



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
FIRENZE

DOTTORATO DI RICERCA IN  
AREA DEL FARMACO E TRATTAMENTI INNOVATIVI

CICLO XXVIII

COORDINATORE Prof. Teodori Elisabetta

Progettazione, sintesi e valutazione farmacologica  
preliminare di modulatori delle proteine di trasporto  
coinvolte nella multidrug resistance (MDR)

Settore Scientifico Disciplinare CHIM/08

**Dottorando**

Dott. Floriddia Elisa

**Tutore**

Prof. Dei Silvia

**Coordinatore**

Prof. Teodori Elisabetta

Anni 2012/2015



## INDICE

<b>1. INTRODUZIONE</b> .....	<b>1</b>
1.1. La multidrug resistance.....	1
1.2. Le pompe di efflusso.....	2
1.2.1. La glicoproteina P (Pgp).....	3
1.2.2. Struttura e meccanismo di azione della Pgp.....	4
1.3. Ruolo fisiologico della Pgp.....	8
1.3.1. Ruolo della Pgp nelle patologie neurodegenerative.....	9
1.4. Strategie per il superamento della MDR.....	10
1.4.1. Modulatori della Pgp.....	11
1.4.1.1. Modulatori della Pgp di prima generazione.....	12
1.4.1.2. Modulatori della Pgp di seconda generazione.....	14
1.4.1.3. Modulatori della Pgp di terza generazione.....	15
1.4.1.4. Nuove prospettive: quarta generazione?.....	17
1.4.2. Problemi associati allo sviluppo clinico dei chemiosensibilizzanti.....	20
1.4.3. Modulatori: Relazioni Struttura-Attività (SAR) e modelli di interazione.....	21
<b>2. PREMESSE E SCOPO DEL LAVORO</b> .....	<b>23</b>
2.1. Derivati esterei “flessibili”.....	24
2.1.1. Esteri <i>N,N</i> -bis(alcanol)amminoarilici.....	24
2.1.2. Esteri <i>N</i> -(metilalcanol)- <i>N</i> -(alcanol)amminoarilici.....	29
2.2. Derivati esterei e ammidici “rigidi” dicicloesanici.....	30
2.2.1. Esteri <i>N,N</i> -bis(cicloesanol)amminoarilici.....	30
2.2.2. Ammidi <i>N,N</i> -bis(cicloesanol)amminoariliche.....	32
2.3. Prodotti esterei “ibridi” a struttura <i>N</i> -cicloesil- <i>N</i> -alchilamminica.....	32
2.4. Derivati a struttura <i>N,N</i> -alchilpiperazinica.....	33
<b>3. PARTE CHIMICA</b> .....	<b>35</b>
3.1. Prodotti lineari.....	35
3.1.1. Esteri <i>N,N</i> -bis(alcanol)amminici.....	35
3.1.2. Esteri <i>N</i> -(metilalcanol)- <i>N</i> -(alcanol)amminoarilici.....	37
3.2. Prodotti rigidi.....	40
3.2.1. Esteri <i>N,N</i> -bis-cicloesilamminici.....	40
3.2.2. Ammidi <i>N,N</i> -bis-cicloesilamminiche.....	43
3.3. Esteri <i>N</i> -cicloesil- <i>N</i> -alchilamminici.....	47
3.4. Prodotti <i>N,N</i> -alchilpiperazinici.....	49
<b>4. RISULTATI E DISCUSSIONE</b> .....	<b>56</b>
4.1. Test di uptake nucleare della pirarubicina.....	56
4.1.1. Derivati esterei alcanolamminoarilici.....	57
4.1.1.1. Esteri <i>N,N</i> -bis(alcanol)amminoarilici.....	57
4.1.1.2. Esteri <i>N</i> -(metilalcanol)- <i>N</i> -(alcanol)amminoarilici.....	59
4.1.2. Derivati ammidici <i>N,N</i> -bis(cicloesanol)amminoarilici.....	60

4.1.3.	Prodotti esterei a struttura <i>N</i> -cicloesanol- <i>N</i> -alcanolamminica.....	61
4.1.4.	Prodotti a struttura <i>N,N</i> -alchilpiperazinica.....	62
4.2.	Valutazione dell'attività citotossica della doxorubicina in presenza e assenza degli agenti revertanti.....	63
4.2.1.	Citotossicità intrinseca delle due coppie di isomeri in studio.....	64
4.2.2.	Potenziamento degli effetti citotossici della doxorubicina in presenza delle due coppie di isomeri in studio.....	65
4.3.	Stabilità in plasma.....	68
4.4.	Meccanismo di interazione dei derivati <i>N,N</i> -bis(cicloesanol)amminoarilici nei confronti della Pgp e selettività rispetto a MRP1 e BCRP.....	70
4.5.	Conclusioni e prospettive future.....	72
<b>5.</b>	<b>PARTE CHIMICA SPERIMENTALE.....</b>	<b>73</b>
5.1.	Prodotti finali.....	74
5.1.1.	Prodotti finali della serie alchilamminica.....	74
5.1.2.	Prodotti finali della serie dei derivati ramificati.....	90
5.1.3.	Prodotti finali della serie dicicloesanica esterea.....	95
5.1.4.	Prodotti finali della serie dicicloesanica ammidica.....	97
5.1.5.	Prodotti finali della serie cicloesilamminica.....	99
5.1.6.	Prodotti finali della serie piperazinica.....	104
5.2.	Intermedi.....	108
5.2.1.	Intermedi della serie alchilamminica.....	108
5.2.2.	Intermedi della serie dei derivati ramificati.....	123
5.2.3.	Intermedi della serie dei derivati dicicloesanici esterei.....	127
5.2.4.	Intermedi della serie dicicloesanica ammidica.....	131
5.2.5.	Intermedi della serie cicloesilamminica.....	135
5.2.6.	Intermedi della serie piperazinica.....	141
<b>6.</b>	<b>PARTE FARMACOLOGICA SPERIMENTALE.....</b>	<b>148</b>
6.1.	Aumento dell'uptake nucleare della pirarubicina.....	148
6.2.	Aumento della citotossicità della doxorubicina.....	150
6.3.	Studio di stabilità in plasma.....	151
6.4.	Meccanismo di interazione nei confronti della Pgp e selettività rispetto a MRP1 e BCRP.....	152
6.4.1.	Determinazione della permeabilità apparente.....	152
6.4.2.	Consumo cellulare di ATP.....	153
6.4.3.	Inibizione del trasporto di un probe fluorescente nelle cellule MDCK-MDR1, MDCK-MRP1 e MDCK-BCRP.....	153
<b>7.</b>	<b>BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>154</b>
<b>8.</b>	<b>STUDIO DELLA REATTIVITA' DI NUOVI ACCETTORI DI MICHAEL A STRUTTURA INDOLICA.....</b>	<b>161</b>
8.1.	Composti indolici.....	161
8.1.1.	Nitrazione del 2-metil-1 <i>H</i> -indolo.....	162
8.1.2.	Sintesi del 3-nitro-2-stiril-1 <i>H</i> -indolo.....	163

8.2. Studio della reattività del composto ( <i>E</i> )-3-nitro-2-stiril-1 <i>H</i> -indolo in reazioni di Michael.....	165
8.3. Parte chimica sperimentale.....	167
8.4. Bibliografia.....	169
<b>9. PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI.....</b>	<b>170</b>



## Cap.1. INTRODUZIONE

### 1.1. La multidrug resistance

I tumori sono la principale causa di morte nei paesi industrializzati dopo le patologie di tipo cardiovascolare. Sono caratterizzati da un mancato controllo della proliferazione cellulare, generalmente causato da un danneggiamento del patrimonio genetico della cellula stessa. La chemioterapia di tipo antitumorale ha lo scopo di eliminare selettivamente le cellule neoplastiche. La selettività però non è mai completa, e questo ha come conseguenza una vasta gamma di possibili danni ai tessuti non tumorali con un conseguente corollario di effetti collaterali spesso gravi.

Generalmente il trattamento farmacologico dei tumori avviene tramite politerapia per abbassare le dosi dei singoli chemioterapici e prevenire il più possibile la selezione di cellule resistenti ai farmaci somministrati. Purtroppo, nonostante la chemioterapia sia una pietra miliare nella gestione di molti tipi di tumori, solo circa il 50% di questi è suscettibile ai chemioterapici, mentre l'altro 50% presenta farmacoresistenza [1]. La farmacoresistenza rappresenta un fenomeno molto diffuso a livello farmacologico ed interessa diversi ambiti terapeutici, causando la mancata risposta al trattamento verso la patologia in atto rendendolo di fatto inefficace ed inutile.

La farmacoresistenza, o Drug Resistance (DR), si può distinguere in *intrinseca*, quando le cellule tumorali o i microorganismi sono naturalmente resistenti ai farmaci e la loro resistenza si manifesta fin dall'inizio del trattamento farmacologico, e in *acquisita*, quando le cellule e i microorganismi, inizialmente sensibili al trattamento farmacologico, diventano insensibili dopo un periodo più o meno breve di terapia [2, 3].

La multidrug resistance (MDR) è un caso particolare di resistenza acquisita inizialmente osservata in cellule tumorali (*in vitro* e *in vivo*) e successivamente ritrovata anche nei microorganismi. Si manifesta come resistenza crociata all'azione di vari chemioterapici non correlati tra loro per struttura chimica e meccanismo di azione [4, 5].

La MDR è un fenomeno complesso che può risultare da una serie di meccanismi biochimici [6]. I più importanti tra questi sono:

- alterazione del trasporto attraverso la membrana, con conseguente diminuzione dell'entrata o aumento dell'uscita del chemioterapico dalla cellula [7];
- alterazione dell'espressione di enzimi e proteine target [8] quali topoisomerasi I e diidrofolato reductasi;
- modificazione dell'attivazione o degradazione del farmaco [9];
- aumento dell'azione riparatrice del DNA [10];
- fallimento del meccanismo fisiologico dell'apoptosi [11, 12].

Nel caso di un'alterazione del trasporto attraverso la membrana si distingue fra una MDR *classica* ed una MDR *non classica*, caratterizzate entrambe da un trasporto carrier-mediato dei farmaci con scarsa specificità di substrato e associate alla

sovraespressione di trasportatori di membrana nelle cellule neoplastiche, che nel primo caso è la glicoproteina P (Pgp, P-170 o Pg-170), nel secondo caso sono le Multidrug-Resistance-associated Proteins (MRPs).

## 1.2. Le pompe di efflusso

Le forme di MDR più ampiamente studiate sono quelle causate dalla sovraespressione di proteine trasportatrici che agiscono da pompe di efflusso, riducendo attivamente la concentrazione di chemioterapico nella cellula al di sotto del valore necessario per esplicare l'attività.

Esistono numerose famiglie di pompe di efflusso, alcune presenti nelle cellule microbiche, come le Major Facilitating Superfamily proteins (MFS) e le Smallest Multidrug Resistance proteins (SMR), che utilizzano il gradiente elettrochimico di protoni come fonte di energia, altre presenti sia in organismi procarioti che eucarioti come le ATP-Binding Cassette type proteins (ABC) che utilizzano l'energia derivante dall'idrolisi dell'ATP. Sulla base della omologia di sequenza dei geni ABC che codificano per tali proteine, questi trasportatori possono essere suddivisi in sette gruppi sulla base di analisi filogenetica: ABCA (12 membri), ABCB (11 membri), ABCC (13 membri), ABCD (4 membri), ABCE (1 membro), ABCF (3 membri), ABCG (5 membri).

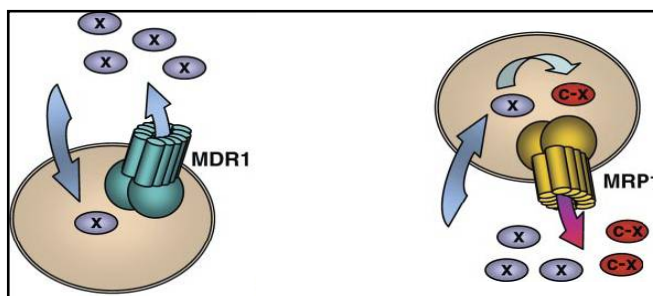
Ad oggi le pompe di efflusso appartenenti alla superfamiglia ABC meglio conosciute sono la glicoproteina P (Pgp) e le Multidrug Resistance Proteins (MRPs) [13], responsabili della MDR classica e non classica. Oltre a queste è importante menzionare la Lung cancer Resistance-related Protein (LRP) [14] e soprattutto la Breast Cancer Resistance Protein (BCRP) chiamata anche Mitoxantrone Resistance protein (MXR) [15] (tabella 1.1).

Nome comune	Nome sistematico
MDR1, Pgp	ABCB1
MDR2	ABCB4
MRP1	ABCC1
MRP2/cMOAT	ABCC2
MRP3	ABCC3
MRP4	ABCC4
MRP5	ABCC5
MRP6	ABCC6
MXR, BCRP, ABC-P	ABCG2
BSEP, SPGP	ABCB11

**Tabella 1.1:** principali trasportatori della famiglia ABC.



Queste proteine sfruttano l'energia sviluppata dall'idrolisi dell'ATP per trasportare ed espellere all'esterno della cellula una grande varietà di sostanze, da piccole molecole come cationi organici, amminoacidi, antibiotici, a macromolecole come proteine e polisaccaridi. La Pgp è in grado di trasportare molecole neutre e cariche positivamente nella loro forma non modificata, mentre la MRP1 trasporta substrati neutri e anioni come tali o coniugati a GSH, glucuronide e solfato [16-18] (fig.1.1). Si possono evidenziare delle caratteristiche comuni ai substrati delle proteine di trasporto, quali alta idrofobicità, alto peso molecolare, capacità di diffondere passivamente all'interno della cellula [3].



**Figura 1.1:** rappresentazione schematica della Pgp (MDR1) e MRP1; X= substrati idrofobici, C-X= substrati coniugati a glutatione o glucuronide.

### 1.2.1. La glicoproteina P (Pgp)

La più studiata tra le pompe di efflusso è la Pgp, una glicoproteina con un peso molecolare di circa 170 KDa, codificata nell'uomo dal gene *MDR1* e coinvolta nella MDR classica. La "P" presente nel nome della proteina sta per *permeability*, in quanto fin dall'inizio il suo ruolo è stato associato ad una alterata permeabilità della membrana ai farmaci.

La Pgp sfrutta l'energia derivante dall'idrolisi dell'ATP per espellere dalla cellula, contro gradiente, una grande varietà di sostanze con struttura e dimensioni diverse. E' presente normalmente nelle cellule sane dove svolge molte funzioni fisiologiche, tra cui una protezione nei confronti di molecole lipofile e xenobiotici citotossici. Sfortunatamente è sovraespressa sulla membrana di cellule tumorali, per alterazione dell'espressione del gene *MDR1* che codifica per questa proteina e ciò sfocia in una resistenza alla cura chemioterapica antitumorale.

Quindi da un punto di vista clinico la Pgp rappresenta un serio problema in quanto, come già detto, è strettamente legata al fenomeno della MDR nella terapia antitumorale, ma non solo. Ad esempio è coinvolta anche nella MDR nella terapia anti-AIDS, in quanto è in grado di riconoscere, legare ed espellere dalle cellule un'ampia varietà di sostanze idrofobiche e anfipatiche, tra le quali sono compresi anche farmaci inibitori dell'HIV proteasi [19].

I substrati tradizionali della Pgp comprendono, tra gli agenti citotossici, le antracicline (doxorubicina, epirubicina e daunorubicina), gli alcaloidi della Vinca (vinblastina, vincristina), i taxani, le colchicine e le podofillotossine (etoposide) (tabella 1.2) e tra i più recenti farmaci antitumorali, l'imatinib [20], la ecteinascidina 743 [21] ed il gentuzumab [22].

Non sorprende, quindi, che l'aumentata espressione del gene *MDR1* in campioni tumorali di pazienti che sono divenuti resistenti dopo trattamento chemioterapico, dimostri che la MDR mediata dalla Pgp gioca un ruolo clinico importante in molti tumori umani, soprattutto nel tumore della mammella e nella leucemia mieloide acuta [23], ed è per questo che la sovraespressione di questa glicoproteina nelle cellule tumorali rappresenta un bersaglio terapeutico importante per il superamento della resistenza stessa [24-26].

<b>Classe</b>	<b>Farmaci</b>
<b>Agenti alchilanti</b>	mitomicina
<b>DNA-intercalanti</b>	
antrachinoni	doxorubicina, daunorubicina, mitoxantrone
actinomicine	dactinomicina
<b>Inibitori della mitosi</b>	
alcaloidi della Vinca	vinblastina, vincristina
taxani	paclitaxel, docetaxel
podofillotossine	etoposide, teniposide
alcaloidi del Colchico	colchicina
<b>Inibitori della Topoisomerasi</b>	topotecano, irinotecano
<b>Antibiotici peptidici</b>	gramicidina, valinomicina

**Tabella 1.2:** principali classi di farmaci citotossici substrati della Pgp.

### 1.2.2. Struttura e meccanismo di azione della Pgp

Le Pgp sono un gruppo di trasportatori ABC altamente conservati ritrovate in numerose specie. Le varie isoforme presentano più del 70% di identità di sequenza e sono codificate da una piccola famiglia di geni quali, ad esempio, *mdr1*, *mdr2* e *mdr3* nel topo, *pgp1*, *pgp2* e *pgp3* nella cavia e *MDR1* e *MDR2* nell'uomo [27] (solo *MDR1* sembra essere però coinvolto nella multidrug resistance) [28].

Il gene *MDR1* (o *ABCB1*) che codifica per la Pgp umana fu clonato e sequenziato da tre gruppi di ricerca tra il 1984 [29, 30] e il 1986 [31] permettendo la determinazione della struttura primaria della Pgp (fig.1.2). La proteina è costituita da un unico polipeptide di 1280 amminoacidi disposti in due unità omologhe, ognuna di 610 amminoacidi, collegate da un segmento di 60 amminoacidi chiamato *linker region* [32], ed è inoltre N-glicosilata sul lato extracellulare. Ogni unità comprende un dominio transmembrana (TMD), costituito da sei  $\alpha$ -eliche separate tra loro da loop idrofili, che sembra

rappresentare il principale sito di interazione con i farmaci. Al dominio idrofobico segue il dominio idrofilico che si trova sul lato citoplasmatico della membrana e contiene il sito di legame per l'ATP (NBD= *Nucleotide-Binding Domain* o ABS= *ATP-Binding Site*), che accoppia l'idrolisi dell'ATP con il processo di trasporto della proteina. Infine troviamo tre domini intracellulari idrofili C-terminali (ICD) che collegano i TMD agli NBD.

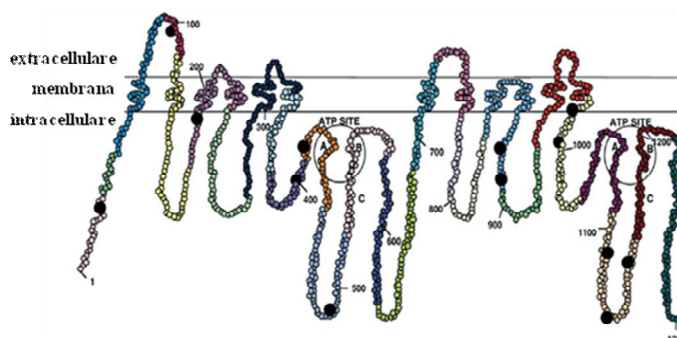


Figura 1.2: struttura primaria della Pgp.

Nel 2009 Aller e coll. [33] hanno ottenuto una cristallografia a raggi X della Pgp di topo, alla risoluzione di 3.8 Å. Recentemente (nel 2014), Jaimes e Aller hanno ottenuto un'altra cristallografia della medesima con una maggiore risoluzione (9.4 Å) [34]. La Pgp murina presenta una elevata omologia con la Pgp umana (87%) e ciò ha permesso di ottenere utili indicazioni riguardo al meccanismo di azione della proteina. La Pgp murina è stata studiata sia nella forma Apo, cioè senza alcun ligando nel sito di binding, sia cocristallizzata con due inibitori stereoisomeri di un esapeptide ciclico (QZ59-RRR e QZ59-SSS) (fig.1.3).

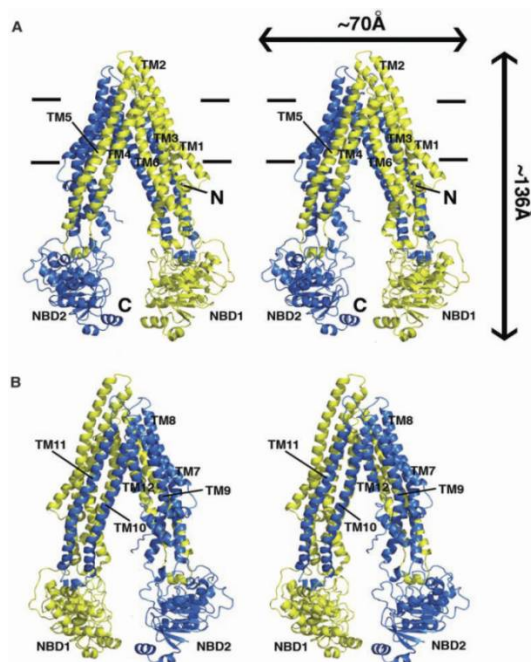
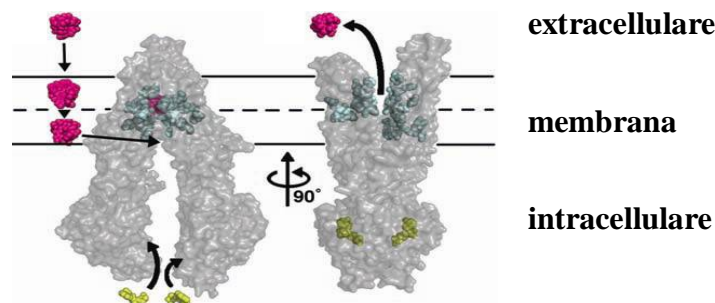


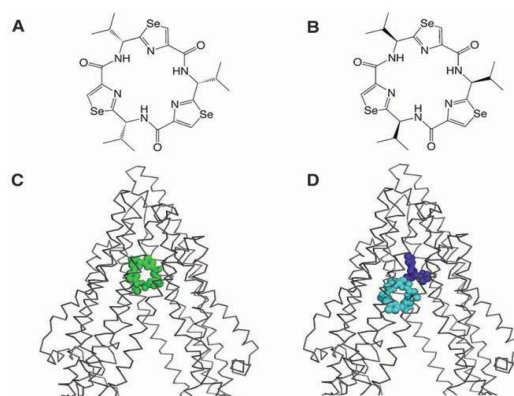
Figura 1.3: struttura della Pgp. Parte anteriore (A) e posteriore (B). TMD4/TMD6 e TMD10/TMD12, formano i due portali attraverso cui le molecole idrofobiche penetrano nella cavità interna.

Ciascuna di queste due forme cristalline è costituita da due molecole di Pgp (PGP1 e PGP2) che hanno TMDs strutturalmente simili, mentre presentano piccole differenze a livello dei NBDs. I domini transmembrana TMD4/TMD6 e TMD10/TMD12 formano due “portali” che permettono l’ingresso nella cavità di molecole idrofobiche direttamente dal doppio strato fosfolipidico della membrana fino alla tasca di legame, detta Drug Binding Pocket (DBP). La metà superiore del DBP è particolarmente ricca di residui idrofobici ed aromatici mentre la metà inferiore presenta un numero maggiore di amminoacidi polari e carichi (fig.1.4). All’interazione del substrato con il sito di interazione segue il legame di due molecole di ATP a livello degli NBDs che determina un profondo riarrangiamento conformazionale della proteina, che passa da una conformazione aperta verso il lato intracellulare ad alta affinità per il substrato (*inward facing*) ad una conformazione aperta verso il lato extracellulare (*outward facing*) dotata di bassa affinità per il substrato, che viene così espulso dalla cellula.



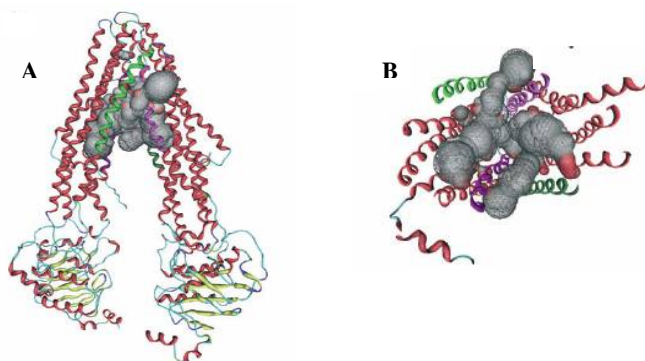
**Figura 1.4:** modello che rappresenta il trasporto del substrato nella Pgp. Il substrato (in fucsia) viene introdotto nella cavità attraverso il doppio strato fosfolipidico. Il legame di due molecole di ATP (giallo) con gli NBDs causa un cambiamento conformazionale per cui il substrato, non più affine per la cavità, viene espulso all'esterno.

Lo studio dei cocristalli Pgp-QZ59 ha confermato la tesi della “multispecificità” del sito di riconoscimento della Pgp, che era stata precedentemente formulata sulla base delle informazioni ricavate da proteine batteriche omologhe, come ad esempio AcrB di *Escherichia coli* [35] e QacR di *Staphylococcus aureus* [36, 37]. Tale tesi afferma che nel sito attivo della Pgp si possano legare simultaneamente più ligandi e in numerosi modi differenti [19, 38]. Infatti, mentre nel cocristallo Pgp-QZ59 (RRR) una sola molecola di inibitore si dispone al centro della cavità tra TMD6 e TMD12, nel cocristallo Pgp-QZ59 (SSS) sono due le molecole di inibitore che si legano alla proteina occupando porzioni diverse della tasca di legame (fig.1.5). Questo implica un comune meccanismo polispecifico di riconoscimento del farmaco.



**Figura 1.5:** legame degli inibitori QZ59 con la Pgp: l'isomero QZ59-RRR (A) si lega con una sola molecola (C); l'isomero QZ59-SSS (B) si lega a due siti differenti con due molecole (D).

Sulla base di questo interessante articolo, alla fine del 2009 Pajeva et al. [39] hanno pubblicato un *homology model* per la conformazione *inward facing* della Pgp umana (fig.1.6) basato sulla struttura della Pgp murina, confrontandolo col modello del sito attivo precedentemente ottenuto sempre dagli stessi ricercatori [40] sulla base del cristallo del trasportatore batterico Sav 1866 [41]. Nello stesso studio è stato fatto il docking della proteina umana recante i derivati QZ59 su cui era stato effettuato lo studio cristallografico di Aller. Anche in questo caso lo studio di modelling sulla Pgp umana conferma i dati ottenuti per cristallografia, evidenziando la possibilità, per lo stesso ligando, di legarsi in due diversi siti di legame con diverse modalità. Questi dati confermano la multispecificità della Pgp e giustificano la particolare abilità della proteina di interagire con un così grande numero di substrati strutturalmente non correlati tra loro (fig.1.6) [39].



**Figura 1.6:** sito di legame nella conformazione *inward facing* del modello omologo della Pgp umana: (A) visione generale della proteina; (B) visione più ravvicinata (dall'interno). Le tasche sono rappresentate con sfere alfa; le sfere in grigio indicano gli atomi idrofobici, le sfere in rosso gli atomi idrofilici. I colori usati per i portali TMDs sono: verde chiaro (TMD4), magenta (TMD6), verde scuro (TMD10), porpora (TMD12) [39].

Sempre basandosi sul cristallo del trasportatore batterico Sav 1866 [41], cinque gruppi di ricerca [40, 42-44], compreso quello di Aller nel gennaio 2015 [45] hanno descritto e caratterizzato dei modelli di omologia della conformazione *outward facing* della Pgp

umana, studiando anche i cambiamenti nella struttura associati al legame dell'ATP con la proteina.

### **1.3. Ruolo fisiologico della Pgp**

Come accennato in precedenza, la Pgp è presente anche nelle cellule sane dove svolge un importante ruolo fisiologico. La localizzazione tissutale della Pgp e studi condotti su topi transgenici privi di questa pompa, suggeriscono che la Pgp difenda l'organismo da xenobiotici tossici, trasportandoli dal sangue al lume del tratto gastrointestinale, urinario e biliare, proteggendo così gli organi vitali. Diverse proteine ABC-trasportatrici omologhe della Pgp sono state trovate negli epatociti umani, dove hanno il compito di proteggere il fegato dai componenti tossici del succo biliare [46]. La Pgp è stata trovata anche nell'epitelio cellulare dei tubuli prossimali dei reni, dove ha la funzione di espellere i farmaci, sia favorendo la loro escrezione che impedendo la retrodiffusione dalla preurina [47, 48]. Nell'intestino promuove l'escrezione degli xenobiotici nel lume intestinale ed è il maggior responsabile del ridotto uptake di farmaci somministrati per via orale [49]. E' stata trovata anche nell'epitelio delle cellule del pancreas, nelle cellule endoteliali dei piccoli capillari del cervello e in diverse altre cellule e tessuti [50, 51].

La Pgp svolge un ruolo importante anche a livello cerebrale [52], in particolare nella barriera ematoencefalica (Blood Brain Barrier, BBB) dove ha il compito di mantenere una costante barriera fisiologica, separando il compartimento cerebrale dal flusso sanguigno. La Pgp sembra anche attiva nel rilascio funzionale di neurotrasmettitori e neuromodulatori, tra cui oppioidi, endorfina e glutammato, direttamente dal SNC alla periferia [53, 54].

La Pgp è stata trovata anche nella barriera placentare dove regola il trasferimento di diverse sostanze dalla madre al feto e protegge il feto dai composti tossici [55]. Alcuni dati suggeriscono che la Pgp potrebbe essere anche coinvolta nel trasporto e nella regolazione di molecole endogene come gli ormoni [56, 57].

Inoltre, è stato riportato che Pgp e Citocromi P450 isoforma 3A4 (CYP3A4) sono coespressi in alcuni tessuti dove condividono molti substrati, induttori e modulatori; probabilmente essi cooperano alla formazione della barriera che controlla l'assorbimento di xenobiotici all'interno delle cellule [58].

Naturalmente la scoperta del ruolo fisiologico della Pgp ha complicato molto lo sviluppo di sostanze che agiscono su questo target, ma allo stesso tempo, ha permesso di chiarire molti eventi farmacocinetici fino ad allora inspiegati. E' stato dimostrato infatti come la Pgp modifichi l'assorbimento, la distribuzione e l'eliminazione di numerosi gruppi di farmaci inclusi metadone, antistaminici e i chemioterapici stessi usati nel trattamento delle infezioni e dei tumori [47]. Tutto ciò si traduce in inevitabili interazioni farmacocinetiche che portano a complicare ulteriormente l'utilizzo di modulatori della Pgp in chemioterapia di cui verrà discusso in seguito.

### 1.3.1. Ruolo della Pgp nelle patologie neurodegenerative

Come precedentemente descritto, la barriera ematoencefalica (BBB) ha il compito di mantenere una costante barriera fisiologica tra il compartimento cerebrale e il flusso sanguigno. La barriera ematoencefalica è costituita dai capillari cerebrali, dai plessi corioidei e dall'aracnoide e controlla costantemente che nel sistema nervoso centrale vengano introdotti i metaboliti necessari e siano rimosse le sostanze tossiche. Si può dire che la BBB agisca come un filtro selettivo nella direzione sangue-liquor e come valvola di sicurezza in quella liquor-sangue. E' caratterizzata da una permeabilità selettiva alle varie sostanze, dipendente in parte dalle loro caratteristiche fisiche (come peso molecolare e pH), in parte da specifici sistemi di trasporto. Numerose condizioni patologiche e alcune sostanze tossiche possono alterare la normale funzionalità della barriera ematoencefalica (ad esempio: ischemia, stato ipertensivo acuto, crisi convulsive, meningiti).

Il trasporto passivo paracellulare dei composti idrofili è ridotto da uno stretto legame tra le cellule endoteliali e la barriera ematoencefalica, dal momento che anche i composti lipofili sono trasportati attraverso la via trans-cellulare [59]. In generale vi è una buona correlazione tra il coefficiente di ripartizione e la permeabilità del farmaco attraverso la barriera ematoencefalica [60]. Tuttavia vi sono molti farmaci altamente lipofili, come ad esempio la doxorubicina, ciclosporina A, vincristina ed etoposide, che hanno una permeabilità attraverso la BBB più bassa di quella che ci si aspetterebbe in base al loro coefficiente di ripartizione [60]. La spiegazione di questo fenomeno è la presenza di trasportatori come Pgp e MRP1, nelle membrane lumenali delle cellule del rivestimento endoteliale dei capillari cerebrali, che eliminano attivamente il farmaco dal tessuto cerebrale [52, 61, 62]. Il limitato passaggio attraverso la barriera ematoencefalica può rappresentare perciò anche un ostacolo per un'adeguata terapia farmacologica per diverse serie di farmaci che devono agire in tale sede.

Alcuni studi hanno inoltre riportato una potenziale correlazione tra l'attività e l'espressione della Pgp in disordini del SNC come l'Alzheimer, il Parkinson e l'epilessia. In particolare gli autori riportano la diminuzione dell'attività della Pgp in stadi avanzati sia del morbo di Parkinson che del morbo di Alzheimer [63-65].

Il morbo di Alzheimer è una patologia neurodegenerativa caratterizzata dalla progressiva perdita delle funzioni cognitive ed evolve in forme di demenza che mostrano la presenza di placche costituite da una proteina insolubile, la  $\beta$ -amiloide ( $A\beta$ ). La secrezione della  $A\beta$  rappresenta uno degli eventi iniziali della patogenesi del morbo di Alzheimer che porta al processo neurodegenerativo [63]. È stato riportato che i livelli di deposizione di  $A\beta$  sono inversamente proporzionali ai livelli di Pgp, ragione per la quale una perdita di attività della Pgp a livello della barriera ematoencefalica è stata considerata come una delle cause che portano al morbo di Alzheimer [63].

Anche nel morbo di Parkinson la perdita di attività della Pgp a livello della barriera ematoencefalica è considerata essere una delle cause che portano alla patologia [66, 67]. Il morbo di Parkinson è una patologia neurodegenerativa caratterizzata dalla perdita di cellule dopaminergiche a livello della sostanza grigia e dalla presenza di aggregati proteici, noti come *Lewy Bodies (LBs)*, costituiti principalmente da  $\alpha$ -sinucleina, normalmente proteina solubile, che in situazioni patologiche porta alla formazione di oligomeri insolubili [68].

Come esposto, disfunzioni della Pgp possono sia indurre l'accumulo di sostanze di rifiuto, come accade nel morbo di Parkinson, sia diminuire la capacità di espellere determinate proteine, come accade nel morbo di Alzheimer. Per questa ragione la Pgp può rappresentare uno dei potenziali target terapeutici delle patologie neurodegenerative.

D'altra parte la sovraespressione della Pgp è stata individuata in altre patologie neurodegenerative come l'epilessia, dove il diminuito uptake del farmaco nel cervello e l'iperespressione della Pgp nei tessuti epilettogeni, potrebbe essere un meccanismo alla base della farmacoresistenza ai farmaci antiepilettici.

Per queste ragioni, se da una parte gli inibitori della Pgp sono delle potenziali molecole nel trattamento dei tumori chemioresistenti, dall'altra gli inibitori radiomarcanti della Pgp, potrebbero essere utilizzati come strumenti diagnostici nella PET (Positron Emission Tomography) per valutare l'espressione e l'attività della Pgp nelle patologie neurodegenerative [69].

Inoltre nel morbo di Parkinson una possibile strategia terapeutica potrebbe essere quella di aumentare l'espressione della Pgp utilizzando specifici induttori sia non endogeni, come la rifampicina [70], che endogeni, come il progesterone [71].

#### **1.4. Strategie per il superamento della MDR**

Come già enunciato precedentemente, la farmacoresistenza è un fenomeno complesso dovuto solo in parte all'attività delle proteine trasportatrici [72]. Tuttavia l'importanza di questo tipo di meccanismo è tale che per superarla sono stati studiati vari approcci di tipo chimico, farmacologico e clinico.

Prima di esaminarli è bene ricordare che sia la ricerca di antitumorali strutturalmente nuovi, sia l'uso di chemioterapici solo in casi strettamente necessari, per evitare che il loro frequente utilizzo favorisca l'instaurarsi della resistenza, sono strumenti sempre utili per tenere sotto controllo l'estensione di questo fenomeno.

