text{EC}_{80}$ . SB-612111 inibisce l'effetto stimolatorio della N/OFQ in funzione della sua concentrazione, con una  $\text{pK}_B$  pari a **8.07** (**Figura 22b**).

La potenza degli agonisti è data come  $\text{pEC}_{50}$  che è definita come il logaritmo negativo in base 10 della concentrazione molare di un agonista che produce il 50% del effetto massimo possibile ( $E_{\text{max}}$ ), mentre l' $E_{\text{max}}$  rappresenta l'effetto massimo che l'agonista è in grado di indurre nelle cellule in quelle determinate condizioni sperimentali.

Le proprietà antagoniste sono state valutate in esperimenti di inibizione usando come agonista la Nocicettina e la potenza, espressa come  $\text{pK}_B$ , è stata calcolata con la seguente equazione:

$\text{K}_B = \text{IC}_{50} / (2 + ([A]/\text{EC}_{50})^n)^{1/n} - 1$ , dove  $\text{IC}_{50}$  è la concentrazione di antagonista che produce il 50% di inibizione della risposta dell'agonista,  $[A]$  è la concentrazione di agonista,  $\text{EC}_{50}$  è la concentrazione di agonista che produce il 50% della risposta massima e  $n$  è il coefficiente di Hill della curva concentrazione-risposta dell'agonista<sup>142</sup>.

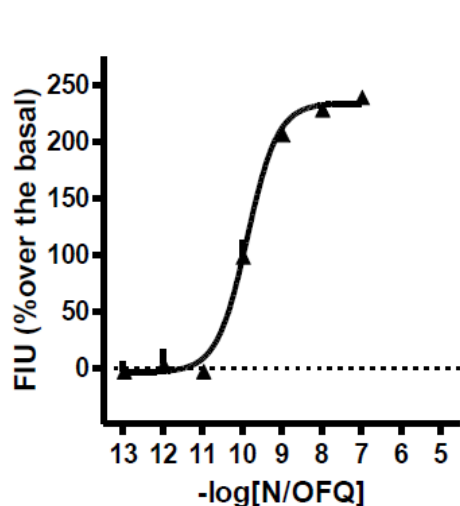


Figura 22a

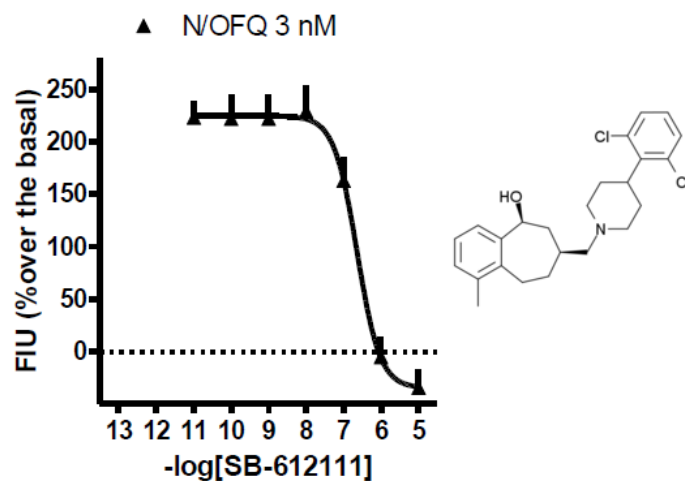


Figura 22b

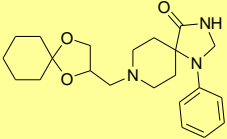
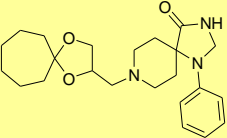
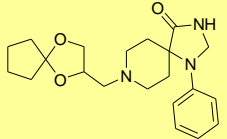
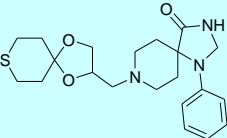
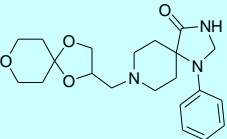
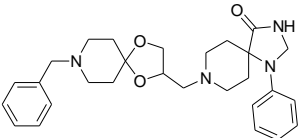
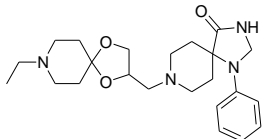
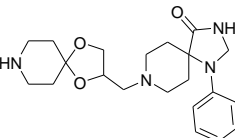
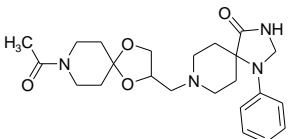
**Figura 22a:** Curva dose-risposta di N/OFQ in saggi di mobilizzazione del calcio condotti in cellule CHO<sub>hNOP</sub> co-esprimenti la proteina chimerica G $\alpha_{q15}$ . Gli effetti sono espressi come valore % sul livello basale. I dati sono la media  $\pm$  sem (standard error of the mean) di 4 esperimenti condotti in duplicato.

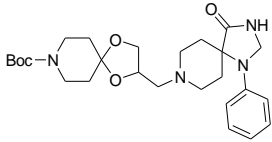
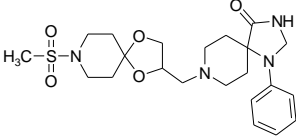
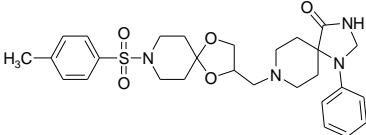
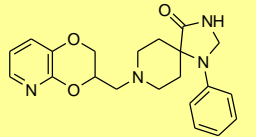
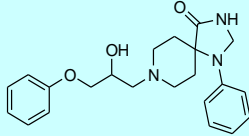
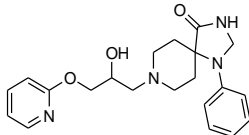
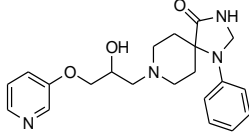
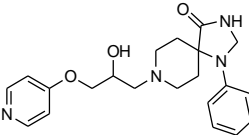
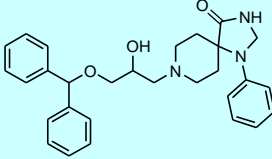
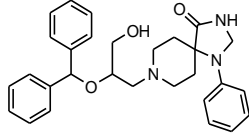
**Figura 22b:** Curva di inibizione della risposta ottenuta testando una concentrazione fissa di N/OFQ (3 nM) in presenza di concentrazioni crescenti di SB-612111 in saggi di mobilizzazione del calcio condotti in cellule CHO<sub>hNOP</sub> co-esprimenti la proteina chimerica G $\alpha_{q15}$ . I dati sono la media  $\pm$  sem (standard error of the mean) di 4 esperimenti condotti in duplicato.

Le attività farmacologiche dei composti **1-43** sono riassunte nella **Tabella 3**, in termini di pEC<sub>50</sub> and E<sub>max</sub> per gli agonisti e pK<sub>B</sub> per gli antagonisti.

In giallo sono evidenziati i composti che si comportano come agonisti del recettore NOP a concentrazioni sub-micromolari, con una potenza moderata; in azzurro i composti che mostrano attività agonista per il recettore NOP ma solo in un range micromolare di concentrazioni; in rosa i composti che si comportano come antagonisti puri del recettore NOP, con una potenza moderata.

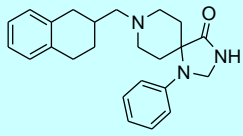
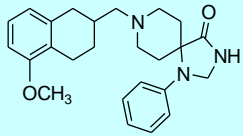
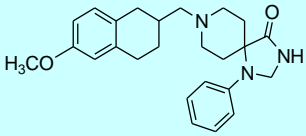
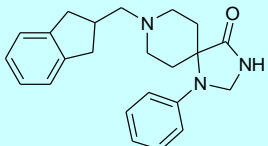
**Tabella 3.** Effetti della N/OFQ, di SB-612111 e dei composti **1-43** in cellule CHO co-esprimenti la proteina chimerica Gαq5 e il recettore h NOP.

Composto	Struttura	Agonisti		Antagonisti	
		pEC <sub>50</sub>	E <sub>max</sub> ±sem	pK <sub>B</sub>	
N/OFQ		9.89 <sup>a</sup>	240±7	n. d.	
SB-612111		inattivo		8.07 <sup>d</sup>	
Serie A	<b>1</b>		6.29 <sup>a</sup>	121±31 <sup>a</sup>	n. d.
	<b>2</b>		5.81 <sup>a</sup>	170±30 <sup>a</sup>	n. d.
	<b>3</b>		6.33 <sup>a</sup>	200±35 <sup>a</sup>	n. d.
	<b>4</b>		curva incompleta fino a 10 μM <sup>c</sup>	122±10% <sup>a</sup>	n. d.
	<b>5</b>		curva incompleta fino a 10 μM <sup>c</sup>	95±21% <sup>a</sup>	n. d.
	<b>6</b>		inattivo <sup>b</sup>		inattivo <sup>b</sup>
	<b>7</b>		inattivo <sup>b</sup>		inattivo <sup>b</sup>
	<b>8</b>		inattivo <sup>b</sup>		inattivo <sup>b</sup>
	<b>9</b>		inattivo <sup>b</sup>		inattivo <sup>b</sup>

Composto	Struttura	Agonisti		Antagonisti	
		pEC <sub>50</sub>	E <sub>max</sub> ±sem	pK <sub>B</sub>	
Serie A			non testato		
			inattivo <sup>b</sup>	inattivo <sup>b</sup>	
			inattivo <sup>b</sup>	inattivo <sup>b</sup>	
Serie B		<b>6.20<sup>a</sup></b>	200±25 <sup>a</sup>	n. d.	
Serie C			curva incompleta fino a 10 μM <sup>c</sup>	50±10% <sup>a</sup>	n. d.
			inattivo <sup>b</sup>	inattivo <sup>b</sup>	inattivo <sup>b</sup>
			inattivo <sup>b</sup>	inattivo <sup>b</sup>	inattivo <sup>b</sup>
			inattivo <sup>b</sup>	inattivo <sup>b</sup>	inattivo <sup>b</sup>
			curva incompleta fino a 10 μM <sup>c</sup>	75±20% <sup>a</sup>	n. d.
			inattivo <sup>b</sup>	inattivo <sup>b</sup>	inattivo <sup>b</sup>

Composto	Struttura	Agonisti		Antagonisti
		pEC <sub>50</sub>	E <sub>max</sub> ±sem	pK <sub>B</sub>
Serie D	20		inattivo <sup>b</sup>	inattivo <sup>b</sup>
	21	21 <b>trans</b> 	curva incompleta fino a 10 μM <sup>c</sup>	96±30% <sup>a</sup> n. d.
	22	22 <b>cis</b> 	<b>6.71</b> <sup>a</sup>	151±41 <sup>a</sup> n. d.
	23	23 	curva incompleta fino a 10 μM <sup>c</sup>	75±10% <sup>a</sup> n. d.
	24	24 <b>cis</b> 	<b>6.57</b> <sup>a</sup>	175±18% n. d.
Serie E	25	25 	inattivo <sup>b</sup>	inattivo <sup>b</sup>
	26	26 <b>trans</b> 	curva incompleta fino a 10 μM <sup>c</sup>	47±10% <sup>a</sup> n. d.
	27	27 <b>cis</b> 	<b>6.38</b> <sup>a</sup>	160±15 <sup>a</sup> n. d.
Serie F	28	28 	curva incompleta fino a 10 μM <sup>c</sup>	150±13% <sup>a</sup> n. d.
	29	29 	inattivo <sup>b</sup>	inattivo <sup>b</sup>

Composto	Struttura	Agonisti		Antagonisti	
		pEC <sub>50</sub>	E <sub>max</sub> ±sem	pK <sub>B</sub>	
Serie F	30		inattivo <sup>b</sup>	inattivo <sup>b</sup>	
	31		curva incompleta fino a 10 μM <sup>c</sup>	106±31% <sup>a</sup>	n. d.
	32		<b>6.10<sup>a</sup></b>	254±13% <sup>a</sup>	n. d.
	33		<b>6.80<sup>a</sup></b>	151±41 <sup>a</sup>	n. d.
Serie G	34		<b>6.37<sup>a</sup></b>	227±12 <sup>a</sup>	n. d.
	35		curva incompleta fino a 10 μM <sup>c</sup>	137±34% <sup>a</sup>	n. d.
	36		curva incompleta fino a 10 μM <sup>c</sup>	177±22% <sup>a</sup>	n. d.
	37		curva incompleta fino a 10 μM <sup>c</sup>	176±14% <sup>a</sup>	n. d.
	38		inattivo		<b>6.77<sup>d</sup></b>
	39		curva incompleta fino a 10 μM <sup>c</sup>	114±11% <sup>a</sup>	n. d.

Composto	Struttura	Agonisti		Antagonisti
		pEC <sub>50</sub>	E <sub>max</sub> ±sem	pK <sub>B</sub>
Serie H		curva incompleta fino a 10 μM <sup>c</sup>	142±15% <sup>a</sup>	n. d.
		curva incompleta fino a 10 μM <sup>c</sup>	70±18% <sup>a</sup>	n. d.
		curva incompleta fino a 10 μM <sup>c</sup>	135±15% <sup>a</sup>	n. d.
		curva incompleta fino a 10 μM <sup>c</sup>	141±14% <sup>a</sup>	n. d.

<sup>a</sup> I valori di EC<sub>50</sub> di questi composti sono stati calcolati mediante saggi di mobilizzazione del calcio condotti in cellule CHO<sub>hNOP</sub> co-esprimenti la proteina chimerica Gα<sub>q15</sub>. Gli effetti agonisti sono espressi come valore % sul livello basale. I dati sono la media ± sem (errore standard della media) di 3-4 esperimenti condotti in duplicato.

<sup>b</sup> Il composto non interagisce con il recettore NOP fino a concentrazione 10 μM.

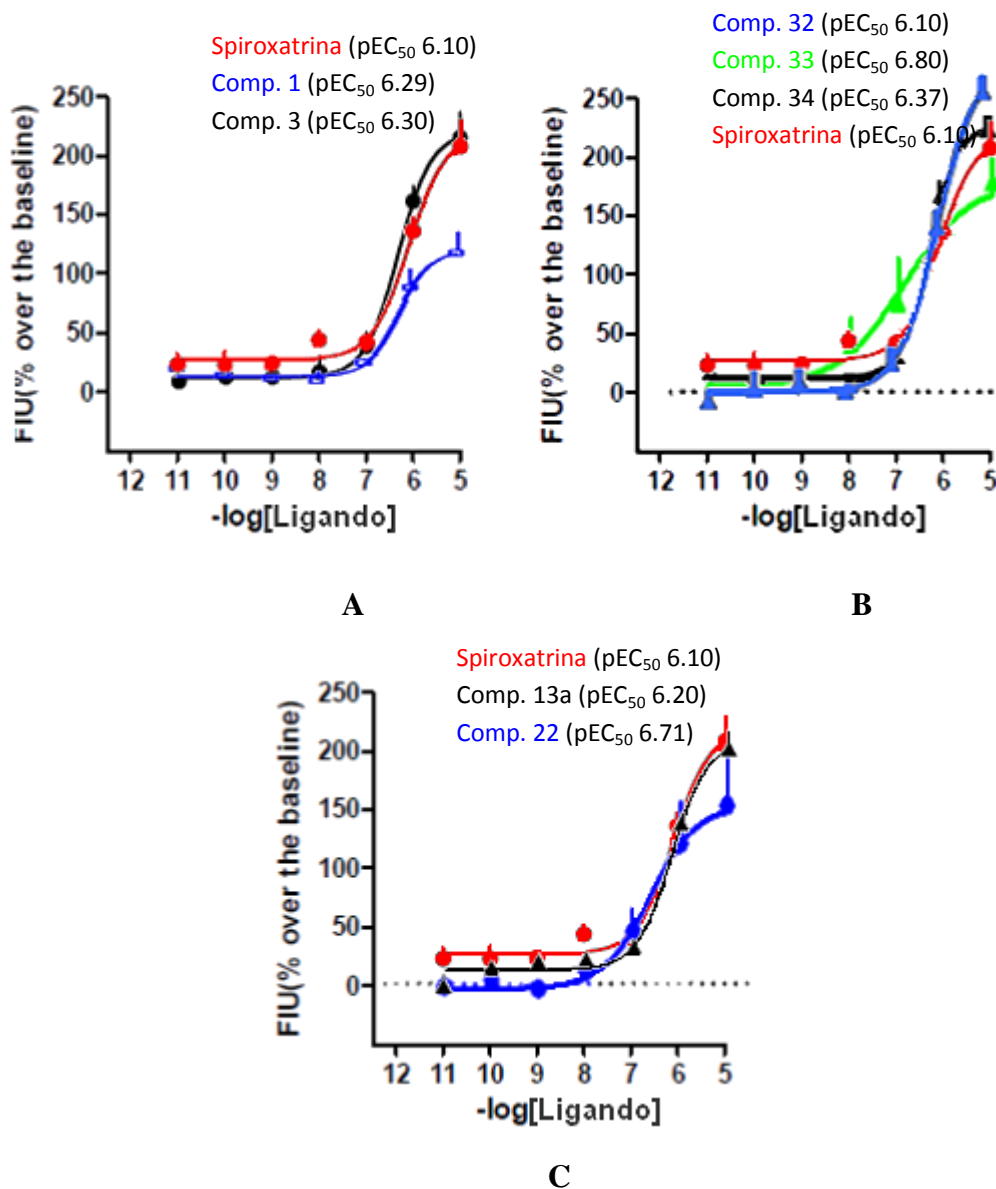
<sup>c</sup> Il composto mostra un effetto agonista solo a concentrazioni micromolari, generando una curva dose-risposta incompleta.

<sup>d</sup> Il valore di K<sub>B</sub> è stato ottenuto testando una concentrazione fissa di N/OFQ (3 nM) in presenza di concentrazioni crescenti del composto (fino a concentrazione 10 μM) in saggi di mobilizzazione del calcio condotti in cellule CHO<sub>hNOP</sub> co-esprimenti la proteina chimerica Gα<sub>q15</sub>. I dati sono la media ± sem (standard error of the mean) di 4 esperimenti condotti in duplicato.

Dai risultati dei saggi farmacologici ottenuti è emerso che:

- ✓ i composti **1, 2, 3, 13a, 22, 24, 27, 32, 33, e 34** si comportano come agonisti deboli del recettore NOP a concentrazioni sub-micromolari, determinando un aumento intracellulare del Ca<sup>2+</sup> in cellule CHO<sub>hNOP</sub> co-esprimenti la proteina chimerica Gα<sub>q15</sub>, in funzione della loro concentrazione.

Nella **Figura 23** sono riportate a scopo esemplificativo le curve dose-risposta di alcuni di questi analoghi spiroiperididnici a confronto con quella della Spiroxatrina.



**Figura 23:** Curve dose-risposta della Spiroxatrina e di alcuni analoghi sintetizzati in saggi di mobilizzazione del calcio condotti in cellule CHO<sub>hNOP</sub> co-esprimenti la proteina chimerica G $\alpha_{qi5}$ . Gli effetti sono espressi come valore % sul livello basale. I dati sono la media  $\pm$  sem (errore standard della media) di 4 esperimenti condotti in duplicato: **A.** analoghi diossolanici **B.** analoghi cromanici **C.** aza-spiroxatrina e analogo cromanonico *cis*.

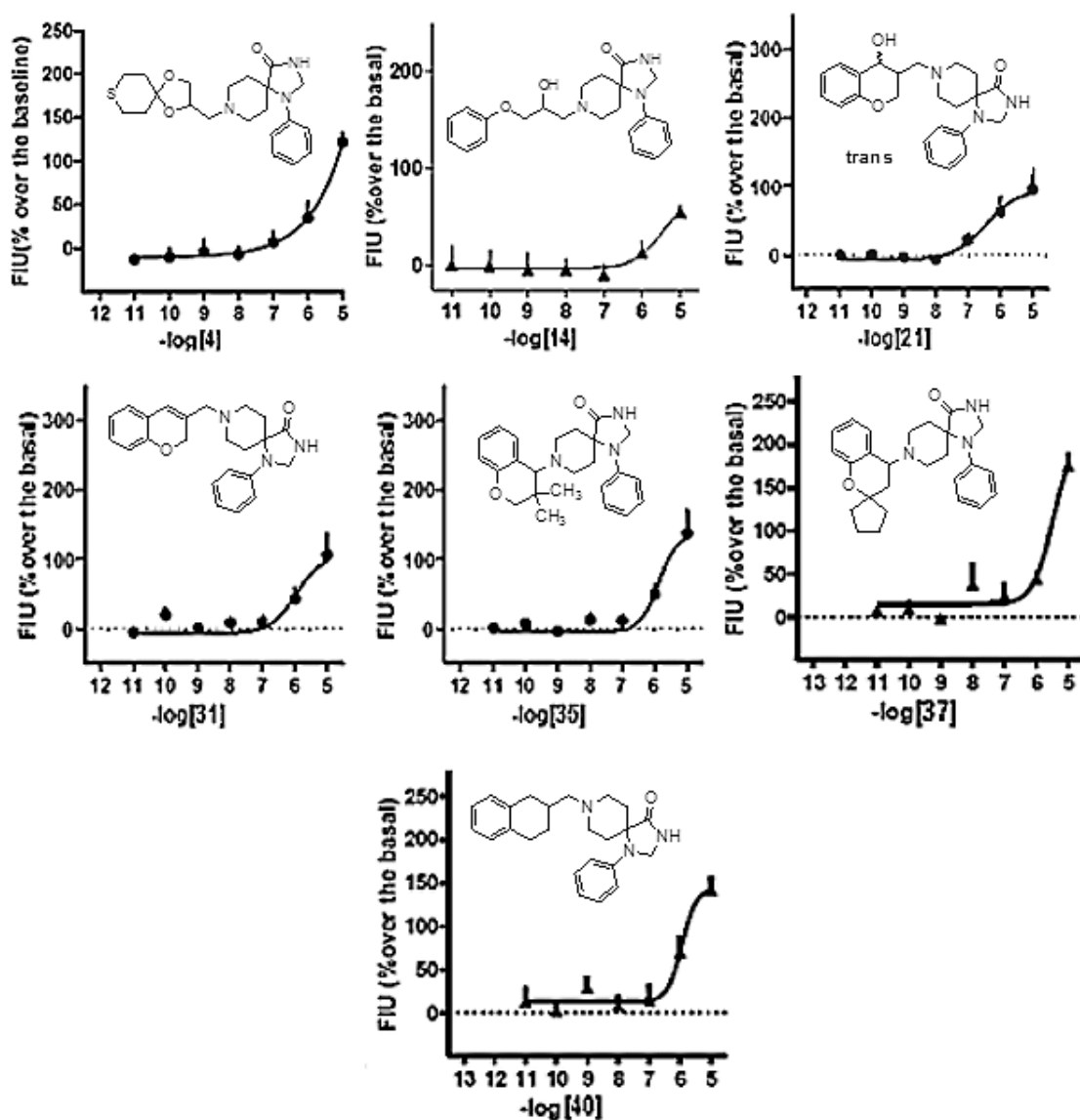
Dall'analisi di questi grafici si può osservare che i composti risultati attivi come agonisti NOP hanno un profilo farmacologico simile a quello della Spiroxatrina, in particolare:

- 1) i composti **2**, **3**, **13a** e **34** mostrano valori di potenza ( $pEC_{50}$ ) ed efficacia ( $E_{max}$ ) paragonabili a quelli del nostro lead compound;
- 2) i composti **1**, **22**, **24**, **27** e **33** sono risultati fino a 5 volte più potenti della Spiroxatrina, ma hanno mostrato efficacia minore;
- 3) il composto **32** mostra una potenza sovrapponibile a quella della Spiroxatrina ma stimola il rilascio intracellulare di Ca<sup>2+</sup> con effetto massimo superiore.

I saggi di mobilizzazione del calcio per i composti risultati attivi in cellule CHO<sub>hNOP</sub> co-esprimenti la proteina chimerica G $\alpha_{qi5}$  sono stati condotti anche in cellule CHO esprimenti la proteina chimerica G $\alpha_{qi5}$ , ma non il recettore hNOP. In queste cellule, l'ATP è risultata in grado di produrre un consistente effetto stimolatorio con un valore di pEC<sub>50</sub> pari a 6.94 ed un E<sub>max</sub> pari a 278 $\pm$ 44%, mentre i composti testati non hanno mostrato alcun effetto fino ad una concentrazione 10  $\mu$ M. Questi dati confermano che gli effetti stimolatori sul rilascio del Ca<sup>2+</sup> intracellulare dei composti esaminati sono dovuti all'attivazione del recettore NOP.

- ✓ i composti **4, 5, 14, 18, 21, 23, 26, 28, 31, 35-37, 39, 40, 41, 42** e **43** mostrano un debole effetto agonista nei confronti del recettore NOP solo a concentrazioni micromolari, dando una curva dose-risposta incompleta ma molto simile in termini di potenza a quella della nostro *lead compound*, la Spiroxatrina.

Nella **Figura 24** sono riportate, a scopo esemplificativo, le curve dose-risposta di alcuni dei suddetti composti:



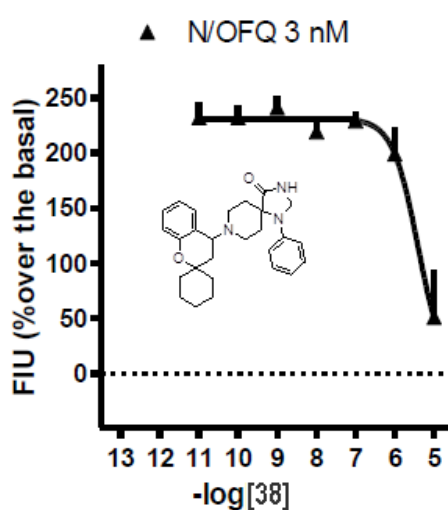
**Figura 24:** Curva dose-risposta di alcuni dei composti risultati deboli agonisti del recettore NOP a concentrazioni micromolari (fino a 10  $\mu$ M) in saggi di mobilizzazione del calcio condotti in cellule CHO<sub>hNOP</sub> co-esprimenti la proteina chimerica G $\alpha_{q5}$ . Gli effetti sono espressi come valore % sul livello basale. I dati sono la media  $\pm$  sem (errore standard della media) di 4 esperimenti condotti in duplicato.

- ✓ i composti 6-12, 15-17, 19, 20, 25, 29, 30 e 38 in esperimenti analoghi non stimolano il rilascio di calcio, fino ad una concentrazione pari a 10  $\mu$ M. Pertanto questi composti sono stati sottoposti a saggi di inibizione della risposta per valutarne un eventuale attività antagonista.

I saggi di inibizione della risposta sono stati condotti testando concentrazioni crescenti (10 pM - 10  $\mu$ M) dei suddetti composti e del NOP-antagonista standard SB-612111, utilizzato come riferimento, contro concentrazioni fisse di N/OFQ (3 nM), corrispondente

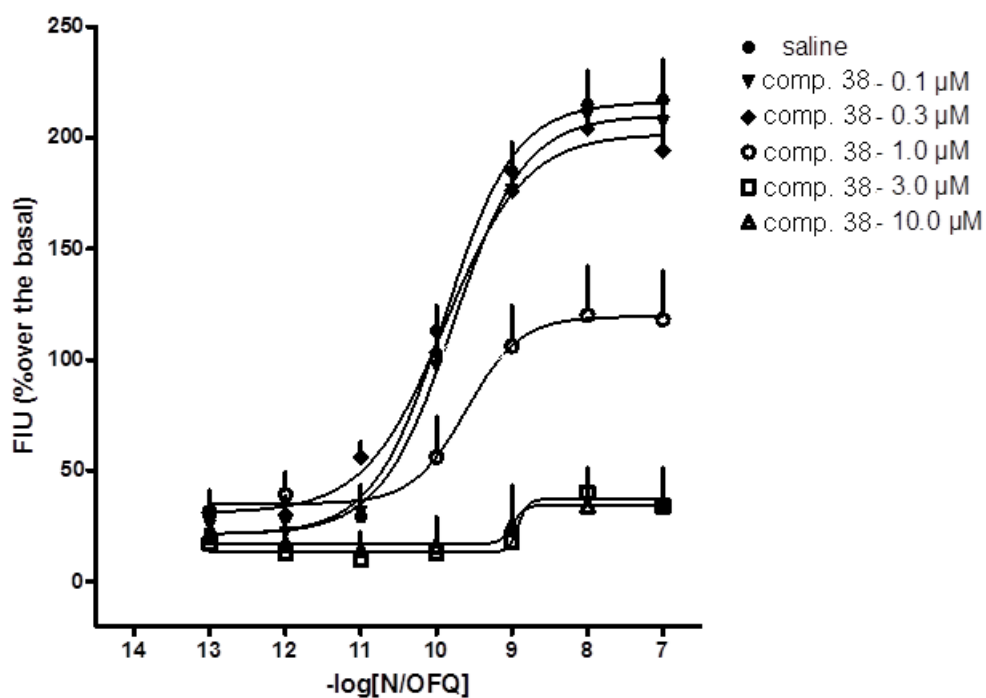
approssimativamente all' $EC_{80}$ . SB-612111 inibisce l'effetto stimolatorio della N/OFQ in funzione della sua concentrazione, con una  $pK_B$  pari a 8.07 (**Figura 22b**), mentre dagli esperimenti paralleli sui composti in esame è risultato che:

1. **6-12, 15-17, 19, 20, 25, 29 e 30** non modificano l'effetto stimolatorio della N/OFQ fino ad una concentrazione pari a 10  $\mu\text{M}$ . Si può quindi affermare che questi composti non legano il recettore NOP;
2. il composto **38** manifesta attività antagonista, determinando l'inibizione dell'effetto stimolatorio della N/OFQ in funzione della sua concentrazione, con una  $pK_B$  pari a 6.77 (**Figura 25**).



**Figura 25:** Curva di inibizione della risposta ottenuta testando una concentrazione fissa di N/OFQ (3 nM) in presenza di concentrazioni crescenti del composto **38** in saggi di mobilizzazione del calcio condotti in cellule  $\text{CHO}_{h\text{NOP}}$  co-esprimenti la proteina chimerica  $G\alpha_{q15}$ . I dati sono la media  $\pm$  sem (standard error of the mean) di 4 esperimenti condotti in duplicato.

Al fine di valutare il tipo di antagonismo (competitivo o non competitivo) del composto **38** è stato effettuato il test dello Schild plot. In particolare, sono state ricavate le curve dose-risposta dell'agonista N/OFQ testandola a dosi crescenti (fino a 10  $\mu\text{M}$ ) sia da sola che in presenza di concentrazioni fisse dell'antagonista in esame (0.1, 0.3, 1, 3 e 10  $\mu\text{M}$ ). Come mostrato nella **Figura 26**, la presenza di concentrazioni crescenti del composto **38** determina l'abbassamento dell'effetto massimo ottenibile con la N/OFQ. L'analisi di questi primi dati è compatibile con un antagonismo di tipo non competitivo (o insormontabile) del composto **38**. Tuttavia sono in corso ulteriori studi per confermare i risultati ottenuti e per comprendere meglio il tipo di interazione che interviene tra l'antagonista non competitivo e il recettore NOP, che può essere di tipo irreversibile o può avvenire su un sito allosterico e rendere il recettore meno accessibile all'agonista.

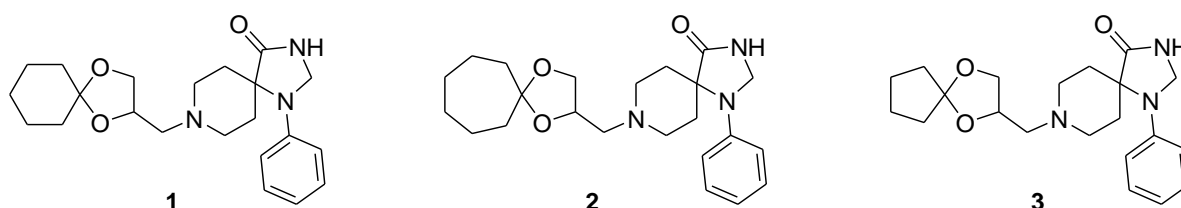


**Figura 26:** Curve dose-risposta della N/OFQ ottenute in assenza (controllo) e in presenza di concentrazioni crescenti del composto **38** (0.1-10  $\mu\text{M}$ ) in saggi di mobilizzazione del calcio condotti in cellule  $\text{CHO}_{\text{hNOP}}$  co-esprimenti la proteina chimerica  $\text{G}\alpha_{\text{qi5}}$ . I parametri utilizzati sono i seguenti:  $\text{pEC}_{50}$  N/OFQ= 9.90;  $E_{\text{max}}$  N/OFQ= 216;  $\text{pK}_{\text{B}}$  comp. **38**= 6.41. Gli effetti sono espressi come valore % sul livello basale. I dati sono la media  $\pm$  sem (errore standard della media) di 4 esperimenti condotti in duplicato.

### 3.4 Studi Relazione Struttura-Attività

L'analisi dei risultati farmacologici ottenuti ha permesso di condurre studi di relazione struttura-attività riguardanti i composti sintetizzati.

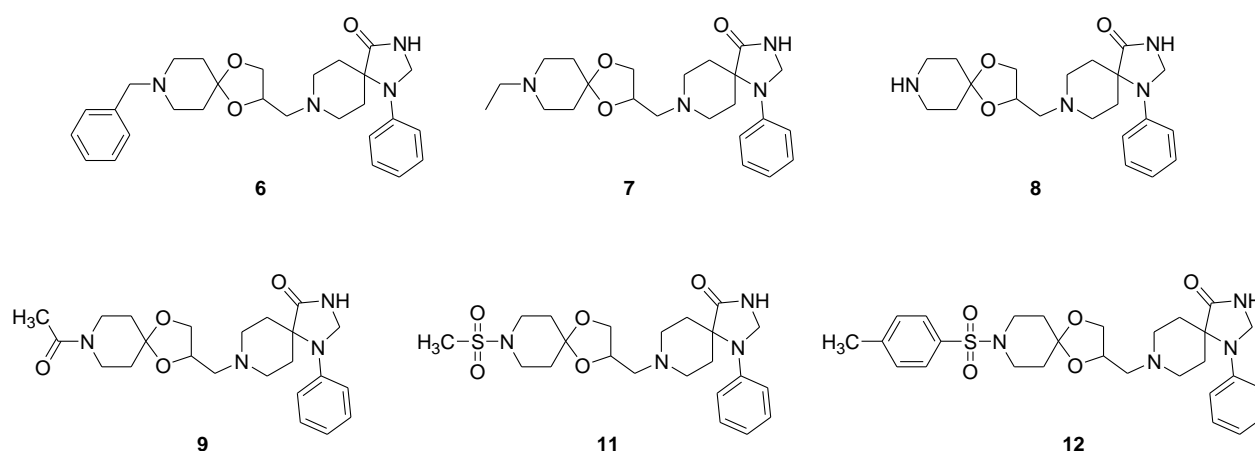
In particolare, tra derivati spiranici della *serie A*, quelli che si sono rivelati più interessanti sono i composti **1**, **2** e **3**, in cui l'anello 1,4-diossolanico reca sul C-5 quaternario un cicloalcano rispettivamente a 6, 7 e 5 termini.



Questi derivati hanno mostrato attività NOP-agonista a concentrazioni sub-micromolari, con valori di  $pEC_{50}$  compresi tra 5.81 e 6.33, quindi paragonabili a quello della Spiroxatrina ( $pEC_{50}$  6.10), nonostante il nucleo spiro-diossolanico da cui sono caratterizzati abbia una geometria spaziale ed una conformazione profondamente diversa rispetto a quella del nucleo 1,4-benzodiossolanico, quasi planare. Questi risultati indicano che: 1) la porzione legata al nucleo feniltriazaspirodecanonico non deve avere necessariamente un carattere aromatico per legare il recettore NOP, ma un requisito fondamentale per l'attività è la lipofilia di tale porzione; questa analisi, in accordo con quella riportata da Zaveri sulla base di studi SAR condotti su ligandi non peptidici, agonisti e antagonisti, del recettore NOP<sup>104</sup>, suggerisce l'esistenza di una cavità lipofila nel sito di legame del recettore NOP, in cui sono più favorite interazioni di tipo idrofobico piuttosto che interazioni  $\pi$ - $\pi$ ; l'occupazione di tale tasca, situata vicino al sito di interazione dell'azoto protonabile, costituisce un fattore determinante per l'attività; 2) supponendo che gli anelli aromatici e quelli aliciclici interagiscano con la stessa tasca recettoriale lipofila, tale tasca deve essere abbastanza ampia da accogliere entrambi i tipi di sostituenti, in quanto gli anelli aliciclici che possono esistere in diverse conformazioni, possono risultare più ingombranti; tuttavia si osserva che l'incremento del ciclopentile (**3**) a cicloesile (**1**) e a cicloeptile (**2**) riduce progressivamente l'attività ( $pEC_{50}$  6.33 > 6.29 > 5.81).

Inoltre si può osservare che la polarità dell'atomo in posizione 8 nel nucleo del 1,4-diossasp[4.5]decano influenza in modo considerevole l'attività farmacologica sul recettore NOP. In particolare, all'aumentare della polarità dell'atomo diminuisce l'attività:  $CH_2$  (**1**) > S

(4) > O (5) > NH (8). Questo conferma ulteriormente l'importanza delle interazioni idrofobiche tra ligando e recettore NOP, validando il modello proposto da Zaveri. Infatti, la presenza di un azoto protonabile a pH fisiologico, come nel caso del composto **8**, determina una totale mancanza di attività. In aggiunta, la funzionalizzazione dell'N-8 del composto **8** con gruppi accettori di legami a idrogeno o accettori/donatori di elettroni (composti **9**, **11** e **12**), che ne impediscono la protonazione a pH fisiologico, porta ancora a derivati completamente inattivi. Lo stesso effetto è stato osservato con l'introduzione di gruppi apolari stericamente ingombrati, come un etile o un benzile (**6** e **7**).



I risultati forniti dai composti appartenenti alla *serie A* ci ha indirizzati verso lo sviluppo di molecole caratterizzate da un linker flessibile e da un porzione terminale idrofobica, in modo da esplorare le possibili interazione nella tasca recettoriale ipotizzata da Zaveri. Tali molecole sono state ottenute tramite la disconnessione del legame 1-8a della porzione 1,4-benzodiossanic della Spiroxatrina e dei suoi isosteri azotati (**14-17**). L'apertura dell'anello diossanico porta alla formazione di una catena ossi-propanolica, che separa lo scaffold feniltriazaspirodecanonico dalla porzione lipofila (**Figura 27**): questo si traduce nella perdita della rigidità strutturale caratteristica degli analoghi “chiusi” e nella liberazione di un gruppo alcolico.

I composti così ottenuti sono risultati del tutto privi di attività biologica (**15-17**) o debolmente attivi come agonisti nei confronti del recettore NOP (**14**).

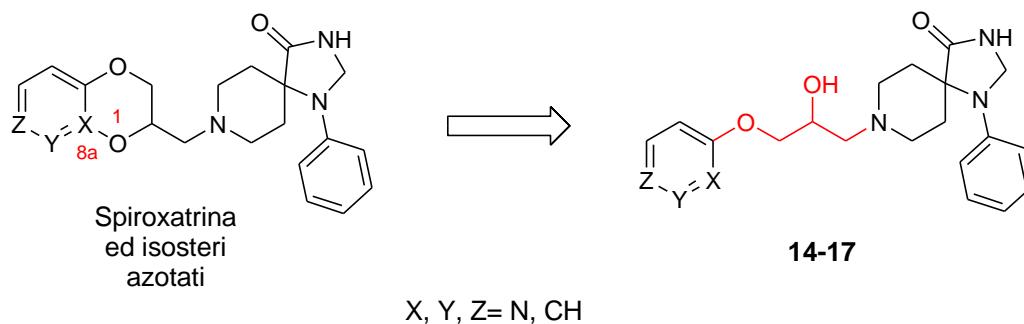
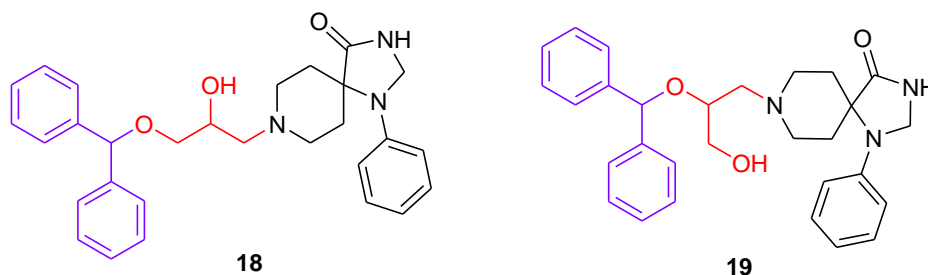


Figura 27

Un'ulteriore modifica ha riguardato la porzione lipofila aromatica dei derivati alcolici **14-17**, la quale è stata ampliata con l'utilizzo di un gruppo difenilmetilico al posto dell'anello benzenico o piridinico (**18**), al fine di valutare gli effetti dell'ingombro sterico. Questa sostituzione ha portato ad un composto, che come l'analogo mono-fenilico, interagisce solo debolmente con il recettore NOP.

L'attività agonista dei derivati **14** e **18**, seppur molto scarsa, confermerebbe nuovamente l'importanza del sistema lipofilo sull'azoto piperidinico del feniltriazaspirodecanone per una corretta interazione con il recettore NOP.



Tuttavia, l'alcool primario **19**, isomero costituzionale del derivato difenilmetilico **18**, non viene riconosciuto dal recettore NOP.

I risultati relativi a questa serie di derivati triazaspirodecanonici hanno evidenziato che l'utilizzo di un linker flessibile tra il nucleo spiropiperidinico e la porzione lipofila, determina un netto calo di attività. Per questo motivo si è deciso di tornare ad un approccio più classico, conservando il sistema biciclico sull'azoto piperidinico, come nel nostro lead. Sono state quindi progettate e sintetizzate molecole strutturalmente molto simili alla Spiroxatrina, introducendo delle modifiche strutturali esclusivamente nel nucleo benzodiossanic.

In un primo momento, tali modifiche hanno condotto alla sintesi di diversi isosteri della Spiroxatrina (**Figura 28**).

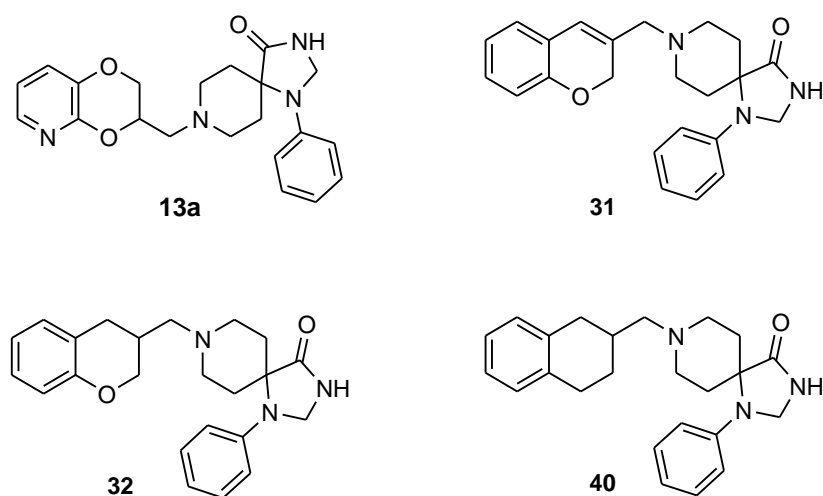


Figura 28

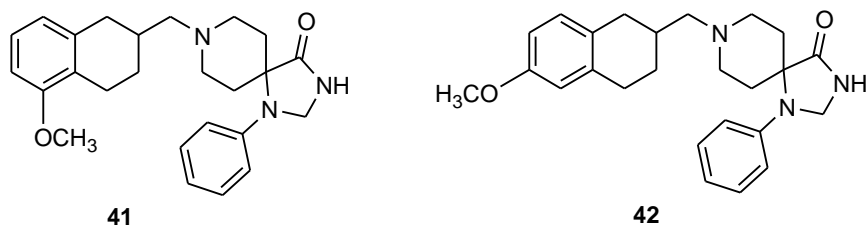
Il composto **13a**, isostero azotato della Spiroxatrina in cui il CH-8 aromatico benzodiossanico è stato sostituito con un atomo di azoto, ha mostrato un'attività agonista sul recettore NOP equivalente a quella del nostro lead (pEC<sub>50</sub> pari a 6.20).

In questo caso quindi, l'introduzione di un atomo più polare e accettore di legami ad idrogeno nella porzione aromatica, che comporta variazioni a livello della distribuzione elettronica, non ha alterato la capacità della molecola di essere riconosciuta dal suo bersaglio biologico.

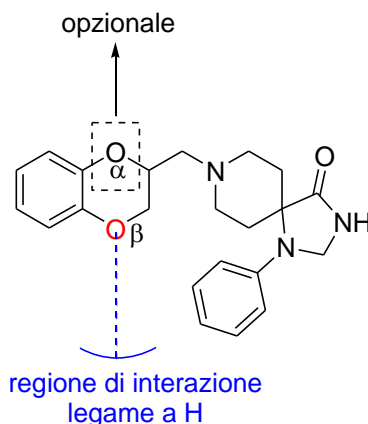
Inoltre, la sostituzione bioisosterica dell'O-1 benzodiossanico della Spiroxatrina con un gruppo CH<sub>2</sub>, ha portato al derivato cromanico **32**, il quale si comporta come agonista del recettore NOP con una potenza sovrapponibile a quella della Spiroxatrina (pEC<sub>50</sub> 6.10) ma con efficacia superiore. Da un punto di vista chimico questa sostituzione elimina un accettore di legame a idrogeno nella molecola e ne aumenta la lipofilia. L'introduzione di un doppio legame sui carboni C-3 e C-4 cromanici del composto **32**, ha portato ad un considerevole calo di attività *in vitro*: il composto **31** manifesta un debole effetto agonista nei confronti del recettore NOP solo a concentrazioni micromolari. Questo potrebbe essere associato ad una disposizione della molecola nello spazio non ottimale rispetto al **32**.

L'ulteriore sostituzione bioisosterica dell'O-4 diossanico della Spiroxatrina con un gruppo CH<sub>2</sub>, ha portato alla formazione di un anello tetralinico (**40**), caratterizzato da un maggior carattere lipofilo. Tale modifica ha causato un netto calo dell'attività agonista sul recettore NOP rispetto agli analoghi mono- e di-ossigenati, dal momento che il composto **40** è attivo solo a concentrazioni micromolari.

Lo stesso comportamento nei test *in vitro* è stato osservato per **41** e **42**, derivati 5- e 6-metossilici del composto **40**.

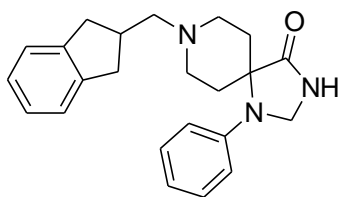


Da questi risultati emerge che: 1) la presenza di un eteroatomo accettore di legami ad idrogeno in  $\alpha$  rispetto al linker metilenico che lega la porzione spiro-piperidinica (**Figura 29**) non sembra essere una caratteristica determinante per il mantenimento dell'attività farmacologica in tali scaffold; 2) al contrario, risulta essere di cruciale importanza la presenza di un eteroatomo accettore di legami ad idrogeno in posizione  $\beta$ , che potrebbe incrementare l'attività farmacologica mediante formazione di un legame a idrogeno all'interno della tasca recettoriale.



Sulla base di queste osservazioni, si potrebbe pensare che gli atomi di ossigeno nell'anello diossolanico dei composti **1-3** giochino un ruolo importante nell'attività di questi composti.

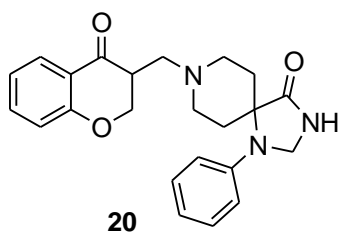
La costrizione dell'anello tetralinico ad indanico nel composto **43**, anch'esso mancante di un gruppo accettore di elettroni, non ha avuto effetti rilevanti sull'attività farmacologica, in linea con quanto osservato nei composti **40-42**.



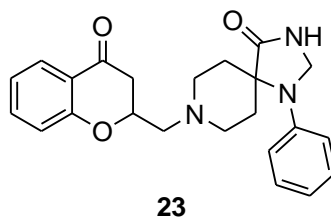
43

I composti **20** e **23**, ottenuti rispettivamente dalla dislocazione dell'O-1 e dell'O-4 benzodiossanic della Spiroxatrina all'esterno dell'anello a dare un gruppo chetonico, sono risultati inattivi.

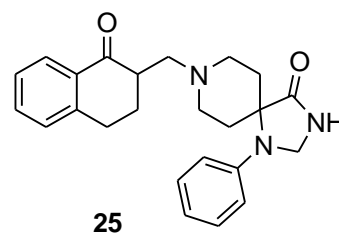
Lo stesso comportamento è stato osservato in tutti i derivati caratterizzati dalla presenza di un gruppo chetonico in posizione 1 (**25**, **28** e **29**) o in posizione 4 (**30**) del sistema biciclico legato alla porzione spiropiperidinica.



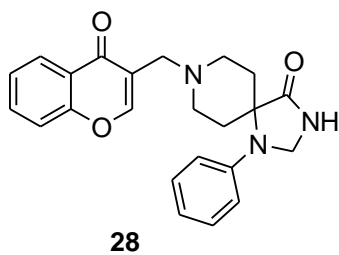
20



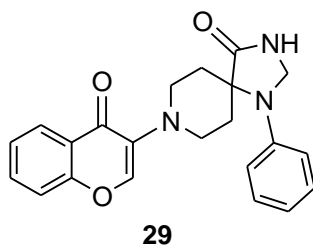
23



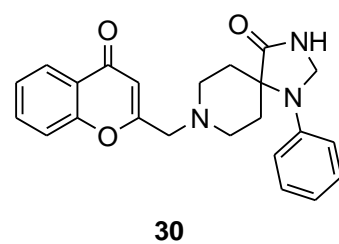
25



28

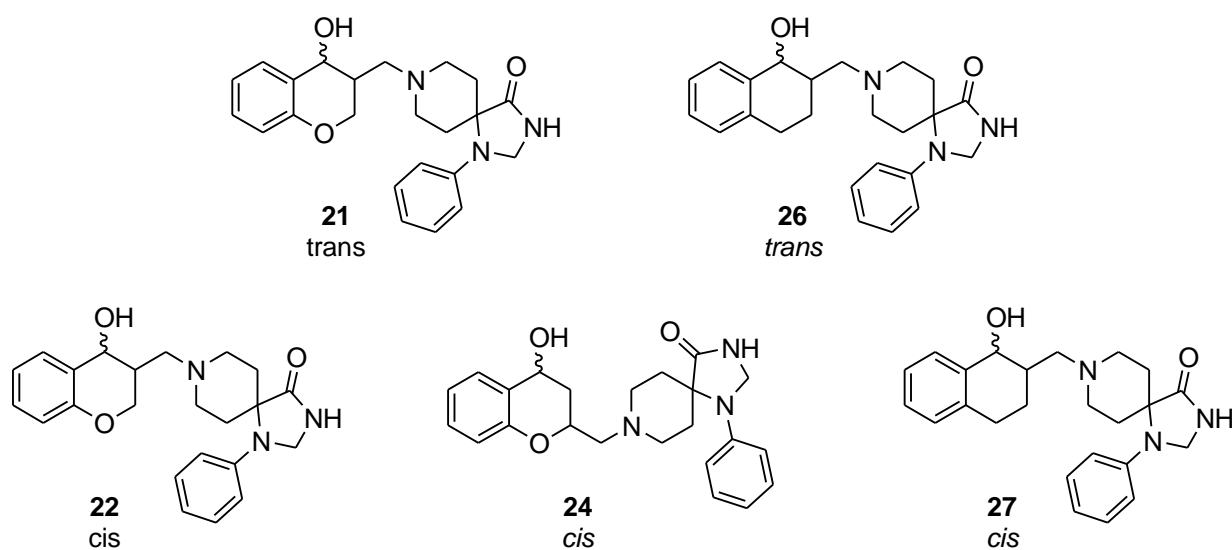


29



30

Diversamente, la riduzione del gruppo chetonico dei composti **20**, **23** e **25** ha fornito dei risultati interessanti, evidenziando un'interazione stereoselettiva dei corrispondenti derivati ossidrilici nei confronti del recettore NOP. In particolare, i composti a configurazione *trans* (**21** e **26**) manifestano un debole effetto agonista solo a concentrazioni micromolari, mentre i derivati *cis* (**22**, **24** e **27**) si comportano come potenti agonisti del recettore NOP, con valori di pEC<sub>50</sub> pari a 6.71, 6.57 e 6.38 rispettivamente.



Questo diverso comportamento potrebbe essere spiegato da un'interazione addizionale del gruppo ossidrilico con il sito di ancoraggio dell'azoto piperidinico, che nei derivati a configurazione *cis* risulta favorita, probabilmente grazie ad una distanza ottimale rispetto a quella presente negli isomeri *trans*.

Successivamente, sulla base degli studi di *homology modeling* e *docking* condotti sul recettore NOP da Bao e al.<sup>70</sup> e dei risultati ottenuti da Caldwell et al.<sup>143</sup>, relativi a derivati feniltriazaspirodecanonici privi del linker metilenico tra l'azoto piperidinico e la porzione lipofila biciclica, sono stati progettate e sintetizzate molecole meno flessibili, in cui la porzione spiro-piperidinica è legata direttamente sul C-4 cromanico (**Figura 30**). Il linker metilenico infatti, sembra influenzare profondamente la disposizione della porzione lipofila del ligando nella cavità recettoriale, di conseguenza l'attività intrinseca.

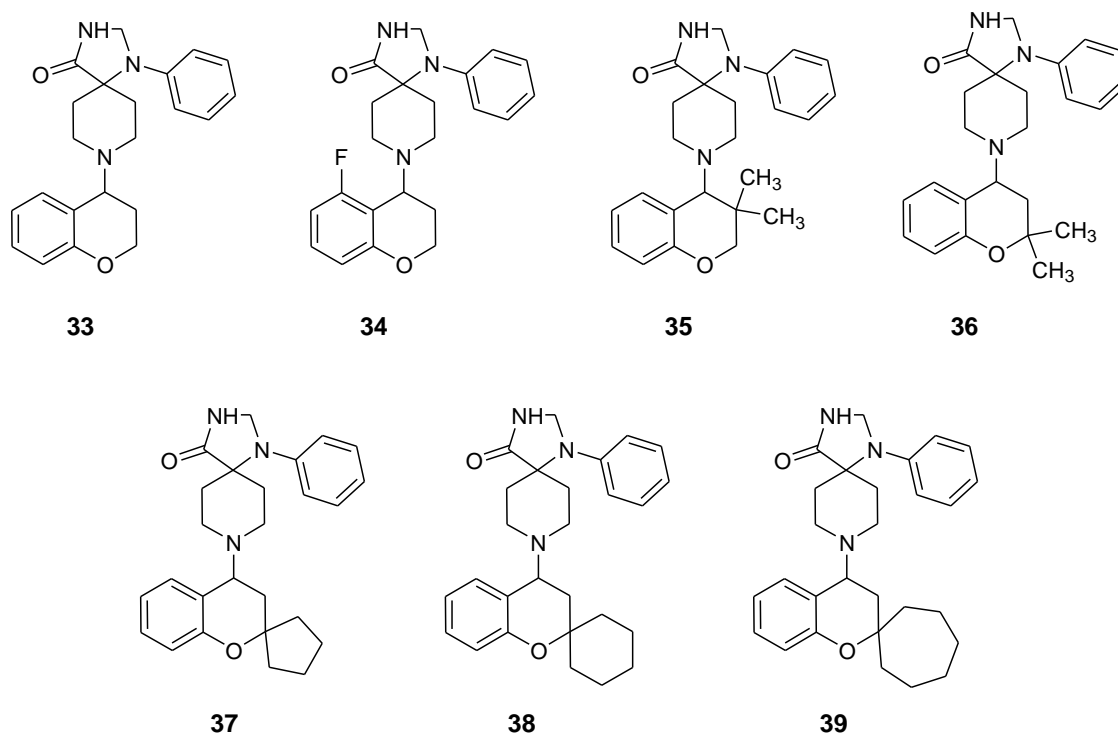


Figura 30

Il composto **33** è risultato un agonista più potente ( $pEC_{50}$  6.80) rispetto all'analogo cromanico **40** e alla Spiroxatrina stessa. Ciò potrebbe dimostrare che sostituenti lipofilici ingombranti, direttamente legati all'azoto protonabile della porzione spiro-piperidinica, vengono accolti nella tasca recettoriale lipofila in maniera ottimale.

Inoltre, sono state investigate le posizioni C-2, C-3 e C-5 del nucleo cromanico attraverso l'introduzione di sostituenti con caratteristiche chimico-fisiche diverse, al fine di valutarne gli effetti sull'attività biologica. In particolare, il composto **34**, in cui è stato introdotto un atomo di fluoro in posizione 5, ha conservato l'attività NOP-agonista, ma non si è osservato un incremento della potenza ( $pEC_{50}$  6.34). Pertanto, si può dedurre che la presenza di un sostituito accettore di elettroni, quale il fluoro, sul C-5 aromatico del nucleo cromanico, è trascurabile ai fini dell'attività farmacologica.

La presenza del sostituente dimetilico sul C-3 cromanico nel derivato **35**, ha determinato un drastico calo dell'attività. Allo stesso modo, l'introduzione dei sostituenti dimetilico (**36**), spiro-ciclopentilico (**37**) o spiro-cicloeptilico (**39**) sul C-2, ha generato analoghi solo debolmente attivi come agonisti verso il recettore NOP. Inoltre, analizzando i valori di  $E_{max}$  relativi a questi ultimi derivati, si osserva che il decremento dell'efficacia è

direttamente proporzionale all'ingombro sterico dei sostituenti (**36**=177±22% > **37**=176±14% > **39**=114±11%).

Il derivato **38** che porta in posizione C-2 del nucleo cromanico un sostituito spiro-cicloesilico, merita una discussione più approfondita. Sorprendentemente, tale composto ha dimostrato una buona attività antagonista nei confronti del recettore NOP, con un valore di  $pK_b$  pari a 6.77. Questo risultato è alquanto inatteso, considerando che gli omologhi inferiore (**37**) e superiore (**38**) si comportano come agonisti, seppure deboli.

Il comportamento particolare del composto **38** potrebbe essere associato alle caratteristiche dell'anello cicloesilico, il quale potrebbe impedire il posizionamento del nucleo cromanico in una specifica tasca di legame responsabile della risposta agonista. In particolare, secondo Zaveri<sup>104</sup>, oltre alla tasca lipofila di legame, nelle vicinanze del sito di interazione dell'azoto piperidinico sembrerebbe esserci un'altra area di dimensioni minori, cruciale per l'attività agonista. Affinché un ligando evochi una risposta agonista del recettore NOP, entrambe queste tasche recettoriali devono essere occupate. Pertanto, la porzione idrofobica del ligando deve avere dimensioni e caratteristiche adeguate per il corretto posizionamento sia nella tasca lipofila più grande che nella cavità specifica per gli agonisti. In questo modo, il ligando stabilizza una conformazione recettoriale che si trasduce in un segnale agonista.

Al contrario, un sostituito idrofobico di grandezza e conformazione non ottimali, va ad interagire con la tasca lipofila ma impedisce l'interazione con il sito di legame agonista. Composti con queste caratteristiche non possono innescare una risposta agonista e si comportano da antagonisti.

Probabilmente, nel composto **38**, la porzione lipofila del cromo permette il legame con il recettore NOP, ma l'anello cicloesilico sul C-2 cromanico presenta conformazione e ingombro tali da non indurre il cambio conformazionale agonista del recettore. Ne scaturisce che il composto **38** è dotato di buona affinità per il recettore NOP, ma manca di attività intrinseca.

Tuttavia, i risultati finora ottenuti sono in disaccordo con quanto ipotizzato da Zaveri<sup>104</sup>, secondo cui ligandi del recettore NOP con gruppi ciclici direttamente legati all'azoto piperidinico sembrano avere attività agonista, mentre sostituenti ingombranti distanziati dall'azoto attraverso un linker metilenico conferirebbero alla molecola attività antagonista.

## 4 CONCLUSIONI

In questo lavoro è stata studiata la possibilità di individuare nuovi ligandi del recettore NOP introducendo sostituenti di diversa natura sull'azoto piperidinico dell'1-fenil-1,3,8-triazaspiro[4.5]decan-4-one, rivelatosi uno scaffold di grande interesse in questo ambito.

Lo studio di questi sostituenti ha permesso di ottenere molte informazioni sui requisiti strutturali essenziali per l'interazione con il recettore NOP.

È stato osservato che l'1-fenil-1,3,8-triazaspiro[4.5]decan-4-one può essere derivatizzato con appropriati sostituenti 1,4-diossolanici non polari per ottenere nuovi promettenti ligandi del recettore NOP con attività sub-micromolare.

È stata poi osservata l'importanza di sostituenti ciclici, aromatici o alifatici, sull'azoto piperidinico del feniltriazaspirodecanone. In modo particolare è stata dimostrata l'importanza, in tali cicli, della presenza di un eteroatomo (ossigeno) opportunamente posizionato, capace di generare un legame a idrogeno a livello della tasca recettoriale, influenzando in modo considerevole l'attività farmacologica sul recettore NOP.

È stato dimostrato che un gruppo accettore di legami a idrogeno, come un chetone, in posizione 1 o 4 del sistema biciclico legato al feniltriazaspirodecanone, determina la perdita dell'attività. Diversamente, la presenza di un gruppo donatore di legami a idrogeno nelle stesse posizioni, come un ossidrile, incrementa notevolmente l'attività agonista nei confronti del recettore NOP, in particolar modo quando è orientato dalla stessa parte rispetto alla porzione feniltriazaspirodecanonica.

È stato inoltre affrontato uno studio relazione struttura-attività (SAR) del nucleo cromanico come sostituente lipofilo del feniltriazaspirodecanone, mediante la derivatizzazione delle posizioni C-2, C-3 e C-5: le diverse funzionalità studiate hanno portato a molecole a bassa affinità per il recettore NOP. Tuttavia, l'introduzione di un anello spiro-cicloesilico sul C-2 cromanico porta ad un composto con una buona attività NOP-antagonista (**38**).

## 5. PARTE SPERIMENTALE

### 5.1 Materiali e Metodi

Gli spettri  $^1\text{H}$ -NMR e  $^{13}\text{C}$ -NMR 1D e 2D sono stati registrati con spettrofotometri *Bruker 200 D-SRC (200 MHz)* e *Bruker Advance 400 WB (400.13 e 100.61 MHz)* presenti presso il Centro Interdipartimentale Grandi Strumenti (C.I.G.S.) dell'Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia. I chemical shifts ( $\delta$ ) sono espressi in ppm utilizzando il tetrametilsilano come riferimento interno e le costanti di accoppiamento (J) sono espresse in Hz. I dati  $^1\text{H}$ -NMR sono riportati nel seguente modo: chemical shift, molteplicità (s=singoletto, d=doppio, t=tripletto, dd=doppio doppio, ddd= doppio doppio doppio, q=quartetto, m=multipletto), costante di accoppiamento e assegnazione del protone.

Le analisi spettroscopiche  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  (COSY), HMQC (heteronuclear multiple quantum coherence), HMBC (heteronuclear multiple bond connectivity), sono state effettuate per la determinazione delle correlazioni  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  e  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$ .

Le analisi di massa sono state effettuate con lo strumento: *6520 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS* presente presso il Centro Interdipartimentale Grandi Strumenti (C.I.G.S.) dell'Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia. I dati riportati si riferiscono alle specie cariche positivamente.

Le reazioni al microonde sono state effettuate con forno *Discover Lab Mate della CEM*.

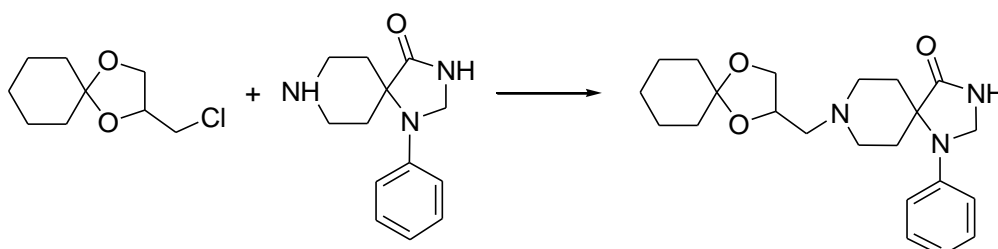
Per la cromatografia su strato sottile sono state utilizzate lastre cromatografiche con gel di silice *60 F254* con opportune miscele eluenti. L'analisi dei cromatogrammi è stata effettuata utilizzando una lampada UV<sub>254nm</sub>.

Le separazioni cromatografiche sono state eseguite in colonna con tecnica "Flash Chromatography", oppure mediante sistema di purificazione automatizzato SP1 (BIOTAGE), utilizzando gel di silice *Merck grade 9385, 400 mesh, 60 Å* per la fase normale e gel di silice *Polygoprep 60-30 C<sub>18</sub>, 60 Å*, prodotto dalla ditta Macherey-Nagel, per la fase inversa.

I punti di fusione sono stati determinati utilizzando l'apparecchio *Melting Point Stuart SMP3* ponendo i campioni in capillari di vetro. Le reazioni di idrogenazione catalitica sono state condotte nel reattore *Series 4560 Top Mini Reactors* della PARR.

L'analisi elementare C, H, N è stata effettuata utilizzando un Analizzatore Carlo Erba 1106, presso il Laboratorio di Microanalisi del Dipartimento di Scienze della Vita, Università degli Studi di Modena e Reggio Emilia.

## 5.2 SINTESI

**SINTESI DEL 8-(1,4-DIOSSA-SPIRO[4,5]DEC-2-ILMETIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4,5]DECAN-4-ONE a partire da 2-clorometil-1,4-diossa-spiro[4,5]decano (1)**<sup>106</sup>

Ad una soluzione di 2-clorometil-1,4-diossa-spiro[4,5]decano (0.3 g, 1.57 mmoli) in 4 mL di dimetilformammide anidra, si aggiungono 0.364 g (1.573 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one e 0.117 g (1.01 mmoli) di sodio carbonato anidro.

La miscela di reazione viene portata a 120 °C sotto agitazione elettromagnetica per 26 ore e 30 minuti controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC ( miscela eluente: cicloesano/etile acetato/metanolo/ammoniaca 50/50/10/5).

Al termine si lascia raffreddare la miscela e si decompone il liquido di reazione con ghiaccio; si lascia riposare circa 30 minuti, poi si effettuano cinque estrazioni con etile acetato. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco fino ad ottenere un residuo oleoso 0.719 g.

Si purifica il grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente cicloesano/etile acetato/metanolo 75/25/5/1); il prodotto non si separa completamente dalle impurezze, quindi si effettuano due ulteriori purificazioni con le stesse condizioni, complessivamente si ottengono 0.16 g di 8-(1,4-diossa-spiro[4,5]dec-2-ilmetil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one (1).

**RESA:** 0.16 g (0.415 moli), 26% d. t.

**Punto di fusione:** 191–193 °C

**<sup>1</sup>H-NMR** (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.45 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-8 dosd), 1.65 (m, 8H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9, CH<sub>2</sub>-10 dosd), 1.75 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.67 (m, 4H, CH<sub>2</sub>N, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.93 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.71 (pseudo t, 1H, J=7.6, CHa-3 dosd), 4.16 (dd, 1H, J=7.6, 6.4; CHb-3 dosd), 4.32 (m, 1H, CH-2 dosd), 4.78 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.93 (m, 3H,

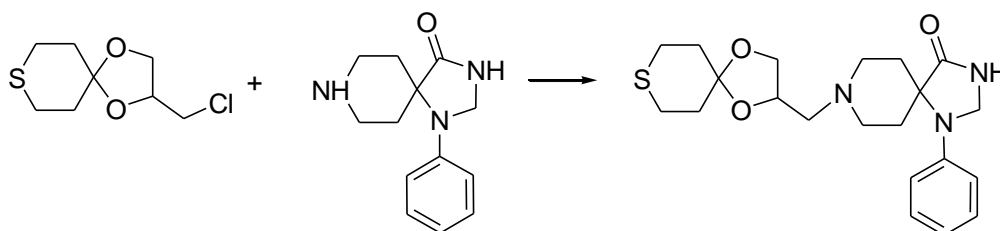
CH-2, CH-4, CH-6 aromatici tasd), 7.20 (s, 1H, NH), 7.42 (m, 2H, CH-3, CH-5 aromatici tasd).

dosd= diossaspirodecano; tasd= triazospirodecanone

<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 23.94 (C-7/C-9 dosd), 24.04 (C-7/C-9 dosd), 25.22 (C-8 dosd), 20.19 (C-6/C-10 tasd), 29.21 (C-6/C-10 tasd), 36.55 (C-6/C-10 dosd), 35.32 (C-6/C-10 dosd), 49.99 (C-7/C-9 tasd), 50.99 (C-7/C-9 tasd), 59.22 (C-5 tasd), 59.34 (C-2 tasd), 61.33 (C-2-CH<sub>2</sub>-N), 68.29 (C-3 dosd), 74.38 (C-2 dosd), 109.76 (C-5 dosd), 115.81 (C-2, C-6 arom. tasd), 119.20 (C-4 arom. tasd), 129.27 (C-3, C-5 arom. tasd), 143.23 (C-1 arom. tasd), 178.12 (CO).

dosd= diossaspirodecano; tasd= triazospirodecanone

**SINTESI DEL 8-(1,4-DIOSSA-8-TIA-SPIRO[4,5]DEC-2-ILMETIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4,5]DECAN-4-ONE a partire da 2-clorometil-1,4-diossa-8-tia-spiro[4,5]decano (4)**<sup>106</sup>



Ad una soluzione di 2-clorometil-1,4-diossa-8-tia-spiro[4,5]decano (0.133 g, 0.639 mmoli) in 9 mL di dimetilformammide anidra, si aggiungono 0.148 g (0.639 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one e 0.047 g (0.447 mmoli) di sodio carbonato anidro.

La miscela di reazione è mantenuta sotto agitazione elettromagnetica a 110 °C; dopo 21 ore si porta la temperatura a 120 °C e si aggiunge KI in quantità catalitica per favorire la formazione dei prodotti.

La reazione viene protratta per altre 26 ore. Al termine si lascia raffreddare la miscela e si decompone il liquido di reazione con ghiaccio; si lascia riposare circa 30 minuti, poi si effettuano cinque estrazioni con etile acetato e due lavaggi della fase organica con acqua distillata. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere un residuo oleoso giallo scuro 0.227 g.

Si purifica il grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente cicloesano/etile acetato/metanolo/ammoniaca 75/25/10/1). Il prodotto contiene ancora alcune impurezze, quindi si effettua una ulteriore purificazione: flash cromatografia SP1 in fase inversa (eluente miscela acqua-acetonitrile(95/5)/acetonitrile 40/60).

**RESA:** 0.0217 g (1.12 mmoli), 8.5% d. t.

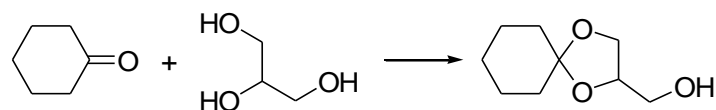
**Punto di fusione:** 165–174 °C

**<sup>1</sup>H-NMR** (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.75 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 1.95 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 dotsd), 2.71 (m, 9H, CH<sub>2</sub>N, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 dotsd, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-7/CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-9 tasd), 2.91 (m, 3H, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-7/CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-9 tasd, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.68 (pseudo t, 1H, J=7.9, CH<sub>a</sub>-3 dotsd), 4.12 (dd, 1H, J=6.1, 7.9, CH<sub>b</sub>-3 dotsd), 4.3 (m, 1H, CH-2 dotsd), 4.74 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.62 (s allargato, 1H, NH), 6.90 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 aromatici tasd), 7.30 (m, 2H, CH-3, CH-5 aromatici tasd).

**<sup>13</sup>C-NMR** (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 26.98 (C-7/C-9 dotsd), 27.04 (C-7/C-9 dotsd), 29.20 (C-6, C-10 tasd), 36.91 (C-6/C-10 dotsd), 38.16 (C-6/C-10 dotsd), 50.03 (C-7/C-9 tasd), 51.02 (C-7/C-9 tasd), 59.24 (C-5 tasd), 59.47 (C-2 tasd), 61.09 (C-2-CH<sub>2</sub>-N), 68.41 (C-3 dotsd), 74.82 (C-2 dotsd), 107.96 (C-5 dotsd), 115.78 (C-2, C-6 arom. tasd), 119.21 (C-4 arom. tasd), 129.28 (C-3, C-5 arom. tasd), 143.20 (C-1 arom. tasd), 178.36 (CO).

dotsd = diossatiospirodecano; tasd = triazospirodecanone

#### SINTESI DEL (1,4-DIOSSA-SPIRO[4,5]DEC-2-IL)-METANOLO (44)



In un pallone a due colli da 50 mL si introducono 0.2 g (2.04 mmoli, 0.21 mL) di cicloesanoone, 0.751 g (8.15 mmoli, 0.6 mL) di glicerolo e 0.0194 g (0.102 mmoli) di acido p-toluenesolfonico (p-TSA) in soluzione toluenica (15 mL).

La miscela di reazione viene mantenuta sotto agitazione elettromagnetica e riscaldata a refluxo utilizzando l'apparecchio di Dean-Stark.

L'andamento della reazione viene controllato mediante cromatografia su strato sottile, utilizzando come miscela eluente cicloesano/etile acetato 70/30. Dopo 1 ora e 10 minuti, accertata la scomparsa dei prodotti di partenza, si interrompono agitazione e riscaldamento.

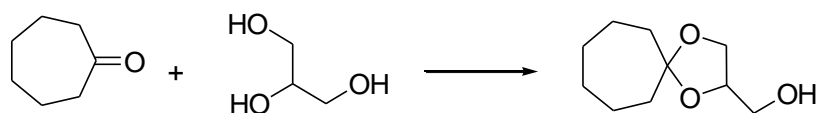
La miscela viene fatta raffreddare a temperatura ambiente, si filtra, si riprende con etile acetato e si evapora il solvente a pressione ridotta sino ad ottenere un residuo oleoso incolore (0.343 g) che dall'analisi NMR risulta corrispondere al (1,4-diossa-spiro[4,5]dec-2-il)-metanolo (**44**), praticamente puro.

**RESA**= 0.343 g (1.99 mmoli), 98% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR** (200MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.53 (m, 10H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-8, CH<sub>2</sub>-9, CH<sub>2</sub>-10 dosd), 3.58 (dd, 1H, J=5.1, 11.6, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>OH CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>OH), 3.73 (dd, 1H, J=3.9, 11.6, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>OH), 3.78 (dd, 1H, J=6.4, 8.1, CH<sub>a</sub>-3 dosd), 4.03 (dd, 1H, J=6.5, 8.1, CH<sub>b</sub>-3 dosd), 4.24 (m, 1H, CH-2 dosd), ~5.2 (s allargato, 1H, OH).

dosd = diossaspirodecano

#### SINTESI DEL (1,4-DIOSSA-SPIRO[4,6]UNDEC-2-IL)-METANOLO (**45**)



In un pallone a due colli da 50 mL si introducono 0.3 g (2.76 mmoli, 0.32 mL) di cicloheptanone, 0.984 g (10.7 mmoli, 0.78 mL) di glicerolo e 0.025 g (0.134 mmoli) di acido p-toluensolfonico (p-TSA) in soluzione toluenica (10 mL).

La miscela di reazione viene mantenuta sotto agitazione elettromagnetica e riscaldata a riflusso utilizzando l'apparecchio di Dean-Stark.

L'andamento della reazione viene controllato mediante cromatografia su strato sottile, utilizzando come miscela eluente cicloesano/etile acetato 70/30. Dopo 30 minuti, accertata la scomparsa dei prodotti di partenza, si interrompono agitazione e riscaldamento.

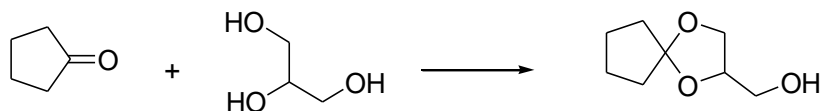
La miscela viene fatta raffreddare a temperatura ambiente, si filtra, si riprende con etile acetato e si evapora il solvente a pressione ridotta, sino ad ottenere un residuo liquido giallino (0.337 g) che dall'analisi NMR risulta corrispondere al (1,4-diossa-spiro[4,6]undec-2-il)-metanolo (**45**).

**RESA**= 0.337 g (1.81 moli), 68% d. t.

<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO) δ 1.67 (m, 12H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-8, CH<sub>2</sub>-9, CH<sub>2</sub>-10, CH<sub>2</sub>-11 dosu), 3.58 (dd, 1H, J=5.0, 11.6, 1H, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>OH), 3.77 (m, 2H, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>OH, CH<sub>a</sub>-3 dosu) 3.99, (m, 1H, CH<sub>b</sub>-3 dosu), 4.16 (m, 1H, CH-2 dosu), 5.28 (s allargato, 1H, OH).

dosu = diossaspiroundecano

### SINTESI DEL (1,4-DIOSSA-SPIRO[4,4]NON-2-IL)-METANOLO (46)



In un pallone a due colli da 50 mL si introducono 0.3 g (3.57 moli, 0.32 mL) di ciclopentanone, 1.32 g (14.28 mmoli, 1.67 mL) di glicerolo e 0.034 g (0.18 moli) di acido p-toluenesolfonico (p-TSA) in soluzione toluenica (15 mL).

La miscela di reazione viene mantenuta sotto agitazione elettromagnetica e riscaldata a riflusso utilizzando l'apparecchio di Dean-Stark.

L'andamento della reazione viene controllato mediante cromatografia su strato sottile, utilizzando come miscela eluente cicloesano/etile acetato 70/30. Dopo 45 minuti, accertata la scomparsa dei prodotti di partenza, si interrompono agitazione e riscaldamento.

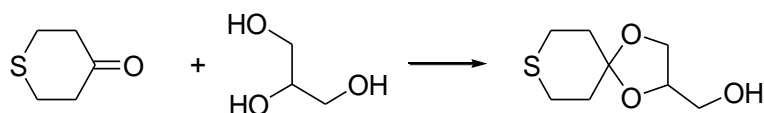
La miscela viene fatta raffreddare a temperatura ambiente, si filtra, si riprende con etile acetato e si evapora il solvente a pressione ridotta, sino ad ottenere un residuo oleoso incolore (0.479g) che dall'analisi NMR risulta corrispondere al (1,4-diossa-spiro[4,4]non-2-il)-metanolo (46).

RESA= 0.479 g (3.03 mmoli), 85% d. t.

<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO) δ 1.94 (m, 8H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-8, CH<sub>2</sub>-9 dosn), 3.60 (dd, 1H, J=5.3, 11.6, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>OH), 3.74 (dd, 1H, J=3.6, 11.6, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>OH), 3.77 (dd, 1H, J=6.1, 8.2, CH<sub>a</sub>-3 dosn), 4.00 (dd, 1H, J=6.7, 8.1, CH<sub>b</sub>-3 dosn), 4.19 (m, 1H, CH-2 dosn), 5.32 (s allargato, 1H, OH).

dosn = diossaspirononano

### SINTESI DEL (1,4-DIOSSA-8-TIO-SPIRO[4,5]DEC-2-IL)-METANOLO (47)



In un pallone a due colli da 100 mL si introducono 0.34 g (2.93 mmoli) di tetraidrotiopirone, 1.08 g (11.7 mmoli, 0.86 mL) di glicerolo e 0.028 g (0.147 mmoli) di acido p-toluensolfonico (p-TSA) in soluzione toluenica (15 mL).

La miscela di reazione viene mantenuta sotto agitazione elettromagnetica e riscaldata a refluxo utilizzando l'apparecchio di Dean-Stark per circa 1 ora.

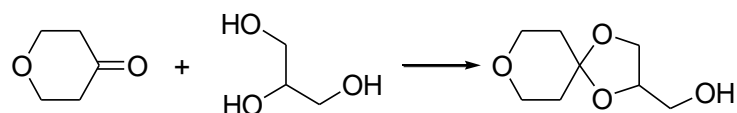
La miscela viene fatta raffreddare a temperatura ambiente, poi si filtra, si riprende con etile acetato e si evapora il solvente a pressione ridotta sino ad ottenere un residuo oleoso incolore (0.558 g), il quale, dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso (1,4-diossa-8-tio-spiro[4,5]dec-2-il)-metanolo (**47**).

**RESA**= 0.558 g (2.9 mmoli) quantitativa.

**<sup>1</sup>H-NMR** (200MHz, DMSO)  $\delta$  1.82 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 dotsd), 2.62 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 dotsd), 3.36 (dd, 1H, J=5.0, 11.4, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>OH), 3.44 (dd, 1H, J=6.4, J=11.4, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>OH), 3.66 (dd, 1H, J= 6.0, 7.7; CH<sub>a</sub>-3 dotsd), 4.02 (m, 2H, CH<sub>b</sub>-3 dotsd, CH-2 dotsd), ~4.78 (s allargato, 1H, OH).

dotsd = diossatiospirodecano

#### SINTESI DEL (1,4,8-TRIOSSA-SPIRO[4,5]DEC-2-IL)-METANOLO (**48**)



In un pallone a 2 colli da 100 mL si introducono 0.5 g (5 mmoli, 0.46 mL) di tetraidropirone, 1.84 g (20 mmoli, 1.46 mL) di glicerolo e 0.0475 g (0.25 mmoli) di acido p-toluensolfonico (p-TSA) in soluzione toluenica (15 mL).

La miscela di reazione viene mantenuta sotto agitazione elettromagnetica e riscaldata a refluxo utilizzando l'apparecchio di Dean-Stark.

L'andamento della reazione viene controllato mediante cromatografia su strato sottile TLC, utilizzando come miscela eluente cicloesano/etile acetato 60/40. Dopo circa 40 minuti, accertata la scomparsa dei prodotti di partenza, si interrompono agitazione e riscaldamento.

La miscela viene fatta raffreddare a temperatura ambiente, si filtra, si riprende con diclorometano e si evapora il solvente a pressione ridotta sino ad ottenere un residuo oleoso giallino corrispondente a **48** (0.828 g).

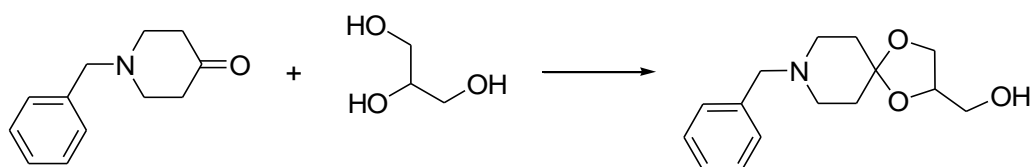
**RESA**= 0.828 g (4.75 mmoli), 95% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR** (200MHz, DMSO)  $\delta$  1.61 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 tosd), 3.60 (m, 7H, CH<sub>2</sub>-OH, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tosd, CHa-3 tosd), 4,09 (m, 2H, CHb-3 tosd, CH-2 tosd), 4,79 (s allargato, 1H, OH).

tosd = triossaspirodecano

### SINTESI DEL (8-BENZIL-1,4-DIOSSA-8-AZA-SPIRO[4,5]DEC-2-IL)-METANOLO

(49)



In un pallone da 50 mL vengono posti 2.76 g (14.6 mmoli, 2.7 mL) di 1-benzil-piperidin-4-one, 5.37 g (58 mmoli, 4.25 mL) di glicerolo e 0.139 g (0.73 mmoli) di acido p-toluenosulfonico (p-TSA) in soluzione toluenica (25 mL).

La reazione viene condotta sotto agitazione magnetica riscaldata a refluxo utilizzando l'apparecchio di Dean-Stark per 45 ore.

La reazione viene monitorata tramite analisi cromatografia TLC (miscela eluente: cicloesano/etile acetato 50/50). A 17 ore dall'inizio si aggiungono altri 4.03 g (3.19 mL) di glicerolo per facilitare la formazione dei prodotti. Al termine della reazione si filtra la miscela per allontanare i residui di glicerolo e p-TSA, si riprende con etile acetato e si evaporano i solventi a pressione ridotta. Si ottiene un residuo viscoso marrone-rossiccio di 2.67 g.

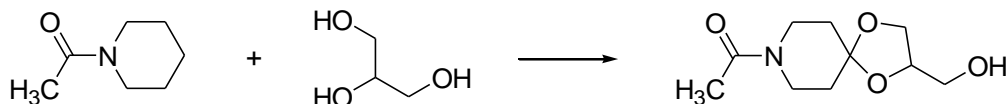
Dall'analisi NMR si calcola che il prodotto buono (49) è circa il 50%.

**RESA**: 1.335 g (5.07 mmoli), 35% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR** (200MHz, DMSO)  $\delta$  1.60 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 bnz-doasd), 2.37 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 bnz-doasd), 3.29 (s, 2H, CH<sub>2</sub>N-bnz), 3.40 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-OH), 3.65 (dd, 1H, J=5.9, 7.7 CHa-3 bnz-doasd), 4.01 (m, 2H, CH-2, CHb-3 bnz-doasd), 4.75 (m, 1H, OH), 7.28 (m, 5H, aromatici).

bnz-doasd = benzildiossaazaspirodecano

**SINTESI DEL (8-ACETIL-1,4-DIOSSA-8-AZA-SPIRO[4.5]DEC-2-IL)-METANOLO (50)**



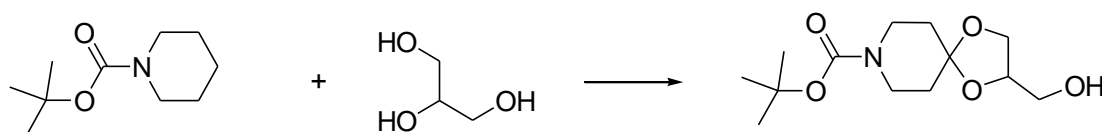
In un pallone da 50 mL vengono posti 2.00 g (14.2 mmoli, 1.75 mL) di 1-acetil-piperidin-4-one, 6.54 g (71 mmoli, 5.18 mL) di glicerolo e 0.135 g (0.71 mmoli) di acido *p*-toluensolfonico (*p*-TSA) in soluzione toluenica (20 mL). La reazione viene riscaldata a refluxo utilizzando l'apparecchio di Dean-Stark per 45 minuti. Al termine della reazione si filtra la miscela per allontanare l'eccesso di glicerolo e il *p*-TSA, si riprende con etile acetato e si evaporano i solventi a pressione ridotta. Si ottiene un residuo liquido incolore trasparente di 2.74 g che dall'analisi <sup>1</sup>H-NMR risulta corrispondere al composto atteso (50).

**RESA:** 2.48 g (12 mmoli), 85% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR** (200MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.73 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 doasd), 2.11 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 3.51-3.88 (m, 7H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 doasd + CH<sub>2</sub>-OH + Ha-3 doasd), 4.08 (pseudo-t, 1H, J = 7.2 Hz, Hb-3 doasd), 4.28 (m, 1H, H-2 doasd)

doasd = diossaazaspirodecanone

**SINTESI DEL (8-*tert*-BUTOSSICARBONIL-1,4-DIOSSA-8-AZA-SPIRO[4.5]DEC-2-IL)-METANOLO (51)**



In un pallone a due colli da 50 mL vengono posti 2 g di Boc-piperidone (10.0 mmoli), 9.209 g di glicerolo (100 mmoli, 7.3 mL), ed infine 0.152 g (8.0 mmoli) di acido *p*-toluensolfonico (*p*-TSA) in soluzione toluenica (20 mL). La reazione viene riscaldata a refluxo utilizzando l'apparecchio di Dean Stark per 20 ore. La reazione viene monitorata tramite cromatografia su strato sottile (miscela eluente: cicloesano/etile acetato 50/50). Al termine, si filtra la miscela di reazione per allontanare l'eccesso di glicerolo e il *p*-TSA, si riprende con etile acetato e si evaporano i solventi a pressione ridotta. Si ottiene un residuo oleoso rossiccio-bruno di 1.15 g.

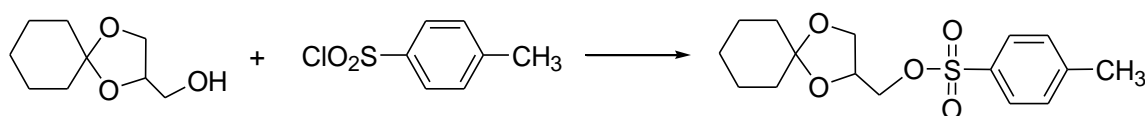
Si purifica il grezzo mediante flash cromatografia (miscela eluente cicloesano/etile acetato 50/50) e si recuperano 0.322 g dell'atteso estere *tert*-butilico dell'acido 2-idrossimetil-1,4-diossa-8-aza-spiro[4,5]decan-8-carbossilico (**51**).

**RESA:** 0.322 g (1.2 mmoli), 12% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR** (200MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.45 (s, 1H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.68 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 doasd), 3.38-3.85 (m, 7H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 doasd + CH<sub>2</sub>-OH + Ha-3 doasd), 4.05 (m, 1H, Hb-3 doasd), 4.26 (m, 1H, H-2 doasd)

doasd = diossaazaspirodecanone

### SINTESI DEL 1,4-DIOSSA-SPIRO[4.5]DEC-2-ILMETIL TOLUEN-4-SOLFONATO (**52**)



0.343 g (1.99 mmoli) di (1,4-diossa-spiro[4,5]dec-2-il)-metanolo (**44**) e 0.403 g (0.56 mL, 3.98 mmoli) di trietilammina vengono dissolti in 3 mL di diclorometano. Si porta la miscela di reazione costituita a 0°C con bagno di ghiaccio. Successivamente si aggiungono goccia a goccia 0.57 g di tosilcloruro (2.99 mmoli) solubilizzati in 3 mL di diclorometano. Si mantiene la reazione a 0 °C sotto agitazione elettromagnetica per 15 minuti, poi si lascia procedere a temperatura ambiente per 4 ore.

Al termine si eseguono 2 lavaggi della miscela di reazione (fase organica) con alcuni mL di soluzione satura di sodio bicarbonato e un lavaggio con acqua distillata. Le fasi acquose di lavaggio vengono riestratte con diclorometano (2x). Le fasi organiche riunite vengono anidificate con sodio solfato, filtrate e concentrate a pressione ridotta fino ad ottenere un residuo oleoso (0.664 g).

Si procede alla purificazione del grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente cicloesano/etile acetato 90/10) e si recuperano 0.456 g di (**52**).

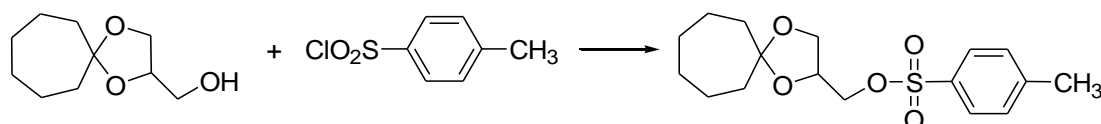
**RESA:** 0.456 g (1.4 moli) 70% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR** (200MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.48 (m, 10H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-8, CH<sub>2</sub>-9, CH<sub>2</sub>-10 dosd), 2.46 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-tosile), 3.76 (dd, 1H, J=5.1, 8.7, CHa-3 dosd), 4.01 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-O-Ts), 4.03

(dd, 1H, J=6.4, 8.7, CHb-3 dosd), 4.28 (m, 1H, CH-2 dosd), 7.36 (m, 2H, aromatici), 7.80 (m, 2H, aromatici).

dosd = diossaspirodecano

### SINTESI DEL 1,4-DIOSSA-SPIRO[4,6]UNDEC-2-ILMETIL TOLUEN-4-SOLFONATO (53)



0.337 g (1.81 mmoli) di (1,4-diossa-spiro[4,6]undec-2-il)-metanolo (**45**) e 0.366 g (0.51 mL, 3.63 mmoli) di trietilammina vengono dissolti in 2 mL di diclorometano. La miscela di reazione portata a 0 °C con bagno di ghiaccio sotto flusso d'azoto e successivamente si aggiungono goccia a goccia 0.518 g di tosilcloruro (2.72 mmoli) solubilizzati in 3 mL di diclorometano. Si lascia procedere a temperatura ambiente per 5 ore.

Al termine si eseguono due lavaggi della miscela di reazione (fase organica) con una soluzione satura di sodio bicarbonato e un lavaggio con acqua distillata. Le fasi acquose di lavaggio vengono estratte con diclorometano (2x).

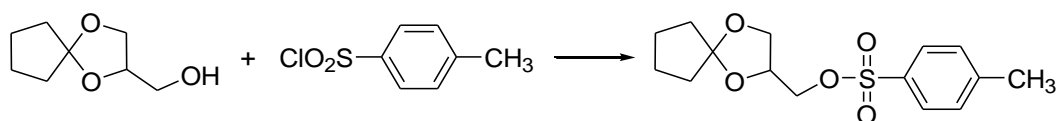
Le fasi organiche riunite vengono anidificate con sodio solfato, filtrate e concentrate a pressione ridotta fino ad ottenere un residuo oleoso (0.638 g).

Si procede alla purificazione del grezzo di reazione mediante flash cromatografia SP1 (miscela eluente cicloesano/etile acetato 95/5) e si recuperano 0.180 g del composto **53**.

**RESA:** 0.436 g (1.28 mmoli) 71% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR** (200MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.52 (m, 8H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-8, CH<sub>2</sub>-9, CH<sub>2</sub>-10 dosu), 1.73 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-11 dosu), 2.46 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-tosile), 3.72 (dd, 1H, J=5.2, 8.8, CHb-3 dosu), 4.46 (m, 4H, CHa-3 dosu, CH<sub>2</sub>-O-Ts, CH-2 dosu), 7.36 (m, 2H, aromatici), 7.81 (m, 2H, aromatici).

dosu = diossaspiroundecano

**SINTESI DEL 1,4-DIOSSA-SPIRO[4,4]NON-2-ILMETIL TOLUEN-4-SOLFONATO (54)**


0.250 g (1.58 mmoli) di (1,4-diossa-spiro[4,4]non-2-il)-metanolo (**46**), e 0.320 g (0.44 mL, 3.16 mmoli) di trietilammina vengono dissolti in 2 mL di diclorometano. La miscela di reazione viene portata a 0 °C con bagno di ghiaccio sotto flusso d'azoto e successivamente si aggiungono goccia a goccia 0.452 g di tosilcloruro (2.37 mmoli) solubilizzati in 3 mL di diclorometano. Si lascia procedere la reazione a temperatura ambiente per 2 ore.

Al termine si eseguono due lavaggi della miscela di reazione (fase organica) con una soluzione satura di sodio bicarbonato e un lavaggio con acqua distillata. Le fasi acquose di lavaggio vengono riestratte con diclorometano (2x).

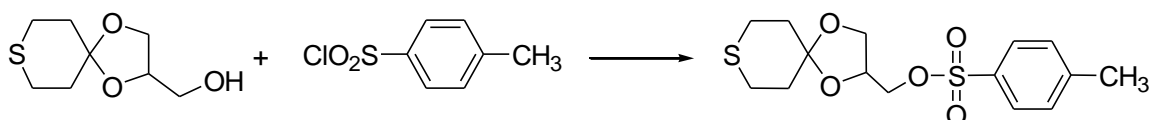
Le fasi organiche riunite vengono anidificate su sodio solfato, filtrate e concentrate a pressione ridotta fino ad ottenere un residuo liquido giallino (0.304 g).

Si procede alla purificazione del grezzo di reazione mediante flash cromatografia SP1 (miscela eluente cicloesano/etile acetato 90/10) e si recuperano 0.180 g del composto **54**.

**RESA:** 0.094 g (0.3 mmoli) 19% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR** (200MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.70 (m, 8H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-8, CH<sub>2</sub>-9 dosn), 2.46 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-tosile), 3.74 (dd, 1H, J=4.9, 8.6, CHb-3 dosn), 4.00 (m, 3H, CHa-3 dosn, CH<sub>2</sub>-O-Ts), 4.22 (m, 1H, CH-2 dosn), 7.36 (m, 2H, aromatici), 7.80 (m, 2H, aromatici).

dosn = diossaspirononano

**SINTESI DEL 1,4-DIOSSA-8-TIA-SPIRO[4,5]DEC-2-ILMETIL TOLUEN-4-SOLFONATO (55)**


0.54 g (2.84 mmoli) di (1,4-diossa-8-tia-spiro[4,5]dec-2-il)-metanolo (**47**) e 0.57 g (0.79 mL, 5.68 mmoli, pari a 2 equivalenti) di trietil ammina vengono dissolti in 2 mL di diclorometano anidro. Si porta la miscela di reazione a 0 °C con bagno di ghiaccio e successivamente si

aggiungono goccia a goccia 0.81 g di tosilcloruro (4.26 mmoli) solubilizzati in 3 mL di diclorometano anidro. Si mantiene la reazione a 0°C sotto agitazione elettromagnetica per 15 minuti, poi si lascia a temperatura ambiente per 4 ore. Al termine si eseguono 2 lavaggi della miscela organica con una soluzione satura di sodio bicarbonato e un lavaggio con acqua distillata, poi la fase acquosa viene riestratta con diclorometano. Le fasi organiche riunite vengono anidrificate con sodio solfato, filtrate e concentrate a pressione ridotta fino ad ottenere un residuo oleoso incolore di 1.08 g che a temperatura ambiente diventa immediatamente un solido cristallino bianco.

Si effettua un'analisi cromatografica TLC (miscela eluente cicloesano/etile acetato 80/20) e si osserva la presenza di residui di tosilcloruro. Si effettua una triturazione in cicloesano e si recuperano 0.627 g di cristalli bianchi del prodotto atteso (**55**).

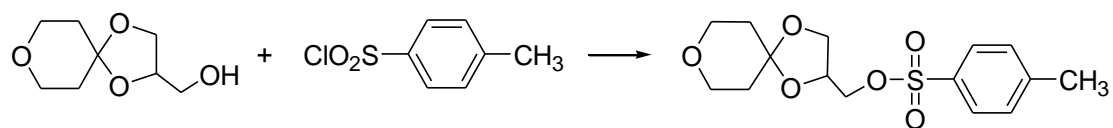
**RESA:** 0.627 g (1.82 mmoli) 64% d. t.

**Punto di fusione:** 90–92 °C

**<sup>1</sup>H-NMR** (200MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.88 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 dotsd), 2.45 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-tosile), 2.69 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 dotsd), 3.79 (dd, 1H, J=5.4, 8.7, CHa-3 dotsd), 4.02 (m, 3H, CHb-3 dotsd, CH<sub>2</sub>-O-Ts), 4.31 (m, 1H, CH-2 dotsd), 7.34 (m, 2H, aromatici), 7.81 (m, 2H, aromatici).

dotsd = diossatiospirodecano

### SINTESI DEL 1,4,8-TRIOSSA-SPIRO[4,5]DEC-2-ILMETIL TOLUEN-4-SOLFONATO (**56**)



0.2 g (1.15 mmoli) di (1,4,8-triossa-spiro[4,5]dec-2-il)-metanolo (**48**) e 0.35 g (0.48 mL, 3.54 mmoli) di trietilammina vengono dissolti in 2 mL di diclorometano anidro.

La miscela di reazione viene portata a 0 °C con bagno di ghiaccio e successivamente si aggiungono goccia a goccia 0.33 g di tosilcloruro (1.725 mmoli) solubilizzati in 3 mL di diclorometano anidro. Si mantiene la reazione a 0 °C sotto agitazione elettromagnetica per 15 minuti, poi si lascia a temperatura ambiente per 7 ore. Al termine la miscela di reazione (fase organica) viene lavata 2 volte con una soluzione satura di sodio bicarbonato e una volta con acqua distillata, poi si estrae la fase acquosa con diclorometano. Le fasi organiche riunite

vengono anidrificate con sodio solfato, filtrate e concentrate a pressione ridotta fino ad ottenere un residuo oleoso denso giallino di 0.329 g.

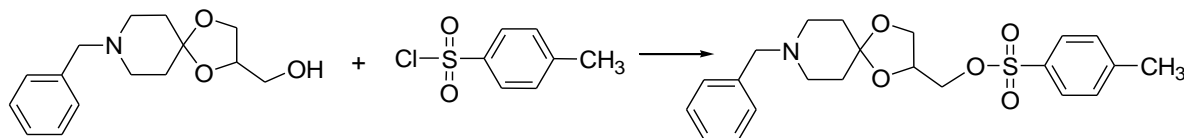
Si purifica il grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente cicloesano/etile acetato 80/20) e si recuperano 0.180 g del composto **56**.

**RESA:** 0.180 g (0.55 mmoli), 48% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR** (200MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.65 (s, 4H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 tosd), 2.43 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-tosile), 3.73 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tosd), 3.78 (dd, 1H, J= 5.3, 8.8, CHa-3 tosd), 4,00 (m, 3H, CHb-3 tosd, CH<sub>2</sub>-O-Ts), 4.30 (m, 1H, CH-2 tosd), 7.31 (m, 2H, aromatici), 7.77 (m, 2H, aromatici).

tosd = triossaspirodecano

### SINTESI DEL 8-BENZIL-1,4-DIOSSA-8-AZA-SPIRO[4,5]DEC-2-ILMETIL TOLUEN-4-SOLFONATO (**57**)



0.5 g (1.9 mmoli) di (8-benzil-1,4-diossa-8-aza-spiro[4,5]dec-2-il)-metanolo (**49**), 0.38 g (0.52 mL, 3.8 mmoli) di trietilammina vengono dissolti in 2 mL di diclorometano anidro, sotto flusso d'azoto. La miscela di reazione viene portata a 0 °C con bagno di ghiaccio e successivamente si aggiungono goccia a goccia 0.54 g di tosilcloruro (2.85 mmoli) solubilizzati in 3 mL di diclorometano anidro. Si mantiene la reazione a 0 °C sotto agitazione elettromagnetica per 15 minuti, poi si lascia proseguire a temperatura ambiente per 7 ore. Al termine si eseguono due lavaggi della miscela di reazione (fase organica) con una soluzione satura di sodio bicarbonato e un lavaggio con acqua distillata, poi si effettuano due estrazioni della fase acquosa con diclorometano. Si anidrificano le fasi organiche riunite con sodio solfato, si filtra, si concentra a pressione ridotta fino ad ottenere un residuo oleoso di 0.78 g. Si purifica il grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente cicloesano/etile acetato 60/40) e si recuperano 0.180 g del composto **57**.

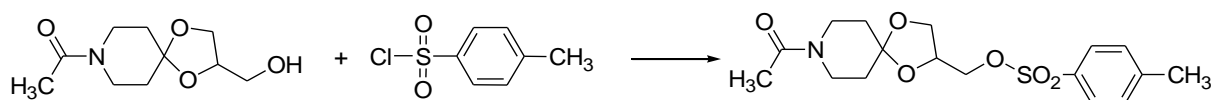
**RESA:** 0.343 g (0.82 mmoli), 43% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR** (200MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.68 (s, 4H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 bnz-doasd), 2.46 (m, 7H, CH<sub>3</sub>-tosile, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 bnz-doasd), 3.51 (s, 2H, CH<sub>2</sub>N-bnz), 3.79 (dd, 1H, J=5.2, 8.5, CHa-3

bnz-doasd), 4,03 (m, 3H, CHb-3 bnz-doasd, CH<sub>2</sub>-O-Ts), 4.29 (m, 1H, CH-2 bnz-doasd), 7.32 (m, 7H, aromatici bnz-doasd, aromatici tosile), 7.80 (m, 2H, aromatici tosile).

bnz-doasd = benzildiossaazaspirodecano

### SINTESI DEL 8-ACETIL-1,4-DIOSSA-8-AZA-SPIRO[4.5]DEC-2-ILMETIL TOLUEN-4-SOLFONATO (58)



2.72 g (13 mmoli) di 8-acetil-1,4-diossa-8-aza-spiro[4.5]dec-2-il)-metanolo (**50**) e 3.95 g (5.43 mL, 39 mmoli) di trietilammina vengono dissolti in 4 mL di diclorometano anidro. La miscela di reazione viene portata a 0 °C con bagno di ghiaccio sotto flusso d'azoto, poi si aggiungono goccia a goccia 3.61 g (19 mmoli) di tosilcloruro solubilizzati in 5 mL di diclorometano anidro. Si lascia proseguire la reazione a temperatura ambiente per 1 ora.

Al termine si eseguono due lavaggi della miscela di reazione (fase organica) con una soluzione satura di sodio bicarbonato ed un lavaggio con acqua distillata, poi si estrae la fase acquosa con diclorometano. Le fasi organiche riunite vengono anidificate con sodio solfato, si filtra e si concentra a pressione ridotta fino ad ottenere 4.35 g di residuo viscoso marroncino.

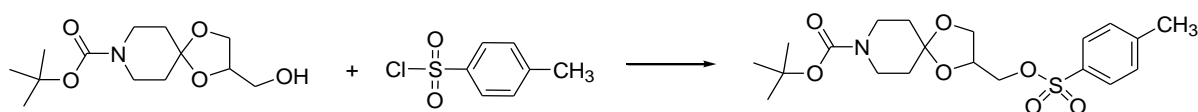
Il grezzo di reazione viene purificato mediante flash cromatografia SP1 (miscela eluente cicloesano/etile acetato 10/90). Si recuperano 2.82 g del 8-acetil-1,4-diossa-8-aza-spiro[4.5]dec-2-ilmetil 4-metilbenzensolfonato (**58**).

**RESA:** 2.82 g (7.6 mmoli), 58.4% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR** (200MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.64 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 doasd), 2.09 (s, 3H, COCH<sub>3</sub>), 2.46 (s, 3H, CH<sub>3</sub> tosile), 3.47-3.65 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 doasd), 3.83 (dd, 1H, J = 5.4, 8.7, Ha-3 doasd), 4.05 (m, 3H, Hb-3 doasd, CH<sub>2</sub>-OSO<sub>2</sub>), 4.33 (m, 1H, CH-2 doasd), 7.36 (m, 2H, CH-3, CH-5 aromatici), 7.80 (m, 2H, CH-2, CH-6 aromatici)

doasd = diossaazaspirodecanone

**SINTESI DEL 8-*tert*-BUTOSSICARBONIL-1,4-DIOSSA-8-AZA-SPIRO[4.5]DEC-2-ILMETIL TOLUEN-4-SOLFONATO (59)**



0.333 g (1.2 mmoli) di estere *tert*-butilico dell'acido 2-idrossimetil-1,4-diossa-8-aza-spiro[4,5]decan-8-carbossilico (**51**) e 0.945 g (9.3 mmoli) di trietilammina vengono dissolti in 2 mL di diclorometano anidro, sotto flusso d'azoto ed agitazione elettromagnetica.

La soluzione viene portata a 0°C con bagno di ghiaccio e si aggiungono goccia a goccia 0.572 g (3.0 mmoli) di tosilcloruro solubilizzati in 2 mL di diclorometano anidro. Si lascia proseguire la reazione a temperatura ambiente per 18 ore e 30 minuti. Al termine, si eseguono due lavaggi della miscela di reazione (fase organica) con una soluzione satura di sodio bicarbonato ed un lavaggio con acqua distillata, poi si estrae la fase acquosa con diclorometano. Le fasi organiche riunite vengono anidrificate con sodio solfato, si filtra, si concentra a pressione ridotta fino ad ottenere 0.602 g di un residuo liquido color ambra.

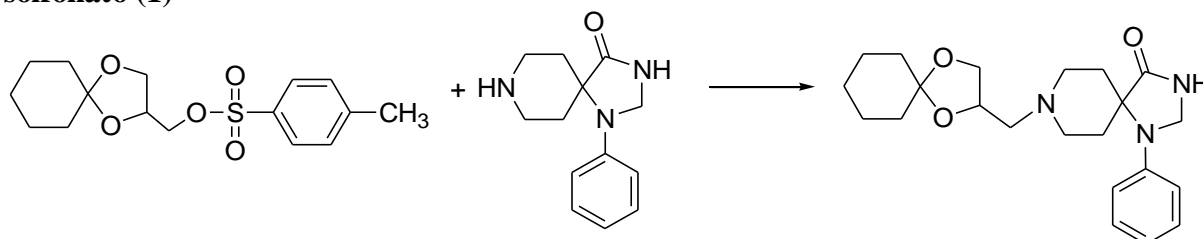
Il grezzo di reazione viene purificato mediante flash cromatografia SP1 (miscela eluente cicloesano/etile acetato 80/20) e si recuperano 0.298 g del dell'estere *tert*-butilico dell'acido 2-(toluen-4-solfonilossimetil)-1,4-diossa-8-aza-spiro[4,5]decan-8-carbossilico (**59**).

**RESA:** 0.298 g (7.5 mmoli), 63% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR** (200MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.43 (s, 1H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.56 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 doasd), 2.43 (s, 3H, CH<sub>3</sub> tostile), 3.41 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 doasd), 3.78 (dd, 1H, J = 5.3, 8.7 Hz, Ha-3 doasd), 4.01 (m, 3H, Hb-3 doasd, CH<sub>2</sub>-OSO<sub>2</sub>), 4.29 (m, 1H, CH-2 doasd), 7.33 (m, 2H, CH-3, CH-5 aromatici), 7.77 (m, 2H, CH-2, CH-6 aromatici)

doasd = diossaazaspirodecanone

**SINTESI DEL 8-(1,4-DIOSSA-SPIRO[4,5]DEC-2-ILMETIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4,5]DECAN-4-ONE a partire dal 1,4-diossa-spiro[4.5]dec-2-ilmetil toluen-4-solfonato (1)<sup>106</sup>**



0.456 g (1.395 mmoli) del 1,4-diossa-spiro[4.5]dec-2-ilmetil toluen-4-solfonato (**52**), 0.323 g (1.395 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one e 0.106 g (0.977 mmoli) di sodio carbonato vengono sospesi in 5.5 mL di dimetilformammide anidra.

La miscela di reazione è riscaldata a ricadere per 5 ore e 45 minuti.

Al termine si lascia raffreddare il pallone e si decompone il liquido di reazione con ghiaccio; si lascia riposare circa 30 minuti, poi si effettuano tre estrazioni con etile acetato. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco; si ottiene un residuo oleoso giallino (0.435 g).

Si procede alla purificazione del grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente cicloesano/etile acetato/metanolo 70/30/5) e si recuperano 0.287 g di **1**.

**RESA:** 0.287 g (0.744 mmoli), 53% d. t.

**Punto di fusione:** 191–193 °C

**<sup>1</sup>H-NMR** (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.45 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-8 dosd), 1.65 (m, 8H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9, CH<sub>2</sub>-10 dosd), 1.75 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.67 (m, 4H, CH<sub>2</sub>N, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.93 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.71 (pseudo t, 1H, J=7.6, CHa-3 dosd), 4.16 (dd, 1H, J=7.6, 6.4; CHb-3 dosd), 4.32 (m, 1H, CH-2 dosd), 4.78 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.93 (m, 3H, aromatici), 7.20 (s, 1H, NH), 7.42 (m, 2H, aromatici).

**<sup>13</sup>C-NMR** (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 23.94 (C-7/C-9 dosd), 24.04 (C-7/C-9 dosd), 25.22 (C-8 dosd), 20.19 (C-6/C-10 tasd), 29.21 (C-6/C-10 tasd), 36.55 (C-6/C-10 dosd), 35.32 (C-6/C-10 dosd), 49.99 (C-7/C-9 tasd), 50.99 (C-7/C-9 tasd), 59.22 (C-5 tasd), 59.34 (C-2 tasd), 61.33 (C-2-CH<sub>2</sub>-N), 68.29 (C-3 dosd), 74.38 (C-2 dosd), 109.76 (C-5 dosd), 115.81 (C-2, C-6 arom. tasd), 119.20 (C-4 arom. tasd), 129.27 (C-3, C-5 arom. tasd), 143.23 (C-1 arom. tasd), 178.12 (CO).

dosd = diossaspirodecano; tasd = triazospirodecanone

L'ammina libera ottenuta è stata quindi convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con metanolo/etere.

Ottenuti 0.0215 g.

**RESA:** 0.0215 g (0.045 mmoli), 13% d. t.

**Punto di fusione:** 222-223 °C

**Analisi Elem. C, H, N** per: C<sub>24</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>: calcolato C, 60.62; H, 6.99; N, 8.84; trovato C, 60.63; H, 6.95; N, 8.76.

**QTOF:** massa esatta per C<sub>22</sub>H<sub>32</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> = calcolata 386.2444

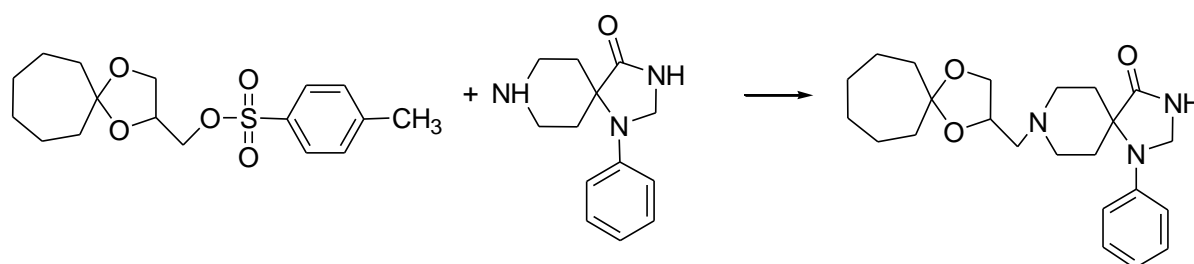
trovata = 386.2451

(Dev. = -1.9 ppm)

**<sup>1</sup>H-NMR** (200MHz, DMSO) δ 1.56 (m, 10H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-8, CH<sub>2</sub>-9, CH<sub>2</sub>-10 dosd), 1.81 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 3.20 (m, 9H, CH<sub>2</sub>N, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CHa-3 dosd), 4.09 (m, 1H, CHb-3 dosd), 4.47 (s, 1H, CH-2 dosd), 4.61 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.71 (s allargato, 2H, NH<sub>2</sub><sup>+</sup>), 6.86 (m, 3H, H aromatici), 7.23 (m, 2H, H aromatici), 8.90 (s, 1H, ac. oss.).

dosd = diossaspirodecano; tasd = triazospirodecanone

### SINTESI DEL 8-(1,4-DIOSSA-SPIRO[4,6]UNDEC-2-ILMETIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4,5]DECAN-4-ONE (2)<sup>106</sup>



0.436 g (01.28 mmoli) del 1,4-diossa-spiro[4,6]undec-2-ilmetil toluen-4-solfonato (**53**), 0.296 g (1.28 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one e 0.095 g (8.96 mmoli) di sodio carbonato vengono sospesi in 3 mL di dimetilformammide anidra.

La miscela di reazione è riscaldata a ricadere per 2 ore. Al termine si lascia raffreddare e si decompone il liquido di reazione con ghiaccio; si effettuano cinque estrazioni con etile acetato. Si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco fino ad ottenere un residuo viscoso giallino (0.433 g).

Si procede alla purificazione del grezzo di reazione mediante flash cromatografia SP1 (miscela eluente cicloesano/etile acetato/metanolo 70/30/3) e si recuperano 0.227 g di **2**.

**RESA:** 0.227 g (0.568 mmoli), 44% d. t.

**Punto di fusione:** 162-167 °C

**<sup>1</sup>H-NMR** (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.62 (m, 8H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-8, CH<sub>2</sub>-9, CH<sub>2</sub>-10 dosu), 1.75 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 1.86 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-11 dosu), 2.66 (m, 4H, CH<sub>2</sub>N, CH<sub>2</sub>6/CH<sub>2</sub>10 tasd), 2.91 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.66 (pseudo t, 1H, J=7.8, CHa-3 dosu), 4.11 (dd, 1H, J=6.1, 7.8, CHb-3 dosu), 4.28 (m, 1H, CH-2 dosu), 4.77 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.92 (m, 3H, CH<sub>2</sub>, CH-4, CH-6 aromatici), 7.31 (m, 2H, CH<sub>3</sub>, CH<sub>5</sub> aromatici), 7.45 (m, 1H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 22.40 (C-7/C-10 dosu), 22.56 (C-7/C-10 dosu), 29.17 (C-8, C-9 dosu), 29.20 (C-6/C-10 tasd), 29.29 (C-6/C-10 tasd), 38.46 (C-6/C-11 dosu), 39.90 (C-6/C-11 dosu), 50.07 (C-7/C-9 tasd), 50.98 (C-7/C-9 tasd), 59.25 (C-5 tasd), 59.37 (C-2 tasd), 61.11 (C2-CH<sub>2</sub>-N), 68.22 (C-3 dosu), 74.28 (C-2 dosu), 113.78 (C-5 dosu), 115.73 (C-2, C-6 arom. tasd), 119.14 (C-4 arom. tasd), 129.27 (C-3, C-5 arom. tasd), 143.22 (C-1 arom. tasd), 178.27 (CO).

dosu = diossaspiroundecano; tasd = triazaspirodecanone

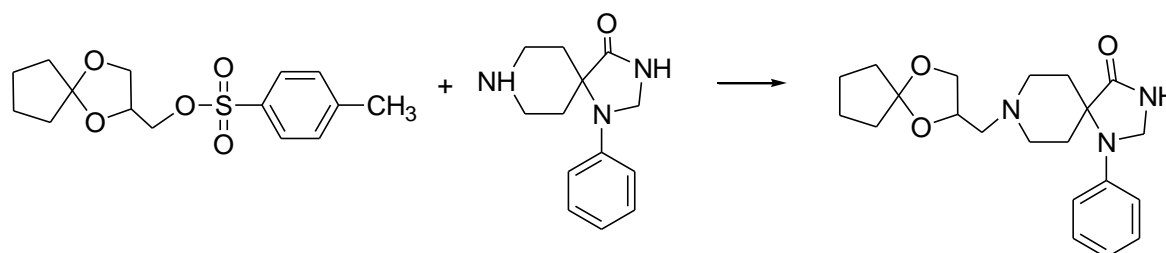
**Analisi Elem. C, H, N** per C<sub>23</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>: calcolato C, 69.14; H, 8.33; N, 10.52; trovato C, 69.37; H, 8.83; N, 10.48.

**QTOF:** massa esatta per C<sub>23</sub>H<sub>34</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> = calcolata 400.2595

trovata 400.2608

(Dev.= -3.24 ppm)

**SINTESI DEL 8-(1,4-DIOSSA-SPIRO[4,4]NON-2-ILMETIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4,5]DECAN-4-ONE (3)**<sup>106</sup>



In un pallone a 2 colli si introducono 0.091 g (0.29 moli) del 1,4-diossa-spiro[4,4]non-2-ilmetil toluen-4-solfonato (**54**), 0.067 g (0.29 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one e 0.022 g (0.203 mmoli) di sodio carbonato in 3 mL di dimetilformammide anidra. La miscela di reazione è riscaldata a ricadere per 4 ore e 30 minuti.

Al termine si lascia raffreddare e si decompone il liquido di reazione con ghiaccio; si effettuano quattro estrazioni con etile acetato. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere un residuo solido bianco-giallino (0.087 g).

Si procede alla purificazione del grezzo di reazione mediante flash cromatografia SP1 (miscela eluente cicloesano/etile acetato/metanolo 75/25/5), si ottengono 0.082 g di **3** puro.

**RESA:** 0.082 g (0.22 moli), 76% d. t.

**Punto di fusione:** 209-214 °C

**<sup>1</sup>H-NMR** (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.79 (m, 10H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-8, CH<sub>2</sub>-9 dosn, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.69 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-N, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.98 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.67 (pseudo t, 1H, J=7.7 CHa-3 dosn), 4.10 (dd, 1H, J=6.4, 7.7; CHb-3 dosn), 4.29 (m, 1H, CH-2 dosn), 4.77 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.93 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 aromatici), 7.29 (m, 3H, CH-3, CH-5 aromatici, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 23.46 (C-7/C-9 dosn), 23.62 (C-7/C-9 dosn), 29.16 (C-6/C-10 tasd), 29.21 (C-6/C-10 tasd), 36.35 (C-6/C-10 dosn), 36.78 (C-6/C-10 dosn), 50.11 (C-7/C-9 tasd), 50.88 (C-7/C-9 tasd), 59.27 (C-5 tasd), 59.38 (C-2 tasd), 61.26 (C2-CH<sub>2</sub>-N dosn), 68.48 (C-3 dosn), 74.33 (C-2 dosn), 119.12 (C-5 dosn), 115.88 (C-2, C-6 arom. tasd), 119.24 (C-4 arom. tasd), 129.29 (C-3, C-5 arom. tasd), 143.21 (C-1 arom. tasd), 178.19 (CO).

dosn = diossaspirononano; tasd = triazospirodecanone

L'ammina libera ottenuta è stata quindi convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con metanolo/etere.

Ottenuti 0.010 g.

**RESA:** 0.010 g (0.022 mmoli), 21% d. t.

**Punto di fusione:** 161-162 °C

**Analisi Elem. C, H, N** per: C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>: calcolato C, 59.86; H, 6.77; N, 9.10; trovato C, 59.77; H, 6.72; N, 9.16.

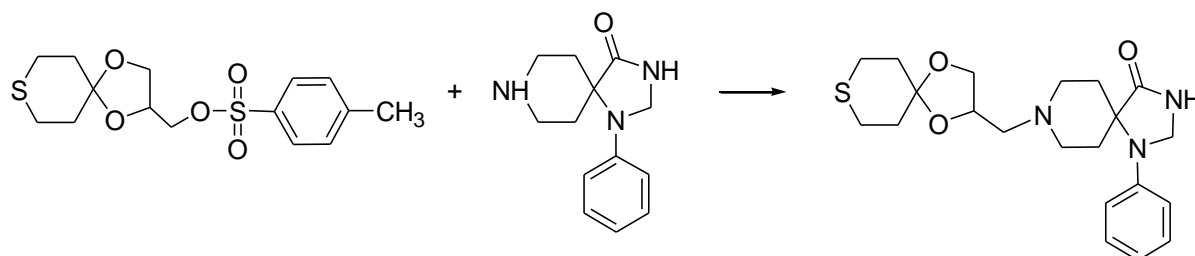
**QTOF:** massa esatta per C<sub>21</sub>H<sub>30</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> = calcolata 372.2282

trovata 372.2289; (Dev.= -2.1 ppm)

$^1\text{H-NMR}$  (200MHz, DMSO)  $\delta$  1.76 (m, 10H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-8, CH<sub>2</sub>-9 dosn, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 3.11 (m, 9H, CH<sub>2</sub>-N, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd, CHa-3 dosn), 4.06 (m 1H, CHb-3 dosn), 4.39 (m, 1H, CH-2 dosn), 4.62 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.89 (m, 3H, aromatici), 7.89 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 aromatici), 7.29 (m, 3H, CH-3, CH-5 aromatici), 8.85 (s, 1H, ac. oss.).

dosn = diossaspirononano; tasd = triazospirodecano

**SINTESI DEL 8-(1,4-DIOSSA-8-TIA-SPIRO[4,5]DEC-2-ILMETIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4,5]DECAN-4-ONE a partire dal 1,4-diossa-8-tia-spiro[4,5]dec-2-ilmetil toluen-4-solfonato (4)<sup>106</sup>**



0.621 g (1.8 mmoli) di 1,4-diossa-8-tia-spiro[4,5]dec-2-ilmetil toluen-4-solfonato (**55**), 0.416 g (1.8 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one e 0.134 g (1.26 mmoli) di sodio carbonato anidro vengono sospesi in 5 mL di dimetilformammide anidra. La miscela di reazione è riscaldata a ricadere per 5 ore e 45 minuti. Al termine, si lascia raffreddare e si decompone il liquido di reazione con ghiaccio; si effettuano cinque estrazioni con etile acetato. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere un residuo liquido marroncino di 1.21 g. Si purifica il grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente cicloesano/etile acetato/metanolo 80/20/10) e si recuperano 0.45g di **4**.

**RESA:** 0.45 g (1.12 mmoli), 62% d. t.

**Punto di fusione:** 165–174 °C

$^1\text{H-NMR}$  (400MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  1.75 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 1.95 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 dotsd), 2.71 (m, 9H, CH<sub>2</sub>N, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 dotsd, CHaHb-7/CHaHb-9 tasd), 2.91 (m, 3H, CHaHb-7/CHaHb-9 tasd, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.68 (pseudo t, 1H, J=7.9, CHa-3 dotsd), 4.12 (dd, 1H, J=6.1, 7.9, CHb-3 dotsd), 4.3 (m, 1H, CH-2 dotsd), 4.74 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.62 (s allargato, 1H, NH), 6.90 (m, 3H, aromatici), 7.30 (m, 2H, aromatici).

$^{13}\text{C-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  26.98 (C-7/C-9 dotsd), 27.04 (C-7/C-9 dotsd), 29.20 (C-6, C-10 tasd), 36.91 (C-6/C-10 dotsd), 38.16 (C-6/C-10 dotsd), 50.03 (C-7/C-9 tasd), 51.02 (C-7/C-9 tasd), 59.24 (C-5 tasd), 59.47 (C-2 tasd), 61.09 (C-2-CH<sub>2</sub>-N), 68.41 (C-3 dotsd), 74.82 (C-2 dotsd), 107.96 (C-5 dotsd), 115.78 (C-2, C-6 arom. tasd), 119.21 (C-4 arom. tasd), 129.28 (C-3, C-5 arom. tasd), 143.20 (C-1 arom. tasd), 178.36 (CO).

dotsd = diossatiospirodecano; tasd = triazospirodecanone

L'ammina libera ottenuta è stata quindi convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con metanolo/etere.

Ottenuti 0.044 g.

**RESA:** 0.044 g (0.09 mmoli), 29% d. t.

**Punto di fusione:** 241-243 °C

**Analisi Elem. C, H, N** per  $\text{C}_{23}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_7\text{S}$ : calcolato C, 55.97; H, 6.33; N, 8.51; trovato C, 55.94; H, 6.39; N, 9.03

**QTOF:** massa esatta per  $\text{C}_{21}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_3\text{S}^+ [\text{M}+\text{H}]^+$  = calcolata 404.2008

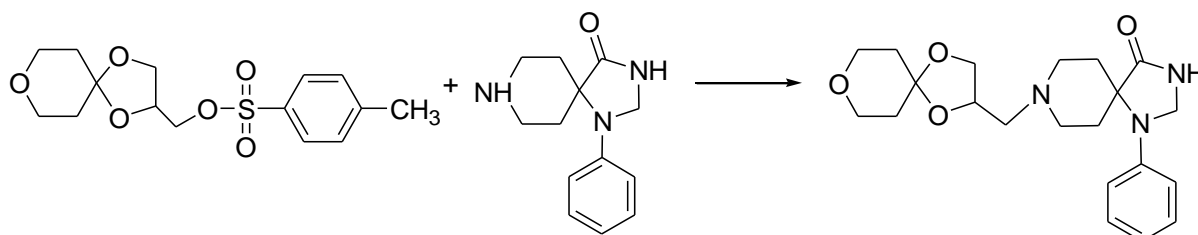
trovata 404.2010

(Dev.= -0.54 ppm)

$^1\text{H-NMR}$  (200MHz, DMSO)  $\delta$  1.76 (m, 6H,  $\text{CH}_2$ -6/ $\text{CH}_2$ -10 tasd,  $\text{CH}_2$ -6,  $\text{CH}_2$ -10 dotsd), 2.94 (m, 12H,  $\text{CH}_2$ -N,  $\text{CH}_2$ -6/ $\text{CH}_2$ -10 tasd,  $\text{CH}_2$ -7 dotsd,  $\text{CH}_2$ -9 dotsd,  $\text{CH}_2$ -7 tasd,  $\text{CH}_2$ -9 tasd), 3.64 (s, 1H, CH-3a dotsd), 4.12 (s, 1H, CH-3b dotsd), 4.40 (s, 1H, CH-2 dotsd), 4.59 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ -2 tasd), 6.78 (m, 3H, aromatici), 7.24 (s, 2H, aromatici), 7.28 (s allargato, 1H, NH), 8.76 (s allargato, 1H, ac oss.).

dotsd = diossatiospirodecano; tasd = triazospirodecanone

**SINTESI DEL 8-(1,4,8-TRIOSSA-SPIRO[4,5]DEC-2-ILMETIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4,5]DECAN-4-ONE (5)**<sup>106</sup>



0.228 g (0.693 mmoli) del 1,4,8-triossa-spiro[4,5]dec-2-ilmetil toluen-4-solfonato (**56**), 0.16 g (0.693 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one e 0.051 g (0.484 mmoli) di sodio carbonato anidro vengono sospesi in 4 mL di dimetilformammide anidra.

La miscela di reazione è riscaldata a ricadere per 5 ore e 45 minuti.

Al termine si lascia raffreddare e si decompone il liquido di reazione con ghiaccio; si effettuano 5 estrazioni con etile acetato. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, si ottiene un residuo liquido marroncino (0.401 g).

Si procede alla purificazione del grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente cicloesano/etile acetato/metanolo/ammoniaca 65/35/5/1); si recuperano 0.140 g di **5**.