Le prime strategie adottate consistevano nell'utilizzo di concentrazioni maggiori di farmaco citotossico per compensare l'estrusione cellulare del farmaco oppure l'utilizzo di farmaci che non sono buoni substrati per la Pgp come ad esempio gli epotiloni, una nuova classe di antitumorali che inducono la polimerizzazione del microtubulo [73], o i



tassani di seconda generazione (derivati da modificazioni del core del docetaxel) che sono in fase di sperimentazione clinica [74]. Queste scelte sono abbastanza ovvie ma hanno entrambe il loro inconveniente: nel primo caso l'aumento di effetti tossici per l'organismo, nel secondo la difficoltà di trovare molecole che siano realmente in grado di evitare l'azione delle proteine trasportatrici [75]. Anche il semplice espediente di utilizzare contemporaneamente più chemioterapici con differenti meccanismi di azione non è la soluzione al problema, in quanto le cellule tumorali sono capaci di sviluppare simultaneamente la resistenza a più farmaci [76]. Risultati interessanti si sono avuti, invece, con la manipolazione chimica di molecole soggette a farmacoresistenza. Per esempio, piccole variazioni sulle antracicline, soprattutto nella posizione 2' dell'unità zuccherina, portano a composti come l'annamicina che *in vitro* mostrano una discreta attività anti-MDR [77]. Altri approcci impiegati recentemente sono l'immunizzazione con peptidi sintetici derivati della glicoproteina P [78] e la diminuzione dell'espressione e delle funzioni delle proteine di trasporto con la terapia genica. In questo campo, promettenti risultati sono stati riportati con l'uso di piccoli interference RNA (iRNA) [79, 80].

Un'altra strategia che sembra mostrare risultati soddisfacenti in terapia è quella di incorporare i farmaci chemioterapici in liposomi o nanosfere, con l'intento di direzionare il farmaco sul target, evitando così l'azione della Pgp e limitando anche gli effetti collaterali [81].

Comunque la strategia fino ad oggi più studiata per limitare la MDR è il blocco dell'efflusso del chemioterapico tramite l'inibizione e la modulazione della funzione delle due principali proteine coinvolte, Pgp e MRP1, grazie all'uso di inibitori cosiddetti chemiosensibilizzanti o revertenti della MDR o modulatori della Pgp.

### 1.4.1. Modulatori della Pgp

Come appena detto, la principale strategia farmacologica oggetto di ricerca in clinica per superare la MDR, è rappresentata dalla cosomministrazione di chemioterapici antitumorali e composti in grado di inibire la funzione della Pgp in modo da ripristinare la concentrazione terapeutica efficace del farmaco nelle cellule tumorali resistenti.

I requisiti strutturali importanti per conferire alle molecole buone attività modulatrici verso le pompe di efflusso sono: la lipofilia, con valori di logP uguali o superiori a 2.92, uno o più gruppi protonabili a pH fisiologico (come ad esempio funzioni amminiche), presenza di gruppi accettori di legami ad idrogeno e infine una determinata lunghezza della molecola che consenta la giusta interazione con i residui amminoacidici presenti nel sito attivo della Pgp. Sulla base di questi requisiti, nel 1981 è stato scoperto che il verapamile, noto calcio antagonista, presenta ottime attività anti-MDR, dando il via alla sintesi di molecole che in base alle loro caratteristiche farmacologiche sono state suddivise in 4 generazioni [1].

I *modulatori di prima generazione* comprendono molecole con strutture molto differenti fra loro e appartenenti a svariate classi farmacologiche, tra cui: bloccanti dei canali del calcio (come il verapamile), antagonisti della calmodulina, agenti antiaritmici e immunomodulatori (come la calmodulina). Il loro utilizzo terapeutico è limitato dalla tossicità intrinseca molto elevata. In un secondo tempo sono stati individuati altri composti, specificamente disegnati per avere azione anti-MDR, classificati come *chemiosensibilizzanti di seconda generazione*. Questi risultano essere più potenti sulla Pgp rispetto ai modulatori della prima generazione, ma hanno sempre effetti tossici molto elevati [82, 83]. I *modulatori della terza generazione* sono più potenti e selettivi per la Pgp e sono stati ottenuti mediante un approccio chimico combinatoriale. Infine troviamo i *modulatori della quarta generazione* che sono stati ottenuti con diverse strategie.

#### 1.4.1.1. Modulatori della Pgp di prima generazione

La prima generazione di questi composti (tabella 1.2) comprende farmaci già in uso clinico per altre indicazioni il cui effetto chemiosensibilizzante è spesso stato scoperto casualmente come per esempio nei casi del verapamile [84], ciclosporina A [85], chinidina [86] e diidropiridine [87]. Tali composti hanno struttura chimica molto diversa tra loro anche se esistono, con alcune eccezioni, alcuni importanti ma generici requisiti strutturali comuni: sono lipofili, contengono due o più anelli aromatici e presentano un atomo di azoto carico positivamente a pH fisiologico.

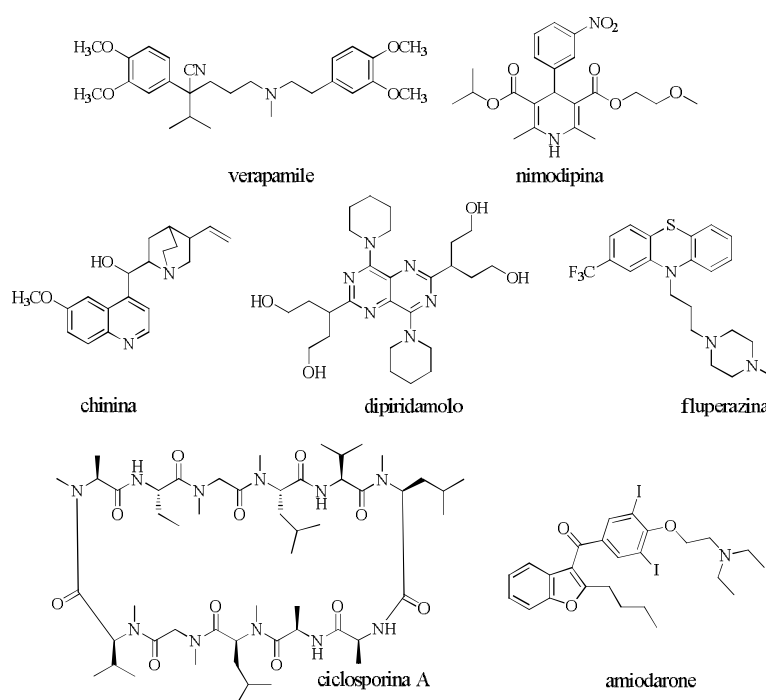
<b>Classe</b>	<b>Farmaci</b>
<b>Agenti immunosoppressori</b>	ciclosporina A, sirolimus, SDZ-PSC-833
<b>Analettici</b>	almitrina
<b>Antiaritmici</b>	
benzofurani	amiodarone
chinoline	chinidina
<b>Antidepressivi</b>	clomipramina, imipramina
<b>Antiestrogeni</b>	clomifene, tamoxifene, toremifene
<b>Antifungini</b>	ketoconazolo
<b>Antiistaminici</b>	terfenadina
<b>Antimalarici</b>	
chinoline	cloroquina, chinina
acridine	mepacrina
<b>Calcio-antagonisti</b>	
benzotiazepine	diltiazem
diidropiridine	nicardipina, nifedipina, nifedipina, nimodipina
difenilalchilamine	bepidil, prenilamina
fenilalchilamine	gallopamile, tiapamile, verapamile, <i>dex</i> -verapamile
<b>Diuretici</b>	amiloride

<b>Neurolettici</b>	
benzimidazoloni	pimozide
butirrofenoni	aloperidolo
fenotiazine	clorpromazina, trifluoperazina, flufenazina
alcaloidi di origine vegetale	reserpina
tioxanteni	clopentizolo, flupentizolo ( <i>cis</i> e <i>trans</i> )
<b>Ormoni steroidei</b>	
	progesterone
<b>Vasodilatatori coronarici</b>	
	dipiridamolo
<b>Altri</b>	
antracicline non-citotossiche	<i>N</i> -acetildaunorubicina
alcaloidi della Vinca non-citotossici	vindolina
cationi lipofilici	tetrafenilfosfonio
surfattanti	cremophor, tween-80

**Tabella 1.2:** chemiosensibilizzanti di prima generazione classificati secondo il profilo farmacologico e la classe chimica.

I principali rappresentanti tra i modulatori della prima generazione, usati come lead compound per la ricerca di nuove molecole con attività anti-MDR, sono riportati in fig.1.7.

Nonostante questi farmaci siano in grado di potenziare l'accumulo intracellulare del farmaco e la citotossicità nelle cellule tumorali *in vitro*, non sono in grado di revertire efficientemente la MDR in clinica a causa della tossicità intrinseca dovuta alle loro attività farmacologiche originarie, che ne impedisce l'utilizzazione a dosi adeguate per la reversione della MDR.



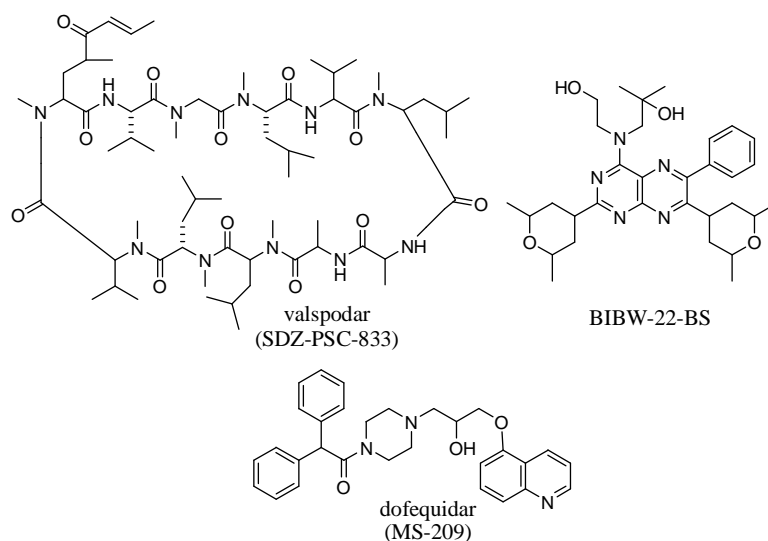
**Figura 1.7:** alcuni esempi di strutture dimodulatori della prima generazione.

### 1.4.1.2. Modulatori della Pgp di seconda generazione

La seconda generazione di composti revertenti la MDR comprende derivati dei farmaci di prima generazione, che presentano una riduzione dello spettro di attività farmacologica delle molecole originarie e, allo stesso tempo, sono in grado di inibire con maggiore potenza e specificità la Pgp.

L'attività cardiovascolare del verapamil e dei suoi derivati ha rappresentato un grosso problema per lo sviluppo di nuovi chemiosensibilizzanti e sono stati compiuti molti sforzi per riuscire ad identificare composti più potenti e selettivi, privi dell'attività calcio antagonista. Per esempio dalla risoluzione della miscela racemica del verapamil è emerso che l'enantiomero (*R*) (*dexverapamil*), è circa 10 volte meno attivo come calcio-antagonista rispetto all'enantiomero (*S*) ed è equipotente riguardo all'azione anti-MDR [88]. Sono state apportate poi varie modifiche a livello della struttura del verapamil, sia a livello delle funzioni aromatiche (introducendo per esempio un terzo gruppo metossilico su uno dei due anelli aromatici [89] o introducendo un residuo naftalenico [90]) che della catena (inserendo l'atomo di azoto basico in un sistema biciclico, o inserendo un anello solforato in catena [91, 92]) ottenendo modulatori della MDR più attivi del verapamil e con minori effetti cardiovascolari.

Sono stati modificati anche altri composti tra quelli noti di prima generazione (fig.1.8).



**Figura 1.8:** modulatori della seconda generazione.

Per esempio da modifiche della ciclosporina A è stato ottenuto il *valsopodar* (*SDZ-PSC-833*), che è privo di attività immunosoppressiva e dotato di una più bassa tossicità renale [93, 94], da modifiche del dipiridamolo è stato ottenuto il *BIBW-22-BS* [95], e da modifiche della chinina il derivato chinolinico *dofequidar* (*MS-209*) [96].

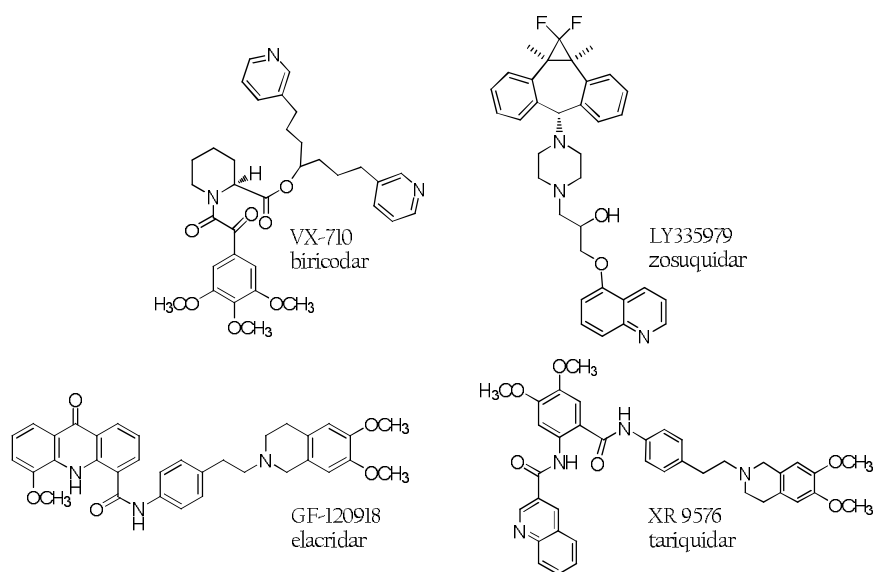
Nonostante il miglioramento del profilo farmacologico, l'uso clinico dei composti di seconda generazione è stato comunque limitato o interrotto, data la scarsa efficacia e la

manca di una specificità assoluta. La maggior parte dei composti di seconda generazione sono infatti risultati inibitori, oltre che della Pgp, anche di altre proteine trasportatrici della famiglia ABC, come MRP1, o substrati di CYP3A4 che è il principale enzima in grado di metabolizzare i chemioterapici [97]. In particolare, questi composti influenzano le proprietà farmacocinetiche e la biodistribuzione del farmaco cosomministrato (e ovviamente di altri xenobiotici) provocandone spesso una inaccettabile tossicità [98]. Per queste ragioni, la seconda generazione dei modulatori MDR non è andata oltre le fasi cliniche I e II, indicando tra l'altro che l'interazione tra farmaci rimane uno dei principali problemi in terapia. È stato stimato infatti che più del 50% dei farmaci sono metabolizzati dai CYP3A4 e la capacità dei chemiosensibilizzanti di agire da induttori, inibitori e substrati di questo enzima ci fa capire come questi possano alterare, in termini di efficacia e di tossicità, l'azione dei chemioterapici stessi [76].

### 1.4.1.3. Modulatori della Pgp di terza generazione

Per superare i problemi relativi alla seconda generazione sono stati progettati i modulatori di terza generazione attraverso studi di relazioni quantitative struttura-attività e tecniche di chimica combinatoriale. Questi composti hanno un effetto minimo su altri trasportatori della famiglia ABC e non hanno impatto sul CYP3A4. Non alterano la farmacocinetica dell'agente antitumorale nel plasma e non è richiesta una riduzione della dose del chemioterapico. Sono stati progettati sulla base di caratteristiche ritenute importanti per l'inibizione della MDR, ovvero alta lipofilia, presenza di un azoto protonabile a pH fisiologico e di due o più anelli aromatici.

Attualmente nessuno di questi composti è stato approvato per il superamento della MDR dipendente dalla Pgp, ma alcuni composti sono stati selezionati per le prove cliniche (fig.1.9) e sono sperimentati in combinazione con chemioterapici diversi.



**Figura1.9:** chemiosensibilizzanti di terza generazione in avanzato studio clinico.

Il *biricodar* (VX-710) è in grado di inibire sia la Pgp che la proteina MRP1. In fase di sperimentazione clinica I ha dimostrato buona tollerabilità [99]. Studi di fase II sono stati condotti su pazienti con carcinoma ovarico in stadio avanzato e non responsivi al paclitaxel e i risultati delineano una bassa attività revertante di questo inibitore [100]. Altri studi di fase II sono stati condotti su pazienti con tumore a piccole cellule del polmone e in associazione alla doxorubicina e la vincristina. Lo studio è stato terminato nel 2013 con risultati poco significativi in termini di efficacia e aumento della sopravvivenza [101].

Lo *zosuquidar* (Y 335979), sviluppato dalla Eli Lilly, è attivo a concentrazioni nel range nanomolare. Non interferisce con il metabolismo dei farmaci e ha pochi effetti sulle altre proteine analoghe di Pgp. Uno studio in fase di sperimentazione clinica III è stato condotto su pazienti anziani con leucemia mieloide acuta in associazione a daunorubicina e citarabina. I risultati non hanno evidenziato miglioramenti in termini di sopravvivenza probabilmente a causa di meccanismi di resistenza diversi dalla sovraespressione di Pgp che hanno limitato il beneficio terapeutico di questo modulatore [102].

L'*elacridar* (GF-120918) è uno dei composti più potenti nell'inibizione della Pgp [103, 104], ha attività anche su BCRP. Studi di fase I condotti su pochi pazienti con malattia neoplastica hanno dimostrato una buona sinergia tra elacridar e topotecano in termini di aumentata biodisponibilità dell'antiblastico dopo somministrazione orale [105]. Un altro studio di fase I, condotto in pazienti con tumori solidi in stadio avanzato e in associazione con doxorubicina, ha evidenziato una interazione tra i due farmaci con una aumentata tossicità ematologica, ma contrariamente agli altri modulatori è stato possibile somministrare una dose di doxorubicina clinicamente attiva [106].

Il *tariquidar* (XR 9576) è un derivato della antranilammide ed è un modulatore non competitivo molto potente con affinità nettamente superiore alle molecole substrato normalmente trasportate dalla Pgp. Inibisce l'attività ATPasica della pompa ma non è chiaro se si leghi direttamente al sito di legame dell'ATP o in un sito allosterico bloccando indirettamente il ciclo catalitico della Pgp. Come l'*elacridar* si lega alla Pgp e alla BCRP. Kannan e collaboratori [107] riportano che la peculiare caratteristica del *tariquidar* di legarsi alla Pgp come inibitore e alla BCRP come substrato potrebbe essere la causa dei numerosi risultati negativi ottenuti nei trials clinici dove è stata studiata la sua attività come revertante della MDR. Infatti alla dose utilizzata in clinica (2mg/Kg e.v. corrispondente ad una  $C_{max}$  di 2,3  $\mu$ M) si ottiene una riduzione dell'attività di entrambe le pompe. La BCRP gioca un ruolo chiave nella protezione del tessuto ematopoietico ed è per questo che la cosomministrazione del *tariquidar* causa la diminuzione della massima dose tollerata del chemioterapico. E' stato recentemente descritto che nanoparticelle o liposomi caricate con questo modulatore in combinazione con un antitumorale (es. paclitaxel) siano un approccio molto promettente per superare

la MDR. Ciò è correlato all'aumentata concentrazione di paclitaxel nelle cellule tumorali rispetto alle altre cellule.

#### 1.4.1.4. Nuove prospettive: quarta generazione?

I composti già citati con azione modulatrice della Pgp e di altre proteine della superfamiglia ABC, non hanno raggiunto l'uso nella pratica clinica a causa di diversi problemi, quali effetti collaterali e interazioni farmacocinetiche non desiderate.

Negli ultimi decenni, l'interesse della ricerca si è spostato su prodotti di origine naturale (NP: *Natural Products*). Infatti in cibi quali arance, pompelmo e fragole ritroviamo componenti in grado di interferire con la biodisponibilità orale di molti farmaci, e queste interazioni sono spesso dovute ad una interazione con la Pgp. Tra i prodotti naturali attualmente in studio, che sono stati definiti da alcuni autori una *quarta generazione di modulatori*, si trovano prodotti che erano già stati identificati, ma i cui studi erano stati in un primo tempo abbandonati.

Di seguito è riportato un elenco delle principali classi e alcune molecole rappresentanti che hanno catturato l'attenzione sia in campo accademico che industriale.

- **Flavonoidi:** sono composti polifenolici di origine naturale, molto abbondanti in frutta e verdure nonché in bevande di largo consumo quali tè e vino. Ai flavonoidi sono associate un'ampia varietà di proprietà biochimiche e farmacologiche, quali attività antiossidanti (agiscono da scavenger di radicali liberi), antivirali, antinfiammatorie e antitumorali [108]. Studi su queste molecole hanno messo in evidenza la loro capacità di interagire con l'attività della Pgp [108-113], inibendo il trasporto da essa mediato [114].

Tra i flavonoidi più interessanti ritroviamo la tangeretina e la nobiletina, presenti nel succo d'arancia, che hanno mostrato la capacità di incrementare l'accumulo di <sup>3</sup>[H]vinblastina in cellule Caco-2 in maniera concentrazione-dipendente, oltre ad inibire l'attività della Pgp [115]. E' stato inoltre osservato che la baicaleina, flavone isolato dalla *Scutellariae baicalensis Georgi*, migliora la biodisponibilità orale della doxorubicina inibendo l'attività della Pgp e della sottofamiglia dei CYP3A a livello intestinale o epatico [116] (fig.1.10).

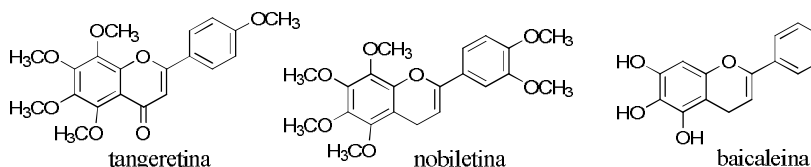
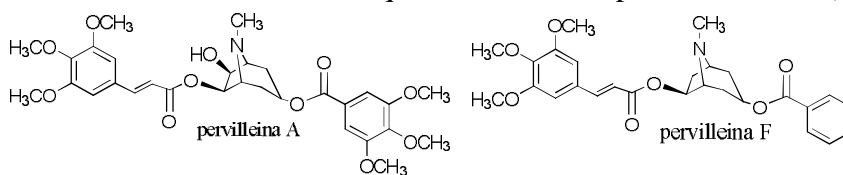


Figura 1.10: strutture di alcuni flavonoidi attivi sulla Pgp.

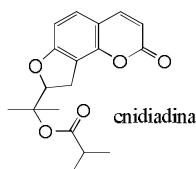
- **Alcaloidi:** le pervilleine, ad esempio la pervilleina A [117, 118] e la pervilleina F, sono nuovi alcaloidi tropanici aromatici ottenuti dall'estratto di radice di *Erithroxylum pervillei*, in cloroformio. La pervilleina F è risultata capace di ripristinare l'attività antitumorale della vinblastina su colture cellulari multiresistenti

KB-V1 con un valore di  $IC_{50}$  di  $0.40 \mu M$ , oltre a revertire parzialmente la resistenza crociata ad altri farmaci antitumorali quali vincristina e paclitaxel [117] (fig.1.11).



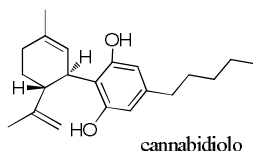
**Figura 1.11:** strutture di due alcaloidi tropanici ritrovati in *Erithroxylum pervillei*.

- **Cumarine:** in questa classe di derivati ritroviamo con principale interesse la cnidiadina, isolata da *Tetradium daniellii*, agente citotossico impiegato in commercio in qualità di insetticida. In studi *in vitro* condotti su due linee cellulari che sovraesprimono la Pgp, è stato dimostrato che è capace di inibire in modo competitivo il legame alla Pgp e l'efflusso di farmaci. Nonostante ciò, vista la tossicità cellulare, un possibile impiego clinico della cnidiadina come chemiosensibilizzante appare remoto (fig.1.12).



**Figura 1.12:** struttura della cnidiadina.

- **Cannabinoidi:** icannabinoidi sono usati in terapia per il trattamento palliativo degli effetti collaterali associati alla chemioterapia per il loro effetto analgesico. Tuttavia, anche i cannabinoidi inibiscono *in vitro* sia l'attività che l'espressione della Pgp. In particolar modo, il cannabidiolo (fig.1.13), uno dei principali costituenti della marijuana, inibisce significativamente l'estruzione del farmaco dalla cellula tumorale mediata da Pgp mediante un meccanismo non competitivo. Ciò suggerisce che il cannabidiolo potrebbe potenzialmente influenzare l'assorbimento e la distribuzione di farmaci antitumorali cosomministrati, substrati della Pgp, nelle cellule tumorali [119]. I cannabinoidi mancano però di selettività, in quanto diversi trasportatori ABC sembrano essere target di questa classe di composti [120].

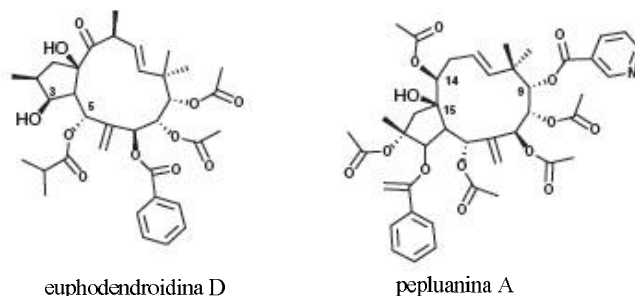


**Figura 1.13:** struttura del cannabidiolo.

- **Diterpeni:** i taxani sono diterpeni prodotti da piante appartenenti al genere *Taxus*, ampiamente utilizzati come agenti antitumorali. E' noto da tempo come queste molecole isolate dall'albero giapponese *Taxus cuspidata*, siano in grado di incrementare l'accumulo di vincristina in cellule tumorali MDR nella stessa misura del verapamile [121]. In particolar modo si è osservato che modificazioni delle posizioni C-7 e C-13 del diterpene 10-DAB, estraibile dalle foglie di *Taxus baccata*,

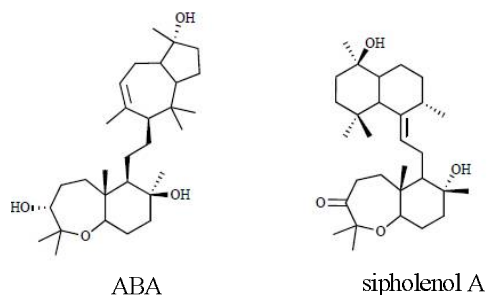


portano all'ottenimento di derivati con attività inibitoria della Pgp. L'attenzione è stata rivolta inoltre verso una nuova serie di molecole con struttura diterpenica a scheletro jatrofanico, isolate dalle spugne del genere *Euphorbia*, che hanno mostrato una rilevante attività inibitoria della Pgp, superiore a quella della ciclosporina A [122]. Tra i composti più importanti citiamo la pepluanina A e l'euphodendroidina D, mostrate in fig.1.14.



**Figura 1.14:** strutture della euphodendroidina D e pepluanina A.

- **Triterpeni:** ne fanno parte un numero molto elevato di molecole, tra queste la nostra attenzione si focalizza solo su alcune le cui proprietà anti-MDR sono state evidenziate in studi recenti. Alisol B 23-acetato (ABA, fig.1.15), così chiamato in quanto isolato da *Alismatis orientale*, è un composto triterpenico con una struttura simil-steroidica, in grado di ripristinare in cellule resistenti l'attività della vinblastina, substrato della Pgp. ABA va a stimolare l'attività ATP-asica della Pgp in modo concentrazione-dipendente [123]. Inoltre, diversi triterpeni estratti da *Betula platyphylla* hanno mostrato la capacità di aumentare l'accumulo di rodamina (rh123) nelle cellule KB-C2, e di inibirne l'efflusso. Sipholenol A (fig.1.15) è un triterpene caratterizzato da una struttura contenente diversi scheletri isolato dalla spugna *Siphonochalina siphonella*, è risultato essere il più potente derivato con attività anti-MDR, in quanto in grado di aumentare la sensibilità della cellule resistenti KB-C2 di un fattore di 16 rispetto alla colchicina, di non essere tossico [124], e capace di inibire la Pgp con un meccanismo d'azione competitivo [125].



**Figura 1.15:** strutture di due triterpeni con attività anti-MDR.

Le strategie per individuare nuovi inibitori della Pgp non si sono però fermate al mondo dei prodotti naturali, ma sono stati presi in considerazione anche altre classi di derivati quale i peptidomimetici [126] e derivati con struttura lipidica.

### 1.4.2. Problemi associati allo sviluppo clinico dei chemiosensibilizzanti

Come abbiamo visto, la ricerca di nuovi modulatori ha dato origine ad una lunga lista di composti appartenenti a classi chimiche diverse. Alla luce di quanto appena detto, si può affermare che trovare molecole che presentano attività anti-MDR è abbastanza facile, mentre l'identificazione di composti potenti e sicuri dotati di adeguate proprietà farmacocinetiche rimane una questione difficile.

Dagli studi condotti è risultato evidente che l'utilizzo clinico di queste sostanze è un problema complesso a causa di una serie di fattori, in parte già accennati, che possono essere riassunti come segue:

- la resistenza acquisita si instaura con meccanismi diversi [127, 128] e la MDR può dipendere da più proteine (Pgp, MRP e BCRP) ciascuna con un peculiare meccanismo di azione;
- i revertitori della MDR potrebbero anche modulare l'espressione del gene *MDR1* [129, 130];
- la Pgp è una proteina che svolge anche un importante ruolo fisiologico di protezione delle cellule dagli xenobiotici tossici. Un suo blocco provoca un aumento della citotossicità del chemioterapico non solo a livello delle cellule tumorali ma anche in quelle sane;
- un gran numero di composti è in grado di promuovere l'espressione di pompe di estrusione come ad esempio molte sostanze presenti nei cibi [131], così che è possibile che il regime alimentare influisca insieme alla terapia sulla espressione delle proteine carrier;
- Pgp e CYP450 isoforma 3A4 sono coespressi in alcuni tessuti ed hanno substrati e inibitori comuni, quindi un modulatore della Pgp può interferire con il metabolismo citocromiale alterando la farmacocinetica di varie sostanze, incluso il chemioterapico antitumorale cosomministrato [58].

Di conseguenza, anche se molti degli agenti farmacologici precedentemente descritti hanno un completo successo contro la farmacoresistenza nei sistemi *in vitro*, il loro effetto terapeutico appare molto limitato negli studi *in vivo*, soprattutto nel caso dei chemiosensibilizzanti di I e II generazione, a causa della difficoltà di mantenere dosi attive senza causare effetti collaterali seri. Infatti gli studi clinici di fase I e II sono stati spesso deludenti per il limite di tollerabilità di queste sostanze.

Ci sono poi anche aspetti che riguardano più specificatamente gli studi clinici ovvero:

- la loro complessità: ogni composto deve essere testato contro un determinato tipo di tumore e in associazione con un determinato chemioterapico. Ciò richiede la messa a punto di numerosi e diversi trials;
- un numero di pazienti troppo ristretto per le prove cliniche;
- la presenza di pazienti con alterata espressione della Pgp.

Per superare alcuni di questi problemi è stata proposta la “terapia combinata” ovvero la somministrazione contemporanea di più farmaci, utile per diminuire la dose dei singoli chemiosensibilizzanti [132]. Il ridotto numero di composti in fase avanzata di sviluppo e la mancanza di farmaci approvati per la terapia è sicuramente un indice della complessità del fenomeno MDR.

### **1.4.3. Modulatori: Relazioni Struttura-Attività (SAR) e modelli di interazione**

I modulatori delle proteine trasportatrici ABC appartengono a varie classi di composti, come già descritto precedentemente, tra le quali sono da ricordare fenilalchilammine, diidropiridine, chinidine, fenoxantine, flavonoidi, composti steroidei alcaloidi indolici, composti policiclici, peptidi ciclici e macrolidi [133].

Non è semplice razionalizzare come molecole con strutture chimiche così diverse possano interagire con la stessa macromolecola. Va anche detto che non tutte le sostanze che modulano la Pgp interagiscono allo stesso livello con il target. Infatti, in generale si è visto che la maggior parte dei modulatori interagiscono con il sito di riconoscimento, detto Drug Binding Pocket (DBP), ma ve ne sono alcuni in grado di interagire con il sito di legame del nucleotide (NBD). Si è ipotizzato per esempio che i flavonoidi ed analoghi siano in grado di mimare la funzione adeninica del nucleotide legandosi alla porzione C-terminale dei NBD. In tal modo interferirebbero con l'idrolisi dell'ATP, bloccando la funzionalità della proteina [134, 135].

Sia per tale ragione sia per il fatto che i modulatori possono interagire con differenti modalità di legame con il DBP [136-138], la ricerca di un generale farmacoforo è molto difficile e i modelli proposti sembrano aiutare soltanto in modo limitato nella progettazione di nuovi modulatori della Pgp [139].

Secondo un'ipotesi formulata da Colabufo e coll. [140] esistono almeno 4 distinti siti di interazione sulla Pgp. Tre siti sembrano essere coinvolti nel trasporto poiché interagiscono con substrati (vinblastina, paclitaxel) e modulatori. Il quarto sito è considerato invece un sito regolatorio, dove elacridar e nicardipina agiscono come modulatori. I quattro siti di legame sono capaci di comunicare in modo eterotropico negativo, vale a dire che l'occupazione di uno dei siti sposta gli altri verso una conformazione a bassa affinità. Inoltre, secondo queste ipotesi, i modulatori MDR possono essere classificati in due gruppi in base al meccanismo di inibizione della funzione della Pgp: 1) modulatori che si legano alla Pgp interferendo con il legame del farmaco alla proteina, ma non sono traslocati dalla membrana; 2) modulatori che si legano e sono traslocati, inibendo così sia il legame del farmaco che il trasporto ATP-dipendente verso l'esterno.

Alcuni ricercatori in passato hanno proposto dei modelli di farmacoforo analizzando però gruppi limitati di inibitori. Per esempio Seelig, studiando una serie di modulatori,

ha evidenziato le caratteristiche condivise necessarie per l'interazione, come la presenza nella molecola di due o più gruppi capaci di instaurare legami a H (carbonili, eteri, idrossili, gruppi amminici terziari) posti a precise distanze (2.5 e 4.6 Å) [141]. L'autore quindi suggerisce che la modulazione della Pgp si basi sulla forza e sul numero dei legami ad idrogeno che il composto è in grado di formare col sito di riconoscimento della Pgp, che sembra essere particolarmente ricco di gruppi donatori di legami a H. La differenza tra composti inibitori e composti traslocati, starebbe nella forza dell'interazione. In particolare, molecole capaci di formare molti e forti legami ad idrogeno si comportano da inibitori perché si legano fortemente, mentre quelle che formano pochi e deboli legami sono traslocate attraverso il canale tra i TMD. Generalmente le molecole ben traslocate sono deboli inibitori e viceversa.

Pajeva e Wiese [142] hanno proposto un modello di farmacoforo più complesso di quello di Seelig, ma anche più utile per la progettazione di inibitori in quanto dà maggiori informazioni, basandosi sullo studio di 19 molecole appartenenti alle più svariate classi di composti, nel quale oltre ai legami ad idrogeno vengono considerate importanti anche le interazioni idrofobiche. Gli autori sostengono l'esistenza di più siti di riconoscimento nella Pgp a cui si legano differenti molecole, siano esse inibitori o substrati. Il modello prevede due piani idrofobici, tre accettori di legami a H e un donatore di legami a H con precise distanze e angoli [38]. Quindi il sito di interazione della Pgp può formare interazioni di varia natura col substrato. Inoltre più molecole possono interagire contemporaneamente con differenti punti recettoriali in differenti domini di legame. La mancanza di una precisa specificità di substrato della Pgp appare perciò ora più comprensibile.

## Cap.2. PREMESSE E SCOPO DEL LAVORO

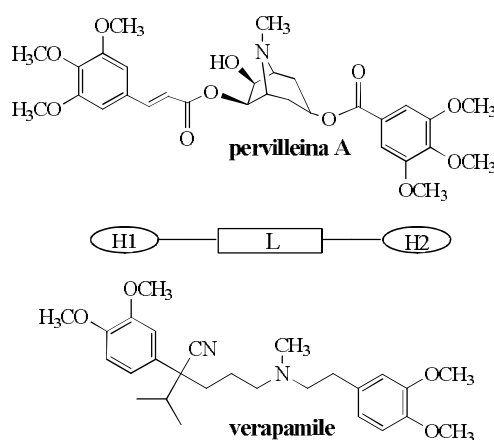
E' da diversi anni che il gruppo di ricerca dove ho svolto il mio progetto di dottorato è coinvolto nella progettazione e sintesi di modulatori della Pgp con lo scopo di ottenere un ligande potente e selettivo, in grado di contrastare la resistenza crociata ai farmaci antitumorali (MDR).

Il verapamile (fig.2.1) è stato il primo composto riconosciuto attivo contro la MDR, e per questo è divenuto un composto lead che è stato manipolato nel corso degli anni allo scopo di identificare derivati più potenti ma soprattutto più selettivi nei confronti della Pgp, rispetto ai canali del calcio [87].