**RESA:** 0.140 g (0.36 mmoli), 52% d. t.

**Punto di fusione:** 180–182 °C

**<sup>1</sup>H-NMR** (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.76 (m, 6H, CH<sub>2</sub>-6/ CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 tosd), 2.68 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-N, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.83 (m, 1H, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-7/CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-9 tasd), 2.98 (m, 3H, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-7/CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-9 tasd, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.74 (pseudo t, J=7.9, CH<sub>a</sub>-3 tosd), 3.70 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tosd), 4.17 (dd, 1H, J=6.1, 7.9, CH<sub>b</sub>-3 tosd), 4.36 (m, 1H, CH-2 tosd), 4.73 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 5.93 (s allargato, 1H, NH), 6.91 (m, 3H, CH-2, CH-6, CH-4 aromatici tasd), 7.31 (m, 2H, CH-3, CH-5 aromatici tasd).

**<sup>13</sup>C-NMR** (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 29.24 (C-6/C-10 tasd), 29.27 (C-6/C-10 tasd), 36.21 (C-6/C-10 tosd), 37.28 (C-6/C-10 tosd), 50.02 (C-7/C-9 tasd), 50.99 (C-7/C-9 tasd), 59.14 (C-5 tasd), 59.23 (C-2 tasd), 61.16 (C2-CH<sub>2</sub>-N), 66.00 (C-7/C-9 tosd), 66.07 (C-7/C-9 tosd), 68.33 (C-3 tosd), 74.65 (C-2 tosd), 106.85 (C-5 tosd), 115.97 (C-2, C-6 arom. tasd), 119.36 (C-4 arom. tasd), 129.28 (C-3, C-5 arom. tasd), 143.20 (C-1 arom. tasd), 177.80 (CO).

tosd = triossaspirodecano; tasd = triazospirodecanone

L'ammina libera ottenuta è stata quindi convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con metanolo/etere.

Ottenuti 0.0366 g.

**RESA:** 0.0366 g (0.077 mmoli), 26% d. t.

**Punto di fusione:** 184-186 °C

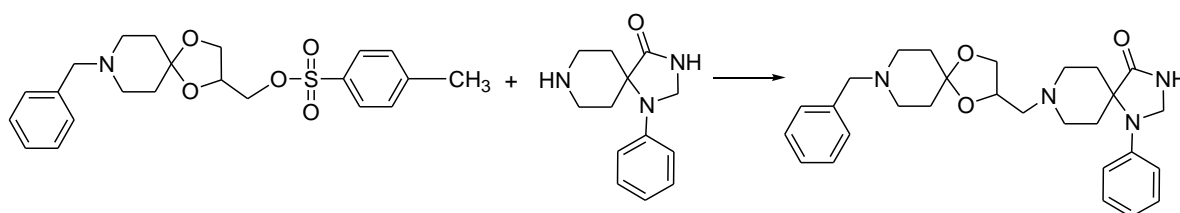
**Analisi Elem. C, H, N** per C<sub>23</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub> · H<sub>2</sub>O: calcolato C, 55.75; H, 6.71; N, 8.48; trovato C, 55.86; H, 6.80; N, 8.47

**QTOF:** massa esatta per  $C_{21}H_{30}N_3O_4^+ [M+H]^+ =$  calcolata 388.2236  
trovata 388.2248  
(Dev. = -4.43 ppm)

**$^1H$ -NMR** (200MHz, DMSO)  $\delta$  1.75 (m, 6H,  $CH_2$ -6/ $CH_2$ -10 tasd,  $CH_2$ -6,  $CH_2$ -10 tosd), 2.95 (m, 13H,  $CH_2$ -N,  $CH_2$ -6/ $CH_2$ -10 tasd,  $CH_2$ -7,  $CH_2$ -9 tasd,  $CH_2$ -7,  $CH_2$ -9 tosd,  $CHa$ -3 tosd), 4.17 (m, 1H,  $CHb$ -3 tosd), 4.69 (m, 2H,  $CH$ -2 tosd,  $CH_2$ -2 tasd), 6.87 (m, 3H, aromatici), 7.23 (m, 2H, aromatici), 8.32 (s allargato, 1H, NH), 8.91 (s, 1H, ac. oss.).

tosd = triossaspirodecano; tasd = triazospirodecanone

**SINTESI DEL 8-(8-BENZIL-(1,4-DIOSSA-8-AZA-SPIRO[4,5]DEC-2-ILMETIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4,5]DECAN-4-ONE (6)<sup>106</sup>**



0.343 g (0.82 mmoli) del 8-benzil-1,4-diossa-8-aza-spiro[4,5]dec-2-ilmetil toluen-4-solfonato (**57**), 0.190 g (0.82 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one e 0.061 g (0.575 mmoli) di sodio carbonato anidro vengono sospesi in 5 mL di dimetilformammide anidra. La miscela di reazione è riscaldata a ricadere 3 ore. Al termine della reazione si lascia raffreddare e si effettuano 5 estrazioni con etile acetato. Si anidrifca la fase organica con sodio solfato, si filtra e si concentra a pressione ridotta, fino ad ottenere un residuo giallino di 0.831 g. Si procede alla purificazione del grezzo di reazione tramite flash cromatografia (miscela eluente cicloesano/etile acetato/metanolo/ammoniaca 75/35/5/1). Si ottengono 0.180 g di **6** puro.

**RESA:** 0.180 g (0.378 mmoli), 46% d. t.

**Punto di fusione:** 158-161 °C

**$^1H$ -NMR** (400MHz,  $CDCl_3$ )  $\delta$  1.81 (m, 6H,  $CH_2$ -6/ $CH_2$ -10 tasd,  $CH_2$ -6,  $CH_2$ -10 bnz-doasd), 2.62 (m, 8H,  $CH_2$ -N tasd,  $CH_2$ -6/ $CH_2$ -10 tasd,  $CH_2$ -7 bnz-doasd,  $CH_2$ -9 bnz-doasd), 2.83 (m, 1H,  $CHaHb$ -7/ $CHaHb$ -9 tasd), 2.98 (m, 3H,  $CHaHb$ -7/ $CHaHb$ -9 tasd,  $CH_2$ -7/ $CH_2$ -9 tasd), 3.57 (s, 2H,  $CH_2$ -N bnz-doasd), 3.72 (pseudo t, 1H,  $J=7.8$ ,  $CHa$ -3 bnz-doasd), 4.15 (dd, 1H,  $J=6.2, 7.8$ ,  $CHb$ -3 bnz-doasd), 4.23 (m, 1H,  $CH$ -2 doasd), 4.76 (s, 2H,  $CH_2$ -2 tasd), 6.93 (m,

3H, CH-2, CH-4, CH-6 aromatici tasd), 7.32 (m, 7H, CH-3, CH-5 aromatici tasd, aromatici bnz.doasd), 7.59 (s allargato, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 29.18 (C-6/C-10 tasd), 29.22 (C-6/C-10 tasd), 34.95 (C-6/C-10 bnz-doasd), 36.12 (C-6/C-10 bnz-doasd), 50.03 (C-7/C-9 tasd), 51.07 (C-7/C-9 tasd), 51.23 (C-7/C-9 bnz-doasd), 51.35 (C-7/C-9 bnz-doasd), 59.22 (C-5 tasd), 59.40 (C-2 tasd), 61.21 (C2-CH<sub>2</sub>-N tasd), 62.68 (C2-CH<sub>2</sub>-N bnz-doasd), 68.29 (C-3 bnz-doasd), 74.51 (C-2 bnz-doasd), 108.23 (C-5 bnz-doasd), 115.74 (C-2, C-6 arom. tasd), 119.17 (C-4 arom. tasd), 126.99 (C-4 fenile bnz-doasd), 128.23 (C-3, C-5 fenile bnz-doasd), 129.10 (C-2, C-6 fenile bnz-doasd), 129.28 (C-3, C-5 arom. tasd), 138.72 (C-1 fenile bnz-doasd) 143.21 (C-1 arom. tasd), 178.25 (CO).

bnz-doasd = benzildiossaazaspirodecano; tasd = triazospirodecanone

L'ammina libera ottenuta è stata quindi convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con metanolo/etere.

Ottenuti 0.077 g.

**RESA:** 0.077 g (0.136 mmoli), 53% d. t.

**Punto di fusione:** 199-209 °C

**Analisi Elem. C, H, N** per C<sub>30</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub> × 2·(COOH)<sub>2</sub> : calcolato C, 54.69; H, 5.67; N, 7.50; trovato C, 54.11; H, 5.70; N, 7.99

**QTOF:** massa esatta per C<sub>28</sub>H<sub>37</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> = calcolata 477.2866

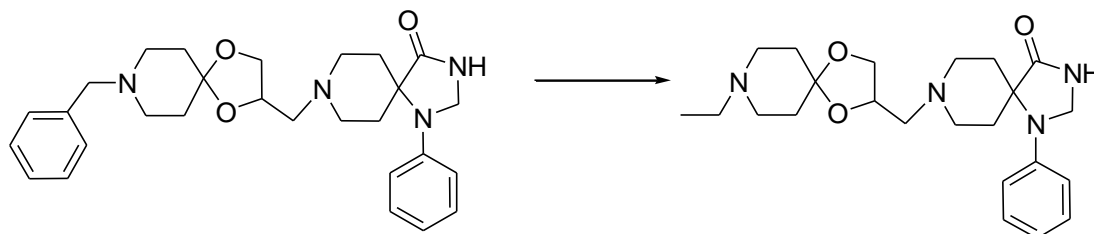
trovata 477.2858

(Dev.= +1.61 ppm)

<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO) δ 1.81 (s, 6H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 bnz-doasd), 3.07 (m, 16H, CH<sub>2</sub>N tasd, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-7 tasd, CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-7 bnz-doasd, CH<sub>2</sub>-9 bnz-doasd, CH<sub>2</sub>N bnz-doasd, CH<sub>2</sub> etile), 3.94 (s allargato, 1H, CHa-3 bnz-doasd), 4.13 (s allargato, 1H, CHb-3 bnz-doasd), 4.81 (m, 3H, CH-2 bnz-doasd, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.21 (s allargato, 2H, NH<sub>2</sub><sup>+</sup>), 6.77 (s, 1H, aromatici), 6.92 (s, 1H, aromatici), 7.37 (m, 8H, aromatici benzile).

bnz-doasd = benzildiossaazaspirodecano; tasd = triazospirodecanone

**SINTESI DEL 8-(8-ETIL-(1,4-DIOSSA-8-AZA-SPIRO[4,5]DEC-2-ILMETIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4,5]DECAN-4-ONE (7)**



0.065 g (0.13 moli) di 8-benzil-(1,4-diossa-8-aza-spiro[4,5]dec-2-ilmetil)-1-fenil-1,3,8-triazo-spiro[4,5]decan-4-one (**6**) vengono posti all'interno di un idrogenatore con 0.013 g (0.122 mmoli, 20%) di Pd/C e solubilizzati in 30 mL di etanolo. Si satura la camera di reazione con H<sub>2</sub> alla pressione di 1 atm. Si lascia proseguire la reazione per 69 ore, monitorandola mediante analisi TLC (miscela eluente cicloesano/etile acetato/metanolo 50/50/5/1). Dopo 45 ore e 15 minuti si porta la temperatura a 45 °C.

Al termine della reazione si filtra la miscela per allontanare il Pd/C e si evapora il solvente a pressione ridotta fino ad ottenere un residuo bianco polveroso (**7**) di 0.030 g.

**RESA:** 0.030 g (0.0773 mmoli), 56% d. t.

**Punto di fusione:** 176-177 °C

**<sup>1</sup>H-NMR** (200MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.14 (t, 3H, J=7.2, CH<sub>3</sub> N-etile), 1.63 (m, 6H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 doasd), 2.51 (q, 2H, J=7.2, CH<sub>2</sub>N tasd), 2.64 (m, 8H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-7 doasd, CH<sub>2</sub>-9 doasd, CH<sub>2</sub> N-etile), 2.83 (m, 1H, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-7/CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-9 tasd), 2.96 (m, 3H, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-7/CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-9 tasd, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.72 (pseudo t, 1H, J=7.8, CH<sub>a</sub>-3 doasd), 4.15 (dd, 1H, J=6.2, 7.8; CH<sub>b</sub>-3 doasd), 4.23 (m, 1H, CH-2 doasd), 4.76 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.93 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 aromatici), 7.32 (m, 2H, CH-3, CH-5 aromatici), 7.39 (s allargato, 1H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR** (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 12.07 (CH<sub>3</sub> N-etile), 29.12 (C-6/C-10 tasd), 29.17 (C-6/C-10 tasd), 34.63 (C-6/C-10 doasd), 35.80 (C-6/C-10 doasd), 49.97 (C-7/C-9 tasd), 50.70 (C-7/C-9 doasd), 50.72 (C-7/C-9 doasd), 50.79 (C-7/C-9 tasd), 51.82 (CH<sub>2</sub> N-etile), 59.16 (C-5 tasd), 59.36 (C-2 tasd), 61.13 (C-2-CH<sub>2</sub>-N), 68.31 (C-3 doasd), 74.51 (C-2 doasd), 109.78 (C-5 doasd), 115.74 (C-2, C-6 fenile), 119.19 (C-4 fenile), 129.27 (C-3, C-5 fenile), 143.19 (C-1 fenile), 178.11 (CO).

doasd = diossaazaspirodecano; tasd = triazospirodecanone

L'ammina libera ottenuta è stata quindi convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con metanolo/etere.

Ottenuti 3.52 mg.

**RESA:** 3.52 mg (0.0074 mmoli), 3% d. t.

**Analisi Elem. C, H, N** per  $C_{23}H_{34}N_4O_3$ : calcolato C, 66.64; H, 13.52; N, 8.27; trovato C, 66.19; H, 13.19; N, 8.28

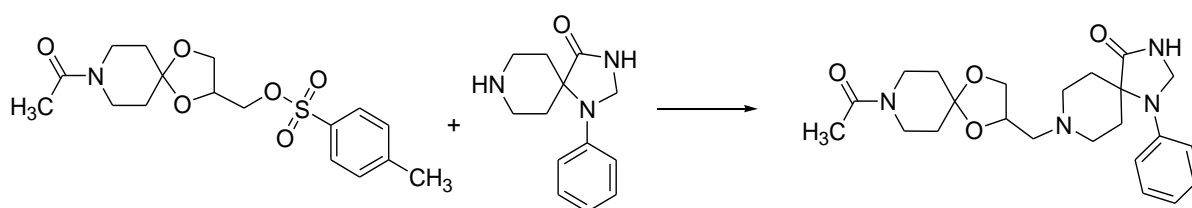
**QTOF:** massa esatta per  $C_{23}H_{35}N_4O_3^+ [M+H]^+$  calcolata = 415.2704

trovata = 415.2720

**$^1H$ -NMR** (200MHz, DMSO)  $\delta$  1.21 (s, 3H, CH<sub>3</sub> N-etile), 1.86 (m, 6H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 doasd), 2.82 (m, 16H, CH<sub>2</sub>N tasd, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-7 tasd, CH<sub>2</sub>-9 tasd, CH<sub>2</sub>-7 doasd, CH<sub>2</sub>-9 doasd, CH<sub>2</sub> N-etile, CH-3a doasd, CH-3b doasd), 4.17 (s, 2H, CH-2 doasd), 4.61 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 5.23 (s allargato, 1H, NH<sup>+</sup>), 6.93 (m, 5H, aromatici), 8.91 (s, 1H, ac.oss).

doasd = diossaazaspirodecano; tasd = triazospirodecanone

### SINTESI DEL 8-(8-ACETIL-1,4-DIOSSA-8-AZA-SPIRO[4.5]DEC-2-IL-METIL)-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]UNDECAN-5-ONE (9)<sup>106</sup>



2.71 g (7.3 mmoli) di 8-acetil-1,4-diossa-8-aza-spiro[4.5]dec-2-ilmetil toluen-4-solfonato (**58**), 1.70 g (7.3 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one e 0.54 g (5.1 mmoli) di sodio carbonato anidro vengono sospesi in 10 mL di dimetilformammide anidra. La miscela di reazione è riscaldata a ricadere a 120 °C per 1 ora e 30 minuti. Al termine, si lascia raffreddare e si decompone il liquido di reazione con ghiaccio; si lascia riposare per 30 minuti, poi si effettuano due estrazioni con etile acetato e 5 con diclorometano. Si anidrifca la fase organica con sodio solfato, si filtra, si porta a secco fino ad ottenere 3.19 g di un residuo

vetroso color ambra. Dopo purificazione cromatografica con SP1 (miscela eluente: cicloesano/etile acetato/metanolo/ammoniaca 10/90/10/5) si recuperano 3.19 g dell'atteso 8-(8-acetil-1,4-diossa-8-aza-spiro[4.5]dec-2-il-metil)-1,3,8-triaza-spiro[4.5]undecan-5-one (**9**).

**RESA:** 3,19 g (6.3 mmoli), 86% d. t.

**Punto di fusione:** 92-99 °C

**<sup>1</sup>H-NMR** (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.70-1.78 (m, 6H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 doasd), 2.14 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.71 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>N tasd), 2.86 (m, 1H, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.00 (m, 3H, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-7/9 tasd, CH<sub>2</sub>-7/ CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.56 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-7/ CH<sub>2</sub>-9 doasd), 3.64-3.90 (m, 3H, CH<sub>2</sub>-7/ CH<sub>2</sub>-9 doasd, CH<sub>a</sub>-3 doasd), 4.18 (pseudo-t, 1H, CH<sub>b</sub>-3 doasd), 4.39 (m, 1H, CH-2 doasd), 4.77 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.81-6.96 (m, 4H, CH-2, CH-4, CH-6 aromatici tasd, NH), 7.30-7.34 (m, 2H, CH-3, CH-5 aromatici tasd).

**<sup>13</sup>C-NMR** (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 21.43 (N-CO-CH<sub>3</sub>), 29.13 (C-6, C-10 tasd), 35.91 (C-6/C-10, doasd), 36.73 (C-6/C-10 doasd), 39.59 (C7/C9 doasd), 44.33 (C-7/C-9 doasd), 49.91 (C-7/ C-9 tasd), 50.92 (C-7/ C-9 tasd), 59.04 (C-5 tasd), 59.25 (C-2 tasd), 60.99 (C2-CH<sub>2</sub>-N tasd), 68.46(C-3 doasd), 74.74 (C-2 doasd), 107.59 (C-5 doasd), 115.91 (C-2, C-6 fenile tasd), 119.39 (C-4 fenile tasd), 129.30 (C-3, C-5 fenile tasd), 143.13 (C-1 fenile tasd), 168.86 (COCH<sub>3</sub>), 177.72 (CO tasd).

doasd = diosaaazaspirodecano; tasd = triazospirodecane

L'ammina libera ottenuta è stata convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.072 g.

**RESA:** 0.072 g (0.138 mmol), 55% d. t.

**Punto di fusione:** 177–183 °C

**Analisi Elem. C, H, N** per C<sub>25</sub>H<sub>34</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>: calcolato C, 57.90; H, 6.61; N, 10.80; trovato C, 57.73; H, 6.42; N, 10.77.

**QTOF:** massa esatta per C<sub>23</sub>H<sub>33</sub>N<sub>4</sub>O<sub>4</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> = calcolata 429.25

trovata 429.25

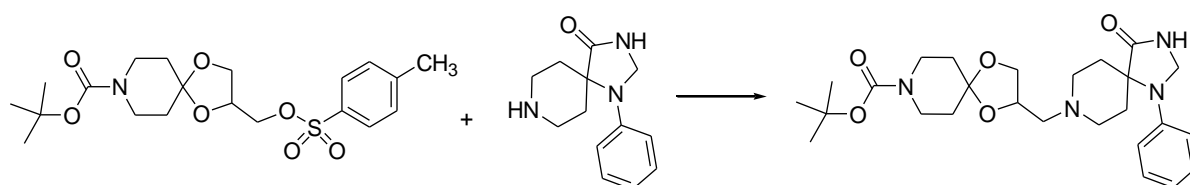
(Dev.= -1.16 ppm)

**<sup>1</sup>H-NMR** (200MHz, DMSO) δ 1.44-1.90 (m, 6H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 doasd), 2.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.58-3.60 (m, 12H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>N tasd, CH<sub>2</sub>-7 tasd, CH<sub>2</sub>-9

tasd, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 doasd), 3.68 (dd, 1H, J=7.1, 8.2, CH-3a doasd), 4.16 (dd, 1H, J=6.4, 8.2; CH-3b doasd), 4.49 (m, 1H, CH-2 doasd), 4.61 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.76-6.83 (m, 1H, CH-4 aromatico tasd), 6.90-6.95 (m, 2H, CH-2, CH-6 aromatici tasd), 7.21-7.29 (m, 2H, CH-3, CH-5 aromatici tasd), 8.86 (s, 1H, NH).

doasd = diossazaspirodecano; tasd = triazospirodecanone

### SINTESI DEL 8-(8-*tert*-BUTOSSICARBONIL-1,4-DIOSSA-8-AZA-SPIRO[4.5]DEC-2-IL-METIL)-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]UNDECAN-5-ONE (10)<sup>106</sup>



0.28 g (0.71 mmoli) di 8-*tert*-butossicarbonil-1,4-diossa-8-aza-spiro[4.5]dec-2-ilmetil toluen-4-solfonato (**59**), 0.164 g (0.71 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one e 0.052 g (0.49 mmoli) di sodio carbonato anidro vengono sospesi in 4 mL di dimetilformammide anidra. La miscela di reazione è riscaldata a ricadere a 120°C per 2 ore e 30 minuti. Al termine, si lascia raffreddare a temperatura ambiente e si decompone il liquido di reazione con ghiaccio; si lascia riposare per 30 minuti, poi si effettuano quattro estrazioni con etile acetato. Successivamente, la fase organica viene lavata una volta con acqua distillata; si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere g 0.414 di un residuo solido bianco. Dopo purificazione cromatografica con SP1 (miscela eluente: cicloesano/etile acetato/metanolo 50/50/5) si recuperano 0.263 g dell'atteso 8-(8-*tert*-butossicarbonil-1,4-diossa-8-aza-spiro[4.5]dec-2-il-metil)-1,3,8-triaza-spiro[4.5]undecan-5-one (**10**).

**RESA:** 0.263 g (0.54 mmoli), 76% d. t.

**Punto di fusione:** 145–148 °C

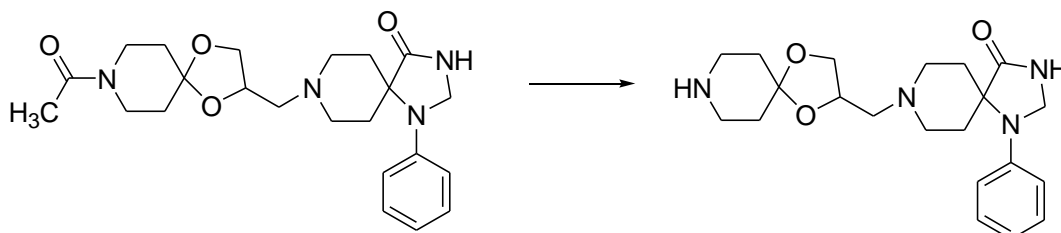
**<sup>1</sup>H-NMR** (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.49 (s, 9H, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.65-1.84 (m, 6H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 doasd), 2.62 (dd, 1H, J=6.0, 13.1; CH<sub>A</sub>H<sub>B</sub>N tasd), 2.66 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.70 (dd, 1H, J=5.1, 13.1; CH<sub>A</sub>H<sub>B</sub>N tasd), 2.82-3.03 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.46-3.54 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7 doasd, CH<sub>2</sub>-9 doasd), 3.73 (pseudo t, 1H, J=8.0, CH<sub>A</sub>-3 doasd), 4.16 (dd, 1H, J=6.2, 8.0; CH<sub>B</sub>-3 doasd), 4.35 (m, 1H, CH-2 doasd), 4.78 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.89-6.95

(m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 aromatici tasd), 7.30-7.34 (m, 2H, CH-3, CH-5 aromatici tasd), 7.40 (s allargato, 1H, NH).

$^{13}\text{C-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  29.45 ( $\text{C}(\underline{\text{C}}\text{H}_3)_3$ ), 29.22 (C-6, C-10 tasd), 35.03 (C-6/C-10 doasd), 36.14 (C-6/C-10 doasd), 41.85 (C-7, C-9 doasd), 50.03(C-7/C-9 tasd), 51.02 (C-7/ C-9 tasd), 59.20(C-5 tasd), 59.39 (C-2 tasd), 61.10 (C2- $\underline{\text{C}}\text{H}_2\text{-N}$  tasd), 68.40 (C-3 doasd), 74.77 (C-2 doasd), 79.58 ( $\underline{\text{C}}(\text{CH}_3)_3$ ), 107.84 (C5 doasd), 115.83 (C-2, C-6 arom. tasd), 119.25 (C-4 arom. tasd), 129.27 (C-3, C-5 arom. tasd), 143.19 (C-1 arom. tasd), 154.74 (CO Boc), 178.16 (CO tasd).

doasd = diossaazaspirodecano; tasd = triazospirodecanone

**SINTESI DEL 8-(1,4-DIOSSA-8-AZA-SPIRO[4,5]DEC-2-IL-METIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4,5]DECAN-4-ONE a partire da 8-(8-acetil-1,4-diossa-8-aza-spiro[4.5]dec-2-il-metil)-1,3,8-triaza-spiro[4.5]undecan-5-one (8)**<sup>111</sup>



0.3 g (0.7 mmoli) di 8-(8-acetil-1,4-diossa-8-aza-spiro[4.5]dec-2-il-metil)-1,3,8-triaza-spiro[4.5]undecan-5-one (9) e 3.93 mL di NaOH 10% vengono dissolti in 5 mL di metanolo. La soluzione ottenuta viene riscaldata a 80°C per 7 ore e 30 minuti. Al termine, la miscela viene portata a secco a pressione ridotta per allontanare il metanolo; il residuo viene trattato con diclorometano ed acqua distillata; si effettuano due estrazioni con diclorometano ed infine tre lavaggi della fase organica con acqua distillata. Si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.26 g di un residuo solido giallino dalla consistenza vetrosa.

**RESA:** 0.26 g (6,7 mmoli), 96% d. t.

**Punto di fusione:** 164–166 °C

$^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.70-1.76 (m, 6H,  $\text{CH}_2\text{-6/CH}_2\text{-10}$  tasd,  $2\times\text{CH}_2$  piperidinici doasd), 2.60 (dd, 1H,  $J=5.3, 13.1$ ;  $\text{CHaHbN}$  tasd), 2.67-2.72 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-6/CH}_2\text{-10}$  tasd), 2.70 (dd, 1H,  $J=5.6, 13.1$ ;  $\text{CHaHbN}$  tasd), 2.88-3.03 (m, 8H,  $\text{CH}_2\text{-7, CH}_2\text{-9}$  tasd,  $2\times\text{CH}_2$

piperidinici doasd), 3.72 (pseudo t, 1H, J=7.8, CHa-3 doasd), 4,15 (dd, 1H, J=6.2, 7.8; CHb-3 doasd), 4.34 (m, 1H, CH-2 doasd), 4,76 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd) [in realtà 2 doppietti non di 1° ordine], 6.88-6.95 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 aromatici tasd), 7.29-7.33 (m, 2H, CH-3, CH-5 aromatici tasd), ~7.8 (s allargato, 1H, NH).

<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 29.18 (C-6/C-10 tasd), 29.21 (C-6/C-10 tasd), 36.44 (C-6/C-10 doasd), 37.59 (C-6/C-10 doasd), 44.39 (C-7/C-9 doasd), 44.48 (C-7/C-9 doasd), 50.05(C-7/C-9 tasd), 51.04 (C-7/ C-9 tasd), 59.23(C-5 tasd), 59.43 (C-2 tasd), 61.24 (C-2-CH<sub>2</sub>-N tasd), 68.29 (C-3 doasd), 74.55 (C-2 doasd), 108.00 (C-5 doasd), 115.71 (C-2, C-6 arom. tasd), 119.13 (C-4 arom. tasd), 129.26 (C-3, C-5 arom. tasd), 143.22 (C-1 arom. tasd), 178.29 (CO tasd).

doasd = diosaaazaspirodecano

tasd = triazospirodecanone

L'ammina libera ottenuta è stata convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con metanolo.

Ottenuti 0.077 g.

**RESA:** 0.077 g (1,6 mmoli), 41% d. t.

**Punto di fusione:** 203–206 °C

**Analisi Elem. C, H, N** per C<sub>23</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub> × (COOH)<sub>2</sub>: calcolato C, 53.00; H, 6.05; N, 9.89; trovato C, 52.87; H, 5.90; N, 9.35.

**QTOF:** massa esatta per C<sub>21</sub>H<sub>31</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> = calcolata 387.2391

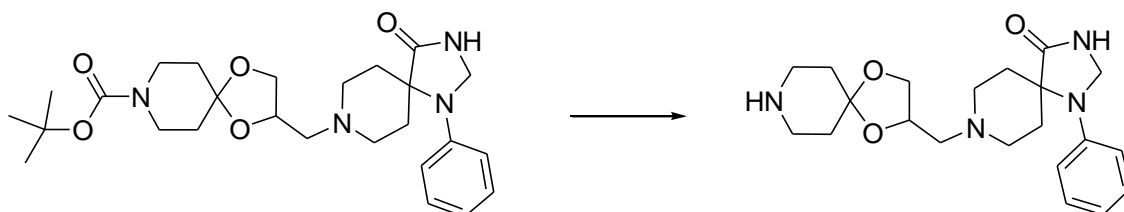
trovata 387.2396

(Dev.= -1.46 ppm)

<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO) δ 1.6-2.0 (m, 6H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 doasd), 2.60-3.55 (m, 12H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>N tasd, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 doasd), 3.70 (m, 1H, CH-3a doasd), 4.16 (m, 1H, CH-3b doasd), ~4.5 (m, 1H, CH-2 doasd), 4.61 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.78 (m, 1H, H-4 aromatico), 6.92 (m, 2H, CH-2, CH-6 aromatici), 7.25 (m, 2H, CH-3, CH-5 aromatici), 8.86 (s, 1H, NH).

doasd = diosaaazaspirodecano; tasd = triazospirodecanone

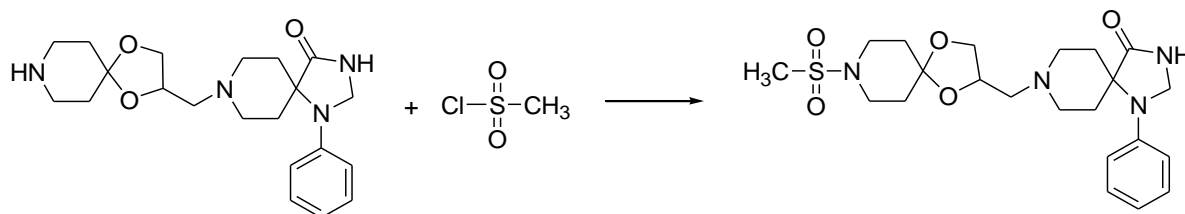
**SINTESI DEL 8-(1,4-DIOSSA-8-AZA-SPIRO[4,5]DEC-2-ILMETIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4,5]DECAN-4-ONE a partire dal 8-(8-*tert*-butossicarbonil-1,4-diossa-8-aza-spiro[4,5]dec-2-il-metil)-1,3,8-triaza-spiro[4,5]undecan-5-one (8)<sup>112</sup>**



0.04 g (0.082 mmoli) del 8-(8-*tert*-butossicarbonil-1,4-diossa-8-aza-spiro[4,5]dec-2-il-metil)-1,3,8-triaza-spiro[4,5]undecan-5-one (**10**) e 0.296 g di acido trifluoroacetico (2.6 mmoli, 0.2 mL) vengono dissolti in 1.5 mL di diclorometano anidro. La miscela di reazione viene lasciata sotto agitazione elettromagnetica a temperatura ambiente per 10 minuti. Al termine, si effettuano tre lavaggi della fase organica (diclorometano) con NaOH 5% ed un lavaggio con acqua distillata. Infine, si effettuano tre estrazioni della fase acquosa con diclorometano. Si anidifica la fase organica, si filtra e si porta a secco a pressione ridotta, fino ad ottenere g 0.018 di un residuo solido color ambra, il quale presenta caratteristiche chimico-fisiche e spettro<sup>1</sup> H-NMR simili al 8-(1,4-diossa-8-aza-spiro[4,5]dec-2-il-metil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one (**8**).

**RESA:** 0.018 g (0.05 mmoli), 62% d. t.

**SINTESI DEL 8-(8-METANSULFONIL-1,4-DIOSSA-8-AZA-SPIRO[4,4]DEC-2-ILMETIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4,5]DECAN-4-ONE] a partire dal 8-(1,4-diossa-8-aza-spiro[4,5]dec-2-ilmetil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one (11)**



0.157 g (0.41 mmoli) di 8-(1,4-diossa-8-aza-spiro[4,5]dec-2-il-metil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one (**8**) e 0.1 g (1.03 mmoli, 0.14 mL) di trietilammina vengono dissolti in 2 mL di diclorometano anidro. La miscela di reazione portata a 0 °C con bagno di ghiaccio e si aggiungono goccia a goccia 0.07 g (0.62 mmoli, 0.05 mL) di mesilcloruro. Si lascia

proseguire la reazione a temperatura ambiente per 1 ora e 15 minuti. Al termine, si effettuano tre lavaggi della fase organica (diclorometano) con una soluzione satura di sodio bicarbonato e due estrazioni della fase acquosa con diclorometano. Si anidrifica la fase organica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco a pressione ridotta fino ad ottenere 0.216 g di un residuo beige vetroso. Si purifica il grezzo di reazione tramite cromatografia SP1 (miscela eluente etile acetato/metanolo 90/10) e si recuperano g 0.103 di un residuo solido giallo che, dall'analisi  $^1\text{H-NMR}$ , risulta corrispondere al composto atteso.

**RESA:** 0.103 g (0.22 mmoli), 54% d. t.

**$^1\text{H-NMR}$**  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1.57-1.70 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-6/CH}_2\text{-10}$  tasd), 1.70-1.84 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{-6, CH}_2\text{-10}$  doasd), 2.44-2.65 (m, 3H,  $\text{CH}_2\text{-6/CH}_2\text{-10}$  tasd,  $\text{CH}_a\text{HbN}$  tasd), 2.60 (dd, 1H,  $J=6.0, 13.1$ ;  $\text{CH}_a\text{HbN}$  tasd), 2.72 (s, 3H,  $\text{CH}_3$  mesile), 2.72 (m, 1H,  $\text{CH}_a\text{Hb-7/9}$  tasd [relativo al C  $\delta =50.97$ ]), 2.84-2.91 (m, 3H,  $\text{CH}_2\text{-7/9}$  tasd [relativo al C  $\delta =49.99$ ],  $\text{CH}_a\text{Hb-7/9}$  tasd [relativo al C  $\delta =50.97$ ]), 3.20-3.33 (m, 4H,  $\text{CH}_2\text{-7, CH}_2\text{-9}$  doasd), 3.62 (pseudo-t, 1H,  $J=7.9$ ;  $\text{CH}_a\text{-3}$  doasd), 4.06 (dd, 1H,  $J=6.2, 7.9$ ;  $\text{CH}_b\text{-3}$  doasd), 4.25 (m, 1H,  $\text{CH-2}$  doasd), 4.66 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{-2}$  tasd), 6.58 (m, 1H, NH), 6.80-6.85 (m, 3H,  $\text{CH-2, CH-4, CH-6}$  aromatici tasd), 7.19-7.24 (m, 2H,  $\text{CH-3, CH-5}$  aromatici tasd).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  29.24 (C-6, C-10 tasd), 34.71 (C-6/C-10, doasd), 35.03 ( $\text{CH}_3$  mesile), 35.83(C-6/C-10 doasd), 44.23 (C7/C9 doasd), 44.31 (C7/C9 doasd), 49.99 (C-7/ C-9 tasd), 50.97 (C-7/ C-9 tasd), 59.08 (C-5 tasd), 59.23 (C-2 tasd), 60.96 (C2- $\text{CH}_2\text{-N}$  tasd), 68.51 (C-3 doasd), 74.87 (C-2 doasd), 106.77 (C-5 doasd), 116.05 (C-2, C-6 arom. tasd), 119.47 (C-4 arom. tasd), 129.29 (C-3, C-5 arom. tasd), 143.15 (C-1 arom. tasd), 177.70 (CO tasd).

doasd = diosaaazaspirodecano; tasd = triazospirodecanone

L'ammina libera ottenuta è stata convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con metanolo/etere.

Ottenuti 0.068 g.

**RESA:** 0.068 g (0.12 mmoli), 55% d. t.

**Punto di fusione:** 199–200 °C

**Analisi Elem. C, H, N** per  $\text{C}_{24}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{O}_9\text{S} \times (\text{COOH})_2$ : C, 48.44; H, 5.63; N, 8.69; Found: C, 47.98; H, 6.07; N, 8.61.

**QTOF:** massa esatta per  $\text{C}_{22}\text{H}_{33}\text{N}_4\text{O}_5\text{S}^+ [\text{M}+\text{H}]^+ =$  calcolata 465.2166

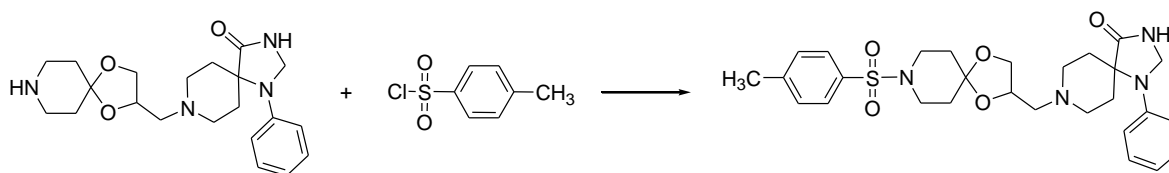
trovata 465.2174

(Dev.= -1.79 ppm)

**<sup>1</sup>H-NMR** (200MHz, DMSO)  $\delta$  1.7-1.9 (m, 6H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 doasd), 2.50(s, 3H, CH<sub>3</sub> mesile), 2.7-3.6 (m, 12H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>N tasd, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 doasd), 3.71 (pseudot, 1H, CH-3a doasd), 4.18 (pseudot, 1H, CH-3b doasd), 4.61 (m, 1H, CH-2 doasd), 4.61 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.76-6.83 (m, 1H, CH-4 aromatico tasd), 6.98-7.03 (m, 2H, CH-2, CH-6 aromatici tasd), 7.20-7.28 (m, 2H, CH-3, CH-5 aromatici tasd), 8.92 (s, 1H, NH).

doasd = diossaazaspirodecano; tasd = triazospirodecanone

**SINTESI DEL 8-[8-(TOLUEN-4-SULFONIL)-1,4-DIOSSA-8-AZA-SPIRO[4.5]DEC-2-ILMETIL]-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE a partire da 8-(1,4-diossa-8-aza-spiro[4,5]dec-2-ilmetil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one (12)**



0.100 g (0.26 mmoli) di 8-(1,4-diossa-8-aza-spiro[4,5]dec-2-il-metil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one (**8**) e 0.066 g (0.65 mmoli, 0.09 mL) di trietilammina vengono dissolti in 1 mL di diclorometano anidro. La miscela risultante viene portata a 0 °C con bagno di ghiaccio, poi si aggiungono goccia a goccia 0.074 g (0.39 mmoli) di tosilcloruro solubilizzati in 2 mL di diclorometano anidro. Si lascia proseguire la reazione a temperatura ambiente per 1 ora.

Al termine, si effettuano tre lavaggi della fase organica (diclorometano) con una soluzione satura di sodio bicarbonato, poi la fase acquosa viene estratta per tre volte con diclorometano. Si anidrifca la fase organica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco a pressione ridotta fino ad ottenere 0.122 g di un residuo giallo a consistenza vetrosa. Il grezzo di reazione viene purificato mediante flash cromatografia (miscela eluente etile acetato/metanolo 90/10); si recuperano 0.062 g di 8-[8-(toluen-4-sulfonil)-1,4-diossa-8-aza-spiro[4.5]dec-2-ilmetil]-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**12**).

**RESA:** 0.062 g (0.11 mmoli), 42% d. t.

**Punto di fusione:** 203-205 °C

**<sup>1</sup>H-NMR** (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.59-1.79 (m, 6H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 doasd), 2.35 (s, 3H, CH<sub>3</sub> tosile), 2.38-2.60 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>N tasd), 2.67 (m, 1H, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-7/9 tasd), 2.72-2.81 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 tasd), 2.85 (m, 1H, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-7/9 tasd), 2.91-3.06 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 doasd), 3.10-3.23 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 doasd), 3.55 (pseudo-t, 1H, J=7.7; CH<sub>a</sub>-3 doasd), 3.97 (pseudo-t, 1H, CH<sub>b</sub>-3 doasd), 4.16 (m, 1H, CH-2 doasd), 4.65 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.43 (s, 1H, NH), 6.79-6.83 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 aromatici tasd), 7.19-7.20 (m, 2H, CH-3, CH-5 aromatici tasd), 7.22-7.24 (m, 2H, CH-2, CH-6 tosile), 7.56-7.58 (m, 2H, CH-3, CH-5 tosile).

**<sup>13</sup>C-NMR** (400MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 21.54 (CH<sub>3</sub> tosile), 29.20 (C-6, C-10 tasd), 34.51 (C-6/C-10, doasd), 35.62 (C-6/C-10 doasd), 44.42 (C-7/C-9 doasd), 44.51 (C-7/C-9 doasd), 49.99 (C-7/C-9 tasd), 50.93 (C-7/C-9 tasd), 59.05 (C-5 tasd), 59.18 (C-2 tasd), 60.92 (C2-CH<sub>2</sub>-N tasd), 68.42 (C-3 doasd), 74.75 (C-2 doasd), 106.71 (C-5 doasd), 116.01 (C-2, C-6 arom. tasd), 119.44 (C-4 arom. tasd), 127.64 (C-3, C-5 tosile), 129.28 (C-3, C-5 arom. tasd), 129.71 (C-2, C-6 tosile), 133.61 (C-4 tosile), 143.14 (C-1 arom. tasd), 143.48 (C-1 tosile), 177.61 (CO tasd).

doasd = diossazaspirodecano; tasd = triazospirodecanone

L'ammina libera ottenuta è stata convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.042 g.

**RESA:** 0.042 g (0.067 mmoli), 73% d. t.

**Punto di fusione:** 227–229 °C

**Analisi Elem. C, H, N** per C<sub>30</sub>H<sub>38</sub>N<sub>4</sub>O<sub>9</sub>S: calcolato C, 57.13; H, 6.07; N, 8.88; trovato C, 57.36; H, 6.06; N, 8.39.

**QTOF:** massa esatta per C<sub>28</sub>H<sub>37</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>S<sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> = calcolata 541.2479

trovata 541.2491

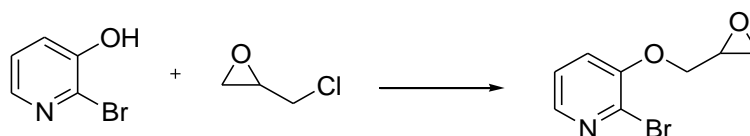
(Dev.= -2.11 ppm)

**<sup>1</sup>H-NMR** (200MHz, DMSO) δ 1.6-1.9 (m, 6H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-6, CH<sub>2</sub>-10 doasd), 2.38(s, 3H, CH<sub>3</sub> tosile), 2.6-3.5 (m, 12H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>N tasd, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd,

CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 doasd), 3.58 (dd, 1H, J=7.3, 8.2; CH-3a doasd), 4.06 (dd, 1H, J=6.5, 8.2; CH-3b doasd), 4.44 (m, 1H, CH-2 doasd), 4.61 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.74-6.81 (m, 1H, CH-4 aromatico tasd), 6.89-6.93 (m, 2H, CH-2, CH-6 aromatici tasd), 7.19-7.27 (m, 2H, CH-3, CH-5 aromatici tasd), 7.41-7.45 (m, 2H, CH-2, CH-6 tosile), 7.60-7.64 (m, 2H, CH-3, CH-5 tosile), 8.89 (s, 1H, NH).

doasd = diossazaspirodecano; tasd = triazospirodecanone

### SINTESI DELLA 2-BROMO-3-OSSIRANILMETOSSIPYRIDINA (60)<sup>114</sup>

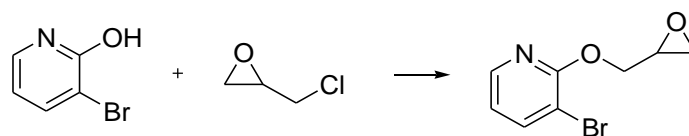


In un pallone a due colli da 50 mL anidro, sotto flusso d'azoto, si introduce una sospensione di 0.08 g (2 mmoli) di sodio idruro in 0.8 mL di dimetilformammide anidra. A questa sospensione viene aggiunta, goccia a goccia, una soluzione di 0.300 g (1.7 mmoli) di 2-bromo-3-idrossi-piridina in 0.5 mL di dimetilformammide anidra. Si lascia la miscela di reazione ottenuta a temperatura ambiente, sotto agitazione elettromagnetica e sotto flusso d'azoto per 30 minuti. Dopo 30 minuti si aggiunge, goccia a goccia, una soluzione di 1.35 mL di epicloridrina in 0.25 mL di dimetilformammide anidra. La miscela di reazione viene mantenuta a 60 °C per 1 ora controllando l'andamento della reazione stessa mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 7/3 cicloesano/etile acetato). Al termine si porta a secco il solvente di reazione, si riprende con acqua e si effettuano 3 estrazioni con etile acetato. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, si ottengono 0.339 g di un liquido denso e oleoso che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'attesa 2-bromo-3-ossiranilmetossi-piridina.

**RESA:** 0.339 g (1.47 mmoli), 86% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 2.85 (dd, 1H, J = 2.6, 4.9; Ha-CH<sub>2</sub> ossirano), 2.94 (pseudot, 1H, J= 4.9; Hb-CH<sub>2</sub> ossirano), 3.41 (m, 1H, CH-2 ossirano), 4.06 (dd, 1H, J = 5.3, 11.4; Ha-CH<sub>2</sub> metossi), 4.38 (dd, 1H, J = 2.7, 11.4; Hb-CH<sub>2</sub> metossi), 7.17-7.27 (m, 2H, CH-4, CH-5 piridina), 8.00-8.03 (m, 1H, CH-6 piridina).

### SINTESI DELLA 3-BROMO-2-OSSIRANILMETOSSIPRIDINA (61)<sup>114</sup>

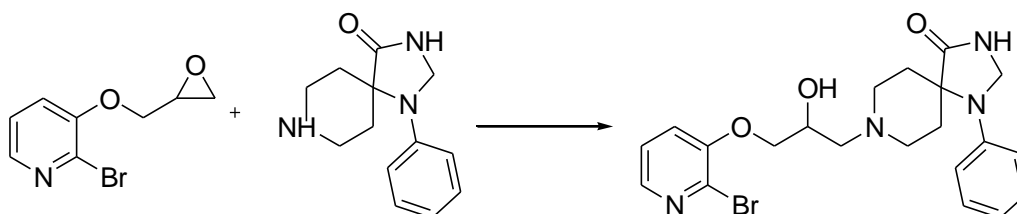


In un pallone a due colli da 50 mL anidro, sotto flusso d'azoto, si introducono 0.135 g (3.38 mmoli) di sodio idruro in 1,35 mL di dimetilformammide. A questa sospensione viene aggiunto goccia a goccia una soluzione di 0.49 g (2.82 mmoli) di 3-bromo-2-idrossipiridina in 0.82 mL di dimetilformammide anidra. Si lascia la miscela ottenuta a temperatura ambiente, sotto agitazione elettromagnetica e sotto flusso d'azoto per 30 minuti. Dopo 30 minuti viene aggiunta alla miscela di reazione una soluzione di 2.21 mL (28.2 mmoli) di epicloridrina in 0.43 mL di dimetilformammide goccia a goccia. La miscela di reazione viene mantenuta a 60 °C per 1 ora controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 7/3 cicloesano/etile acetato). Al termine si porta a secco il solvente di reazione, si riprende con acqua e si effettuano 3 estrazioni con etile acetato. Si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, si ottengono 0.559 g di un liquido denso e oleoso che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'attesa 3-bromo-2-ossiranilmetossi-piridina (**61**).

**RESA:** 0.559 g (2.43 mmoli), 86% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  2.58 (dd, 1H, J= 2.6, 4.4; Ha-CH<sub>2</sub> ossirano), 2.88 (pseudot, 1H, J= 4.4; Hb-CH<sub>2</sub> ossirano), 3.37 (m, 1H, CH-2 ossirano), 3.70 (dd, 1H, J= 6.4, 14.0; Ha-CH<sub>2</sub> metossi), 4.67 (dd, 1H, J = 2.5, 14.0; Hb-CH<sub>2</sub> metossi), 6.06-6.12 (m, 1H, CH-5 piridina), 7.32-7.36 (m, 1H, CH-6 piridina), 7.74-7.78 (m, 1H, CH-4 piridina)

### SINTESI DEL 8-[3-(2-BROMO-PIRIDIN-3-ILOSSI)-2-IDROSSI-PROPI]-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (62)<sup>114</sup>



0.264 g (1.15 mmoli) di 2-bromo-3-ossiranilmetil-piridina (**60**) e 0.8 g (3.45 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one si solubilizzano in 4 mL di tetraidrofurano anidro. La miscela di reazione viene lasciata sotto agitazione elettromagnetica a 70 °C per 1 ora e 45 minuti, monitorandola mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente 9/1 etile acetato/metanolo). Al termine si lascia raffreddare la miscela; si aggiunge acqua distillata e si effettuano 3 estrazioni con etile acetato. Si anidrifica la fase organica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco a pressione ridotta fino ad ottenere 1.01 g di un residuo solido verdognolo. Si purifica il grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente etile acetato/metanolo 9.5/0.5) e si ottengono 0.552 g di solido bianco, che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso 8-[3-(2-bromo-piridin-3-ossi)-2-idrossi-propil]-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**62**).

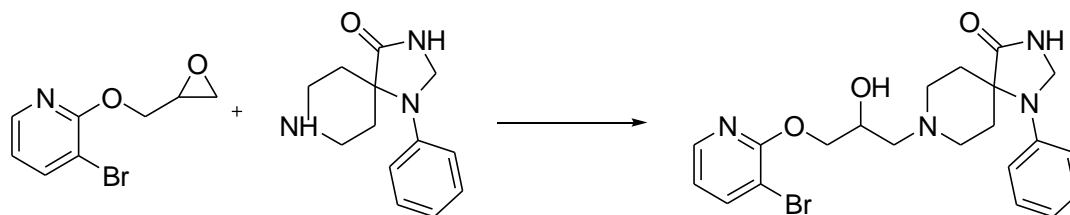
**RESA:** 0.552 g (1.19 mmoli), 79% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, DMSO):**  $\delta$  1.54 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.49 (dd, 1H, J = 6.7, 12.7; Ha-CH<sub>2</sub>-1 propile), 2.50-2.60 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.58 (dd, 1H, J = 6.0, 12.7; Hb-CH<sub>2</sub>-1 propile), 2.80 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 tasd), 4.02 (m, 1H, CH-2 propile), 4.10 (dd, 1H, J = 5.2, 10.1; CHa-3 propile), 4.18 (dd, 1H, J = 4.1, 10.1; CHb-3 propile), 4.57 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 4.94 (s allargato scambiabile con D<sub>2</sub>O, 1H, OH), 6.73 (m, 1H, CH-4 arom. tasd), 6.83 (m, 2H, CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.18 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.40 (dd, 1H, J = 4.6, 8.2; CH-5 piridina), 7.60 (dd, 1H, J = 1.4, 8.2; CH-4 piridina), 7.96 (dd, 1H, J = 1.4, 4.6; CH-6 piridina), 8.62 (s, 1H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, DMSO):**  $\delta$  28.86 (C-6, C-10 tasd), 50.57 (C-7/C-9 tasd), 50.64 (C-7/C-9 tasd), 58.50 (C-2 tasd), 59.11 (C-5 tasd), 61.15 (C-1 propile), 67.02 (C-2 propile), 72.58 (C-3 propile), 114.65 (C-2, C-6 arom. tasd), 117.98 (C-4 arom. tasd), 121.59 (C-4 piridina), 124.71 (C-5 piridina), 129.43 (C-3, C-5 arom. tasd), 132.27 (C-2 piridina), 141.56 (C-6 piridina), 143.79 (C-1 arom. tasd), 152.64 (C-3 piridina), 176.69 (CO).

tasd = triazaspirodecanone

**SINTESI DEL 8-[3-(3-BROMO-PIRIDIN-2-ILOSSI)-2-IDROSSI-PROPI]-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (63)<sup>114</sup>**



In un pallone da 50 ml si solubilizzano 0.559 g (2.43 mmoli) di 3-bromo-2-ossiranilmetilpiridina (**4**) e 1.508 g (7.29 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one in 4 mL di tetraidrofurano anidro. La miscela di reazione viene scaldata sotto agitazione elettromagnetica a 70 °C per 1 ora e 15 minuti controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente 9/1 etile acetato/metanolo). Al termine si lascia raffreddare la miscela e si riprende con acqua, si effettuano 3 estrazioni con etile acetato. Si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, si ottiene un solido biancastro 1,778 g. Si purifica il grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente etile acetato/metanolo 9.5/0.5) e si ottengono 0.649 g di solido biancastro che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso 8-[3-(3-bromo-piridin-2-ilossi)-2-idrossi-propil]-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**63**).

**RESA:** 0.649 g (1.41 mmoli), 58% d. t.

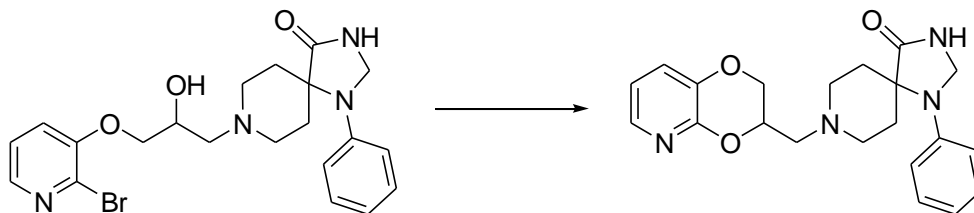
**Punto di fusione:** 130-136 °C

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, DMSO):**  $\delta$  1.55 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.40 (pseudod, 2H, CH<sub>2</sub>-1 propile), 2.51 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.69-2.85 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.59 (dd, 1H, J= 8.8, 12.9; CHa-3 propile), 3.97 (m, 1H, CH-2 propile), 4.42 (dd, 1H, J= 3.0, 12.9; CHb-3 propile), 4.57 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 4.96 (d allargato scambiabile con D<sub>2</sub>O, 1H, J= 4.8; OH), 6.16 (pseudot, 1H, J= 7.0; CH-5 piridina), 6.75 (m, 1H, CH-4 arom. tasd), 6.86 (m, 2H, CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.24 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.83 (dd, 1H, J= 1.7, 6.7; CH-6 piridina), 7.89 (dd, 1H, J= 1.8, 7.3; CH-4 piridina), 8.61 (s, 1H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, DMSO):**  $\delta$  28.86 (C-6, C-10 tasd), 49.87 (C-7/C-9 tasd), 50.81 (C-7/C-9 tasd), 55.76 (C-1 propile), 58.60 (C-2 tasd), 59.12 (C-5 tasd), 62.75 (C-3 propile), 65.82 (C-2 propile), 105.20 (C-5 piridina), 114.76 (C-3 piridina), 114.92 (C-2, C-6 arom. tasd), 118.16 (C-4 arom. tasd), 129.49 (C-3, C-5 arom. tasd), 141.06 (C-4 piridina), 142.47 (C-6 piridina), 143.84 (C-1 arom. tasd), 158.48 (C-2 piridina), 176.67 (CO).

tasd = triazaspirodecanone

**SINTESI DEL 8-(2,3-DIIDRO-[1,4]DIOSINO[2,3-b]PIRIDIN-3-ILMETIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (13a)<sup>114</sup>**



In un pallone da 50 ml sono posti 0.025 g (0.62 mmoli) di sodio idruro in 1 mL di dimetossietano anidro; successivamente vengono aggiunti 0.144 g (0.31 mmoli) di 8-[3-(2-bromo-piridin-3-ossi)-2-idrossi-propil]-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**62**) in 1 mL di dimetossietano anidro goccia a goccia. La miscela di reazione viene scaldata sotto agitazione elettromagnetica a 80 °C per 4 ore controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente 9/1 etile acetato/metanolo). Al termine si lascia raffreddare la miscela e si riprende con acqua, si effettuano 3 estrazioni con etile acetato. Si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, si ottiene un solido bianco polveroso 0.077 g. Si purifica il grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente etile acetato/metanolo 9.5/0.5) e si ottengono 0.02 g di solido giallognolo che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso 8-(2,3-diidro-[1,4]diosino[2,3-b]piridin-3-ilmetil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**13a**).

**RESA:** 0.020 g ( 0.052 mmoli), 17 % d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.77 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.66-2.76 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.76 (dd, 1H, J= 7.0, 13.3; Ha C3dop-CH<sub>2</sub>-N), 2.86-3.14 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 2.93 (dd, 1H, J= 5.2, 13.3; Hb C3dop-CH<sub>2</sub>-N), 4.09 (dd, 1H, J= 7.6, 11.4; CHa-2 dop), 4.44 (dd, 1H, J = 2.2, 11.4; CH-2 dop), 4.54 (m, 1H, CH-3 dop), 4.79 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.89-6.94 (m, 4H, CH-2, CH-4, CH-6 arom. tasd, CH-7 dop), 7.19 (s allargato scambiabile con D<sub>2</sub>O, 1H, NH), 7.23 (dd, 1H, J= 1.4, 7.8; CH-8 dop), 7.33 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.86 (dd, 1H, J= 1.4, 4.7; CH-6 dop)

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 29.17 (C-6/C-10 tasd), 29.25 (C-6/C-10 tasd), 50.19 (C-7/C-9 tasd), 51.21 (C-7/C-9 tasd), 58.28 (CH<sub>2</sub>-N), 59.05 (C-2 tasd), 59.33 (C-5 tasd), 66.81 (C-2 dop), 72.74 (C-3 dop), 115.44 (C-2, C-6 arom. tasd), 118.35 (C-4 arom. tasd), 119.09 (C-7

dop), 124.57 (C-8 dop), 129.33 (C-3, C-5 arom. tasd), 139.10 (C-8a dop), 140.02 (C-6 dop), 143.19 (C-1 arom. tasd), 152.64 (C-4a dop), 177.94 (CO).

dop = diossinopiridina; tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato mediante metanolo/etere.

Ottenuti 0.027 g.

**RESA:** 0.027 g (0.057 mmoli), 46% d. t.

**Punto di fusione:** 205-210 °C

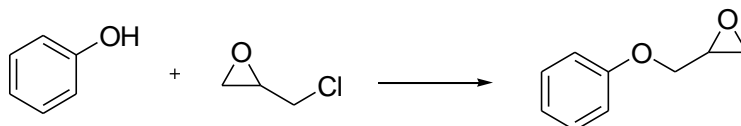
**Analisi C, H, N** per  $C_{23}H_{26}N_4O_7 \cdot 2 H_2O$ : calcolato C, 54.54; H, 5.97; N, 11.06; trovato C, 55.03; H, 5.61; N, 10.56.

**QTOF:** massa esatta per  $C_{21}H_{25}N_4O_3^+ [M+H]^+$  = calcolata 381.1921  
trovata 381.1930  
(Dev.= -2.36 ppm)

**$^1H$ -NMR (200MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  1.70-1.88 (m, 2H,  $CH_2$ -6/ $CH_2$ -10 tasd), 2.65-2.91 (m, 2H,  $CH_2$ -6/ $CH_2$ -10 tasd), 3.14-3.53 (m, 6H,  $CH_2$ -7,  $CH_2$ -9 tasd,  $CH_2$ -N), 3.98-4.13 (m, 1H, CHa-2 dop), 4.32-4.44 (m, 1H, CHb-2 dop), 4.61 (s, 2H,  $CH_2$ -2 tasd), 4.86 (m, 1H, CH-3 dop), 6.78 (m, 1H, CH-4 arom. tasd) 6.89-7.03 (m, 3H, CH-2, CH-6 arom. tasd, CH-7 dop), 7.18-7.39 (m, 3H, CH-3, CH-5 arom. tasd, CH-8 dop), 7.75-7.82 (m, 1H, CH-6 dop), 8.85 (s, 1H, ac. ossalico)

dop = diossinopiridina; tasd = triazaspirodecanone

#### SINTESI DEL 2-FENOSSIMETIL-OSSIRANO (64)<sup>114</sup>



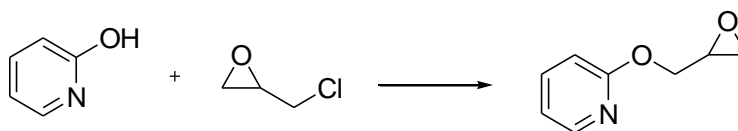
In un pallone a due colli da 50 mL anidro, sotto flusso d'azoto, si introducono 0.076 g (1.91 mmoli) di sodio idruro in 0.75 mL di dimetilformammide. A questa sospensione viene aggiunta goccia a goccia una soluzione di 0.15 g (1.59 mmoli) di fenolo in 0.25 mL di dimetilformammide. Si lascia la miscela così formata a temperatura ambiente, sotto agitazione elettromagnetica e sotto flusso d'azoto per 30 minuti. Dopo 30 minuti viene aggiunta alla

miscela di reazione una soluzione di 0.32 mL (3.98 mmoli) di epicloridrina in 0.12 mL di dimetilformammide, goccia a goccia. La miscela di reazione viene scaldata a 40 °C per 1 ora e 30 minuti monitorandola mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 9.5/0.5 cicloesano/etile acetato). Al termine si evapora il solvente di reazione a pressione ridotta, si riprende con acqua e si effettuano 3 estrazioni con etile acetato. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco. Si ottengono 0.237g di un liquido denso e oleoso che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso 2-fenossimetil-ossirano.

**RESA:** 0.237g (1.59 mmoli), quantitativa.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 2.67 (dd, 1H, J = 2.6, 4.9; Ha-CH<sub>2</sub> ossirano), 2.81 (pseudot, 1H, J = 4.9; Hb-CH<sub>2</sub> ossirano), 3.28 (m, 1H, CH-2 ossirano), 3.87 (dd, 1H, J = 5.7, 11.1; Ha-CH<sub>2</sub> metossi), 4.16 (dd, 1H, J = 3.1, 11.1; Hb-CH<sub>2</sub> metossi), 6.84-6.93 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 aromatici), 7.18-7.26 (m, 2H, CH-3, CH-5 aromatici).

#### SINTESI DELLA 2-OSSIRANILMETOSSI-PIRIDINA (65)<sup>114</sup>

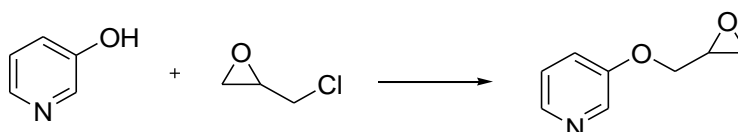


In un pallone a due colli da 50 mL anidro, sotto flusso d'azoto, si introducono 0.076 g (1.89 mmoli) di sodio idruro in 0.75 mL di dimetilformammide. A questa sospensione viene aggiunta goccia a goccia una soluzione di 0.15 g (1.58 mmoli) di 2-idrossi-piridina in 0.25 mL di dimetilformammide. Si lascia la miscela così formata a temperatura ambiente, sotto agitazione elettromagnetica e sotto flusso d'azoto per 30 minuti. Dopo 30 minuti viene aggiunta alla miscela di reazione una soluzione di 0.31 mL (3.94 mmoli) di epicloridrina in 0.23 mL di dimetilformammide, goccia a goccia. La miscela di reazione viene scaldata a 40 °C per 1 ora e 30 minuti monitorandola mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 5/5/1 cicloesano/etile acetato/metanolo). Al termine si evapora il solvente di reazione a pressione ridotta, si riprende con acqua e si effettuano 3 estrazioni con etile acetato. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco. Si ottengono 0.143 g di un liquido denso e oleoso che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'attesa 2-ossiranilmetossi-piridina (65).

**RESA:** 0.143 g (0.946 mmoli), 60% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 2.58 (dd, 1H, J = 2.6, 4.5; Ha-CH<sub>2</sub> ossirano), 2.84 (pseudot, 1H, J= 4.5; Hb-CH<sub>2</sub> ossirano), 3.34 (m, 1H, CH-2 ossirano), 3.71 (dd, 1H, J= 6.2, 14.1; Ha-CH<sub>2</sub> metossi), 4.56 (dd, 1H, J= 2.5, 14.1; Hb-CH<sub>2</sub> metossi), 6.13-6.20 (m, 1H, CH-5 piridina), 6.55-6.59 (m, 1H, CH-3 piridina), 7.29-7.39 (m, 2H, CH-4, CH-6 piridina).

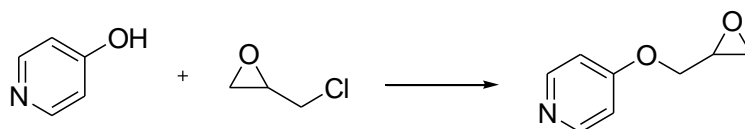
### SINTESI DELLA 3-OSSIRANILMETOSSIPRIDINA (66)<sup>114</sup>



In un pallone a due colli da 50 mL anidro, sotto flusso d'azoto, si introducono 0.076 g (1.89 mmoli) di sodio idruro in 0.75 mL di dimetilformammide. A questa sospensione viene aggiunta goccia a goccia una soluzione di 0.15 g (1.58 moli) di 3-idrossi-piridina in 0.25 mL di dimetilformammide. Si lascia la miscela così formata a temperatura ambiente, sotto agitazione elettromagnetica e sotto flusso d'azoto per 30 minuti. Dopo 30 minuti viene aggiunta alla miscela di reazione una soluzione di 0.31 mL (3.94 mmoli) di epichloridrina in 0.12 mL di dimetilformammide goccia a goccia. La miscela di reazione viene scaldata a 40 °C per 1 ora e 30 minuti monitorandola mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 5/5 cicloesano/etile acetato). Al termine si evapora il solvente di reazione a pressione ridotta, si riprende con acqua e si effettuano 3 estrazioni con etile acetato. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco a pressione ridotta. Si ottengono 0.05 g di un liquido denso e oleoso che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'attesa 3-ossiranilmetossi-piridina (66).

**RESA:** 0.05 g (0.33 moli), 21% d. t.

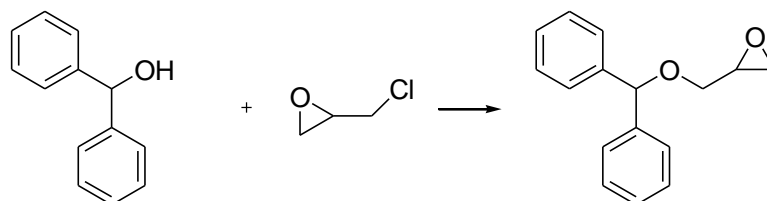
**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 2.77 (dd, 1H, J = 2.7, 4.8; Ha-CH<sub>2</sub> ossirano), 2.93 (pseudot, 1H, J = 4.8; Hb-CH<sub>2</sub> ossirano), 3.36 (m, 1H, CH-2 ossirano), 3.99 (dd, 1H, J= 5.8, 11.1; Ha-CH<sub>2</sub> metossi), 4.31 (dd, 1H, J= 3.0, 11.1; Hb-CH<sub>2</sub> metossi), 7.18-7.25 (m, 2H, CH-4, CH-5 piridina), 8.23-8.26 (m, 1H, CH-6 piridina), 8.33-8.35 (m, 1H, CH-2 piridina).

SINTESI DELLA 4-OSSIRANILMETOSSI-PIRIDINA (67)<sup>114</sup>

In un pallone a due colli da 50 mL anidro, sotto flusso d'azoto, si introducono 0.075 g (1.89 mmoli) di sodio idruro in 0.75 mL di dimetilformammide. A questa sospensione viene aggiunta goccia a goccia una soluzione di 0.15 g (1.58 mmoli) di 4-idrossi-piridina in 0.25 mL di dimetilformammide. Si lascia la miscela così formata a temperatura ambiente, sotto agitazione elettromagnetica e sotto flusso d'azoto per 30 minuti. Dopo 30 minuti viene aggiunta alla miscela di reazione una soluzione di 0.62 mL (7.91 mmoli) di epicloridrina in 0.12 mL di dimetilformammide, goccia a goccia. La miscela di reazione viene scaldata a 60 °C per 1 ora controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 9/1/0.5 etile acetato/metanolo/ammoniaca). Al termine si evapora il solvente di reazione a pressione ridotta, si riprende con acqua e si effettuano 3 estrazioni con etile acetato. Si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco. Si ottengono 0.339g di un liquido denso e oleoso che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'attesa 4-ossiranilmetossi-piridina (67).

**RESA:** 0.339 g (1.47 mmoli), 86% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO):**  $\delta$  2.54 (dd, 1H, J= 2.6, 4.7; Ha-CH<sub>2</sub> ossirano), 2.81 (pseudot, 1H, J= 4.7; Hb-CH<sub>2</sub> ossirano), 3.28 (m, 1H, CH-2 ossirano), 3.86 (dd, 1H, J= 5.9, 14.7; Ha-CH<sub>2</sub> metossi), 4.22 (dd, 1H, J= 3.3, 14.7; Hb-CH<sub>2</sub> metossi), 6.03-6.15 (m, 2H, CH-3, CH-5 piridina), 7.52-7.67 (m, 2H, CH-2, CH-6 piridina).

SINTESI DEL 2-BENZIDRILOSSIMETIL-OSSIRANO (68)<sup>114</sup>

In un pallone a due colli da 50 mL anidro, sotto flusso d'azoto, si introducono 0.052 g (1.05 mmoli) di sodio idruro in 0.75 mL di dimetilformammide. A questa sospensione viene

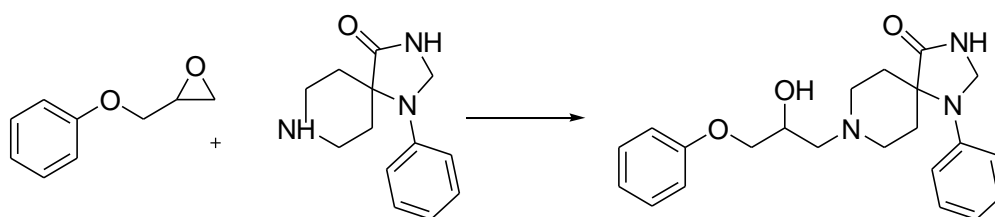
aggiunta goccia a goccia una soluzione di 0.200 g (1.303 mmoli) di difenil-metanolo in 0.25 mL di dimetilformammide. Si lascia la miscela così formata a temperatura ambiente, sotto agitazione elettromagnetica e sotto flusso d'azoto per 30 minuti. Dopo 30 minuti viene aggiunta alla miscela di reazione una soluzione di 0.28 mL (3.76 mmoli) di epicloridrina, goccia a goccia. La miscela di reazione viene scaldata a 60 °C per 23 ore, monitorandola mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 9/1 cicloesano/etile acetato). Al termine si evapora il solvente di reazione a pressione ridotta, si riprende con acqua e si effettuano 3 estrazioni con etile acetato. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco. Si ottiene un liquido incolore e oleoso di 0.27 g.

Si purifica il grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente cicloesano/etile acetato 2/8) e si ottengono 0.087 g di residuo oleoso incolore che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso 2-benzidrilossimetil-ossirano (**68**).

**RESA:** 0.087g (0.36 mmoli), 35% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 2.62 (dd, 1H, J= 2.7, 5.1; Ha-CH<sub>2</sub> ossirano), 2.80 (pseudot, 1H, J= 5.1; Hb-CH<sub>2</sub> ossirano), 3.23 (m, 1H, CH-2 ossirano), 3.49 (dd, 1H, J= 5.6, 11.4; Ha-CH<sub>2</sub> metossi), 3.75 (dd, 1H, J= 3.2, 11.4; Hb-CH<sub>2</sub> metossi), 5.48 (s, 1H, CH benzidrile), 7.24-7.40 (m, 10H, H aromatici).

### SINTESI DEL 8-(2-IDROSSI-3-FENOSSI-PROPIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (**14**)<sup>114</sup>



0.237 g (1.57 mmoli) di 2-fenossietil-ossirano (**64**) vengono solubilizzati in 3 mL di dimetilformammide. Successivamente si aggiunge 1 g (4.72 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one. La miscela di reazione è scaldata a 70 °C per 2 ore e 45 minuti monitorandola mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente 5/5/1 cicloesano/etile acetato/metanolo). Al termine si lascia raffreddare e si decompone la miscela di reazione con ghiaccio. Si effettuano 3 estrazioni con etile acetato. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco a pressione ridotta. Si ottengono 1.681 g di un solido biancastro.

Si purifica il grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente cicloesano/etile acetato 2/8) e si ottengono 0.338 g di solido biancastro che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso 8-(2-idrossi-3-fenossi-propil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**14**).

**RESA:** 0.338 g (0.88 moli), 57% d. t.

**Punto di fusione:** 178-181 °C

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, DMSO):** δ 1.47 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.34-2.51 [m, 4H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-1 propile (Ha: 2.36, dd J = 6.2, 12.6 Hz)], 2.73 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.84 (dd, 1H, J= 5.8, 9.3; CHa-3 propile), 3.89 (m, 1H, CH-2 propile), 3.97 (dd, 1H, J = 3.4, 9.3; CHb-3 propile), 4.50 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 4.78 (s allargato scambiabile con D<sub>2</sub>O, 1H, OH), 6.67 (m, 1H, CH-4 arom. tasd), 6.78 (m, 2H, CH-2, CH-6 arom. tasd), 6.85 (m, 1H, CH-4 fenossi), 6.90 (m, 2H, CH-2, CH-6 fenossi), 7.12 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.21 (m, 2H, CH-3, CH-5 fenossi), 8.53 (s, 1H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, DMSO):** δ 28.86 (C-6, C-10 tasd), 50.60 (C-7, C-9 tasd), 58.52 (C-2 tasd), 59.11 (C-5 tasd), 61.49 (C-1 propile), 67.23 (C-2 propile), 71.53 (C-3 propile), 114,67 (C-2, C-6 arom. tasd), 114,96 (C-2, C-6 fenossi), 118.01 (C-4 arom. tasd), 120.87 (C-4 fenossi), 129.43 (C-3, C-5 arom. tasd), 129.91 (C-3, C-5 fenossi), 143.81 (C-1 arom. tasd), 159.27 (C-1 fenossi), 176.72 (CO).

tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato mediante metanolo/etere.

Ottenuti 0.069 g.

**RESA:** 0.069 g (0.15 mmoli), 37% d. t.

**Punto di fusione:** 199-204 °C

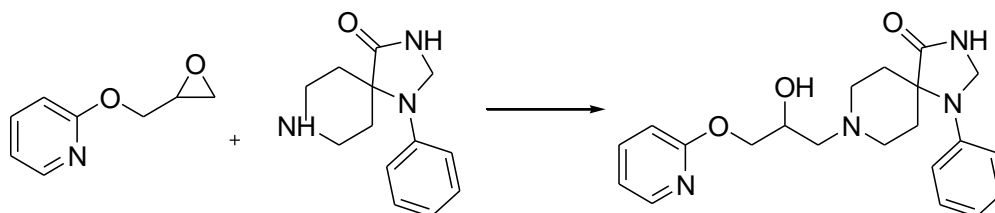
**Analisi C, H, N** per C<sub>24</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>: calcolato C, 61.14; H, 6.20; N, 8.91; trovato C, 60.71; H, 6.14; N, 8.41.

**QTOF:** massa esatta per C<sub>22</sub>H<sub>28</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> = calcolata 382.2125  
trovata 382.2131  
(Dev.= -1.58 ppm)

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO):**  $\delta$  1.82-1.88 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.86 (CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 3.23 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-1 propile), 3.55-3.62 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.97 (d, 2H, CH<sub>2</sub>-3 propile), 4.31 (m, 1H, CH-2 propile), 4.62 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.79-6.82 (m, 1H, CH-4 arom. tasd), 6.91-6.98 (m, 5H, CH-2, CH-4, CH-6 fenossi, CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.20-7.34 (m, 4H, CH-3, CH-5 fenossi, CH-3, CH-5 arom. tasd), 8.96 (s, 1H, ac. ossalico).

tasd = triazaspirodecanone

**SINTESI DEL 8-[2-IDROSSI-3-(PIRIDIN-2-ILOSSI)-PROPIL]-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (15)<sup>114</sup>**



0.143 g (0.946 mmoli) di 2-ossiranilmetil-piridina (**65**) vengono solubilizzati in 3 mL di dimetilformammide. Successivamente si aggiungono 0.656 g (2.84 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one. La miscela di reazione è scaldata a 40 °C per 10 ore mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente 5/5/2 cicloesano/etile acetato/metanolo). Al termine si lascia raffreddare e si decompone la miscela con ghiaccio. Si effettuano 3 estrazioni con etile acetato. Si anidrifca la fase organica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco a pressione ridotta, fino ad ottenere 0,710 g di un residuo solido biancastro. Si purifica il grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente etile acetato/metanolo 9/1) e si ottengono 0.108 g di un solido giallognolo che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso 8-[2-idrossi-3-(piridin-2-ilossi)-propil]-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**15**).

**RESA:** 0.108 g (0.283 mmoli), 30% d. t.

**Punto di fusione:** 183-186 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, DMSO):**  $\delta$  1.47 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.31 (d, 2H, J= 6.0, CH<sub>2</sub>-1 propile), 2.43 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.63-2.76 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.48 (dd, 1H, J= 8.4, 12.9; CHa-3 propile), 3.87 (m, 1H, CH-2 propile), 4.25 (dd, 1H, J= 3.2, 12.9; CHb- 3 propile), 4.50 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 4.85 (s allargato scambiabile con D<sub>2</sub>O, 1H, OH),

6.11 (pseudot, 1H, J= 6.5; CH-5 piridina), 6.29 (d, 1H, J= 9.1; CH-3 piridina), 6.68 (m, 1H, CH-4 arom. tasd), 6.79 (m, 2H, CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.16 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.33 (dd, 1H, J = 6.5, 9.1; CH-4 piridina), 7.53 (d, 1H, J= 6.5; CH-6 piridina), 8.54 (s, 1H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, DMSO):** δ 28.84 (C-6, C-10 tasd), 50.04 (C-7/ C-9 tasd), 50.66 (C-7/ C-9 tasd), 54.27 (C-3 propile), 58.60 (C-2 tasd), 59.12 (C-5 tasd), 62.74 (C-1 propile), 66.30 (C-2 propile), 104.84 (C-5 piridina), 114.89 (C-2, C-6 arom. tasd), 118.12 (C-4 arom. tasd), 119.64 (C-3 piridina), 129.47 (C-3, C-5 arom. tasd), 140.31 (C-4 piridina), 141.08 (C-6 piridina), 143.84 (C-1 arom. tasd), 162.23 (C-2 piridina), 176.68 (CO).

tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato mediante metanolo/etere.

Ottenuti 0.055 g.

**RESA:** 0.055 g (0.116 mmoli), 74% d. t.

**Punto di fusione:** 233-236 °C

**Analisi C, H, N** per C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub>: calcolato C, 58.47; H, 5.97; N, 11.86; trovato C, 58.21; H, 6.32; N, 11.36.

**QTOF:** massa esatta per C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup>= calcolata 383.2078  
trovata 383.2072  
(Dev.= +1.55 ppm)

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, DMSO):** δ 1.75 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.77 (CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.94 (m, 1H, CH<sub>a</sub>-1 propile), 3.09 (m, 1H, CH<sub>b</sub>-1 propile), 3.37-3.53 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.72 (m, 1H, CH<sub>a</sub>-3 propile), 4.05 (m, 1H, CH<sub>b</sub>-3 propile), 4.22 (m, 1H, CH-2 propile), 4.55 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.16 (pseudot, 1H, J= 6.2; CH-5 piridina), 6.34 (pseudod, 1H, J= 9.0; CH-3 piridina), 6.71 (m, 1H, CH-4 arom. tasd), 6.89 (m, 2H, CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.17 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.37 (pseudot, 1H, J= 7.5; CH-4 piridina), 7.54 (pseudod, 1H, J= 5.5; CH-6 piridina), 8.91 (s, 1H, ac. ossalico).

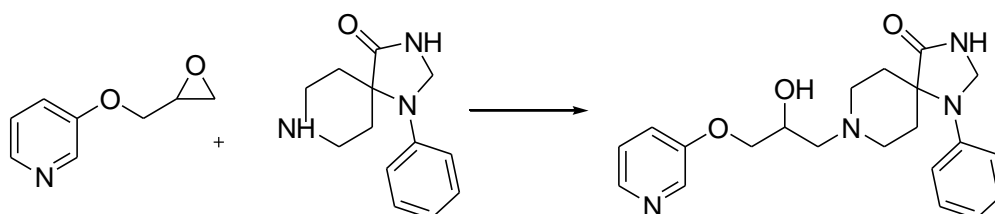
tasd = triazaspirodecanone

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, DMSO):** δ 26.64 (C-6, C-10 tasd), 49.07 (C-7/C-9 tasd), 50.47 (C-7/C-9 tasd), 53.05 (C-3 propile), 57.23 (C-2 tasd), 59.03 (C-1 propile), 60.22 (C-5 tasd), 64.28 (C-

2 propile), 104.42 (C-5 piridina), 114.73 (C-2, C-6 arom. tasd), 118.49 (C-4 arom. tasd), 119.84 (C-3 piridina), 129.60 (C-3, C-5 arom. tasd), 140.66 (C-4 piridina), 140.83 (C-6 piridina), 143.42 (C-1 arom. tasd), 162.30 (C-2 piridina), 164.93 (CO ac. ossalico) 175.46 (CO tasd).

tasd = triazaspirodecanone

**SINTESI DEL 8-[2-IDROSSI-3-(PIRIDIN-3-ILOSSI)-PROPIL]-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (16)<sup>114</sup>**



0.050 g (0.33 mmoli) di 3-ossiranilmetil-piridina (**66**) vengono solubilizzati in 3 mL di dimetilformammide. Successivamente si aggiungono 0.229 g (0.99 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one. La miscela di reazione è scaldata a 40 °C per 3 ore e mezza monitorandola mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente 9/1 etile acetato/metanolo). Al termine si lascia raffreddare e si decompone la miscela con ghiaccio. Si effettuano 3 estrazioni con etile acetato. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco a pressione ridotta fino ad ottenere un residuo solido biancastro di 0.25 g. Si purifica il grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente etile acetato/metanolo 8,5/1,5) e si ottengono 0.083 g di un solido biancastro che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso 8-[2-idrossi-3-(piridin-3-ilossi)-propil]-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**16**).

**RESA:** 0.084 g (0.22 mmoli), 66% d. t.

**Punto di fusione:** 131-136 °C

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, DMSO):**  $\delta$  1.47 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.35-2.51 [m, 4H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-1 propile (Ha: 2.37, dd, J = 6.0, 12.6)], 2.72-2.75 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.92-3.96 (m, 2H, CHa-3 propile, CH-2 propile), 4.05-4.11 (m, 1H, CHb-3 propile), 4.50 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 4.87 (s allargato scambiabile con D<sub>2</sub>O, 1H, OH), 6.67 (m, 1H, CH-4 arom. tasd), 6.77 (m, 2H, CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.13 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd),

7.25 (dd, 1H, J= 4.6, 8.4; CH-5 piridina), 7.37 (m, 1H, CH-4 piridina), 8.09 (pseudod, 1H, J= 4.5, CH-6 piridina), 8.26 (pseudod, 1H, J= 2.8; CH-2 piridina), 8.55 (s, 1H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, DMSO):** δ 28.87 (C-6, C-10 tasd), 50.62 (C-7/C-9 tasd), 50.57 (C-7/C-9 tasd), 58.52 (C-2 tasd), 59.11 (C-5 tasd), 61.28 (C-1 propile), 67.20 (C-2 propile), 71.96 (C-3 propile), 114.68 (C-2, C-6 arom. tasd), 118.01 (C-4 arom. tasd), 121.50 (C-4 piridina), 124.54 (C-5 piridina), 129.44 (C-3, C-5 arom. tasd), 138.46 (C-2 piridina), 142.01 (C-6 piridina), 143.82 (C-1 arom. tasd), 155.59 (C-3 piridina), 176.71 (CO).

tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato mediante metanolo/etere.

Ottenuti 0.026 g.

**RESA:** 0.026 g (0.054 moli), 41% d. t.

**Punto di fusione:** 118-123 °C

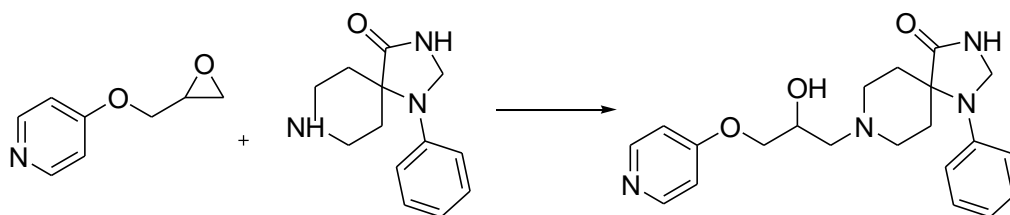
**Analisi C, H, N** per C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>N<sub>4</sub>O<sub>7</sub> · 2 H<sub>2</sub>O: calcolato C, 54.32; H, 6.34; N, 11.02; trovato C, 54.81; H, 5.85; N, 10.56.

**QTOF:** massa esatta per C<sub>21</sub>H<sub>27</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup>= calcolata 383.2078  
trovata 383.2083  
(Dev.= -1.42 ppm)

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO):** δ 1.83-1.90 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.89 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 3.16-3.22 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-1 propile), 3.58-3.66 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 4.07 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-3 propile), 4.36 (m, 1H, CH-2 propile), 4.62 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.80 (m, 1H, CH-4 arom. tasd), 6.98 (m, 2H, CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.24-7.41 (m, 4H, CH-3, CH-5 arom. tasd, CH-4, CH-5 piridina), 8.18-8.33 (m, 2H, CH-2, CH-6 piridina), 8.88 (s, 1H, ac. ossalico).

tasd = triazaspirodecanone

**SINTESI DEL 8-[2-IDROSSI-3-(PIRIDIN-4-ILOSSI-PROPIL]-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (17)<sup>114</sup>**



0.100 g (0.66 mmoli) di 4-ossiranilmetil-piridina (**67**) vengono solubilizzati in 3 mL di dimetilformammide. Successivamente si aggiungono 0.459 g (0.198 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one. La miscela di reazione è scaldata a 60 °C per 1 ora monitorandola mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente 8.5/1.5/0.5 etile acetato/metanolo/ammoniaca). Al termine si lascia raffreddare e si decompone la miscela con ghiaccio. Si effettuano 3 estrazioni con etile acetato. Si anidrifca la fase organica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco a pressione ridotta fino ad ottenere un liquido marroncino 1.217 g. Si purifica il grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente etile acetato/metanolo/ammoniaca 8.5/1.5/0.5) e si ottengono 0.096 g di solido biancastro che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso 8-[2-idrossi-3-(piridin-4-ilossi)-propil]-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**17**).

**RESA:** 0.096 g (0.25 mmoli), 38% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, DMSO):** δ 1.63 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.55 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-1 propile), 2.68 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.98 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.77-3.83 (dd, 1H, J= 7.5, 13.8; CHa -3 propile), 4.03 (m, 2H, CHb- 3 propile, CH-2 propile), 4.59 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.08 (pseudod, 2H, J= 7.1; CH-3, CH-5 piridina), 6.76 (m, 1H, CH-4 arom. tasd), 6.91 (m, 2H, CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.24 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.64 (pseudod, 2H, J= 7.1; CH-2, CH-6 piridina), 8.76 (s, 1H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, DMSO):** δ 28.17 (C-6, C-10 tasd), 50.29 (C-7, C-9 tasd), 58.22 (C-5 tasd), 59.22 (C-2 tasd), 59.82 (C-3 propile), 61.15 (C-1 propile), 67.20 (C-2 propile), 114.82 (C-2, C-6 arom. tasd), 117.30 (C-3, C-5 piridina), 118.20 (C-4 arom. tasd), 129.51 (C-3, C-5 arom. tasd), 142.21 (C-2, C-6 piridina), 143.72 (C-1 arom. tasd), 176.26 (CO), 177.74 (C-4 piridina).

tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato mediante metanolo/etere.

Ottenuti 0.053 g.

**RESA:** 0.053 g (0.11 mmoli), 69% d. t.

**Punto di fusione:** 217-222 °C

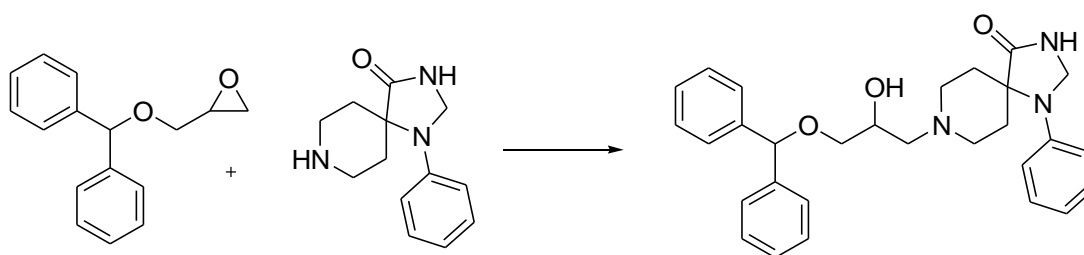
**Analisi C, H, N** per  $C_{23}H_{28}N_4O_7 \cdot 2(COOH)_2 \cdot H_2O$ : calcolato C, 51.81; H, 5.39; N, 9.67  
trovato C, 51.32; H, 5.23; N, 9.32.

**QTOF:** massa esatta per  $C_{21}H_{27}N_4O_3^+ [M+H]^+$  = calcolata 383.2078  
trovata 383.2081  
(Dev.= -0.78 ppm)

**$^1H$ -NMR (200MHz, DMSO):**  $\delta$  1.88 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.95-3.17 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-1 propile), 3.33-3.86 (m, 5H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd, CHa-3 propile), 4.03-4.10 (m, 1H, CHb-3 propile), 4.28 (m, 1H, CH-2 propile), 4.62 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.22 (m, 2H, CH-3, CH-5 piridina), 6.79 (m, 1H, CH-4 arom. tasd), 6.99 (m, 2H, CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.22 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.70 (m, 2H, CH-3, CH-5 piridina), 8.98 (s, 1H, ac. ossalico).

tasd = triazaspirodecanone

### SINTESI DEL 8-(3-BENZIDRILOSSI-2-IDROSSI-PROPIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (18)<sup>114</sup>



0.087 g (0.36 mmoli) di 2-benzidrilossimetil-ossirano (**68**) vengono solubilizzati in 3 mL di tetraidrofurano anidro. Successivamente si aggiungono 0.25 g (1.08 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one. La miscela di reazione è scaldata a 70 °C per 11 ore, monitorandola mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente 100% etile acetato). Al termine si lascia raffreddare la miscela e si riprende con acqua ed etile acetato. Si effettuano 3

estrazioni della fase acquosa con etile acetato. Si anidrifica la fase organica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco a pressione ridotta, fino ad ottenere un residuo solido biancastro di 0.450 g.

Si purifica il grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente etile acetato/metanolo 8,5/1,5) e si ottengono 0.134 g di un solido bianco che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso 8-(3-benzidrilossi-2-idrossi-propil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**18**).

**RESA:** 0.134 g (0.28 moli), 78% d. t.

**Punto di fusione:** 170-174 °C

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.77 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.58 (pseudot, 1H, J = 12.8; CHa-1 propile), 2.63 (dd, 1H, J= 4.9, 12.8; CHb-1 propile), 2.67-2.74 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.78-2.81 (m, 1H, CHa-7/CHa-9 tasd), 2.88-3.0 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.17 (m, 1H, CHb-7/CHb-9 tasd), 3.57 (d, 2H, J= 4.9; CH<sub>2</sub>-3 propile), 3.68 (s allargato scambiabile con D<sub>2</sub>O, 1H, OH), 4.03 (m, 1H, CH-2 propile), 4.76 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 5.48 (s, 1H, CH benzidril), 6.90-6.94 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 arom. tasd), 7.28-7.42 (m, 12H, H aromatici).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 29.22 (C-6/C-10 tasd), 29.33 (C-6/C-10 tasd), 48.55 (C-7/C-9 tasd), 51.42 (C-7/C-9 tasd), 59.15 (C-5 tasd), 59.25 (C-2 tasd), 60.71 (C-1 propile), 66.55 (C-2 propile), 71.62 (C-3 propile), 84.16 (CH benzidril), 115.40 (C-2, C-6 fenile tasd), 119.13 (C-4 fenile tasd), 127.03 (C-2, C-6 fenile benzidril), 127.51 (C-4 fenile benzidril), 127.54 (C-4' fenile benzidril), 128.44 (C-3, C-5 fenile benzidril), 128.42 (C-3', C-5' fenile benzidril), 129.36 (C-3, C-5 fenile tasd), 142.11 (C-1 fenile benzidril), 142.16 (C-1' fenile benzidril), 143.81 (C-1 fenile tasd), 178.13 (CO).

tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato mediante metanolo/etere.

Ottenuti 0.116 g.

**RESA:** 0.116 g (0.21 mmoli), 86% d. t.

**Punto di fusione:** 143-149 °C

**Analisi C, H, N** per  $C_{31}H_{35}N_3O_7 \cdot H_2O$ : calcolato C, 64.23; H, 6.43; N, 7.25; trovato C, 64.73; H, 6.56; N, 6.76.

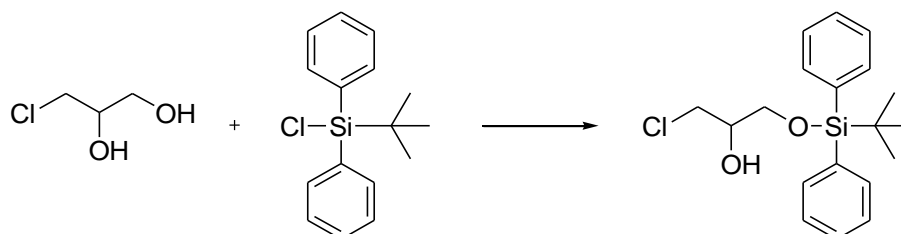
**QTOF**: massa esatta per  $C_{29}H_{34}N_3O_3^+ [M+H]^+$  = calcolata 472.2595  
trovata= 472.2601  
(Dev.= -1.24 ppm)

**$^1H$ -NMR (400MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  1.73 (m, 2H,  $CH_2$ -6/ $CH_2$ -10 tasd), 2.74-2.84 (m, 2H,  $CH_2$ -7/ $CH_2$ -9 tasd), 2.93-3.02 (m, 1H, CHa-1 propile), 3.11 (m, 1H, CHb-1 propile), 3.28-3.55 (m, 6H,  $CH_2$ -7,  $CH_2$ -9tas,  $CH_2$ -3 propile), 4.11 (m, 1H, CH-2 propile), 4.55 (s, 2H,  $CH_2$ -2 tasd), 5.43 (s, 1H, CH benzidriale), 6.71 (m, 1H, CH-4 fenile tasd), 6.90 (m, 2H, CH-2, CH-6 fenile tasd), 7.18 (m, 4H, CH-5, CH-3 fenile tasd, CH-4 benzidriale), 7.27 (m, 4H, CH-3, CH-5 benzidriale), 7.34 (m, 4H, CH-2, CH-6 benzidriale), 8.91 (s, 1H, ac. ossalico).

**$^{13}C$ -NMR (400MHz,  $CDCl_3$ ):**  $\delta$  29.70 (C-6/C-10 tasd), 49.06 (C-7/C-9 tasd), 50.49 (C-7/C-9 tasd), 57.25 (C-2 tasd), 59.30 (C-1 propile), 65.13 (C-2 propile), 71.42 (C-3 propile), 83.26 (CH benzidriale), 114.68 (C-2, C-6 fenile tasd), 118.45 (C-4 fenile tasd), 127.05 (C-2, C-6 fenile benzidriale), 127.09 (C-2', C-6' fenile benzidriale), 127.76 (C-4 fenile benzidriale), 127.79 (C-4' fenile benzidriale), 128.79 (C-3, C-5 fenile benzidriale), 128.82 (C-3', C-5' fenile benzidriale), 129.59 (C-3, C-5 fenile tasd), 142.81 (C-1, C-1' fenile benzidriale), 143.43 (C-1 fenile tasd), 165.07 (CO ac. ossalico), 175.50 (CO tasd).

tasd = triazaspirodecanone

### SINTESI DEL 1-(*tert*-BUTIL-DIFENIL-SILANILOSSI)-3-CLORO-PROPAN-2-OLO (69)



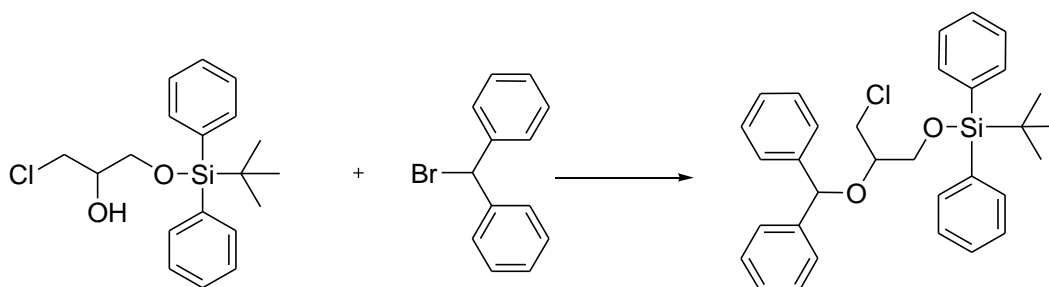
0.500 g (4.52 mmoli) di 3-cloro-1,2-propan-diolo e 0.585 g (8.59 mmoli) di imidazolo vengono dissolti in 3 mL di dimetilformammide. Successivamente vengono aggiunti 1.76 mL (6.78 mmoli) di *t*-butil-difenil-silil-cloruro. Si lascia proseguire la reazione a temperatura

ambiente per 2 ore, controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente 9.9/0.1 cicloesano/etile acetato). Al termine si lascia raffreddare e si decompone la miscela con ghiaccio. Si effettuano 3 estrazioni della fase acquosa con diclorometano. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco a pressione ridotta, fino ad ottenere 1.88 g di un liquido incolore che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso 1-(*t*-butil-difenil-silanilossi)-3-cloro-propan-2-olo (**69**).

**RESA:** 1.88 g (5.39 mmoli), quantitativa.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.09 (s, 9H, *t*-Bu), 2.54 (d, 1H, J= 6.2; OH), 3.64 (dd, 1H, J= 5.7, 11.0; CH<sub>a</sub>-Cl), 3.71 (dd, 1H, J= 5.3, 11.0; CH<sub>b</sub>-Cl), 3.74 (dd, 1H, J= 5.4, 10.2; CH<sub>a</sub>-O), 3.81 (dd, 1H, J= 4.6, 10.2; CH<sub>b</sub>-O), 3.92 (m, 1H, CHOH), 7.32-7.51 (m, 6H, 2×(CH-3, CH-4, CH-5 fenile)), 7.56-7.76 (m, 4H, 2×(CH-2, CH-6 fenile)).

#### SINTESI DEL (2-BENZIDRILOSSI-3-CLORO-PROPOSSI)-TER-BUTIL-DIFENIL-SILANO (**70**)



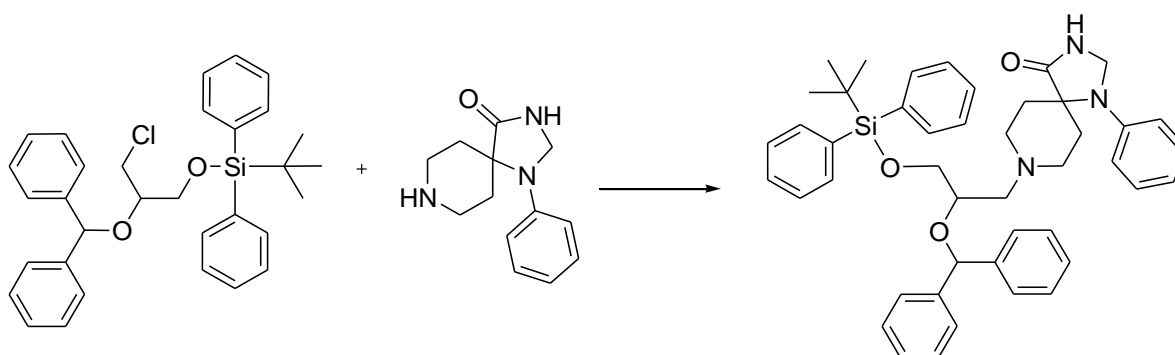
0.940 g (2.69 mmoli) di 1-(*t*-butil-difenil-silanilossi)-3-cloro-propan-2-olo (**69**) e 0.222 g (0.897 mmoli) di bromo-difenil-metano vengono dissolti in 2 mL di toluene. La miscela di reazione è scaldata a refluxo per 30 ore monitorandola mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente 9.9/0.1 cicloesano/etile acetato). Al termine si evapora il solvente a pressione ridotta, si riprende il residuo con etile acetato e si eseguono due lavaggi della fase acquosa con soluzione satura di sodio cloruro e un'estrazione delle acque con etile acetato. Si anidrifica la fase organica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 1.19 g di un liquido viscoso marroncino.

Si purifica il grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente cicloesano/etile acetato 9.9/0.1) e si ottengono 0.160 g di liquido viscoso marroncino che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso (2-benzidrilossi-3-cloro-propossi)-ter-butyl-diphenyl-silano (**70**).

**RESA:** 0.160 g (0.31 mmoli), 35% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.05 (s, 9H, *t*-Bu), 3.69-3.85 (m, 5H, Cl-CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>-O, CHOH), 5.58 (s, 1H, CH(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>), 7.25-7.48 (m, 16H, CH(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>, CH-3, CH-4, CH-5 Si-(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>), 7.61-7.69 (m, 4H, CH-2, CH-6 Si-(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>).

**SINTESI DEL 8-[2-BENZIDRILOSSI-3-(TER-BUTIL-DIFENIL-SILANOLOSSI)-PROPIL]-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (71)**



In un vial da 10 mL per microonde, vengono posti 0.160 g (0.31 mmoli) di (2-benzidrilossi-3-cloro-propossi)-ter-butyl-difenil-silano (**70**) solubilizzato in 2 ml di 2-metossi-etanolo, una punta di spatola di potassio ioduro e 0.360 g (1.55 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one. La reazione viene condotta al microonde, impostando i seguenti parametri:

TEMPERATURA=150 °C

DURATA= 30 minuti

RAMPING=10 minuti

POTENZA=180 Watt

PRESSIONE=150 PSI

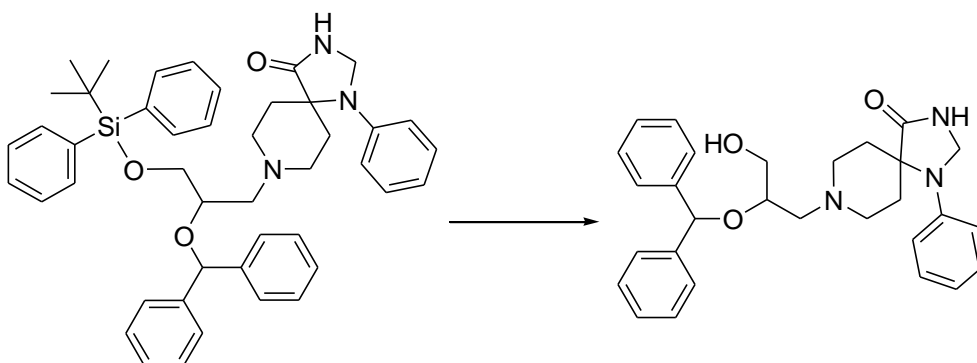
Il termine della reazione viene accertato mediante TLC con miscela eluente cicloesano/ etile acetato/metanolo 5/5/1. La miscela di reazione viene portata a secco, il residuo semi-solido viene ripreso con diclorometano e si effettuano tre lavaggi con acqua. Le acque vengono poi estratte con diclorometano. La fase organica viene anidrificata con sodio solfato, filtrata e portata a secco. Si ottengono 0.430 g di un residuo viscoso bruno. Si purifica il grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente cicloesano/etile acetato 6.5/3.5) e si

ottengono 0.048 g di residuo marroncino che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso 8-[2-benzidrilossi-3-(ter-butil-difenil-silanolossi)-propil]-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**71**).

**RESA:** 0.048 g (0.000068 moli), 22% d.t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  1.10 (s, 9H, *t*-Bu), 1.67 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 *tasd*), 2.55-2.9 (m, 8H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 *tasd*, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 *tasd*, CH<sub>2</sub>-1 propile), 3.78 (m, 1H, CH-2 propile), 3.88 (d, 2H, J= 4.9; CH<sub>2</sub>-3 propile), 4.74 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 *tasd*), 5.94 (s, 1H, CH benzidrile), 6.69-6.92 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 fenile *tasd*), 7.15-7.44 (m, 16H, H aromatici), 7.68-7.74 (m, 4H, CH-2, CH-6 Si-(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>).

#### SINTESI DEL 8-(2-BENZIDRILOSSI-3-IDROSSI-PROPIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (**19**)



0.048 g (0.068 mmoli) di 8-[2-benzidrilossi-3-(*t*-butil-difenil-silanolossi)-propil]-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**71**) e 0.082 mL (0.0816 mmoli) di tetrabutyl-ammonio-floruro vengono dissolti in 0.5 mL di tetraidrofurano anidro. La miscela di reazione è scaldata a refluxo per 30 ore, monitorandola mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente 100% etile acetato). Al termine si evapora il solvente a pressione ridotta, si riprende con diclorometano e si eseguono tre lavaggi con acqua e un'estrazione delle acque con diclorometano. Si anidrifca la fase organica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco fino ad ottenere 0.062 g di un solido viscoso marroncino.

Si purifica il grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente 100% etile acetato) e si ottengono 0.015 g di residuo biancastro che dall'analisi NMR risulta

corrispondere all'atteso 8-(2-benzidrilossi-3-idrossi-propil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**19**).

**RESA:** 0.015 g (0.0318 mmoli), 47% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.66 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.51-2.66 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.72 (dd, 1H, J = 8.0, 12.7; CHa-1 propile), 2.78-2.84 (m, 3H, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 tasd, CHb-1 propile), 2.92-2.98 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.66 (m, 1H, CH-2 propile), 3.78 (dd, 1H, J= 6.6, 10.8; CHa-3 propile), 3.84 (dd, 1H, J = 4.0, 10.8; CHb-3 propile), 4.68 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 5.59 (s, 1H, CH benzidrile), 6.77-6.84 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 fenile tasd), 7.21-7.33 (m, 12H, H aromatici).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 29.15 (C-6/C-10 tasd), 29.23 (C-6/C-10 tasd), 50.25 (C-7/C-9 tasd), 51.41 (C-7/C-9 tasd), 58.86 (C-5 tasd), 59.22 (C-2 tasd), 62.03 (C-1 propile), 66.04 (C-3 propile), 72.20 (C-2 propile), 82.02 (CH benzidrile), 115.37 (C-2, C-6 fenile tasd), 119.29 (C-4 fenile tasd), 127.09 (C-2, C-6 fenile benzidrile), 127.63 (C-4 fenile benzidrile), 127.68 (C-4' fenile benzidrile), 128.43 (C-3, C-5 fenile benzidrile), 128.52 (C-3', C-5' fenile benzidrile), 129.40 (C-3, C-5 fenile tasd), 142.09 (C-1 fenile benzidrile), 142.22 (C-1' fenile benzidrile), 142.98 (C-1 fenile tasd), 177.68 (CO).

tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato mediante acetone/benzina.

Ottenuti 0.011 g.

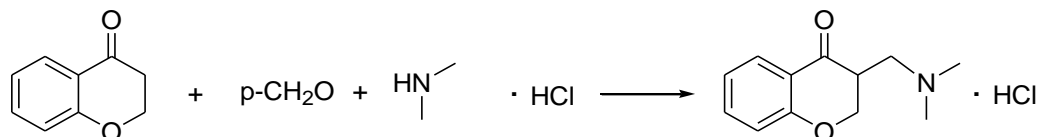
**RESA:** 0.011 g (0.020 moli), 70% d. t.

**QTOF:** massa esatta per C<sub>29</sub>H<sub>34</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup>= calcolata 472.2595  
trovata 472.2601  
(Dev. = -1.24 ppm)

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.74 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.60-2.92 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 3.18-3.58 (m, 6H, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 tasd, CH<sub>2</sub>-1 propile), 3.77 (m, 1H, CH-2 propile), 3.84 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-3 propile), 4.59 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 5.84 (s, 1H, CH benzidrile), 6.77-6.95 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 fenile tasd), 7.27-7.51 (m, 12H, H aromatici) 8.89 (s, 1H, ac. ossalico).

tasd = triazaspirodecanone

## SINTESI DEL (CROMAN-4-ONE-3-ILMETIL)-DIMETILAMMONIO CLORURO (72)<sup>116</sup>



In un pallone a due colli da 50 mL anidro, sotto flusso d'azoto, si introducono 0.500 g (3.37 mmoli) di 4-cromanone, 0.284 g (9.44 mmoli) di p-formaldeide e 0.496 g (6.07 mmoli) di dimetilamina cloridrato, in 5 mL di etanolo anidro. A questa miscela si aggiungono goccia a goccia 0.086 mL di acido cloridrico concentrato. Si scalda a refluxo per 22 ore controllando l'andamento della reazione mediante analisi cromatografica (TLC miscela eluente: 8/2 cicloesano/etile acetato).

Al termine si lascia raffreddare la miscela di reazione e si porta a 0 °C mediante bagno di ghiaccio. Si fa scendere a filo lungo le pareti del pallone dell'acetone e si filtra il precipitato formatosi, corrispondente al (croman-4-one-3-ilmetil)-dimetilammonio cloruro (72).

**RESA:** 0.692 g (2.86 mmoli), 85% d.t.

**Punto di fusione:** 161-162 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO):**  $\delta$  2.80 (s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.07-3.12 (m, 1H, CH-cromanone), 3.49-3.95 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-N), 4.38 (t, 1H, J= 11.5; CHa-2 cromanone), 4.98 (dd, 1H, J= 5.2, 11.5; CHb-2 cromanone), 7.05-7.14 (m, 2H, CH-6, CH-8 cromanone), 7.62 (ddd, 1H, J= 1.7, 7.4, 9.9; CH-7 cromanone), 7.79 (m, 1H, CH-5 cromanone), 9.03 (s allargato scambiabile con D<sub>2</sub>O, 1H, NH<sup>+</sup>).

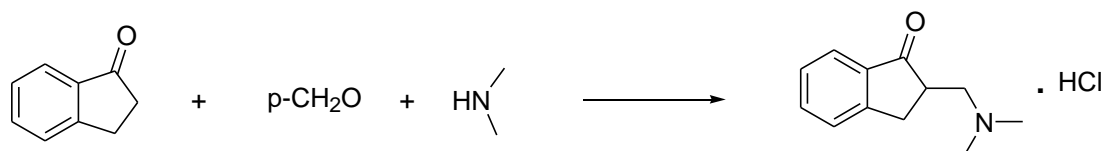
Il cloridrato così ottenuto viene convertito nella corrispondente ammina libera solubilizzandolo in acqua e aggiungendo goccia a goccia a 0 °C una soluzione al 32% di NaOH, fino a pH 12<sup>122</sup>. Si estrae 3 volte con diclorometano, si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.433 g di un residuo oleoso giallino, corrispondente all'atteso 3-dimetilaminometil-croman-4-one (72a).

**RESA:** 0.433 g (2.1 mmoli), quantitativa.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  2.27 (s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2.46-2.77 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-N), 2.77-2.99 (m, 1H, CH-cromanone), 4.37 (dd, 1H, J= 8.3, 11.4; CHa-2 cromanone), 4.59 (dd, 1H, J= 4.5,

11.4; CHb-2 cromanone), 6.85-7.11 (m, 2H, CH-6, CH-8 cromanone), 7.47 (ddd, 1H, J= 1.7, 7.2, 8.3; CH-7 cromanone), 7.88 (dd, 1H, J= 1.7, 7.8; CH-5 cromanone).

### SINTESI DEL (INDAN-1-ONE-2-ILMETIL)-DIMETILAMMONIO CLORURO (73)<sup>116</sup>



In un pallone a due colli da 50 mL anidro, sotto flusso d'azoto, si introducono 0.500 g (3.78 mmoli) di 1-indanone, 0.318 g (10.6 mmoli) di p-formaldeide e 0.55 g (6.8 mmoli) di dimetilamina cloridrato, in 5 mL di etanolo anidro. A questa miscela vengono aggiunti goccia a goccia 0.026 mL di acido cloridrico concentrato. Si scalda a refluxo per 3 ore, controllando l'andamento della reazione mediante analisi cromatografica (TLC miscela eluente: 8/2 cicloesano/etile acetato).

Al termine si lascia raffreddare la miscela di reazione e si porta a 0 °C mediante bagno di ghiaccio. Si fa scendere a filo lungo le pareti del pallone dell'acetone e si filtra il precipitato formatosi, corrispondente al (indan-1-one-2-ilmetil)-dimetilammonio cloruro (73).

**RESA:** 0.76 g (3.37 mmoli), 89% d. t.

**Punto di fusione:** 148-150 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO):** δ 2.82 (s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 3.13-3.32 (m, 3H, CH-2, CH<sub>2</sub>-3 indanone), 3.47-3.55 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-N), 7.46 (m, 1H, CH-4 indanone), 7.60-7.76 (m, 3H, CH-5, CH-6, CH-7 indanone), 8.84 (s allargato scambiabile con D<sub>2</sub>O, 1H, NH<sup>+</sup>).

Il cloridrato così ottenuto viene convertito nella corrispondente ammina libera solubilizzandolo in acqua e aggiungendo goccia a goccia a 0 °C una soluzione al 32% di NaOH, fino a pH 12<sup>122</sup>. Si estrae 3 volte con diclorometano, si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.123 g di un residuo viscoso incolore, corrispondente all'atteso 2-dimetilaminometil-indan-1-one (73a).

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 2.30 (s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2.47 (m, 1H, CH-2 indanone), 2.74-2.96 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-3 indanone), 3.08 (m, 1H, CHa-N), 3.34 (m, 1H, CHb-N), 7.36 (m, 1H, CH-4), 7.49 (m, 1H, CH-6 indanone), 7.59 (m, 1H, CH-5 indanone), 7.75 (m, 1H, H-7 indanone).

**SINTESI DEL (CROMAN-4-ONE-3-ILMETIL)-TRIMETILAMMONIO IODURO (74)**

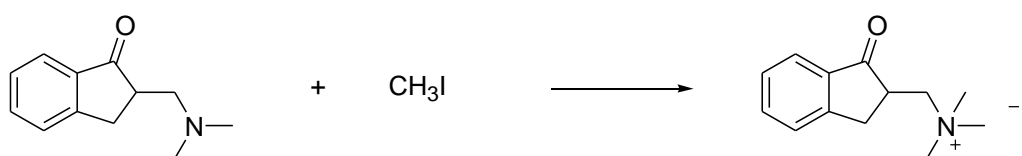
Si solubilizzano 0.448 g (2.18 mmoli) 3-dimetilaminometil-croman-4-one (**72a**) in 5 mL di etere etilico. Si porta la soluzione a 0 °C e si aggiungono goccia a goccia 0.68 mL (1.09 mmoli) di iodometano. Si lascia proseguire a temperatura ambiente per 19 ore. Si filtra l'abbondante precipitato bianco mediante imbuto Buckner e si lava con etere etilico.

Si ottengono 0.622 g di (croman-4-one-3-ilmetil)-trimetilammonio ioduro (**74**).

**RESA:** 0.622 g (1.79 mmoli), 82% d. t.

**Punto di fusione:** 127-129 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO):** δ 3.13 (s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 2.98-3.23 (m, 1H, CH-3 cromanone), 3.87-3.93 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-N), 4.45 (dd, 1H, J= 12.3, 11.5; CHa-2 cromanone), 4.69 (dd, 1H, J= 5.7, 11.1; CHb-2 cromanone), 7.02-7.20 (m, 2H, CH-6, CH-8 cromanone), 7.47 (ddd, 1H, J= 1.7, 8.2, 9.1; CH-7 cromanone), 7.83 (dd, 1H, J= 1.7, 7.9; CH-5 cromanone).

**SINTESI DEL (INDAN-1-ONE-2-ILMETIL)-TRIMETILAMMONIO IODURO (75)**

Si solubilizzano 0.123 g (0.65 mmoli) 2-dimetilaminometil-indan-1-one (**73a**) in 4 mL di etere etilico. Si porta la soluzione a 0° C e si aggiungono goccia a goccia 0.2 mL (3.25 mmoli) di iodometano. Si lascia proseguire a temperatura ambiente per 19 ore. Si filtra l'abbondante precipitato bianco mediante imbuto Buckner e si lava con etere etilico.

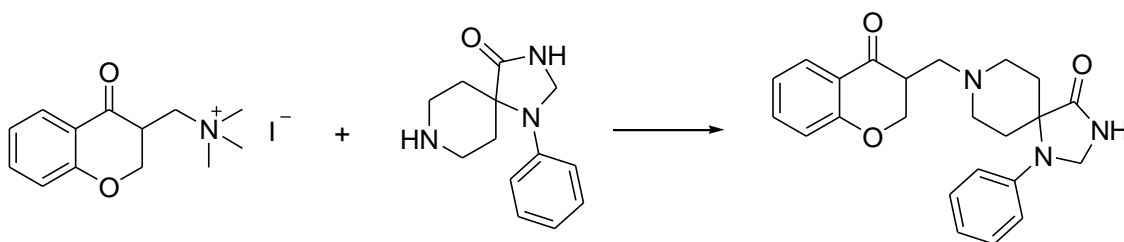
Si ottengono 0.114 g di (indan-1-one-2-ilmetil)-trimetilammonio ioduro (**75**).

**RESA:** 0.114 g (0.34 mmoli), 52% d. t.

**Punto di fusione:** 159-160 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO):**  $\delta$  3.09 (m, 1H, CH-2 indanone), 3.18 (s, 9H, (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 3.41-3.69 (m, 3H, CH<sub>2</sub>-3, CH<sub>a</sub>-N indanone), 3.84 (1H, CH<sub>b</sub>-N indanone), 7.48 (m, 1H, CH-4 indanone), 7.63-7.78 (m, 3H, CH-5, CH-6, CH-7 indanone).

**SINTESI DEL 8-(CROMAN-4-ONE-3-ILMETIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (20)**<sup>123</sup>



0.349 g (1.08 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one e 0.062 g (0.49 mmoli) di Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> vengono sospesi in 7 mL di acetonitrile anidro. A questa sospensione si aggiungono un po' per volta 0.339 g (0.98 mmoli) di (croman-4-one-3-ilmetil)-trimetilammonio ioduro (**74**). Si lascia proseguire la reazione sotto agitazione elettromagnetica e a temperatura ambiente per circa 4 ore, controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica (TLC miscela eluente: 3/7 cicloesano/etile acetato). Al termine si evapora l'acetonitrile, si riprende con etile acetato e si effettuano 3 lavaggi con acqua. Si anidifica la fase organica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco. Si ottengono 0.51 g di un residuo solido beige, che viene purificato tramite triturazione con etere etilico. L'insolubile viene separato mediante filtrazione con imbuto Buckner. Si recuperano 0.365 g di un solido cristallino beige, che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso 8-(croman-4-one-3-ilmetil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**20**).

**RESA:** 0.365 g (0.93 mmoli), 95% d. t.

**Punto di fusione:** 171-172 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  1.77 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.85 (m, 9H, CH<sub>2</sub>N, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd, CH-3 crom), 4.53 (dd, 1H, J=8.3, 11.4, CH<sub>a</sub>-2 crom), 4.71 (dd, 1H, J=4.2, 11.3, CH<sub>b</sub>-2 crom), 4.79 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.91 (t, 1H, J= 7.5, CH-4 arom. tasd), 6.94 (d, 2H, J= 8.0; CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.03 (d, 1H, J= 8.3, CH-8 crom), 7.07 (dd,

$^1\text{H}$ ,  $J= 7.1, 7.9$ ; CH-6 crom), 7.34 (dd, 2H,  $J= 7.5, 8.3$ ; CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.52 (ddd, 1H,  $J= 1.7, 7.1, 8.3$ ; CH-7 crom), 7.73 (s, 1H, NH), 7.94 (dd, 1H,  $J= 1.7, 7.9$ ; CH-5 crom).

$^{13}\text{C}$ -NMR (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  29.12 (C-6/C-10 tasd), 29.24 (C-6/C-10 tasd), 44.37 (C-3 crom), 48.90 (C3- $\text{CH}_2$ -N), 51.30 (C-7/C-9 tasd), 54.42 (C-7/C-9 tasd), 59.26 (C-2 tasd), 59.50 (C-5 tasd), 69.73 (C-2 crom), 115.24 (C-2, C-6 arom. tasd), 117.83 (C-8 crom), 118.91 (C-4 arom. tasd), 120.88 (C-8a crom) 121.40 (C-6 crom), 127.34 (C-5 crom), 129.32 (C-3, C-5 arom. tasd), 135.89 (C-7 crom), 143.24 (C-1 arom. tasd), 161.66 (C-4a crom), 178.38 (CO tasd), 193.82 (CO crom).

crom = cromanone; tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.041 g.

**RESA:** 0.041 g (0.085 mmoli), 61% d. t.

**Punto di fusione:** 213-215 °C.

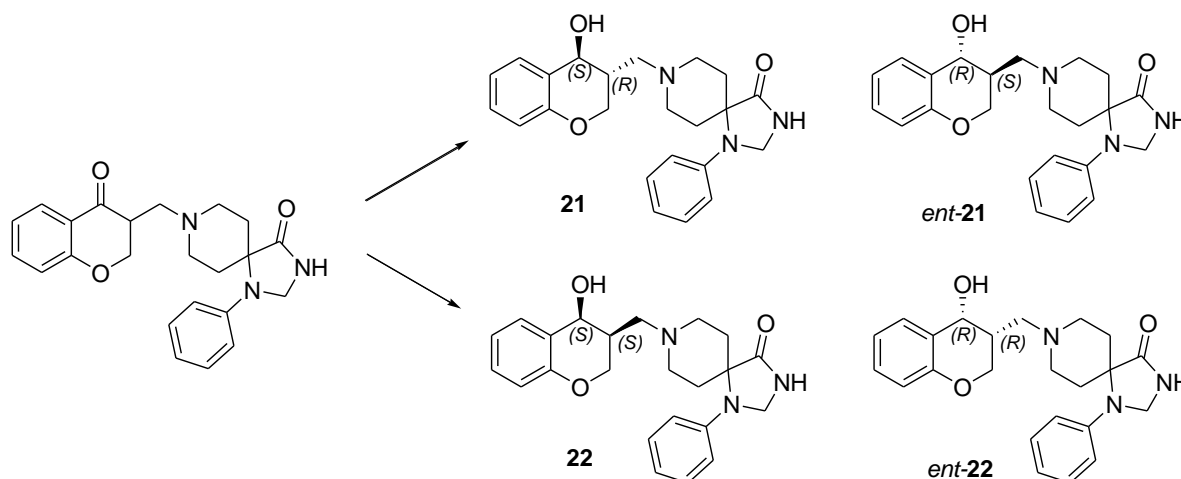
**Anal. Elem. C, H, N** per  $\text{C}_{25}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_7$ : calcolato C, 62.36; H, 5.65; N, 8.73; trovato C, 62.43; H, 6.28; N, 8.90.

**QTOF:** massa esatta per  $\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_3^+ [\text{M}+\text{H}]^+ =$  calcolata 392.19687;  
trovata 392.19848;  
(Dev.= - 4.13 ppm).

$^1\text{H}$ -NMR (200MHz, DMSO):  $\delta$  1.75 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -6/ $\text{CH}_2$ -10 tasd), 2.54-2.80 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -6/ $\text{CH}_2$ -10 tasd), 2.81-3.01 (m, 1H, CH-3 crom), 3.01-3.48 (m, 6H,  $\text{CH}_2$ N,  $\text{CH}_2$ -7,  $\text{CH}_2$ -9 tasd), 4.42 (m, 1H, CHa-2 crom), 4.60 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ -2 tasd), 4.65-4.79 (m, 1H, CHb-2 crom), 6.70-7.00 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 arom. tasd), 7.09 (m, 2H, CH-6, CH-8 crom), 7.25 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.59 (m, 1H, CH-7 crom), 7.78 (m, 1H, CH-5 crom), 8.81 (s, 1H, ac. oss.).

crom = cromanone; tasd = triazaspirodecanone

**SINTESI DEL 8-(4-IDROSSI-CROMAN-3-ILMETIL)]-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (21, *ent*-21; 22, *ent*-22)**



Ad una sospensione del 8-(4-oxo-croman-3-ilmetil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one **20** (0.97g, 2.48 mmoli) in 10 mL di metanolo anidro a 0 °C, si aggiungono a piccole aliquote 0.375 g (9.92 mmoli) di sodio boroidruro. Si lascia procedere a temperatura ambiente per 10 minuti e mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 2/8 cicloesano/etile acetato) si accerta il completamento della reazione. Si evapora il metanolo a pressione ridotta e il residuo secco viene ripartito in etile acetato e acqua. La fase organica viene lavata 3 volte con acqua; si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 1.03 g di un residuo solido bianco corrispondente alle 2 coppie di 8-(*trans*-4-idrossi-croman-3-ilmetil)]-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**21**, *ent*-**21**) e 8-(*cis*-4-idrossi-croman-3-ilmetil)]-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**22**, *ent*-**22**) in miscela, in rapporto 63/37.

Tale residuo viene sottoposto a separazione mediante flash cromatografia su gel di silice, utilizzando come miscela eluente 96/4 diclorometano/metanolo. Si ottengono 4 frazioni:

- 1) frazione contenente solo la coppia di isomeri *trans*;
- 2) frazione più arricchita della coppia di isomeri *trans* e con un 22% della coppia *cis*;
- 3) frazione più arricchita della coppia di isomeri *cis* e con un 15% della coppia *trans*;
- 4) frazione contenente solo la coppia di isomeri *cis*.

Data la scarsa solubilità della coppia *cis* (**22**, *ent*-**22**) in diversi solventi, tra cui diclorometano, cloroformio, acetonitrile, metanolo ed etile acetato, si sottopone la terza frazione a triturazione con etile acetato, al fine di ottenere una migliore separazione dalla coppia *trans* (**21**, *ent*-**21**). In questo modo si ottiene una miscela costituita prevalentemente dalla coppia *cis* e solo con il 9% della coppia *trans*.

**RESA TOTALE:** 0.78 g (1.98 mmoli), 80% d. t.

**RESA COPPIA *trans* 21, *ent*-21 (più apolare):** 0.488 g (1.2 mmoli), 50% d.t.

**Punto di fusione:** 215-216 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, DMSO):** δ 1.51 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.03 (m, 1H, CH-3 cromanolo), 2.18 (m, 1H, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-N), 2.31 (m, 1H, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-N), 2.38-2.54 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.54-2.79 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.95 (dd, 1H, J= 6.3, 10.7, CH<sub>a</sub>-2 cromanolo), 4.19 (dd, 1H, J= 2.5, 10.7, CH<sub>b</sub>-2 crom), 4.34 (d, 1H, J= 5.0, CH-4 cromanolo), 4.51 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 5.49 (s, 1H, OH), 6.69 (m, 2H, CH-4 arom. tasd, CH-8 cromanolo), 6.81 (m, 3H, CH-2, CH-6 arom. tasd, CH-6 cromanolo), 7.07 (dd, 1H; J= 7.3, 7.8, CH-7 cromanolo), 7.19 (dd, 2H, J= 7.6, 7.9; CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.28 (d, 1H, J= 7.4; CH-5 cromanolo).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, DMSO):** δ 28.69 (C-6/C-10 tasd), 37.67 (C-3 cromanolo), 49.67 (C-7/C-9 tasd), 50.55 (C-7/C-9 tasd), 57.18 (C3-CH<sub>2</sub>-N), 58.34 (C-5 tasd), 58.85 (C-2 tasd), 65.33 (C-2 cromanolo), 65.78 (C-4 cromanolo), 114.58 (C-2, C-6 arom. tasd), 116.01 (C-8 cromanolo), 117.92 (C-4 arom. tasd), 120.25 (C-6 cromanolo), 125.55 (C-8a crom), 128.58 (C-7 cromanolo), 129.22 (C-3, C-5 arom. tasd), 129.99 (C-5 crom), 143.55 (C-1 arom. tasd), 154.00 (C-4a crom), 176.37 (CO tasd).

tasd = triazaspirodecanone

**RESA COPPIA *cis* 22, *ent*-22 (più polare):** 0.292 g (0.7 mmoli), 30% d. t.

**Punto di fusione:** 244-245 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, DMSO):** δ 1.51 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.11 (m, 1H, CH-3 cromanolo), 2.32 (m, 1H, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-N), 2.46 (m, 3H, CH<sub>a</sub>H<sub>b</sub>-N, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.67 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.94 (pseudot, 1H, J= 10.5, CH<sub>a</sub>-2 cromanolo), 4.11 (dd, 1H, J= 3.0, 10.5; CH<sub>b</sub>-2 crom), 4.48 (s, 1H, CH-4 cromanolo), 4.51 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 5.30 (s, 1H, OH), 6.70 (m, 2H, CH-4 arom. tasd, CH-8 cromanolo), 6.81 (m, 3H, CH-2, CH-6 arom. tasd, CH-6 cromanolo), 7.08 (ddd, 1H; J= 1.7, 7.1, 8.3; CH-7 cromanolo), 7.19 (m, 3H, CH-3, CH-5 arom. tasd, CH-5 cromanolo).

tasd = triazaspirodecanone

**$^{13}\text{C-NMR}$  (400MHz, DMSO):**  $\delta$  28.70 (C-6/C-10 tasd), 28.74 (C-6/C-10 tasd), 35.82 (C-3 cromanolo), 49.59 (C-7/C-9 tasd), 50.84 (C-7/C-9 tasd), 55.76 (C3-CH<sub>2</sub>-N), 58.39 (C-5 tasd), 58.85 (C-2 tasd), 63.82 (C-4 cromanolo), 64.48 (C-2 cromanolo), 114.58 (C-2, C-6 arom. tasd), 116.12 (C-8 cromanolo), 117.89 (C-4 arom. tasd), 119.95 (C-6 cromanolo), 126.00 (C-8a crom), 128.93 (C-7 cromanolo), 129.22 (C-3, C-5 arom. tasd), 130.70 (C-5 cromanolo), 143.56 (C-1 arom. tasd), 154.19 (C-4a cromanolo), 176.43 (CO tasd).

tasd = triazaspirodecanone

Le ammine libere (**21**, *ent-21*) e (**22**, *ent-22*) sono state successivamente convertite nei corrispondenti sali di ossalato, i quali sono stati cristallizzati rispettivamente con acetone e 1,4-diossano.