Alcuni anni fa è stata inoltre descritta l'attività anti-MDR di una famiglia di alcaloidi tropanici naturali di cui fa parte la pervilleina A (fig.2.1) [117, 118] ottenuta dalle radici di *Erythroxylum pervillei*. Gli studi hanno dimostrato che la pervilleina A, agendo da inibitore della Pgp, è in grado di ristabilire la sensibilità alla vinblastina in colture cellulari resistenti, quali KB-V1 e CEM/VLB<sub>100</sub>, con valori di IC<sub>50</sub> rispettivamente di 0.36 e 0.02 µM. Analogamente è capace di ripristinare la chemiosensibilità delle cellule KB-8-5 per la colchicina con valori di IC<sub>50</sub> di 0.61 µM.

La pervilleina A di per sé non ha attività antitumorale in quanto non inibisce la crescita di colture cellulari (valori di IC<sub>50</sub> > 34 µM) quali BC1 (human breast cancer), Lu1 (human lung cancer), Col2 (human colon cancer), LNCaP (hormone-dependent human prostate cancer), SKNSH (human neuroblastoma cancer), M109 (mouse lung cancer) e SW626 (human ovarian cancer), ma da studi condotti su numerosi modelli si conferma che la pervilleina A agisce da inibitore della Pgp.

Confrontando la struttura del verapamile con quella della pervilleina A, appare evidente come le due molecole possano essere ricondotte ad una struttura comune in cui un atomo di azoto basico è legato, tramite linker (L), a due gruppi aromatici (H1 e H2), come mostrato in fig.2.1.



**Figura 2.1:** confronto fra le strutture di pervilleina A e verapamile, noti composti ad attività anti-MDR; L= linker, H1 e H2= gruppi aromatici.

Queste caratteristiche strutturali sembrano essere importanti per l'interazione con la pompa e in linea con le caratteristiche strutturali generali importanti per l'interazione con la Pgp (elevata lipofilia, presenza di gruppi accettori di legami a idrogeno, presenza di atomi di azoto basici, presenza di anelli aromatici), anche se delle vere e proprie relazioni struttura-attività non siano mai state delineate.

Mantenendo tale motivo strutturale, ma variando la natura dei linker e dei residui aromatici, nel nostro gruppo di ricerca sono state progettate diverse serie di molecole con lo scopo di ottenere modulatori della Pgp potenti e selettivi. In questa tesi verranno esaminate le serie di molecole che sono state sintetizzate durante questi tre anni di dottorato, ovvero:

- serie in cui i residui aromatici si ritrovano in due funzioni esteree. Nei vari derivati progettati, oltre alla natura dei gruppi aromatici, variano la lunghezza e la flessibilità del linker utilizzato, allo scopo di acquisire il maggior numero di informazioni possibili sui requisiti strutturali che permettono una buona interazione con il sito di riconoscimento della Pgp;
- analoghi isosterici dei derivati esterei, nei quali le due funzioni esteree sono state appunto sostituite da due funzioni amidiche e derivati in cui i residui aromatici sono collegati alla porzione basica tramite linker metilenici, e la funzione basica centrale è di tipo piperazinico.

## 2.1. Derivati esterei “flessibili”

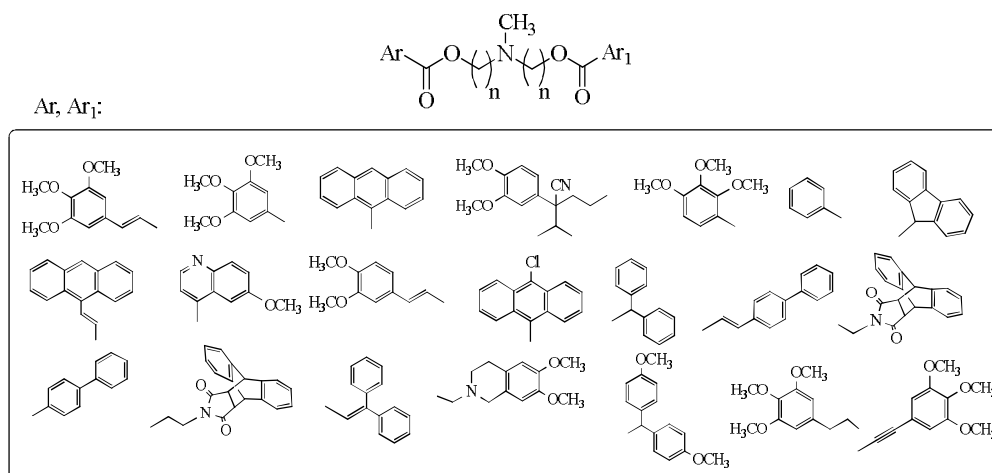
### 2.1.1. Esteri *N,N*-bis(alcanol)amminoarilici

Sulla base di queste osservazioni, il gruppo di ricerca in cui ho svolto il mio progetto di dottorato ha ritenuto interessante sintetizzare molecole flessibili contenenti un atomo di azoto protonabile collegato, tramite linker polimetilenici di lunghezza opportuna, a due residui esterei aromatici di varia natura. L'ipotesi è che una elevata flessibilità renda ogni singola molecola capace di adattare la propria struttura scegliendo la conformazione adatta per dare la miglior interazione possibile all'interno del sito attivo della proteina [139].

Questi derivati presentano lo stesso scaffold comune sia alla pervilleina A che al verapamile. In particolar modo, presentano due gruppi esterei in analogia alla pervilleina A, ma al posto dell'anello tropanico recano delle strutture aperte e flessibili come nel verapamile.

In un primo momento, nel nostro laboratorio, erano state progettate e sintetizzate molecole caratterizzate dalla presenza di due linker di uguale lunghezza [143]. Perciò, a seconda della lunghezza della catena polimetilenica utilizzata, l'atomo di azoto terziario si trova a una distanza diversa dai residui arilici ma sempre in posizione centrale. Sono stati scelti gruppi aromatici diversi ma tutti dotati di elevata lipofilia (fig.2.2), essendo questo, come già elencato in precedenza, un requisito importante per l'affinità con il sito

di legame della Pgp. I residui aromatici scelti sono quelli del verapamile, ma anche altri presenti nelle pervilleine o in derivati dotati di attività anti-MDR riportati in letteratura o introdotti precedentemente in chemiosensibilizzanti sintetizzati nel nostro laboratorio. I linker polimetilenici hanno lunghezza variabile, con un totale compreso tra quattro e quattordici termini.



**Figura 2.2:** residui aromatici introdotti nei derivati esterei lineari.

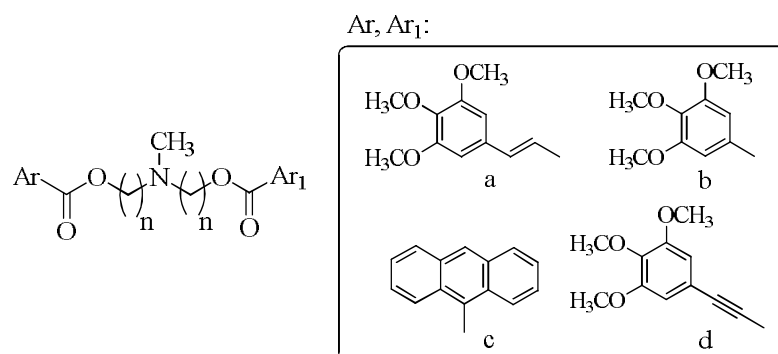
Lo screening preliminare a cui sono stati sottoposti i nostri prodotti per determinarne l'attività anti-MDR è effettuato dalla Dott.ssa M. Salerno, presso l'Università di Parigi Nord. Questo test è basato su un metodo spettrofluorimetrico, tramite il quale è possibile misurare l'uptake nucleare dell'antitumorale fluorescente pirarubicina (cosomministrato con varie concentrazioni della molecola in esame) in una linea cellulare eritroleucemica antraciclina-resistente che esprime solo la Pgp (K562/DOXO). Le cellule K562 rappresentano una linea cellulare stabile isolata in pazienti affetti da leucemia mieloide cronica in crisi blastica terminale e le cellule K562/DOXO sono cellule resistenti alla doxorubicina a causa di una iperespressione della Pgp. Nel test si misura l'aumento dell'uptake nucleare del chemioterapico fluorescente pirarubicina in seguito alla cosomministrazione dei modulatori in esame a dosaggi differenti e definiti. Le misure spettrofluorimetriche sfruttano il fatto che la pirarubicina presenta un massimo di assorbimento a 590 nm, ma la fluorescenza si annulla quando viene incorporata per intercalazione a livello delle basi del DNA dei nuclei cellulari. L'attività anti-MDR dei nuovi composti è espressa utilizzando parametri capaci di stimare l'attività chemiosensibilizzante, in particolare:

$[\text{I}]_{0.5}$  → indica la potenza dell'inibitore (espressa come concentrazione  $\mu\text{M}$ )

$\alpha_{\text{max}}$  → indica l'efficacia dell'inibitore (il valore è compreso fra 0, in assenza di inibizione, e 1, quando la dose di pirarubicina nelle cellule resistenti è la stessa che si osserva nelle cellule sensibili).

Le relazioni struttura-attività (SAR) derivate sulla base dei risultati ottenuti hanno indicato che nella maggior parte dei casi i prodotti sintetizzati hanno mostrato una buona attività anti-MDR. In accordo con l'ipotesi di partenza, ciò suggerisce che gli

elementi precedentemente elencati sono importanti nell'interazione con il sito della Pgp. Inoltre, in base alle SAR, è stato evidenziato che l'attività dei modulatori è influenzata sia dalla lunghezza del linker che dalla natura dei residui aromatici. In particolare, la massima attività anti-MDR si è osservata per i composti caratterizzati da una lunghezza complessiva della catena di sei, otto e dieci metileni e dalla presenza di residui esterei *trans*-3,4,5-trimetossicinnamoilico (a) o il suo analogo contenente un triplo legame (d), in combinazione con i residui dell'acido 3,4,5-trimetossibenzoico (b) o dell'acido 9-antracencarbossilico (c) come mostrato in tabella 2.1.



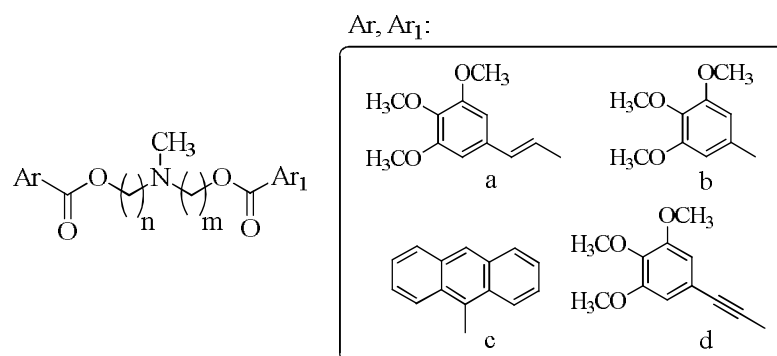
N	Ar	Ar <sub>1</sub>	n	[I] <sub>0.5 μM</sub>	α <sub>max</sub>
<b>ST26</b>	a	b	3	0.60	0.90
<b>ST44</b>	a	c	3	0.18	0.78
<b>IS23</b>	c	d	3	0.70	0.96
<b>GDE18</b>	a	b	4	1.53	0.62
<b>GDE19</b>	a	c	4	0.19	0.81
<b>GDE24</b>	c	d	4	0.10	0.99
<b>ME 30</b>	a	b	5	0.80	0.84
<b>ME31</b>	a	c	5	0.10	0.80
<b>FRA68</b>	c	d	5	0.34	0.75
<b>verapamile</b>	-	-	-	1.60	0.70

**Tabella 2.1:** strutture e risultati del test di uptake nucleare della pirarubicina delle molecole più attive appartenenti alla serie lineare, contenenti come linker due catene polimetileniche simmetriche, già sintetizzate dal gruppo di ricerca. Il verapamile è usato come composto di riferimento.

In un secondo tempo, per approfondire ulteriormente le SAR, si è voluto investigare su come la potenza dei composti in studio potesse variare in relazione alla posizione dell'atomo di azoto nel linker, utilizzando due spaziatori polimetilenici di lunghezza diversa tra loro, a differenza dei derivati precedentemente sintetizzati e testati.

L'attenzione si è focalizzata sulla progettazione, sintesi e valutazione farmacologica di derivati asimmetrici caratterizzati da una lunghezza complessiva della catena di otto metileni e recanti i sostituenti arilici più interessanti selezionati in precedenza (tabella 2.2).





N	Ar	Ar <sub>1</sub>	n	m	[I] <sub>0.5 μM</sub>	α <sub>max</sub>
<b>GDE18</b>	a	b	4	4	1.53	0.62
<b>FRA76</b>	a	b	3	5	0.27	0.97
<b>GDE5</b>	a	b	5	3	0.12	0.99
<b>GDE19</b>	a	c	4	4	0.19	0.81
<b>FRA77</b>	a	c	3	5	0.04	0.94
<b>GDE6</b>	a	c	5	3	0.04	0.98
<b>GDE24</b>	c	d	4	4	0.10	0.99
<b>FRA79</b>	c	d	5	3	0.11	0.98
<b>GDE14</b>	c	d	3	5	0.10	0.99
<b>verapamile</b>	-	-	-	-	1.60	0.70

**Tabella 2.2:** strutture e risultati del test di uptake nucleare della pirarubicina degli esteri lineari contenenti linker di diversa lunghezza e con un totale di metileni pari ad 8, in confronto con quelli dei corrispondenti derivati con linker simmetrici, sempre con un totale di metileni di 8 (in grigio), già sintetizzati dal gruppo di ricerca. Il verapamile è usato come composto di riferimento.

In tabella 2.2 sono riportati i dati farmacologici dei composti simmetrici (in grigio) in cui il totale dei metileni è uguale a otto, in quanto le molecole contengono due catene polimetileniche di 4 metileni ciascuna, e quelli dei corrispondenti derivati asimmetrici in cui il totale di otto è ottenuto con due catene polimetileniche a 3 e 5 termini. Dal confronto dei dati sperimentali, si può osservare come la potenza dei derivati caratterizzati da due spaziatori di diversa lunghezza è in un caso analoga ma negli altri superiore a quella dei corrispettivi derivati simmetrici. I prodotti più attivi sono di nuovo quelli caratterizzati da funzioni esteree recanti il residuo trimetossicinnamoilico (a) in combinazione col residuo trimetossibenzoilico (b) o antracencarbossilico (c), che sembrano quindi rappresentare le combinazioni migliori in questa serie di molecole.

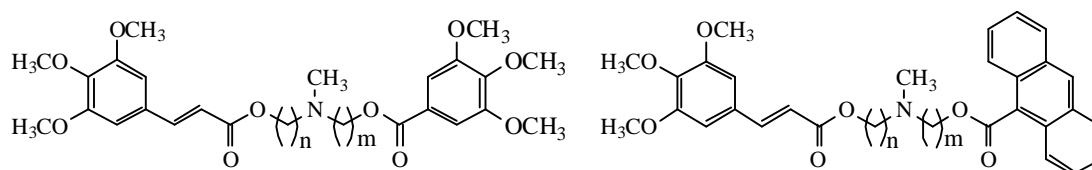
Visti gli ottimi risultati di questo test preliminare, è stata condotta una ulteriore indagine farmacologica, mediante un test di citotossicità, sui tre isomeri **FRA77**, **GDE6** e **GDE19** che recano il residuo trimetossicinnamoilico (a) in combinazione con il carbossiantracenicico (c). Il test è stato messo a punto dalla Dott.ssa M. Coronello del Dipartimento di Scienze della Salute dell'Università di Firenze e ha previsto l'utilizzo sia della linea cellulare eritroleucemica K562 sensibile che di quella resistente alla doxorubicina K562/DOXO (già impiegata nel test di uptake della pirarubicina precedentemente descritto). In questo caso, l'antraciclina che viene cosomministrata

insieme al modulatore in esame (testato a diverse concentrazioni) è la doxorubicina, ed il test è volto a valutare la capacità del modulatore di aumentare la citotossicità della doxorubicina nella linea cellulare eritroleucemica doxorubicina-resistente. In parallelo, il test è stato condotto anche in assenza di doxorubicina per dimostrare l'assenza di citotossicità intrinseca dei composti testati, sia in cellule sensibili che in quelle resistenti. L'attività revertente è espressa in termini di Reversal Fold (RF), parametro ottenuto dal rapporto della IC<sub>50</sub> della doxorubicina in cellule resistenti in assenza o in presenza del composto da testare. Tanto più il valore è elevato, tanto maggiore è l'effetto di potenziamento dell'attività della doxorubicina da parte del modulatore.

$$\mathbf{RF} = \frac{\text{IC}_{50} \text{ in K562/DOXO in assenza di inibitore}}{\text{IC}_{50} \text{ in K562/DOXO in presenza di inibitore}}$$

I risultati ottenuti sono molto buoni, in particolar modo per quanto riguarda il derivato asimmetrico **GDE6**, che alla concentrazione di 1 µM dà un RF di 33.3, mentre alla concentrazione di 3 µM dà un RF addirittura di 57.1, cioè è capace di aumentare di 33 o 57 volte circa la IC<sub>50</sub> della doxorubicina in cellule resistenti. Il verapamile, sempre usato come composto di riferimento, ad una dose di 1 µM dà un RF di 1.2, palesemente inferiore a quello dei nuovi modulatori da noi sintetizzati e testati.

Sulla base di queste considerazioni, il primo scopo del mio lavoro di tesi è stato quello di completare la serie di composti asimmetrici caratterizzati dalla lunghezza totale dei due linker di otto metilene, impiegando catene con lunghezza di due e sei metilene e funzioni esteree recanti il residuo dell'acido *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico in combinazione col residuo dell'acido 3,4,5-trimetossibenzoico e l'acido 9-antracencarbossilico (fig.2.3), cioè le combinazioni che avevano dato i migliori risultati farmacologici nei derivati della stessa serie sintetizzati finora. Successivamente, mi sono dedicata alla sintesi di molecole in cui il numero totale dei metilene fosse pari a nove e a dieci, impiegando combinazioni di catene di diversa lunghezza ed inserendo i medesimi residui aromatici (fig.2.3).

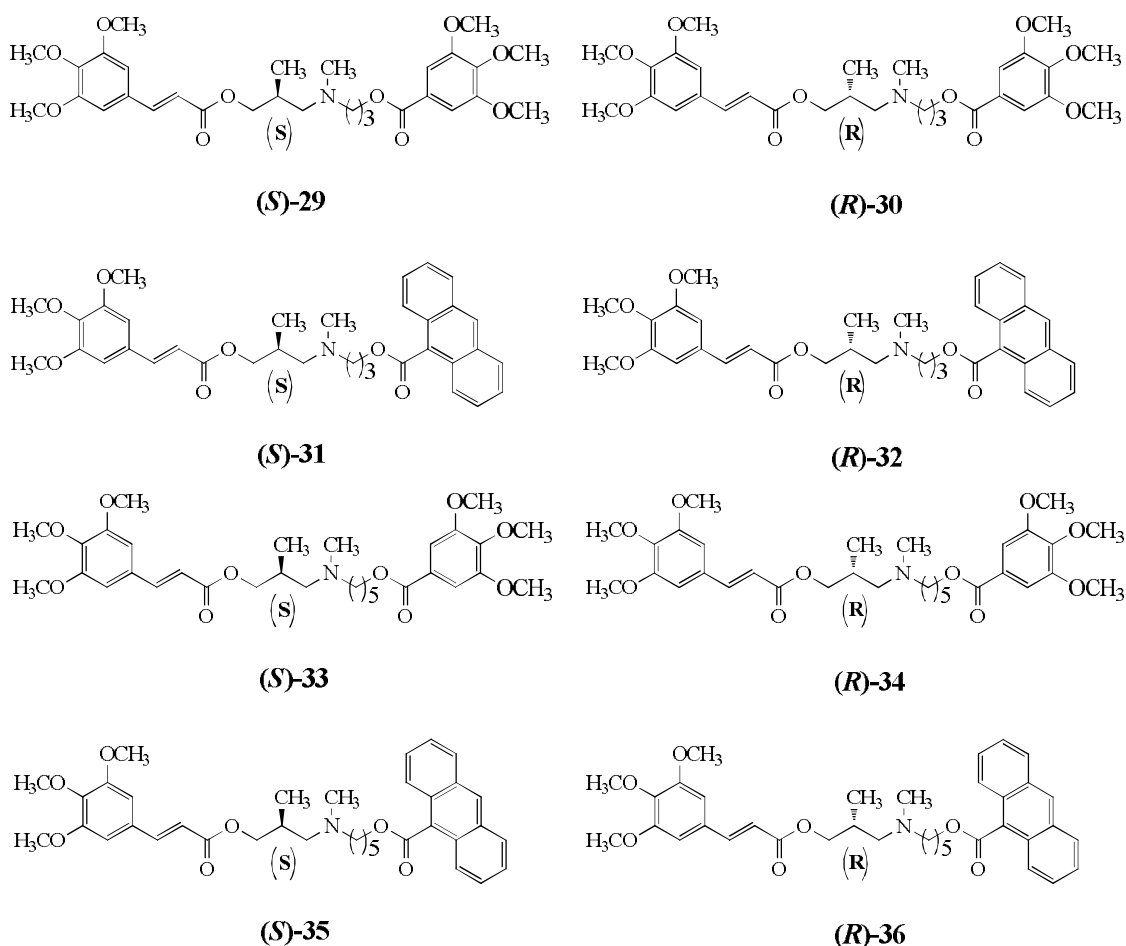


(n+m) = 8 →	(6+2) o (2+6)
9 →	(5+4) o (4+5) (6+3) o (3+6) (7+2) o (2+7)
10 →	(6+4) o (4+6) (7+3) o (3+7) (8+2) o (2+8)

**Figura 2.3:** esteri lineari con linker asimmetrici sintetizzati in questo lavoro di tesi.

### 2.1.1. Esteri *N*-(metilalcanol)-*N*-(alcanol)amminoarilici

Come secondo scopo del mio progetto, al fine di ampliare le SAR e verificare le caratteristiche strutturali necessarie per l'interazione con la Pgp, abbiamo ritenuto interessante sintetizzare un piccolo set di composti recanti una ramificazione in catena. I residui aromatici utilizzati sono quelli precedentemente visti e sono collegati all'atomo di azoto basico da spaziatori la cui lunghezza totale è pari a sei o otto metileni. In questo modo si inserisce uno stereocentro nella molecola, ma anche un vincolo alla libertà conformazionale della catena, riducendo quindi la flessibilità di una porzione di molecola. Il precursore chiave impiegato per la sintesi di questi prodotti è rappresentato dal 3-bromo-2-metil-1-propanolo che si trova in commercio nella sue due forme enantiopure. Avendo a disposizione sia l'isomero (*S*)-(+), che (*R*)-(-) del reattivo è stato possibile condurre in parallelo le vie sintetiche che hanno permesso di ottenere i prodotti finali enantiopuri (*S*)-**29**, (*S*)-**31**, (*S*)-**33**, (*S*)-**35** e i corrispondenti enantiomeri (*R*)-**30**, (*R*)-**32**, (*R*)-**34**, (*R*)-**36**, riportati in fig.2.4.



**Figura 2.4:** strutture dei prodotti “ramificati” sintetizzati in questo lavoro di tesi.

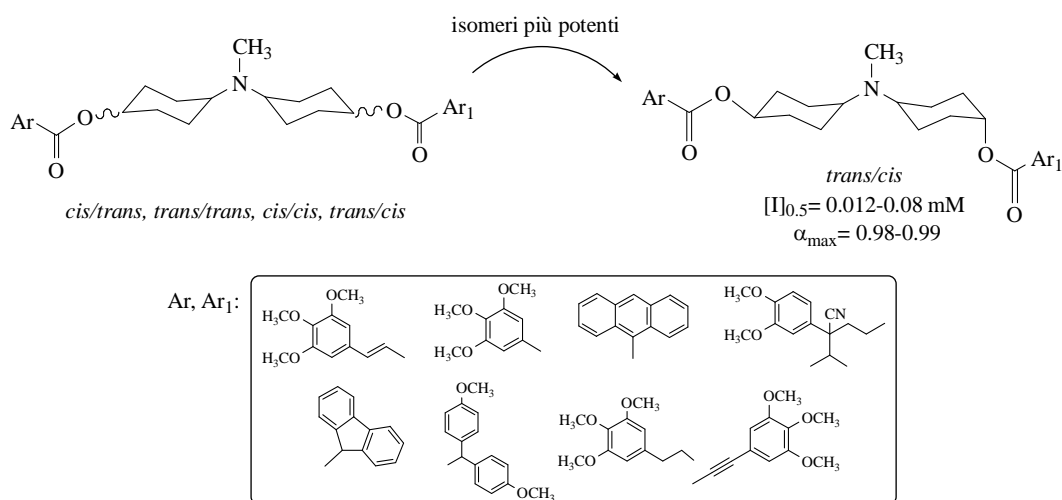
## 2.2. Derivati esterei e ammidici “rigidi” dicicloesanici

### 2.2.1. Esteri *N,N*-bis(cicloesanol)amminoarilici [145]

Parallelamente ai derivati flessibili lineari, nel nostro gruppo di ricerca, era stata progettata un'altra serie di derivati con lo scopo di introdurre una rigidità nella struttura delle molecole [146, 147]. Questa idea è nata dal fatto che Veber e coll. nel 2002 e Wenlock e coll. nel 2003 [148, 149] hanno pubblicato due importanti lavori dove è stata analizzata la farmacocinetica relativa alla somministrazione per via orale di un vastissimo set di molecole in funzione della loro struttura chimica, ampliando il lavoro effettuato da Lipinski nel 1997 [149]. Tra le diverse proprietà molecolari esaminate, è stata evidenziata una correlazione inversa tra diversi parametri farmacocinetici importanti come la biodisponibilità e la flessibilità molecolare ed il numero di legami ruotabili.

Se tramite l'incremento della rigidità molecolare la molecola viene bloccata nella giusta conformazione, si hanno notevoli vantaggi di affinità dovuti a ridotta variazione di entropia nel processo di legame. Per questo motivo sono stati progettati e testati degli analoghi rigidi della serie lineare e flessibile alcanolamminica nei quali il gruppo *N,N*-bis(arilalcanol)amminico è stato sostituito con il residuo *N,N*-bis(cicloesanol)amminico. Questi nuovi derivati possono essere considerati degli analoghi irrigiditi delle molecole arilalchilamminiche lineari con catene a tre atomi di carbonio. I gruppi aromatici utilizzati sono quelli che nella serie arilalchilamminica avevano dato i risultati migliori (fig.2.5). In queste molecole, pur mantenendo la struttura generale costituita da un atomo di azoto basico collegato a distanza opportuna a due gruppi esterei aromatici, si riduce il numero dei legami ruotabili che empiricamente possono essere sfavorevoli per un buon assorbimento e per la specificità [148, 149]. Spesso i requisiti che rendono una molecola un buon tool farmacologico sono diversi da quelli che le permettono di essere un buon farmaco, in particolare la riduzione della flessibilità della molecola è importante per avere una buona “druggability”.

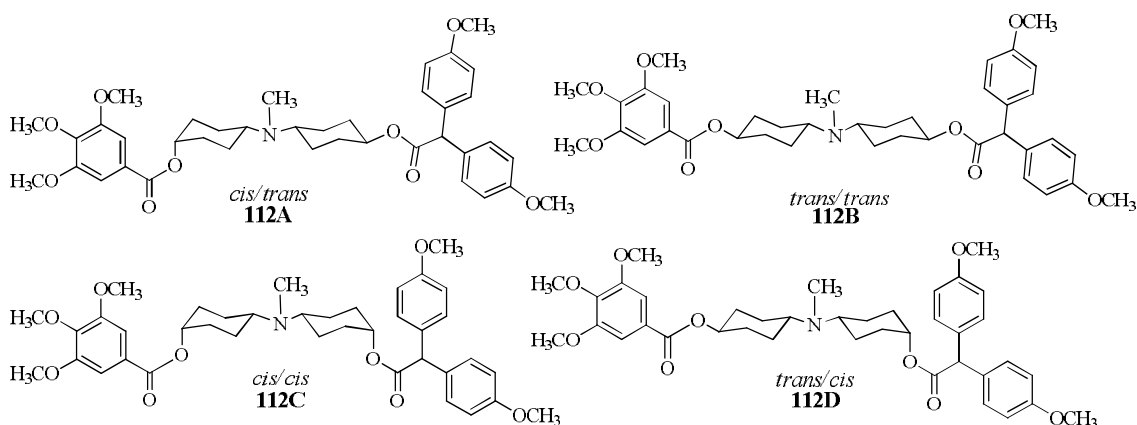
Nel nostro caso la presenza dei due anelli cicloesanici 1,4-disostituiti dà origine a 4 isomeri geometrici (*cis/trans*, *trans/trans*, *cis/cis*, *trans/cis*) che possono corrispondere a conformazioni irrigidite per effetto geometrico e sterico degli analoghi lineari (fig.2.5). Questi, secondo l'approccio dell'analogo rigido, nel nostro caso possono anche fornire informazioni sull'interazione con il sito di ricognizione della Pgp che ha delle caratteristiche particolari, ovvero è ricco sia di amminoacidi idrofili che polari, in grado quindi di instaurare vari tipi di interazioni col substrato; inoltre, essendo il sito attivo della Pgp molto largo, può alloggiare contemporaneamente più di un ligande, che si potrà disporre in modo tale da ottimizzare la sua conformazione molecolare per dare la migliore interazione possibile con la proteina.



**Figura 2.5:** esteri a struttura *N,N*-bis(cicloesanol)amminica già sintetizzati e testati dal gruppo di ricerca.

I derivati sintetizzati sono stati sottoposti al test di uptake nucleare della pirarubicina precedentemente descritto. I risultati del test indicano come la maggior parte di questi composti sono dotati di ottima attività, sia in termini di potenza che di efficacia. Inoltre è molto interessante notare che in questi derivati “rigidi” c’è una influenza della stereochimica nell’interazione col sito attivo della Pgp, in quanto gli isomeri *trans/cis* sono quelli che presentano attività maggiore, con potenza nel range nanomolare ed efficacia prossima ad 1, cioè sono in grado di revertire completamente l’estrusione Pgp-dipendente del chemioterapico pirarubicina (fig.2.5).

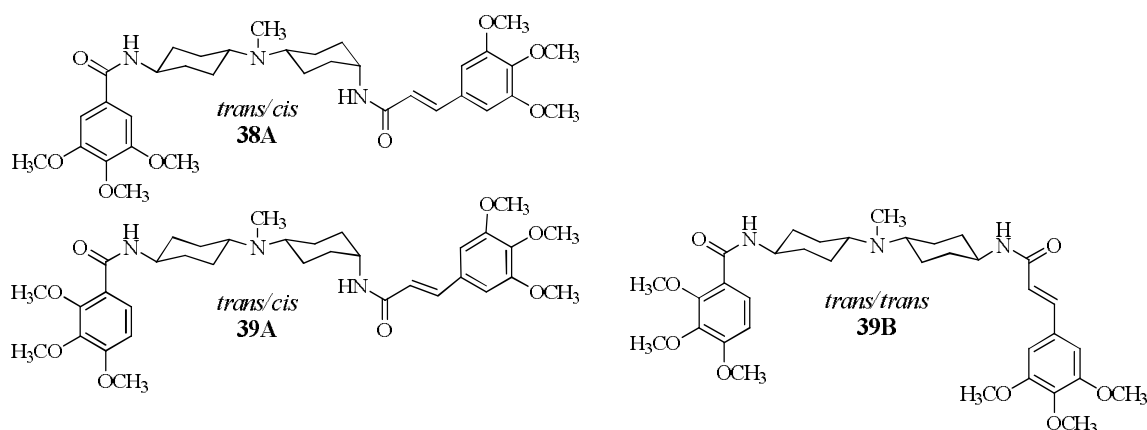
In questo lavoro di tesi di dottorato è stato sintetizzato un ulteriore set di isomeri della serie *N,N*-bis(cicloesanol)amminica, recanti i residui aromatici dell’acido dimetossidifenilacetico e 3,4,5-trimetossibenzoico (fig.2.6).



**Figura 2.6:** set di isomeri geometrici esterei con linker dicicloesamico sintetizzati in questo lavoro di tesi.

### 2.2.2. Ammidi *N,N*-bis(cicloesanol)amminoariliche [145]

E' noto che il gruppo estereo, presente in tutti i derivati finora sintetizzati, può presentare una certa labilità sia chimica che metabolica. Quindi alcune delle molecole delle due serie sopra descritte sono state sottoposte a test di stabilità chimici e metabolici. Parallelamente sono stati progettati e sintetizzati un piccolo set di derivati sempre a struttura *N,N*-bis(cicloesanol)amminoarilica ma nei quali la funzione esterea è stata sostituita dalla funzione isosterica ammidica. Quest'ultima infatti conferisce, in linea teorica, una maggiore stabilità sia all'idrolisi chimica che al metabolismo enzimatico, in quanto non può essere attaccata dalle esterasi plasmatiche. I residui arilici utilizzati sono il 3,4,5-trimetossicinnamoilico, che si è mantenuto costante, il gruppo 3,4,5-trimetossibenzoico, che nei derivati esterei dicicloesanici ha dato ottimi risultati, ed il suo isomero 2,3,4-trimetossibenzoico. La struttura dei derivati è riportata in fig.2.7.



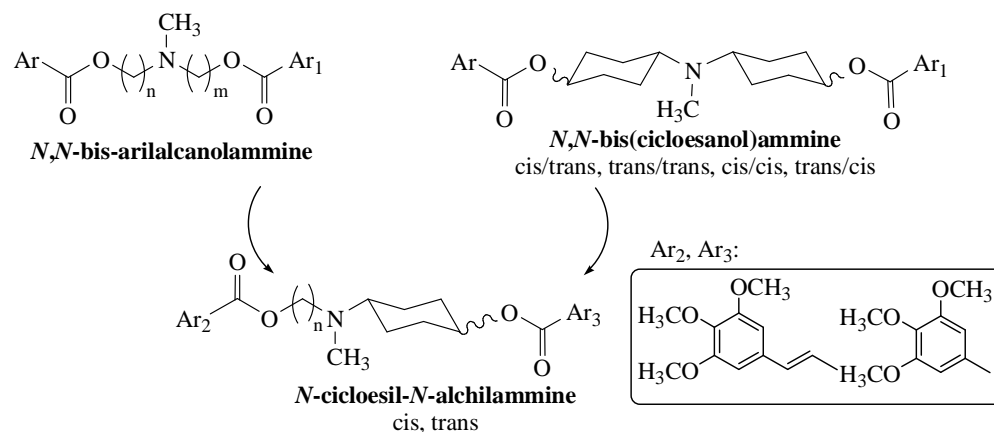
**Figura 2.7:** ammidi a struttura *N,N*-bis(cicloesanol)amminica progettati e sintetizzati in questo lavoro di tesi.

Anticipo già in questa sede che i risultati farmacologici ottenuti per questo piccolo set di tre derivati non sono stati buoni. Infatti queste molecole, nel test di uptake nucleare della pirarubicina, volto a valutare l'attività anti-MDR dei modulatori, sono risultate inattive nell'impedire l'estruzione cellulare Pgp-dipendente del chemioterapico. Quindi è stato deciso di abbandonare la sintesi di nuove molecole con questo tipo di scaffold contenente due funzioni ammidiche.

### 2.3. Prodotti esterei "ibridi" a struttura *N*-cicloesil-*N*-alchilamminica

La più recente serie di derivati a struttura diesterea è stata progettata mantenendo sempre lo stesso motivo strutturale, caratterizzato da un atomo di azoto basico collegato a due funzioni esteree aromatiche, ma apportando modifiche a livello dei linker utilizzati. Abbiamo applicato una sorta di ibridazione molecolare delle due serie precedentemente descritte *N,N*-bis(arilalcanol)amminica e *N,N*-

bis(cicloesanol)amminica, inserendo come linker due gruppi diversi, cioè una catena polimetilenica (come nei derivati flessibili lineari), e un cicloesano (come nei derivati rigidi dicicloesanici) come mostrato in fig. 2.8. In questo modo si mantiene una certa rigidità molecolare, ma sono possibili solo due isomeri geometrici, il *cis* e il *trans*, facilitando la sintesi rispetto ai composti della serie rigida *N,N*-bis(cicloesanol)amminica per la quale erano possibili quattro isomeri geometrici.

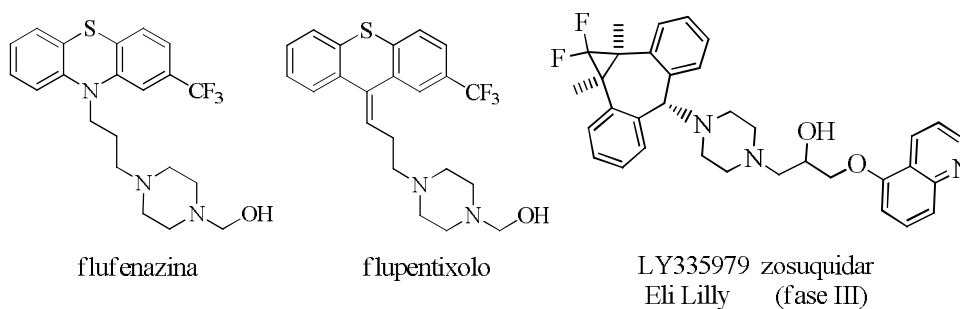


**Figura 2.8:** derivati a struttura *N*-cicloesil-*N*-alchilamminica progettati e sintetizzati in questo lavoro di tesi.