Sale di (**21**, *ent-21*): Ottenuti 0.184 g.

**RESA:** 0.184 g (0.38 mmoli), quantitativa.

**Punto di fusione:** 160-161 °C.

**Anal. Elem. C, H, N** per  $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$ : calcolato C, 59.87; H, 6.23; N, 8.38; trovato C, 60.34; H, 6.29; N, 8.33.

**QTOF:** massa esatta per  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_3^+ [\text{M}+\text{H}]^+ =$  calcolata 394.2125;  
trovata 394.2125;  
(Dev.= + 0.1 ppm)

**$^1\text{H-NMR}$  (200MHz, DMSO):**  $\delta$  1.81 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -6/ $\text{CH}_2$ -10 tasd), 2.33 (m, 1H, CH-3 cromanolo), 2.82 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ -N,  $\text{CH}_2$ -6/ $\text{CH}_2$ -10 tasd,) 3.41 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ -7,  $\text{CH}_2$ -9 tasd), 4.06 (m, 1H, CHa-2 cromanolo), 4.32 (m, 1H, CHb-2 cromanolo), 4.47 (d, 1H, J= 5.9, CH-4 cromanolo), 4.61 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ -2 tasd), 6.76 (m, 2H, CH-4 arom. tasd, CH-8 cromanolo), 6.93 (m, 3H, CH-2, CH-6 arom. tasd, CH-6 cromanolo), 7.19 (m, 3H, CH-3, CH-5 arom. tasd; CH-7 cromanolo), 7.38 (d, 1H, J=7.7, CH-5 cromanolo), 8.89 (s, 1H, ac. ossalico).

tasd = triazaspirodecanone

Sale di (**22**, *ent-22*): Ottenuti 0.16 g

**RESA:** 0.16 g (0.33 mmoli), 87% d. t.

**Punto di fusione:** 205-206 °C.

**Anal. Elem. C, H, N** per  $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_7$ : calcolato C, 62.10; H, 6.05; N, 8.69; trovato C, 62.09; H, 6.46; N, 8.54.

**QTOF:** massa esatta per  $C_{23}H_{28}N_3O_3^+ [M+H]^+ =$  calcolata 394.2125;

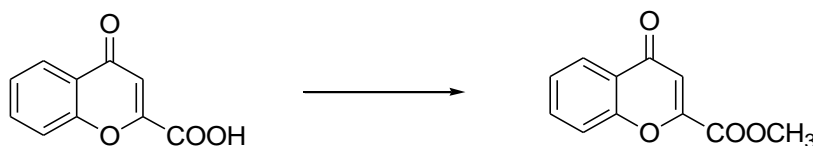
trovata 394.2122;

(Dev.= + 0.76 ppm)

**$^1H$ -NMR (200MHz, DMSO):**  $\delta$  1.67 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.40 (m, 1H, CH-3 cromanolo), 2.93 (m, 8H, CH<sub>2</sub>-N, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.90 (m, 1H, CHa-2 cromanolo), 4.16 (m, 1H, CHb-2 cromanolo), 4.51 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 4.56 (s, 1H, CH-4 cromanolo), 6.73 (m, 5H, CH-2, CH-4, CH-6 arom. tasd; C-6, C-8 cromanolo), 7.15 (m, 4H, CH-3, CH-5 arom. tasd; CH-5, CH-7 cromanolo), 8.75 (s, 1H, ac. ossalico).

tasd = triazaspirodecanone

### SINTESI DEL METIL CROMEN-4-ONE-2-CARBOSSILATO (76)<sup>124</sup>

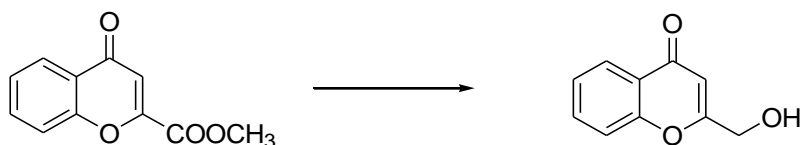


Ad una soluzione acido cromen-4-one-2-carbossilico (1 g, 5.3 mmoli) in 15 mL di metanolo, portata a 0 °C, si aggiungono lentamente 6 mL di acido solforico concentrato. Si lascia procedere la reazione a refluxo e sotto agitazione elettromagnetica per 12 ore. Al termine, si riporta la miscela di reazione a temperatura ambiente. Si neutralizza con NaOH 1 M e si effettuano 3 estrazioni della fase acquosa con etile acetato. La fase organica viene poi anidrificata con sodio solfato, filtrata e portata a secco a pressione ridotta, fino ad ottenere 1.04 g di un solido grigio, corrispondente all'atteso metil cromen-4-one-2-carbossilato (76).

**RESA:** 1.04 g (5.1 mmoli), quantitativa.

**Punto di fusione:** 116-117 °C.

**$^1H$ -NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  4.02 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 7.12 (s, 1H, CH-3), 7.41-7.49 (m, 1H, CH-6), 7.60 (m, 1H, CH-8), 7.75 (ddd, 1H, J= 1.5, 7, 8.6; CH-7), 8.20 (dd, 1H, J= 1.5, 8, CH-5).

SINTESI DEL 2-IDROSSIMETIL-CROMEN-4-ONE (77)<sup>124</sup>

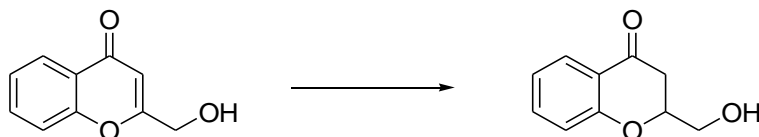
0.52 g (2.54 mmoli) di metil cromen-4-one-2-carbossilato (**76**) vengono solubilizzati in 10 mL di metanolo anidro. Si porta la soluzione a 0 °C e si aggiungono, lentamente, 0.24 g (6.36 mmoli) di NaBH<sub>4</sub>. Si lascia proseguire la reazione 10 minuti a 0 °C e 12 ore a temperatura ambiente. Si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 5/5 cicloesano/etile acetato).

Si evapora il metanolo e il residuo secco viene ripartito in etile acetato e acqua. La fase organica viene lavata 3 volte con acqua; si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.442 g di un residuo solido bianco corrispondente all'atteso 2-idrossimetil-cromen-4-one (**77**).

**RESA:** 0.442 g (2.51 mmoli), quantitativa.

**Punto di fusione:** 140-141 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 4.60 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-OH), 6.50 (s, 1H, CH-3), 7.39-7.43 (m, 2H, CH-6, CH-8), 7.65 (ddd, 1H, J= 1.6, 6.9, 8.7; CH-7), 8.17 (dd, 1H, J= 1.6, 8, CH-5).

SINTESI DEL 2-IDROSSIMETIL-CROMAN-4-ONE (78)<sup>125</sup>

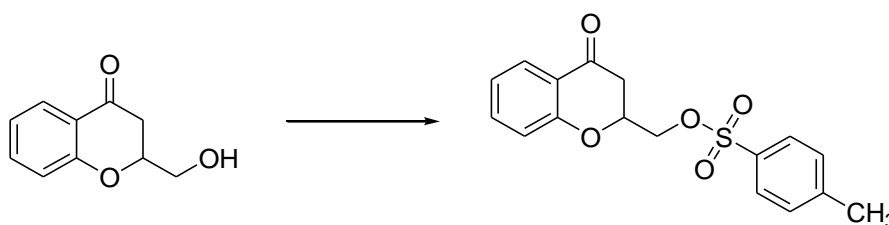
Ad una soluzione di 0.5 g (2.8 mmoli) di 2-idrossimetil-cromen-4-one (**77**) in 10 mL di metanolo, si aggiungono 0.1 g di Pd/C al 10%. Si sottopone la miscela ottenuta a idrogenazione catalitica a temperatura ambiente. Dopo 22 ore si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente 6/4 cicloesano/etile acetato). La miscela di reazione viene filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il grezzo ottenuto viene purificato mediante cromatografia sp1 (miscela eluente 65/35 cicloesano/etile

acetato). Si recuperano 0.134 g di un olio incolore, che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso 2-idrossimetil-croman-4-one (**78**).

**RESA:** 0.134 g (0.75 mmoli), 27% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  2.2 (s, 1H, OH), 2.63 (dd, 1H, J= 3.0, 16.8; Ha-3), 2.95 (dd, 1H, J= 13.3, 16.8; Hb-3), 3.84 (dd, 1H, J= 5.0, 11.5; CHa-OH), 4.00 (d, 1H, J= 11.5; CHb-OH), 4.58 (m, 1H, CH-2), 7.00 (d, 1H, J= 8.0; CH-8), 7.04 (t, 1H, J= 7.8; CH-6), 7.50 (dd, 1H, J= 7.8, 8.0; CH-7), 7.90 (d, 1H, J= 7.8; CH-5).

### SINTESI DEL (CROMAN-4-ONE-2-IL)METIL 4-METILBENZENESOLFONATO (**79**)



0.229 g di tosilcloruro (1.2 mmoli) vengono aggiunti ad una soluzione di 2-idrossimetil-croman-4-one (**78**, 0.141 g, 0.8 mmoli) e trietilammina (0.16 g, 0.22 mL, 1.6 mmoli) in 5 mL di diclorometano a 0 °C. La miscela di reazione viene mantenuta a temperatura ambiente sotto flusso d'azoto per circa 23 ore. Al termine si eseguono 2 lavaggi della miscela di reazione (fase organica) con una soluzione satura di sodio bicarbonato e un lavaggio con acqua distillata. Le fasi acquose di lavaggio vengono riestratte con diclorometano (2x).

Le fasi organiche riunite vengono anidrificate con sodio solfato; si filtra e si concentra a pressione ridotta fino ad ottenere 0.252 g di un residuo viscoso giallino.

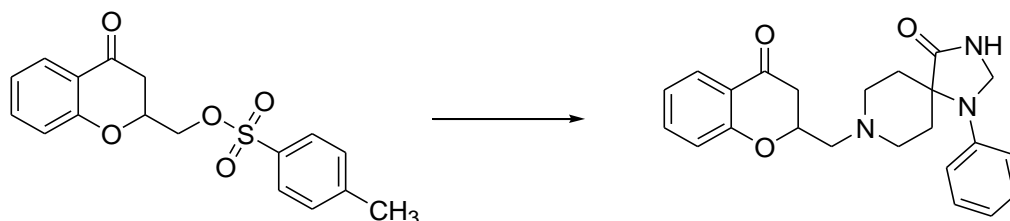
Si procede alla purificazione del grezzo di reazione mediante cromatografia SP1 (miscela eluente cicloesano/etile acetato 70/30). Si recuperano 0.206 g di un solido deliquescente bianco, corrispondente all'atteso (croman-4-one-2-il)metil 4-metilbenzenesolfonato (**79**).

**RESA:** 0.206 g (0.62 mmoli), 78% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  2.47 (s, 1H, CH<sub>3</sub>), 2.63 (dd, 1H, J= 3.5, 16.8; CHa-3), 2.81 (dd, 1H, J= 12.7, 16.8; CHb-3), 4.32 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-OTs), 4.60-4.71 (m, 1H, CH-2), 6.91 (d, 1H, J= 8.4; CH-8 crom), 7.04 (m, 1H, CH-6 crom), 7.36-7.52 (m, 3H, CH-7 crom, CH-2, CH-6 Ts), 7.82-7.96 (m, 3H, CH-5 crom, CH-2, CH-6 Ts).

crom = cromanone

**SINTESI DEL 8-(4-OXO-CROMAN-2-ILMETIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-  
SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (23)**



Ad una soluzione di (croman-4-one-2-il)metil 4-metilbenzenesolfonato (**79**, 0.194 g, 0.58 mmoli) in 5 mL di acetonitrile anidro, si aggiungono 0.201 g (0.87 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triazaspiro-[4,5]decan-4-one e 0.123 g (1.16 mmoli) di  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . La miscela risultante viene portata a refluxo. Dopo 40 ore, si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente 3/7 cicloesano/etile acetato). Si evapora l'acetonitrile a pressione ridotta. Il residuo viene ripartito in etile acetato e acqua distillata. Si effettuano 3 lavaggi acquosi della fase organica; si anidrifica con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , si filtra e si porta a secco il solvente. Il grezzo ottenuto viene purificato tramite cromatografia SP1 con miscela eluente 30/70 cicloesano/etile acetato. Si ottengono 0.081 g dell'atteso 8-(4-oxo-croman-2-ilmetil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**23**).

**RESA:** 0.081 g (0.21 mmoli), 36% d. t.

**Punto di fusione:** 61-63 °C.

**$^1\text{H-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  1.64 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-6}/\text{CH}_2\text{-10}$  tasd), 2.59-2.91 (m, 8H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ,  $\text{CH}_2\text{-6}/\text{CH}_2\text{-10}$  tasd,  $\text{CH}_2\text{-7}/\text{CH}_2\text{-9}$  tasd,  $\text{CH}_2\text{-3}$  crom), 3.00 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{-7}/\text{CH}_2\text{-9}$  tasd), 4.63 (m, 1H, CH-2 crom), 4.71 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{-2}$  tasd), 6.85 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 arom. tasd), 6.97 (m, 2H, CH-6, CH-8 crom), 7.27 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.43 (m, 1H, CH-7 crom), 7.86 (d, 1H,  $J = 6.9$ ; CH-5 crom), 7.93 (s, 1H, NH).

**$^{13}\text{C-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  29.18 (C-6/C-10 tasd), 29.22 (C-6/C-10 tasd), 41.54 (C2- $\text{CH}_2\text{-N}$ ), 50.51 (C-7/C-9 tasd), 50.78 (C-7/C-9 tasd), 59.19 (C-5 tasd), 59.51 (C-2 tasd), 61.74 (C-3 crom), 76.50 (C-2 crom), 115.37 (C-2, C-6 arom. tasd), 118.03 (C-8 crom), 119.03 (C-4 arom. tasd), 121.20 (C-8a crom), 121.34 (C-6 crom), 126.90 (C-5 crom), 129.36 (C-3, C-5 arom. tasd), 136.01 (C-7 crom), 143.16 (C-1 arom. tasd), 161.41 (C-4a crom), 178.45 (CO tasd), 192.55 (CO crom).

crom = cromanone; tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.056 g.

**RESA:** 0.056 g (0.11 mmoli), 47% d. t.

**Punto di fusione:** 215-216 °C.

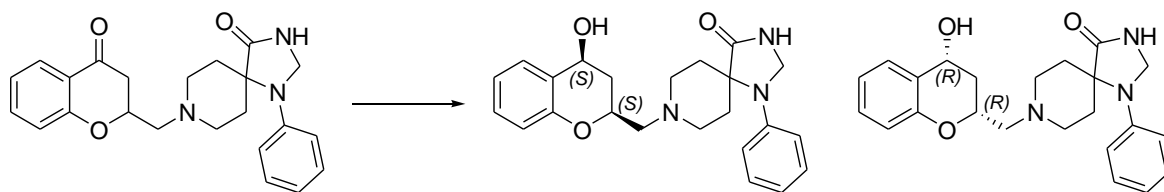
**Anal. Elem. C, H, N** per  $C_{25}H_{27}N_3O_7 \cdot H_2O$ : calcolato C, 60.11; H, 5.85; N, 8.41; trovato C, 60.33; H, 5.60; N, 8.42.

**QTOF:** massa esatta per  $C_{23}H_{26}N_3O_3^+ [M+H]^+$  = calcolata 392.1968;  
trovata 392.1964;  
(Dev.= +1.28 ppm).

**$^1H$ -NMR (200MHz, DMSO):**  $\delta$  1.73 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.49-2.98 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-3 crom), 3.24 (m, 6H, CH<sub>2</sub>N, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 4.60 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 4.96 (m, 1H, CH-2 crom), 6.76-6.93 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 arom. tasd), 7.08 (m, 2H, CH-6, CH-8 crom), 7.26 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.58 (m, 1H, CH-7 crom), 7.77 (d, 1H, J= 6.7; CH-5 crom), 8.79 (s, 1H, ac. oss.).

crom = cromanone; tasd = triazaspirodecanone

### SINTESI DEL 8-(*cis*-4-IDROSSI-CROMAN-2-ILMETIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (24, *ent*-24)



Ad una sospensione del 8-(4-oxo-croman-2-ilmetil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one **23** (0.1 g, 0.25 mmoli) in 5 mL di metanolo anidro a 0 °C, si aggiungono, a piccole aliquote, 0.029 g (0.77 mmoli) di sodio boroidruro. Si lascia procedere a temperatura ambiente per 30 minuti e mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 9/1 diclorometano/metanolo) si accerta il completamento della reazione. Si evapora il metanolo e il residuo secco viene ripartito in etile acetato e acqua. La fase organica viene lavata 3 volte con acqua; si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.098 g di un residuo solido

bianco corrispondente alla coppia di enantiomeri 8-(*cis*-4-idrossi-croman-2-ilmetil)]-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**24**, *ent*-**24**).

**RESA:** 0.098 g (0.025 mmoli), quantitativa.

**Punto di fusione:** 112-113 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.51 (m, 1H, CHa-6/CHa-10 tasd), 1.66 (m, 1H, CHa-6/CHa-10 tasd), 2.03 (m, 1H, CHa-3 cromanolo), 2.39-2.49 (m, 2H, CHb-3 cromanolo, CHb-6/CHb-10 tasd), 2.70 (m, 2H, CHaHb-N, CHb-6/CHb-10 tasd), 2.83 (m, 3H, CHaHb-N, 2× CHa-7/CHa-7 tasd), 2.94 (m, 1H, CHb-7/CHb-7 tasd), 3.04 (m, 1H, CHb-7/CHb-7 tasd), 4.50 (m, 1H, CH-2 cromanolo), 4.65 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 4.79 (t, 1H, J= 5.5, CH-4 cromanolo), 6.76 (d, 1H, CH-8 cromanolo), 6.80-6.91 (m, 4H, CH-2, CH-4, CH-6 arom. tasd, CH-6 cromanolo), 7.10 (m, 1H, CH-7 cromanolo), 7.23-7.29 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.41 (s, 1H, NH), 7.42 (d, 1H, J= 7.7; CH-5 cromanolo).

tasd = triazaspirodecanone

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 28.37 (C-6/C-10 tasd), 28.62 (C-6/C-10 tasd), 34.94 (C-3 cromanolo), 50.42 (C-7/C-9 tasd), 50.51 (C-7/C-9 tasd), 50.42 (C-5 tasd), 59.02 (C-2 tasd), 61.27 (C2-CH<sub>2</sub>-N), 62.62 (C-4 cromanolo), 72.61 (C-2 cromanolo), 114.64 (C-2, C-6 arom. tasd), 116.42 (C-8 cromanolo), 118.55 (C-4 arom. tasd), 120.48 (C-6 cromanolo), 125.51 (C-8a crom), 128.79 (C-5, C-7 cromanolo), 129.09 (C-3, C-5 arom. tasd), 142.66 (C-1 arom. tasd), 153.10 (C-4a crom), 177.71 (CO tasd).

tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.09 g.

**RESA:** 0.09 g (0.2 mmoli), 81% d. t.

**Punto di fusione:** 229-230 °C.

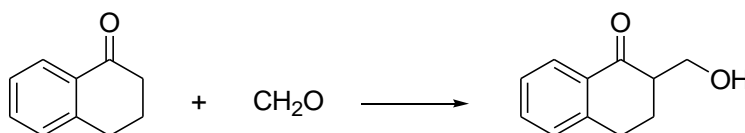
**Anal. Elem. C, H, N** per C<sub>25</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>: calcolato C, 62.10; H, 6.05; N, 8.69; trovato C, 62.38; H, 6.05; N, 8.74.

**QTOF:** massa esatta per C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> = calcolata 394.2125;  
trovata 394.2129;  
(Dev.= + 0.78 ppm)

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO):**  $\delta$  1.61-1.85 (m, 3H, 2×CHa-6/CHa-10 tasd, CHb-6/CHb-10 tasd), 2.23 (m, 1H, CHa-3 cromanolo), 2.81 (m, 2H, CHb-6/CHb-10 tasd, CHb-3 cromanolo), 3.27-3.47 (m, 6H, CH<sub>2</sub>-N, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 4.61 (m, 3H, CH<sub>2</sub>-2 tasd, CH-2 cromanolo), 4.80 (m, 1H, CH-4 cromanolo), 6.78-6.97 (m, 5H, CH-2, CH-4, CH-6 arom. tasd; CH-6, CH-8 cromanolo), 7.14 (m, 1H, CH-7 cromanolo), 7.26 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.42 (d, 1H, J= 7.5; CH-5 cromanolo), 8.89 (s, 1H, ac. ossalico).

tasd = triazaspirodecanone

### SINTESI DEL 2-IDROSSIMETIL-TETRALONE (80)<sup>126</sup>

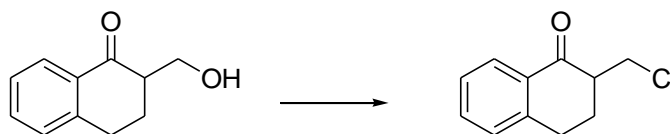


0.3 g (2.06 mmoli) di  $\alpha$ -tetralone vengono dissolti in una miscela H<sub>2</sub>O/acetone 1:1. Successivamente si aggiungono 0.28 g di K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (2.06 mmoli) e, goccia a goccia, 0.6 mL (7.8 mmoli) di formaldeide sol. acquosa 37% diluita con acetone. Si lascia proseguire la reazione per 12 ore a 40 °C, sotto agitazione elettromagnetica. Al termine, si lascia raffreddare la miscela di reazione fino a temperatura ambiente e si aggiunge acqua distillata. Si effettuano 3 estrazioni con etile acetato. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.33 g di un residuo oleoso scuro, il quale viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente da 90/10 a 60/40 cicloesano/etile acetato). Si ottengono 0.16 g del composto atteso sotto forma di olio incolore.

**RESA:** 0.16 g (0.9 mmoli), 44 % d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  1.91 (ddd, 1H, J= 5.1, 13.3, 18.4; CHa-3), 2.08 (m, 1H, CHb-3), 2.65 (m, 1H, CH-2), 2.92-3.08 (m, 3H, CH<sub>2</sub>-4, OH), 3.78 (dd, 1H, J= 4.4, 11.3; CHa-OH), 3.88 (dd, 1H, J= 7.1, 11.3; CHb-OH), 7.20 (d, 1H, J= 7.6; CH-5), 7.26 (m, 1H, CH-7), 7.44 (ddd, 1H, J= 1.3, 7.5, 7.6; CH-6), 7.96 (d, 1H, J= 7.1; CH-8).

## SINTESI DEL 2-CLOROMETIL-TETRALONE (81)



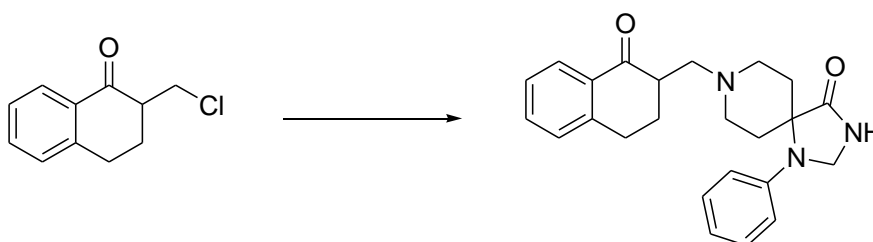
0.1 g (0.57 mmoli) di 2-idrossimetil-tetralone (**80**) vengono dissolti in 10 mL di diclorometano. Si porta la soluzione a 0 °C e si aggiungono, goccia a goccia, 0.25 mL (3.42 mmoli) di tionilcloruro. Si lascia procedere la reazione a temperatura ambiente. Dopo 96 ore si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 5/5 cicloesano/etile acetato).

La miscela di reazione viene portata a secco tramite evaporazione del solvente a pressione ridotta, fino ad ottenere 0.11 g di un residuo oleoso scuro, corrispondente all'atteso 2-clorometil-tetralone.

**RESA:** 0.11 g (0.57 mmoli), quantitativa.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.98-2.51 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-3), 2.80-3.08 (m, 3H, CH<sub>2</sub>-4, CH-2), 3.84 (dd, 1H, J= 7.3, 11.2; CHa-Cl), 4.06 (dd, 1H, J= 3.8, 11.2; CHb-Cl), 7.24-7.53 (m, 3H, CH-5, CH-6, CH-7), 8.04 (m, 1H, CH-8).

## SINTESI DEL 8-(1-OXO-1,2,3,4-TETRAIDRO-NAFTALEN-2-ILMETIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (25).



In un pallone a 2 colli da 50 mL si introducono 0.22 g (1.13 mmoli) di 2-clorometil-tetralone (**81**), 0.287 g (1.24 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one, 0.624 g (4.52 mmoli) di potassio carbonato e 0.188 g (1.13 mmoli) di potassio ioduro, in 10 mL di acetonitrile anidro. Si lascia proseguire la reazione a refluxo sotto agitazione elettromagnetica per circa 4 ore, controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 9/1 diclorometano/metanolo). Si evapora l'acetonitrile a pressione ridotta e si riprende il residuo

secco con etile acetato e acqua. Si effettuano 3 lavaggi con acqua della fase organica. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere un residuo solido chiaro, che viene purificato tramite triturazione con etere etilico. L'insolubile viene separato mediante filtrazione con imbuto Buchner. Si recuperano 0.34 g si un solido cristallino beige, che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso 8-(1-oxo-1,2,3,4-tetraidro-naftalen-2-ilmetil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**25**).

**RESA:** 0.34 g (0.87 mmoli), 77% d. t.

**Punto di fusione:** 154-155 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.70 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 1.98 (m, 1H, CHa-3 tetr), 2.42 (m, 1H, CHb-3 tetr), 2.54-2.84 (m, 7H, CH<sub>2</sub>N, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, 2×CHa-7/CHa-9 tasd, CH-2 tetr), 3.01 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-4 tetr, 2×CHb-7/CHb-9 tasd), 4.72 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.84 (t, 1H, J= 7.2, CH-4 arom. tasd), 6.89 (d, 2H, J= 8.1; CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.18-7.36 (m, 4H, CH-3, CH-5 arom. tasd, CH-5, CH-7 tetr), 7.44 (m, 1H, CH-6 tetr), 8.00 (d, 1H, J= 7.2; CH-8 tetr).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 27.17 (C-3 tetr), 28.10 (C-4 tetr), 28.81 (C-6/C-10 tasd), 28.89 (C-6/C-10 tasd), 45.62 (C-2 tetr), 48.60 (C2-CH<sub>2</sub>-N), 50.99 (C-7/C-9 tasd), 57.17 (C-7/C-9 tasd), 59.09 (C-2 tasd), 59.19 (C-5 tasd), 115.22 (C-2, C-6 arom. tasd), 118.60 (C-4 arom. tasd), 126.30 (C-7 tetr), 127.13 (C-8 tetr), 128.48 (C-5 tetr), 128.99 (C-3, C-5 arom. tasd), 132.35 (C-8a tetr), 132.99 (C-6 tetr), 143.01 (C-1 arom. tasd), 143.88 (C-4a tetr), 178.02 (CO tasd), 199.45 (CO tetr).

tetr = tetralone; tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone/benzina.

Ottenuti 0.15 g.

**RESA:** 0.15 g (0.31 mmoli), 82% d. t.

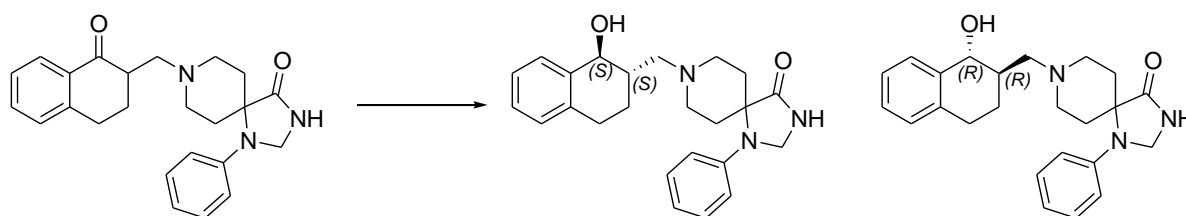
**Punto di fusione:** 128-129 °C.

**QTOF:** massa esatta per C<sub>24</sub>H<sub>28</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> = calcolata 390.218;  
trovata 390.219;  
(Dev.= - 4.79 ppm).

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO):**  $\delta$  1.78-2.08 (m, 3H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CHa-3 tetr), 2.36 (m, 1H, CHb-3 tetr), 2.72-3.51 (m, 11H, CH<sub>2</sub>N, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, 2×CHa-7/CHa-9 tasd, CH-2 tetr, CH<sub>2</sub>-4 tetr, 2×CHb-7/CHb-9 tasd), 4.62 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.79 (t, 1H, J= 7.2; CH-4 arom. tasd), 6.93 (d, 2H, J= 8.1; CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.21-7.40 (m, 4H, CH-3, CH-5 arom. tasd, CH-5, CH-7 tetr), 7.58 (m, 1H, CH-6 tetr), 7.90 (d, 1H, J= 7.6; CH-8 tetr), 8.91 (s, 1H, ac. oss.).

tetr = tetralone; tasd = triazaspirodecanone

**SINTESI DEL 8-(*trans*-1-IDROSSI-1,2,3,4-TETRAIDRO-NAFTALEN-2-ILMETIL)-1-FENIL-1,8-DIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (26, *ent*-26)<sup>116</sup>**



Ad una sospensione del 8-(1-oxo-1,2,3,4-tetraidro-naftalen-2-ilmetil)-1-fenil-1,3,8-triazaspiro[4.5]decan-4-one **25** (0.15g, 0.38 mmoli) in 10 mL di metanolo anidro a 0 °C, si aggiungono 0.043 g (1.14 mmoli) di sodio boroidruro. Si lascia procedere a temperatura ambiente per 10 minuti e mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 9/1 diclorometano/metanolo) si accerta il completamento della reazione. Si evapora il metanolo e il residuo secco viene ripartito in etile acetato e acqua. La fase organica viene lavata 3 volte con acqua; si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.16 g di un residuo solido bianco.

Tale residuo viene purificato mediante cromatografia SP1, utilizzando come miscela eluente 98/2 diclorometano/metanolo. Si ottengono 0.13 g di un solido bianco che, che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso 8-(*trans*-1-idrossi-1,2,3,4-tetraidro-naftalen-2-ilmetil)-1-fenil-1,8-diaza-spiro[4.5]decan-4-one (**26, *ent*-26**).

**RESA:** 0.13 g (0.33 mmoli), 87% d. t.

**Punto di fusione:** 208-209 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  1.44 (m, 1H, CHa-3 tetr), 1.73 (m, 3H, CHb-3 tetr, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 1.99 (m, 1H, CH-2 tetr), 2.65-3.17 (m, 10H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-N, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd, CH<sub>2</sub>-4 tetr), 4.70 (m, 3H, CH<sub>2</sub>-2 tasd, CH-1 tetr), 6.83-6.93 (m, 3H, CH-2,

CH-4, CH-6 arom. tasd), 7.05 (d, 1H, J= 7.4; CH-5 tetr), 7.14 (m, 1H, CH-6 tetr), 7.22 (m, 1H, CH-7 tetr), 7.28 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.62 (d, 1H, J= 7.7; CH-8 tetr).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 24.92 (C-3 tetr), 28.73 (C-4 tetr), 28.99 (C-6/C-10 tasd), 29.30 (C-6/C-10 tasd), 37.46 (C-2 tetr), 48.42 (C-7/C-9 tasd), 51.83 (C-7/C-9 tasd), 58.92 (C-5 tasd), 59.13 (C-2 tasd), 65.61 (C2-CH<sub>2</sub>-N), 75.98 (C-1 tetr), 115.50 (C-2, C-6 arom. tasd), 119.24 (C-4 arom. tasd), 125.63 (C-8 tetr), 126.00 (C-7 tetr), 126.45 (C-6 tetr), 127.10 (C-5 tetr), 129.23 (C-3, C-5 arom. tasd), 138.97 (C-4a tetr), 142.71 (C-1 arom. tasd), 142.71 (C-8a tetr), 177.22 (CO tasd).

tetr = tetralinolo; tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.095 g.

**RESA:** 0.095 g (0.19 mmoli), 66% d. t.

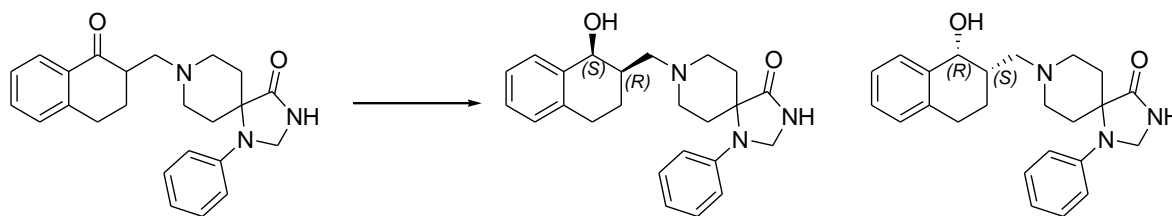
**Punto di fusione:** 222-223 °C.

**QTOF:** massa esatta per C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> = calcolata 392.2332;  
trovata 392.2334;  
(Dev.= -0.41 ppm)

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO):** δ 1.54 (m, 1H, CHa-3 tetr), 1.86 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.08 (m, 2H, CHb-3 tetr, CH-2 tetr), 2.77-3.56 (m, 10H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-N, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd, CH<sub>2</sub>-4 tetr), 4.39 (d, 1H, J= 9.0, CH-1 tetr), 4.63 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.79 (t, 1H, J= 7.2; CH-4 arom. tasd), 6.94 (d, 2H, J= 8.2; CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.05-7.29 (m, 5H, CH-5, CH-6, CH-7 tetr, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.51 (m, 1H, CH-8 tetr), 8.96 (s, 1H, ac. oss.).

tetr = tetralinolo; tasd = triazaspirodecanone

**SINTESI DEL 8-(*cis*-1-IDROSSI-1,2,3,4-TETRAIDRO-NAFTALEN-2-ILMETIL)-1-FENIL-1,8-DIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (27, *ent*-27)<sup>116</sup>**



Ad una soluzione di 8-(1-oxo-1,2,3,4-tetraidro-naftalen-2-ilmetil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one **25** (0.24 g, 0.62 mmoli) in 10 mL di tetraidrofurano anidro, precedentemente raffreddata a -78 °C e posta sotto flusso d'azoto, si aggiungono goccia a goccia 2.1 equivalenti (1.3 mL) di una soluzione 1 molare di litio tri-sec-butilboroidruo (L-Selectride) in tetraidrofurano. La miscela risultante viene lasciata sotto agitazione elettromagnetica a temperatura ambiente per circa 16 ore, controllando l'andamento della reazione mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 9/1 diclorometano/metanolo). Al termine, la miscela viene trattata a 0 °C con una soluzione 1 M di sodio idrossido (3 mL) e successivamente con una soluzione al 30% perossido di idrogeno (0.5 mL). Si effettua un lavaggio con una soluzione satura di sodio carbonato, infine la fase acquosa viene estratta due volte con etile acetato. Si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.24 g di un residuo solido bianco, il quale viene purificato tramite cromatografia SP1 (miscela eluente 40/60 cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.05 g dell'atteso 8-(*cis*-1-idrossi-1,2,3,4-tetraidro-naftalen-2-ilmetil)-1-fenil-1,8-diaza-spiro[4.5]decan-4-one (**27**, *ent*-**27**)

**RESA:** 0.05 g (0.13 mmoli), 20% d. t.

**Punto di fusione:** 270-271 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.72-1.93 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-3 tetr, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.49 (m, 1H, CH-2 tetr), 2.57 (dd, 1H, J= 3.3, 12.6; CHa-N), 2.72-2.97 (m, 8H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CHb-N, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 tasd, CHa-7/CHa-9 tasd, CH<sub>2</sub>-4 tetr), 3.20 (m, 1H, CHb-7/CHb-9 tasd), 4.76 (s, 1H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 4.69 (d, 1H, J= 4.1; CH-1 tetr), 6.90-6.97 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 arom. tasd), 7.13 (d, 1H, J= 7.5, CH-5 tetr), 7.23 (ddd, 1H, J= 1.4, 7.4, 7.5; CH-6 tetr), 7.35 (dd, 1H, J= 1.4, 7.4; CH-7 tetr), 7.36 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.60 (s allargato, 1H, NH), 7.69 (d, 1H, J= 7.5; CH-8 tetr).

**$^{13}\text{C-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  23.94 (C-3 tetr), 26.64 (C-4 tetr), 28.89 (C-6/C-10 tasd), 29.09 (C-6/C-10 tasd), 34.04 (C-2 tetr), 48.84 (C-7/C-9 tasd), 51.20 (C-7/C-9 tasd), 58.90 (C-5 tasd), 59.16 (C-2 tasd), 59.81 (C2-CH<sub>2</sub>-N), 70.90 (C-1 tetr), 115.30 (C-2, C-6 arom. tasd), 119.07 (C-4 arom. tasd), 125.89 (C-7 tetr), 126.66 (C-6 tetr), 127.99 (C-5 tetr), 128.10 (C-8 tetr), 129.18 (C-3, C-5 arom. tasd), 135.39 (C-4a tetr), 139.06 (C-8a tetr), 142.78 (C-1 arom. tasd), 177.4 (CO tasd).

tetr = tetralinolo; tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.03 g.

**RESA:** 0.03 g (0.06 mmoli), 48% d. t.

**Punto di fusione:** 187-189 °C.

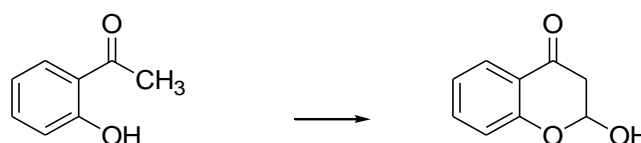
**Anal. Elem. C, H, N** per  $\text{C}_{26}\text{H}_{31}\text{N}_3\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ : calcolato C, 62.51; H, 6.66; N, 8.41; trovato C, 62.90; H, 6.73; N, 8.50.

**QTOF:** massa esatta per  $\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_3\text{O}_2^+ [\text{M}+\text{H}]^+ =$  calcolata 392.2332;  
trovata 392.2335;  
(Dev.= -0.57 ppm)

**$^1\text{H-NMR}$  (200MHz, DMSO):**  $\delta$  1.81 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ -3 tetr,  $\text{CH}_2$ -6/ $\text{CH}_2$ -10 tasd), 2.22 (m, 1H, CH-2 tetr), 2.81-3.55 (m, 10H,  $\text{CH}_2$ -6/ $\text{CH}_2$ -10 tasd,  $\text{CH}_2$ -N,  $\text{CH}_2$ -7,  $\text{CH}_2$ -9 tasd,  $\text{CH}_2$ -4 tetr), 4.62 (m, 3H, CH-1 tetr,  $\text{CH}_2$ -2 tasd), 6.82 (m, 1H, CH-4 arom. tasd), 6.97 (m, 2H, CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.13-7.30 (m, 6H, CH-5, CH-6, CH-7, CH-8 tetr; CH-3, CH-5 arom. tasd), 8.94 (s, 1H, ac. oss.).

tetr = tetralinolo; tasd = triazaspirodecanone

### SINTESI DEL 2-IDROSSI-CROMAN-4-ONE (82)<sup>127</sup>



0.365 g (6.6 mmoli) di sodio metossido vengono sospesi in 6 mL di etilformiato a 0 °C. La miscela ottenuta viene portata a temperatura ambiente e successivamente si aggiunge goccia a

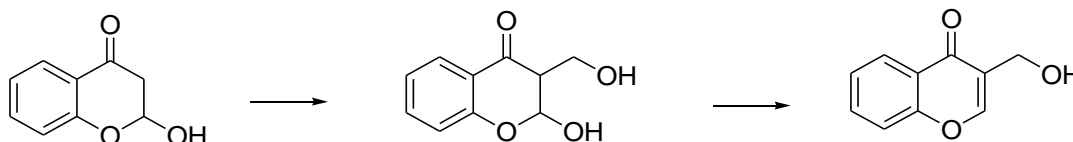
goccia una soluzione di 2-idrossiacetofenone (0.3 g, 2.2 mmoli) in un minimo volume di tetraidrofurano (2 mL). La miscela di reazione assume immediatamente una colorazione gialla. Dopo 20 minuti si accerta il completamento della reazione mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 8/2 cicloesano/etile acetato). Alla sospensione si aggiungono acqua distillata e 0.5 mL di acido acetico. Si lascia sotto agitazione elettromagnetica per 10 minuti. La fase acquosa è estratta 3 volte con etilacetato e la fase organica raccolta si lava con una soluzione di sodio bicarbonato al 5%.

Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.36 g di grezzo corrispondente all'atteso 2-idrossi-croman-4-one (**82**).

**RESA:** 0.36 g (2.2 mmoli), quantitativa.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 2.89 (dd, 1H, J= 4.6, 16.8; CHa-3), 3.05 (dd, 1H, J= 3.5, 16.8; CHb-3), 3.70 (s allargato scambiabile con D<sub>2</sub>O, 1H, OH), 5.89 (t, 1H, J= 3.6; CH-2), 7.01 (m, 2H, CH-6, CH-8), 7.52 (ddd, 1H, J= 1.7, 6.7, 8.9, CH-7), 7.90 (dd, 1H, J=1.7, 7.8; CH-5).

#### SINTESI DEL 3-IDROSSIMETIL-CROMEN-4-ONE (**83b**)<sup>127</sup>



Ad una soluzione di 2-idrossi-croman-4-one (**82**, 0.51 g, 3.1 mmoli) in 10 mL di acetone, si aggiungono 0.013 g (0.16 mmoli) di sodio acetato e 0.28 mL (3.7mmoli) di formaldeide soluzione acquosa al 37%. La soluzione viene mantenuta sotto agitazione elettromagnetica per circa un'ora e 30 minuti. Dall'analisi cromatografica TLC si osserva la formazione di un composto più polare rispetto al prodotto di partenza, che dovrebbe corrispondere al 2-idrossi-3-(idrossimetil)-croman-4-one (**83a**). Successivamente si aggiungono 0.31 mL di acido cloridrico concentrato e si lascia proseguire la reazione per 16 ore a temperatura ambiente. Al termine, si neutralizza con una soluzione satura di sodio acetato e si evapora il solvente a pressione ridotta. Al residuo secco si aggiunge acqua distillata e la fase acquosa viene estratta 3 volte con etile acetato. Si anidrifica la fase organica con il sodio solfato, si filtra e si porta a secco. Si ottengono 0.49 g di grezzo solido da purificare mediante cromatografia SP1,

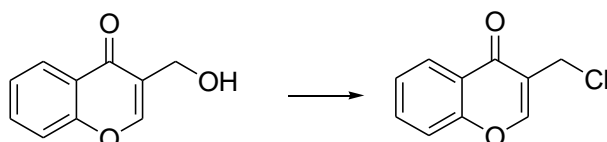
(miscela eluente: 70/30 cicloesano /etile acetato). Si recuperano 0.35 g dell'atteso 3-idrossimetil-cromen-4-one (**83b**).

**RESA:** 0.35 g,(1.99 mmoli), 64% d. t

**Punto di fusione:** 108-108.4 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 2.71 (s allargato scambiabile con D<sub>2</sub>O, 1H, OH), 4.60 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.54 (m, 2H, CH-6, CH-8), 7.70 (m, 1H, CH-7), 7.96 (s, 1H, CH-2), 8.23 (m, 1H, CH-5).

### SINTESI DEL 3-CLOROMETIL-CROMEN-4-ONE (**84**)



Ad una soluzione di 3-idrossimetil-cromen-4-one (**83b**, 0.35 g, 1.99 mmoli) in 10 ml diclorometano, si aggiungono lentamente, a 0° C, 0.43 mL (5.97 mmoli) di tionilcloruro. Si lascia procedere la reazione a temperatura ambiente. Dopo 1 ora e 30 minuti si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 7/3 cicloesano/etile acetato).

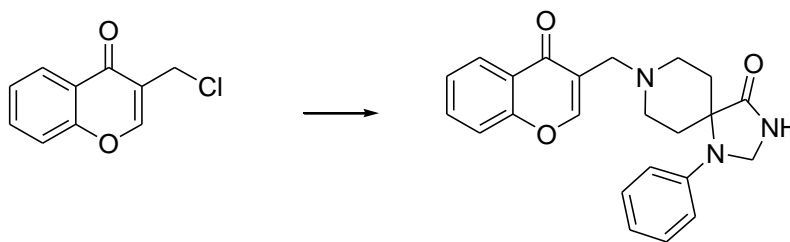
La fase organica di diclorometano viene lavata 3 volte con acqua ghiacciata; si anidifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.39 g di un residuo solido bianco che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso 3-clorometil-cromen-4-one (**84**).

**RESA:** 0.39 g,(2 mmoli), quantitativa.

**Punto di fusione:** 110-111 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 4.51 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.40 (m, 2H, CH-6, CH-8), 7.65 (ddd, 1H, J= 1.6, 6.9, 8.7; CH-7), 8.07 (s, 1H, CH-2), 8.19 (dd, 1H, J= 1.6, 7.8; CH-5).

**SINTESI DEL 8-(4-OXO-4H-CROMEN-3-ILMETIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (28)**



In un pallone a 2 colli da 50 mL si introducono 0.39 g (2 mmoli) di 3-clorometil-cromen-4-one (**84**), 0.693 g (3 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one, 1.1 g (8 mmoli) di potassio carbonato e 0.33 g (2 mmoli) di potassio ioduro, in 15 mL di acetonitrile. Si lascia proseguire la reazione a refluxo sotto agitazione elettromagnetica per circa un'ora, controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 9.5/0.5 diclorometano/metanolo). Al termine, si evapora l'acetonitrile a pressione ridotta e si ripartisce il residuo secco in etile acetato e acqua. Si effettuano 3 lavaggi con acqua della fase organica. Si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere un residuo solido giallo di 1 g. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente 95/5 diclorometano/metanolo). Si recuperano 0.77 g dell'atteso 8-(4-oxo-4H-cromen-3-ilmetil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**28**), sotto forma di solido giallo.

**RESA:** 0.77 g (2 mmoli), quantitativa.

**Punto di fusione:** 218-219 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.71 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.69 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.93 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7,CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.58 (s, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.72 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.83 (t, 1H, J= 7.2; CH-4 arom. tasd), 6.90 (d, 2H, J= 8.0; CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.26 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.37 (m, 1H, CH-6 crom), 7.43 (d, 1H, J= 8.3, CH-8 crom), 7.63 (m, 1H, CH-7 crom), 7.70 (s, 1H, CH-2 crom), 8.05 (s, 1H, NH), 8.21 (d, 1H, J= 7.7; CH-5 crom).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 28.82 (C-6, C-10 tasd), 49.46 (C-7, C-9 tasd), 52.04 (C3-CH<sub>2</sub>-N), 58.93 (C-5 tasd), 59.22 (C-2 tasd), 115.16 (C-2, C-6 arom. tasd), 117.86 (C-8 crom), 118.74 (C-4 arom. tasd), 120.24 (C-3 crom), 123.65 (C-8a crom), 124.81 (C-6 crom), 125.67 (C-5 crom), 129.05 (C-3, C-5 arom. tasd), 133.25 (C-7 crom), 142.93 (C-1 arom. tasd), 154.43 (C-2 crom), 156.17 (C-4a crom), 177.41 (CO crom), 177.93 (CO tasd).

crom = cromenone; tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.155 g.

**RESA:** 0.155 g (0.32 mmoli), 43% d. t.

**Punto di fusione:** 224-225 °C.

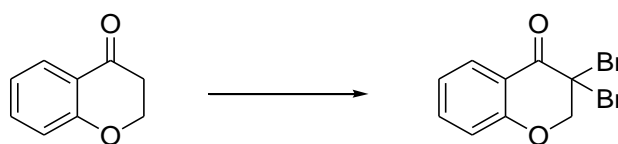
**Analisi C, H, N per** C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>: calcolato C, 62.62; H, 5.26; N, 8.76; trovato C, 62.13; H, 5.36; N, 8.55.

**QTOF:** massa esatta per C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> = calcolata 390.1812;  
trovata 390.1816;  
(Dev.= +0.4 ppm)

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO):** δ 1.80 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.79 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 3.38-3.58 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7,CH<sub>2</sub>-9 tasd), 4.04 (s, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.60 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.76 (m, 1H, CH-4 arom. tasd), 6.91 (m, 2H, J= 8.2; CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.22 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.55 (m, 1H, CH-6 crom), 7.72 (d, 1H, J= 8.3, CH-8 crom), 7.87 (m, 1H, CH-7 crom), 8.12 (d, 1H, J= 7.9; CH-5 crom.), 8.64 (s, 1H, CH-2 crom), 8.90 (s, 1H, ac.ossalico).

crom = cromenone; tasd = triazaspirodecanone

### SINTESI DEL 3,3-DIBROMO-CROMAN-4-ONE (85)<sup>128</sup>

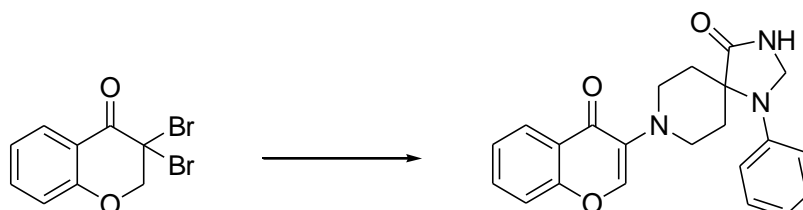


0.5 g (3.4 mmoli) di 4-cromanone vengono solubilizzati in 10 mL di etere etilico. Si raffredda la soluzione ottenuta con bagno di ghiaccio e lentamente si aggiungono, mediante un imbuto gocciolatore, 0.39 mL (1.2 g, 7.4 mmoli) di acqua di bromo in etere etilico. Si lascia proseguire la reazione a refluxo sotto agitazione elettromagnetica per circa 2 ore, controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica (TLC miscela eluente: 9/1 cicloesano/etile acetato). Al termine, la miscela di reazione viene lavata 3 volte con acqua distillata e anidrificata con sodio solfato. Si evapora il solvente a pressione ridotta e si ottengono 0.98 g del composto atteso sotto forma di olio giallo.

**RESA:** 0.98 g (3.2 mmoli), 94 % d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 4.73 (2H, s, CH<sub>2</sub>-2), 7.07 (m, 1H, H-8), 7.16 (1H, m, H-6), 7.60 (1H, m, H-7), 8.03 (1H, dd, J= 1.6, 7.9; H-5).

**SINTESI DEL 8-(4-OXO-4H-CROMEN-3-IL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (29)<sup>128</sup>**



In un pallone a 2 colli da 50 mL sotto flusso d'azoto, si introducono 0.25 g (0.82 mmoli) di 3,3-dibromo-croman-4-one (**85**), 0.23 g (0.98 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one e 0.113 g (0.82 mmoli) di K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in 15 mL di acetonitrile anidro. Si lascia proseguire la reazione sotto agitazione elettromagnetica e a refluxo per circa 48 ore, controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 3/7 cicloesano/etile acetato). Al termine si evapora l'acetonitrile, si riprende con etile acetato e si effettuano 3 lavaggi con acqua. La fase acquosa viene poi estratta una volta con etile acetato. Si anidrifca la fase organica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco. Si ottengono 0.41 g di un residuo solido beige, che viene purificato tramite cromatografia SP1 (miscela eluente 50/50 cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.16 g di un solido cristallino giallo, che dall'analisi NMR risulta corrispondere all'atteso 8-(4-oxo-4H-cromen-3-il)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**29**).

**RESA:** 0.16 g (0.42 mmoli), 52% d. t.

**Punto di fusione:** 159-160 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.83 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.86 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 3.34 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.50 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 tasd), 4.76 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.85 (t, 1H, J= 7.3; CH-4 arom. tasd), 6.94 (d, 2H, J= 8.2; CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.26 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.33 (m, 1H, CH-6 crom), 7.40 (d, 1H, J= 8.3, CH-8 crom), 7.63 (m, 2H, CH-7 crom, CH-2 crom), 8.24 (dd, 1H, J= 1.5, 8.1; CH-5 crom).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 29.16 (C-6, C-10 tasd), 46.17 (C-7, C-9 tasd), 59.12 (C-5 tasd), 59.23 (C-2 tasd), 115.61 (C-2, C-6 arom. tasd), 117.63 (C-8 crom), 119.15 (C-4 arom.

tasd), 123.59 (C-8a crom), 124.10 (C-6 crom), 125.90 (C-5 crom), 129.12 (C-3, C-5 arom. tasd), 132.79 (C-7 crom), 136.71 (C-2 crom), 142.75 (C-1 arom. tasd), 143.90 (C-3 crom), 155.38 (C-4a crom), 174.44 (CO crom), 177.87 (CO tasd).

crom = cromenone; tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente cloridrato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.06 g.

**RESA:** 0.06 g (0.15 mmoli), 34% d. t.

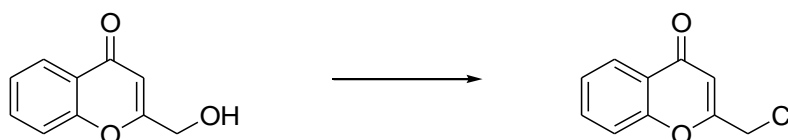
**Punto di fusione:** 217-218 °C.

**QTOF:** massa esatta per  $C_{22}H_{22}N_3O_3^+ [M+H]^+$  = calcolata 376.1655;  
trovata 376.1665;  
(Dev.= + 1.07 ppm).

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO):** δ 1.80 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.85 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 3.50 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.73 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 tasd), 4.63 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.80 (m, 1H, CH-4 arom. tasd), 7.01 (d, 2H, J= 8.2; CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.26 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.50 (m, 1H, CH-6 crom), 7.68 (d, 1H, J= 8.4, CH-8 crom), 7.83 (m, 1H, CH-7 crom), 8.14 (m, 1H, CH-5 crom), 8.57 (s, 1H, CH-2 crom), 8.82 (s, 1H, ac. oss.).

crom = cromenone; tasd = triazaspirodecanone

#### SINTESI DEL 2-CLOROMETIL-CROMEN-4-ONE (86)<sup>124</sup>



0.442 g (2.51 mmoli) di 2-idrossimetil-cromen-4-one (**77**) vengono solubilizzati in 10 mL di diclorometano. Si porta la soluzione a 0 °C e si aggiungono, goccia a goccia, 0.27 mL (3.76 mmoli) di tionilcloruro. Si lascia procedere la reazione 30 minuti a 0° C e 15 ore a temperatura ambiente. Si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 5/5 cicloesano/etile acetato). La fase organica di diclorometano viene lavata 3 volte con acqua ghiacciata; si anidrifca con sodio solfato, si

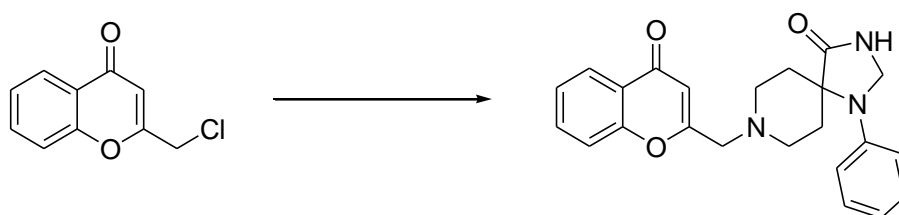
filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.47 g di un residuo oleoso scuro. Il grezzo viene purificato mediante flash cromatografia (miscela eluente 80/20 cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.3 g dell'atteso 2-clorometil-cromen-4-one (**86**), sotto forma di polvere arancione.

**RESA:** 0.3 g (1.5 mmoli), 60% d. t.

**Punto di fusione:** 112-113 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 4.42 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-Cl), 6.42 (s, 1H, CH-3), 7.36-7.48 (m, 2H, CH-6, CH-8), 7.68 (ddd, 1H, J= 1.7, 6.9, 8.6; CH-7), 8.17 (dd, 1H, J= 1.7, 7.9; CH-5).

### SINTESI DEL 8-(CROMEN-4-ONE-2-IL-METIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (**30**)<sup>124</sup>



In un pallone a 2 colli da 50 mL si introducono 0.13 g (0.7 mmoli) di 2-clorometil-cromen-4-one (**86**), 0.241 g (1.04 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one, 0.385 g (2.8 mmoli) di potassio carbonato e 0.115 g (0.7 mmoli) di potassio ioduro, in 15 mL di acetonitrile. Si lascia proseguire la reazione a refluxo sotto agitazione elettromagnetica per circa 2 ore, controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 3/7 cicloesano/etile acetato). Al termine, si evapora l'acetonitrile a pressione ridotta e il residuo secco viene ripartito in etile acetato e acqua. Si effettuano 3 lavaggi con acqua della fase organica. Si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere un residuo solido bianco di 0.27 g. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente 10/90 cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.23 g dell'atteso 8-(cromen-4-one-2-il-metil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**30**).

**RESA:** 0.23 g (0.6 mmoli), 85% d. t.

**Punto di fusione:** 185-186 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.73 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.72 (ddd, 2H, J= 5.0, 12.8, 13.5; CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.87 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.03 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-7/CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.55 (s, 2H, CH<sub>2</sub>N), 4.72 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.48 (s, 1H, CH-3 crom), 6.86 (m, 1H, CH-4 arom. tasd), 6.89 (d, 2H, J= 8.3; CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.29 (dd, 2H, J= 7.4, 8.3; CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.36 (ddd, 1H, J= 0.9, 7.5, 7.9; CH-6 crom.), 7.43 (s, 1H, NH), 7.45 (d, 1H, J= 8.5, CH-8 crom.), 7.63 (ddd, 1H, J= 0.9, 7.5, 7.9; CH-7 crom.), 8.17 (dd, 1H, J= 1.6, 7.9; CH-5 crom.).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 29.01 (C-6, C-10 tasd), 49.82 (C-7, C-9 tasd), 58.72 (C-2 tasd), 59.11 (C2-CH<sub>2</sub>-N), 59.74 (C-5 tasd), 110.21 (C-3 crom), 115.25 (C-2, C-6 arom. tasd), 117.80 (C-8 crom), 118.97 (C-4 arom. tasd), 123.78 (C-8a crom), 124.82 (C-6 crom), 125.49 (C-5 crom), 129.13 (C-3, C-5 arom. tasd), 133.32 (C-7 crom), 142.78 (C-1 arom. tasd), 156.21 (C-4a crom), 166.25 (C-2 crom), 177.72 (CO tasd), 178.15 (CO crom).

crom = cromenone; tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.21 g.

**RESA:** 0.21 g (0.44 mmoli), 85% d. t.

**Punto di fusione:** 209-211 °C.

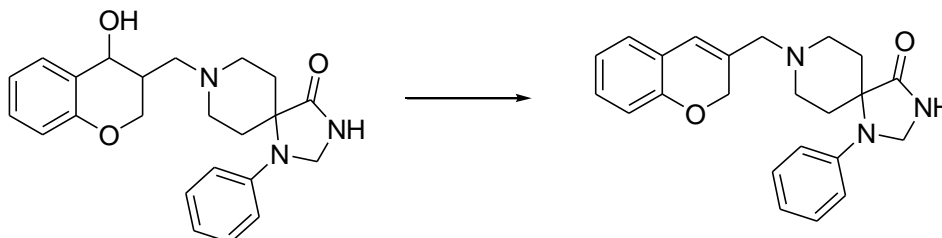
**Anal. Elem. C, H, N** per C<sub>25</sub>H<sub>25</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>: calcolato C, 62.62; H, 5.26; N, 8.76; trovato C, 62.28; H, 5.76; N, 8.38.

**QTOF:** massa esatta per C<sub>23</sub>H<sub>24</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> = calcolata 390.1812;  
trovata 390.1912;  
(Dev.= + 0.15 ppm).

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO):** δ 1.69 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.67 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 3.07-3.24 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.85 (s, 1H, CH<sub>2</sub>N), 4.59 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.49 (s, 1H, CH-3 crom.), 6.77 (t, 1H, J= 7.4; CH-4 arom. tasd), 6.90 (d, 2H, J= 8.2; CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.25 (dd, 2H, J= 7.4, 8.2; CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.49 (m, 1H, CH-6 crom.), 7.66 (d, 1H, J= 8.2; CH-8 crom.), 7.81 (m, 1H, CH-7 crom.), 8.04 (dd, 1H, J= 1.5, 7.9; CH-5 crom.), 8.72 (s, 1H, ac. oss.).

crom = cromenone; tasd = triazaspirodecanone

**SINTESI DEL 8-(2H-CROMEN-3-ILMETIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (31)**



0.405 g (1.03 mmoli) di 8-(4-idrossi-croman-3-ilmetil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**21**, *ent*-**21**; **22**, *ent*-**22**) vengono solubilizzati in 2 mL di H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> concentrato. Si lascia procedere la reazione a 60° C, sotto agitazione elettromagnetica. Dopo 10 minuti si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica (TLC miscela eluente: 2/8 cicloesano/etile acetato).

Si porta la miscela di reazione a temperatura ambiente, poi si neutralizza con NaOH 35% in bagno di ghiaccio. Si forma un abbondante precipitato bianco, che viene ripartito in acqua ed etile acetato. Si effettuano 3 estrazioni della fase acquosa con etile acetato, infine un lavaggio con acqua della fase organica. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.46 g di un residuo solido bianco, il quale viene purificato mediante flash cromatografia su gel di silice, utilizzando come miscela eluente 30/70 cicloesano/etile acetato. Si ottengono 0.093 g dell'atteso 8-(2H-cromen-3-ilmetil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**31**).

**RESA:** 0.093 g (0.25 mmoli), 24% d. t.

**Punto di fusione:** 209-210 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.69 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 *tasd*), 2.63-2.81 (m, 6H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 *tasd*, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 *tasd*), 3.11 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-N), 4.72 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 *tasd*), 4.83 (s, 1H, CH<sub>2</sub>-2 cromene), 6.30 (s, 1H, CH-4 cromene), 6.76 (d, 1H, J= 8.0, CH-8 cromene), 6.81-6.87 (4H, CH-2, CH-4, CH-6 arom. *tasd*, CH-6 cromene), 6.94 (dd, 1H, J= 1.5, 7.4; CH-5 cromene), 7.06 (ddd, 1H, J= 1.5, 8.0, 9.1; CH-7 cromene), 7.27 (t, 2H, J= 7.4, 8.5; CH-3, CH-5 arom. *tasd*), 7.33 (s, 1H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 28.90 (C-6, C-10 *tasd*), 49.61 (C-7, C-9 *tasd*), 58.98 (C-5 *tasd*), 59.08 (C-2 *tasd*), 61.23 (C3-CH<sub>2</sub>-N), 67.46 (C-2 cromene), 114.79 (C-2, C-6 arom. *tasd*).

tasd), 115.14 (C-8 cromene), 118.56 (C-4 arom. tasd), 121.04 (C-6 cromene), 121.28 (C-4 cromene), 122.24 (C-8a cromene), 126.04 (C-5 cromene), 128.46 (C-7 cromene), 129.04 (C-3, C-5 arom. tasd), 132.21 (C-3 cromene), 142.87 (C-1 arom. tasd), 153.22 (C-4a cromene), 178.05 (CO tasd).

tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.04 g.

**RESA:** 0.04 g (0.086 mmoli), 78% d. t.

**Punto di fusione:** 198-201 °C.

**Anal. Elem. C, H, N** per  $C_{25}H_{27}N_3O_6$ : calcolato C, 64.50; H, 5.85; N, 9.03; trovato C, 64.04; H, 5.42; N, 8.69.

**QTOF:** massa esatta per  $C_{23}H_{26}N_3O_2^+ [M+H]^+$  = calcolata 376.202;  
trovata 376.2018;  
(Dev.= +0.44 ppm)

**$^1H$ -NMR (200MHz, DMSO):**  $\delta$  1.76 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.69 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 3.20 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.58 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-N), 4.59 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 4.81 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 cromene), 6.66 (s, 1H, CH-4 cromene), 6.76-6.91 (m, 5H, CH-2, CH-4, CH-6 arom. tasd; C-6, C-8 cromene), 7.06-7.28 (m, 4H, CH-3, CH-5 arom. tasd; CH-5, CH-7 cromene), 8.82 (s, 1H, ac. ossalico).

tasd = triazaspirodecanone

#### SINTESI DEL 4-CROMANOLO (87)



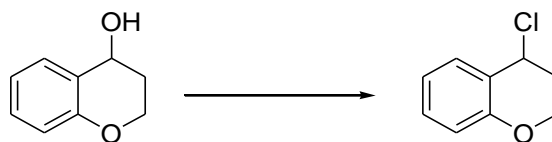
0.5 g (3.4 mmoli) di 4-cromanone vengono solubilizzati in 7 mL di metanolo anidro. Si porta la soluzione a 0 °C e si aggiungono, a piccole aliquote, 0.383 g (10 mmoli) di  $NaBH_4$ . Dopo 10 minuti a temperatura ambiente si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 7/3 cicloesano/etile acetato). Si evapora il metanolo e il

residuo secco viene ripartito in etile acetato e acqua. La fase organica viene lavata 3 volte con acqua; si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.482 g di un residuo viscoso incolore corrispondente all'atteso 4-cromanolo.

**RESA:** 0.482 g (3.2 mmoli), 94 % d. t.

**$^1\text{H-NMR}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  1.87 (dd scambiabile con  $\text{D}_2\text{O}$ , 1H, OH,  $J= 4.7$ ), 1.95-2.26 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -3), 4.18-4.38 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -2), 4.79 (dd, 1H, CH-4,  $J= 4.1, 8.3$ ), 6.79-7.00 (m, 2H, CH-6, CH-8), 7.13-7.37 (m, 2H, CH-5, CH-7).

### SINTESI DEL 4-CLORO-CROMANO (88)



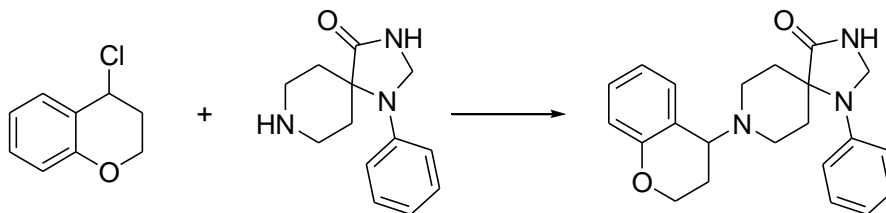
0.21 g (1.39 mmoli) di 4-cromanolo (**87**) vengono solubilizzati in 7 mL di diclorometano. Si porta la soluzione a 0 °C e si aggiungono, goccia a goccia, 0.15 mL (2.08 mmoli) di tionilcloruro. Si lascia procedere la reazione a temperatura ambiente. Dopo 24 ore si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 7/3 cicloesano/etile acetato).

La fase organica di diclorometano viene lavata 3 volte con acqua ghiacciata; si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.24 g di un residuo viscoso giallo corrispondente all'atteso 4-cloro-cromano.

**RESA:** 0.24 g (1.4 mmoli), quantitativa.

**$^1\text{H-NMR}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):** 2.15-2.34 (m, 1H, CHa-3), 2.39-2.63 (m, 1H, CHb-3), 4.20-4.59 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -2), 5.24 (m, 1H, CH-4), 6.70-7.03 (m, 2H, H-6, H-8), 7.07-7.40 (m, 2H, H-5, H-7).

**SINTESI DEL 8-CROMAN-4-IL-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (33)**



In un pallone a 2 colli da 50 mL si introducono 0.25 g (1.48 mmoli) di 4-cloro-cromano (**88**), 0.51 g (2.22 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one, 0.815 g (5.92 mmoli) di potassio carbonato e 0.25 g (1.48 mmoli) di potassio ioduro, in 15 mL di acetonitrile. Si lascia proseguire la reazione a refluxo sotto agitazione elettromagnetica per circa 2 ore, controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 3/7 cicloesano/etile acetato). Al termine, la miscela di reazione viene filtrata con imbuto Büchner per rimuovere l'eccesso di sali. Si evapora l'acetonitrile e si riprende il residuo secco con etile acetato e acqua. Si effettuano 3 lavaggi con acqua della fase organica. Si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere un residuo solido bianco di 0.6 g. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente da 99/1 a 95/5 diclorometano/metanolo). Si recuperano 0.265 g dell'atteso 8-croman-4-il-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**33**).

**RESA:** 0.265 g (0.7 mmoli), 49% d. t.

**Punto di fusione:** 210-211 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.63 (m, 1H, CHa-6/CHa-10 tasd), 1.78 (m, 1H, CHa-6/CHa-10 tasd), 1.97-2.02 (m, 1H, CHa-3 cromano), 2.08-2.17 (m, 1H, CHb-3 cromano), 2.56-2.64 (m, 2H, CHb-6/CHb-10 tasd, CHa-7/CHa-9 tasd), 2.80-2.88 (m, 3H, CHb-6/CHb-10 tasd, CHa-7/CHa-9 tasd, CHb-7/CHb-9 tasd), 3.29-3.36 (m, 1H, CHb-7/CHb-9 tasd), 3.95 (dd, 1H, J=5.5, 9.0, CH-4 cromano), 4.11-4.16 (m, 1H, CHa-2 cromano), 4.34-4.39 (m, 1H, CHb-2 cromano), 4.72 (q, 2H, J= 4.2, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.77 (dd, 1H, J= 0.8, 8.2, CH-8 cromano), 6.85 (t, 1H, J= 7.3, CH-4 arom. tasd), 6.90 (ddd, 1H, J= 0.8, 7.7, 8.2; CH-6 cromano), 6.94 (d, 2H, J= 8.1; CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.11 (ddd, 1H, J= 1.2, 7.7, 8.2; CH-7 cromano), 7.27 (s, 1H, NH), 7.33 (dd, 2H, J= 7.5, 8.5; CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.59 (d, 1H, 7.7; CH-5 cromano).

$^{13}\text{C-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  21.31 (C-3 cromano), 29.09 (C-6/C-10 tasd), 29.54 (C-6/C-10 tasd), 42.27 (C-7/C-9 tasd), 47.92 (C-7/C-9 tasd), 58.58 (C-4 cromano), 59.07 (C-2 tasd), 59.15 (C-5 tasd), 65.06 (C-2 cromano), 114.41 (C-2, C-6 arom. tasd), 116.40 (C-8 cromano), 118.25 (C-4 arom. tasd), 120.05 (C-6 cromano), 123.72 (C-4a cromano), 127.87 (C-7 cromano), 128.32 (C-5 cromano), 129.02 (C-3, C-5 arom. tasd), 142.95 (C-1 arom. tasd), 155.53 (C-8a cromano), 178.31 (CO tasd).

tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con diclorometano.

Ottenuti 0.145 g.

**RESA:** 0.145 g (0.32 mmoli), 51% d. t.

**Punto di fusione:** 178-182 °C.

**Anal. Elem. C, H, N** per  $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_6 \cdot 2(\text{COOH})_2$ : calcolato C, 53.08; H, 4.93; N, 6.63; trovato C, 53.43; H, 4.73; N, 6.86.

**QTOF:** massa esatta per  $\text{C}_{22}\text{H}_{26}\text{N}_3\text{O}_2^+ [\text{M}+\text{H}]^+ =$  calcolata 364.2026;

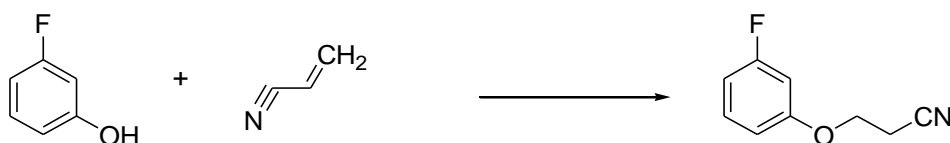
trovata 364.2029;

(Dev. = - 0.79 ppm)

$^1\text{H-NMR}$  (200MHz, DMSO):  $\delta$  1.80 (m, 2H, CHa-6/CHa-10 tasd), 2.21 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -3 cromano), 2.55-2.91 (m, 2H, CHa-6/CHa-10 tasd), 3.05 (m, 1H, CHa-7/CHa-9 tasd), 3.26 (m, 1H, CHa-7/CHa-9 tasd), 3.43 (m, 1H, CHb-7/CHb-9 tasd), 3.69 (m, 1H, CHb-7/CHb-9 tasd), 4.18 (m, 1H, CHa-2 cromano), 4.35 (m, 1H, CHb-2 cromano), 4.56 (m, 3H,  $\text{CH}_2$ -2 tasd, CH-4 cromano), 6.75-7.00 (m, 5H, CH-2, CH-4, CH-6 arom. tasd; C-6, C-8 cromano), 7.25 (m, 3H, CH-3, CH-5 arom. tasd; CH-7 cromano), 7.55 (d, 1H,  $J = 7.5$ , CH-5 cromano), 8.86 (s, 1H, ac. ossalico).

tasd = triazaspirodecanone

### SINTESI DEL 3-(3-FLUORO-FENOSSI)-PROPIONITRILE (89)<sup>130</sup>



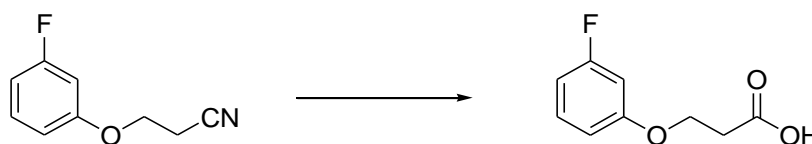
Una soluzione di 3-fluorofenolo (1.38 mL, 1.5 mmoli), Triton B (1 mL) e acrilonitrile (5 mL, 76 mmoli) viene scaldata a refluxo per 24 ore. Al termine, la miscela di reazione viene

riportata a temperatura ambiente e diluita con etere etilico (50 mL). La fase organica viene lavata 2 volte con NaOH 1 N ed altre 2 volte con HCl 1 N; si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si evapora il solvente a pressione ridotta. Si ottengono 1.5 g di grezzo sotto forma di olio giallo, il quale viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente 80/20 cicloesano/etile acetato). Si recuperano 1.20 g dell'atteso 3-(3-fluoro-fenossi)-propionitrile (**89**).

**RESA:** 1.20 g (7.26 mmoli), 48% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 2.83 (t, 2H, J= 6.3; CH<sub>2</sub>-CN), 4.18 (t, 2H, J= 6.3; O-CH<sub>2</sub>), 6.60-6.77 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 arom.), 7.20-7.34 (m, 1H, CH-5 arom.).

### SINTESI DELL' ACIDO 3-(3-FLUORO-FENOSSI)-PROPIONICO (**90**)<sup>130</sup>



1.20 g (7.26 mmoli) di 3-(3-fluoro-fenossi)-propionitrile (**89**) vengono solubilizzati in 10 mL di HCl concentrato. Si lascia procedere la reazione a 100 °C, sotto agitazione elettromagnetica per 20 ore. Si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 8/2 cicloesano/etile acetato). Il pallone contenente la miscela di reazione viene raffreddato mediante bagno di ghiaccio e il risultante precipitato bianco viene filtrato mediante imbuto Büchner, lavato con acqua distillata, poi solubilizzato in NaOH 1 N.

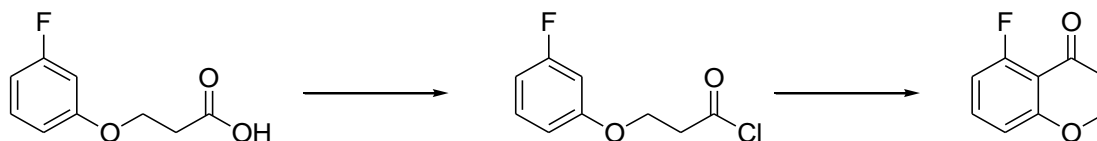
La soluzione ottenuta viene nuovamente filtrata per rimuovere il precipitato insolubile formatosi in modesta quantità. Il filtrato viene acidificato con HCl concentrato per far precipitare il composto di interesse, il quale viene isolato per filtrazione, raccolto ed essiccato in stufa a 60°C.

Si ottengo 0.79 g di un solido polverino bianco, corrispondente all'atteso acido 3-(3-fluoro-fenossi)-propionico (**90**).

**RESA:** 0.79 g (4.3 mmoli), 59% d. t.

**Punto di fusione:** 93-94 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 2.87 (t, 2H, J= 6.2; CH<sub>2</sub>-CN), 4.25 (t, 2H, J= 6.3; O-CH<sub>2</sub>), 6.61-6.73 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 arom.), 7.18-7.29 (m, 1H, CH-5 arom.).

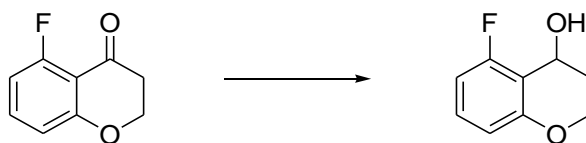
SINTESI DEL 5-FLUORO-CROMAN-4-ONE (91b)<sup>130</sup>

Ad una soluzione di acido 3-(3-fluoro-fenossi)-propionico (**90**; 0.79 g, 4.3 mmoli) in 5 mL toluene si aggiungono 1.8 mL (25.8 mmoli) di tionil-cloruro, a 0 °C. La soluzione viene scaldata a refluxo per 16 ore. Al termine, si evapora il solvente a pressione ridotta. Il residuo oleoso ottenuto, corrispondente all'intermedio 3-(3-Fluoro-fenossi)-propionil cloruro (**91a**), viene disciolto in circa 10 mL di diclorometano e raffreddato a -70° C. Si aggiungono goccia a goccia 0.56 mL (6.4 mmoli) di acido trifluorometansolfonico. Si lascia proseguire la reazione a temperatura ambiente per 2 ore, sotto agitazione elettromagnetica. Al termine, si aggiunge acqua fredda e le due fasi vengono separate con imbuto separatore. La fase organica viene lavata 2 volte con NaOH 1 N e anidrificata con sodio solfato. Si filtra, si evapora il solvente a pressione ridotta e si ottiene un residuo deliquescente di 0.68 g, corrispondente all'atteso 5-fluoro-croman-4-one (**91b**)

**RESA:** 0.68 g (4.3 mmoli), 95% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 2.80 (t, 2H, J= 6.5; CH<sub>2</sub>-3), 4.55 (t, 2H, J= 6.4; CH<sub>2</sub>-3), 6.62-6.78 (m, 2H, CH-6, CH-8), 7.92 (dd, 1H, J= 6.7, 8.7; CH-7).

## SINTESI DEL 5-FLUORO-CROMAN-4-OLO (92)



0.3 g (1.8 mmoli) di 5-fluoro-croman-4-one (**91b**) vengono solubilizzati in 10 mL di metanolo anidro. Si porta la soluzione a 0 °C e si aggiungono, lentamente, 0.204 g (5.41 mmoli) di NaBH<sub>4</sub>. Si lascia proseguire la reazione 10 minuti a 0 °C e 1 ora a temperatura ambiente. Si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 7/3 cicloesano/etile acetato).

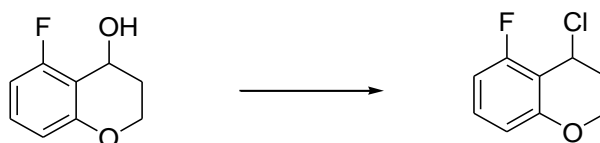
Si evapora il metanolo e il residuo secco viene ripartito in etile acetato e acqua. La fase organica viene lavata 3 volte con acqua; si anidrificata con sodio solfato, si filtra e si porta a

secco, fino ad ottenere 0.3 g di un residuo oleoso arancio corrispondente all'atteso 5-fluoro-croman-4-olo (**92**).

**RESA:** 0.3 g (1.8 mmoli), quantitativa.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.90-2.16 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-3), 2.27 (s allargato, 1H, OH), 4.24 (dd, 2H, J= 3.9, 7.1; CH<sub>2</sub>-2), 4.72 (t, 1H, J= 3.9, CH-4), 6.54 (dd, 1H, J= 2.5, 10.4; CH-8), 6.64 (ddd, 1H, J= 2.5, 8.4, 8.5; CH-6), 7.23 (dd, 1H, J= 6.7, 8.4; CH-7).

### SINTESI DEL 4-CLORO-5-FLUORO-CROMANO (**93**)

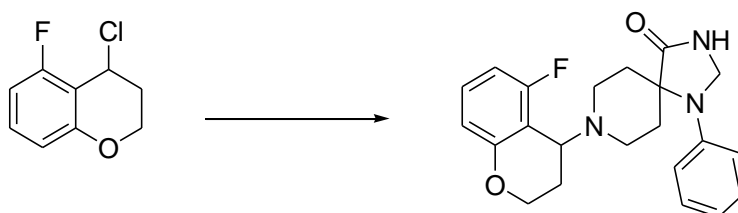


0.3 g (1.8 mmoli) di 5-fluoro-croman-4-olo (**92**) vengono solubilizzati in 7 mL di diclorometano. Si porta la soluzione a 0 °C e si aggiungono, goccia a goccia, 0.39 mL (5.4 mmoli) di tionilcloruro. Si lascia procedere la reazione a temperatura ambiente. Dopo 1 ora e 30 minuti si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 7/3 cicloesano/etile acetato). La fase organica di diclorometano viene lavata 3 volte con acqua ghiacciata; si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.35 g di un residuo oleoso scuro corrispondente all'atteso 4-cloro-5-fluoro-cromano (**93**).

**RESA:** 0.35 g (1.8 mmoli), quantitativa.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** 2.24-2.56 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-3), 4.29-4.54 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-2), 5.21 (t, 1H, J= 2.9; CH-4), 6.55 (dd, 1H, J= 2.5, 10.2; CH-8), 6.65 (ddd, 1H, J= 2.5, 8.3, 8.4, CH-6), 7.26 (dd, 1H, J=6.5, 8.4, CH-7).

### SINTESI DEL 8-(5-FLUORO-CROMAN-4-IL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA- SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (**34**)



In un pallone a 2 colli da 50 mL si introducono 0.33 g (1.77 mmoli) di 4-cloro-5-fluorocromano (**93**), 0.612 g (2.65 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one, 0.978 g (7.1 mmoli) di potassio carbonato e 0.295 g (1.77 mmoli) di potassio ioduro, in 15 mL di acetonitrile. Si lascia proseguire la reazione a reflusso sotto agitazione elettromagnetica per circa 5 ore, controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 3/7 cicloesano/etile acetato). Al termine, si evapora l'acetonitrile a pressione ridotta e si riprende il residuo secco con etile acetato e acqua. Si effettuano 3 lavaggi con acqua della fase organica. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere un residuo solido bianco di 0.75 g. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente da 60/40 a 50/50 cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.35 g dell'atteso 8-(5-fluoro-croman-4-il)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**34**).

**RESA:** 0.35 g (0.9 mmoli), 52% d. t.

**Punto di fusione:** 97-98 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.64 (m, 1H, CHa-6/CHa-10 tasd), 1.78 (m, 1H, CHa-6/CHa-10 tasd), 1.96-2.02 (m, 1H, CHa-3 cromano), 2.05-2.14 (m, 1H, CHb-3 cromano), 2.54-2.62 (m, 2H, CHb-6/CHb-10 tasd, CHa-7/CHa-9 tasd), 2.78-2.87 (m, 3H, CHb-6/CHb-10 tasd, CHa-7/CHa-9 tasd, CHb-7/CHb-9 tasd), 3.27-3.34 (m, 1H, CHb-7/CHb-9 tasd), 3.89 (dd, 1H, J=5.9, 8.4; CH-4 cromano), 4.07-4.16 (m, 1H, CHa-2 cromano), 4.34-4.39 (m, 1H, CHb-2 cromano), 4.74 (dd, 2H, J= 4.3, 7.7; CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.48 (dd, 1H, J= 2.5, 10.2, CH-8 cromano), 6.61 (ddd, 1H, J= 2.5, 8.4, 8.3; CH-6 cromano), 6.86 (t, 1H, J= 7.3, CH-4 arom. tasd), 6.93 (d, 2H, J= 8.3; CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.31 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.53 (m, 1H, CH-7 cromano), 7.58 (s, 1H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 21.20 (C-3 cromano), 29.11 (C-6/C-10 tasd), 29.54 (C-6/C-10 tasd), 42.19 (C-7/C-9 tasd), 47.84 (C-7/C-9 tasd), 58.19 (C-4 cromano), 59.15 (C-5 tasd), 59.18 (C-2 tasd), 65.38 (C-2 cromano), 103.47 (C-8 cromano), 107.34 (C-6 cromano), 114.51 (C-2, C-6 arom. tasd), 118.36 (C-4 arom. tasd), 119.46 (C-4a cromano), 129.03 (C-3, C-5 arom. tasd), 129.41 (C-7 cromano), 142.94 (C-1 arom. tasd), 156.43 (C-8a cromano), 156.54 (C-5 cromano), 178.40 (CO tasd).

tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.313 g.

**RESA:** 0.313 g (0.7 mmoli), 94% d. t.

**Punto di fusione:** 141-142 °C.

**Anal. Elem. C, H, N** per  $C_{24}H_{26}FN_3O_6$ : calcolato C, 61.14; H, 5.54; N, 8.91; trovato C, 60.66; H, 5.55; N, 8.50.

**QTOF:** massa esatta per  $C_{22}H_{25}FN_3O_2^+ [M+H]^+$  = calcolata 382.1925;

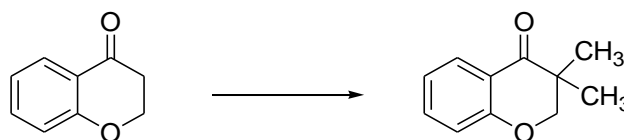
trovata 382.1928;

(Dev.= + 0.65 ppm)

**$^1H$ -NMR (200MHz, DMSO):**  $\delta$  1.70 (m, 2H, CHa-6/CHa-10 tasd), 2.08 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-3 cromano), 2.57-2.80 (m, 2H, CHb-6/CHb-10 tasd, CHa-7/CHa-9 tasd), 3.05-3.17 (m, 2H, CHa-7/CHa-9 tasd, CHb-7/CHb-9 tasd), 3.50 (m, 1H, CHb-7/CHb-9 tasd), 4.15-4.40 (m, 3H, CH-4 cromano, CH<sub>2</sub>-2 cromano), 4.59 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.66 (dd, 1H, J= 2.6, 10.5, CH-8 cromano), 6.74-6.84 (m, 2H, CH-4 arom. tasd; C-6 cromano), 6.93 (d, 2H, J= 8.2; CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.26 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.58 (m, 1H, CH-7 cromano), 8.77 (s, 1H, ac. ossalico).

tasd = triazaspirodecanone

### SINTESI DEL 3,3-DIMETIL-CROMANO (94)<sup>131</sup>



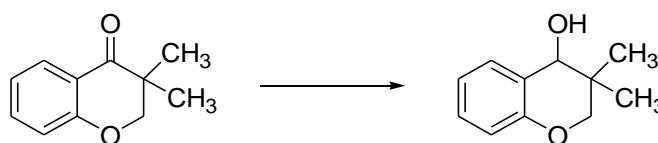
Ad una soluzione di 4-cromanone (0.5 g, 3.37 mmoli) e iodometano (2.1 mL, 16.8 mmoli) in 15 mL di tetraidrofurano a -70° C, viene aggiunta goccia a goccia una sospensione di potassio-*tert*-butossido (0.6 g, 16.8 mmoli) in 5 mL di tetraidrofurano. Si lascia proseguire la reazione a -70° C per circa 30 minuti e a temperatura ambiente per altre 24 ore. Al termine, si evapora il tetraidrofurano e il residuo secco ottenuto viene ripartito in etile acetato e acqua. La fase acquosa viene estratta 3 volte con etile acetato; si anidifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere un residuo oleoso giallino di 0.53 g. Il grezzo viene

purificato viene purificato mediante flash cromatografia su gel di silice, utilizzando come miscela eluente 97/3 cicloesano/etile acetato). Si ottengono 0.15 g dell'atteso 3,3-dimetil-cromano (**94**).

**RESA:** 0.15 g (0.85 mmoli), 63% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.21 (6H, s, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 4.15 (2H, s, CH<sub>2</sub>-2), 6.94-7.06 (2H, m, CH-6, CH-8), 7.47 (1H, m, CH-7), 7.91 (1H, dd, J= 1.2, 7.5, CH-5).

### SINTESI DEL 3,3-DIMETIL-CROMAN-4-OLO (**95**)



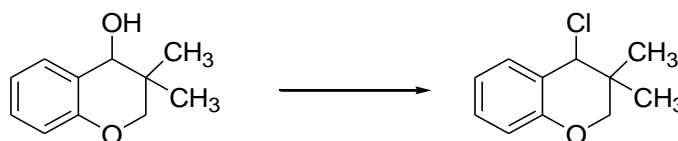
0.2 g (1.13 mmoli) di 3,3-dimetil-cromano (**94**) vengono solubilizzati in 7 mL di metanolo anidro. Si porta la soluzione a 0 °C e si aggiungono, a piccole aliquote, 0.171 g (4.5 mmoli) di NaBH<sub>4</sub>. Dopo 1 ora a temperatura ambiente si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica (TLC miscela eluente: 9/1 cicloesano/etile acetato).

Si evapora il metanolo e il residuo secco viene ripartito in etile acetato e acqua. La fase organica viene lavata 3 volte con acqua; si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.195 g di un residuo oleoso giallo corrispondente all'atteso 3,3-dimetil-croman-4-olo (**95**).

**RESA:** 0.195 g (1.1 mmoli), 96 % d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 0.92 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.00 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.08 (s allargato, 1H, OH), 3.71 (dd, 1H, J= 1.0, 10.5; CHa-2), 3.92 (d, 1H, J= 10.5; CHb-2), 4.18 (s, 1H, CH-4), 6.80 (dd, 1H, J= 0.5, 8.0; CH-8), 6.90 (m, 1H, CH-6), 7.17 (m, 1H, CH-7), 7.28 (dd, 1H, J= 1.0, 7.5, CH-5).

### SINTESI DEL 4-CLORO-3,3-DIMETIL-CROMANO (**96**)



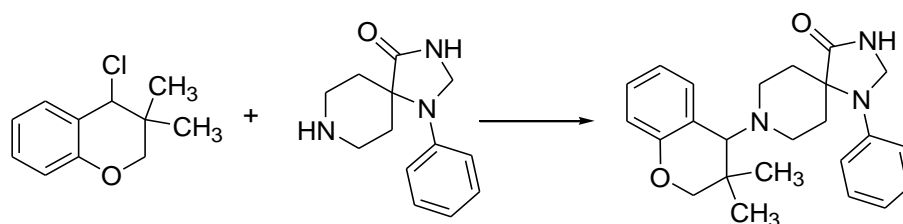
0.20 g (1.13 mmoli) di 3,3-dimetil-croman-4-olo (**95**) vengono solubilizzati in 10 mL di diclorometano. Si porta la soluzione a 0 °C e si aggiungono, goccia a goccia, 0.12 mL (1.70

mmoli) di tionilcloruro. Si lascia procedere la reazione a temperatura ambiente. Dopo 24 ore si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 9/1 cicloesano/etile acetato). La fase organica di diclorometano viene lavata 3 volte con acqua ghiacciata; si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.13 g di un residuo viscoso giallo corrispondente all'atteso 4-cloro-cromano.

**RESA:** 0.13 g (0.66 mmoli), 58% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** 1.11 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.18 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 3.75 (m, 1H, CHa-2), 4.18 (m, 1H, CHb-2), 4.82 (s, 1H, CH-4), 6.83 (d, 1H, J= 8.2; CH-8), 6.96 (t, 1H, J= 7.7, CH-6), 7.21 (m, 1H, CH-7), 7.32 (d, 1H, J= 7.7, CH-5).

#### SINTESI DEL 8-(3,3-DIMETIL-CROMAN-4-IL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (35)



In un pallone a 2 colli da 50 mL si introducono 0.13 g (0.66 mmoli) di 4-cloro-3,3-dimetil-cromano (**96**), 0.23 g (0.99 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one, 0.36 g (2.6 mmoli) di potassio carbonato e 0.11 g (0.66 mmoli) di potassio ioduro, in 10 mL di acetonitrile. Si lascia proseguire la reazione a refluxo sotto agitazione elettromagnetica per circa 8 ore, controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 95/5 diclorometano/metanolo). Al termine, si evapora l'acetonitrile e si riprende il residuo secco con etile acetato e acqua. Si effettuano 3 lavaggi con acqua della fase organica. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere un residuo solido bianco. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente 50/50 cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.095 g dell'atteso 8-(3,3-dimetil-croman-4-il)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**35**).

**RESA:** 0.095g (0.24 mmoli), 36% d. t.

**Punto di fusione:** 230-232 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 0.94 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.16 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.57 (m, 1H, CHa-6/CHa-10 tasd), 1.66 (m, 1H, CHa-6/CHa-10 tasd), 2.34 (m, 1H, CHa-7/CHa-9 tasd), 2.62 (m, 1H, CHb-6/CHb-10 tasd), 2.75 (m, 2H, CHb-6/CHb-10 tasd, CHa-7/CHa-9 tasd), 2.92 (m, 1H, CHb-7/CHb-9 tasd), 3.29 (s, 1H, CH-4 dmc), 3.45 (m, 1H, CHb-7/CHb-9 tasd), 3.70 (d, 1H, J= 10.6, CHa-2 dmc), 3.95 (d, 1H, J= 10.6, CHb-2 dmc), 4.71 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.78-6.92 (m, 5H, CH-6, CH-8 dmc; CH-2, CH-4, CH-6 arom. tasd), 7.13 (m, 1H, CH-7 dmc), 7.18 (dd, 1H, 7.5; CH-5 dmc), 7.27 (dd, 2H, J= 7.6, 8.2; CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.77 (s, 1H, NH).

dmc= dimetilcromano; tasd = triazaspirodecanone

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 21.51 (CH<sub>3</sub>), 24.19 (CH<sub>3</sub>), 29.73 (C-6, C-10 tasd), 34.81 (C-3 dmc), 48.24 (C-7/C-9 tasd), 52.41 (C-7/C-9 tasd), 59.08 (C-2 tasd), 59.20 (C-5 tasd), 67.70 (C-4 dmc), 72.14 (C-2 dmc), 114.26 (C-2, C-6 arom. tasd), 115.93 (C-8 dmc), 118.05 (C-4 arom. tasd), 119.59 (C-6 dmc), 120.93 (C-4a dmc), 128.17 (C-7 dmc), 128.95 (C-3, C-5 arom. tasd), 131.21 (C-5 dmc), 142.99 (C-1 arom. tasd), 155.69 (C-8a dmc), 178.57 (CO tasd).

dmc= dimetilcromano; tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con diclorometano.

Ottenuti 0.04 g.

**RESA:** 0.04 g (0.083 mmoli), 41% d. t.

**Punto di fusione:** 80-81 °C.

**Anal. Elem. C, H, N** per C<sub>26</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>·(COOH)<sub>2</sub>: calcolato C, 58.84; H, 5.82; N, 7.35; trovato C, 58.79; H, 5.44; N, 7.16.

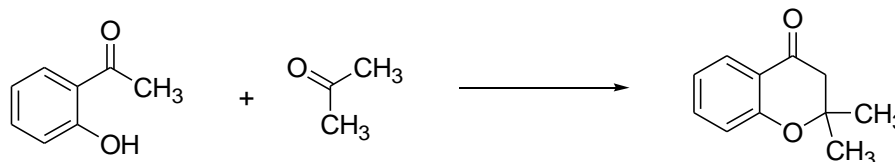
**QTOF:** massa esatta per C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> = calcolata 392.2333;  
trovata 392.2319;  
(Dev.= + 3.33 ppm)

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO):** δ 0.88 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.15 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.45-1.61 (m, 2H, CHa-6, CHa-10 tasd), 2.31-2.99 (m, 5H, 2·CHa-7/CHa-9 tasd, 2·CHb-6/CHb-10 tasd, CHb-7/CHb-9 tasd), 3.48 (m, 2H, CHb-7/CHb-9 tasd, CH-4 dmc), 3.74 (d, 1H, J= 10.9, CHa-2 dmc), 3.92 (d, 1H, J= 10.9, CHb-2 dmc), 4.55 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.72-6.93 (m, 5H, CH-

6/CH-8 dmc; CH-2, CH-4, CH-6 arom. tasd, NH), 7.13-7.27 (m, 5H, CH-5, CH-7 dmc, CH-6/CH-8 dmc, CH-3, CH-5 arom. tasd), 8.58 (s, 1H, ac.ossalico).

dmc= dimetilcromano; tasd = triazaspirodecanone

### SINTESI DEL 2,2-DIMETIL-CROMAN-4-ONE (97)<sup>132</sup>

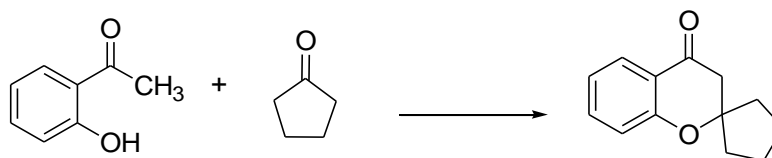


Ad una soluzione di 2-idrossiacetofenone (0.5 g, 3.7 mmoli) in etanolo si aggiungono 0.79 mL (10.8 mmoli) di acetone e 0.9 mL (10.8 mmoli) di pirrolidina. La reazione è condotta a refluxo per 12 ore. Al termine, alla miscela di reazione si aggiunge acqua ghiacciata e HCl 1 N. La fase acquosa viene estratta 3 volte con etile acetato e, successivamente, la fase organica viene lavata 2 volte con NaOH 1 N e anidrificata con sodio solfato. Si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.6 g di un residuo oleoso scuro, corrispondente all'atteso 2,2-dimetilcroman-4-one (97).

**RESA:** 0.6 g (3.4 mmoli), 94% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.47 (s, 6H, (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 2.73 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-3 crom), 6.91-6.97 (m, 2H, CH-6, CH-8 crom), 7.47 (ddd, 1H, J= 1.7, 7.3, 8.2, CH-7 crom), 7.86 (dd, 1H, J=1.5, 7.8; CH-5 crom).

### SINTESI DELLO SPIRO [CROMAN-2,1'-CICLOPENTAN]-4-ONE (98)<sup>132</sup>



Ad una soluzione di 2-idrossiacetofenone (0.5 g, 3.7 mmoli) in etanolo si aggiungono 0.95 mL (10.8 mmoli) di ciclopentanone e 0.9 mL (10.8 mmoli) di pirrolidina. La reazione è condotta a refluxo per 5 ore. Al termine, alla miscela di reazione si aggiunge acqua ghiacciata e HCl 1 N. La fase acquosa viene estratta 3 volte con etile acetato e, successivamente, la fase organica viene lavata 2 volte con NaOH 1 N e anidrificata con sodio solfato. Si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 1.2 g di un residuo oleoso marrone. Il grezzo viene cromatografato

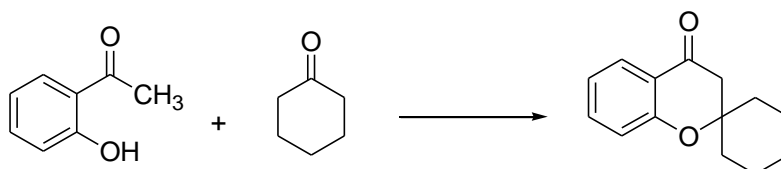
per allontanare il cicloesano residuo (miscela eluente 99/1 cicloesano/etile acetato). Si ottengono 0.81 g dell'atteso spiro [croman-2,1'-ciclopentan]-4-one (**98**), sotto forma di liquido giallo.

**RESA:** 0.81 g (4 mmoli), quantitativa.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  1.53-2.36 (m, 8H, (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub> ciclopentano), 2.81 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-3 crom), 6.88-6.99 (m, 2H, CH-6, CH-8 crom), 7.43 (ddd, 1H, J= 1.5, 7.3, 8.2, CH-7 crom), 7.85 (dd, 1H, J=1.5, 7.8; CH-5 crom).

Crom: cromanone

### SINTESI DELLO SPIRO [CROMAN-2,1'-CICLOESAN]-4-ONE (**99**)<sup>132</sup>



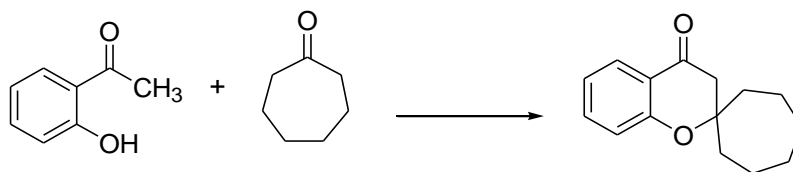
Ad una soluzione di 2-idrossiacetofenone (0.5 g, 3.7 mmoli) in etanolo si aggiungono 1.14 mL (11 mmoli) di cicloesano e 0.78 g (11 mmoli) di pirrolidina. La reazione è condotta a refluxo per 12 ore. Al termine, alla miscela di reazione si aggiunge acqua ghiacciata e HCl 1 N. La fase acquosa viene estratta 3 volte con etile acetato e, successivamente, la fase organica viene lavata 2 volte con NaOH 1 N e anidrificata con sodio solfato. Si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 1.5 g di un residuo oleoso marrone. Il grezzo viene cromatografato per allontanare il cicloesano residuo (miscela eluente 98/2 cicloesano/etile acetato). Si ottengono 0.78 g dell'atteso spiro [croman-2,1'-cicloesano]-4-one (**99**), sotto forma di liquido giallo.

**RESA:** 0.78 g (3.6 mmoli), quantitativa.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  1.34-1.78 (m, 8H, CHa-2', CHa-6', CH<sub>2</sub>-3', CH<sub>2</sub>-4', CH<sub>2</sub>-5' cicloesano), 1.99 (m, 2H, CHb-2', CHb-6' cicloesano), 2.69 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-3 crom), 6.91-6.99 (m, 2H, CH-6, CH-8 crom), 7.45 (ddd, 1H, J= 1.8, 7.3, 8.2, CH-7 crom), 7.82 (dd, 1H, J=1.8, 8.2; CH-5 crom).

crom: cromanone

### SINTESI DELLO SPIRO[CROMAN-2,1'-CICLOEPTAN]-4-ONE (**100**)<sup>132</sup>



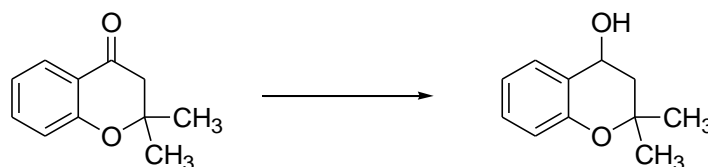
Ad una soluzione di 2-idrossiacetofenone (0.5 g, 3.7 mmoli) in etanolo si aggiungono 0.68 mL (6.1 mmoli) di cicloeptanone e 0.54 mL (6.5 mmoli) di pirrolidina. La reazione è condotta a refluxo per 22 ore. Al termine, alla miscela di reazione si aggiunge acqua ghiacciata e HCl 1 N. La fase acquosa viene estratta 3 volte con etile acetato e, successivamente, la fase organica viene lavata 2 volte con NaOH 1 N e anidrificata con sodio solfato. Si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.75 g di un residuo oleoso marrone. Il grezzo viene cromatografato per allontanare il cicloesano residuo (miscela eluente 99/1 cicloesano/etile acetato). Si ottengono 0.45 g dell'atteso spiro[croman-2,1'-cicloeptan]-4-one (**100**), sotto forma di liquido giallo.

**RESA:** 0.75 g (1.95 mmoli), 54% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  1.42-1.82 (m, 10H, CHa-2', CHa-7', (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub> cicloeptano), 2.72 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-3 crom), 6.90-6.97 (m, 2H, CH-6, CH-8 crom), 7.44 (m, 1H, CH-7 crom), 7.82 (dd, 1H, J=1.7, 8.2; CH-5 crom).

Crom: cromanone

### SINTESI DEL 2,2-DIMETIL-CROMAN-4-OLO (**101**)



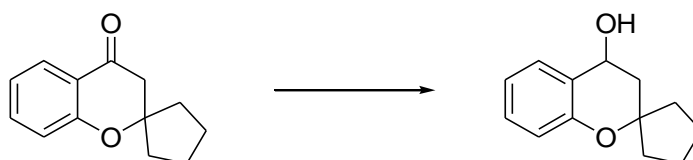
0.4 g (2.27 mmoli) di 2,2-dimetil-croman-4-one (**97**) vengono solubilizzati in 10 mL di metanolo anidro. Si porta la soluzione a 0 °C e si aggiungono, lentamente, 0.257 g (6.81 mmoli) di NaBH<sub>4</sub>. Si lascia proseguire la reazione 30 minuti a 0 °C e 1 ora a temperatura ambiente. Si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 9/1 cicloesano/etile acetato). Si evapora il metanolo e il residuo secco viene

ripartito in etile acetato e acqua. La fase organica viene lavata 3 volte con acqua; si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.40 g di un residuo oleoso giallo corrispondente all'atteso 2,2-dimetil-croman-4-olo (**101**).

**RESA:** 0.4 g (2.24 mmoli), quantitativa.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.32 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.45 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.86 (dd, 1H, J= 8.7, 13.4; CHa-3 cromanolo), 2.17 (dd, 1H, J= 6.0, 13.4; CHb-3 cromanolo), 4.84 (m, 1H, CH-4 cromanolo), 6.80 (d, 1H, J= 8.2, CH-8 cromanolo), 6.93 (ddd, 1H, J= 0.8, 7.1, 7.7; CH-6 cromanolo), 7.18 (ddd, 1H, J= 1.3, 7.1, 8.2, CH-7 cromanolo), 7.45 (dd, 1H, J= 8.2; CH-5 cromanolo).

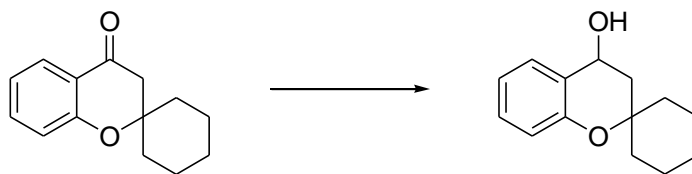
### SINTESI DEL 3,4-DIIDRO-SPIRO[CROMAN-2,1'-CICLOPENTIL]-4-OLO (**102**)



0.4 g (1.97 mmoli) di spiro[croman-2,1'-ciclopentan]-4-one (**98**) vengono solubilizzati in 10 mL di metanolo anidro. Si porta la soluzione a 0 °C e si aggiungono, lentamente, 0.223 g (5.91 mmoli) di NaBH<sub>4</sub>. Si lascia proseguire la reazione 30 minuti a 0 °C e 1 ora a temperatura ambiente. Si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 9/1 cicloesano/etile acetato). Si evapora il metanolo e il residuo secco viene ripartito in etile acetato e acqua. La fase organica viene lavata 3 volte con acqua; si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.40 g di un residuo oleoso incolore corrispondente all'atteso 3,4-diidro-spiro[croman-2,1'-ciclopentil]-4-olo (**102**).

**RESA:** 0.4 g (1.9 mmoli), quantitativa.

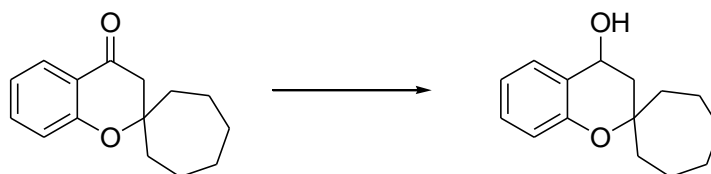
**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.68-2.17 (m, 10H, CH<sub>2</sub>-3 cromanolo, (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub> ciclopentano), 4.82 (m, 1H, CH-4 cromanolo), 6.77 (d, 1H, J= 8.2, CH-8 cromanolo), 6.90 (ddd, 1H, J= 0.8, 7.6, 8.2; CH-6 cromanolo), 7.16 (ddd, 1H, J= 1.2, 7.1, 8.2; CH-7 cromanolo), 7.42 (d, 1H, J=7.6; CH-5 cromanolo).

**SINTESI DEL 3,4-DIIDRO-SPIRO[CROMAN-2,1'-CICLOESIL]-4-OLO (103)**

0.4 g (1.84 mmoli) di spiro[croman-2,1'-cicloesano]-4-one (**99**) vengono solubilizzati in 10 mL di metanolo anidro. Si porta la soluzione a 0 °C e si aggiungono, lentamente, 0.210 g (5.55 mmoli) di NaBH<sub>4</sub>. Si lascia proseguire la reazione 30 minuti a 0 °C e 1 ora a temperatura ambiente. Si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 9/1 cicloesano/etile acetato). Si evapora il metanolo e il residuo secco viene ripartito in etile acetato e acqua. La fase organica viene lavata 3 volte con acqua; si anidrififica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.40 g di un residuo oleoso incolore corrispondente all'atteso 3,4-diidro-spiro[croman-2,1'-cicloesil]-4-olo (**103**).

**RESA:** 0.4 g (1.8 mmoli), quantitativa.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.32-1.93 (m, 11H, CHa-3 cromanolo, (CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub> cicloesano), 2.18 (dd, 1H, J= 6.2, 13.4; CHb-3 cromanolo), 4.81 (m, 1H, CH-4 cromanolo), 6.82-6.94 (m, 2H, CH-8, CH-6 cromanolo), 7.18 (ddd, 1H, J= 1.2, 7.2, 8.3, CH-7 cromanolo), 7.43 (d, 1H, J=7.5; CH-5 cromanolo).

**SINTESI DEL 3,4-DIIDRO-SPIRO[CROMAN-2,1'-CICLOEPTIL]-4-OLO (104)**

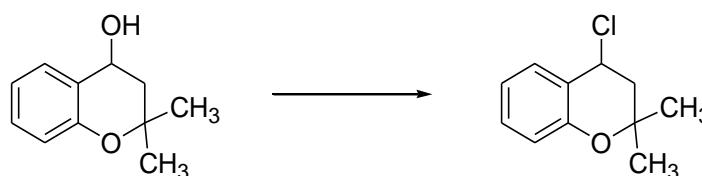
0.45 g (1.95 mmoli) di spiro[croman-2,1'-cicloeptan]-4-one (**100**) vengono solubilizzati in 10 mL di metanolo anidro. Si porta la soluzione a 0 °C e si aggiungono, lentamente, 0.22 g (5.86 mmoli) di NaBH<sub>4</sub>. Si lascia proseguire la reazione 30 minuti a 0 °C e 1 ora a temperatura ambiente. Si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 9/1 cicloesano/etile acetato). Si evapora il metanolo e il residuo secco viene

ripartito in etile acetato e acqua. La fase organica viene lavata 3 volte con acqua; si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.445 g di un residuo oleoso giallo corrispondente all'atteso 3,4-diidro-spiro[croman-2,1'-cicloeptil]-4-olo (**104**).

**RESA:** 0.445 g (1.91 mmoli), 98% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.44-2.01 (m, 14H, (CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub> cicloeptano, CHa-3 cromanolo, OH scambiabile con D<sub>2</sub>O), 2.29 (dd, 1H, J= 5.3, 13.1, CHb-3 cromanolo), 4.81 (m, 1H, CH-4 cromanolo), 6.81 (d, 1H, J= 8.1, CH-8 cromanolo), 6.92 (m, 1H, CH-6 cromanolo), 7.18 (m, 1H, CH-7 cromanolo), 7.45 (d, 1H, J= 7.5; CH-5 cromanolo).

#### SINTESI DEL 4-CLORO-2,2-DIMETIL-CROMANO (**105**)

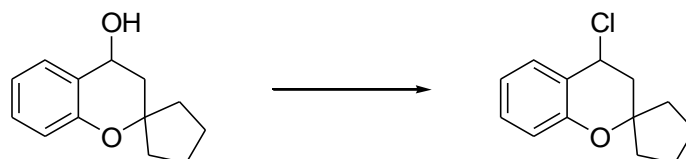


0.40 g (2.24 mmoli) di 2,2-dimetil-croman-4-olo (**101**) vengono solubilizzati in 10 mL di diclorometano. Si porta la soluzione a 0 °C e si aggiungono, goccia a goccia, 0.49 mL (6.73 mmoli) di tionilcloruro. Si lascia procedere la reazione a temperatura ambiente. Dopo 2 ore si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 9/1 cicloesano/etile acetato). La fase organica di diclorometano viene lavata 3 volte con acqua ghiacciata e sodio bicarbonato; si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.44 g di un residuo oleoso scuro corrispondente all'atteso 4-cloro-2,2-dimetil-cromano.

**RESA:** 0.44 g (2.24 mmoli), quantitativa.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.34 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.50 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.23-2.43 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-3 cromano), 5.27 (m, 1H, CH-4 cromano), 6.81 (d, 1H, J= 8.2, CH-8 cromano), 6.95 (ddd, 1H, J= 1.2, 7.3, 7.8; CH-6 cromano), 7.20 (ddd, 1H, J= 1.2, 7.3, 8.2, CH-7 cromano), 7.51 (d, 1H, J= 7.8; CH-5 cromano).

### SINTESI DEL 4-CLORO-3,4-DIIDRO-SPIRO[CROMAN-2,1'-CICLOPENTANO] (106)

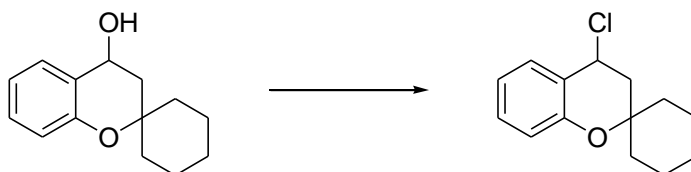


0.41 g (1.97 mmoli) di 3,4-diidro-spiro[croman-2,1'-ciclopentil]-4-olo (**102**) vengono solubilizzati in 10 mL di diclorometano. Si porta la soluzione a 0 °C e si aggiungono, goccia a goccia, 0.43 mL (5.91 mmoli) di tionilcloruro. Si lascia procedere la reazione a temperatura ambiente. Dopo 2 ore si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 9/1 cicloesano/etile acetato). La fase organica di diclorometano viene lavata 3 volte con acqua ghiacciata e sodio bicarbonato; si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.37 g di un residuo oleoso marrone corrispondente all'atteso 4-cloro-3,4-diidro-spiro[croman-2,1'-ciclopentano] (**106**).

**RESA:** 0.37 g (1.66 mmoli), 84% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.59-2.17 (m, 8H, (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub> ciclopentano), 2.37-2.56 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-3 cromano), 4.29 (m, 1H, CH-4 cromano), 6.79 (d, 1H, J= 8.2, CH-8 cromano), 6.94 (ddd, 1H, J= 1.2, 7.3, 7.8; CH-6 cromano), 7.19 (ddd, 1H, J= 1.2, 7.3, 8.2, CH-7 cromano), 7.48 (d, 1H, J= 7.8; CH-5 cromano).

### SINTESI DEL 4-CLORO-3,4-DIIDRO-SPIRO[CROMAN-2,1'-CICLOESANO] (107)



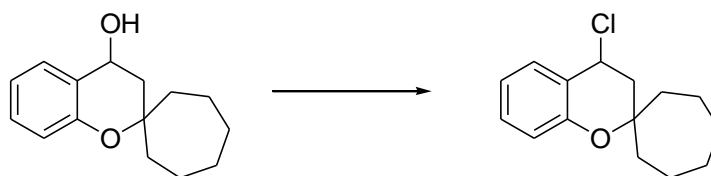
0.4 g (1.84 mmoli) di 3,4-diidro-spiro[croman-2,1'-cicloesil]-4-olo (**103**) vengono solubilizzati in 10 mL di diclorometano. Si porta la soluzione a 0 °C e si aggiungono, goccia a goccia, 0.59 mL (8.3 mmoli) di tionilcloruro. Si lascia procedere la reazione a temperatura ambiente. Dopo 16 ore si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 9/1 cicloesano/etile acetato). La fase organica di

diclorometano viene lavata 3 volte con acqua ghiacciata e sodio bicarbonato; si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.12 g di un residuo oleoso marrone corrispondente all'atteso 4-cloro-3,4-diidro-spiro[croman-2,1'-cicloesano] (**107**).

**RESA:** 0.12 g (0.5 mmoli), 27% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  1.29-2.06 (m, 10H, (CH<sub>2</sub>)<sub>5</sub> cicloesano), 2.27 (dd, 1H, J= 8.0, 14.0; CHa-3 cromano), 2.41 (dd, 1H, J= 6.5, 14.0; CHb-3 cromano), 5.27 (m, 1H, CH-4 cromano), 6.81-7.00 (m, 2H, CH-8 cromano, CH-6 cromano), 7.20 (m, 1H, CH-7 cromano), 7.49 (d, 1H, J=7.7; CH-5 cromano).

#### SINTESI DEL 4-CLORO-3,4-DIIDRO-SPIRO[CROMAN-2,1'-CICLOEPTANO] (**108**)

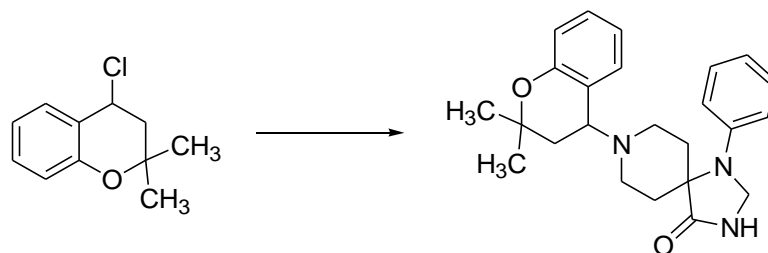


0.445 g (1.95 mmoli) di 3,4-diidro-spiro[croman-2,1'-cicloeptil]-4-olo (**104**) vengono solubilizzati in 10 mL di diclorometano. Si porta la soluzione a 0 °C e si aggiungono, goccia a goccia, 0.42 mL (5.85 mmoli) di tionilcloruro. Si lascia procedere la reazione a temperatura ambiente. Dopo 3 ore si accerta il completamento della reazione tramite analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 9/1 cicloesano/etile acetato). La fase organica di diclorometano viene lavata 3 volte con acqua ghiacciata e sodio bicarbonato; si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.49 g di un residuo oleoso rossastro corrispondente all'atteso 4-cloro-3,4-diidro-spiro[croman-2,1'-cicloeptano] (**108**).

**RESA:** 0.49 g (1.95 mmoli), quantitativa.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  1.40-2.06 (m, 12H, (CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub> cicloeptano), 2.25 (dd, 1H, J= 9.0, 14.0; CHa-3 cromano), 2.48 (dd, 1H, J= 6.4, 14.0; CHb-3 cromano), 5.24 (dd, 1H, J= 6.4, 9.0; CH-4 cromano), 6.80 (dd, 1H, J= 0.9, 8.2, CH-8 cromano), 6.93 (ddd, 1H, J= 1.2, 7.3, 7.8; CH-6 cromano), 7.19 (ddd, 1H, J= 1.2, 7.3, 8.2, CH-7 cromano), 7.50 (d, 1H, J=7.8; CH-5 cromano).

**SINTESI DEL 8-(2,2-DIMETIL-CROMAN-4-IL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (36)**



In un pallone a 2 colli da 50 mL si introducono 0.25 g (1.27 mmoli) di 4-cloro-2,2-dimetilcromano (**105**), 0.44 g (1.90 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one, 0.702 g (5.08 mmoli) di potassio carbonato e 0.21 g (1.27 mmoli) di potassio ioduro, in 20 mL di acetonitrile. Si lascia proseguire la reazione a refluxo sotto agitazione elettromagnetica per circa 12 ore, controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 3/7 cicloesano/etile acetato). Al termine, si evapora l'acetonitrile e si riprende il residuo secco con etile acetato e acqua. Si effettuano 3 lavaggi con acqua della fase organica. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 1 g di un residuo oleoso giallo. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente da 90/10 a 20/80 cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.21 g dell'atteso 8-(2,2-dimetilcroman-4-il)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**36**).

**RESA:** 0.21g (0.53 mmoli), 42% d. t.

**Punto di fusione:** 224-225 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.24 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.44 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.61 (m, 1H, CHa-6/CHa-10 tasd), 1.78-1.83 (m, 2H, CHa-3 dmc, CHa-6/CHa-10 tasd), 1.86-1.93 (m, 1H, CHb-3 dmc), 2.46-2.49 (m, 1H, CHa-7/CHa-9 tasd), 2.62 (ddd, 1H, J= 5.1, 10.1, 12.3; CHb-6/CHb-10 tasd), 2.78-2.93 (m, 3H, CHb-6/CHb-10 tasd, CHa-7/CHa-9 tasd, CHb-7/CHb-9 tasd), 3.32-3.39 (m, 1H, CHb-7/CHb-9 tasd), 4.02 (dd, 1H, J=6.0, 11.8; CH-4 dmc), 4.74 (dd, 2H, J= 4.2, 10.1; CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.75 (d, 1H, J= 8.1, CH-8 dmc), 6.84-6.92 (m, 2H, CH-6 dmc, CH-4 arom. tasd), 6.97 (d, 2H, J= 8.4; CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.11 (ddd, 1H, J= 1.2, 7.7, 8.2; CH-7 dmc), 7.28 (s, 1H, NH), 7.33 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.70 (d, 1H, J= 7.7; CH-5 dmc).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 24.01 (CH<sub>3</sub>), 29.07 (C-6/C-10 tasd), 29.62 (C-6/C-10 tasd), 30.39 (CH<sub>3</sub>, C-3 dmc), 41.34 (C-7/C-9 tasd), 48.06 (C-7/C-9 tasd), 56.78 (C-4 dmc), 59.04 (C-

2 tasd), 59.15 (C-5 tasd), 75.09 (C-2 dmc), 114.28 (C-2, C-6 arom. tasd), 116.91 (C-8 dmc), 118.16 (C-4 arom. tasd), 119.78 (C-6 dmc), 122.67 (C-4a dmc), 127.09 (C-5 dmc), 127.81 (C-7 dmc), 129.03 (C-3, C-5 arom. tasd), 142.94 (C-1 arom. tasd), 154.47 (C-8a dmc), 178.33 (CO tasd).

dmc= dimetilcromano

tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.158 g.

**RESA:** 0.158 g (0.33 mmoli), quantitativa.

**Punto di fusione:** 148-149 °C.

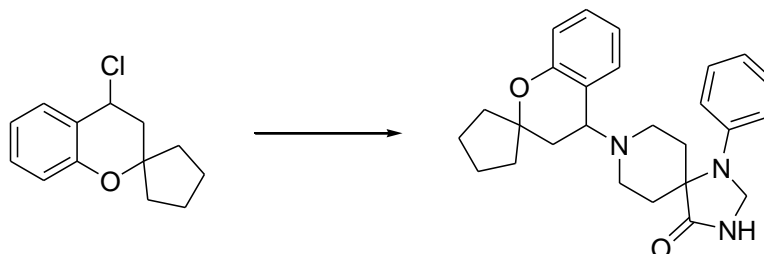
**Anal. Elem. C, H, N** per  $C_{26}H_{31}N_3O_6$ :calcolato C, 64.85; H, 6.49; N, 8.73; trovato C, 64.42; H, 6.99; N, 8.71.

**QTOF:** massa esatta per  $C_{24}H_{30}N_3O_2^+ [M+H]^+$  = calcolata 392.2333;  
trovata 392.2336;  
(Dev.= + 0.81 ppm)

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO):** δ 1.20 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.44 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 1.58-1.83 (m, 3H, CHa-6/CHa-10 tasd, CH<sub>2</sub>-3 dmc), 2.03-2.12 (m, 1H, CHa-6/CHa-10 tasd), 2.50-2.54 (m, 2H, CHa-7/CHa-9 tasd, CHb-6/CHb-10 tasd), 2.83 (m, 1H, CHb-6/CHb-10 tasd), 2.99-3.05 (m, 2H, CHa-7/CHa-9 tasd, CHb-7/CHb-9 tasd), 3.43-3.48 (m, 1H, CHb-7/CHb-9 tasd), 4.30 (m, 1H, CH-4 dmc), 4.59 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.72-6.82 (m, 2H, CH-8, CH-6 dmc), 6.91-6.99 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 arom. tasd), 7.11-7.19 (m, 1H, CH-7 dmc), 7.24-7.32 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.68 (d, 1H, J= 7.5; CH-5 dmc), 8.73 (s, 1H, ac.ossalico).

dmc= dimetilcromano; tasd = triazaspirodecanone

**SINTESI DEL 8-SPIRO[CROMAN-2,1'-CICLOPENTIL]-4-IL-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (37)**



In un pallone a 2 colli da 50 mL si introducono 0.25 g (1.12 mmoli) di 4-cloro-3,4-diidrospiro[croman-2,1'-ciclopentano] (**106**), 0.388 g (1.68 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one, 0.62 g (4.48 mmoli) di potassio carbonato e 0.187 g (1.12 mmoli) di potassio ioduro, in 20 mL di acetonitrile. Si lascia proseguire la reazione a reflusso sotto agitazione elettromagnetica per circa 12 ore, controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 3/7 cicloesano/etile acetato). Al termine, si evapora l'acetonitrile e si riprende il residuo secco con etile acetato e acqua. Si effettuano 3 lavaggi con acqua della fase organica. Si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.6 g di un residuo solido bianco. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente da 90/10 a 10/90 cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.25 g dell'atteso 8-spiro[croman-2,1'-ciclopentil]-4-il-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**37**).

**RESA:** 0.25g (0.6 mmoli), 53% d. t.

**Punto di fusione:** 123-124 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.37-1.45 (m, 1H, CHa-2' ciclopent.), 1.59-1.94 (m, 11H, 2×(CHa-6/CHa-10 tasd), CH<sub>2</sub>-3 cromano, CHb-2' ciclopent., (CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub> ciclopent.), 2.48-2.51 (m, 1H, CHa-7/CHa-9 tasd), 2.62 (ddd, 1H, J= 5.1, 12.3, 13.3; CHb-6/CHb-10 tasd), 2.78-2.93 (m, 3H, CHb-6/CHb-10 tasd, CHa-7/CHa-9 tasd, CHb-7/CHb-9 tasd), 3.32-3.38 (m, 1H, CHb-7/CHb-9 tasd), 4.04 (dd, 1H, J=5.4, 11.9; CH-4 cromano), 4.73 (dd, 2H, J= 4.1, 10.0; CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.73 (d, 1H, J= 8.1, CH-8 cromano), 6.84-6.91 (m, 2H, CH-6 cromano, CH-4 arom. tasd), 6.97 (d, 2H, J= 8.2; CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.09 (m, 1H, CH-7 cromano), 7.26-7.34 (m, 3H, CH-3, CH-5 arom. tasd, NH), 7.68 (d, 1H, J= 7.6; CH-5 cromano).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 23.37 (C ciclopent.), 23.89 (C ciclopent.), 28.71 (C-3 cromano), 29.04 (C-6/C-10 tasd), 29.61 (C-6/C-10 tasd), 35.59 (C ciclopent.), 40.09 (C ciclopent.), 41.34 (C-7/C-9 tasd), 48.08 (C-7/C-9 tasd), 57.91 (C-4 cromano), 59.04 (C-2 tasd), 59.16 (C-5 tasd), 86.46 (C-2 cromano), 114.27 (C-2, C-6 arom. tasd), 117.04 (C-8 cromano), 118.13 (C-4 arom. tasd), 119.73 (C-6 cromano), 123.50 (C-4a cromano), 127.06 (C-5 cromano), 127.65 (C-7 cromano), 129.02 (C-3, C-5 arom. tasd), 142.95 (C-1 arom. tasd), 154.60 (C-8a cromano), 178.33 (CO tasd).

tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con diclorometano.

Ottenuti 0.07 g.

**RESA:** 0.07 g (0.14 mmoli), 36% d. t.

**Punto di fusione:** 131-132 °C.

**Anal. Elem. C, H, N:** C<sub>28</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>·(COOH)<sub>2</sub>: calcolato C, 60.29; H, 5.90; N, 7.03; trovato C, 59.84; H, 6.27; N, 7.13.