Le catene polimetileniche utilizzate sono a 3, 4 o 5 termini ed i gruppi aromatici sono i residui degli acidi 3,4,5-*trans*-trimetossicinnamico oppure 3,4,5-trimetossibenzoico. Quindi per ora sono state sintetizzate 6 coppie di stereoisomeri “ibridi”.

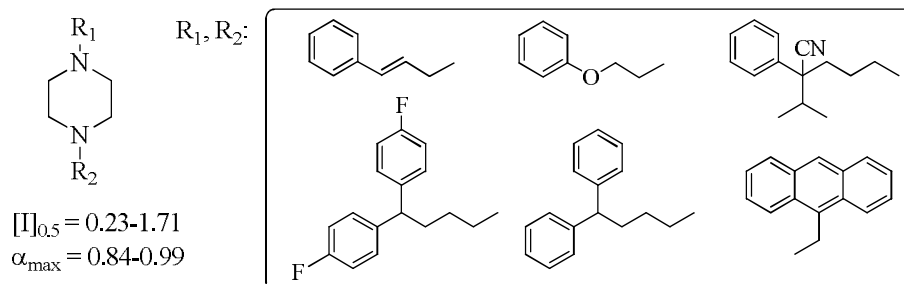
## 2.4. Derivati a struttura *N,N*-alchilpiperazinica

In letteratura sono note molte sostanze ad azione anti-MDR che presentano *scaffold* di tipo piperazinico, in particolare lo zosuquidar (fig.2.9) è uno dei derivati più promettenti che ha raggiunto la fase clinica.



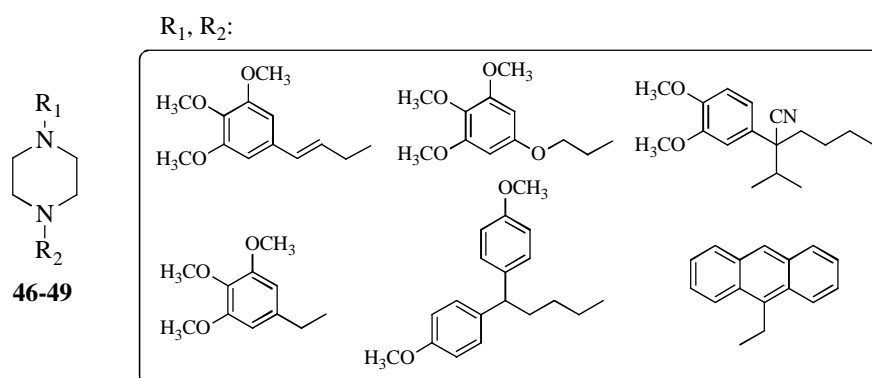
**Figura 2.9:** tre modulatori della MDR a struttura piperazinica: la flufenazina, il flupentixolo e lo zosuquidar.

Nel laboratorio era stata quindi progettata una nuova serie di composti utilizzando la struttura piperidinica come funzione basica centrale, collegata ai due residui aromatici con linker che non contengono più le funzioni esteree (fig.2.10). È da notare che in questo primo set di prodotti i residui legati all'anello piperazinico non contengono gruppi metossilici, in quanto scelti in prima battuta tra quelli reperibili in commercio, mentre in generale questo tipo di sostituzione sugli anelli aromatici è ritenuta molto importante per l'interazione con la Pgp.



**Figura 2.10:** struttura generale e risultati farmacologici dei composti a scaffold piperazinico precedentemente sintetizzati nel laboratorio.

Sulla base dei buoni risultati farmacologici preliminari ottenuti nel test di uptake nucleare della pirarubicina di questa serie di molecole, nel mio progetto di dottorato ho continuato la sintesi di questi derivati, per approfondire ulteriormente le SAR. Sono state inserite nuove combinazioni di residui aromatici, corrispondenti ai residui precedentemente utilizzati ma recanti dei gruppi metossilici in quanto questi ultimi, come già detto, conferiscono generalmente una buona attività anti-MDR alle molecole (fig.2.11). Inoltre è stato mantenuto il residuo antracenico che conferisce in genere buona attività alle molecole.



**Figura 2.11:** struttura generale dei composti a scaffold piperazinico sintetizzati in questo lavoro di tesi.

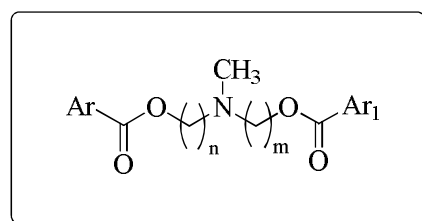


## Cap.3. PARTE CHIMICA

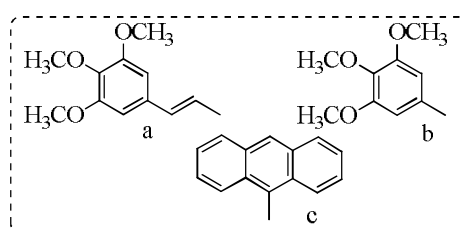
### 3.1. Prodotti lineari

#### 3.1.1. Esteri *N,N*-bis(alcanol)amminici

Come primo scopo della tesi, è stata completata la sintesi di una serie di composti precedentemente progettata dal gruppo di ricerca dove ho svolto il mio percorso di dottorato. Questi composti sono caratterizzati da uno scaffold lineare alchilamminico, recante alle estremità due funzioni esteree aromatiche. I due residui aromatici sono collegati ad un atomo di azoto terziario tramite due linker polimetilenici di differente lunghezza.



Ar, Ar<sub>1</sub>:



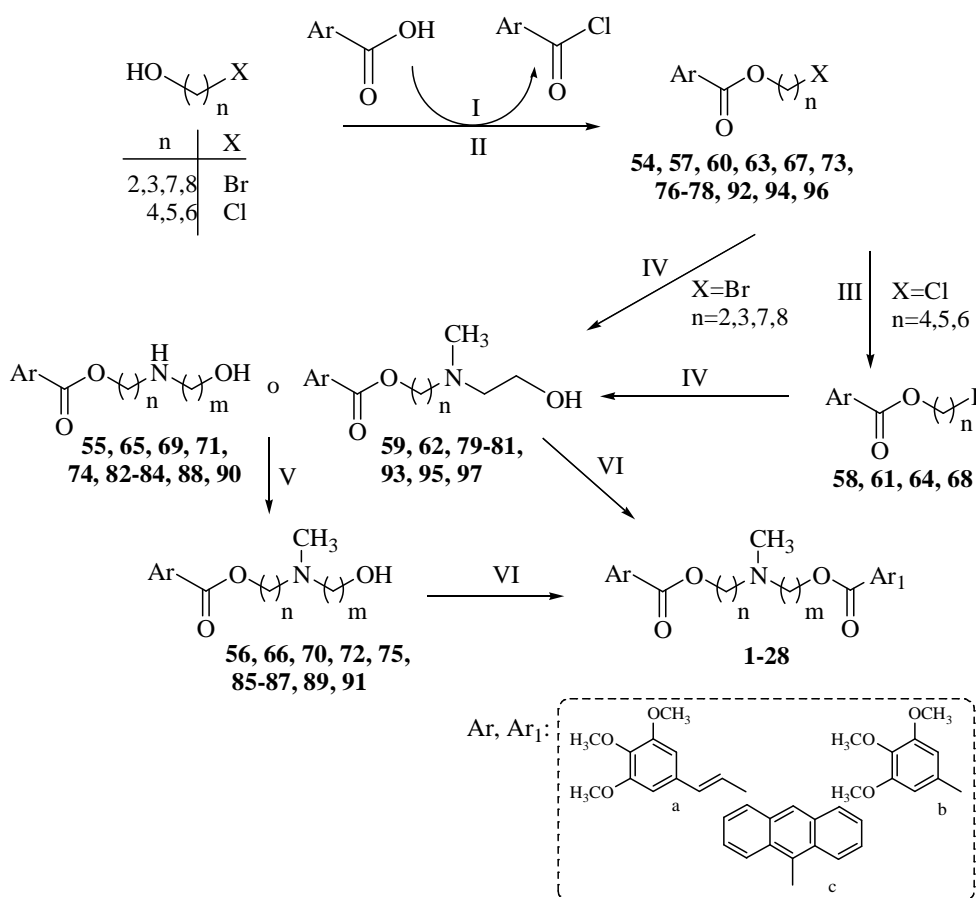
<i>N</i>	<i>n</i>	<i>m</i>	Ar	Ar <sub>1</sub>
<b>1</b>	6	2	a	b
<b>2</b>	6	2	a	c
<b>3</b>	6	2	b	a
<b>4</b>	6	2	c	a
<b>5</b>	5	4	a	b
<b>6</b>	5	4	a	c
<b>7</b>	5	4	b	a
<b>8</b>	5	4	c	a
<b>9</b>	6	3	a	b
<b>10</b>	6	3	a	c
<b>11</b>	6	3	b	a
<b>12</b>	6	3	c	a
<b>13</b>	7	2	a	b
<b>14</b>	7	2	a	c
<b>15</b>	7	2	b	a
<b>16</b>	7	2	c	a
<b>17</b>	6	4	a	b
<b>18</b>	6	4	a	c
<b>19</b>	6	4	b	a
<b>20</b>	6	4	c	a
<b>21</b>	7	3	a	b
<b>22</b>	7	3	a	c
<b>23</b>	7	3	b	a
<b>24</b>	7	3	c	a
<b>25</b>	8	2	a	b
<b>26</b>	8	2	a	c
<b>27</b>	8	2	b	a
<b>28</b>	8	2	c	a

**Figura 3.1:** struttura dei prodotti alchilamminici sintetizzati.

Nelle molecole precedentemente sintetizzate, la somma dei metileni delle due catene era uguale ad otto. Questo numero totale era stato ottenuto utilizzando un linker contenente

cinque metileni ed un altro contenente tre metileni. Quindi per iniziare ho completato la serie delle molecole con numero di metileni totali pari ad otto, utilizzando due catene contenenti sei e due metileni, ed introducendo i residui aromatici che avevano dato i risultati migliori dal punto di vista farmacologico nei prodotti di questa serie già sintetizzati. Successivamente, mi sono dedicata alla sintesi di molecole in cui il numero totale dei metileni fosse pari a nove e a dieci, impiegando combinazioni di catene di diversa lunghezza.

I prodotti **1-28** sono stati sintetizzati seguendo la procedura generale riportata nello schema 3.1.



**Schema 3.1:** (I)  $\text{SOCl}_2$ ,  $\text{CHCl}_3$ ; (II)  $\text{CHCl}_3$ ; (III)  $\text{NaI}$ , acetone; (IV)  $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_m\text{OH}$  ( $m=3, 4, 5, 6$ ) o  $\text{CH}_3\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{OH}$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}$  anidro; (V)  $\text{HCOOH}/\text{CH}_2\text{O}$ ,  $\text{EtOH}$ ; (VI)  $\text{Ar}_1\text{COOH}$ ,  $\text{SOCl}_2$ ,  $\text{CHCl}_3$  o  $\text{EDCI}$ ,  $\text{DMAP}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro.

L'acido carbossilico desiderato, trasformato nel corrispondente cloruro acilico per trattamento con cloruro di tionile, viene esterificato con gli opportuni alcoli commerciali (2-bromoetano, 3-bromopropano, 4-clorobutano, 5-cloropentano, 6-cloroesano, 7-bromoeptano o 8-bromoottano). Il bromoestere, ottenuto nel caso delle catene a 2, 3, 7 o 8 metileni, viene trattato direttamente con l'opportuno aminoalcol per ottenere l'ammina secondaria desiderata, mentre il cloroestere, ottenuto nel caso delle catene a 4, 5 o 6 metileni, viene sottoposto prima ad uno scambio cloro-iodio. Questo passaggio ha lo scopo di aumentare la resa della successiva reazione

di alchilazione, in quanto lo ioduro è un miglior gruppo uscente. Quindi, l'ammina secondaria viene trasformata nell'ammina terziaria corrispondente mediante metilazione riduttiva con acido formico e formaldeide.

I prodotti finali vengono infine ottenuti mediante una reazione di esterificazione dell'ammina terziaria con l'opportuno acido carbossilico, che può essere utilizzato come tale, in presenza di una carbodiimmide (EDCI) come agente di coupling e di un ausiliario (DMAP), oppure attivato come cloruro acilico. Gli acidi carbossilici utilizzati per la sintesi di questi prodotti, ovvero gli acidi *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico, 3,4,5-trimetossibenzoico e 9-antracencarbossilico, sono tutti reperibili in commercio.

### 3.1.2. Esteri *N*-(metilalcanol)-*N*-(alcanol)amminoarilici

Questa classe di composti nasce come evoluzione della serie alchilamminica lineare, allo scopo di studiare gli effetti dell'introduzione di uno stereocentro nell'interazione con le proteine di trasporto coinvolte nella MDR.

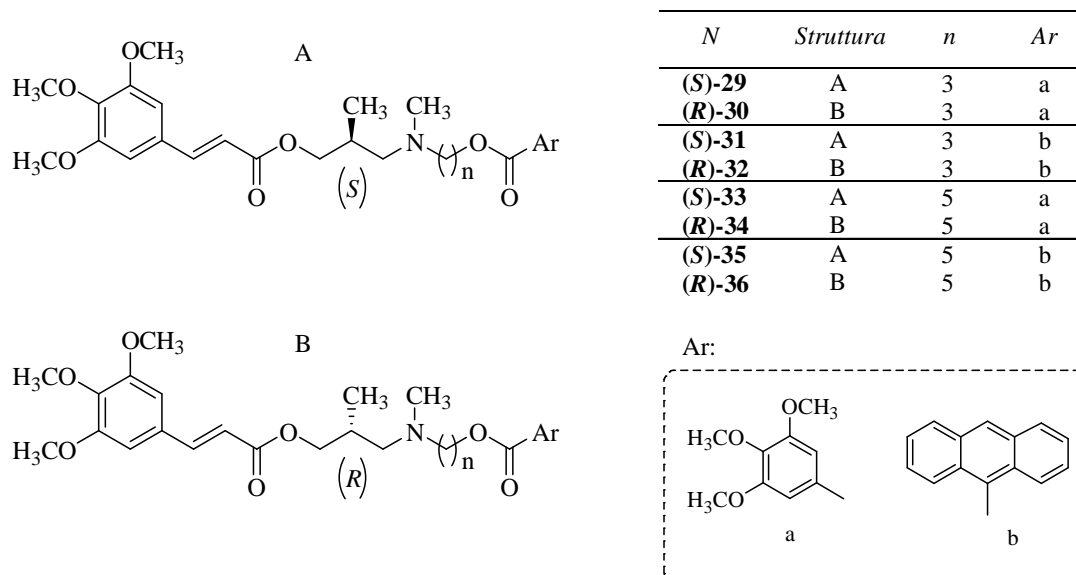
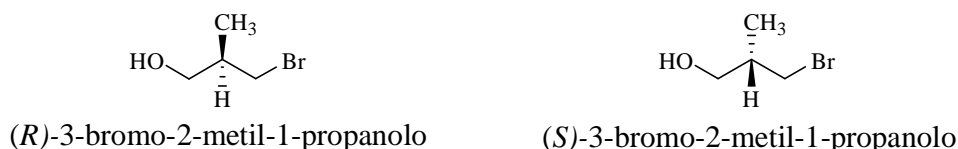


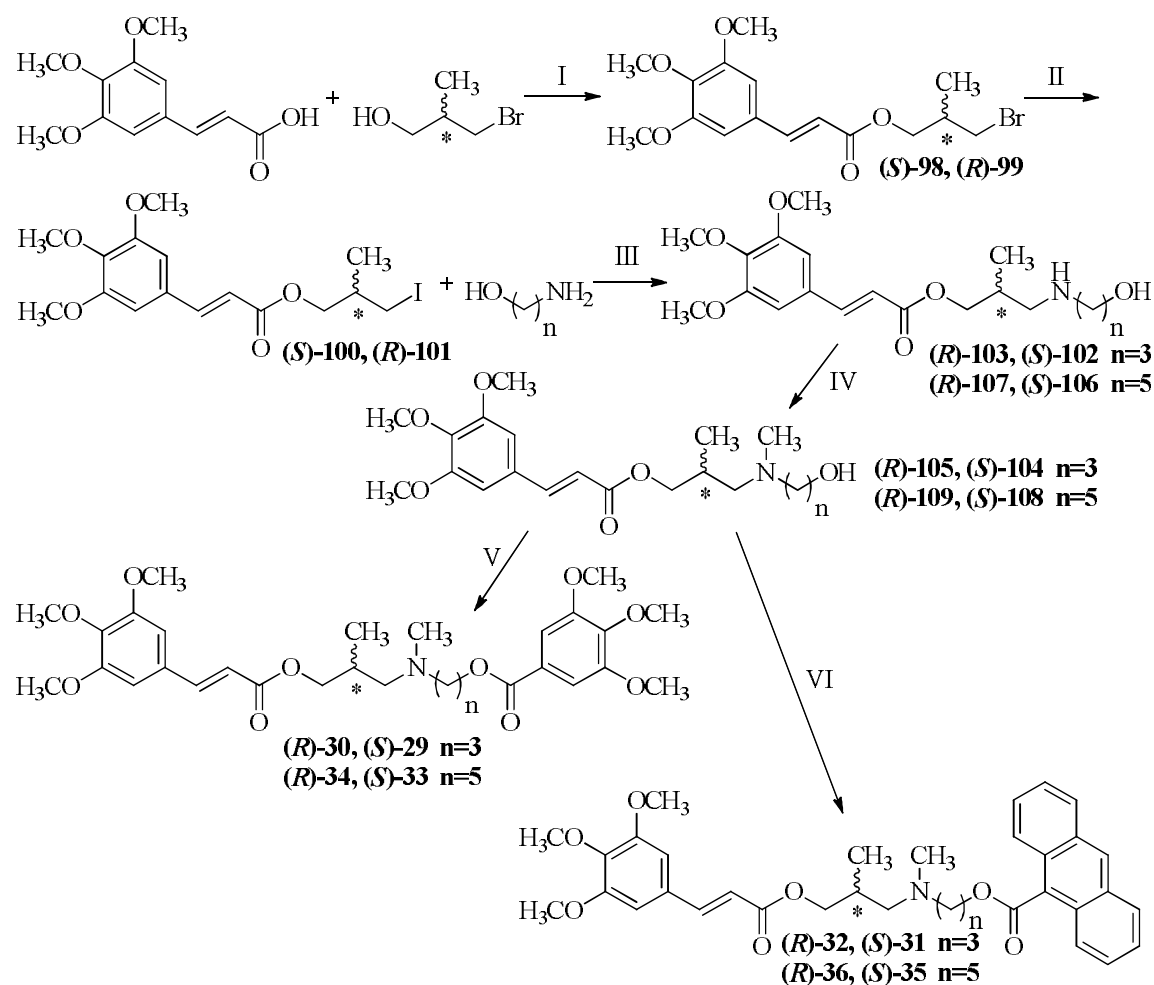
Figura 3.2: struttura dei prodotti ramificati sintetizzati.

Queste molecole hanno struttura analoga a quelle della serie alchilamminica, ma sono contraddistinte dalla presenza di una ramificazione a livello di uno dei due linker polimetilenici. In questo modo viene introdotto uno stereocentro e le molecole potranno quindi avere configurazione (*S*) o (*R*) (fig. 3.2). Poiché il 3-bromo-2-metil-1-propanolo, precursore chiave per la sintesi dei prodotti progettati, è disponibile in commercio sotto forma enantiopura, cioè (*S*)-(+)-3-bromo-2-metil-1-propanolo e (*R*)-(-)-3-bromo-2-metil-1-propanolo (fig. 3.3), è stato possibile condurre in parallelo le vie sintetiche che hanno portato all'ottenimento delle due serie di prodotti enantiopure, ovvero dei prodotti (*S*)-**29**, (*S*)-**31**, (*S*)-**33**, (*S*)-**35** e dei corrispettivi enantiomeri (*R*)-**30**, (*R*)-**32**, (*R*)-**34**, (*R*)-**36**.



**Figura 3.3:** struttura dei precursori enantiopuri dei prodotti.

Per l'ottenimento dei prodotti **(S)-29**, **(S)-31**, **(S)-33** e **(S)-35** si parte dall'esterificazione del cloruro acilico dell'acido commerciale *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico con l'enantiomero **(R)**-(-) del 3-bromo-2-metil-1-propanolo per ottenere l'intermedio **(R)-105** (schema 3.2), mentre per l'ottenimento dei corrispondenti enantiomeri **(R)-30**, **(R)-32**, **(R)-34** e **(R)-36** si opera allo stesso modo ma partendo dall'enantiomero **(S)**-(+) del 3-bromo-2-metil-1-propanolo per ottenere l'intermedio **(S)-104**.



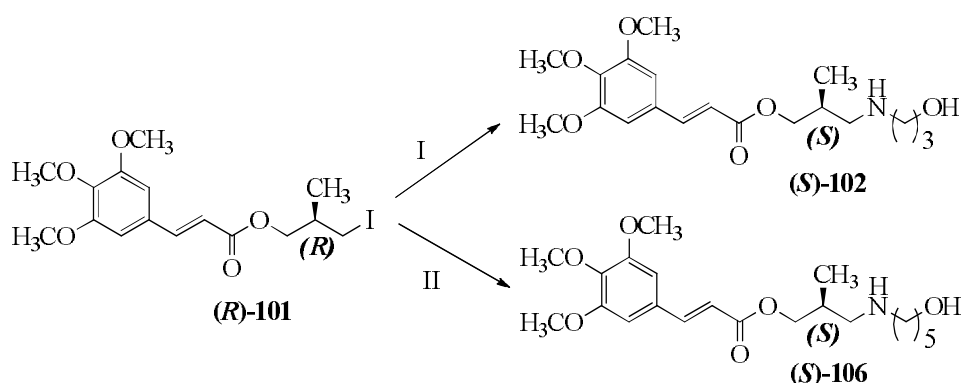
**Schema 3.2:** (I)  $\text{SOCl}_2$ ,  $\text{CHCl}_3$ ; (II)  $\text{NaI}$ , acetone; (III)  $\text{CH}_3\text{CN}$  anidro; (IV)  $\text{HCOOH}$ ,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $\text{EtOH}$ ; (V) acido 3,4,5-trimetossibenzoico,  $\text{EDCI}$ ,  $\text{DMAP}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro; (VI) acido 9-antracencarbossilico,  $\text{SOCl}_2$ ,  $\text{CHCl}_3$ .

Il bromoalchilestere (**98** o **99**) è stato fatto reagire con i corrispettivi amminoalcoli a tre e a cinque metileni, in presenza di carbonato di potassio in ambiente inerte. Purtroppo, la reazione condotta sul bromoestere **(R)-99** ha portato a una resa inferiore alle attese,

compresa tra il 10% e il 20%. Quindi, per migliorare le rese, questo passaggio sintetico è stato preceduto da uno scambio dell'atomo di bromo con lo iodio.

Lo iodoestere **(R)-101** viene quindi utilizzato per la reazione di *N*-alchilazione in acetonitrile anidro con 3-amminopropanolo o con 5-amminopentanololo per ottenere le ammine secondarie a tre e a cinque termini, rispettivamente **(S)-102** e **(S)-106**.

Si può osservare come la nomenclatura dello stereocentro passi da *(R)* a *(S)*, ovvero partendo dall'alcol a configurazione assoluta *(R)* si ottengono prodotti finali a configurazione assoluta *(S)* e viceversa. Ciò è da correlarsi solo ad una variazione delle priorità dei gruppi sostituenti nel corso della via sintetica, quindi alla convenzione Cahn, Ingold e Prelog (CIP) utilizzata per l'assegnazione della configurazione assoluta dello stereocentro, non ad un'inversione della configurazione delle molecole.



**Schema 3.3:** (I)  $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_3\text{OH}$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}$ ; (II)  $\text{H}_2\text{N}(\text{CH}_2)_5\text{OH}$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}$ .

Le ammine secondarie vengono metilate sull'atomo di azoto attraverso una reazione di aminazione riduttiva, in presenza di acido formico e formaldeide in soluzione acquosa al 37%. Si ottengono così gli amminoalcoli **(S)-104** e **(S)-108**, recanti rispettivamente la catena metilenica a tre o a cinque termini che permettono la sintesi dei prodotti finali attraverso una reazione di esterificazione. Partendo dalla iodoestere **(S)-100** e seguendo la medesima via sintetica si ottengono le ammine secondarie **(R)-103** e **(R)-107**, e successivamente le ammine terziarie **(R)-105** e **(R)-109**, recanti rispettivamente le prime una catena metilenica a tre termini e le seconde a cinque termini.

Nel caso dei derivati trimetossibenzoici **(S)-29** e **(R)-30**, **(S)-33** e **(R)-34**, l'esterificazione viene condotta con acido 3,4,5-trimetossibenzoico, EDCI e DMAP.

Invece, per quanto riguarda i derivati 9-carbossiantracenicici **(S)-31** e **(R)-32**, **(S)-35** e **(R)-36**, la reazione di esterificazione finale passa attraverso l'attivazione dell'acido 9-carbossiantracenicico a cloruro acilico.

## 3.2. Prodotti rigidi

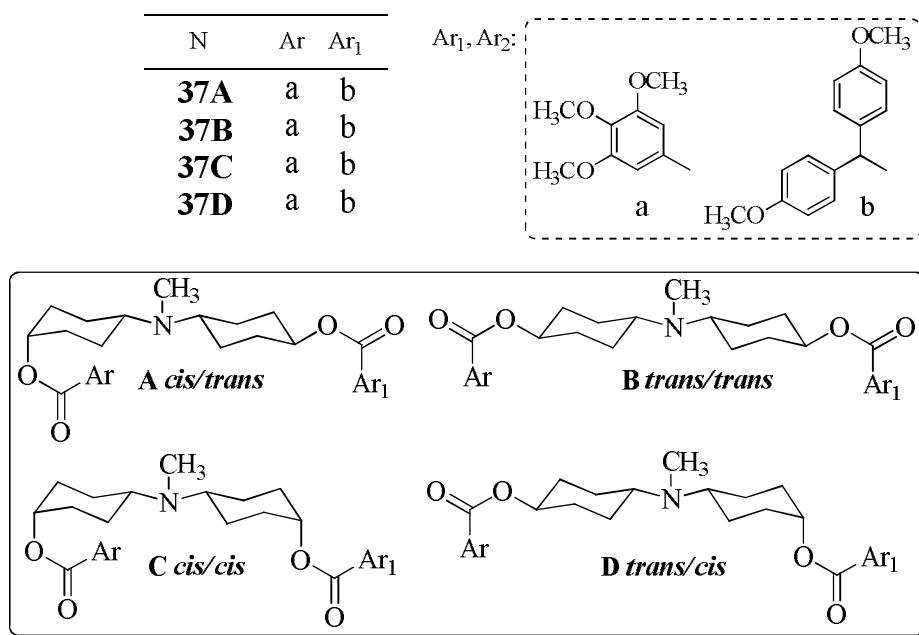
### 3.2.1. Esteri *N,N*-bis-cicloesilamminici [145]

Questa serie di molecole è stata progettata per introdurre una parziale rigidità nella struttura. Possono infatti essere considerate degli analoghi irrigiditi delle molecole arilalchilamminiche lineari, in quanto la struttura *N,N*-bis-arilalchilamminica è stata sostituita con lo scaffold *N,N*-bis(cicloesano)amminico.

La presenza dei due anelli cicloesanici 1,4-disostituiti dà origine a quattro isomeri geometrici: *cis/trans*, *trans/trans*, *cis/cis* e *trans/cis*.

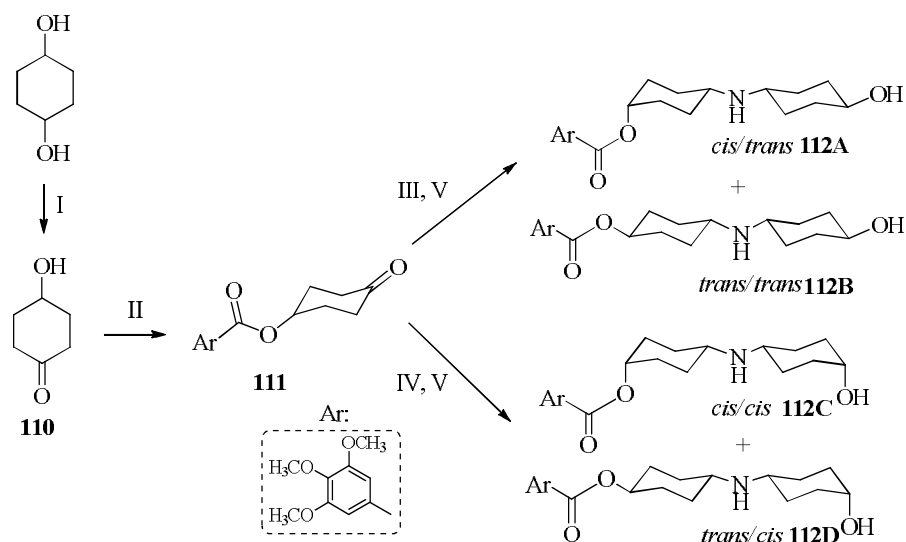
In questo lavoro di tesi è stato sintetizzato un piccolo set di isomeri (fig. 3.4), portando avanti il lavoro già iniziato all'interno del gruppo di ricerca.

I gruppi aromatici utilizzati sono tra quelli che nella serie arilalchilamminica avevano dato i risultati migliori, ovvero il 3,4,5-trimetossibenzoico (a) e il dimetossi-difenil-acetico (b).



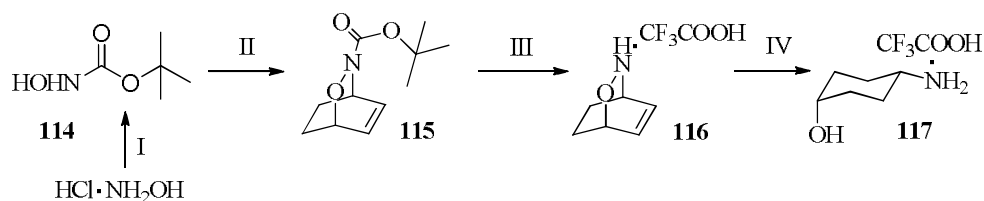
**Figura 3.4:** struttura degli isomeri *N,N*-bis(cicloesil)amminici.

Gli isomeri **A-D** del composto **37**, riportato in tabella, sono stati preparati seguendo la procedura sintetica generale riportata negli schemi 3.4 e 3.6.



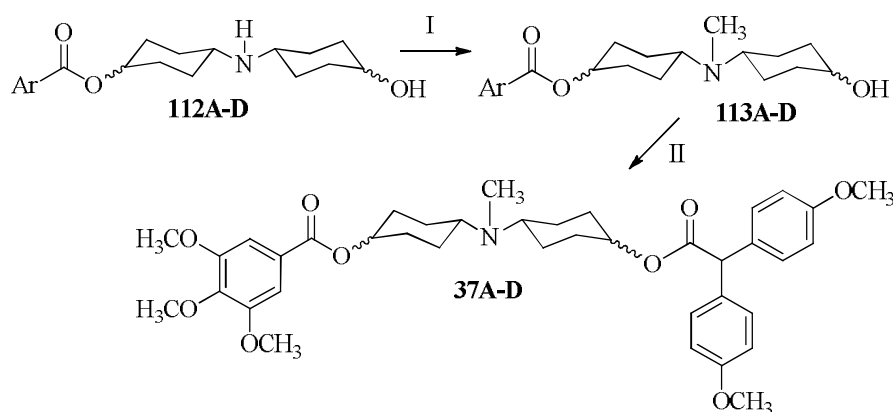
**Schema 3.4:** (I) NaBrO<sub>3</sub>, CAN, 80°C 15 min, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O; (II) acido 3,4,5-trimetossibenzoico, SOCl<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub>; (III) *trans*-4-aminocicloesano, (iPrO)<sub>4</sub>Ti, NaBH<sub>3</sub>CN, CHCl<sub>3</sub>; (IV) *cis*-4-aminocicloesano, (iPrO)<sub>4</sub>Ti, NaBH<sub>3</sub>CN, CHCl<sub>3</sub>; (V) separazione cromatografica.

Il 4-ossocicloesil estere **111** viene sintetizzato per reazione di esterificazione tra l'acido 3,4,5-trimetossibenzoico, attivato con SOCl<sub>2</sub> a cloruro acilico, e l'idrossicicloesano **110** [151], ottenuto con ottima resa per ossidazione dell'1,4-cicloesandiolo commerciale con cerio ammonio nitrato (CAN) e sodio bromato. Si ottiene così il 4-ossocicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato. Questo per amminazione riduttiva con il *trans*-4-aminocicloesano commerciale applicando la procedura di Mattson [152] che prevede l'utilizzo del titanio(IV)isopropossido come acido di Lewis e NaBH<sub>3</sub>CN come agente riducente, dà una miscela 1:1 di due isomeri **112A** e **112B** (*cis/trans* e *trans/trans*). Mediante successive separazioni cromatografiche sotto pressione vengono separati ed isolati gli isomeri puri **112A** (*cis/trans*) e **112B** (*trans/trans*). La stessa via sintetica è stata utilizzata anche per ottenere gli isomeri **112C** (*cis/cis*) e **112D** (*trans/cis*) e la reazione di amminazione riduttiva del chetoestere è stata realizzata, in questo caso, utilizzando il *cis*-4-aminocicloesano (**117**) [153], che è stato sintetizzato con buona resa seguendo una via sintetica descritta in un brevetto e riportata nello schema 3.5. Quindi, per reazione di Diels-Alder, in presenza di NaIO<sub>4</sub>, tra il cicloesadiene e la *ter*-Boc-idrossilammina **114**, ottenuta per trattamento della idrossilammina cloridrato con di-*ter*-butildicarbonato e NaHCO<sub>3</sub>, si è preparato l'aza-ossabicycloottene protetto **115** la cui funzione amminica è stata liberata per trattamento con CF<sub>3</sub>COOH (**116**). Il *cis*-4-aminocicloesano (**117**), salificato con l'acido trifluoroacetico, è stato ottenuto per idrogenazione catalitica in apparato Parr dell'intermedio **116**, con resa quantitativa. L'analisi <sup>1</sup>H-NMR ha evidenziato che il protone CHNH<sub>2</sub> si trova in posizione assiale e il protone CHOH si trova in posizione equatoriale.



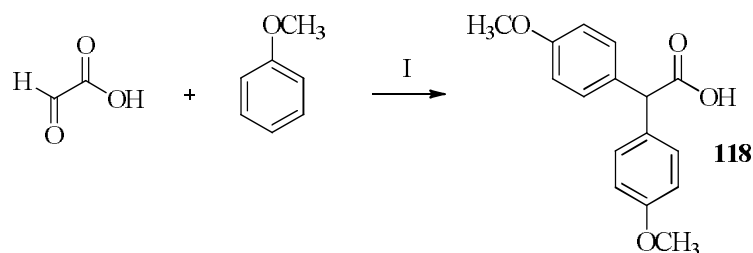
**Schema 3.5:** (I) di-*ter*-butildicarbonato, NaHCO<sub>3</sub>, THF/H<sub>2</sub>O; (II) cicloesadiene, NaIO<sub>4</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH; (III) CF<sub>3</sub>COOH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; (IV) H<sub>2</sub>, Pd/C, EtOH assoluto.

Una volta separate le due coppie di isomeri, la reazione di metilazione riduttiva con acido formico e formaldeide (schema 3.6) condotta sui singoli isomeri **112A-D** ha permesso di ottenere le ammine terziarie corrispondenti (**113A-D**). Tali intermedi subiscono quindi una reazione di esterificazione, nelle condizioni riportate nello schema 3.6, con l'acido bis-(4-metossifenil)acetico **118** dando così i prodotti finali desiderati **37A-D**.



**Schema 3.6:** (I) HCOOH, HCHO, EtOH; (II) acido bis-(4-metossi-fenil)-acetico (**118**) [153], EDCl, DMAP, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro.