**QTOF:** massa esatta per C<sub>26</sub>H<sub>32</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> = calcolata 418.2489;

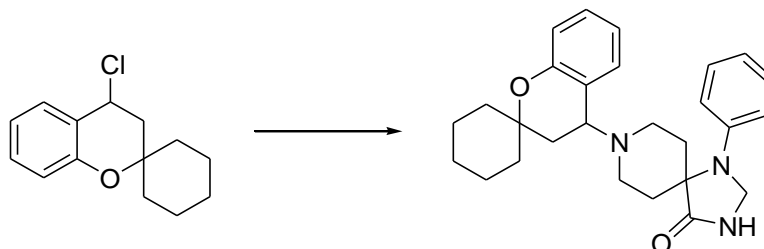
trovata 418.2490;

(Dev.= +0.25 ppm)

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO):** δ 1.65-2.16 (m, 12H, 2×(CHa-6/CHa-10 tasd), CH<sub>2</sub>-3 cromano, (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub> ciclopent.), 2.62 (m, 2H, 2×(CHa-7/CHa-9 tasd)), 2.89 (m, 1H, CHb-6/CHb-10 tasd), 3.25 (m, 2H, CHb-7/CHb-9 tasd, CHb-6/CHb-10 tasd), 3.66 (m, 1H, CHb-7/CHb-9 tasd), 4.60 (s, 3H, CH<sub>2</sub>-2 tasd, CH-4 cromano), 6.76-6.84 (m, 2H, CH-8, CH-6 cromano), 6.96-7.01 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 arom. tasd), 7.16-7.32 (m, 3H, CH-7 cromano, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.70 (d, 1H, J= 7.4; CH-5 cromano), 8.83 (s, 1H, ac.ossalico).

tasd = triazaspirodecanone

## SINTESI DEL 8-SPIRO[CROMAN-2,1'-CICLOESIL]-4-IL-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (38)



In un pallone a 2 colli da 50 mL si introducono 0.1 g (0.42 mmoli) di 4-cloro-3,4-diidrospiro[croman-2,1'-cicloesano] (**107**), 0.145 g (0.63 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one, 0.232 g (1.68 mmoli) di potassio carbonato e 0.07 g (0.42 mmoli) di potassio ioduro, in 20 mL di acetonitrile. Si lascia proseguire la reazione a refluxo sotto agitazione elettromagnetica per circa 4 ore, controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 3/7 cicloesano/etile acetato). Al termine, si evapora l'acetonitrile e si riprende il residuo secco con etile acetato e acqua. Si effettuano 3 lavaggi con acqua della fase organica. Si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.55 g di un residuo solido giallo. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente da 80/20 a 50/50 cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.07 g dell'atteso 8-spiro[croman-2,1'-cicloesil]-4-il-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**38**).

**RESA:** 0.07g (0.16 mmoli), 38% d. t.

**Punto di fusione:** 214-215 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.33-1.38 (m, 3H, 3×CHa cicloes.), 1.55-1.68 (m, 5H, 2×CHb cicloes., CH<sub>2</sub> cicloes., CHa-6/CHa-10 tasd), 1.73-1.87 (m, 5H, CHa-3 cromano, CHa-6/CHa-10 tasd, 3×CHa cicloes.), 1.98 (dd, 1H, J= 5.8, 13.0; CHb-3 cromano), 2.48 (m, 1H, CHa-7/CHa-9 tasd), 2.64 (ddd, 1H, J= 5.1, 12.1, 13.3; CHb-6/CHb-10 tasd), 2.80-2.95 (m, 3H, CHb-6/CHb-10 tasd, CHa-7/CHa-9 tasd, CHb-7/CHb-9 tasd), 3.33-3.38 (m, 1H, CHb-7/CHb-9 tasd), 4.04 (dd, 1H, J=5.6, 11.9; CH-4 cromano), 4.75 (dd, 2H, J= 4.2, 10.5; CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.82 (d, 1H, J= 8.0, CH-8 cromano), 6.85-6.93 (m, 2H, CH-6 cromano, CH-4 arom. tasd), 6.98 (d, 2H, J= 8.2; CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.13 (m, 1H, CH-7 cromano), 7.34 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.70 (d, 1H, J= 7.6; CH-5 cromano), 7.86 (s, 1H, NH).

**$^{13}\text{C-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  21.48 (C cicloes.), 21.54 (C cicloes.), 25.65 (C cicloes.), 29.08 (C-6/C-10 tasd), 29.18 (C-3 cromano), 29.62 (C-6/C-10 tasd), 32.14 (C cicloes.), 38.81 (C cicloes.), 41.38 (C-7/C-9 tasd), 48.11 (C-7/C-9 tasd), 56.05 (C-4 cromano), 59.23 (C-2 tasd, C-5 tasd), 75.81 (C-2 cromano), 114.20 (C-2, C-6 arom. tasd), 117.01 (C-8 cromano), 118.07 (C-4 arom. tasd), 119.76 (C-6 cromano), 123.37 (C-4a cromano), 127.18 (C-5 cromano), 127.75 (C-7 cromano), 129.04 (C-3, C-5 arom. tasd), 142.96 (C-1 arom. tasd), 154.33 (C-8a cromano), 178.72 (CO tasd).

tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.06 g.

**RESA:** 0.04 g (0.12 mmoli), 72% d. t.

**Punto di fusione:** 225-226 °C.

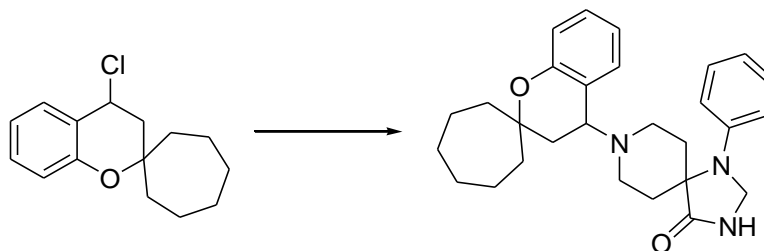
**Anal. Elem. C, H, N** per  $\text{C}_{29}\text{H}_{35}\text{N}_3\text{O}_6$ : calcolato C, 66.78; H, 6.76; N, 8.06; trovato C, 65.31; H, 7.21; N, 7.99.

**QTOF:** massa esatta per  $\text{C}_{27}\text{H}_{34}\text{N}_3\text{O}_2^+$   $[\text{M}+\text{H}]^+ =$  calcolata 432.2646;  
trovata 432.2644;  
(Dev.= + 0.33 ppm)

**$^1\text{H-NMR}$  (200MHz, DMSO):**  $\delta$  1.39-1.78 (m, 14H,  $2\times(\text{CHa-6/CHa-10 tasd})$ , CHa-3 cromano,  $(\text{CH}_2)_5$  cicloes.), 1.98-2.22 (m, 1H, CHb-3 cromano), 2.50-2.60 (m, 1H, CHb-6/CHb-10 tasd, CHa-7/CHa-9 tasd), 2.81 (m, 1H, CHb-6/CHb-10 tasd), 3.08 (m, 2H, CHa-7/CHa-9 tasd, CHb-7/CHb-9 tasd), 3.48-3.49 (m, 1H, CHb-7/CHb-9 tasd), 4.34 (m, 1H, CH-4 cromano), 4.59 (s, 3H,  $\text{CH}_2$ -2 tasd), 6.75-6.82 (m, 2H, CH-8, CH-6 cromano), 6.94-6.98 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 arom. tasd), 7.13-7.32 (m, 3H, CH-7 cromano, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.66 (d, 1H,  $J=7.5$ ; CH-5 cromano), 8.74 (s, 1H, ac.ossalico).

tasd = triazaspirodecanone

### SINTESI DEL 8-SPIRO[CROMAN-2,1'-CICLOEPTIL]-4-IL-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (39)



In un pallone a 2 colli da 50 mL si introducono 0.25 g (0.99 mmoli) di 4-cloro-3,4-diidrospiro[croman-2,1'-cicloeptano] (**108**), 0.344 g (1.49 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triazaspiro[4.5]decan-4-one, 0.55 g (3.98 mmoli) di potassio carbonato e 0.166 g (0.99 mmoli) di potassio ioduro, in 20 mL di acetonitrile. Si lascia proseguire la reazione a refluxo sotto agitazione elettromagnetica per circa 5 ore, controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 3/7 cicloesano/etile acetato). Al termine, si evapora l'acetonitrile a pressione ridotta e si riprende il residuo secco con etile acetato e acqua. Si effettuano 3 lavaggi con acqua della fase organica. Si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.51 g di un residuo solido giallo. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente da 90/10 a 70/30 cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.23 g dell'atteso 8-spiro[croman-2,1'-cicloeptil]-4-il-1-fenil-1,3,8-triazaspiro[4.5]decan-4-one (**39**).

**RESA:** 0.23g (0.49 mmoli), 50% d. t.

**Punto di fusione:** 199-200 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.37-1.85 (m, 13H, 2×CHa cicloept., (CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub> cicloept., 2×CHa-6/CHa-10 tasd, CHa-3 cromano), 1.90-1.99 (m, 2H, 2×CHb cicloept.), 2.06 (dd, 1H, J= 5.6, 13.0; CHb-3 cromano), 2.47 (m, 1H, CHa-7/CHa-9 tasd), 2.63 (ddd, 1H, J= 5.2, 12.3, 13.2; CHb-6/CHb-10 tasd), 2.78-2.94 (m, 3H, CHb-6/CHb-10 tasd, CHa-7/CHa-9 tasd, CHb-7/CHb-9 tasd), 3.33-3.39 (m, 1H, CHb-7/CHb-9 tasd), 3.98 (dd, 1H, J=5.5, 12.1; CH-4 cromano), 4.74 (dd, 2H, J= 4.2, 10.8; CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.77 (d, 1H, J= 8.1, CH-8 cromano), 6.84-6.91 (m, 2H, CH-6 cromano, CH-4 arom. tasd), 6.97 (d, 2H, J= 8.3; CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.10 (m, 1H, CH-7 cromano), 7.33 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.38 (s, 1H, NH), 7.68 (d, 1H, J= 7.6; CH-5 cromano).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 21.58(C cicloept.), 22.15 (C cicloept.), 29.08 (C-6/C-10 tasd), 29.65 (2×C cicloept.), 29.73 (C-6/C-10 tasd), 30.26 (C-3 cromano), 32.15 (C cicloept.), 41.33 (C-7/C-9 tasd), 42.38 (C cicloept.), 48.12 (C-7/C-9 tasd), 56.26 (C-4 cromano), 59.07 (C-5 tasd), 59.16 (C-2 tasd), 80.32 (C-2 cromano), 114.22 (C-2, C-6 arom. tasd), 117.18 (C-8 cromano), 118.10 (C-4 arom. tasd), 119.64 (C-6 cromano), 123.37 (C-4a cromano), 126.98 (C-5 cromano), 127.73 (C-7 cromano), 129.02 (C-3, C-5 arom. tasd), 142.93 (C-1 arom. tasd), 154.42 (C-8a cromano), 178.43 (CO tasd).

tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.122 g.

**RESA:** 0.122 g (0.23 mmoli), 81% d. t.

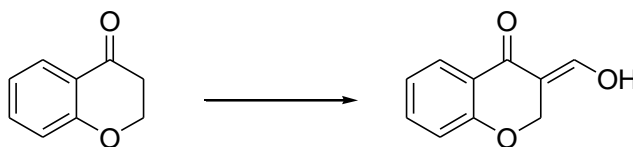
**Punto di fusione:** 208-209 °C.

**Anal. Elem. C, H, N** per C<sub>30</sub>H<sub>37</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>·H<sub>2</sub>O: calcolato C, 65.08; H, 7.10; N, 7.59; trovato C, 64.85; H, 7.50; N, 7.59.

**QTOF:** massa esatta per C<sub>28</sub>H<sub>36</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub><sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> = calcolata 446.2802;  
trovata 446.2799;  
(Dev.= + 0.69 ppm)

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO):** δ 1.45-1.89 (m, 15H, 2×CHa-6/CHa-10 tasd, CHa-3 cromano, (CH<sub>2</sub>)<sub>6</sub> cicloept.), 2.21-2.24 (m, 1H, CHb-3 cromano), 2.34-2.69 (m, 2H, CHb-6/CHb-10 tasd, CHa-7/CHa-9 tasd), 2.84 (m, 1H, CHb-6/CHb-10 tasd), 3.11 (m, 2H, CHa-7/CHa-9 tasd, CHb-7/CHb-9 tasd), 3.53 (m, 1H, CHb-7/CHb-9 tasd), 4.33 (m, 1H, CH-4 cromano), 4.59 (s, 3H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.79 (m, 2H, CH-8, CH-6 cromano), 6.91-6.99 (m, 3H, CH-2, CH-4, CH-6 arom. tasd), 7.12-7.32 (m, 3H, CH-7 cromano, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.67 (d, 1H, J= 7.5; CH-5 cromano), 8.76 (s, 1H, ac.ossalico).

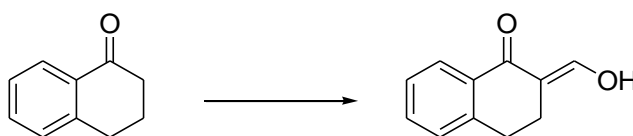
tasd = triazaspirodecanone

**SINTESI DEL 3-IDROSSIMETILENE-CROMAN-4-ONE (109)**<sup>133-136</sup>


In un pallone a 2 colli da 50 mL, precedentemente essiccato in stufa a 120 °C e saturato con flusso d'azoto, si pongono 0.52 g (5.4 mmoli) di sodio *t*-butossido in 5 mL di etere etilico anidro. Si porta tale sospensione a 0 °C; si aggiunge goccia a goccia una soluzione di etilformiato (0.44 mL, 5.4 mmoli) e 4-cromanone (0.4 g, 2.7 mmoli) in etere etilico anidro e 0.5 mL di etanolo. La miscela di reazione assume immediatamente una colorazione arancio intenso e si forma un abbondante precipitato. Si lascia proseguire a 0 °C per circa un'ora. Si accerta il completamento della reazione mediante analisi TLC (miscela eluente: 7/3 cicloesano/etile acetato). La miscela di reazione viene trattata con acqua distillata e si effettuano 3 estrazioni con etile acetato per allontanare il cromanone residuo. Successivamente, la fase acquosa viene acidificata con HCl 10% ed estratta 3 volte con etile acetato. Quest'ultima fase organica viene anidrificata con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.338 g di un residuo solido giallo, corrispondente all'atteso 3-idrossimetilene-croman-4-one (**109**).

**RESA:** 0.338 g (1.9 mmoli), 70% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 4.88 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2), 6.94-7.11 (m, 2H, CH-6, CH-8), 7.47 (ddd, 1H, J= 1.7, 7.5, 8.1, CH-7), 7.71 (s, 1H, =CH-OH), 7.90 (dd, 1H, J=1.7, 7.8; CH-5).

**SINTESI DEL 2-IDROSSIMETILEN-TETRALIN-1-ONE (110)**<sup>133-136</sup>


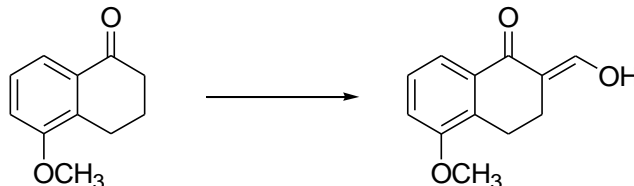
In un pallone a 2 colli da 50 mL, precedentemente essiccato in stufa a 120 °C e saturato con flusso d'azoto, si pongono 0.65g (6.8 mmoli) di sodio *tert*-butossido in 5 mL di etere etilico anidro. La sospensione così ottenuta è portata a 0 °C con bagno di ghiaccio; si aggiunge goccia a goccia una soluzione di etilformiato (0.55 mL, 6.8 mmoli) e α-tetralone (0.5 g, 3.4

mmoli) in etere etilico anidro e 0.5 mL di etanolo. Si forma un abbondante precipitato. Si lascia proseguire la reazione a 0°C per circa un'ora. Si accerta il completamento della reazione mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 9.8/0.2 cicloesano/etile acetato). La miscela di reazione viene trattata con acqua distillata e si effettuano 3 estrazioni con etile acetato. Successivamente, la fase acquosa viene acidificata con HCl 10% ed estratta 3 volte con etile acetato. Quest'ultima fase organica viene anidrificata con sodio solfato, filtrata ed essiccata a pressione ridotta, fino ad ottenere 0.47 g di un residuo oleoso rosso, corrispondente all'atteso 2-idrossimetilen-tetralin-1-one (**110**).

**RESA:** 0.47 g (2.6 mmoli), 78% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 2.59 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-3), 2.92 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-4), 7.24 (dd, 1H, J= 0.6, 7.8; CH-5), 7.34 (ddd, 1H, J= 0.6, 7.1, 7.4; CH-7), 7.45 (ddd, 1H, J = 1.3, 7.4, 7.8; CH-6), 7.97 (dd, 1H, J= 1.3, 7.1; CH-8), 8.23 (s allargato, 1H, CH=), 14.25 (s allargato, 1H, OH).

#### SINTESI DEL 2-IDROSSIMETILEN-5-METOSSI-TETRALIN-1-ONE (**111**)<sup>133-136</sup>

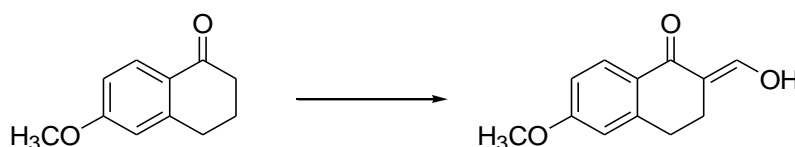


In un pallone a 2 colli da 50 mL, precedentemente essiccato in stufa a 120 °C e saturato con flusso d'azoto, si pongono 1.057 g (11 mmoli) di sodio *tert*-butossido in 5 mL di etere etilico anidro. La sospensione ottenuta viene portata a 0 °C; si aggiunge goccia a goccia una soluzione di etilformiato (0.88 mL, 11 mmoli) e 5-metossi-tetralone (1 g, 5.6 mmoli) in etere etilico anidro e 0.5 mL di etanolo. Si lascia proseguire la reazione a 0 °C e si accerta il completamento della reazione mediante analisi TLC (miscela eluente: 9.5/0.5 cicloesano/etile acetato). La miscela di reazione viene trattata con acqua distillata e si effettuano 3 estrazioni con etile acetato per allontanare il 5-metossi-tetralone residuo. Successivamente, la fase acquosa viene acidificata con HCl 10% ed estratta 3 volte con etile acetato. Quest'ultima fase organica viene anidrificata con sodio solfato, filtrata ed evaporata a pressione ridotta fino ad ottenere 1.004 g di un residuo solido, corrispondente all'atteso 2-idrossimetilen-5-metossi-3,4-diidro-2*H*-naftalen-1-one (**111**).

**RESA:** 1.004 g (4.91 mmoli), 88% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 2.54 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-3), 2.90 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-4), 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 7.03 (pseudodd, 1H, J= 8.1; CH-6), 7.31 (pseudodd, 1H, J= 7.7, 8.1; CH-7), 7.61 (pseudod, 1H, J= 7.7; CH-8), 8.22 (s allargato, 1H, CH=).

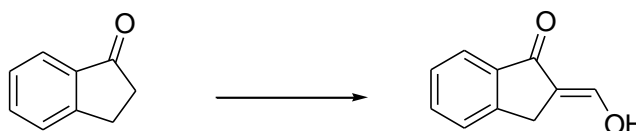
**SINTESI DEL 2-IDROSSIMETILEN-6-METOSSI-TETRALIN-1-ONE (112)**<sup>133-136</sup>



In un pallone a 2 colli da 50 mL, precedentemente essiccato in stufa a 120 °C e saturato con flusso d'azoto, si pongono 0.87 g (9 mmoli) di sodio *tert*-butossido in 5 mL di etere etilico anidro. Si porta tale sospensione a 0 °C; si aggiunge goccia a goccia una soluzione di etilformiato (0.72 mL, 9 mmoli) e 6-metossi-tetralone (0.8 g, 4.5 mmoli) in etere etilico anidro e 0.5 mL di etanolo. Si lascia proseguire la reazione a 0 °C per e si accerta il completamento della reazione mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 8/2, cicloesano/etile acetato). La miscela di reazione viene trattata con acqua distillata e si effettuano 3 estrazioni con etile acetato per allontanare il 6-metossi-tetralone residuo. Successivamente, la fase acquosa viene acidificata con HCl 10% ed estratta 3 volte con etile acetato. Quest'ultima fase organica viene anidrificata con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.556 g di un residuo solido, corrispondente all'atteso 2-idrossimetilen-6-metossi-3,4-diidro-2*H*-naftalen-1-one (**112**).

**RESA:** 0.556 g (2.72 mmoli), 61% d. t.

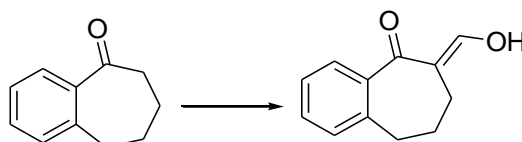
**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 2.56 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-3), 2.88 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-4), 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 6.73 (d, 1H, J = 2.5; CH-5), 6.86 (dd, 1H, J = 2.5, 8.6; CH-7), 7.95 (d, 1H, J = 8.6; CH-8), 7.96 (s allargato, 1H, CH=)

SINTESI DEL 2-IDROSSIMETILEN-INDAN-1-ONE (113)<sup>133-136</sup>

In un pallone a 2 colli da 50 mL, precedentemente essiccato in stufa a 120 °C e saturato con flusso d'azoto, si pongono 0.52 g (5.4 mmoli) di sodio *t*-butossido in 5 mL di etere etilico anidro. Si porta la sospensione ottenuta a 0 °C; si aggiunge goccia a goccia una soluzione di etilformiato (0.44 mL, 5.4 mmoli) e indanone (0.4 g, 3 mmoli) in etere etilico anidro e 0.5 mL di etanolo. Nella miscela di reazione si forma un abbondante precipitato. Si lascia proseguire la reazione a 0 °C per circa un'ora. Si accerta il completamento della reazione mediante analisi TLC (miscela eluente: 7/3 cicloesano/etile acetato). La miscela di reazione viene trattata con acqua distillata e si effettuano 3 estrazioni con etile acetato per allontanare l'indanone residuo. Successivamente, la fase acquosa viene acidificata con HCl 10% ed estratta 3 volte con etile acetato. Quest'ultima fase organica viene anidrificata con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.433 g di un residuo oleoso scuro, corrispondente all'atteso 2-idrossimetilen-indan-1-one (**113**).

**RESA:** 0.433 g (2.7 mmoli), 90% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 3.63 (s, 2H, CH<sub>2</sub>), 7.40-7.64 (m, 3H, arom.), 7.69 (s, 1H, CH), 7.85 (pseudod, J= 7.6; CH-7 arom.)

SINTESI DEL 2-IDROSSIMETILEN-BENZOSUBER-1-ONE (114)<sup>133-136</sup>

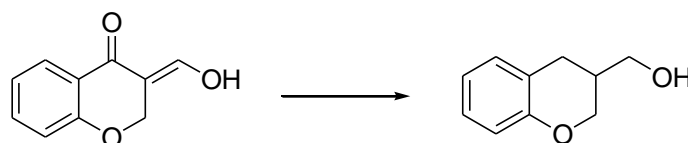
In un pallone a 2 colli da 50 mL, precedentemente essiccato in stufa a 120 °C e saturato con flusso d'azoto, si pongono 1.19 g (12.4 mmoli) di sodio *t*-butossido in 10 mL di etere etilico anidro. Si la sospensione ottenuta a 0 °C; si aggiunge goccia a goccia una soluzione di etilformiato (1 mL, 12.4 mmoli) e benzosuberone (1 g, 6.2 mmoli) in etere etilico anidro e 0.5 mL di etanolo. Nella miscela di reazione si forma immediatamente un abbondante precipitato.

Si lascia proseguire la reazione a 0° C per circa un'ora. Si accerta il completamento della reazione mediante analisi (TLC miscela eluente: 7/3 cicloesano/etile acetato). La miscela di reazione viene trattata con acqua distillata e si effettuano 3 estrazioni con etile acetato per allontanare il cromanone residuo. Successivamente, la fase acquosa viene acidificata con HCl 10% ed estratta 3 volte con etile acetato. Quest'ultima fase organica viene anidrificata con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.968 g di un residuo solido giallo, corrispondente all'atteso 2-idrossimetilen-benzosuber-1-one (**114**).

**RESA:** 0.968g (5.1 mmoli), 83% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.95-2.15 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-8), 2.72 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-9), 7.22 (dd, J=1.3, 7.0 Hz, 1H, H-1), 7.35 (ddd, 1H, J= 1.3, 7.2, 7.4; CH-3), 7.43 (ddd, 1H, J= 1.6, 7.0, 7.2; CH-2), 7.63 (dd, 1H, J= 1.6, 7.4; CH-4), 8.07 (s, 1H, CH=).

#### SINTESI DEL 3-IDROSSIMETIL-CROMANO (**115**)<sup>134</sup>

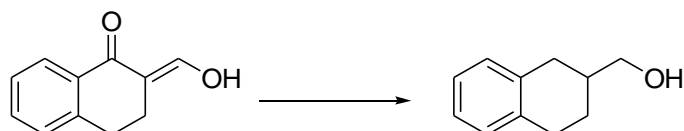


0.338 g (1.9 mmoli) di 3-idrossimetilene-croman-4-one (**109**) e 0.83 g (9.5 mmoli) di *tert*-butilammino borano vengono solubilizzati in 10 mL di diclorometano e la soluzione ottenuta viene portata ad una temperatura di -75 °C mediante bagno di acetone e ghiaccio secco. Successivamente, si aggiungono goccia a goccia 1.2 mL (9.5 mmoli) di borotrifluoruro eterato. Si lascia proseguire la reazione sotto agitazione elettromagnetica per circa 30 minuti a -75 °C e per 1 ora a temperatura ambiente, controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 70/30 cicloesano/etile acetato). Al termine, la miscela di reazione viene trattata con una soluzione acquosa di HCl 10% e ed estratta 3 volte con diclorometano. La fase organica viene anidrificata con sodio solfato, si filtra e si porta a secco a pressione ridotta, ottenendo 0.3 g di un residuo viscoso bruno. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente da 93/7 a 80/20 cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.117 g dell'atteso 3-idrossimetil-cromano (**115**).

**RESA:** 0.117 g (0.7 mmoli), 37% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  1.64 (s allargato, 1H, OH), 2.19-2.34 (m, 1H, CH-3), 2.61 (dd, 1H, J= 7.7, 16.3; CHa-4), 2.90 (dd, 1H, J= 5.8, 16.3; CHb-4), 3.60-3.76 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-OH), 4.02 (dd, 1H, J= 7.6, 10.7; CHa-2), 4.31 (dd, 1H, J= 2.4, 10.7; CHb-2), 6.80-6.90 (m, 2H, CH-6, CH-8), 7.05-7.14 (m, 2H, CH-7, CH-5).

### SINTESI DELLA 2-IDROSSIMETIL-TETRALINA (116)<sup>134</sup>

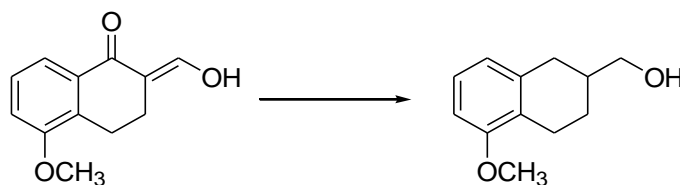


0.44 g (2.52 mmoli) 2-idrossimetilen-tetralin-1-one (**110**) e 1.09 g (12.6 mmoli) di *tert*-butilammino borano vengono solubilizzati in 10 mL di diclorometano. La soluzione ottenuta viene portata ad una temperatura di -75°C mediante bagno di acetone e ghiaccio secco. Successivamente, si aggiungono goccia a goccia 1.42 mL (12.6 mmoli) di borotrifluoruro eterato. Si lascia proseguire la reazione sotto agitazione elettromagnetica per circa 30 minuti a -75 °C e per 1 ora a temperatura ambiente, controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 70/30 cicloesano/etile acetato). Al termine, la miscela di reazione viene trattata con una soluzione acquosa di HCl 10% e ed estratta 3 volte con diclorometano. La fase organica viene anidrificata con sodio solfato, filtrata e evaporata a pressione ridotta fino ad ottenere 0.7 g di un residuo viscoso bruno. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente da 85/15 a 80/20 cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.08 g dell'atteso **116**.

**RESA:** 0.08 g (0.5 mmoli), 20% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  1.51 (m, 1H, CHa-4 thn), 2.01 (m, 1H, CH-2 thn), 2.07 (m, 1H, CHb-4 thn), 2.53 (dd, 1H, J= 10.5, 16.4; CHa-1 thn), 2.82-2.89 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-3 thn), 2.94-2.97 (m, 1H, CHb-1 thn), 3.64 (d, 2H, J= 6.2; CH<sub>2</sub>-O), 7.11 (m, 4H, aromatici).

thn= tetraidronaftalene

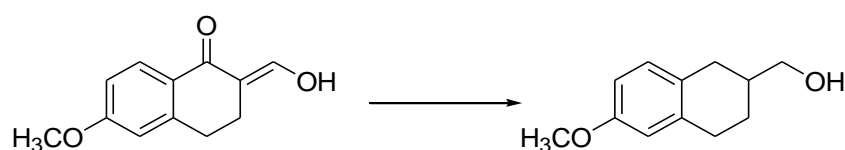
SINTESI DELLA 2-IDROSSIMETIL-5-METOSSITETRALINA (117)<sup>134</sup>

0.5 g (2.4 mmoli) del 2-idrossimetilen-5-metossi-tetralin-1-one (**111**) e 1.04 g (12 mmoli) di *tert*-butilammino borano vengono solubilizzati in 10 mL di diclorometano. La soluzione ottenuta viene portata ad una temperatura di -75 °C mediante bagno di acetone e ghiaccio secco. Successivamente, si aggiungono goccia a goccia 1.52 mL (12 mmoli) di borotrifluoruro eterato. Si lascia proseguire la reazione sotto agitazione elettromagnetica per circa 30 minuti a -75 °C e per 1 ora a temperatura ambiente, controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 70/30 cicloesano/etile acetato). Al termine, la miscela di reazione viene trattata con una soluzione acquosa di HCl 10% e ed estratta 3 volte con diclorometano. La fase organica viene anidrificata con sodio solfato, filtrata e concentrata a pressione ridotta fino ad ottenere 0.7 g di un residuo viscoso bruno. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente 70/30 cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.19 g dell'attesa 2-idrossimetil-5-metossi-tetralina (**117**).

**RESA:** 0.19 g (0.98 mmoli), 41% d. t.

<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 1.5 (m, 1H, CHa-3 thn), 2.1 (m, 2H, CHb-3 thn, H-2 thn), 2.6 (m, 2H, CHa-1 thn, CHa-4 thn), 2.9 (m, 2H, CHb-1 thn, CHb-4 thn), 3.64 (d, 2H, J= 5.7; CH<sub>2</sub>-O), 3.83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 6.66-6.76 (m, 2H, CH-6, CH-8), 7.11 (m, 1H, CH-7).

thn= tetraidronaftalene

SINTESI DELLA 2-IDROSSIMETIL-6-METOSSITETRALINA (118)<sup>134</sup>

0.4 g (2. mmoli) del 2-idrossimetilen-6-metossi-tetralin-1-one (**112**) e 0.87 g (10 mmoli) di *tert*-butilammino borano vengono solubilizzati in 10 mL di diclorometano La soluzione

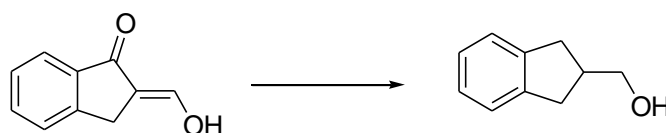
ottenuta viene portata ad una temperatura di  $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$  mediante bagno di acetone e ghiaccio secco. Successivamente, si aggiungono goccia a goccia 1.26 mL (10 mmoli) di borotrifluoruro eterato. Si lascia proseguire la reazione sotto agitazione elettromagnetica per circa 30 minuti a  $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$  e per 1 ora a temperatura ambiente, controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 70/30 cicloesano/etile acetato). Al termine, la miscela di reazione viene trattata con una soluzione acquosa di HCl 10% e ed estratta 3 volte con diclorometano. La fase organica viene anidrificata con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere un residuo viscoso. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente 70/30 cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.100 g dell'attesa 2-idrossimetil-6-metossi-tetralina (**118**).

**RESA:** 0.100 g (0.5 mmoli), 26 % d. t.

**$^1\text{H-NMR}$  (200MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):**  $\delta$  1.37-1.54 (m, 1H, CHa-3 thn), 1.98 (m, 2H, CHb-3 thn, CH-2 thn), 2.44 (dd, 1H, J= 10.6, 15.8; CHa-1 thn), 2.80-2.86 (m, 3H, CHb-1 thn,  $\text{CH}_2$ -4 thn), 3.63 (d, 2H, J= 6.2;  $\text{CH}_2$ -O), 3.80 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 6.66 (d, 1H, J = 2.6; CH-5), 6.71(dd, 1H, J= 2.6, 8.3; CH-7), 7.01 (d, 1H, J = 8.3; CH-8)

thn= tetraidronaftalene

### SINTESI DEL 2-IDROSSIMETIL-INDANO (**119**)<sup>134</sup>



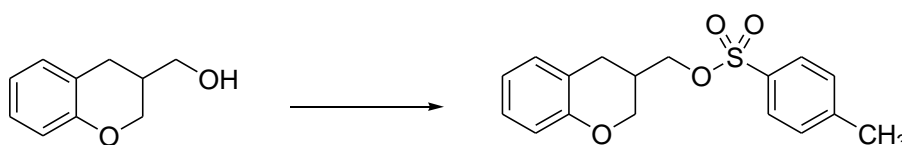
0.433 g (2.7 mmoli) di 2-idrossimetilene-indan-1-one (**113**) e 1.17 g (13.5 mmoli) di *tert*-butilammino borano vengono solubilizzati in 10 mL di diclorometano. La soluzione ottenuta viene portata ad una temperatura di  $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$  mediante bagno di acetone e ghiaccio secco. Successivamente, si aggiungono goccia a goccia 1.71 mL (13.5 mmoli) di borotrifluoruro eterato. Si lascia proseguire la reazione sotto agitazione elettromagnetica per circa 30 minuti a  $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$  e per 1 ora a temperatura ambiente, controllandone l'andamento mediante analisi cromatografica TLC (miscela eluente: 70/30 cicloesano/etile acetato). Al termine, la miscela di reazione viene trattata con una soluzione acquosa di HCl 10% e ed estratta 3 volte con diclorometano. La fase organica viene anidrificata con sodio solfato, si filtra ed è rimossa a

pressione ridotta fino ad ottenere 0.381 g del prodotto grezzo. Il grezzo di reazione viene purificato mediante flash cromatografia (miscela eluente di 85/15 cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.147 g dell'atteso 2-idrossimetil-indano (**119**).

**RESA:** 0.147 g (0.99 mmoli), 37% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 2.64-2.81 (m, 3H, CH-2, CH<sub>2</sub>-1/CH<sub>2</sub>-3), 3.03-3.15 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-1/CH<sub>2</sub>-3), 3.67 (d, 2H, J=6.3; CH<sub>2</sub>-OH), 7.12-7.27 (m, 4H, CH arom).

### SINTESI DEL CROMAN-3-ILMETIL TOLUEN-4-SOLFONATO (**120**)



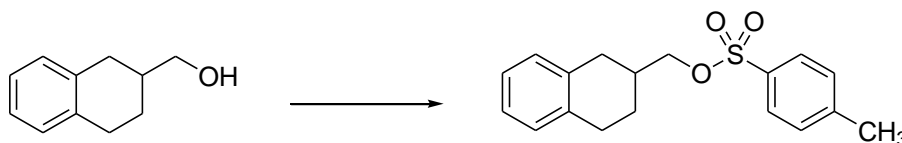
0.117 g (0.7 mmoli) di 3-idrossimetil-cromano (**115**) e 0.144 g (0.2 mL, 1.4 mmoli) di trietilammina vengono dissolti in 5 mL di diclorometano anidro. La soluzione ottenuta viene portata a 0 °C con bagno di ghiaccio e successivamente si aggiungono goccia a goccia 0.2 g di tosilcloruro (1.1 mmoli) solubilizzati in 3 mL di diclorometano anidro. Si lascia proseguire la reazione a temperatura ambiente per circa 5 ore. Al termine si eseguono 2 lavaggi della miscela di reazione (fase organica) con una soluzione satura di sodio bicarbonato e un lavaggio con acqua distillata. Le fasi acquose di lavaggio vengono riestratte con diclorometano (2x). Le fasi organiche riunite vengono anidricate con sodio solfato; si filtra e si concentra a pressione ridotta fino ad ottenere 0.262 g di un residuo solido deliquescente. Si procede alla purificazione del grezzo di reazione mediante cromatografia SP1 (miscela eluente cicloesano/etile acetato 93/7). Si recuperano 0.119 g di un solido deliquescente bianco, corrispondente all'atteso croman-3-ilmetil toluen-4-solfonato (**120**).

**RESA:** 0.119 g (0.37 mmoli), 52% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 2.46 (s, 1H, CH<sub>3</sub>), 2.46-2.63 (m, 2H, CH-3, CHa-4), 2.88 (dd, 1H, J= 5.4, 16.1; CHb-4), 3.94 (dd, 1H, J= 7.0, 10.9; CHa-2), 4.06 (d, 2H, J= 6.9; CH<sub>2</sub>-OTs), 4.17 (dd, 1H, J= 2.9, 10.9; CHb-2), 6.74-6.87 (m, 2H, CH-6, CH-8 cromano), 6.97-7.12 (m, 2H, CH-7, CH-5 cromano), 7.35 (d, 2H, J= 8.2; CH-2, CH-6 Ts), 7.79 (d, 2H, J= 8.2; CH-3, CH-5 Ts).

Ts: tosile

## SINTESI DEL TETRALIN-2-ILMETIL TOLUEN-4-SUOLFONATO (121)



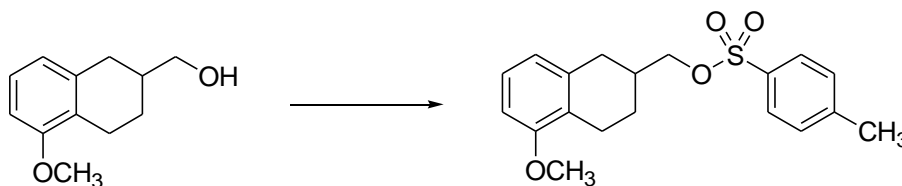
0.13 g (0.8 mmoli) di 2-idrossimetil-tetralina (**116**) e 0.163 g (0.22 ml, 1.6 mmoli) di trietilammina vengono dissolti in 5 mL di diclorometano anidro. La soluzione ottenuta viene portata a 0 °C con bagno di ghiaccio e successivamente si aggiungono goccia a goccia 0.23 g di tosilcloruro (1.2 mmoli) solubilizzati in 3 mL di diclorometano anidro. Si lascia proseguire la reazione a temperatura ambiente per circa 5 ore. Al termine si eseguono 2 lavaggi della miscela di reazione (fase organica) con una soluzione satura di sodio bicarbonato e un lavaggio con acqua distillata. Le fasi acquose di lavaggio vengono riestratte con etile acetato (2x). Le fasi organiche riunite vengono anidificate con sodio solfato; si filtra e si concentra a pressione ridotta fino ad ottenere 0.3 g di un residuo oleoso. Si procede alla purificazione del grezzo di reazione mediante cromatografia SP1 (miscela eluente cicloesano/etile acetato 98/2). Si recuperano 0.22 g di un olio trasparente, corrispondente all'atteso tetralin-2-ilmetil toluen-4-suolfonato (**121**).

**RESA:** 0.22 g (0.7 mmoli), 86% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):**  $\delta$  1.47 (m, 1H, CHa-4 thn), 1.94 (m, 1H, CHb-4 thn), 2.17 (m, 1H, CH-2 thn), 2.42-2.55 (m, 1H, CHa-1 thn), 2.48 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.78-2.84 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-3 thn), 2.90 (m, 1H, CHb-1 thn), 4.03 (d, 2H, J = 6.5; CH<sub>2</sub>-O), 7.10 (m, 4H, aromatici thn), 7.38 (d, 2H, J = 8.1; CH-2, CH-6 Ts), 7.85 (d, 2H, J = 8.1; CH-3, CH-5 Ts).

thn= tetraidronaftalene; Ts: tostile

## SINTESI DEL 5-METOSSI-TETRALIN-2-ILMETIL TOLUEN-4-SUOLFONATO (122)



0.22 g (1.1 mmoli) di 2-idrossimetil-5-metossi-tetralina (**117**) e 0.22 g (0.220 mL, 1.6 mmoli) di trietilammina vengono dissolti in 5 mL di diclorometano anidro. La soluzione ottenuta

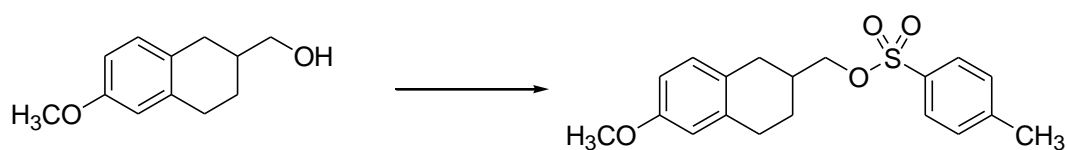
viene portata a 0 °C con bagno di ghiaccio e successivamente si aggiungono goccia a goccia 0.32 g di tosilcloruro (1.7 mmoli) solubilizzati in 3 mL di diclorometano anidro. Si lascia proseguire la reazione a temperatura ambiente per circa 5 ore. Al termine si eseguono 2 lavaggi della miscela di reazione (fase organica) con una soluzione satura di sodio bicarbonato e un lavaggio con acqua distillata. Le fasi acquose di lavaggio vengono riestratte con etilacetato (2x). Le fasi organiche riunite vengono anidificate con sodio solfato; si filtra e si concentra a pressione ridotta fino ad ottenere 0.3 g di un residuo oleoso. Si procede alla purificazione del grezzo di reazione mediante cromatografia SP1 (miscela eluente cicloesano/etile acetato 95/5). Si recuperano 0.226 g di un olio, corrispondente all'atteso 5-metossi-tetralin-2-ilmetil toluen-4-suolfonato (**122**).

**RESA:** 0.22 g (0.6 mmoli), 59% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.5 (m, 1H, CHa-3 thn), 1.93-2.11 (m, 2H, CHb-3 thn, CH-2 thn), 2.40-2.59 (m, 2H, CHa-1 thn, CHa-4 thn), 2.47 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.80-2.88 (m, 2H, CHb-1 thn, CHb-4 thn), 3.81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.02 (d, 2H, J = 6.5; CH<sub>2</sub>-O), 6.65-6.69 (m, 2H, CH-6, CH-8), 7.09 (m, 1H, CH-7), 7.36 (d, 2H, J= 8.2; CH-2, CH-6 Ts), 7.83 (d, 2H, J= 8.2; CH-3, CH-5 Ts).

thn= tetraidronaftalene; Ts: tostile

### SINTESI DEL 6-METOSSITETRALIN-2-ILMETIL TOLUEN-4-SUOLFONATO (**123**)



0.1 g (0.52 mmoli) di 2-idrossimetil-6-metossi-tetralina (**118**) e 0.1 g (0.14 mL, 1 mmoli) di trietilammina vengono dissolti in 5 mL di diclorometano anidro. La soluzione ottenuta viene portata a 0 °C con bagno di ghiaccio e successivamente si aggiungono goccia a goccia 0.15 g di tosilcloruro (0.78 mmoli) solubilizzati in 3 mL di diclorometano anidro. Si lascia proseguire la reazione a temperatura ambiente per circa 5 ore. Al termine si eseguono 2 lavaggi della miscela di reazione (fase organica) con una soluzione satura di sodio bicarbonato e un lavaggio con acqua distillata. Le fasi acquose di lavaggio vengono riestratte con etilacetato (2x). Le fasi organiche riunite vengono anidificate con sodio solfato; si filtra e si concentra a pressione ridotta fino ad ottenere 0.31 g di un residuo oleoso. Si procede alla

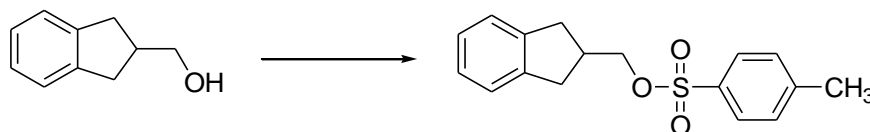
purificazione del grezzo di reazione mediante cromatografia SP1 (miscela eluente cicloesano/etile acetato 95/5). Si recuperano 0.10 g di un olio, corrispondente all'atteso 6-metossi-tetralin-2-ilmetil toluen-4-suolfonato (**123**).

**RESA:** 0.10 g (0.28 mmoli), 60 % d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.28-1.52 (m, 1H, CHa-3 thn), 1.88-1.97 (m, 1H, CHb-3 thn/CH-2 thn), 2.11-2.19 (m, 1H, CHb-3 thn/CH-2 thn), 2.47 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.40 (dd, 1H, J= 10.4, 15.9; CHa-1 thn), 2.73-2.83 (m, 3H, CHb-1 thn, CH<sub>2</sub>-4 thn), 3.77 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.01 (d, 2H, J= 6.5; CH<sub>2</sub>-OTs), 6.61 (d, 1H, J= 2.6; CH-5), 6.68 (dd, 1H, J = 2.6, 8.3; CH-7), 6.94 (d, 1H, J = 8.3; CH-8), 7.36 (d, 2H, J= 8.3; CH-2, CH-6 Ts), 7.82 (d, 2H, J= 8.3; CH-3, CH-5 Ts).

thn= tetraidronaftalene; Ts: tostile

#### SINTESI DELL' INDAN-2-ILMETIL TOLUEN-4-SOLFONATO (**124**)



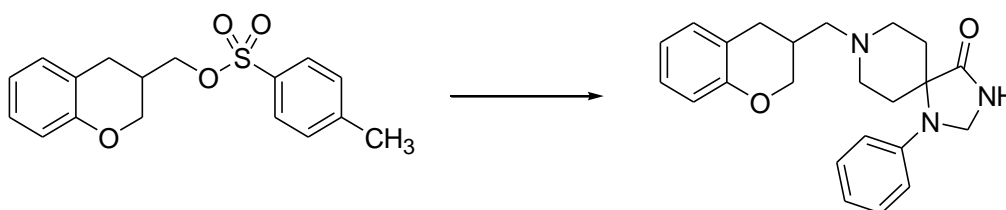
0.147 g (0.99 mmoli) di 2-idrossimetil-indano (**119**) e 0.2 g (0.28 mL, 2 mmoli) di trietilammina vengono dissolti in 5 mL di diclorometano anidro. La soluzione ottenuta viene portata a 0 °C con bagno di ghiaccio e successivamente si aggiungono goccia a goccia 0.286 g di tosilcloruro (1.5 mmoli) solubilizzati in 3 mL di diclorometano anidro. Si lascia proseguire la reazione a temperatura ambiente per circa 5 ore. Al termine si eseguono 2 lavaggi della miscela di reazione (fase organica) con una soluzione satura di sodio bicarbonato e un lavaggio con acqua distillata. Le fasi acquose di lavaggio vengono riestratte con diclorometano (2x). Le fasi organiche riunite vengono anidificate con sodio solfato; si filtra e si concentra a pressione ridotta fino ad ottenere 0.32 g di un residuo solido deliquescente. Si procede alla purificazione del grezzo di reazione mediante flash cromatografia (miscela eluente cicloesano/etile acetato 96/4). Si recuperano 0.14 g di un solido deliquescente bianco, corrispondente all'atteso indan-2-ilmetil toluen-4-solfonato (**124**).

**RESA:** 0.14 g (0.46 mmoli), 47% d. t.

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 2.46 (s, 3H, CH<sub>3</sub>), 2.67 (dd, 2H, J= 5.8, 15.3; CH<sub>2</sub>), 2.84 (m, 1H, CH-2), 3.06 (dd, 2H, J= 7.6, 15.3; CH<sub>2</sub>), 4.06 (d, 2H, J= 6.8; CH<sub>2</sub>-O), 7.15 (m, 4H, arom.), 7.35 (d, 2H, J=8.2; CH-3, CH-5 Ts), 7.81 (d, 2H, J=8.2; CH-2, CH-6 Ts).

Ts: tostile

**SINTESI DEL 8-CROMAN-3-IL-METIL-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (32)**



0.119 g (0.37 mmoli) di croman-3-ilmetil toluen-4-solfonato (**120**), 0.129 g (0.56 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one e 0.117 g (1.11 mmoli) di sodio carbonato vengono sospesi in 5 mL di acetonitrile anidro. La miscela di reazione è riscaldata a refluxo per circa 6 ore. Al termine si evapora il solvente a pressione ridotta; si riprende il residuo secco con etile acetato e acqua. Si effettuano 3 lavaggi acquosi della fase organica; si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.2 g di un residuo solido bianco. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente 50/50 cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.06 g dell'atteso 8-croman-3-il-metil-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**32**).

**RESA:** 0.06 g (0.16 mmoli), 43% d. t.

**Punto di fusione:** 193–194 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.71 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.30 (m, 1H, CH-3 cromo), 2.41 (t, 2H, J= 7.3; CH<sub>2</sub>N), 2.53 (dd, 1H, J= 8.7, 16.2; CHa-4 cromo), 2.69-2.87 (m, 7H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd, CHb-4 cromo), 3.88 (dd, 1H, J= 9.0, 10.2, CHa-2 cromo), 4.37 (d, 1H, J= 10.2, CHb-2 cromo), 4.73 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.77-6.90 (m, 5H, CH-2, CH-4, CH-6 aromatici tasd, CH-6, CH-8 cromo), 7.04-7.10 (m, 1H, CH-5, CH-7 cromo), 7.29 (m, 2H, CH-3, CH-5 aromatici tasd).

$^{13}\text{C-NMR}$  (400MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  28.90 (C-6/C-10 tasd), 28.94 (C-6/C-10 tasd), 29.63 (C-4 cromano), 30.07 (C-3 cromano), 49.64 (C-7/C-9 tasd), 50.61 (C-7/C-9 tasd), 59.12 (C-5 tasd), 59.21 (C-2 tasd), 59.76 (C3- $\underline{\text{CH}_2}$ -N), 69.22 (C-2 cromano), 114.87 (C-2, C-6 arom. tasd), 116.25 (C-8 cromano), 118.56 (C-4 1 arom. tasd), 120.06 (C-6 cromano), 121.31 (C-8a cromano), 126.99 (C-5 cromano), 129.04 (C-3, C-5 arom. tasd), 129.72 (C-7 cromano), 142.94 (C-1 arom. tasd), 154.50 (C-4a cromano), 178.33 (CO tasd).

tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.044 g.

**RESA:** 0.044 g (0.095 mmoli), 68% d. t.

**Punto di fusione:** 140-141 °C.

**Analisi C, H, N:**  $\text{C}_{25}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$ : calcolato C, 61.84; H, 6.44; N, 8.65; trovato C, 61.75; H, 6.52; N, 8.22.

**QTOF:** massa esatta per  $\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_3\text{O}_2^+ [\text{M}+\text{H}]^+ =$  calcolata 378.2176;

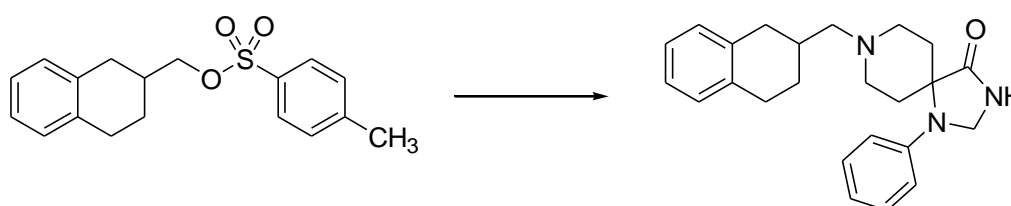
trovata 378.2174;

(Dev.= +0.46 ppm)

$^1\text{H-NMR}$  (200MHz, DMSO):  $\delta$  1.81 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ -6/ $\text{CH}_2$ -10 tasd), 2.49-2.96 (m, 7H, CH-3 cromano,  $\text{CH}_2$ N,  $\text{CH}_2$ -4 cromano,  $\text{CH}_2$ -6/ $\text{CH}_2$ -10 tasd), 3.42 (m, 4H,  $\text{CH}_2$ -7,  $\text{CH}_2$ -9 tasd), 3.68 (m, 1H, CHa-2 cromano), 4.30 (m, 1H, CHb-2 cromano), 4.61 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ -2 tasd), 6.74-6.95 (m, 5H, CH-2, CH-4, CH-6 aromatici tasd, CH-6, CH-8 cromano), 7.04-7.08 (m, 1H, CH-5, CH-7 cromano), 7.25 (m, 2H, CH-3, CH-5 aromatici tasd), 8.91 (s, 1H, ac.ossalico).

tasd = triazaspirodecanone

**SINTESI DEL 8-(TETRALIN-2-IL-METIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-  
SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (40)**



0.2 g (0.63 mmoli) di tetralin-2-ilmetil toluen-4-suolfonato (**121**), 0.22 g (0.95 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one e 0.2 g (1.9 mmoli) di sodio carbonato vengono sospesi in 5 mL di acetonitrile anidro. La miscela di reazione è riscaldata a refluxo per circa 6 ore. Al termine si evapora il solvente a pressione ridotta; si riprende il residuo secco con etile acetato e acqua. Si effettuano 3 lavaggi acquosi della fase organica; si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.35 g di residuo solido. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente da 50/50 a 30/70, cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.062 g dell'atteso 8-(tetralin-2-il-metil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**40**).

**RESA:** 0.062 g (0.16 mmoli), 26% d. t.

**Punto di fusione:** 210–211 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.42 (m, 1H, CHa-4 thn), 1.72 (m, 2H, CHa-6, CHa-10 tasd), 2.01 (m, 1H, CH-2 thn), 2.03 (m, 1H, CHb-4 thn), 2.38 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-N), 2.47 (dd, 1H, J= 10.50, 16.5; CHa-1 thn), 2.68-2.88 (m, 8H, CHb-6, CHb-10 tasd, CH<sub>2</sub>-7 tasd, CH<sub>2</sub>-9 tasd, CH<sub>2</sub>-3 thn), 2.94 (dd, 1H, J= 4.0, 16.5; CHb-1 thn), 4.74 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.86 (m, 1H, CH-4 aromatico tasd), 6.93 (m, 2H, CH-2, CH-6 aromatici tasd), 7.09 (m, 4H, aromatici thn), 7.30 (m, 2H, CH-3, CH-5 aromatici tasd) 7.64 (s. allargato, 1H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):**δ 27.69 (C-4 thn), 28.72 (C-3thn), 28.93 (C-6, C-10 tasd), 31.91 (C-2 thn), 34.60 (C-1 thn), 49.92 (C-7/C-9 tasd), 50.22 (C-7/C-9 tasd), 59.21 (C-5 tasd), 59.28 (C-2 tasd), 64.16 (C2-CH<sub>2</sub>-N), 115.14 (C-2, C-6 arom. tasd), 118.61 (C-4 arom. tasd), 125.28(C-6/C-7 thn), 125.24 (C-6/C-7 thn), 128.63(C-5, C-8 thn), 129.00 (C-3, C-5 arom. tasd), 136.40 (C-4a/C-8a thn), 136.78 (C-4a/C-8a thn), 143.04 (C-1 arom. tasd), 178.37 (CO tasd).

thn = tetraidronaftalene; tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.042 g.

**RESA:** 0.042 g (0.09 mmoli), 55% d. t.

**Punto di fusione:** 229-230 °C.

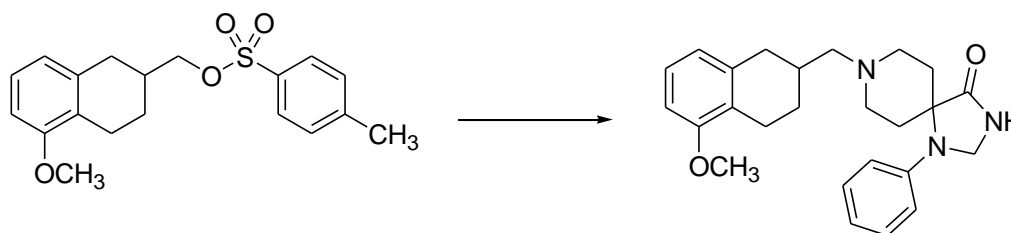
**Analisi C, H, N** per  $C_{26}H_{31}N_3O_5$ : calcolato C, 67.08; H, 6.71; N, 9.03; trovato C, 66.61; H, 6.23; N, 8.66.

**QTOF**: massa esatta per  $C_{24}H_{30}N_3O$   $[M+H]^+$  = calcolata 376.2383;  
trovata 376.2385;  
(Dev.= +0.3 ppm)

**$^1H$ -NMR (200MHz, DMSO)**:  $\delta$  1.42 (m, 1H, CHa-4 thn), 1.85 (m, 2H, CHa-6, CHa-10 tasd), 2.01 (m, 1H, CH-2 thn), 2.09 (m, 1H, CHb-4 thn), 2.78-3.07 (m, 8H, CH<sub>2</sub>-1 thn, CH<sub>2</sub>-3 thn, CHb-6, CHb-10 tasd, CH<sub>2</sub>-N), 3.51-3.57 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7 tasd, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 4.64 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.81 (m, 1H, CH-4 aromatico tasd), 6.97 (m, 2H, CH-2, CH-6 aromatici tasd), 7.09 (m, 4H, aromatici thn), 7.27 (m, 2H, CH-3, CH-5 aromatici tasd), 8.96 (s, 1H, ac.ossalico).

thn = tetraidronaftalene; tasd = triazaspirodecanone

#### SINTESI DEL 8-(5-METOSSI-TETRALIN-2-IL-METIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (41)



0.22 g (0.63 mmoli) di 5-metossi-tetralin-2-ilmetil toluen-4-suolfonato (**122**), 0.22 g (0.95 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one e 0.166 g (1.6 mmoli) di sodio carbonato vengono sospesi in 5 mL di acetonitrile anidro. La miscela di reazione è riscaldata a reflusso per circa 6 ore. Al termine si evapora il solvente a pressione ridotta; si riprende il residuo secco con etile acetato e acqua. Si effettuano 3 lavaggi acquosi della fase organica; si anidrifica con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.326 g di grezzo di reazione. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente da 50/50 a 30/70, cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.12 g dell'atteso 8-(5-metossi-tetralin-2-ilmetil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**41**).

**RESA**: 0.12 g (0.3 mmoli), 48% d. t.

**Punto di fusione**: 165–166 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.38 (m, 1H, CHa-3 thn), 1.70 (m, 2H, CHa-6, H<sub>a</sub> CH<sub>2</sub>-10 tasd), 1.97 (m, 2H, CH-2 thn, CHb-3 thn), 2.37 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-N), 2.37-2.55 (m, 2H, CHa-1 thn, CHa-4 thn), 2.67-2.94 (m, 8H, CHb-6 tasd, CHb-10 tasd, CH<sub>2</sub>-7 tasd, CH<sub>2</sub>-9 tasd, CHb-4 thn, CHb-1 thn), 3.80 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.73 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.64 (m, 1H, CH-6 thn), 6.73 (m, 1H, CH-8 thn), 6.86 (m, 1H, CH-4 arom. tasd), 6.92 (m, 2H, CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.07 (m, 1H, CH-7 thn), 7.29 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):**δ 22.54 (C-4 thn), 27.24 (C-3thn), 28.93 (C-6, C-10 tasd), 31.42 (C-2 thn), 34.70 (C-1 thn), 49.84 (C-7/C-9 tasd), 50.24 (C-7/C-9 tasd), 54.90 (OCH<sub>3</sub>), 59.16 (C-2 tasd), 63.99 (C2-CH<sub>2</sub>-N), 106.59 (C-6 thn), 115.11 (C-2, C-6 arom. tasd), 118.60 (C-4 arom. tasd), 121.23 (C-8 thn), 125.59 (C-7 thn, C-4a thn), 129.00 (C-3, C-5 arom. tasd), 137.77 (C-8a thn), 143.02 (C-1 arom. tasd), 157.04 (C-5 thn), 178.23 (CO tasd).

thn = tetraidronaftalene; tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.028 g.

**RESA:** 0.028 g (0.056 mmoli), 20 % d. t.

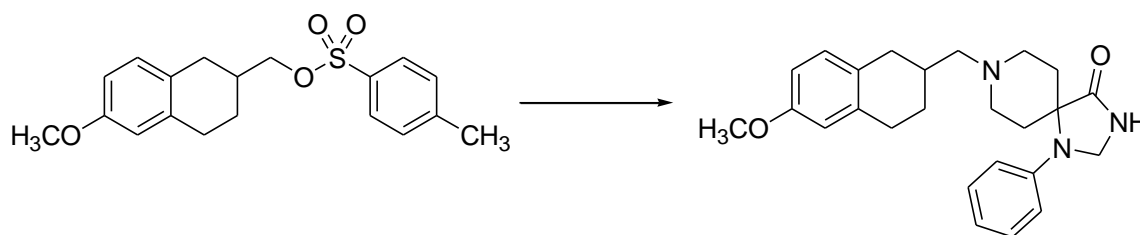
**Punto di fusione:** 160-161 °C.

**Analisi C, H, N** per C<sub>27</sub>H<sub>33</sub>N<sub>3</sub>O<sub>6</sub>: calcolato C, 65.44; H, 6.71; N, 8.48; trovato C, 65.05; H, 6.95; N, 8.46.

**QTOF:** massa esatta per C<sub>25</sub>H<sub>32</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub> [M+H]<sup>+</sup> = calcolata 406.2489;  
trovata 406.2494;  
(Dev.= +0.5 ppm)

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO):** δ 1.38 (m, 1H, CHa-3 thn), 1.83 (m, 2H, CHa-6, CHa-10 tasd), 2.00-2.16 (m, 2H, CH-2 thn, CHb-3 thn), 2.74-3.04 (m, 8H, CH<sub>2</sub>-N, CH<sub>2</sub>-1 thn, CH<sub>2</sub>-4 thn, CHb-6 tasd, CHb-10 tasd), 3.50-3.57 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7 tasd, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.75 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.62 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.66-6.83 (m, 3H, CH-6 thn, CH-8 thn, CH-4 arom. tasd), 6.96 (m, 2H, CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.07 (m, 1H, CH-7 thn), 7.25 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 8.94 (s, 1H, ac.ossalico).

thn = tetraidronaftalene; tasd = triazaspirodecanone

**SINTESI DEL 8-(6-METOSSI-TETRALIN-2-IL-METIL)-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-  
SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (42)**


0.109 g (0.31 mmoli) di 6-metossi-tetralin-2-ilmetil toluen-4-suolfonato (**123**), 0.109 g (0.47 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one e 0.082 g (0.77 mmoli) di sodio carbonato vengono sospesi in 5 mL di acetonitrile anidro. La miscela di reazione è riscaldata a refluxo per circa 6 ore. Al termine si evapora il solvente a pressione ridotta; si riprende il residuo secco con etile acetato e acqua. Si effettuano 3 lavaggi acquosi della fase organica; si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.150 g di un grezzo solido. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente da 40/60 a 25/75, cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.05 g dell'atteso 8-(6-metossi-tetralin-2-ilmetil)-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**42**).

**RESA:** 0.050 g (0.12 mmoli), 40% d. t.

**Punto di fusione:** 177–178 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.39 (m, 1H, CHa-3 thn), 1.70-1.73 (m, 2H, CHa-6, CHa-10 tasd), 1.98-2.03 (m, 3H, CHb-3 thn, CH-2 thn), 2.36-2.44 (m, 3H, CHa-1 thn, CH<sub>2</sub>-N), 2.59-2.90 (m, 9H, CHb-6 tasd, CHb-10 tasd, CH<sub>2</sub>-7 tasd, CH<sub>2</sub>-9 tasd, CHb-1 thn, CH<sub>2</sub>-4 thn), 3.76 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.73 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.62 (d, 1H, J = 2.4; CH-5 thn), 6.67 (dd, 1H, J = 2.4, 8.4; CH-7 thn), 6.86 (m, 1H, CH-4 arom. tasd), 6.92 (m, 2H, CH-2, CH-6 arom. tasd), 7.00 (d, 1H, J = 8.4; CH-8 thn), 7.29 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 7.56 (s scambiabile con D<sub>2</sub>O, 1H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):**δ 27.93 (C-4 thn), 29.22 (C-6/C-10 tasd), 29.27 (C-6/C-10 tasd), 29.34 (C-3 thn), 32.44 (C-2 thn), 34.07 (C-1 thn), 50.48 (C-7/C-9 tasd), 50.22 (C-7/C-9 tasd), 55.30 (OCH<sub>3</sub>), 59.48 (C-2 tasd), 59.57 (C-5 tasd), 64.41 (C2-CH<sub>2</sub>-N), 111.90 (C-7 thn), 113.50 (C-5 thn), 115.45 (C-2, C-6 arom. tasd), 118.90 (C-4 arom. tasd), 128.81 (C-8a thn), 129.29 (C-3, C-5 arom. tasd), 130.06 (C-8 thn), 138.13 (C-4a thn), 143.33 (C-1 arom. tasd), 157.54 (C-6 thn), 178.61 (CO tasd).

thn = tetraidronaftalene; tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.02 g.

**RESA:** 0.02 g (0.04 mmoli), 69% d. t.

**Punto di fusione:** 197-198 °C.

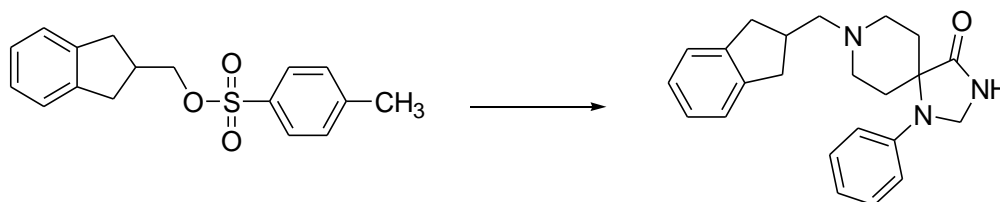
**Analisi C, H, N** per  $C_{27}H_{33}N_3O_6 \cdot H_2O$ : calcolato C, 63.14; H, 6.87; N, 8.18; trovato C, 63.14; H, 6.47; N, 7.69.

**QTOF:** massa esatta per  $C_{24}H_{30}N_3 [M+H]^+$  = calcolata 406.2489;  
trovata 406.2484; (Dev.= 1.27 ppm)

**$^1H$ -NMR (200MHz, DMSO):**  $\delta$  1.39 (m, 1H, CHa-3 thn), 1.83 (m, 2H, CHa-6, CHa-10 tasd), 2.00-2.16 (m, 2H, CH-2 thn, CHb-3 thn), 2.74-3.04 (m, 8H, CH<sub>2</sub>-N, CH<sub>2</sub>-1 thn, CH<sub>2</sub>-4 thn, CHb-6 tasd, CHb-10 tasd), 3.50-3.57 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7 tasd, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.69 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 4.62 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.68 (m, 2H, CH-5, CH-7 thn), 6.83 (m, 1H, CH-4 arom. tasd), 6.97 (m, 3H, CH-2, CH-6 arom. tasd, CH-8 thn), 7.28 (m, 2H, CH-3, CH-5 arom. tasd), 8.94 (s, 1H, ac.ossalico).

thn = tetraidronaftalene; tasd = triazaspirodecanone

### SINTESI DEL 8-INDAN-2-IL-METIL-1-FENIL-1,3,8-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECAN-4-ONE (43)



0.12 g (0.4 mmoli) di indan-2-ilmetil toluen-4-solfonato (**124**), 0.138 g (0.6 mmoli) di 1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4,5]decan-4-one e 0.042 g (0.4 mmoli) di sodio carbonato vengono sospesi in 5 mL di acetonitrile anidro. La miscela di reazione è riscaldata a refluxo per circa 6 ore. Al termine si evapora il solvente a pressione ridotta; si riprende il residuo secco con etile acetato e acqua. Si effettuano 3 lavaggi acquosi della fase organica; si anidrifca con sodio solfato, si filtra e si porta a secco, fino ad ottenere 0.2 g di un residuo solido. Il grezzo viene purificato mediante cromatografia SP1 (miscela eluente 40/60 cicloesano/etile acetato). Si recuperano 0.057 g dell'atteso 8-indan-2-il-metil-1-fenil-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one (**41**).

**RESA:** 0.057 g (0.16 mmoli), 40% d. t.

**Punto di fusione:** 192–193 °C.

**<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):** δ 1.70-1.74 (m, 2H, CHa-6, CHa-10 tasd), 2.43-2.49 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-N), 2.70-2.83 (m, 9H, CHa-1, CH-2, CHa-3 indano, CHb-6, CHb-10, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.04-3.10 (m, 2H, CHb-1, CHb-3 indano), 6.87 (pseudot, 1H, J=7.5; CH-4 aromatico tasd), 6.93 (d, 2H, J=8.2; CH-2, CH-6 aromatici tasd), 7.11-7.14 (m, 2H, aromatici indano), 7.20-7.23 (m, 2H, aromatici indano), 7.30 (dd, 2H, J=7.5, 8.2; CH-3, CH-5 aromatici tasd), 7.77 (s, 1H, NH).

**<sup>13</sup>C-NMR (400MHz, CDCl<sub>3</sub>):**δ 28.95 (C-6, C-10 tasd), 36.89 (C-2 indano), 37.62 (C-1 + C-3 indano), 49.77 (C-7, C-9 tasd), 59.23 (C-5 tasd), 59.29 (C-2 tasd), 63.26 (CH<sub>2</sub>-N), 115.14 (C-2, C-6 fenile), 118.61 (C-4 fenile), 124.36 (C-5, C-6 indano), 125.84 (C-4, C-7 indano), 129.01 (C-3, C-5 fenile), 142.97 (C-3a, C-7a indano), 143.03 (C-1 fenile), 178.37 (CO tasd).

tasd = triazaspirodecanone

L'ammina libera è stata successivamente convertita nel corrispondente sale di ossalato, il quale è stato cristallizzato con acetone.

Ottenuti 0.053 g.

**RESA:** 0.053 g (0.11 mmoli), 70% d. t.

**Punto di fusione:** 232-233 °C.

**Analisi Elem. C, H, N** per C<sub>25</sub>H<sub>29</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>: calcolato C, 66.50; H, 6.47; N, 9.31; trovato C, 66.39; H, 6.58; N, 9.21.

**QTOF:** massa esatta per C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>N<sub>3</sub>O<sup>+</sup> [M+H]<sup>+</sup> = calcolata 362.2227;

trovata 362.2224;

(Dev.= +0.89 ppm)

**<sup>1</sup>H-NMR (200MHz, DMSO):** δ 1.85 (m, 2H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd), 2.68-2.92 (m, 5H, CH<sub>2</sub>-6/CH<sub>2</sub>-10 tasd, CH<sub>2</sub>-N, CH-2 indano), 3.01-3.24 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-7, CH<sub>2</sub>-9 tasd), 3.50-3.56 (m, 4H, CH<sub>2</sub>-1, CH<sub>2</sub>-3 indano), 4.62 (s, 2H, CH<sub>2</sub>-2 tasd), 6.80 (pseudot, J=7.1; 1H, CH-4 aromatico tasd), 6.95 (d, 2H, J=8.2; CH-2, CH-6 aromatici tasd), 7.11-7.30 (m, 6H, CH-3, CH-5 aromatici tasd, 4H aromatici indano), 8.94 (s, 1H, ac.ossalico).

tasd = triazaspirodecanone

### 5.3 Farmacologia

#### *Preparazione delle colture cellulari e delle membrane.*

Le cellule ovariche di criceto cinese (*Chinese Hamster Ovary*, CHO) co-esprimenti in modo stabile il recettore NOP ricombinante umano (CHO<sub>hNOP</sub>) e la proteina chimerica G $\alpha_{q15}$  modificata a livello C-terminale, sono state preparate secondo la procedura descritta da Camarda e coll.<sup>141</sup>.

Le cellule sono state coltivate in un mezzo di coltura costituito da Dulbecco's MEM/HAMS F12 (50/50) integrato con un 10 % di siero fetale di bovino, penicillina (100 IU/ml), streptomycina (100 mg/ml), geneticina (G418; 200  $\mu$ g/ml) e igromycina B (100  $\mu$ g/ml). Le colture cellulari sono state mantenute a 37 °C in aria umidificata al 5% di CO<sub>2</sub>. Una volta raggiunta la confluenza (3-4 giorni), le cellule sono state ripiastrate come previsto usando tripsina/EDTA ed utilizzate per la sperimentazione.

Le CHO<sub>hNOP</sub> co-esprimenti la proteina G $\alpha_{q15}$  sono state seminate con una densità pari a 50,000 cellule per pozzetto, in piastre a fondo trasparente da 96 pozzetti. Dopo 24 ore di incubazione, le cellule sono state caricate in un mezzo integrato con probenecid 2.5 mM, 3  $\mu$ M dell'indicatore fluorescente calcio-sensibile Fluo-4 AM e 0.01% di acido pluronico, per 30 minuti a 37 °C. Successivamente la soluzione di caricamento è stata aspirata e sono stati aggiunti 100  $\mu$ l per pozzetto di tampone: Hank's Balanced Salt Solution (HBSS) integrata con 20 mM di HEPES (acido 4-(2-idrossietil)-1-piperazinil-etansolfonico), probenecid 2.5 mM e Brilliant Black 500  $\mu$ M.

Dopo aver posizionato entrambe le piastre (coltura cellulare e composto da testare) in una FlexStation II, è stata misurata la variazione di fluorescenza.

#### *Farmaci*

La N/OFQ utilizzata nei saggi di attività biologica è stata preparata e purificata come descritto da Guerrini e coll.<sup>23</sup>.

La N/OFQ è stata solubilizzata in acqua bidistillata ad una concentrazione finale di 1 mM. SB-612111 e i composti **1**, **2**, **5** e **7** sono stati solubilizzati in dimetilsolfossido ad una concentrazione finale di 10 mM. Le soluzioni stock dei ligandi sono state conservate a -20 °C e le diluizioni successive sono state fatte con un tampone HBSS/HEPES (20 mM).

*Analisi dei dati e terminologia*

Tutti i dati sono espressi come media  $\pm$  errore standard della media (sem) di almeno 3 esperimenti condotti in duplicato.

I dati di mobilizzazione del calcio sono espressi in percentuale di unità di intensità di fluorescenza (FIU) sul valore basale.

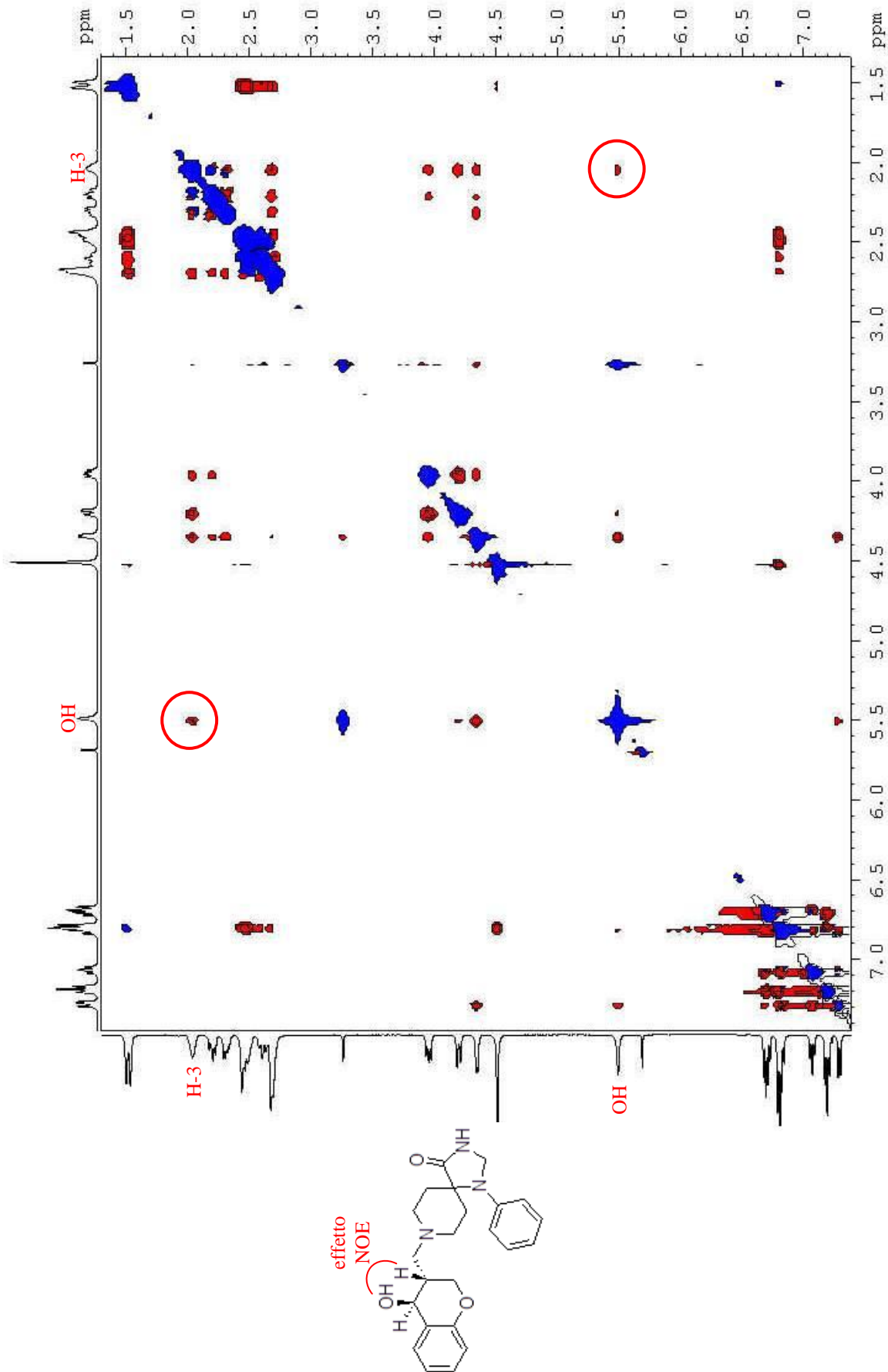
La potenza degli agonisti è data come  $pEC_{50}$  che è definita come il logaritmo negativo in base 10 della concentrazione molare di un agonista che produce il 50% del effetto massimo possibile ( $E_{max}$ ), mentre l' $E_{max}$  rappresenta l'effetto massimo che l'agonista è in grado di indurre nelle cellule in quelle determinate condizioni sperimentali.

Le proprietà antagoniste sono state valutate in esperimenti di inibizione usando come agonista la Nocicettina e la potenza, espressa come  $pK_B$ , è stata calcolata con la seguente equazione:

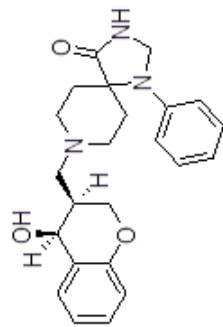
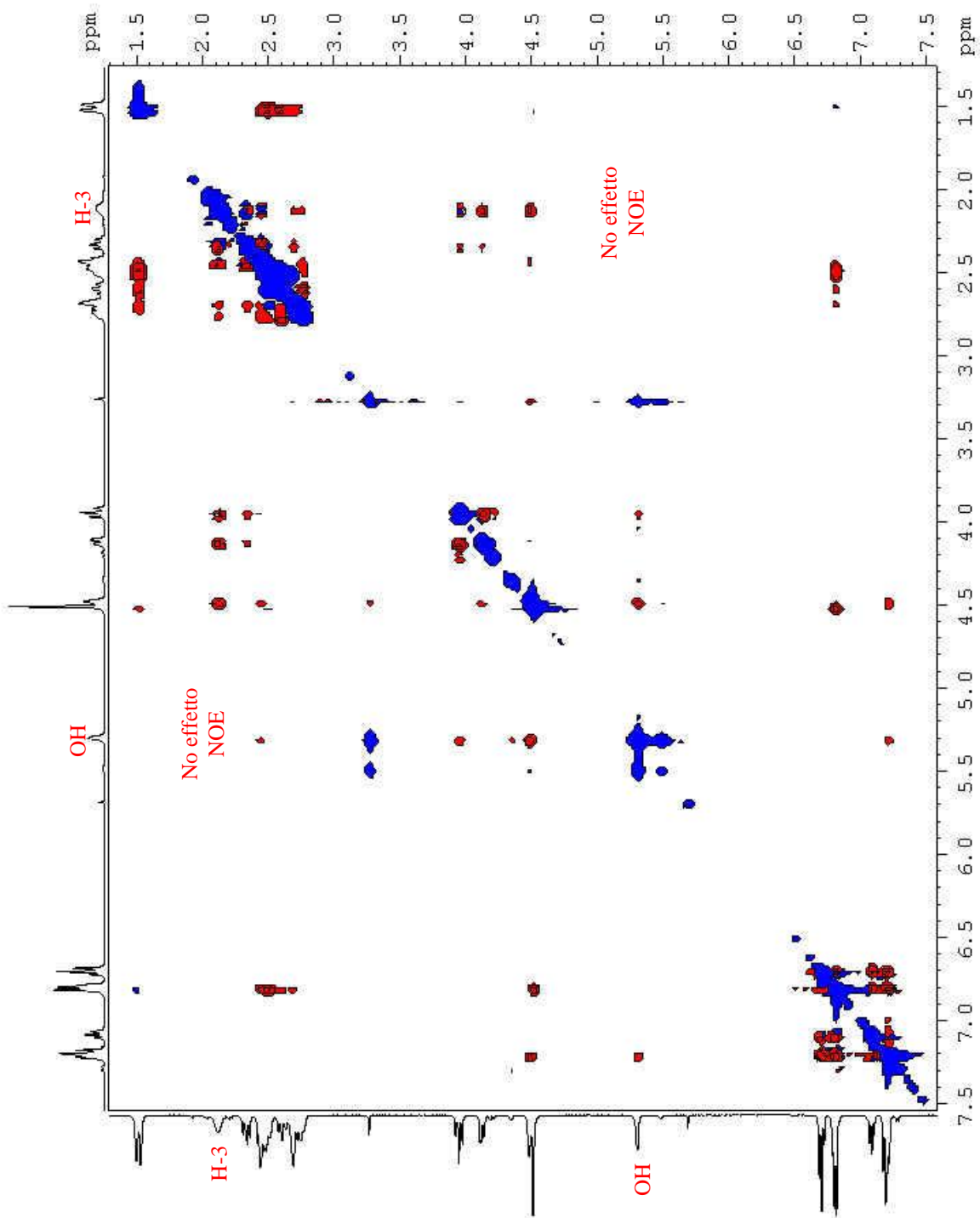
$$K_B = IC_{50} / ([2 + ([A]/EC_{50})^n]^{1/n} - 1)$$

dove  $IC_{50}$  è la concentrazione di antagonista che produce il 50% di inibizione della risposta dell'agonista,  $[A]$  è la concentrazione di agonista,  $EC_{50}$  è la concentrazione di agonista che produce il 50% della risposta massima e  $n$  è il coefficiente di Hill della curva concentrazione-risposta dell'agonista<sup>142</sup>.

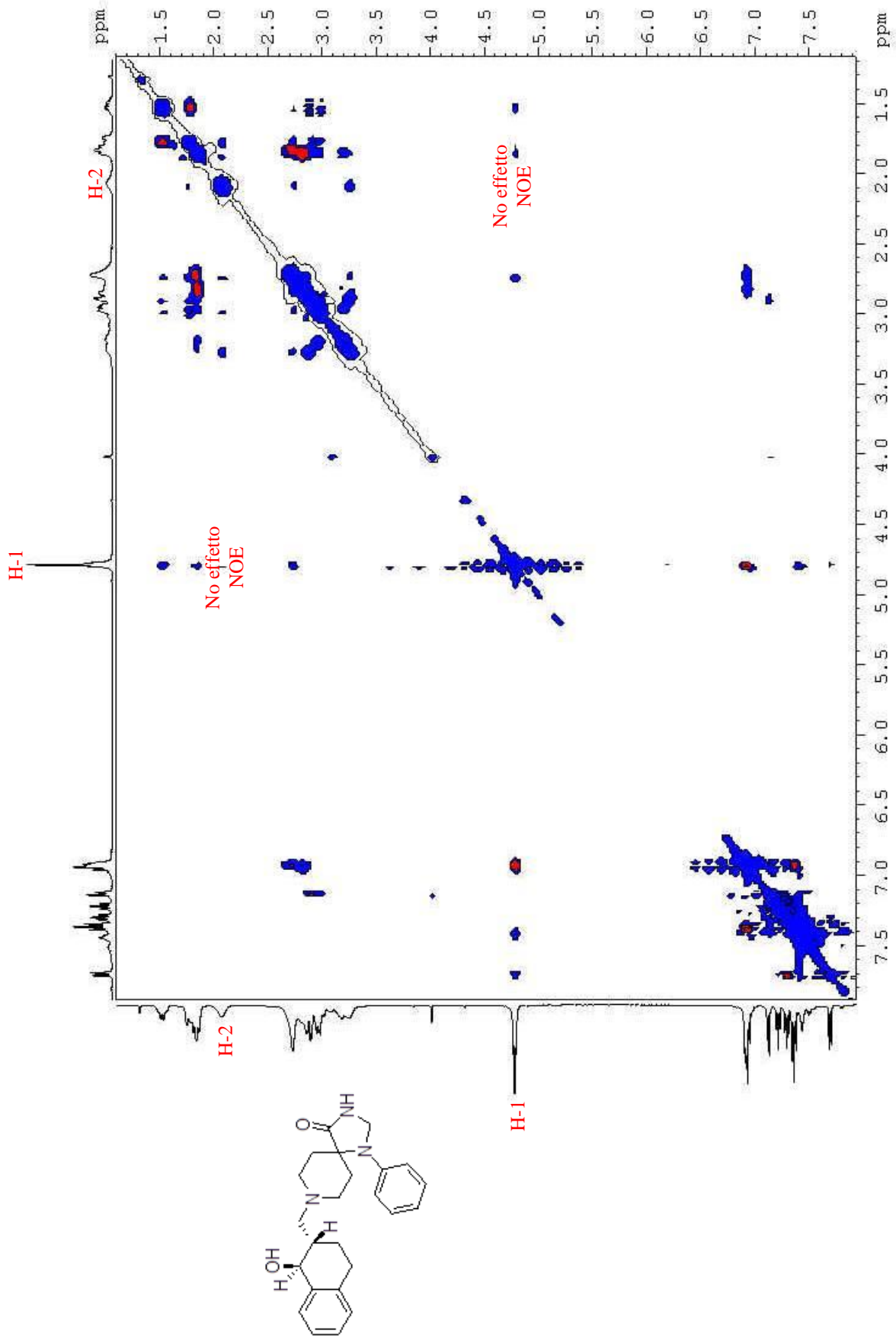
## 5.4 Allegato Parte Sperimentale



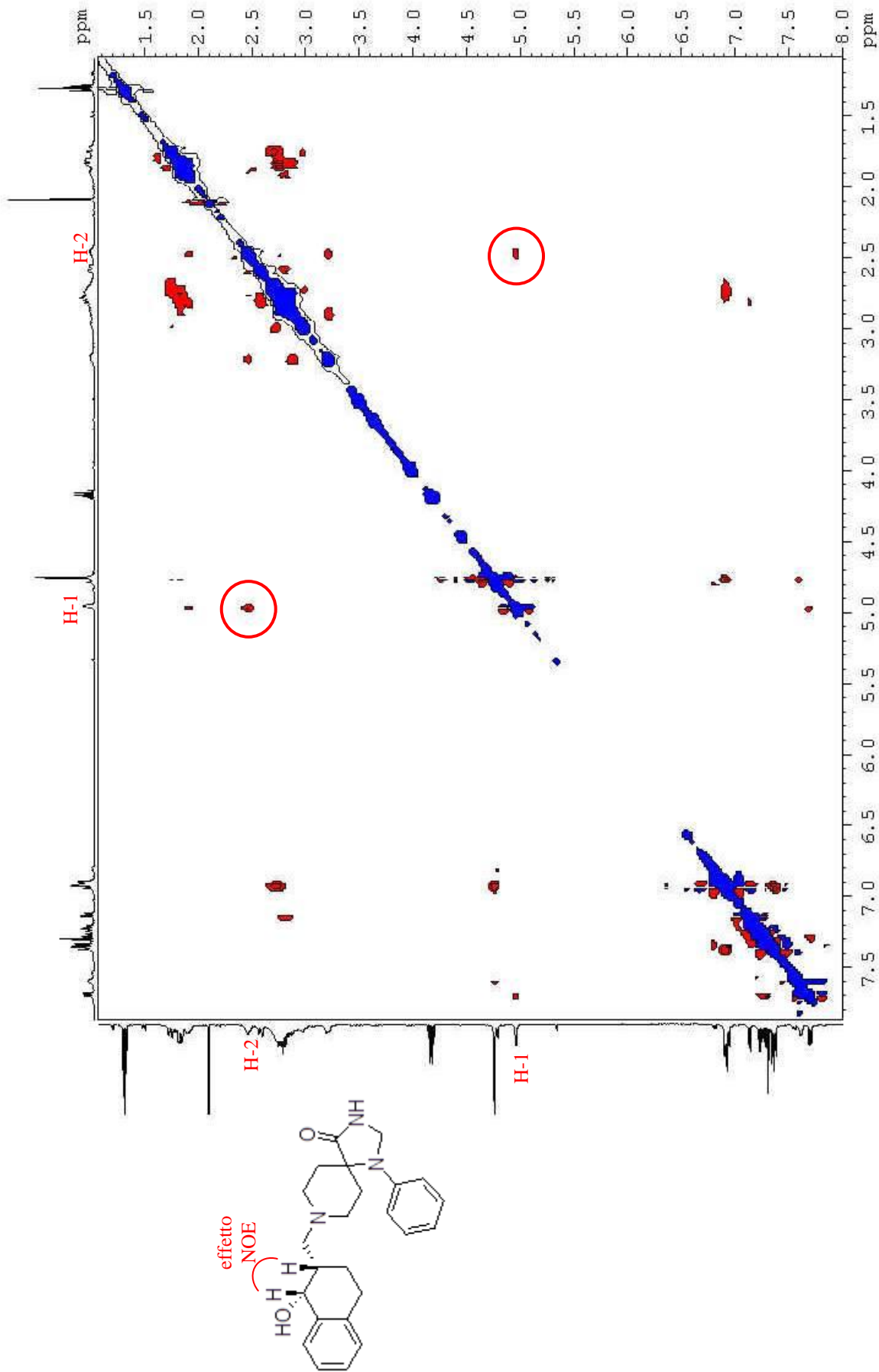
$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  NOESY per la coppia **21** e *ent*-**21**: l'effetto NOE tra l'OH e l'H-3 del cromanol indica una relazione *trans* tra OH e feniltriazaspirodecanone.



<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H NOESY per la coppia **22** e *ent-22*: l'assenza dell'effetto NOE tra l'OH e l'H-3 del cromano indica una relazione *cis* tra OH e feniltriazaspirodecanone.



$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  NOESY per la coppia **26** e *ent*-**26**: l'assenza dell'effetto NOE tra H-1 e H-2 del tetralinolo indica una relazione *trans* tra OH e feniltriazaspirodecanone.



$^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  NOESY per la coppia **27** e *ent*-**27**: l'effetto NOE tra H-1 e l'H-2 del tetralinolo indica una relazione *cis* tra OH e feniltriazaspirodecanone.

## 6. BIBLIOGRAFIA

- 1) Chinellato A., Skaper S. D., Giusti P., Debetto P. Consumption of opioid analgesic in Italy: Light at the end of the tunnel? *European Journal of Pain*. 15, 220-221, **2011**.
- 2) Ministero della Salute, Direzione Generale della Programmazione Sanitaria. Rapporto al Parlamento sullo stato di attuazione della Legge 38 del 15 marzo 2010: Disposizioni per garantire l'accesso alle cure palliative e alla terapia del dolore. **2011**.
- 3) OsMed, Rapporto nazionale **2009**. Disponibile in: <http://www.agenziafarmaco.gov.it/it/content/luso-dei-farmaci-italia-rapporto-osmed-2009>
- 4) Rapporto Brandeis University, Settembre 2012. Disponibile in: <http://www.pewhealth.org/news-room/press-releases/as-prescription-painkiller-overdoses-mount-researchers-outline-effective-approaches-to-curb-epidemic-85899418402>.
- 5) Melnikova I. Pain market. *Nature Reviews Drug Discovery*. 9, 589-590, **2010**.
- 6) Zeilhofer H. U., Calò G. Nociceptin/Orphanin FQ and Its Receptor: Potential Targets for Pain Teraphy? *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 306, 423-429, **2003**.
- 7) Romualdi P., Candeletti S. Pharmacology of opiate analgesics for chronic pain management. *G. Gerontol.* 52, 253-258, **2004**.
- 8) Evans C. J., Keith D. E. Jr, Morrison H., Magendzo K., Edwards R. H. Cloning of a delta opioid receptor by functional expression. *Science*. 258, 1952-1955, **1992**.
- 9) Chen Y., Mestek A., Liu J., Hurley J. A., Yu L. Molecular cloning and functional expression of  $\mu$ -opioid receptor from rat brain. *Mol Pharmacol.* 44, 8-12, **1993**.
- 10) Meng F., Xie G. X., Thompson R. C., Mansour A., Watson S. J., Akil H. Cloning and pharmacological characterization of a rat kappa opioid receptor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 155, 9954-9958, **1993**.
- 11) Mollereau C., Parmentier M., Mailleux P., Butour J. L., Moisand C., Chalon P., Caput D., Vassart G., Meunier C. ORL-1, a novel member of the opioid receptor family-cloning, functional expression and localization. *FEBS Letters*. 341, 33-38, **1994**.
- 12) Bunzow J. R., Saez C., Mortrud M., Bouvier C., Williams J. T., Low M., Grandy D. K. Molecular cloning and tissue distribution of a putative member of the rat opioid receptor gene family that is not a mu, delta or kappa opioid receptor type. *FEBS Letters*. 347 284-288, **1994**.
- 13) Fukuda K., Kato S., Mori K., Nishi M., Takeshima H., Iwabe N., Miyata N., Houtani T., Sugimoto T. cDNA cloning and regional distribution of a novel member of the opioid receptor family. *FEBS Letters*. 343, 42-46, **1994**.

- 14) Wang J. B., Johnson P. S., Imai Y., Persico A. M., Ozenberger B. A., Eppler C. M., Uhl G. R. cDNA cloning of an orphan opiate receptor gene family member and its splice variant. *FEBS Letters*. 348, 75–79, **1994**.
- 15) Chen Y., Fan Y., Liu J., Mestek A., Tian M., Kozak C. A., Yu L. Molecular cloning, tissue distribution and chromosomal localization of a novel member of the opioid receptor gene family. *FEBS Letters*. 347, 279-283, **1994**.
- 16) Meunier J. C. The potential therapeutic value of nociceptin receptor agonists and antagonists. *Expert Opinion on Therapeutic Patents*. 10, 371–388, **2000**.
- 17) Henderson G., Mcknight A. T. The orphan opioid receptor and its endogenous ligand nociceptin/orphanin FQ. *Trends Pharmacol. Sci*. 18, 293–300, **1997**.
- 18) Cox B. M., Chavkin C., Christie M. J., Civelli O., Evans C., Hamon M. D., Hoell V., Kieffer B., Kitchen I., Mc Knight A. T., Meunier J. C., Portoghese P. S. Opioid receptors. In : Girdlestone D. (ed), *The IUPHAR compendium of receptors characterization and classification*. IUPHAR Media, London, 321-333, 2000.
- 19) Meunier J. C., Mollereau C., Toll L., Suaudeau C., Moisand C., Alvineria P., Butour J. L., Guillemot J. C., Ferrara P., Monsarrat B., Mazargull H., Vassart G., Parmentier M., Costantin J. Isolation and structure of the endogenous agonist of opioid receptor-like ORL-1 receptor. *Nature*. 377, 532-535, **1995**.
- 20) Reinscheid R. K., Nothacker H. P., Bourson A., Ardati A., Henningsen R. A., Bunzow J. R., Gandy K., Langen H., Monsma F. J. Jr., Civelli O. Orphanin FQ: a neuropeptide that activates an opioid-like G protein coupled receptor. *Science*. 270, 792-794, **1995**.
- 21) Connor M., Yeo A., Henderson G. The effect of nociceptin on Ca<sup>2+</sup> channel current and intracellular Ca<sup>2+</sup> in the SH-SY5Y human neuroblastoma cell line. *Br. J. Pharmacol*. 118(2), 205-7, **1996**.
- 22) Vaughan C. W., Christie M. J. Increase by the ORL-1 receptor ligand, nociceptin, of inwardly rectifying K conductance in dorsal rafe nucleus neurons. *Br. J. Pharmacol*. 117(8), 1609-11, **1996**.
- 23) Guerrini R., Calò G., Rizzi A., Bianchi C., Lazarus L. H., Salvadori S., Temussi P. A., Regoli D. Address and message sequences for the nociceptin receptor: a structure-activity study of nociceptin-(1-13)-peptide amide. *J. Med. Chem*. 40, 1798-1792, **1997**.
- 24) Dooley C. T., Houghten R. A. Orphanin FQ: receptor binding and analog structure activity relationships in rat brain. *Life Sci*. 59, 23-29, **1996**.

- 25) Dunnill R. J., Kakizawa K., Mcknight A. T. Henderson G. Characterization of the actions of naloxone benzoylhydrazone at  $\mu$ -opioid, k-opioid and ORL-1 receptors in isolated tissues from rat and guinea-pig. *Br. J. Pharmal.* 119, 275 P, **1996**.
- 26) Calò G., Rizzi A., Bogoni G., Neugebauer V., Salvadori S., Guerrini R., Bianchi C., Regoli D. The mouse vas deferens: a pharmacological preparation sensitive to nociceptin. *Eur. J. Pharmacol.* 311, R3-R5, **1996**.
- 27) Butour J. L., Moisand C., Mazarguil H., Meunier J. C. Recognition and activation of the opioid receptor-like ORL-1 receptor by nociceptin, nociceptin analogs and opioids. *Eur. J. Pharmacol.* 321, 97-103, **1997**.
- 28) Guerrini R., Carrà G., Calò G., Trapella C., Marzola E., Rizzi D., Regoli D., Salvadori S. Nonpeptide/peptide chimeric ligands for nociceptin/orphanin FQ receptor: desing, synthesis and in vitro pharmacological activity. *J. Peptide Res.* 63, 477-484, **2004**.
- 29) Watson S. J., Mansour A., Meng F., Devine D., Civelli O., Akil H. Orphanin FQ peptide and receptor: structure-function, anatomical and behavioral analysis. *27th Meeting of the INRC.* S3-S4 24, **1996**.
- 30) Schulz S., Schreff M., Nuss D., Gramsch C., Holtt V. Nociceptin/orphanin FQ and opioid peptides show overlapping distribution but not colocalization in pain-modulatory brain regions. *Neuroreport.* 7, 3021-3025, **1996**.
- 31) Riedl M., Shuster S., Vulchanova L., Wang J., Loh H. H., Elde R. Orphanin FQ/nociceptin-immunoreactive nerve fibers parallel those containing endogenous opioids in rat spinal cord. *Neuroreport.* 7, 1369-1372, **1996**.
- 32) Lambert D. G. The nociceptin/orphanin FQ receptor: a target with broad therapeutic potential. *Nature Reviews/Drug Discovery.* 7, 694-710, **2008**.
- 33) Calò G., Guerrini R., Rizzi A., Salvadori S., Regoli D. Pharmacology of nociceptin and its receptor: a novel therapeutic target. *British Journal of Pharmacology.* 129, 1261-1283, **2000**.
- 34) Lou L. G., Zhang Z., Ma L., Pei G. Nociceptin/orphanin FQ activates mitogen-activated protein kinase in Chinese hamster ovary cells expressing opioid receptor-like receptor. *J. Neurochem.* 70, 1316–1322, **1998**.
- 35) Matthes H., Seward E. P., Kieffer B., North R. A. Functional selectivity of orphanin FQ for its receptor coexpressed with potassium channel subunits in *Xenopus laevis* oocytes. *Mol. Pharmacol.* 50, 447-450, **1996**.
- 36) Vaughan C. W., Ingram S. L., Christie M. J. Actions of the ORL-1 receptor ligand nociceptin on membrane properties of rat periaqueductal gray neurons in vitro. *J. Neurosci.* 17, 996-1003, **1997**.

- 37) Nicol B., Lambert D. G., Rowbotham D. J., Smart D., Mcknight A. T. Nociceptin induced inhibition of K<sup>+</sup>-evoked glutamate release from rat cerebrocortical slices. *Br. J. Pharmacol.* 119, 1081-1083, **1996**.
- 38) Berzetei-Gurske I. P., Scwartz. T. L. Determination of activity for nociceptin in the mouse vas deferens. *Eur. J. Pharmacol.* 302, R1-R2, **1996**.
- 39) Nicholson J. R., Paterson S. J., Mcknight A.T. Characterization of the response in the rat vas deferens to the ORL-1 agonist nociceptin. *Br. J. Pharmacol.* 119, 36 P, **1996**.
- 40) Meunier J. C. Nociceptin/orphanin and the opioid receptor-like ORL1 receptor. *European Journal of Pharmacol.* 340, 1-15, **1997**.
- 41) Neal M. J., Cunningham J. R., Paterson S. J., Mcknight A. T. Inhibition by nociceptin of the light-evoked, release of Ach from retinal cholinergic neurons. *Br. J. Pharmacol.* 120, 1399-1400, **1997**.
- 42) Patel H. J., Giembycz M. A., Spicuzza L., Barnes P. J., Belvisi M. G. Naloxone-insensitive inhibition of acetylcholine realase from parasympathetic nerves innervating guinea-pig trachea by the novel opioid, nociceptin. *Br. J. Pharmacol.* 120, 765-736, **1997**.
- 43) Chu X., Xu N., Li P., Mao L., Wang J. Q. Inibithion of cardiovascular activity following microinjection of novel opioid-like neuropeptide nociceptin (orphanin FQ) into the rat rostral ventrolateral medulla. *Brain Res.* 829: 134- 142, **1999**.
- 44) Kapusta D. R., Sezen S. F., Chang J. K., Lipton H., Kenigs V. A. Diuretic and antinatriuretic responses produced by the endogenous Opioid-Like Peptide, Nociceptin (Orphanin FQ). *Life Sciences*, 60(1), 15-21, **1996**.
- 45) Faber E. S., Chambers J. P., Evans R. H., Henderson G. Depression of glutamatergic transmission by nociceptin in the neonatal rat hemisected spinal cord preparation in vitro. *Br J Pharmacol.* 119, 189–190, **1996**.
- 46) Florin S., Suaudeau C., Meunier J. C., Costentin J. Nociceptin stimulates locomotion and exploratory behaviour in mice. *Eur J Pharmacol.* 317(1), 9-13, **1996**.
- 47) Takeda T., Tsuji M., Matsumiya T. Changes in head-dipping behavior in the hole-board test reflect the anxiogenic and/or anxiolytic state in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 350, 21–29, **1998**.
- 48) Zaveri N. Peptide and non-peptide ligands for the nociceptin/orphanin FQ receptor ORL1: Research tools and potential therapeutic agents. *Life Science.* 73, 663-678, **2003**.
- 49) Groneberg D. A., Fischer A. Endogenous opioids as mediators of asthma. *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics.* 14, 383–389, **2001**.
- 50) Chung K. F., Chang A. B. Therapy for cough: active agents. *Pulmonary Pharmacology and Therapeutics.* 15, 335–338, **2002**.

- 51) Calò G., Guerrini R., Rizzi A., Salvadori S., Burmeister M., Kapusta D. R. PUF-101, a peptide antagonist selective for the nociceptin/orphanin FQ receptor, *CNS Drug Rev.* 11(2), 97–112, **2005**.
- 52) Siniscalchi A., Rodi D., Beani L., Bianchi C. Inhibitory effect of nociceptin on [3H]-5-HT release from rat cerebral cortex slices. *British Journal of Pharmacology.* 128, 119–123, **1999**.
- 53) Murphy N. P., Ly H T., Maidment N. T. Intracerebroventricular orphanin FQ/nociceptin suppresses dopamine release in the nucleus accumbens of anaesthetized rats. *Neuroscience.* 75, 1–4, **1996**.
- 54) Schlicker E., Morari M. Nociceptin/orphanin FQ and neurotransmitter release in the central nervous system. *Peptides.* 21, 1023–1029, **2000**.
- 55) Murphy N. P., Lee Y., Maidment N. T. Orphanin FQ/nociceptin blocks acquisition of morphine place preference. *Brain Research.* 832, 168–170, **1999**.
- 56) Di Giannuario A., Pieretti S., Catalani A., Loizzo A. Orphanin FQ reduces morphine-induced dopamine release in the nucleus accumbens: a microdialysis study in rats. *Neuroscience Letters.* 272, 183–186, **1999**.
- 57) Koob G.F. Drugs of abuse: anatomy, pharmacology and function of rewards pathways. *Tips,* 13, 177-184, **1992**.
- 58) Yuan L., Han Z., Chang J. K., Hans J. S. Accelerated release and production of orphanin FQ in brain of chronic morphine tolerant rats. *Brain Res.* 826, 330-334, **1999**.
- 59) King M., Chang A., Pasternak G. W. Functional blockade of opioid analgesia by orphanin FQ/nociceptin. *Biochem. Pharmacol.* 55, 1537-1540, **1998**.
- 60) Cabeza De Vaca S., Carr K. D. Food restriction enhances the central rewarding effect of abused drugs. *J. Neurosci.* 18, 7502-7510, **1998**.
- 61) Stratford T. R., Holahan M. R., Kelly A. E. Injections of nociceptin into nucleus accumbens shell or ventromedial hypothalamic nucleus increase food intake. *Neuroreport.* 8, 423-426, **1997**.
- 62) Helyes Z., Nemeth J., Pinter E., Szolcsanyi J. Inhibition by nociceptin of neurogenic inflammation and the release of SP and CGRP from sensory nerve terminals. *Br J Pharmacol.* 121, 613-5, **1997**.
- 63) Giuliani S., Maggi C. A. Inhibition of tachykinin release from peripheral endings of sensory nerves by nociceptin, a novel opioid peptide. *Br. J. Pharmacol.* 118, 1567-1569, **1996**.
- 64) Neal C. R. Jr., Mansour A., Reinscheid R., Nothacker H. P., Civelli O., Akil H., Watson S. J. Jr. Opioid receptor-like (ORL1) receptor distribution in the rat central nervous system:

- comparison of ORL1 receptor mRNA expression with  $^{125}\text{I}$ -[ $^{14}\text{Tyr}$ ]-orphanin FQ binding. *J. Comp. Neurol.* 412, 563-605, **1999**.
- 65) Mogil J. S., Griesel J. E., Reinscheid R. K., Civelli O., Belknap J. K., Grandy D. K. Orphanin FQ is a functional anti-opioid peptide. *Neuroscience.* 15, 333-337, **1996**.
- 66) Largent-Milnes T. M., Vanderah T. W. Recently patented and promising ORL-1 ligands: where have we been and where are we going? *Expert Opin. Ther. Patents.* 20(3), 291-305, **2010**.
- 67) Khroyan T. V., Polgar W. E., Orduna J., Montenegro J., Jiang F., Zaveri N. T., Toll L. Differential Effects of Nociceptin/Orphanin FQ (NOP) Receptor Agonists in Acute versus Chronic Pain: Studies with Bifunctional NOP/ $\mu$  Receptor Agonists in the Sciatic Nerve Ligation Chronic Pain Model in Mice. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 339(2), 687-693, **2011**.
- 68) King M. A., Rossi G. C., Chang A. H., Williams L., Pasternak G. W. Spinal analgesic activity of orphanin FQ/nociceptin and its fragments. *Neurosci. Lett.* 223, 113-116, **1997**.
- 69) Ko M. C., Wei H., Woods J. H., Kennedy R. T. Effects of intrathecally administered nociceptin/ orphanin FQ in monkeys: behavioral and mass spectrometric studies. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 318, 1257-1264, **1996**.
- 70) Bao P., Zhang X., Ren H., Li Y., Mu Z., Zhang S., Li G., Yang L. Structural Requirement of N-Substituted Spiropiperidine Analogues as Agonist of Nociceptin/Orphanin FQ receptor. *Int. J. Mol. Sci.* 12, 8961-8981, **2011**.
- 71) Marti M., Mela F., Veronesi C., Guerrini R., Salvadori S., Federici M., Mercuri N. B., Rizzi A., Franchi G., Beani L., Bianchi C., Morari M. Blockade of Nociceptin/Orphanin FQ Receptor Signaling in Rat Substantia Nigra Pars Reticulata Stimulates Nigrostriatal Dopaminergic Transmission and Motor Behavior. *The Journal of Neuroscience.* 24(30), 6659–6666, **2004**.
- 72) Calò G., Bigoni R., Rizzi A., Guerrini R., Salvadori S., Regoli D. Nociceptin/Orphanin FQ ligands. *Peptides.* 21, 935-947, **2000**.
- 73) Calò G., Guerrini R., Bigoni R., Rizzi A., Marzola G., Okawa H., Bianchi C., Lambert D.G., Salvadori S., Regoli D., Characterization of [Nphe<sup>1</sup>]nociceptin(1-13)NH<sub>2</sub>, a new selective nociceptin receptor antagonist. *Br. J. Pharmacol.* 129, 1183-1193, **2000**.
- 74) Rizzi D., Rizzi A., Bigoni R., Camarda V., Marzola G., Guerrini R., De Risi C., Regoli D., Calò G., [Arg<sup>14</sup>-Lys<sup>15</sup>]Nociceptin, a Highly Potent Agonist of the Nociceptin/Orphanin FQ Receptor: in Vitro and in Vivo Studies. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 300, 57-63, **2002**.
- 75) Calò G., Rizzi A., Rizzi D., Bigoni R., Guerrini R., Marzola G., Marti M., McDonald J., Morari M., Lambert D.G. [Nphe<sup>1</sup>,Arg<sup>14</sup>,Lys<sup>15</sup>]nociceptin-NH<sub>2</sub>, a novel potent and selective antagonist of the nociceptin/orphanin FQ receptor. *Br J Pharmacol.* 136, 303–311, **2002**.

- 76) Noda Y., Mamiya T., Nabeshima T., Nishi M., Higashioka M., Takeshima H. Loss of antinociception induced by naloxone benzoylhydrazone in nociceptin receptor-knockout mice. *Journal of Biological Chemistry*. 273, 18047–18051, **1998**.
- 77) Bigoni R., Calò G., Rizzi A., Okawa H., Regoli D., Smart D., Lambert D. G. Effects of naloxone benzoylhydrazone on native and recombinant nociceptin/orphanin FQ receptors. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. 80, 407–412, **2002**.
- 78) Seki T., Awamura S., Kimura C., Ide S., Sakano K., Minami M., Nagase H., Satoh M. Pharmacological properties of TRK-820 on cloned  $\mu$ ,  $\delta$ - and  $\kappa$ -opioid receptors and nociceptin receptor. *Eur. J. Pharmacol.* 376, 159-167, **1999**.
- 79) Ozaki S., Kawamoto H., Itoh Y., Miyaji M., Iwasawa Y., Ohta H. A potent and highly selective nonpeptidyl nociceptin/orphanin FQ receptor (ORL1) antagonist: J-113397. *European Journal of Pharmacology*. 387, R17–R18, **2000**.
- 80) Ichikawa D., Ozaki S., Azuma T., Nambu H., Kawamoto H., Iwasawa Y., Takeshima H., Ohta H. In vitro inhibitory effects of J-113397 on nociceptin/orphanin FQ-stimulated. *Neuroreport*. 12, 1757–1761, **2008**.
- 81) Hashiba E., Harrison C., Calò G., Guerrini R., Rowbotham D. J., Smith G., Lambert D. G. Characterization and comparison of novel ligands for the nociceptin/orphanin FQ receptor. *Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology*. 363, 28–33, **2001**.
- 82) Chiou L. C., Fan S. H. Comp (J-113397), selectively and competitively antagonizes nociceptin activation of inwardly rectifying K(+) channels in rat periaqueductal gray slices. *Neuropharmacology*. 42, 987–992, **2002**.
- 83) Ito F., Noguchi H., Kondo H. 2-Substituted-1-piperidyl benzimidazole compounds as ORL1-receptor agonists. *United States Patent. US 6172067 B1. Pfizer, Inc., 2001*.
- 84) Ito F., Noguchi H., Ohashi Y., Shimokawa H. Benzimidazole compounds as ORL-1 receptor agonists. *European Patent Application. EP 1122257 A1. Pfizer, Inc., 2001*.
- 85) Tulshian D., Ho G. D., Silverman L. S., Matasi J. J., McLeod R. L., Hey J. A., Chapman R. W., Bercovici A., Cuss F. M., Kenilworth N. J. High affinity ligands for nociceptin receptor ORL-1. *United States Patent. US 6262066 B1. Schering Corporation. 2001*.
- 86) Tulshian D., Ho G. D., Silverman L. S., Matasi J. J., McLeod R. L., Hey J. A., Chapman R. W., Bercovici A., Cuss F. M., Kenilworth N. J. Nociceptin receptor ORL-1 agonists for use in treating cough. *International PCT Application. WO 01/07050. Schering Corporation. 2001*.
- 87) Cesura A. M., Hoffmann T., Rover S., Wichmann J. Piperidine derivatives. *International PCT Application. WO 00/14067. Hoffmann-La Roche. 2000*.

- 88) Shinkai H., Ito T., Yamada H. Amide derivatives and nociceptin antagonists. *International Patent. WO 99/48492*. **1999**.
- 89) Adam G., Cesura A. M., Galley G., Jenck F., Monsama F., Rover S., Wichmann J. New 8-substituted 1,3,8-triazaspiro[4,5]decan-4-one derivatives. *European Patent. EP 0856514. Hoffmann-La Roche*. **1998**.
- 90) Rover S., Adam G., Cesura A. M., Galley G., Jenck F., Monsma Jr F. J., Wichmann J., Dautzenberg F. M. High-affinity, non-peptide agonists for the ORL1 (orphanin FQ/nociceptin) receptor. *Journal of Medicinal Chemistry*. 43,1329–1338, **2000**.
- 91) Wichmann J., Adam G., Rover S., Cesura A. M., Dautzenberg F. M., Jenck F. 8-acenaphthen-1-yl-1-phenyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-one derivatives as orphanin FQ receptor agonists. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 9,2343–2348, **1999**.
- 92) Rover S., Wichmann J., Jenck F., Adam G., Cesura A. M. ORL1 receptor ligands: structure-activity relationships of 8-cycloalkyl-1-phenyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]decan-4-ones. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*. 10, 831–834, **2000**.
- 93) Hashiba E., Harrison C., Calò G., Guerrini R., Rowbotham D. J., Smith G., Lambert D. G. Characterisation and comparison of novel ligands for the nociceptin/orphanin FQ receptor. *Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology*. 363, 28–33, **2001**.
- 94) Jenck F., Wichmann J., Dautzenberg F. M., Moreau J. L., Ouagazzal A. M., Martin J. R., Lundstrom K., Cesura A. M., Poli S. M., Roever S., Kolczewski S., Adam G., Kilpatrick G. A synthetic agonist at the orphanin FQ/nociceptin receptor ORL1: anxiolytic profile in the rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*. 97,4938–4943, **2000**.
- 95) Hashiba E., Lambert D. G., Jenck F., Wichmann J., Smith G. Characterisation of the non-peptide nociceptin receptor agonist, Ro64-6198 in Chinese hamster ovary cells expressing recombinant human nociceptin receptors. *Life Sciences*. 70,1719–1725, **2002**.
- 96) Ciccocioppo R., Biondini M., Antonelli L., Wichmann J., Jenck F., Massi M. Reversal of stress- and CRF-induced anorexia in rats by the synthetic nociceptin/orphanin FQ receptor agonist, Ro 64–6198. *Psychopharmacology (Berl)*, 161,113–119, **2002**.
- 97) Rizzi D., Bigoni R., Rizzi A., Jenck F., Wichmann J., Guerrini R., Regoli D., Calò G. Effects of Ro 64–6198 in nociceptin/orphanin FQ-sensitive isolated tissues. *Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology*. 363, 551–555, **2001**
- 98) Adam G., Cesura A. M., Galley C., Jenck F., Rover S., Wichmann J. Piperidine derivatives. *United States Patent. US 6166209. Hoffmann-La Roche, Nutley, N.J.*, **2000**.

- 99) Thomsen C., Hohlweg R. (8-Naphthalen-1-ylmethyl-4-oxo-1-phenyl-1,3,8-triaza-spiro[4.5]-dec-3-yl)-acetic acid methyl ester (NNC 63-0532) is a novel potent nociceptin receptor agonist. *British Journal of Pharmacology*. 131, 903-908, **2000**.
- 100) Hashiba E., Harrison C., Calà G., Guerrini R., Rowbotham D. J., Smith G., Lambert D. G. Characterisation and comparison of novel ligands for the nociceptin/orphanin FQ receptor. *Naunyn Schmiedebergs Archives of Pharmacology*. 363, 28–33, **2001**.
- 101) Hohlweg R., Watson B., Thomsen C. 1,3,8-Triazaspiro[4,5]decanones with high affinity for opioid receptor subtypes. *United States Patent*. US 6277991. *Novo Nordisk A/S*. **2001**.
- 102) Satoh A., Kawamoto H., Ozaki S., Ito Y., Iwasawa Y. 4-Oxoimidazolidine-2-spiro-nitrogenous heterocyclic compounds. *International Patent*. WO 00/34280. *Banyu Pharmaceutical Co*. **2000**.
- 103) Satoh A., Kato T., Iwasawa Y., Ooi N. 4-Oxoimidazolidine-2-spiro-nitrogenous heterocyclic compounds. *International Patent*. WO 01/96337. *Banyu Pharmaceutical Co*. **2001**.
- 104) Zaveri N., Jiang F., Olsen C., Polgar W., Toll L. Small-Molecule Agonists and Antagonists of the Opioid Receptor-Like Receptor (ORL1, NOP): Ligand-Based Analysis of Structural Factors Influencing Intrinsic Activity at NOP. *The AAPS Journal*. 7(2), E345-E352, **2005**.
- 105) Nikam S. S., Arnold R. M., Nelson D. L. Serotonergic properties of spiroxatrine enantiomers. *Journal of Medicinal Chemistry*. 31, 1965-1968, **1998**.
- 106) Heine H-G., Schohe-Loop R., Glaser T., De Vry J.M.V. , Dompert W., Sommermeyer H., Triazaspirodecanone-methylchromans. *United States Patent* 606048. **2000**.
- 107) Bailey P. D., Beard M. A., Dang H.P.T., Phillips T. R., Price R. A., Whittaker J. H., Debenzylation using catalytic hydrogenolysis in trifluoroethanol, and the total synthesis of (-)-raumacline. *Science Direct*. 49(13), 2150–2153, **2008**.
- 108) Fu X., Cook J. M. Enantiospecific total synthesis of the ajmaline related alkaloids (-)-suaveoline, (-)-raumacline, and (-)-N(b)-methylraumacline. *J. Am. Chem. Soc.* 114, 6910–6912, **1992**.
- 109) Fu X., Cook J. M. General approach for the synthesis of ajmaline-related alkaloids. Enantiospecific total synthesis of (-)-suaveoline, (-)-raumacline, and (-)-N<sub>b</sub>-methylraumacline. *J. Org. Chem.* 58, 661–672, **1993**.
- 110) Arai H., Kasai M. Facile nucleophilic cleavage of selenide with Dimedone. Synthesis of novel 6-demethylmitomycins. *J. Org. Chem.* 58, 4151-4152, **1993**.
- 111) Dilbeck G. A., Field L., Gallo A. A., Gargiulo R. J. Biologically Oriented Organic Sulfur Chemistry. 19. Synthesis and Properties of 2-Amino-5-mercapto-5-methylhexanoic Acid, a

- Bishomologue of Penicillamine. Use of Boron Trifluoride Etherate for Catalyzing Markownikoff Addition of a Thiol to an Olefin. *J. Org. Chem.* 43, 4593, **1978**.
- 112)** Srinivasan N., Yurek-George A., Ganesan A. Rapid deprotection of *N*-Boc amines by TFA combined with freebase generation using basic ion-exchange resins. *Molecular Diversity*. 9, 291–293, **2005**.
- 113)** Hwu J. R., Jain M. L., Tsay S. C., Hakimelahi G. H. Ceric Ammonium Nitrate in the deprotection of tert-butoxycarbonyl group. *Tetrahedron Letters*. 37(12), 2035-2038, **1996**.
- 114)** Lazar S., Soukri M., Leger J. M., Jarry C., Akssira M., Chirita R., Grig-Alexa I. C., Finarud A., Guillaumet G. Efficient synthesis of 2- and 3-substituted-2,3- dihydro[1,4]dioxino[2,3-b]pyridine derivatives. *Tetrahedron*, 60, 6461–6473, **2004**.
- 115)** Costantino L., Gandolfi F., Sorbi C., Franchini S., Prezzavento O., Vittorio F., Ronsisvalle G., Leonardi A., Poggesi E., and Brasili L. Synthesis and Structure-Activity Relationships of 1-Aralkyl-4-Benzylpiperidine and 1-Aralkyl-4-Benzylpiperazine Derivatives as Potent  $\sigma$  Ligands. *J. Med. Chem.* 48, 266-273, **2005**.
- 116)** Vogt B. R., Cullison D. A. 1,3,8-triazaspiro(4,5)decan-4-one derivatives. *United States Patent 4,051,248*, **1977**.
- 117)** Kulkarni Y. D., Agarwal V. K. Studies on the amine exchange reactions in C-Mannich bases. *J. Indian Chem. Soc.* 59, 380-382, **1982**.
- 118)** Mollica J. A., Smith J. B., Nunes I. M., Govan H. K. Kinetics of the decomposition of a Mannich Bases. *J. Pharm. Sci.* 59(12), 1770-1774, **1970**.
- 119)** Blackburn Thompson B. The Mannich reaction. *J. Pharm. Sci.* 57(5), 715-733, **1968**.
- 120)** Koshy T., Mitchner H. Kinetic study on Hydrolysis of a Mannich Base Compound. *J. Pharm. Sci.* 53(11), 1381-1385, **1964**.
- 121)** Koval'skaya S. S., Kozlov N. G., Tkachev A. V. Mannich condensation of 3,3,5-Trimethylcyclohexanone and its oxime. *Russ. J. Org. Chem.* 41(12),1836-1844, **2005**.
- 122)** Sundermann B., Hennies H.-H., Schiene K., Bloms-funke P., Englberger W., Frommann S., Saunders D. Saturated and unsaturated 3-pyridyl-benzocycloalkylmethyl-amines for use in treating pain, depression and/or anxiety. *US Patent Application 020319/A1*. **2007**.
- 123)** Zimmerman D. M., Leander J. D., Cantrell B. E., Reel J. K., Snoddy J., Mendelsohn L. G., Johnson B. G., Mitch C. H. Structure-Activity Relationships of trans-3,4-Dimethyl-4-(3-hydroxyphenyl)piperidine Antagonists for  $\mu$ - and  $\kappa$ -Opioid Receptors. *J. Med. Chem.* 36(20), 2833-2841, **1993**.
- 124)** Baziard-Mouysset G., Younesa S., Labssita Y., Payard M., Caignard D., Rettori M., Renard P., Pfeiffer B., Guardiola-Lemaitre B. Synthesis and structure-activity relationships of novel 2-

- amino alkyl chromones and related derivatives as  $\alpha$  site-selective ligands. *Eur. J. Med. Chem.* 33, 339-347, **1998**.
- 125)** Mouysset G., Payard M., Tronche P., Bastide J., Bastide P., Privat A. M. Synthèse et activité anti-allergique de quelques alcools benzopyroniques et apparentés. *Eur. J. Med. Chem.* 23, 199-202, **1988**.
- 126)** Wipf P., Aslan D. C. Synthesis of Bicyclic Ortho Esters by Epoxy Ester Rearrangements and Study of Their Ring-Opening Reactions. *J. Org. Chem.* 66, 337-343, **2001**.
- 127)** Bolós J., Loscertales T., Nieto J., Sacristan A., Ortiz J. A. A New Efficient Synthesis of 3-(hydroxymethyl)-4H-chromen-4-ones. *J. Het. Chem.*, 37 (5), 1203-1208, **2000**.
- 128)** Venkati M., Krupadanam G. L. A New Synthesis of *cis*-3-substituted chroman-4-ols. *Synthetic Communications*. 32 (4), 2227-2235, **2002**.
- 129)** Cozzi P., Branzoli U., Carganico G., Ferti C., Pillan A., Severino D., Tonani R. N-Imidazolyl derivatives of the naphthalene and chroman rings as thromboxane A<sub>2</sub> synthase inhibitors. *Eur. J. Med. Chem.* 26, 423-433, **1991**.
- 130)** Hua B., Zewang F., Jianhang W., Lijie S. Novel carbostyryl compound, preparation and use. *CN101497612(A)*, **2009**.
- 131)** Yamashita A., Norton E. B., Hanna C., Shim J., Salaski E. J., Zhou D., Mansour T. S. Synthesis of 3,3-Dimethyl-4-chromanones: Improved Procedures Without Ring Opening. *Synthetic Communications*, 36 (4), 465-472, **2005**.
- 132)** Oh S., Nam H. J., Park J., Beak S. H., Park S. B. Development of a Benzopyran-Containing Androgen Receptor Antagonist to Treat Antiandrogen-Resistant Prostate Cancer. *ChemMedChem*, 5, 529-533, **2010**.
- 133)** Brady W. T., Agho M. O. The (4 + 2) Cycloaddition of Ketenes and  $\beta$ -Methoxy  $\alpha,\beta$ -Unsaturated Ketones: 2-Pyranones. *J. Org. Chem.* 48 (26), 5337-5341, **1983**.
- 134)** Pearce B. C., Parker R. A., Deason M. E., Dischino D. D., Gillespie E., Qureshi A. A., Volk K., Wright J. J. K. Inhibitors of Cholesterol Biosynthesis. 2. Hypocholesterolemic and Antioxidant Activities of Benzopyran and Tetrahydronaphthalene Analogues of the Tocotrienols. *J. Med. Chem.* 37, 526-541, **1994**.
- 135)** Wood P. M., Woo L. W. L., Labrosse J. R., Thomas M. P., Mahon M. F., Chander S. K., Purohit A., Reed M. J., Potter B. V. L. Bicyclic Derivatives of the Potent Dual Aromatase-Steroid Sulfatase Inhibitor 2-Bromo-4-[[[(4-cyanophenyl)(4H-1,2,4-triazol-4-yl)amino]methyl]phenylsulfamate: Synthesis, SAR, Crystal Structure, and in vitro and in vivo Activities. *ChemMedChem*. 5, 1577-1593, **2010**.

- 136)** Prasad M., Rastogi S. N. Synthesis of 1-Hydroxy-2-(hydroxyl/hydroxymethyl)benzosuberans as Potential Biodynamic Agents. *Indian Journal of Chemistry*. 23B, 753-757, **1984**.
- 137)** Jones W. M. Amine Borane Reductions. The Stereochemistry of the Reduction of 4-t-Butylcyclohexanone with Trimethylamine Borane in the Presence and Absence of Boron Fluoride. *J. Am. Chem. Soc.* 82 (10), 2528-2532, **1960**.
- 138)** Burkhardt E. R., Boron M. K. Reagents in Process Chemistry: Excellent Tools for Selective Reductions. *Chem. Rev.* 106, 2617-2650, **2006**.
- 139)** Kelly H. C., Giusto M. B., Marchello F. R. Amineborane Reductions in Aqueous Acid Media. *J. Am. Chem. Soc.* 86, 3882, **1964**.
- 140)** Andrews G. C. Chemoselectivity in the Reduction of Aldehydes and Ketones with Amine Borane. *Tetrahedron Letters*. 21, 697-700, **1980**.
- 141)** Camarda V., Fischetti C., Anzellotti N., Molinari P., Ambrosio C., Kostenis E., Regoli D., Trapella C., Guerrini R., Severo S., Calò G. Pharmacological profile of NOP receptors coupled with calcium signaling via the chimeric protein Gaqi5. *Naunyn Schmiedebergs Arch. Pharmacol.* 379 (6), 599-607, **2009**.
- 142)** Kenakin T. A Pharmacology Primer. *Elsevier Academic Press*, San Diego, **2004**.
- 143)** Caldwell J. P., Matasi J. J., Zhang H., Fawzi A., Tulshian D. B. Synthesis and Structure-activity relationship of N-substituted spiropiperidines as nociceptin receptor ligands. *Bioorg. Med. Chem.* 17, 2281-2284, **2007**.
- 144)** Thompson A. A., Liu W., Chun E., Katritch V., Wu H., Vard E., Huang X.-P., Trapella C., Guerrini R., Calò G., Roth B. L., Cherezov V., Stevens R. C. Structure of the nociceptin/orphanin FQ receptor in complex with a peptide mimetic. *Nature*. 485, 395-401, **2012**.