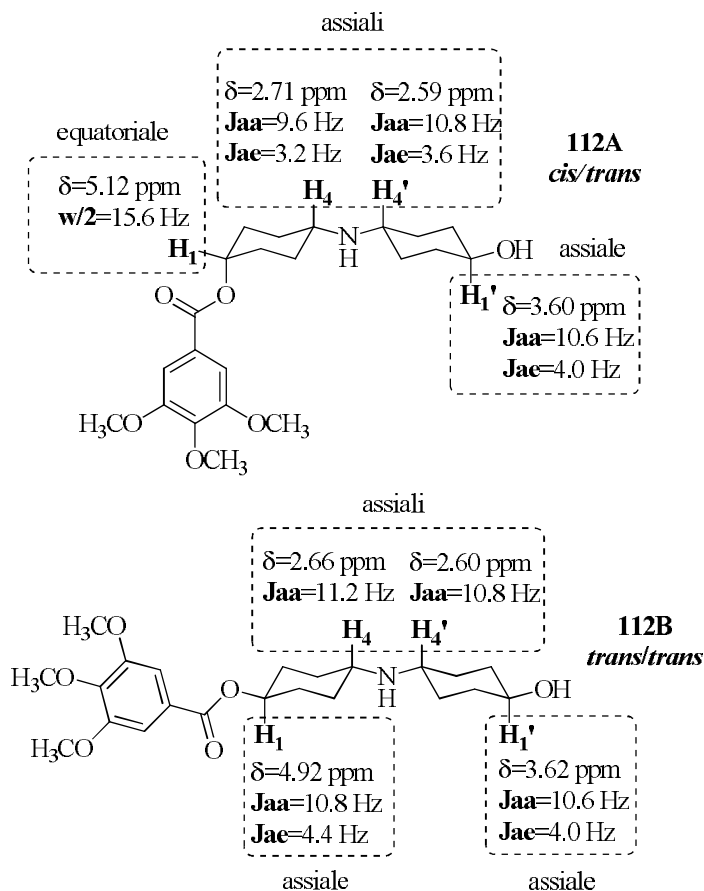
L'acido **118** [154] non è disponibile commercialmente ma è stato ottenuto (schema 3.7), per condensazione dell'acido gliossilico con 2 equivalenti di anisolo in ambiente acido (acido acetico glaciale e acido solforico concentrato).



**Schema 3.7:** (I) CH<sub>3</sub>COOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.



L'attribuzione della configurazione dei prodotti sintetizzati è stata effettuata sulla base dei loro spettri  $^1\text{H-NMR}$  a 400 MHz.



**Figura 3.5:** caratteristiche spettroscopiche dei protoni  $H_1$ ,  $H_4$ ,  $H_1'$ ,  $H_4'$  degli isomeri **112A** e **112B**.

In particolare la loro configurazione è stata assegnata in base alle caratteristiche assiali o equatoriali dei protoni cicloesamici, utilizzando come parametri diagnostici il chemical shift (i protoni assiali risuonano a campi più alti degli equatoriali che sono più deschermati) e le costanti di accoppiamento oppure, nel caso in cui non sia possibile calcolare le costanti di accoppiamento, il  $w/2$ , ovvero l'ampiezza del picco a metà altezza. Come esempio in fig. 3.5 sono riportati i valori dei protoni caratteristici dei due alcoli isomeri della serie *trans* (*cis/trans* e *trans/trans*) **112A** e **112B**.

### 3.2.2. Ammidi $N,N$ -bis-cicloesilamminiche [145]

In questa serie di molecole le funzioni esteree, presenti in tutte le altre serie, sono state sostituite con funzioni ammidiche, in linea teorica più stabili dal punto di vista metabolico perché non attaccabili dalle esterasi plasmatiche.

Si è pensato di sintetizzare come punto di partenza in questo lavoro di tesi un piccolo gruppo di derivati ammidici, sostituiti da una parte con il residuo dell'acido 3,4,5-

trimetossicinnamico e dall'altra con quello dell'acido 2,3,4-trimetossibenzoico o del suo isomero 3,4,5-trimetossibenzoico (fig. 3.6).

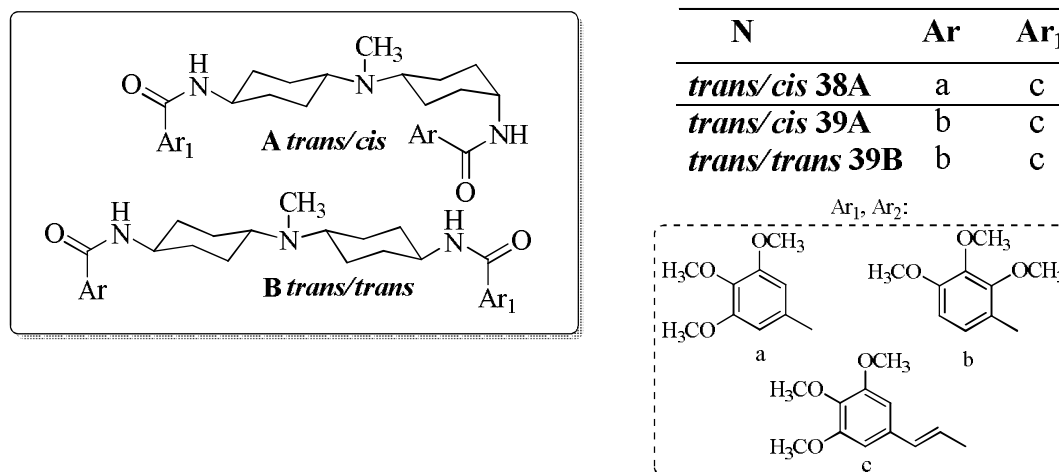


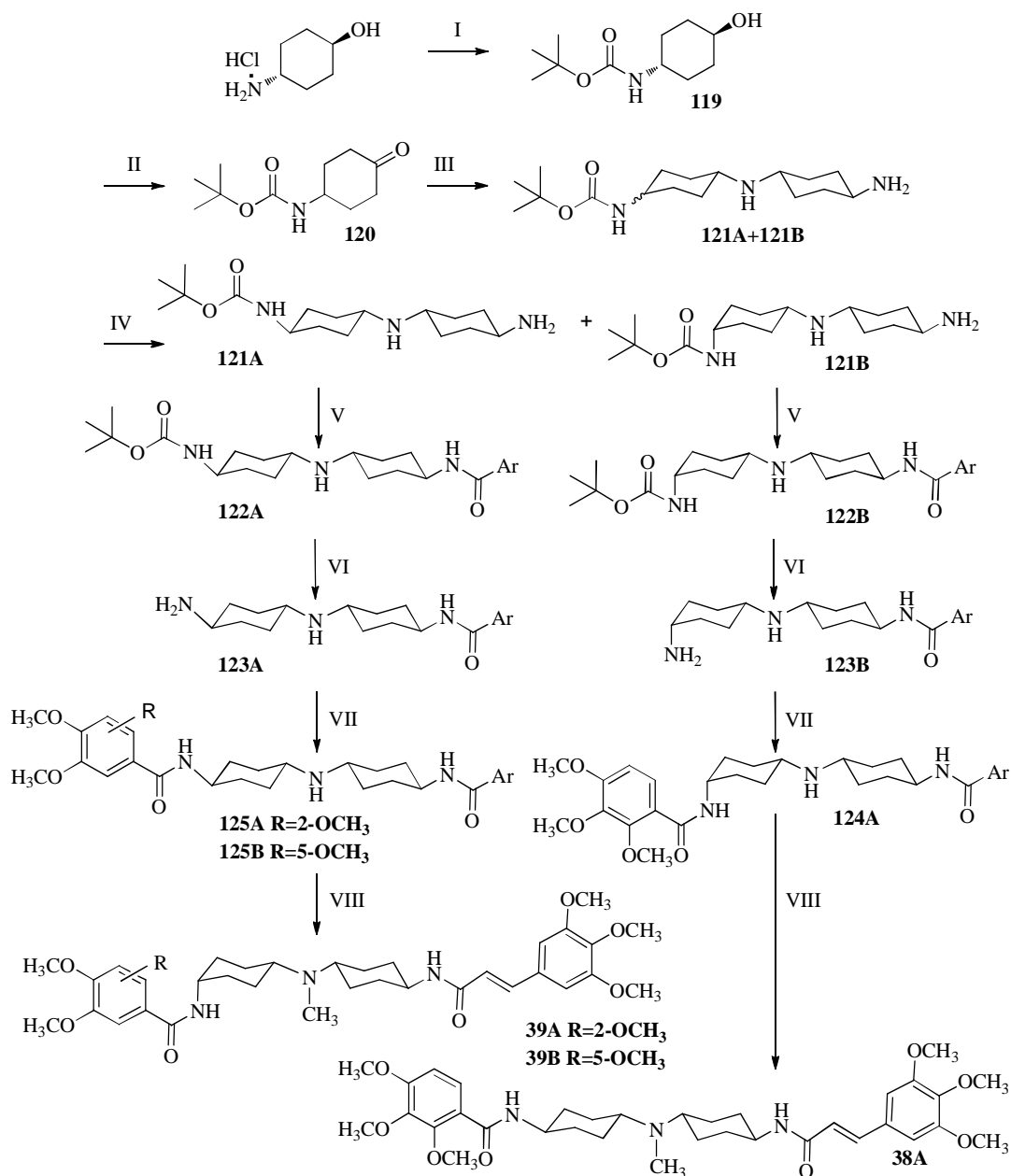
Figura 3.6: struttura delle ammidi *N,N*-bis(cicloesil)amminiche.

Le ammidi **38A** e **39A-B** sono state preparate seguendo la sintesi generale riportata nello schema 3.8.

La prima reazione è la protezione della funzione amminica del *trans*-1,4-amminocicloesano cloridrato con di-*ter*-butildicarbonato. L'alcol protetto viene quindi ossidato a chetone **120**, secondo quanto riportato in letteratura [154] utilizzando piridinio cloro cromato (PCC), un agente ossidante blando ma selettivo. Con questa ossidazione si perde la configurazione *trans* dell'amminocicloesano di partenza.

Si procede poi con una reazione di amminazione riduttiva del derivato chetonico **120** con il *trans*-1,4-diamminocicloesano, eseguita applicando la reazione di Mattson [152], che prevede l'utilizzo del titanio(IV)isopropossido come acido di Lewis e di NaBH<sub>3</sub>CN come agente riducente. Tale reazione presenta alcuni vantaggi rispetto alle tradizionali metodiche di trasformazione di gruppi chetonici in ammine, per esempio è possibile seguire la formazione dell'intermedio tramite spettroscopia IR. Questo passaggio può essere considerato come il punto più critico dell'intero processo sintetico dei derivati ammidici cicloesanici. La reazione infatti, è stata messa a punto più volte nel tentativo di aumentarne la resa, che è comunque rimasta bassa. In particolare, è stata critica la scelta del miglior solvente di reazione per migliorare l'omogeneità della soluzione, che altrimenti si presenta come una miscela densa. Il solvente più idoneo è risultato essere il toluene, che presenta una certa tossicità, ma è stato impiegato in piccole dosi dopo l'aggiunta del titanio(IV)isopropossido.

Dopo verifica tramite IR della formazione dell'intermedio, viene aggiunto l'agente riducente sodiocianoboroidruro per ottenere le ammina secondarie **121A-B**.



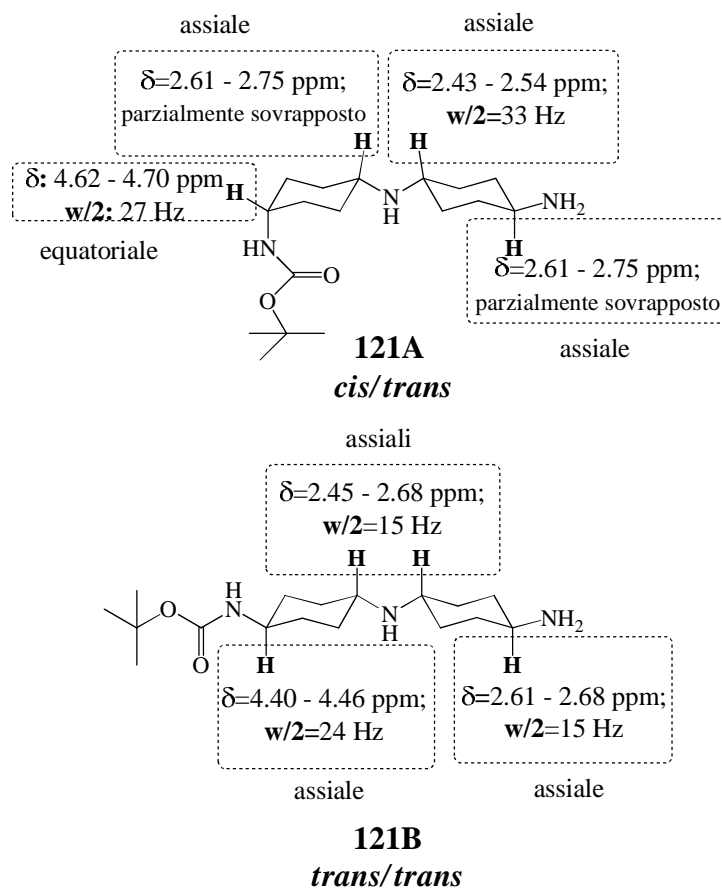
**Scheme 3.8:** (I)  $\text{Boc}_2\text{O}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{THF}/\text{H}_2\text{O}$ ; (II) celite, PCC,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro; (III) *trans*-1,4-diammino cicloesano,  $\text{Ti}(\text{OiPr})_4$ ,  $\text{NaBH}_3\text{CN}$ , toluene; (IV) separazione cromatografica; (V) acido 3,4,5-trimetossicinnamico, EDCI, DMAP,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro; (VI)  $\text{CF}_3\text{COOH}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; (VII) acido 3,4,5-trimetossibenzoico o acido 2,3,4-trimetossibenzoico, EDCI, DMAP,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro; (VIII)  $\text{HCOOH}$ ,  $\text{HCHO}$ ,  $\text{EtOH}$ .

Dopo verifica tramite IR della formazione dell'intermedio, viene aggiunto l'agente riducente  $\text{NaBH}_3\text{CN}$  per ottenere le ammine secondarie **121A-B**. Durante questa reazione si ha la formazione di due isomeri geometrici, ovvero l'isomero *cis/trans* (**121A**) e l'isomero *trans/trans* (**121B**) (fig. 3.7), che vengono separati ed isolati mediante successive cromatografie sotto pressione.

Dall'analisi degli spettri  $^1\text{H-NMR}$ , grazie ai chemical shift e alle costanti di accoppiamento dei protoni cicloesanicici assiali ed equatoriali, è stata attribuita la

configurazione geometrica delle frazioni isolate. Per quel che riguarda i chemical shift, va evidenziato che i protoni assiali risuonano a campi più alti rispetto ai protoni equatoriali, che a loro volta sono più deschermati. Lo stesso discorso vale per le costanti di accoppiamento che sono maggiori nel caso dei protoni assiali rispetto a quelle dei protoni equatoriali (fig.3.7). Nei casi in cui le costanti di accoppiamento non possano essere calcolate, si ricorre al calcolo dell'ampiezza del picco a metà altezza,  $w/2$  come riportato in fig. 3.7.

L'ammina secondaria che lega i due cicloesani è sempre in posizione equatoriale.



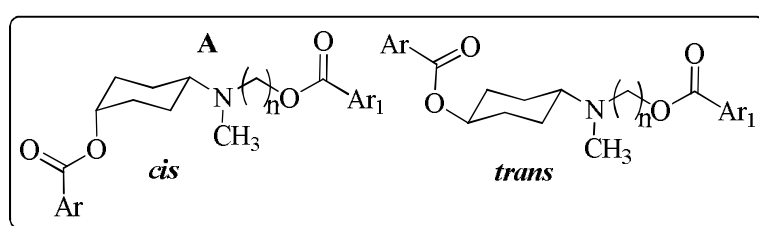
**Figura 3.7:** caratteristiche dei protoni assiali ed equatoriali.

A questo punto, per ottenere i derivati finali desiderati **38A** e **39A-B**, sono stati inseriti i due gruppi ammidici, il primo direttamente per reazione con l'acido 3,4,5-trimetossicinnamico, che in genere dà rese migliori, sulla funzione amminica primaria libera, il secondo per reazione con l'acido 2,3,4-trimetossibenzoico o con il suo isomero (acido 3,4,5-trimetossibenzoico), dopo deprotezione della funzione amminica per trattamento con acido trifluoroacetico. Per permettere le formazioni delle ammidi, gli acidi carbossilici vengono attivati con EDCI e DMAP in situ.

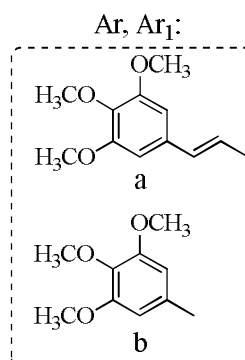
Gli isomeri sono stati poi metilati in condizioni standard con acido formico e formaldeide a dare i prodotti finali **38A** e **39A-B**.

### 3.3. Esteri *N*-cicloesil-*N*-alchilamminici [145]

Questa serie di composti nasce da un approccio di ibridazione molecolare. Infatti, considerato che sia i derivati lineari flessibili a catena polimetilenica che quelli rigidi a struttura dicicloesilamminica hanno dato ottimi risultati in termini di attività farmacologica, si è deciso di progettare una nuova serie di molecole contenenti sia un linker polimetilenico flessibile che uno rigido di tipo cicloesilico. In questo modo, oltre a cercare di sfruttare i vantaggi dei due tipi di struttura in termini di interazione con le proteine di trasporto coinvolte nella MDR, si ha anche una semplificazione della stereochimica in quanto, rispetto ai derivati rigidi in cui erano possibili quattro stereoisomeri, questo tipo di scaffold dà origine a due soli isomeri geometrici come è mostrato in fig. 3.8.

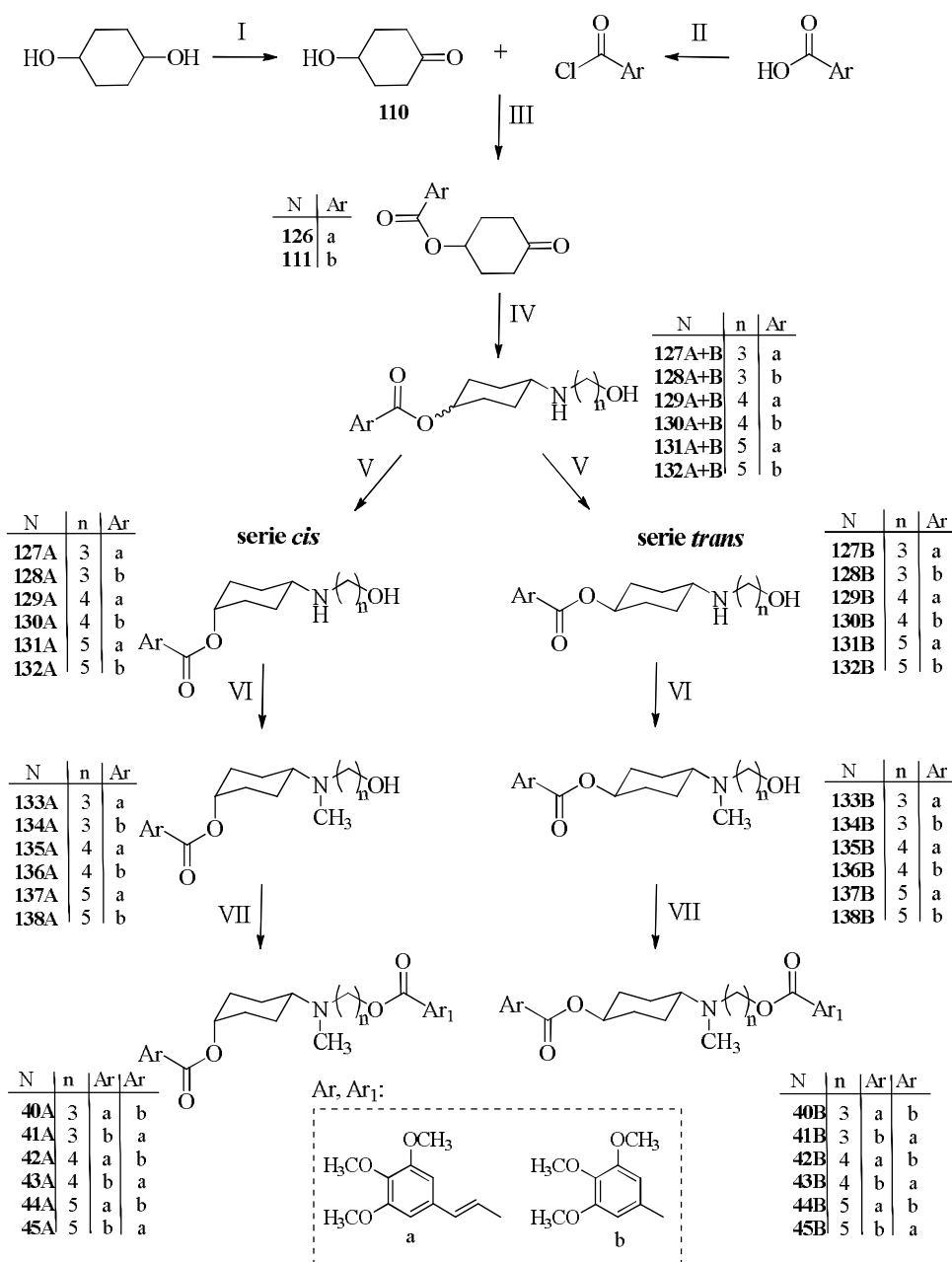


N	configurazione	n	Ar	Ar <sub>1</sub>
<b>40A</b>	<i>cis</i>	3	a	b
<b>40B</b>	<i>trans</i>	3	a	b
<b>41A</b>	<i>cis</i>	3	b	a
<b>41B</b>	<i>trans</i>	3	b	a
<b>42A</b>	<i>cis</i>	4	a	b
<b>42B</b>	<i>trans</i>	4	a	b
<b>43A</b>	<i>cis</i>	4	b	a
<b>43B</b>	<i>trans</i>	4	b	a
<b>44A</b>	<i>cis</i>	5	a	b
<b>44B</b>	<i>trans</i>	5	a	b
<b>45A</b>	<i>cis</i>	5	b	a
<b>45B</b>	<i>trans</i>	5	b	a



**Figura 3.8:** derivati a struttura cicloesilalchilamminica.

Finora sono stati sintetizzati derivati con catene polimetilenichea tre, quattro e cinque termini (fig. 3.8). La sintesi generale è riportata nello schema 3.9.



**Schema 3.9:** (I) CAN, NaBrO<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>CN/H<sub>2</sub>O; (II) SOCl<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub>; (III)CHCl<sub>3</sub>; (IV) NH<sub>2</sub>(CH)<sub>n</sub>OH (n= 3, 4, 5), Ti(OiPr)<sub>3</sub>, NaBH<sub>3</sub>CN, toluene; (V) separazione cromatografica; (VI) HCOOH/HCHO, EtOH; (VII), Ar<sub>1</sub>COOH, EDCl, DMAP, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro.

L'ossidazione del prodotto commerciale 1,4-cicloesandiolo su una delle due funzioni alcoliche porta al derivato 4-idrossicicloesano (110), che viene esterificato con il cloruro acilico dell'acido *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico o 3,4,5-trimetossibenzoico a dare rispettivamente gli intermedi 126 e 111. Questi, sono sottoposti ad una reazione di amminazione riduttiva secondo il metodo di Mattson [152] che prevede l'utilizzo di titanio(IV)isopropossido come catalizzatore. Infatti il titanio, complessando l'ossigeno carbonilico, rende il carbonio sufficientemente elettrofilo per subire l'attacco nucleofilo da parte di uno dei doppietti dell'atomo di azoto del desiderato amminoalcol a tre, quattro o cinque termini. Il complesso Ti-carbonile-ammina viene ridotto con NaBH<sub>3</sub>CN con formazione di due isomeri (*cis* e *trans*) fortunatamente in uguali

quantità, come si può capire dagli spettri  $^1\text{H-NMR}$  delle miscele isomeriche. Tali isomeri, vengono separati tramite cromatografia flash su colonna. Questo passaggio si è rivelato particolarmente critico in quanto i due isomeri hanno medesima lipofilia, per cui sono state necessarie molteplici purificazioni successive per isolare le quantità dei due isomeri puri necessarie per proseguire la via sintetica. Si ottengono così le ammine secondarie della serie *cis* (**127A-132A**) e le corrispondenti della serie *trans* (**127B-132B**).

A questo punto, le due serie isomeriche sono state sottoposte in parallelo alle stesse reazioni. Quindi, la metilazione riduttiva degli isomeri *cis* o *trans* con  $\text{HCOOH/HCHO}$  porta rispettivamente alle ammine terziarie *cis* (**133A-138A**) o *trans* (**133B-138B**). Infine, una reazione di esterificazione tra le suddette ammine terziarie e l'acido *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico o 3,4,5-trimetossibenzoico in presenza di EDCI e DMAP, porta ai prodotti finali della serie *cis* (**40A-45A**) e *trans* (**40B-45B**).

### 3.4. Prodotti *N,N*-alchilpiperazinici

Le molecole a struttura piperazinica oggetto di questo paragrafo (fig. 3.9), sono state sintetizzate a completamento della serie piperazinica precedentemente progettata nel laboratorio. Infatti, dati i promettenti risultati farmacologici ottenuti per le molecole della serie già sintetizzate, si è deciso di introdurre residui aromatici analoghi a quelli già presenti sui primi prodotti ma, in generale, caratterizzati dalla presenza di uno o più metossili, per cercare di incrementare l'attività anti-MDR. Questa modifica è stata effettuata in quanto in altre serie di molecole sintetizzate all'interno del gruppo di ricerca, la presenza di gruppi metossilici a livello dei residui aromatici ha dato un considerevole aumento dell'attività dei composti nel confronto della Pgp.

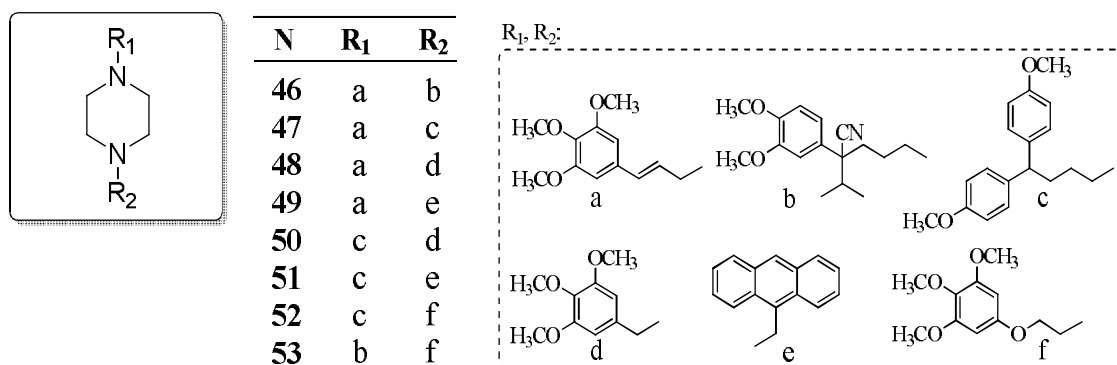
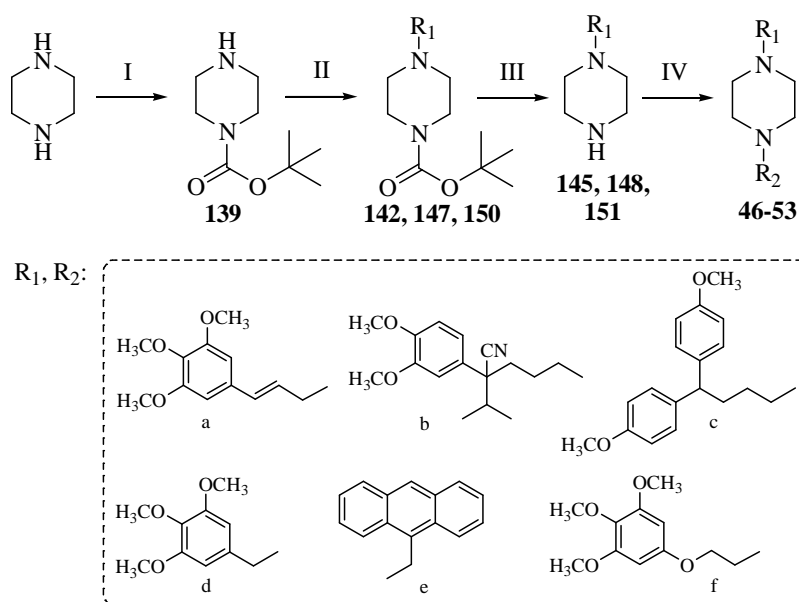


Figura3.9: prodotti a struttura piperazinica.

La strategia sintetica utilizzata per ottenere tali derivati a struttura piperazinica **46-53** è riportata nello schema 3.10.

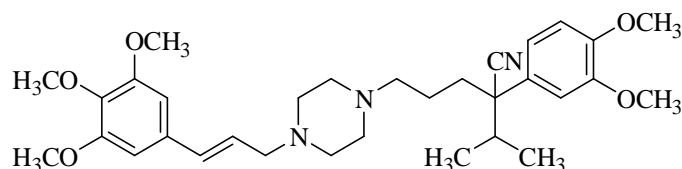


**Schema 3.10:** (I)  $(t\text{-BuCO})_2\text{O}$ , MeOH; (II)  $\text{R}_1\text{Br}$  o  $\text{R}_1\text{Cl}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}$  anidro, o  $\text{R}_1\text{OH}$  ((*E*)-3-(3,4,5-trimetossi-fenil)-prop-2-en-1-olo),  $\text{CH}_3\text{SO}_2\text{Cl}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$  anidra,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro; (III)  $\text{CF}_3\text{COOH}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; (IV)  $\text{R}_2\text{Br}$  o  $\text{R}_2\text{Cl}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}$  anidro.

La *N-ter*-Boc-piperazina (**139**), ottenuta per protezione di uno dei due atomi di azoto della piperazina [155] con di-*ter*-butildicarbonato, viene fatta reagire in presenza di  $\text{K}_2\text{CO}_3$  con l'alogenuro alchilico desiderato, opportunamente sintetizzato, per permettere la *N*-alchilazione dell'atomo di azoto non protetto. A questo punto, si procede alla rimozione della protezione, per trattamento con  $\text{CF}_3\text{COOH}$ , per eseguire una seconda *N*-alchilazione, nelle stesse condizioni della precedente, per ottenere i prodotti finali **46-53**.

Per tutte le reazioni di *N*-alchilazione sono stati utilizzati dei bromoalchili, tranne che nel caso dell'intermedio **142** che verrà trattato in seguito.

Il prodotto **46** (fig. 3.10) presenta una piperazina sostituita su uno dei due atomi di azoto con un residuo di tipo 3,4,5-trimetossistirenico e sull'altro con un residuo di tipo isopropilarilcianobutilico, che mima una porzione del verapamile (una delle prime molecole trovate essere attive contro la MDR).

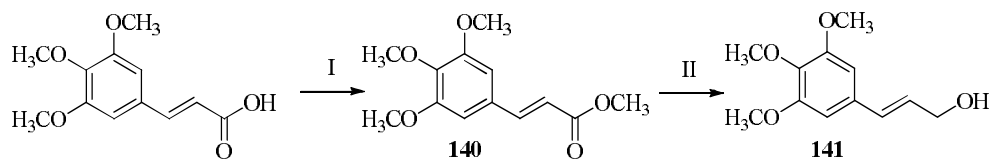


**Figura 3.10:** struttura del prodotto **46**.

Per ottenere l'intermedio 3,4,5-trimetossistirenico **142** sono stati provati numerosi metodi. Inizialmente si è pensato di inserire il residuo stirenico sulla piperazina protetta su uno dei due atomi di azoto **139** sotto forma di alogenoderivato, ottenuto a partire dal corrispondente alcol. Per sintetizzare il derivato alcolico, l'acido commerciale 3,4,5-*trans*-trimetossicinnamico è stato sottoposto ad un'esterificazione di Fischer, che

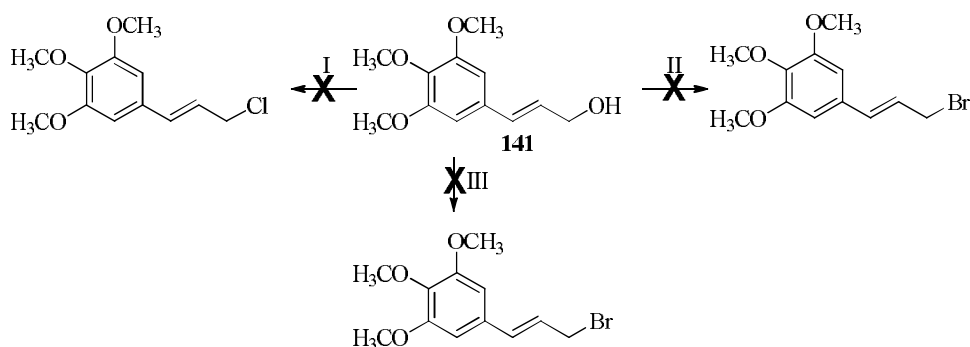


prevede l'uso di metanolo sia come solvente che come reattivo, per ottenere l'estere metilico **140**. Questo, è stato poi trasformato nel corrispondente alcol per riduzione con diisobutil-alluminio-idruro (DIBAL-H) [159], un riducente selettivo. Si è così ottenuto l'intermedio **141** con buone rese.



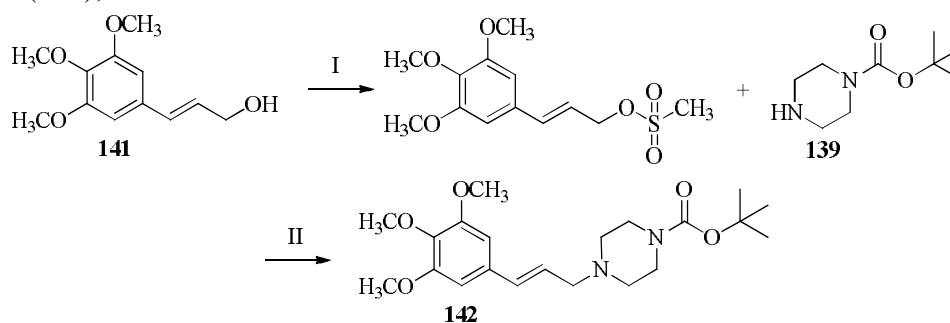
**Schema 3.11:** (I)  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ; (II) DIBAL-H,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro.

Sfortunatamente, il passaggio successivo di sostituzione dell'ossidrilico con un atomo di alogeno non è andato a buon fine, e non è stato possibile ottenere né il cloro né il bromo derivato (schema 3.12). Infatti, hanno dato esito negativo sia la clorurazione con  $\text{SOCl}_2$  che la bromurazione con  $\text{CBr}_4/\text{PPh}_3$  o con  $\text{PBr}_3$ , probabilmente perché gli alogenoderivati ottenuti sono instabili.



**Schema 3.12:** (I)  $\text{SOCl}_2$ ,  $\text{CHCl}_3$ ; (II)  $\text{PBr}_3$ , toluene;  $\text{CBr}_4$ ,  $\text{PPh}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

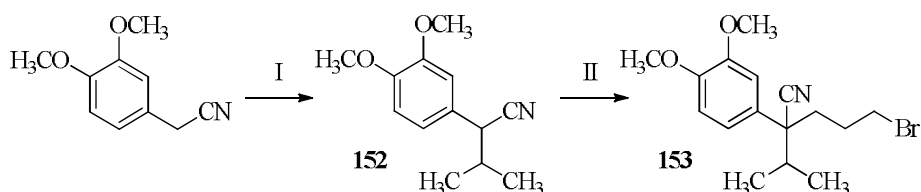
Allora è stata studiata una diversa strategia per introdurre il residuo cinnamico, ovvero è stato utilizzato come gruppo uscente il mesile invece che un alogeno. Quindi l'intermedio **142** è stato ottenuto con un metodo *onepot*, ottenendo *in situ* il mesil derivato trattando l'alcol con mesilcloruro, e facendolo poi reagire con la piperazina protetta (**139**), come mostrato nello schema 3.13.



**Schema 3.13:** (I)  $\text{SO}_2\text{CH}_3\text{Cl}$ ,  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ ; (II)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}$  anidro.

Il secondo residuo, cioè quello che mima la struttura del verapamile, è stato inserito tramite il corrispondente bromuro alchilico (intermedio **153**), ottenuto in due passaggi a partire dall'omoveratronitrile commerciale (schema 3.14). Questo, viene deprotonato sul

carbonio in posizione benzilica con  $\text{NaNH}_2$  ed il doppietto elettronico libero del carbanione generatosi, è in grado di effettuare un attacco nucleofilo sull'isopropilbromuro a dare l'intermedio **152**. Il carbonio benzilico viene nuovamente deprotonato, stavolta tramite l'utilizzo di  $n\text{BuLi}$ , per permetterne l'attacco nucleofilo su una delle due posizioni alogenate dell'1,3-dibromo propano, per dare l'intermedio **153**.

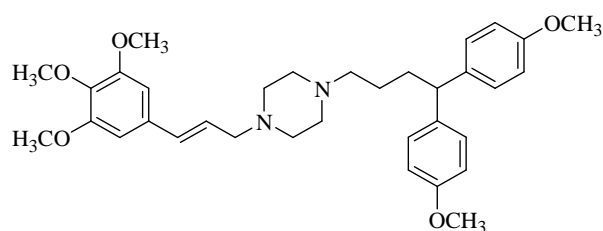


**Schema 3.14:** (I)  $\text{NaNH}_2$ ,  $i\text{PrBr}$ , THF; (II)  $\text{Br}(\text{CH}_2)_3\text{Br}$ ,  $n\text{BuLi}$ , THF anidro.

L'intermedio **153**, viene fatto poi reagire con la piperazina monosostituita e deprotetta (**143**), secondo lo schema sintetico generale illustrato nello schema 3.10, a dare il prodotto finale **46**.

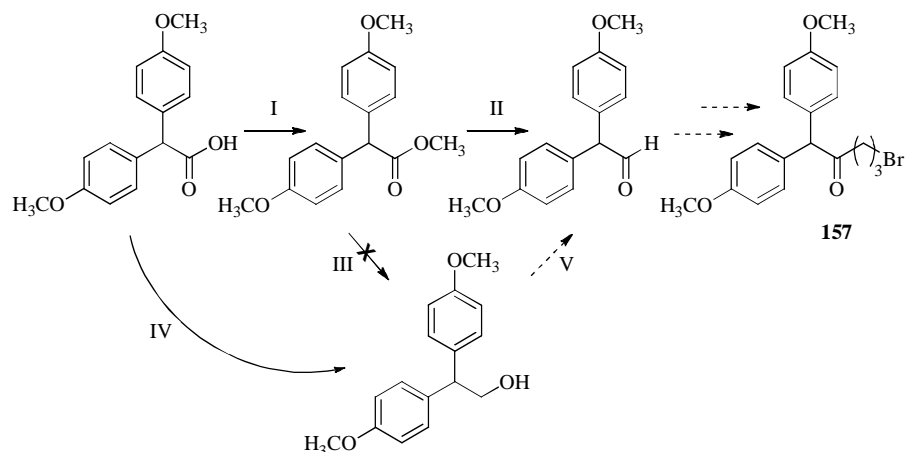
L'intermedio **142** è stato utilizzato anche per la sintesi dei prodotti finali **47-49**.

Il prodotto **47**, mostrato in fig.3.11, è costituito da una piperazina sostituita sui due atomi di azoto con un residuo di tipo 1,2,3-trimetossistirenico ed uno di tipo di(parametossi)fenilpropilico.



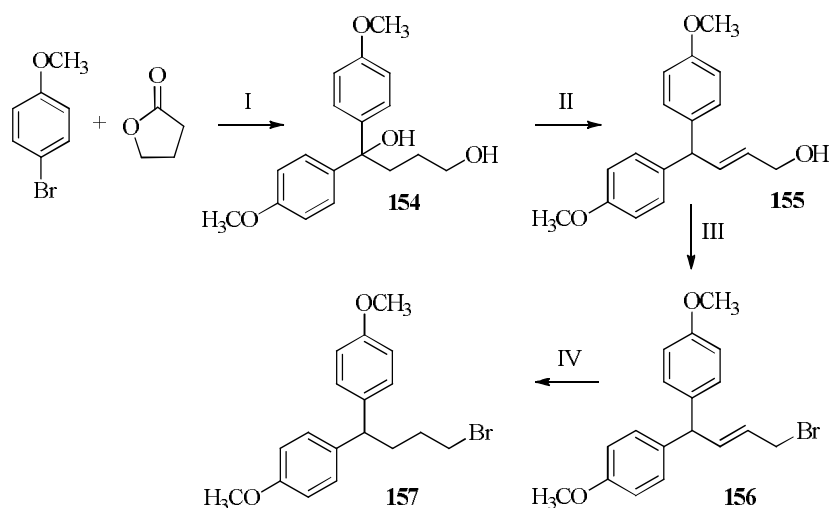
**Figura 3.11:** struttura del composto **47**.

Per la sintesi di questo composto è stato necessario ottenere l'intermedio di(parametossi)fenilico **157**. Inizialmente è stata intrapresa la via di sintesi illustrata nello schema 3.15. Si è pensato di ottenere la bis-(4-metossifenil)acetaldeide per poi procedere all'allungamento della catena tramite una reazione di tipo Wittig. Per ottenere l'aldeide desiderata, si è pensato di attuare la riduzione non sull'acido ma sul corrispondente estere metilico, in quanto, generalmente, gli esteri sono meglio riducibili degli acidi. Quindi l'estere metilico è stato ottenuto per esterificazione dell'acido commerciale bis(4-metossifenil)acetico con metanolo, mediante il metodo di Fischer, utilizzando acido solforico come catalizzatore. Sfortunatamente, la successiva riduzione, sia con DIBAL-H che con  $\text{LiAlH}_4$ , non hanno dato risultati soddisfacenti. Si è provato allora a ridurre direttamente l'acido bis-(4-metossifenil)acetico ad alcol con borano, ma si è ottenuta una resa troppo bassa (11%) per proseguire.



**Schema 3.15:** (I)  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{CH}_3\text{OH}$ ; (II) DIBAL-H,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro; (III)  $\text{LiAlH}_4$ , THF anidro; (IV)  $\text{BH}_3$ , THF; (V) PCC,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

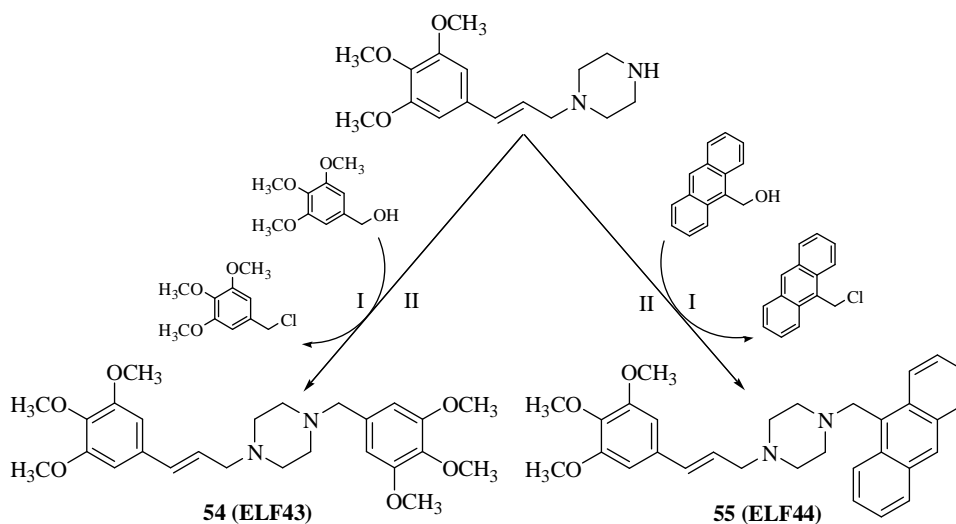
Allora si è deciso di ottenere l'intermedio **157** cambiando approccio sintetico, secondo la procedura mostrata nello schema 3.16. Si è deciso quindi di partire dimerizzando gli arili, con contemporanea formazione della catena alchilica tramite una reazione di Grignard a partire dal para-bromoanisolo, che viene trasformato nel corrispettivo derivato magnesiano. Due equivalenti del composto magnesiano attaccano il carbonio carbonilico elettrofilo del  $\gamma$ -butirro lattone, aprendo l'anello e dando così l'intermedio **154**, recante una funzione alcolica in posizione benzilica. Questa, viene eliminata tramite una reazione di disidratazione con acido cloridrico, ottenendo così l'intermedio olefinico **155**. A questo punto, per reazione con tetrabromuro di carbonio e trifenilfosfina, si ottiene l'intermedio bromurato **156**. Per riduzione del doppio legame, mediante idrogenazione catalitica con palladio su carbone condotto con strumentazione Parr, si ottiene l'intermedio di(parametossi)fenilico desiderato (**157**).



**Schema 3.16:** (I)  $\text{Mg}/\text{I}_2$ , THF; (II)  $\text{HCl}$  6N, EtOH; (III)  $\text{CBr}_4$ ,  $\text{PPh}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; (IV)  $\text{H}_2/\text{Pd-C}$ , EtOH assoluto.

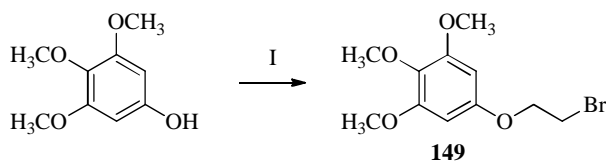
Con l'intermedio **157**, è stato possibile ottenere il prodotto finale **47**, mediante una *N*-alchilazione sull'intermedio **142**, ottenuto come precedentemente descritto nello schema 3.10.

L'intermedio **142** è stato utilizzato anche per la sintesi dei prodotti finali **48e 49** (schema 3.17) come già menzionato in precedenza, per reazione rispettivamente con 5-clorometil-1,2,3-trimetossibenzene e 9-clorometilantracene, ottenuti per trattamento con cloruro di tionile dei corrispondenti alcoli commerciali.



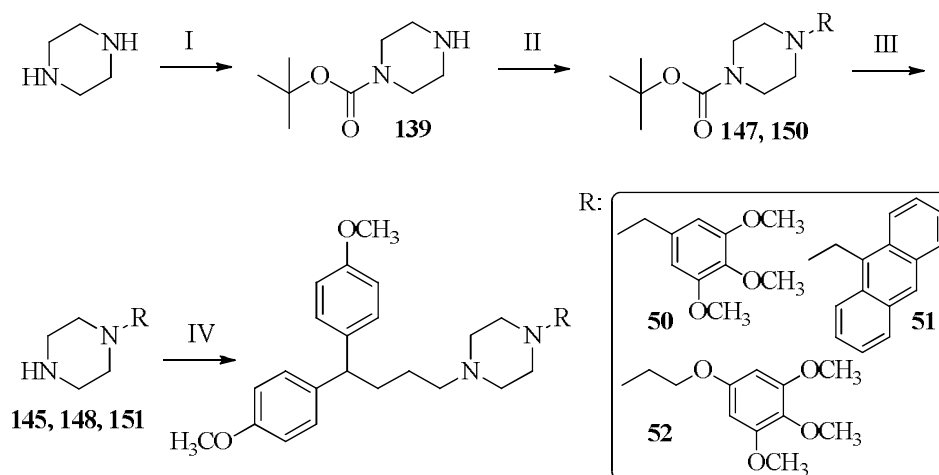
**Schema 3.17:** (I)  $\text{SOCl}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro; (II)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{CN}$  anidro.

Per la sintesi dei prodotti finali **56**, **57e 58**, gli intermedi monoalchilati sono stati ottenuti per reazione della *N*-*t*-Boc-piperazina **139** (secondo lo schema generale 3.10) con 5-clorometil-1,2,3-trimetossibenzene o 9-clorometilantracene, ottenuti come già descritto in precedenza per i prodotti **54** e **55** (schema 3.17), o 5-(2-bromo-etossi)-1,2,3-trimetossibenzene (**149**). Quest'ultimo è stato ottenuto per semplice alchilazione del 3,4,5-trimetossifenolo con 1,2-dibromoetilene, come illustrato nello schema 3.18.



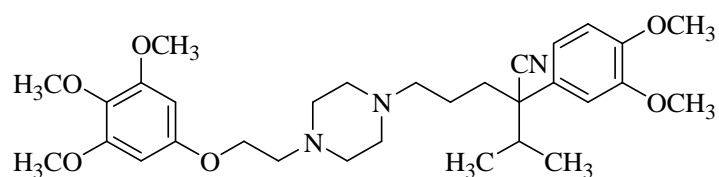
**Schema 3.18:** (I)  $\text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{Br}$ ,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , DMF anidra.

Si procede poi alla eliminazione del *t*-Boc dall'atomo di azoto protetto. Si ottengono così gli intermedi **145**, **148** e **151** che per reazione con l'intermedio **157**, ottenuto secondo lo schema 3.16, danno i composti finali desiderati **50**, **51** e **52** secondo lo schema 3.19.



**Schema 3.19:** (I) Boc<sub>2</sub>O, CH<sub>3</sub>OH; (II) 144 o 146 o 149, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>CN anidro; (III) CF<sub>3</sub>COOH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; (IV) 145 o 148 o 149, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>CN anidro.

L'ultimo composto della serie è il prodotto **53** (fig.3.12) che reca un sostituito di tipo 3,4,5-trimetossi-stirenico, ottenuto secondo lo schema 3.18, ed uno di tipo isopropil-aryl-cianobutilico, che mima una porzione del verapamile, sintetizzato come descritto nello schema 3.14.



**Figura 3.12:** struttura del prodotto 53.

Per la sintesi del composto **53**, si procede come già descritto per gli altri prodotti, secondo lo schema generale 3.10.

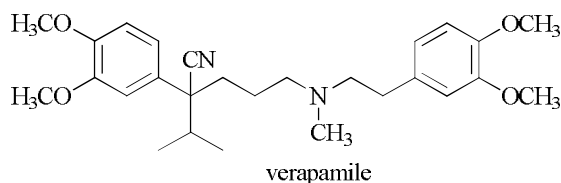
## Cap.4. RISULTATI E DISCUSSIONE

### 4.1. Test di uptake nucleare della pirarubicina

Lo screening farmacologico preliminare dei composti progettati e sintetizzati in questo lavoro di tesi è stata effettuato dalla Prof.ssa M. Salerno presso il laboratorio di Biochimica dell'Università di Parigi Nord su cellule eritroleucemiche K562 antraciclina-resistenti (K562/DOXO) misurando l'uptake nucleare della pirarubicina, antraciclina fluorescente, in presenza di differenti concentrazioni dei prodotti da testare. Osservando la diminuzione del segnale di fluorescenza a 590 nm, dovuto alla incorporazione della pirarubicina nel nucleo cellulare, si può calcolare l'incremento della quantità di chemioterapico incorporato all'interno dei nuclei cellulari. I dettagli del metodo sono riportati nella parte farmacologica sperimentale.

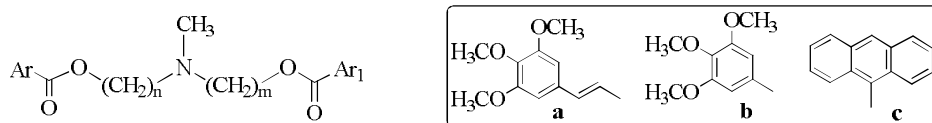
L'attività chemiosensibilizzante è espressa come  $[\text{I}]_{0,5}$  che indica la *potenza* del modulatore, in quanto rappresenta la concentrazione di modulatore in grado di incrementare del 50% l'incorporazione del chemioterapico nella linea cellulare resistente, e come  $\alpha_{\text{max}}$  che indica l'*efficacia*, in quanto rappresenta l'aumento massimo ottenibile in termini di concentrazione di pirarubicina nel nucleo in presenza di un dato modulatore.

Come composto di riferimento è stato sempre scelto il verapamile (fig.4.1), tradizionale golden standard per gli esperimenti sulla MDR, e a seconda della serie sono stati anche scelti come riferimento composti sintetizzati precedentemente con strutture simili alla serie presa in considerazione. I modulatori sono testati come cloridrato.



**Figura 4.1:** composto di riferimento nel test di uptake nucleare della pirarubicina .

## 4.1.1. Derivati esterei alcanolamminoarilici

4.1.1.1. Esteri *N,N*-bis(alcanol)amminoarilici

composto	n+m	n	m	Ar	Ar <sub>1</sub>	[I] <sub>0.5</sub> μM	α <sub>max</sub>
GDE5	8	5	3	a	b	0.12 ± 0.02	0.99 ± 0.01
GDE6		5	3	a	c	0.04 ± 0.01	0.98 ± 0.02
FRA76		5	3	b	a	0.27 ± 0.05	0.97 ± 0.02
FRA77		5	3	c	a	0.04 ± 0.02	0.94 ± 0.03
1		6	2	a	b	0.19 ± 0.07	0.77 ± 0.04
2		6	2	a	c	0.04 ± 0.01	0.94 ± 0.03
3		6	2	b	a	0.46 ± 0.07	0.91 ± 0.03
4		6	2	c	a	0.20 ± 0.08	0.79 ± 0.06
GDE18		4	4	a	b	1.53 ± 0.13	0.62 ± 0.02
GDE19		4	4	a	c	0.07 ± 0.01	0.87 ± 0.03
5	9	5	4	a	b	0.1 ± 0.04	0.94 ± 0.05
6		5	4	a	c	0.03 ± 0.03	0.99 ± 0.01
7		5	4	b	a	0.27 ± 0.12	0.99 ± 0.01
8		5	4	c	a	0.04 ± 0.01	0.94 ± 0.02
9		6	3	a	b	0.24 ± 0.08	0.90 ± 0.04
10		6	3	a	c	0.03 ± 0.001	0.99 ± 0.01
11		6	3	b	a	0.39 ± 0.12	0.99 ± 0.01
12		6	3	c	a	0.04 ± 0.01	0.92 ± 0.03
13		7	2	a	b	0.04 ± 0.01	0.99 ± 0.01
14		7	2	a	c	0.02 ± 0.01	0.98 ± 0.02
15	7	2	b	a	0.07 ± 0.02	0.79 ± 0.04	
16	7	2	c	a	0.17 ± 0.08	0.88 ± 0.08	
17	10	6	4	a	b	0.01 ± 0.01	0.99 ± 0.01
18		6	4	a	c	0.02 ± 0.01	0.94 ± 0.05
19		6	4	b	a	0.07 ± 0.002	0.99 ± 0.01
20		6	4	c	a	0.01 ± 0.01	0.95 ± 0.05
21		7	3	a	b	0.06 ± 0.02	0.99 ± 0.01
22		7	3	a	c	0.01 ± 0.01	0.93 ± 0.04
23		7	3	b	a	0.08 ± 0.03	0.97 ± 0.03
24		7	3	c	a	0.04 ± 0.01	0.88 ± 0.08
25		8	2	a	b	0.02 ± 0.01	0.93 ± 0.03
26		8	2	a	c	0.05 ± 0.02	0.99 ± 0.01
27	8	2	b	a	0.04 ± 0.01	0.91 ± 0.02	
28	8	2	c	a	0.04 ± 0.01	0.96 ± 0.02	
ME30	5	5	a	b	0.80 ± 0.2	0.85 ± 0.02	
ME31	5	5	a	c	0.10 ± 0.2	0.81 ± 0.02	
verapamile	-	-	-	-	-	1.60 ± 0.3	0.70 ± 0.02

**Tabella 4.1:** attività chemiosensibilizzante dei prodotti della serie esterea lineare simmetrica ed asimmetrica con numero totale di metileni (*n+m*) di 8, 9 o 10.

In tabella 4.1 sono riportati i risultati dei composti esterei lineari con linker asimmetrico, ovvero due catene polimetileniche di diversa lunghezza, sia già sintetizzati dal gruppo di ricerca (indicati con sigle) che oggetto di questo lavoro di tesi (indicati con numeri). Inoltre sono riportati i risultati dei corrispondenti derivati con linker simmetrico, ovvero due catene polimetileniche di uguale lunghezza, precedentemente sintetizzati dal gruppo di ricerca, allo scopo di confrontare i risultati ottenuti. Il numero dei metileni totali delle due catene ( $n+m$ ) è uguale a 8, 9 o 10.

Dall'analisi dei dati riportati, si può osservare che la nostra ipotesi di lavoro è stata confermata, in quanto la maggior parte dei prodotti presenta una buona attività anti-MDR e mostra una potenza più alta del verapamile (composto di riferimento) sia in termini di potenza che di efficacia (fig.4.1).

Per quanto concerne i prodotti con linker simmetrico, ovvero due catene di uguale lunghezza (di 4 o 5 termini ciascuna), i risultati indicano che i derivati recanti il residuo cinnamoilico (a) in combinazione con il residuo antracenilico (c) (**GDE19** e **ME31**) sono dotati di attività superiore rispetto ai composti che possiedono il residuo cinnamoilico (a) in combinazione con quello trimetossibenzoilico (b) (**GDE18** e **ME30**).

Per semplicità, analizzeremo i risultati dei derivati con linker asimmetrico in base al numero totale di atomi di metileni delle due catene, che può essere pari ad 8 (ottenuto dalla combinazione di catene rispettivamente a 5 e 3 metileni o 6 e 2 metileni), a 9 (ottenuto dalla combinazione di catene rispettivamente a 5 e 4 metileni o 6 e 3 metileni o 7 e 2 metileni) oppure a 10 (ottenuto dalla combinazione di catene rispettivamente a 6 e 4 metileni o 7 e 3 metileni o 8 e 2 metileni).

1) Nei composti con un totale di 8 metileni, i risultati indicano che anche in questo caso, come nei derivati simmetrici, i derivati recanti il residuo cinnamoilico (a) in combinazione con quello antracenilico (c) (**GDE6**, **FRA77**, **2** e **4**) sono più attivi, ad eccezione del composto **4**. Inoltre sono dotati di attività superiore rispetto al corrispondente derivato simmetrico **GDE19**, sia in termini di potenza che di efficacia. In particolare la potenza è nel range nanomolare e l'efficacia è prossima a 1, cioè i derivati sono capaci di revertire completamente l'estrusione della pirarubicina Pgp-dipendente. I composti **GDE5**, **FRA76**, **1** e **3**, che possiedono il residuo cinnamoilico (a) in combinazione con il residuo trimetossibenzoilico (b) sono meno attivi dei precedenti come già detto, ma sempre più attivi del corrispondente derivato simmetrico **GDE18**.

2) Anche nei prodotti con un totale di 9 metileni, ritroviamo lo stesso trend quando le catene polimetileniche utilizzate sono a 5 e 4 termini o 6 e 3 termini. Infatti i derivati recanti il residuo cinnamoilico (a) in combinazione con il residuo antracenilico (c) **6**, **8** e **10** sono dotati di attività superiore rispetto ai composti **5**, **7** e **9**, che possiedono il residuo cinnamoilico (a) in combinazione con il residuo trimetossibenzoilico (b). Quando le catene polimetileniche utilizzate sono a 7 e 2 termini i derivati,

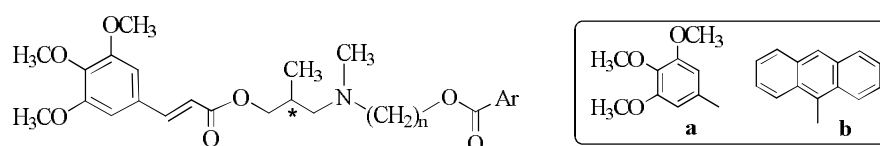


indipendentemente dalla combinazione di residui aromatici utilizzati, sono tutti dotati di ottima potenza (nel range nanomolare) e, tranne il derivato **15**, di efficacia prossima a 1.

3) Nei prodotti con un totale di 10 metileni entrambe le combinazioni di residui aromatici hanno dato risultati eccellenti. Infatti tutti i composti sono dotati di ottima potenza (nel range nanomolare) e di efficacia prossima a 1 (tranne nel caso del derivato **24** che ha attività leggermente inferiore).

Quindi si conferma la bontà della struttura di base costituita da un atomo di azoto basico collegato tramite due linker polimetilenici a due residui esterei aromatici polimetossilati. Si conferma inoltre anche la bontà dei gruppi aromatici scelti, in quanto i nuovi composti hanno dato ottimi risultati in termini di potenza e di efficacia nel revertire la MDR, in linea con i risultati precedentemente ottenuti. Inoltre i derivati asimmetrici sono risultati generalmente più attivi dei corrispondenti derivati simmetrici analoghi, ovvero con lo stesso numero totale di metileni e recanti le stesse combinazioni di residui aromatici. Le molecole con numero totale di metileni pari a 10 sono tutte dotate di ottima attività.

#### 4.1.1.2. Esteri *N*-(metilalcanol)-*N*-(alcanol)amminoarilici



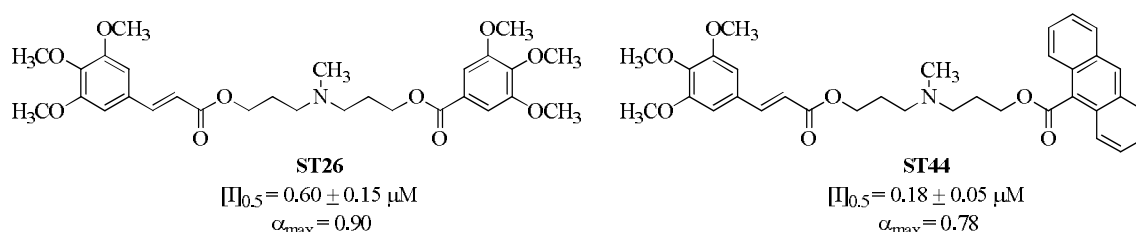
Composto	Configuraz. assoluta	n	Ar	[I] <sub>0.5 μM</sub>	α <sub>max</sub>
<b>29</b>	( <i>S</i> )	3	a	0.09 ± 0.07	0.75 ± 0.04
<b>30</b>	( <i>R</i> )	3	a	0.14 ± 0.03	0.99 ± 0.01
<b>31</b>	( <i>S</i> )	3	b	0.18 ± 0.02	0.79 ± 0.09
<b>32</b>	( <i>R</i> )	3	b	0.08 ± 0.03	0.99 ± 0.10
<b>33</b>	( <i>S</i> )	5	a	0.08 ± 0.02	0.99 ± 0.01
<b>34</b>	( <i>R</i> )	5	a	0.40 ± 0.01	0.99 ± 0.30
<b>35</b>	( <i>S</i> )	5	b	0.03 ± 0.07	0.79 ± 0.01
<b>36</b>	( <i>R</i> )	5	b	0.08 ± 0.03	0.88 ± 0.03

**Tabella 4.2:** attività chemiosensibilizzante dei prodotti della serie esterea recanti una ramificazione su una delle due catene polimetileniche.

Per quanto riguarda i risultati delle molecole chirali (in quanto caratterizzate da una ramificazione a livello di una delle due catene polimetileniche) si osserva che nelle varie coppie di enantiomeri uno dei due è più potente dell'altro, evidenziando quindi una interessante enantioselettività nell'interazione di questi derivati col sito attivo della Pgp. Questo è da sottolineare in quanto non si riscontra di frequente. Generalmente l'enantiomero dotato di migliore attività è quello a configurazione assoluta (*R*), tranne nel caso della coppia di enantiomeri (*S*)-**31** e (*R*)-**32**, dove il più potente è invece quello a configurazione assoluta (*S*).

Confrontiamo ora i risultati dei derivati in esame con i corrispondenti composti caratterizzati dalla stessa combinazione di residui aromatici e dallo stesso numero di metileni nelle catene, ma privi di ramificazione.

Dal confronto dei dati del test farmacologico delle coppie di enantiomeri (*S*)-**29**/*R*)-**30**, e (*S*)-**31**/*R*)-**32**, con i corrispondenti analoghi **ST26** e **ST44** (fig. 4.2), si può affermare che ciascuna coppia enantiomerica ha attività superiore rispetto all'analogo non chirale.

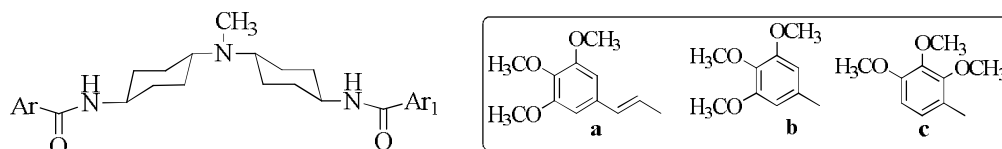


**Figura 4.2:** strutture e risultati del test di uptake della pirarubicina degli analoghi non chirali rispettivamente delle coppie di enantiomeri (*S*)-**29**/*R*)-**30** e (*S*)-**31**/*R*)-**32**.

Invece, sia per la coppia di enantiomeri (*S*)-**33**/*R*)-**34**, analoghi di **FRA76** (tabella 4.1), che (*S*)-**35**/*R*)-**36**, analoghi di **FRA77** (tabella 4.1) gli enantiomeri più potenti, ovvero quelli a configurazione assoluta (*R*), hanno attività leggermente inferiore rispetto a quella dei corrispondenti composti non metilati in catena. Mostrano comunque un'ottima potenza nel range nanomolare. Gli enantiomeri (*S*) hanno invece attività inferiore, anche se sono sempre migliori del composto di riferimento verapamile.

Quindi possiamo concludere che l'introduzione di una ramificazione in catena, che introduce uno stereocentro nella molecola ma anche un vincolo alla libertà conformazionale di una porzione di molecola, porta in alcuni casi ad un ulteriore aumento nella potenza ed efficacia dei composti in quanto sono risultati essere più attivi dei corrispondenti derivati non chirali. Inoltre è molto interessante notare la comparsa di enantioselettività nell'interazione dei composti col sito attivo della proteina, in quanto uno dei due enantiomeri è sempre dotato di maggiore attività.

#### 4.1.2. Derivati ammidici *N,N*-bis(cicloesanol)amminoarilici



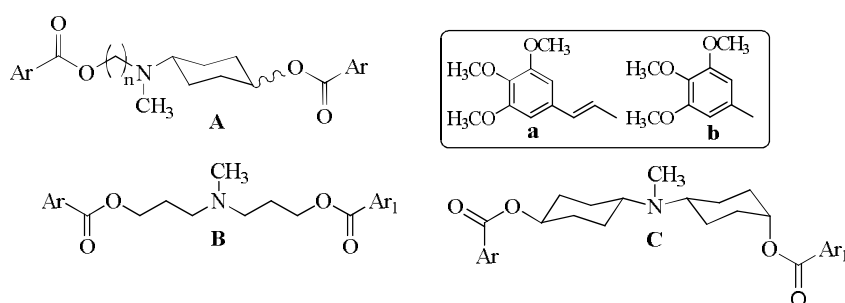
Composto	Ar	Ar <sub>1</sub>	[I] <sub>0.5</sub> μM	α <sub>max</sub>
<b>38A</b> <i>trans/cis</i>	a	b	-	-
<b>39A</b> <i>trans/cis</i>	a	c	-	0.25 ± 0.03
<b>39B</b> <i>trans/trans</i>	a	c	-	0.08 ± 0.02
<b>DM407</b> <i>trans/cis</i>	a	b	0.092 ± 0.015	0.85 ± 0.03

**Tabella 4.3:** strutture e risultati del test di uptake nucleare della pirarubicina per le molecole a struttura *N,N*-bis(cicloesanol)amminoaril ammidica e confronto con **DM407**, derivato estereo già sintetizzato.

Le molecole appartenenti a questa serie non presentano più come linker due catene polimetilene, ma due anelli cicloesanicici che bloccano i gruppi presenti nella molecola in disposizioni spaziali ben precise. Sono così possibili, per ogni combinazione di residui aromatici, quattro isomeri geometrici.

Dai risultati si può vedere come i derivati ammidici siano inattivi sulla Pgp, in quanto non sono capaci di diminuire l'estruzione Pgp-dipendente della pirarubicina. Dal confronto con il corrispondente derivato estereo (**DM407**) di **38A**, possiamo affermare che la sostituzione della funzione esterea con la funzione isosterica ammidica determina una perdita di attività dei modulatori caratterizzati dallo scaffold dicicloesanicico.

#### 4.1.3. Prodotti esterei a struttura *N*-cicloesanol-*N*-alcanolamminica



N	struttura	n	configurazione anello/i	Ar	Ar <sub>1</sub>	[I] <sub>0.5</sub> μM	α <sub>max</sub>
40A	A	3	<i>cis</i>	<b>a</b>	<b>b</b>	0.47 ± 0.05	0.99 ± 0.01
40B	A	3	<i>trans</i>	<b>a</b>	<b>b</b>	0.07 ± 0.03	0.99 ± 0.01
41A	A	3	<i>cis</i>	<b>b</b>	<b>a</b>	0.25 ± 0.09	0.99 ± 0.01
41B	A	3	<i>trans</i>	<b>b</b>	<b>a</b>	0.08 ± 0.05	0.99 ± 0.01
42A	A	4	<i>cis</i>	<b>a</b>	<b>b</b>	0.29 ± 0.12	0.99 ± 0.01
42B	A	4	<i>trans</i>	<b>a</b>	<b>b</b>	0.06 ± 0.01	0.99 ± 0.01
43A	A	4	<i>cis</i>	<b>b</b>	<b>a</b>	0.35 ± 0.13	0.99 ± 0.01
43B	A	4	<i>trans</i>	<b>b</b>	<b>a</b>	0.08 ± 0.01	0.99 ± 0.01
44A	A	5	<i>cis</i>	<b>a</b>	<b>b</b>	0.09 ± 0.03	0.96 ± 0.04
44B	A	5	<i>trans</i>	<b>a</b>	<b>b</b>	0.13 ± 0.05	0.98 ± 0.02
45A	A	5	<i>cis</i>	<b>b</b>	<b>a</b>	0.51 ± 0.03	0.98 ± 0.14
45B	A	5	<i>trans</i>	<b>b</b>	<b>a</b>	0.10 ± 0.01	0.83 ± 0.06
ST26	B			<b>a</b>	<b>b</b>	0.60 ± 0.15	0.90 ± 0.03
DM407	C		<i>trans/cis</i>	<b>a</b>	<b>b</b>	0.092 ± 0.015	0.85 ± 0.02

**Tabella 4.4:** strutture e risultati del test di uptake nucleare della pirarubicina per le molecole a struttura *N*-cicloesil-*N*-alchilamminica e confronto con **ST26** e **DM407** precedentemente sintetizzati.

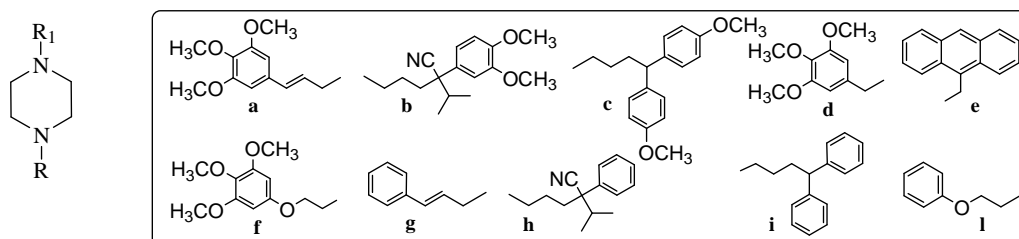
I composti di questa serie nascono da un'ibridazione molecolare tra la serie lineare *N,N*-bis(arilalcanol)amminica (struttura **B**, tabella 4.4) e la serie dicicloesanicica *N,N*-bis(arilcicloesanol)amminica (struttura **C**, tabella 4.4). Lo scopo è quello di mantenere i vantaggi di entrambe le serie, ovvero una sorta di flessibilità che renda le molecole capaci di adattarsi al meglio all'interno del largo sito di riconoscimento della Pgp, ma anche una rigidità che riduce il numero dei legami rotabili che empiricamente possono

essere sfavorevoli per un buon assorbimento e specificità di un farmaco. Inoltre sono possibili solo due isomeri geometrici, invece che i quattro della serie dicitocloesamica, semplificando quindi la sintesi di questi composti.

In tabella 4.4 sono mostrate la struttura e l'attività dei prodotti “ibridi” sintetizzati, contenenti catene polimetileniche a 3, 4 o 5 termini, comparate con quelle di una piccola selezione di prodotti, ovvero **ST26** a struttura “flessibile” e **DM407** a struttura “rigida”.

Dai dati farmacologici di queste prime sei coppie di isomeri lo *scaffold* si rivela essere ottimo, infatti tutti i prodotti hanno efficacia prossima ad 1 e sono tutti dotati di ottima potenza. Si nota una interessante preferenza stereochimica nell'interazione di questi derivati con il sito attivo della proteina, in quanto gli isomeri *trans* sono più potenti degli isomeri *cis*, con potenza nel range nanomolare, eccetto che per una delle coppie (*cis* **44A** e *trans* **44B**) in cui entrambi gli isomeri sono dotati di ottima attività. Inoltre nei prodotti *trans*, che sono come appena detto i più attivi, non si evidenzia una correlazione tra attività e posizione relativa dei gruppi arilici, infatti, invertendo i residui arilici all'interno della molecola l'attività anti-MDR non cambia. Al contrario, per i prodotti *cis*, meno attivi, ad una inversione dei sostituenti corrisponde una variazione di potenza. I derivati ibridi sono nella maggior parte dei casi più attivi dell'analogo lineare **ST26**, mentre sono meno potenti dell'analogo dicitocloesamico **DM407**.

#### 4.1.4. Prodotti a struttura *N,N*-alchilpiperazinica



N	R	R <sub>1</sub>	[i] <sub>0.5</sub> μM	α <sub>max</sub>
<b>46</b>	a	b	0.27 ± 0.03	0.91 ± 0.03
<b>AC3</b>	g	h	0.31 ± 0.08	0.98 ± 0.02
<b>47</b>	a	c	0.09 ± 0.05	0.90 ± 0.04
<b>DP12</b>	g	i	0.28 ± 0.03	0.98 ± 0.02
<b>48</b>	a	d	0.50 ± 0.15	0.99 ± 0.01
<b>49</b>	a	e	0.06 ± 0.01	0.99 ± 0.01
<b>50</b>	c	d	0.03 ± 0.01	0.99 ± 0.01
<b>51</b>	c	e	0.12 ± 0.04	0.98 ± 0.02
<b>52</b>	c	f	0.01 ± 0.01	0.95 ± 0.06
<b>DP9</b>	i	l	0.23 ± 0.05	0.99 ± 0.01
<b>53</b>	b	f	0.49 ± 0.10	0.99 ± 0.01
<b>AC5</b>	h	l	0.25 ± 0.03	0.97 ± 0.03

**Tabella 4.5:** strutture e risultati del test di uptake nucleare della pirarubicina per i derivati **46-53** (in bianco) e confronto con **AC3**, **DP19**, **DP9** e **AC5** precedentemente sintetizzate (in grigio).

Come già enunciato in precedenza (cap.2.4), le molecole a struttura *N,N*-alchilpiperazinica sintetizzate in questo lavoro di dottorato (in bianco, tabella 4.5) sono volte ad integrare le relazioni struttura-attività di una serie di prodotti, che era già stata progettata e sintetizzata nel gruppo di ricerca (in grigio, tabella 4.5 sono riportati gli analoghi non sostituiti ottenuti in precedenza, come riferimento). Questa serie di molecole è costituita da un nucleo piperazinico collegato a due anelli aromatici tramite vari tipi di linker. In particolare i prodotti sintetizzati all'interno di questo lavoro presentano anelli aromatici variamente metossilati per valutare se questa modifica strutturale è in grado di provocare un incremento di attività anche in questo tipo di struttura, come nelle altre serie di prodotti finora sintetizzate all'interno del laboratorio.

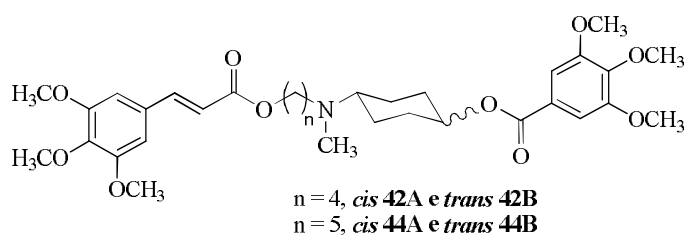
I dati sopra riportati confermano la bontà dello *scaffold* piperazinico, in quanto la maggior parte delle molecole mostra un'attività superiore a quella del verapamil. Inoltre tutte le molecole sintetizzate hanno un'efficacia di fatto del 100%.

Anche in questa serie l'introduzione dei metossili sugli anelli aromatici porta ad un incremento dell'attività come riscontrato nelle altre serie di prodotti sintetizzati e testati. Questo effetto è particolarmente evidente nel caso dei prodotti **47** e **52**, in quanto si ha un considerevole aumento della potenza rispetto agli analoghi con gli anelli non sostituiti, rispettivamente **DP12** e **DP9**.

I prodotti più attivi della serie sono quelli recanti il residuo **c** in combinazione con il residuo **a** (**47**), **d** (**50**) o **f** (**52**) oppure il residuo **a** in combinazione col residuo **e** (**49**).

## 4.2. Valutazione dell'attività citotossica della doxorubicina in presenza e assenza degli agenti revertanti

Dati gli interessanti risultati ottenuti nel test di uptake nucleare della pirarubicina nella serie di esteri a struttura *N*-cicloesil-*N*-alchilamminica, due tra le coppie di stereoisomeri, ovvero *cis* **42A** e *trans* **42B** e *cis* **44A** e *trans* **44B**, sono state selezionate per essere sottoposte ad un ulteriore approfondimento farmacologico, ovvero ad un test di citotossicità. Questo è stato effettuato dalla Dott.ssa M. Coronello del Dipartimento di Scienze della Salute dell'Università di Firenze sulla stessa linea cellulare eritroleucemica K562 utilizzata nel test dell'uptake della pirarubicina. In particolare gli effetti dei prodotti selezionati sono stati misurati sia sulla linea cellulare parentale sensibile (K562) che su quella resistente alla doxorubicina (K562/DOXO).

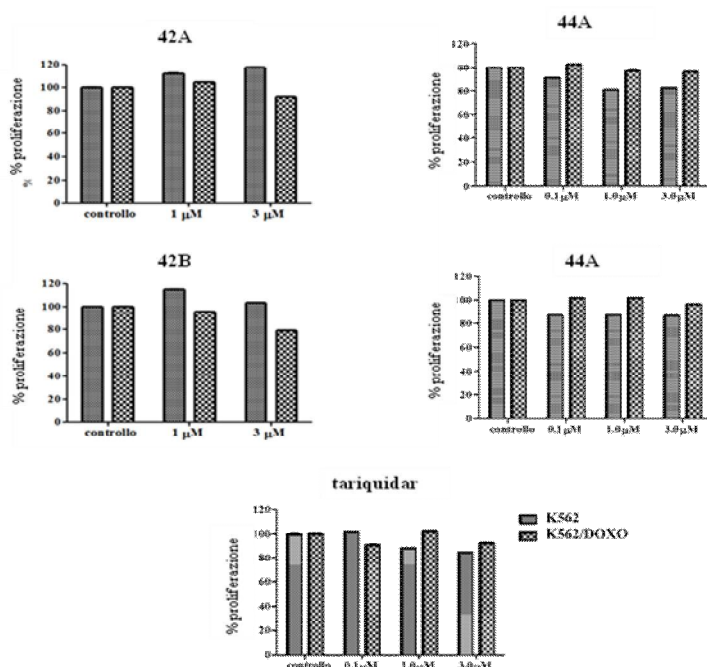


**Figura 4.3:** struttura delle due coppie di stereoisomeri selezionate.

### 4.2.1. Citotossicità intrinseca delle due coppie di isomeri in studio

Prima di valutare la capacità revertante dei modulatori selezionati, *cis* 42A e *trans* 42B e *cis* 44A e *trans* 44B, sono stati eseguiti esperimenti per verificare la tossicità intrinseca dei composti alle concentrazioni standard generalmente utilizzate in questo tipo di test. Per la prima coppia di isomeri sono state usate le concentrazioni 1  $\mu$ M e 3  $\mu$ M, mentre per la seconda coppia di isomeri anche la concentrazione aggiuntiva 0.1  $\mu$ M. Gli esperimenti sono stati condotti sulla linea cellulare parentale (K562) e resistente al chemioterapico antineoplastico doxorubicina (K562/DOXO).

I risultati ottenuti sono riportati in fig.4.4. Per quanto riguarda la coppia di stereoisomeri *cis* 42A e *trans* 42B, i dati dimostrano che sulla linea parentale i composti non hanno tossicità intrinseca a nessuna delle concentrazioni testate. La tossicità è nulla anche nella linea resistente ad eccezione della concentrazione 3  $\mu$ M che causa circa un 20% di tossicità. Per quanto riguarda la seconda coppia di stereoisomeri *cis* 44A e *trans* 44B, si osserva che nella linea parentale l'entità della tossicità per l'isomero *cis* 44A è nell'ordine del 20% alla concentrazione 1  $\mu$ M e 3  $\mu$ M, come anche per l'isomero *trans* 44B, ma a tutte le concentrazioni testate. Nella linea resistente le due molecole non mostrano tossicità intrinseca a nessuna delle concentrazioni testate. Si osserva lo stesso trend anche per il tariquidar (composto di riferimento) in entrambe le linee cellulari. Questi dati permettono di escludere che l'attività sulle cellule resistenti successivamente trattate sia dovuta a una tossicità delle nostre molecole, ma che la loro attività è effettivamente correlata al potenziamento dell'attività del chemioterapico cosomministrato.



**Figura 4.4:** istogrammi relativi alla tossicità intrinseca dei modulatori in studio e del tariquidar (composto di riferimento) sulla linea parentale e sulla linea resistente. Le percentuali sono state definite rispetto al controllo non trattato a cui è stato attribuito il 100% della proliferazione cellulare. I dati sono relativi alla media di tre esperimenti condotti in quadruplicato.

#### 4.2.2. Potenziamiento degli effetti citotossici della doxorubicina in presenza delle due coppie di isomeri in studio

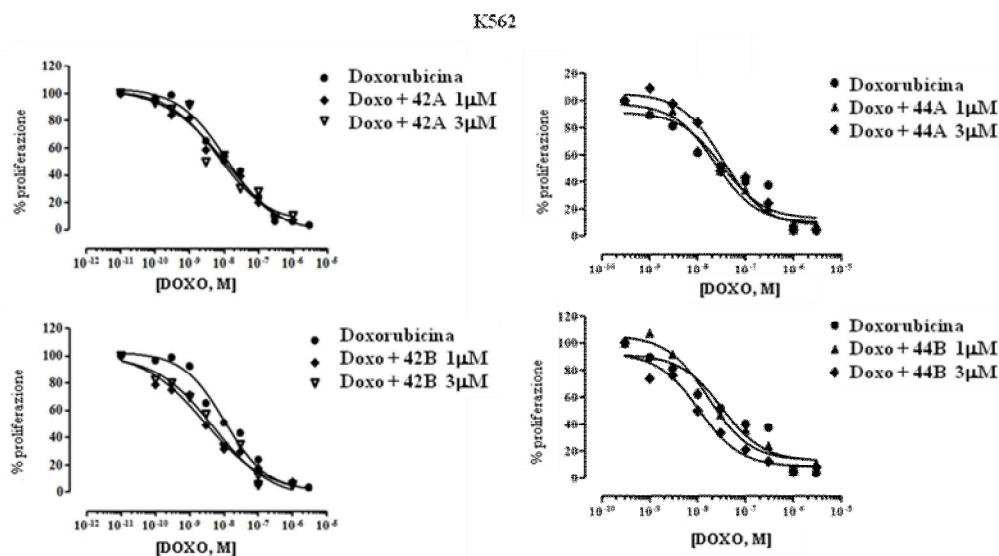
Le due coppie di stereoisomeri *cis* 42A e *trans* 42B e *cis* 44A e *trans* 44B sono state testate alle concentrazioni 0.1, 1 e 3  $\mu\text{M}$  in associazione alla doxorubicina per valutare la loro attività anti-MDR.

In tabella 4.6 sono riportati i valori di  $\text{IC}_{50}$  della doxorubicina testata sulle linee K562 e K562/DOXO, da sola e nelle varie associazioni con i modulatori in esame, e i valori di RF calcolati come descritto nella sezione farmacologica sperimentale (cap.6.2).

Composto		K562	K562/DOXO	
		$\text{IC}_{50}\mu\text{M}$	$\text{IC}_{50}\mu\text{M}$	RF
Doxorubicina		$0.025 \pm 0.007$	$2.2 \pm 0.059$	
Doxorubicina + 42A	0.1 $\mu\text{M}$	$0.045 \pm 0.001$	$0.79 \pm 0.15$	2.6
Doxorubicina + 42A	1.0 $\mu\text{M}$	$0.025 \pm 0.008$	$0.48 \pm 0.12$	4.3
Doxorubicina + 42A	3.0 $\mu\text{M}$	0.021	$0.063 \pm 0.008$	32.7
Doxorubicina + 42B	0.1 $\mu\text{M}$	$0.036 \pm 0.012$	$0.66 \pm 0.084$	3.1
Doxorubicina + 42B	1.0 $\mu\text{M}$	$0.011 \pm 0.003$	$0.17 \pm 0.055$	11.9
Doxorubicina + 42B	3.0 $\mu\text{M}$	$0.013 \pm 0.001$	$0.044 \pm 0.021$	46.8
Doxorubicina + 44A	0.1 $\mu\text{M}$	nd	$1.4 \pm 0.005$	1.6
Doxorubicina + 44A	1.0 $\mu\text{M}$	$0.013 \pm 0.006$	$0.40 \pm 0.11$	5.5
Doxorubicina + 44A	3.0 $\mu\text{M}$	$0.018 \pm 0.009$	$0.15 \pm 0.02$	14.7
Doxorubicina + 44B	0.1 $\mu\text{M}$	nd	$0.97 \pm 0.011$	2.3
Doxorubicina + 44B	1.0 $\mu\text{M}$	$0.051 \pm 0.014$	$0.067 \pm 0.04$	32.8
Doxorubicina + 44B	3.0 $\mu\text{M}$	$0.036 \pm 0.015$	$0.038 \pm 0.004$	57.9
Doxorubicina + tariquidar	0.1 $\mu\text{M}$	$0.061 \pm 0.04$	$0.074 \pm 0.036$	29.7
Doxorubicina + tariquidar	1.0 $\mu\text{M}$	$0.033 \pm 0.007$	$0.073 \pm 0.02$	30.1

**Tabella 4.6:** effetti dei modulatori in studio sulla citotossicità della doxorubicina sulle cellule K562 e K562/DOXO. Valori di  $\text{IC}_{50}$  ottenuti dalla media di 3 esperimenti eseguiti in quadruplicato, con il relativo errore standard, o dalla media di due esperimenti eseguiti in quadruplicato; per la linea K562/DOXO sono riportati i valori di RF (Reversal Fold).

Nella linea sensibile (tabella 4.6, fig.4.5) tutti i composti testati in associazione alla doxorubicina non hanno determinato variazioni significative sui valori di  $\text{IC}_{50}$  dell'antraciclina a nessuna delle tre concentrazioni di modulatore, attestando una buona selettività *in vitro* di questa classe di chemiosensibilizzanti nei confronti della linea resistente. Le curve di citotossicità relative alla linea sensibile sono mostrate nella fig.4.5.



**Figura 4.5:** curve di citotossicità della doxorubicina, ottenute con la linea parentale. Le curve sono rappresentative di una serie di almeno tre esperimenti eseguiti in quadruplicato. In ciascun grafico sono riportate le curve della doxorubicina testata da sola e in associazione ai modulatori in studio.

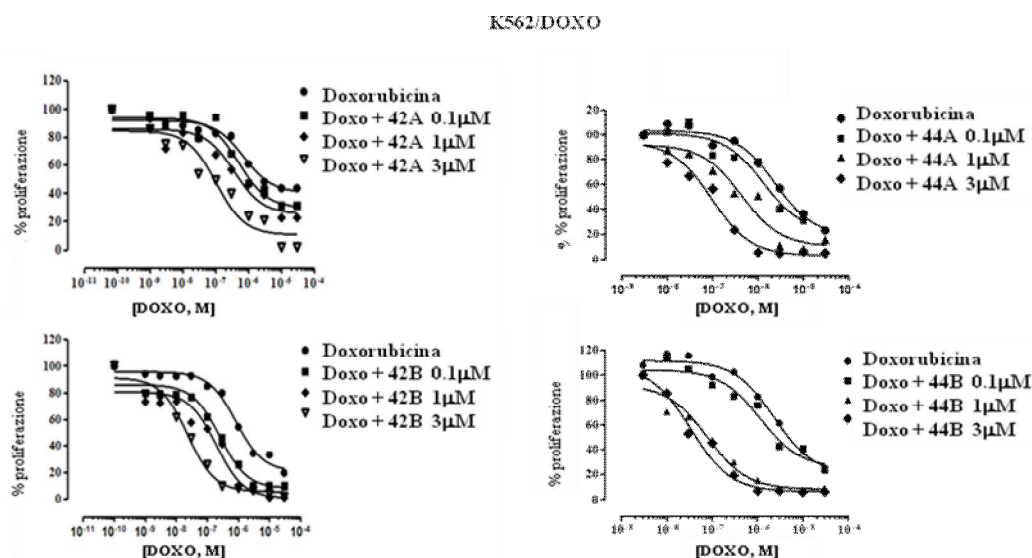
Per quanto riguarda la prima coppia di isomeri *cis* 42A e *trans* 42B, dai risultati si evince che nella linea resistente K562/DOXO hanno mostrato diversa attività chemiosensibilizzante, specialmente a concentrazioni superiori allo 0.1 μM (tabella 4.6, fig.4.6). I due isomeri presentano un'attività dose-dipendente che risulta paragonabile alla concentrazione più bassa (0.1 μM) con valori di RF che si attestano al di sotto di 5. Alla concentrazione intermedia (1 μM) e a quella più alta (3 μM) l'isomero *trans* 42B mostra un'attività nettamente maggiore rispetto all'isomero *cis* 42A. Dal confronto dei valori di RF, l'isomero *trans* 42B alla concentrazione 1 μM risulta tre volte più attivo rispetto all'isomero *cis* 42A e questa differenza si riduce alla concentrazione 3μM alla quale *trans* 42B è circa 1,5 volte più attivo rispetto al *cis* 42A. Le curve di citotossicità relative alla linea resistente sono mostrate nella fig.4.6.

Riguardo alla seconda coppia di isomeri *cis* 44A e *trans* 44B, nella linea resistente (tabella 4.6, fig.4.6), analogamente alla coppia di isomeri precedenti, hanno mostrato diversa attività chemiosensibilizzante con un andamento dose-dipendente. Alla concentrazione 0.1 μM entrambi gli isomeri hanno un'attività molto bassa con valori di RF di circa 2. L'isomero *trans* 44B risulta essere più potente, con valori di RF di 32.8 alla concentrazione 1 μM e 57.9 a 3μM, attestandosi 6 e 4 volte più attivo dell'isomero *cis* 44A alla concentrazione 1 μM e 3 μM.

Confrontando i due isomeri *cis*, ovvero *cis* 42A e *cis* 44A (tabella 4.6), si nota come l'attività anti-MDR sia equivalente alle concentrazioni 0.1 μM e 1 μM, ma alla concentrazione 3 μM *cis* 42A risulta essere 2 volte più attivo di *cis* 44A. Confrontando i 2 isomeri *cis* con i 2 isomeri *trans*, si nota che gli isomeri *cis* sono meno attivi dei *trans*.

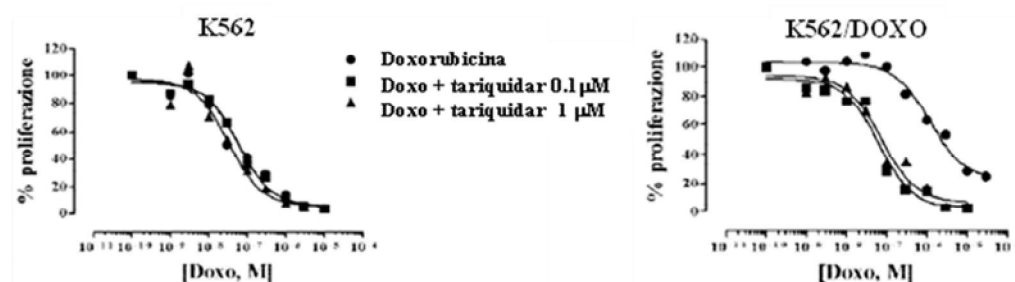


La comparazione dei due isomeri *trans* è sempre a favore di *trans* **44B** con valori di RF di circa 3 volte superiori alla concentrazione 1  $\mu\text{M}$  e quasi sovrapponibile alla concentrazione 3  $\mu\text{M}$ .



**Figura 4.6:** curve di citotossicità della doxorubicina ottenute con la linea resistente. Le curve sono rappresentative di una serie di almeno tre esperimenti eseguiti in quadruplicato. In ciascun grafico sono riportate le curve della doxorubicina testata da sola e in associazione ai modulatori in studio.

Il tariquidar, composto di riferimento (tabella 4.6, fig.4.7), testato alle concentrazioni 0.1 e 1  $\mu\text{M}$ , mostra un comportamento indipendente dalla concentrazione con un valore di RF di 29.7 alla concentrazione 0.1  $\mu\text{M}$  e di 30.1 alla concentrazione 1  $\mu\text{M}$ . Confrontando i valori di RF del tariquidar con quello degli isomeri oggetto di questo paragrafo, si vede come gli isomeri *cis* **42A** e *cis* **44A** e l'isomero *trans* **42B** siano meno attivi ad entrambe le concentrazioni. Invece l'isomero *trans* **42B** risulta essere il più interessante tra quelli testati in quanto alla concentrazione 1  $\mu\text{M}$  è equipotente col tariquidar.



**Figura 4.7:** curve di citotossicità della doxorubicina ottenute con le linee cellulari parentale e resistente. Le curve sono rappresentative di una serie di almeno tre esperimenti eseguiti in quadruplicato. In ciascun grafico sono riportate le curve della doxorubicina in presenza e in assenza del tariquidar (composto di riferimento).

### 4.3. Stabilità in plasma

Visto che le due coppie di stereoisomeri selezionate per il test di citotossicità (*cis* **42A** e *trans* **42B**, *cis* **44A** e *trans* **44B**) hanno dato i migliori risultati farmacologici abbiamo ritenuto interessante valutare la loro stabilità all'attività enzimatica del plasma (Drug Plasma Stability) data la presenza di due gruppi esterei nella loro struttura. La Drug Plasma Stability è un esperimento che valuta in vitro l'azione degli enzimi idrolitici del plasma sul composto oggetto di studio.

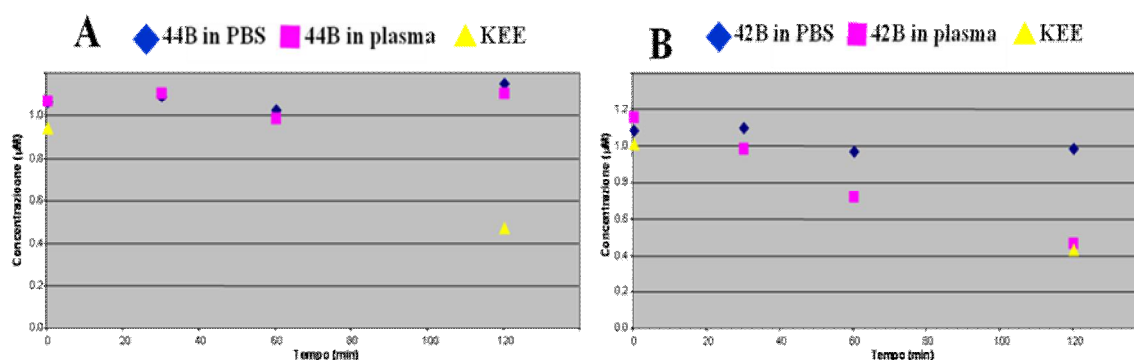
Per eseguire tali esperimenti occorre aggiungere ad un'aliquota di plasma (intorno a 100  $\mu\text{L}$ ) una concentrazione di sostanza attiva non superiore a 5  $\mu\text{M}$  (1.0 e 2.5  $\mu\text{M}$ ), per non saturare l'attività enzimatica presente nell'aliquota di prova. Nel nostro caso le prove di stabilità sono state condotte a concentrazione 1.0  $\mu\text{M}$  in campioni di plasma umano derivante da un pool eterogeneo di volontari sani.

Contemporaneamente alle prove su plasma, abbiamo valutato la stabilità chimica delle varie molecole in esame in condizioni fisiologiche. Per far questo abbiamo ripetuto l'esperimento di stabilità aggiungendo la stessa quantità di analita ad un'aliquota di tampone fosfato (PBS). Confrontando i risultati dei due set di campioni (stabilità in plasma e PBS) possiamo stabilire con certezza se l'eventuale degradazione sia provocata dalle esterasi plasmatiche piuttosto che dalle condizioni di pH della soluzione.

Si deve tenere conto che nel nostro caso, valutando il comportamento di sostanze isomeriche, la specificità degli enzimi plasmatici potrebbe distinguere all'interno di ogni coppia un substrato migliore tra i due isomeri, quindi la loro stabilità in plasma potrebbe essere diversa.

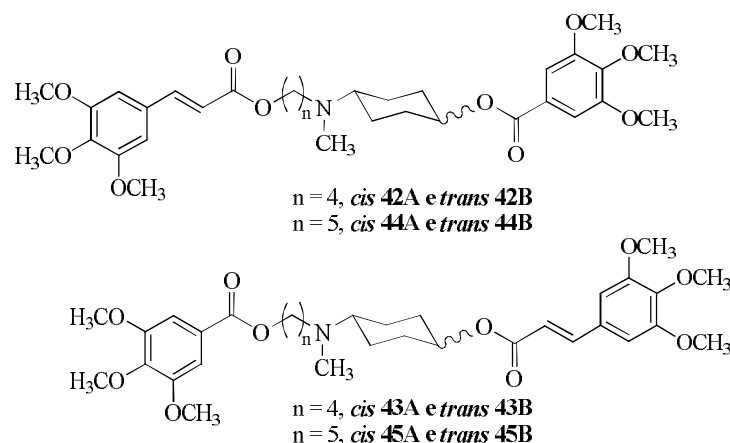
L'esperimento prevede di aggiungere l'analita ad una aliquota di PBS o di plasma e lasciarlo in incubazione a 37°C per tempi crescenti (0, 30, 60 e 120 minuti). Per ogni tempo di incubazione i campioni sono stati preparati in triplo, in modo da rappresentare un profilo di degradazione con quindici campioni (cinque tempi di incubazione per tre repliche). In ogni esperimento è presente anche il profilo di degradazione del ketoprofene etilestere (KEE, fig.4.8), utilizzato come controllo per monitorare l'efficienza del metodo e l'attività del plasma utilizzato.

I dati ottenuti mostrano che tutti gli isomeri testati presentano una buona stabilità in PBS, indice della loro stabilità in condizione fisiologiche. Gli esperimenti di stabilità in plasma hanno dimostrato la stabilità all'attività idrolitica di tre isomeri (*cis* **42A** e *cis* **44A** e *trans* **44B**). In fig.4.7 è riportato, come esempio, il grafico A relativo all'isomero *trans* **44B**. L'isomero *trans* **42B** si è invece dimostrato sensibile all'attività idrolitica delle esterasi plasmatiche (grafico B, fig.4.8), infatti mostra una parziale degradazione già a 30/60 min, che aumenta all'aumentare del tempo di incubazione.



**Figura 4.8:** studio di stabilità in plasma e PBS di *trans* 44B (grafico A) e di *trans* 42B (grafico B).

Le esterasi plasmatiche non hanno quindi attività sulla coppia di isomeri *cis* 44A e *trans* 44B e sono in grado di riconoscere e metabolizzare uno dei due isomeri 42, il *trans* 42B, mentre sono inattive sul corrispondente isomero *cis* 42A. Per tale motivo si è ritenuto interessante studiare anche il comportamento delle due coppie di isomeri posizionali degli isomeri già selezionati, ovvero i composti nei quali i residui aromatici sono invertiti, che sono *cis* 43A e *trans* 43B (isomeri posizionali di *cis* 42A e *trans* 42B) e *cis* 45A e *trans* 45B (isomeri posizionali di *cis* 44A e *trans* 44B) (fig.4.9).



**Figura 4.9:** struttura delle due coppie di isomeri *cis* 42A e *trans* 42B, *cis* 44A e *trans* 44B e dei corrispondenti isomeri posizionali.

Anche in questa coppia di isomeri, analogamente per quanto osservato per le due coppie già esaminate, si ha una buona stabilità in PBS, tre isomeri (*cis* 43A e *cis* 45A e *trans* 45B) non sono attaccati dalle esterasi plasmatiche, mentre l'isomero *trans* 43B si è invece dimostrato sensibile all'attività idrolitica delle esterasi plasmatiche (grafici non mostrati, ma analoghi ai precedenti), infatti mostra una parziale degradazione già a 30/60 min, che aumenta all'aumentare del tempo di incubazione. E' molto interessante notare che l'isomero metabolizzato *trans* 43B è l'analogo posizionale dell'isomero *trans* 42B, anch'esso suscettibile all'idrolisi ad opera di tali enzimi.

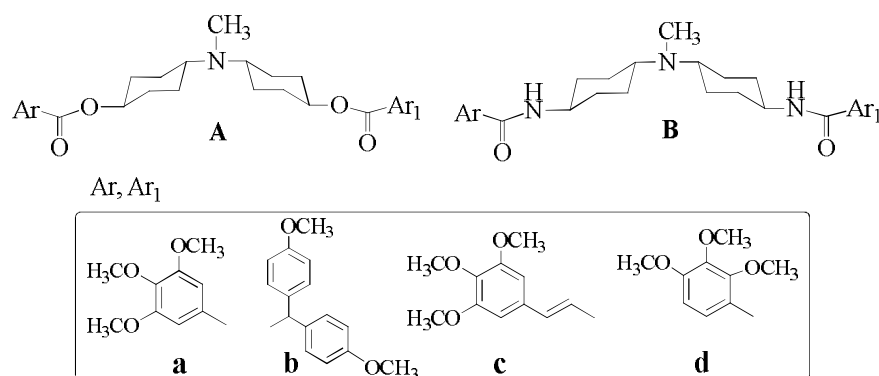
#### **4.4. Meccanismo di interazione dei derivati *N,N*-bis(cicloesanol)amminoarilici nei confronti della Pgp e selettività rispetto a MRP1 e BCRP**

Tutti i test farmacologici finora riportati hanno lo scopo di valutare l'azione dei nostri composti sulla Pgp, ma non vanno ad investigare il tipo di comportamento esplicito dai modulatori sulla pompa stessa (ovvero se si comportano da substrati o inibitori). Inoltre, come già riportato nell'introduzione, la Pgp non è l'unica pompa di efflusso appartenente alla superfamiglia ABC coinvolta nella resistenza crociata ai farmaci antitumorali (MDR). Hanno un ruolo molto importante anche altre due pompe appartenenti alla suddetta famiglia, ovvero MRP1 e BCRP. Quindi abbiamo ritenuto interessante andare a valutare la modalità di interazione sulla Pgp e la selettività, rispetto alle altre pompe coinvolte nella MDR, di un piccolo set di composti selezionati, di tipo estereo (struttura A, tabella 4.7) e ammidico (struttura B, tabella 4.7) appartenenti alla serie di composti *N,N*-bis(cicloesanol)amminoarilici.

Il meccanismo di interazione dei composti selezionati con la Pgp è stato valutato dal Prof. N. A. Colabufo, presso l'Università di Bari, tramite tre test combinati:

- 1) il primo test misura il flusso attraverso la membrana delle cellule Caco-2 monostrato. Si determina così la permeabilità apparente del composto, data dal rapporto tra due flussi (BA/AB), ovvero il flusso del composto dal compartimento basolaterale a quello apicale (BA, indice di una diffusione passiva) e il flusso dal compartimento apicale a quello basolaterale (BA, indice di un trasporto attivo) [168];
- 2) il secondo test è volto a misurare il consumo cellulare di ATP dovuto al trasporto mediato dalla Pgp [169];
- 3) con il terzo test si va a misurare l'inibizione del trasporto del probe fluorescente calceina-AM (substrato della Pgp) in presenza del composto da testare. Il test è effettuato in una linea cellulare renale canina (MDCK-MDR1) [170]. Con quest'ultimo test è possibile determinare sia la potenza del modulatore nei confronti della Pgp, che nei confronti delle altre due pompe, MRP1 e BCRP, in quanto sono disponibili cellule MDCK che esprimono specificamente solo uno tra i tre tipi di pompe di efflusso. Quindi il test può essere utile per determinare la selettività del composto sui trasportatori ABC coinvolti nella MDR nell'uomo.

In tabella 4.7 sono riportate le strutture dei derivati selezionati ed i risultati dei tre tipi di test. In tutti i test il verapamile è usato come composto di riferimento.



composto	struttura	Ar	Ar <sub>1</sub>	BA/AB <sup>[a]</sup>	consumo di ATP	Pgp	MRP1	BCRP
						EC <sub>50</sub> ±SEM <sup>[b]</sup> (μM)		
<b>37A</b> <i>cis/cis</i>	A	a	b	4.6	NO	0.014 ± 0.003	0.47 ± 0.1	> 100
<b>37B</b> <i>trans/cis</i>	A	a	b	3.4	NO	0.011 ± 0.002	> 100	41 ± 0.6
<b>37C</b> <i>cis/trans</i>	A	a	b	2.8	NO	0.99 ± 0.2	2.90 ± 0.6	> 100
<b>37D</b> <i>trans/trans</i>	A	a	b	2.9	NO	0.59 ± 0.1	> 100	>100
<b>39A</b> <i>cis/trans</i>	B	a	c	10.4	NO	> 100 (26%)	> 100	>100
<b>39A</b> <i>cis/trans</i>	B	d	c	7.7	NO	39 ± 7	> 100	>100
<b>39B</b> <i>trans/trans</i>	B	d	c	7.3	NO	17 ± 3	> 100	>100
verapamile				18	SI (20%) <sup>[c]</sup>	0.5 ± 0.1	6.8 ± 3.0	

[a] stima della Permeabilità Apparente: il valore deriva da due esperimenti in duplicato. [b] Il valore deriva dalla media di due esperimenti in triplicato. [c] Alla concentrazione 1 μM.

**Tabella 4.7:** strutture e risultati dei composti selezionati in tre tipi di test: 1) permeabilità apparente (AB/BA), 2) consumo di ATP; 3) potenza su tre tipi di pompe (Pgp, MRP1 e BCRP).

I risultati migliori in termini di potenza sulla Pgp si sono ritrovati nei due isomeri a struttura esterea *cis/cis* **37A** e *trans/cis* **37B** con una EC<sub>50</sub> nel range nanomolare. I composti a struttura ammidica hanno invece mostrato una scarsa attività sulla Pgp, in linea con i dati del test di uptake nucleare della pirarubicina precedentemente riportati (sezione 4.1.2), confermando la presenza dell'importanza della funzione esterea per conferire attività anti-MDR in questo tipo di struttura.

Tutti i composti testati sono inattivi sulla BCRP, ad eccezione dell'isomero *trans/cis* **37B** che mostra una bassissima attività. E' interessante notare che due isomeri a struttura esterea, *cis/cis* **37A** e *cis/trans* **37C**, sono attivi sulla MRP1. In particolare *cis/cis* **37A** ha una EC<sub>50</sub> di 0.47 μM e ciò lo rende un candidato promettente per lo sviluppo di ligandi della pompa di efflusso MRP1.

Nessuno dei composti testati determina deplezione di ATP cellulare, ciò sta a significare che non agiscono come substrati trasportati dalla Pgp, in quanto la Pgp per trasportare il substrato fuori dalla cellula contro gradiente di concentrazione utilizza l'energia fornita dall'idrolisi dell'ATP. Questo dato però è in conflitto con i risultati della permeabilità apparente (AB/BA), in quanto i composti sono considerati substrati se il rapporto è

superiore a 2, mentre inibitori se è inferiore a 2. Per i composti testati il valore del rapporto AB/BA è risultato sempre superiore a 2, quindi dovrebbero comportarsi, in linea teorica, da substrati. Invece non determinano consumo di ATP. Appartengono quindi ad una terza classe di composti ovvero substrati non trasportati, in quanto non sono inibitori ma non determinano un consumo di ATP, come un substrato dovrebbe fare.

#### **4.5. Conclusioni e prospettive future**

Riassumendo, durante questi anni, a seguito di una progressiva ottimizzazione della struttura molecolare, sono stati sintetizzati molti modulatori della Pgp con elevata potenza e efficacia, confermando indubbiamente che la presenza di un azoto basico collegato a due residui aromatici con linker di diversa natura, ma di opportuna lunghezza, sono caratteristiche importanti per avere inibizione della Pgp. Infatti, in tutte le serie esteree e nella serie dialchilpiperazinica sintetizzate, si sono ottenute molecole molto attive, con potenza nel range nanomolare e in grado di revertire quasi completamente la resistenza al chemioterapico nella line cellulare K562/DOXO. Inoltre abbiamo trovato stereoselettività ed enantioselettività nell'interazione delle nostre molecole con la Pgp, caratteristica piuttosto rara in questo tipo di interazione.

Come prospettive future, continueremo a sintetizzare ulteriori molecole per ottimizzare la struttura molecolare e per approfondire le relazioni struttura-attività.

In collaborazione con i farmacologi dell'Università di Firenze, approfondiremo ulteriormente il profilo farmacologico dei prodotti più interessanti tra quelli sintetizzati, valutando l'attività dei modulatori in associazione ad altri chemioterapici antineoplastici ed anche su altre linee cellulari di tumori solidi (es: cellule di tumore di colon HCT-8).

Stiamo inoltre studiando, in collaborazione con l'Università di Torino, una formulazione liposomiale di alcuni composti selezionati, da soli o in combinazione con farmaci antineoplastici, per indirizzare la selettività verso le cellule tumorali senza interferire con le normali attività delle cellule sane.

Infine stiamo valutando, in collaborazione con l'Università di Siena, il metabolismo citocromiale epatico e, data una somiglianza dei derivati sintetizzati con la struttura del verapamile, l'eventuale presenza di un effetto cardiovascolare, misurando l'attività di rilassamento su anelli di aorta precontratti e con esperimenti di patch clamp.

## Cap.5. PARTE CHIMICA SPERIMENTALE

I punti di fusione sono stati determinati con un apparecchio Büchi 512 e non sono corretti. Gli spettri IR sono stati registrati con uno spettrofotometro Perkin-Elmer Spectrum RXI FT-IR, utilizzando una pasta di Nujol per i solidi o un film di prodotto puro per i liquidi. Gli spettri  $^1\text{H-NMR}$  e  $^{13}\text{C-NMR}$ , 1D e 2D, sono stati eseguiti con uno spettrometro Bruker Avance, a 400 MHz per il protone e a 100 MHz per il  $^{13}\text{C}$ , utilizzando il solvente deuterato come standard interno ( $\text{CDCl}_3$ , DMSO). Le separazioni cromatografiche sono state effettuate su colonne di gel di silice (Kieselgel 40, 0.063-0.020 mm e 0.040-0.063 mm per flash chromatography Merck). Le cromatografie su strato sottile (TLC) sono state condotte su lastre di gel di silice Kieselgel Merck F<sub>254</sub>. Gli spettri LC-MS sono stati acquisiti con un analizzatore a triplo quadrupolo (VARIAN 1200 L) munito di sorgente ionica elettrospray (ESI). Gli spettri sono stati registrati in positivo e in negativo nel range da 100 a 800 m/z. La cromatografia liquida è stata effettuata in RP in gradiente binario con i solventi acqua (solvente A) e acetonitrile (solvente B), utilizzando una colonna C8 [2 mm ID x 50 mm (lunghezza), 3  $\mu\text{m}$  (dimensioni particelle)] Il gradiente di solvente temporale ha la seguente composizione: 0 min 90% A, 1 min 90% A, 10 min 10% A, 0 min 10% B, 1 min 10% B, 0 min 90% B.

### ABBREVIAZIONI

DMAP: *N,N*-dimetilammino piridina

EDCI: 1-(3-dimetilamminopropil)-3-etilcarbodiimmide cloridrato

CHX: cicloesano

ACT: dietilacetato

WE1: EtOH assoluto/ $\text{NH}_4\text{OH}$ / $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /etere di petrolio (65:8:340:60)

WE2: EtOH assoluto/ $\text{NH}_4\text{OH}$ / $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ / $\text{Et}_2\text{O}$ /etere di petrolio (180:9.9:360:360:900)

WE4: EtOH assoluto/ $\text{NH}_4\text{OH}$ / $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /etere di petrolio (225:45:600:90)

#### Procedura generale per l'ottenimento dei cloruri acidi

Si solubilizza l'acido carbossilico (1 eq) in  $\text{CHCl}_3$  stabilizzato con amilene e si aggiunge, sotto corrente di azoto, il cloruro di tionile (4 eq). Si scalda a 60°C per circa 5 h. A reazione completata si evapora il solvente a pressione ridotta e si lava il residuo così ottenuto tre volte con cicloesano per allontanare l'eccesso di cloruro di tionile.

#### Procedura generale per la metilazione riduttiva

Si solubilizza l'ammina secondaria (1 eq) nella minima quantità di EtOH assoluto e si aggiungono HCOOH (17 eq) e una soluzione acquosa al 37% di HCHO (5 eq). Si scalda la miscela a 80°C per 5 h, dopodichè si evapora al rotavapor il solvente, si riprende con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e si lava tre volte con acqua basificata con una soluzione di NaOH al 10%. La fase organica viene anidrificata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro, quindi evaporata sotto vuoto. Si ottiene così l'ammina terziaria desiderata che non necessita di ulteriore purificazione.

#### Procedura generale per la reazione di amminazione riduttiva [152]

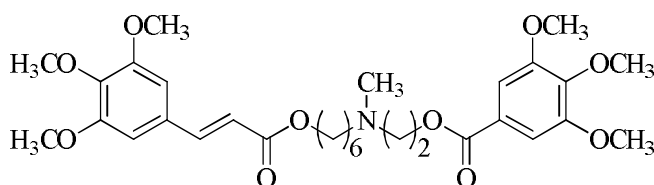
Al 4-ossocicloesilestere opportuno (1 eq) solubilizzato in 7 mL di toluene anidro, si aggiunge il titanio(IV)isopropossido (1 eq) e il 4-ammino-cicloesanololo (1.2 eq). La miscela di reazione è lasciata a temperatura ambiente e sotto corrente di azoto per 3 h e viene monitorata mediante

spettroscopia IR per valutare la scomparsa del picco del CO del cicloesanonone. Si aggiunge EtOH assoluto (10 mL) e sodio cianoboroidruro (2 eq) e si lascia a temperatura ambiente per 15 h. Si lavora la reazione aggiungendo pochi mL di H<sub>2</sub>O; si evapora il solvente a pressione ridotta, si riprende il residuo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e si filtra sotto vuoto il precipitato. Il filtrato viene lavato con una soluzione satura di NaHCO<sub>3</sub>, anidrificato su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ed evaporato al rotavapor. Per purificazione del grezzo di reazione mediante cromatografia flash si isolano i due isomeri desiderati.

## 5.1. PRODOTTI FINALI

### 5.1.1. Prodotti finali della serie alchilaminica

#### (E)-2-(metil(6-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)esil)ammino)etil 3,4,5-trimetossibenzoato (1) (ELF53)



Si solubilizza l'intermedio **59** (37.0 mg, 0.09 mmol) in 3 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro e si raffredda tale soluzione a 0°C. Si aggiungono poi in sequenza l'acido 3,4,5-trimetossibenzoico (29.8 mg, 0.14 mmol), DMAP (9.1

mg, 0.07 mmol) e EDCI (32.3 mg, 0.17 mmol). La reazione viene mantenuta in agitazione, sotto flusso di azoto, a temperatura ambiente per 50 h. Quindi si riprende con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e si lava la fase organica due volte con H<sub>2</sub>O e due volte con una soluzione satura di Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. La fase organica viene anidrificata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, quindi evaporata sotto vuoto. Il grezzo di reazione così ottenuto viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 98:2:0.2). Si ottengono così 38.0 mg di prodotto puro sotto forma di olio incolore, che viene trasformato nel cloridrato per reazione con 1.2 eq di acetil cloruro in MeOH anidro e triturato con etere etilico anidro.

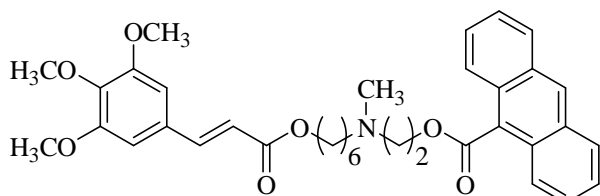
**Base: resa:** 69%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.58 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 7.26 (s, 2H, 2CH arom. benz.); 6.72 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.35 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.35-4.20 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>O); 3.87 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2.72 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=6.0 Hz); 2.45 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 2.33 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.80-1.70 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.80-1.70 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.60-1.48 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.48-1.30 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.85 (C=O); 166.21 (C=O); 153.42 (C); 152.91 (C); 144.97 (CH=CH); 142.16 (C); 140.17(C); 129.83 (C); 125.46 (C); 117.15 (CH=CH); 106.84 (CH arom.); 105.31 (CH arom.); 65.07 (CH<sub>2</sub>); 61.88 (CH<sub>2</sub>); 60.92 (OCH<sub>3</sub>); 60.87 (OCH<sub>3</sub>); 57.80 (NCH<sub>2</sub>); 56.23 (OCH<sub>3</sub>); 56.14 (OCH<sub>3</sub>); 55.60 (NCH<sub>2</sub>); 42.53 (NCH<sub>3</sub>); 28.71 (CH<sub>2</sub>); 27.03 (CH<sub>2</sub>); 26.87 (CH<sub>2</sub>); 25.92 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

#### (E)-2-(metil(6-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)esil)amino)etil antracene-9-carbossilato (2) (ELF52)



Ad una soluzione di **59** (110.0 mg, 0.28 mmol) in 2 mL di CHCl<sub>3</sub> stabilizzato con amilene si aggiunge una soluzione del



cloruro acilico dell'acido 9-antracencarbossilico, ottenuto da 0.42 mmol di acido mediante la procedura generale per la sintesi dei cloruri acidi, in 5 mL del medesimo solvente. La miscela di reazione è mantenuta in corrente di azoto alla temperatura di 60°C per 15 h. Quindi si riprende con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e si lava con una soluzione saturata di NaHCO<sub>3</sub> per tre volte. La fase organica, anidrificata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, viene evaporata sotto vuoto. Il grezzo di reazione così ottenuto viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 98:2:0.2). Il prodotto puro viene quindi trasformato nel cloridrato per reazione con 1.2 eq di acetil cloruro in MeOH anidro e triturato con etere di petrolio.

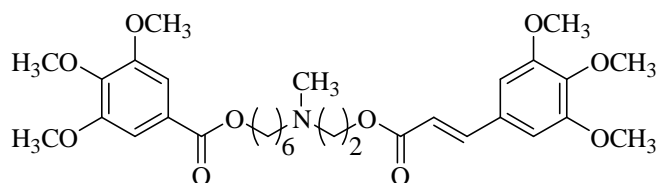
**Base: resa:** 29%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 8.49 (s, 1H, CH arom. antr.); 8.14 (d, 2H, 2CH arom. antr., J=8.8 Hz); 7.98 (d, 2H, 2CH arom. antr., J=8.4 Hz); 7.58 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 7.53-7.43 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 6.73 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.33 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.75 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.6 Hz); 4.14 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 2.90 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 2.51 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 2.39 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.69-1.51 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.43-1.18 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 169.45 (C=O); 167.02 (C=O); 153.42 (C); 144.59 (CH=CH); 130.96 (C); 129.95 (C); 129.37 (CH arom.); 128.47 (CH arom.); 128.18 (C); 126.91 (CH arom.); 125.46 (CH arom.); 125.22 (CH arom.); 117.47 (CH=CH); 105.21 (CH arom.); 64.54 (CH<sub>2</sub>); 62.97 (CH<sub>2</sub>); 60.96 (OCH<sub>3</sub>); 57.78 (CH<sub>2</sub>); 56.13 (OCH<sub>3</sub>); 55.91 (CH<sub>2</sub>); 42.36 (NCH<sub>3</sub>); 28.83 (CH<sub>2</sub>); 27.19 (CH<sub>2</sub>); 25.90 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 84-86°C.

**(E)-6-(metil(2-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)etil)amino)esil  
3,4,5-trimetossibenzoato (3) (ELF 55)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **1** partendo da 37.0 mg di **56** (0.09 mmol) in 3 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, 29.8 mg di acido 3,4,5-trimetossibenzoico (0.14 mmol),

9.1 mg di DMAP (0.07 mmol) e 32.3 mg di EDCI (0.17 mmol). Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna flash (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 98:2:0.2). Il prodotto puro, ottenuto come olio giallo pallido, viene trasformato nel rispettivo cloridrato.

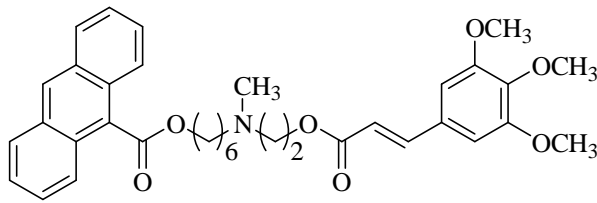
**Base: resa:** 69%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.58 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.27 (s, 2H, 2CH arom. benz.); 6.73 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.36 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.35-4.24 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>O); 3.97-3.80 (m, 18H, 6OCH<sub>3</sub>); 2.70 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=6.0 Hz); 2.43 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 2.31 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.80-1.70 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.58-1.43 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.85 (C=O); 166.21 (C=O); 153.42 (C); 152.91 (C); 144.97 (CH=CH); 142.16 (C); 140.17(C); 129.83 (C); 125.46 (C); 117.15 (CH=CH); 106.84 (CH arom.); 105.31 (CH arom.); 65.07 (CH<sub>2</sub>); 61.88 (CH<sub>2</sub>); 60.92 (OCH<sub>3</sub>); 60.87 (OCH<sub>3</sub>); 57.80 (NCH<sub>2</sub>); 56.23 (OCH<sub>3</sub>); 56.14 (OCH<sub>3</sub>); 55.60 (NCH<sub>2</sub>); 42.53 (NCH<sub>3</sub>); 28.71 (CH<sub>2</sub>); 27.03 (CH<sub>2</sub>); 26.87 (CH<sub>2</sub>); 25.92 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

**(E)-6-(metil(2-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)etil)amino)esil  
antracen-9-carbossilato (4) (ELF 59)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **1** partendo da 116.0 mg di **62** (0.31 mmol) in 5 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, 109.0 mg di acido 3,4,5-trimetossicinnamico (0.46 mmol), 29.9 mg di DMAP (0.24 mmol) e 106.0 mg di

EDCI (0.55 mmol). Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna flash (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 97:3:0.3). Allo scopo di purificare ulteriormente il prodotto **4**, questo viene sottoposto a una seconda cromatografia su colonna sotto pressione usando come eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 99:1:0.1. Il prodotto puro, ottenuto come olio giallo pallido, viene quindi trasformato nel rispettivo cloridrato.

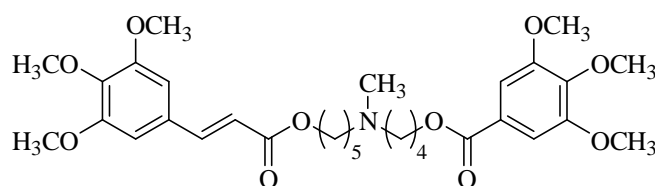
**Base: resa:** 38%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 8.47 (s, 1H, CH arom. antr.); 8.02 (d, 2H, 2CH arom. ant, J=8.8 Hz); 7.97 (d, 2H, 2CH arom. ant, J=8.4 Hz); 7.60 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.55-7.43 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 6.72 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.37 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.59 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 4.29 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.0 Hz); 3.85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.82 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 2.68 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 2.40 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.29 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.91-1.78 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.54-1.41 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.40-1.33 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 169.69 (C=O); 166.93 (C=O); 153.41 (C); 144.86 (CH=CH); 140.11 (C); 130.97 (C); 129.89 (C); 129.22 (CH arom.); 128.62 (CH arom.); 128.36 (C); 126.92 (CH arom.); 125.46 (CH arom.); 124.98 (CH arom.); 117.30 (CH=CH); 105.24 (CH arom.); 65.80 (CH<sub>2</sub>); 62.15 (CH<sub>2</sub>); 60.94 (OCH<sub>3</sub>); 57.86 (CH<sub>2</sub>); 56.11 (OCH<sub>3</sub>); 55.72 (CH<sub>2</sub>); 42.66 (NCH<sub>3</sub>); 28.75 (CH<sub>2</sub>); 27.04 (CH<sub>2</sub>); 26.05 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 59-62°C.

**(E)-4-(metil(5-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)pentil)ammino)butil 3,4,5-trimetossibenzoato (5) (RI4)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **2** partendo da una soluzione di **66** (78.9 mg, 0.19 mmol) in 4 mL di CHCl<sub>3</sub> stabilizzato con amilene alla quale si aggiunge una

soluzione del cloruro acilico dell'acido 3,4,5-trimetossibenzoico, ottenuto da 0.25 mmol di acido mediante la procedura generale per la sintesi dei cloruri acidi, in 5 mL del medesimo solvente. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/ NH<sub>4</sub>OH 95:5:0.5). Si ottengono 96.8 mg di prodotto puro (olio incolore) che viene trasformato nel cloridrato.

**Base: resa:** 83%.

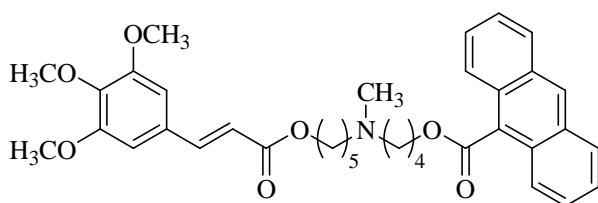
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.57 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.28 (s, 4H, 2CH arom. benz.); 6.74 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.33 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.31 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 4.19 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3.89 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.88 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.86 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2.48-2.30 (m, 4H, 2NCH<sub>2</sub>); 2.21 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.83-1.78 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.78-1.68 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.68-1.55 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.55-1.48 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.48-1.32 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 166.96 (C=O); 166.20 (C=O); 153.41 (C); 152.90 (C); 144.59 (CH=CH); 142.19 (C); 140.10 (C); 129.91 (C); 125.42 (C); 117.42 (CH=CH); 106.82 (CH arom.); 105.23 (CH arom.); 65.03 (CH<sub>2</sub>); 64.50 (CH<sub>2</sub>); 60.91 (OCH<sub>3</sub>); 60.86 (OCH<sub>3</sub>); 57.68 (CH<sub>2</sub>); 57.30 (CH<sub>2</sub>); 56.22 (OCH<sub>3</sub>); 56.13 (OCH<sub>3</sub>); 42.10 (NCH<sub>3</sub>); 28.70 (CH<sub>2</sub>); 26.96 (CH<sub>2</sub>); 26.75 (CH<sub>2</sub>); 23.95 (CH<sub>2</sub>); 23.80 (CH<sub>2</sub>) ppm.

ESI-MS *m/z* (%): 604.2 (100) [M+H]<sup>+</sup>.

Cloridrato: p.f.: sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

**(E)-4-(metil(5-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)pentil)ammino)butil antracene-9-carbossilato (6) (RI3)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **2** partendo da una soluzione di **66** (48.3 mg, 0.12 mmol) in 3 mL di CHCl<sub>3</sub> stabilizzato con amilene alla quale si aggiunge una soluzione del cloruro acilico dell'acido 9-carbossiantraceno, ottenuto

da 0.17 mmol di acido mediante la procedura generale per la sintesi dei cloruri acidi, in 5 mL del medesimo solvente. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/ NH<sub>4</sub>OH 97:3:0.3). Si ottengono 14 mg di prodotto puro (olio giallo) che viene trasformato nel cloridrato.

Base: resa: 20%.

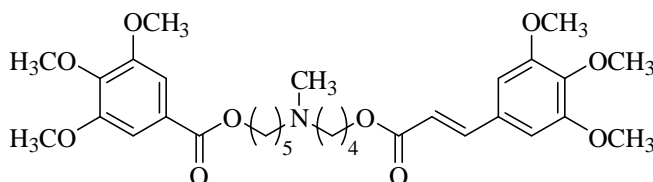
<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.49 (s, 1H, CH arom. antr.); 8.14 (d, 2H, 2CH arom. ant, J=8.8 Hz); 7.98 (d, 2H, 2CH arom. ant, J=8.4 Hz); 7.58 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 7.53-7.43 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 6.73 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.33 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.75 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.6 Hz); 4.14 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 2.90 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 2.51 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 2.39 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.69-1.51 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.43-1.18 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 169.45 (C=O); 167.02 (C=O); 153.42 (C); 144.62 (CH=CH); 130.96 (C); 129.95 (C); 129.26 (CH arom.); 128.63 (CH arom.); 128.38 (C); 126.94 (CH arom.); 125.47 (CH arom.); 124.99 (CH arom.); 117.45 (CH=CH); 105.22 (CH arom.); 64.75 (CH<sub>2</sub>); 64.54 (CH<sub>2</sub>); 60.98 (OCH<sub>3</sub>); 57.56 (CH<sub>2</sub>); 57.21 (CH<sub>2</sub>); 56.15 (OCH<sub>3</sub>); 42.10 (NCH<sub>3</sub>); 28.70 (CH<sub>2</sub>); 26.78 (CH<sub>2</sub>); 23.94 (CH<sub>2</sub>); 23.78 (CH<sub>2</sub>); 21.29 (CH<sub>2</sub>) ppm.

ESI-MS *m/z* (%): 614.2 (100) [M+H]<sup>+</sup>.

Cloridrato: p.f.: sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

**(E)-5-(metil(4-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)butil)ammino)pentil 3,4,5-trimetossibenzoato (7) (RI8)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **1** partendo da 56,2 mg di **70** (0.137 mmol) in 5 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, 44.0 mg di acido 3,4,5-trimetossibenzoico (0,21 mmol), 13.4

mg di DMAP (0,11 mmol) e 47.0 mg di EDCI (0,25 mmol). Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna flash (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 96:4:0.4). Il prodotto puro (73.3 mg), ottenuto come olio incolore, viene quindi trasformato nel rispettivo cloridrato.

**Base: resa:** 89%.

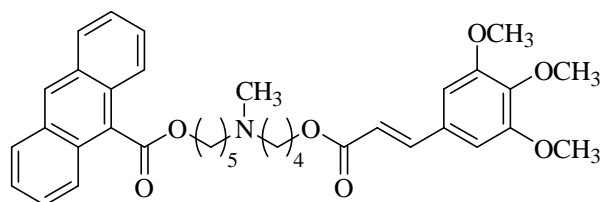
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.55 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 7.25 (s, 4H, 2CH arom. benz.); 6.72 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.30 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.27 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 4.18 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.2 Hz); 3,86 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 3,85 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3,83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2.39-2.30 (m, 4H, 2NCH<sub>2</sub>); 2.19 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.80-1.63 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.63-1.48 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.48-1.32 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.95 (C=O); 166.21 (C=O); 153.40 (C); 152.89 (C); 144.63 (CH=CH); 142.29 (C); 140.07 (C); 129.90 (C); 125.44 (C); 117.38 (CH=CH); 106.80 (CH arom.); 105.21 (CH arom.); 65.09 (CH<sub>2</sub>); 64.49 (CH<sub>2</sub>); 60.92 (OCH<sub>3</sub>); 60.87 (OCH<sub>3</sub>); 57.65 (CH<sub>2</sub>); 57.29 (CH<sub>2</sub>); 56.22 (OCH<sub>3</sub>); 56.13 (OCH<sub>3</sub>); 42.05 (NCH<sub>3</sub>); 28.70 (CH<sub>2</sub>); 26.91 (CH<sub>2</sub>); 26.73 (CH<sub>2</sub>); 23.94 (CH<sub>2</sub>); 23.75 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**ESI-MS *m/z* (%):** 604.2 (100) [M+H]<sup>+</sup>.

**Cloridrato: p.f.:** sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

**(E)-5-(metil(4-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)butil)ammino)pentil antracene-9-carbossilato (8) (RI7)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **2** partendo da una soluzione di **70** (56.2 mg, 0.14 mmol) in 2 mL di CHCl<sub>3</sub> stabilizzato con amilene alla quale si aggiunge una soluzione del cloruro acilico dell'acido 9-carbossiantraceno, ottenuto

da 0.18 mmol di acido mediante la procedura generale per la sintesi dei cloruri acidi, in 6 mL del medesimo solvente. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/ NH<sub>4</sub>OH 97:3:0.3). Si ottengono 42.5 mg di prodotto puro (olio giallo) che viene trasformato nel cloridrato.

**Base: resa:** 51%.

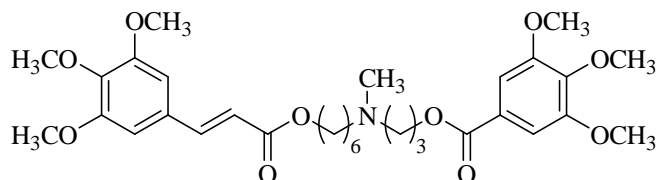
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 8.52 (s, 1H, CH arom. antr.); 8.10-8.00 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 7.58 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 7.55-7.43 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 6.74 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.32 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.62 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 4.20 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3,87 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 2.50-2.35 (m, 4H, 2NCH<sub>2</sub>); 2.24 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.91 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 1.70-1.50 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 169.75 (C=O); 167.01 (C=O); 153.42 (C); 144.64 (CH=CH); 131.00 (C); 129.93 (C); 129.22 (CH arom.); 128.62 (CH arom.); 128.37 (C); 126.92 (CH arom.); 125.46 (CH arom.); 125.00 (CH arom.); 117.44 (CH=CH); 105.20 (CH arom.); 65.86 (CH<sub>2</sub>); 64.46 (CH<sub>2</sub>); 60.97 (OCH<sub>3</sub>); 57.76 (CH<sub>2</sub>); 57.35 (CH<sub>2</sub>); 56.14 (OCH<sub>3</sub>); 42.14 (NCH<sub>3</sub>); 28.76 (CH<sub>2</sub>); 27.19 (CH<sub>2</sub>); 26.79 (CH<sub>2</sub>); 26.08 (CH<sub>2</sub>); 23.83 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**ESI-MS *m/z* (%):** 614.3 (100) [M+H]<sup>+</sup>.

**Cloridrato: p.f.:** 69-71°C.

**(E)-3-(metil(6-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)esil)ammino)propil 3,4,5-trimetossibenzoato (9) (ELF96)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **1** partendo da 130.0 mg di **72** (0.32 mmol) in 2 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, 101.2 mg di acido

3,4,5-trimetossibenzoico (0.48 mmol), 31.1 mg di DMAP (0.25 mmol) e 109.7 mg di EDCI (0.57 mmol). Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna flash (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 97:3:0.3). Si ottengono 118.7 mg prodotto puro, ottenuto come olio incolore, che vengono trasformati nel rispettivo cloridrato.

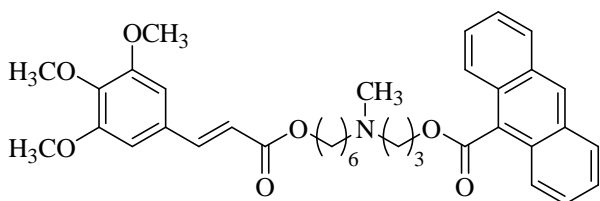
**Base: resa:** 62%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.53 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.24 (s, 4H, 2CH arom. benz.); 6.70 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.29 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.31 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 4.14 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3.85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.84 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.83 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2.45 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.32 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.20 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.90 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 1.65 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 1.45 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 1.49-1.20 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 166.96 (C=O); 166.14 (C=O); 153.38 (C); 152.88 (C); 144.55 (CH=CH); 142.15 (C); 129.91 (C); 125.36 (C); 122.13 (C); 117.42 (CH=CH); 106.76 (CH arom.); 105.18 (CH arom.); 64.50 (CH<sub>2</sub>); 63.52 (CH<sub>2</sub>); 60.85 (OCH<sub>3</sub>); 57.67 (CH<sub>2</sub>); 56.19 (OCH<sub>3</sub>); 56.11 (OCH<sub>3</sub>); 54.16 (CH<sub>2</sub>); 42.14 (NCH<sub>3</sub>); 28.70 (CH<sub>2</sub>); 27.18 (CH<sub>2</sub>); 27.11 (CH<sub>2</sub>); 26.64 (CH<sub>2</sub>); 25.90 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

**(E)-3-(metil(6-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)esil)ammino)propil antracen-9-carbossilato (10) (ELF95)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **2** partendo da una soluzione di **72** (120.0 mg, 0.29 mmol) in 10 mL di CHCl<sub>3</sub> stabilizzato con amilene alla quale si aggiunge una soluzione del cloruro acilico dell'acido 9-antracencarbossilico, ottenuto

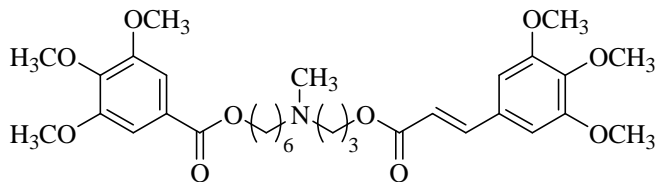
da 0.42 mmol di acido mediante la procedura generale per la sintesi dei cloruri acidi, in 5 mL del medesimo solvente. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 98:2:0.2). Si ottengono 90.6 mg di prodotto puro (olio incolore) che viene trasformato nel cloridrato.

**Base: resa:** 50%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.48 (s, 1H, CH arom. antr.); 8.04 (d, 2H, 2CH arom. ant, J=8.8 Hz); 7.98 (d, 2H, 2CH arom. ant, J=8.4 Hz); 7.53 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.52-7.46 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 6.73 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.34 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.67 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 4.17 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 2.53 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 2.35 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 2.24 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.05 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.67 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 1.48 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.4 Hz); 1.38-1.33 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 169.65 (C=O); 167.02 (C=O); 153.43 (C); 144.57 (CH=CH); 130.99 (C); 129.95 (C); 129.25 (CH arom.); 128.62 (CH arom.); 128.39 (C); 128.10 (C); 126.91 (CH arom.); 125.46 (CH arom.); 125.02 (CH arom.); 117.50 (CH=CH); 105.24 (CH arom.); 64.59 (CH<sub>2</sub>); 64.20 (CH<sub>2</sub>); 60.95 (OCH<sub>3</sub>); 57.80 (CH<sub>2</sub>); 56.14 (OCH<sub>3</sub>); 54.18 (CH<sub>2</sub>); 42.17 (NCH<sub>3</sub>); 28.74 (CH<sub>2</sub>); 27.24 (CH<sub>2</sub>); 27.15 (CH<sub>2</sub>); 26.68 (CH<sub>2</sub>); 25.96 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 54-56°C.

**(E)-6-(metil(3-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilil)ossi)propil)ammino)esil 3,4,5-trimetossibenzoato (11) (ELF94)**

Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **1** partendo da 106.6 mg di **75** (0.26 mmol) in 2 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, 83.0 mg di acido 3,4,5-trimetossibenzoico (0.39 mmol),

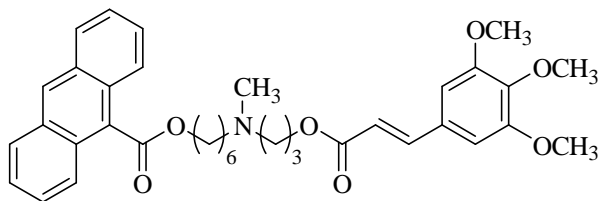
25.5 mg di DMAP (0.21 mmol) e 89.9 mg di EDCI (0.47 mmol). Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna flash (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 97:3:0.3). Si ottengono 112.0 mg prodotto puro, ottenuto come olio incolore, che vengono trasformati nel rispettivo cloridrato.

**Base: resa:** 71%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.54 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.24 (s, 4H, 2CH arom. benz.); 6.70 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.29 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.25 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 4.20 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3.85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.84 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.83 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2.42 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 2.31 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.18 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.83 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 1.73 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.46-1.30 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.88 (C=O); 166.18 (C=O); 153.40 (C); 152.88 (C); 144.64 (CH=CH); 142.13 (C); 140.10 (C); 129.87 (C); 125.47 (C); 117.31 (CH=CH); 106.78 (CH arom.); 105.22 (CH arom.); 65.10 (CH<sub>2</sub>); 62.95 (CH<sub>2</sub>); 60.89 (OCH<sub>3</sub>); 60.84 (OCH<sub>3</sub>); 57.63 (CH<sub>2</sub>); 56.20 (OCH<sub>3</sub>); 56.11 (OCH<sub>3</sub>); 54.22 (CH<sub>2</sub>); 42.08 (NCH<sub>3</sub>); 28.70 (CH<sub>2</sub>); 27.18 (CH<sub>2</sub>); 27.10 (CH<sub>2</sub>); 26.66 (CH<sub>2</sub>); 25.94 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

**(E)-6-(metil(3-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilil)ossi)propil)ammino)esil antracen-9-carbossilato (12) (ELF93)**

Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **2** partendo da una soluzione di **75** (100.0 mg, 0.24 mmol) in 5 mL di CHCl<sub>3</sub> stabilizzato con amilene alla quale si aggiunge una soluzione del cloruro acilico dell'acido 9-antracencarbossilico, ottenuto

da 0.29 mmol di acido mediante la procedura generale per la sintesi dei cloruri acidi, in 5 mL del medesimo solvente. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 96:4:0.4). Si ottengono 76.5 mg di prodotto puro (olio incolore) che viene trasformato nel cloridrato.

**Base: resa:** 51%.

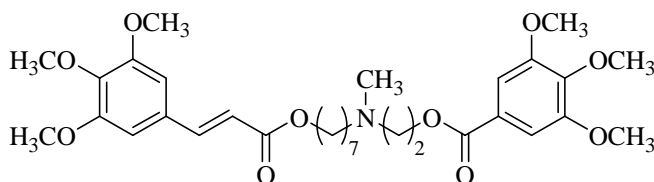
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 8.48 (s, 1H, CH arom. antr.); 8.10-7.95 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 7.59 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.52-7.40 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 6.73 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.33 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.61 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 4.24 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 2.45 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.35 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.22 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.87 (sex, 4H, 2CH<sub>2</sub>, J=6.4 Hz); 1.60-1.48 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>, J=6.4 Hz); 1.47-1.33 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 169.73 (C=O); 166.96 (C=O); 153.43 (C); 144.70 (CH=CH); 140.12 (C); 131.00 (C); 129.91 (C); 129.22 (CH arom.); 128.62 (CH arom.); 128.38 (C); 128.17 (C); 126.92 (CH arom.); 125.46 (CH arom.); 125.00 (CH arom.); 117.36 (CH=CH); 105.24 (CH arom.);

65.84 (CH<sub>2</sub>); 63.02 (CH<sub>2</sub>); 60.96 (OCH<sub>3</sub>); 57.63 (CH<sub>2</sub>); 56.15 (OCH<sub>3</sub>); 54.29 (CH<sub>2</sub>); 42.11 (NCH<sub>3</sub>); 28.76 (CH<sub>2</sub>); 27.16 (CH<sub>2</sub>); 27.11 (CH<sub>2</sub>); 26.68 (CH<sub>2</sub>); 26.06 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 70-73°C.

**(E)-2-(metil(7-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloilossi)eptil)ammino)etil 3,4,5-trimetossibenzoato (13) (ELF82)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **2** partendo da una soluzione di **79** (80.0 mg, 0.29 mmol) in 10 mL di CHCl<sub>3</sub> stabilizzato con amilene alla quale si aggiunge una soluzione del cloruro acilico dell'acido 3,4,5-trimetossibenzoico, ottenuto da 0.23 mmol di acido mediante la procedura generale per la sintesi dei cloruri acidi, in 3 mL del medesimo solvente. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 97:3:0.3). Si ottengono 82.0 mg di prodotto puro (olio incolore) che viene trasformato nel cloridrato.

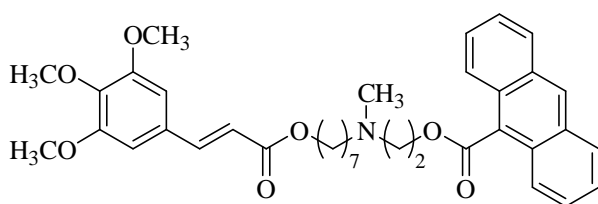
**Base: resa:** 69%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.55 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 7.26 (s, 4H, 2CH arom. benz.); 6.72 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.31 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.38 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.0 Hz); 4.15 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.86 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.84 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 2.75 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=6.0 Hz); 2.42 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.29 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.65 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 1.45 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.40-1.20 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.98 (C=O); 166.13 (C=O); 153.42 (C); 152.90 (C); 144.54 (CH=CH); 142.27 (C); 140.11 (C); 129.93 (C); 125.24 (C); 117.46 (CH=CH); 106.92 (CH arom.); 105.25 (CH arom.); 64.57 (CH<sub>2</sub>); 63.10 (CH<sub>2</sub>); 60.91 (OCH<sub>3</sub>); 60.86 (OCH<sub>3</sub>); 58.02 (CH<sub>2</sub>); 56.20 (OCH<sub>3</sub>); 56.14 (OCH<sub>3</sub>); 55.66 (CH<sub>2</sub>); 42.78 (NCH<sub>3</sub>); 29.18 (CH<sub>2</sub>); 28.69 (CH<sub>2</sub>); 27.35 (CH<sub>2</sub>); 27.26 (CH<sub>2</sub>); 25.91 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

**(E)-2-(metil(7-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloilossi)eptil)ammino)etil antracen-9-carbossilato (14) (ELF83)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **2** partendo da una soluzione di **79** (150.0 mg, 0.37 mmol) in 6 mL di CHCl<sub>3</sub> stabilizzato con amilene alla quale si aggiunge una soluzione del cloruro acilico dell'acido 9-antracencarbossilico, ottenuto da 0.44 mmol di acido mediante la procedura generale per la sintesi dei cloruri acidi, in 15 mL del medesimo solvente. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 98:2:0.2). Si ottengono 125.4 mg di prodotto puro, come olio giallo pallido, che viene trasformato nel cloridrato.

**Base: resa:** 56%.

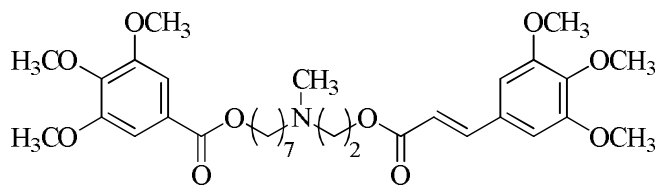
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 8.47 (s, 1H, CH arom. antr.); 8.14 (d, 2H, 2CH arom. ant, J=8.0 Hz); 7.97 (d, 2H, 2CH arom. ant, J=8.4 Hz); 7.58 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.53-7.43 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 6.73 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.33 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.72 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 4.15 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.84 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 2.85

(t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=6.0 Hz); 2.46 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.36 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.64-1.60 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.52-1.48 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.48-1.33 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 169.51 (C=O); 167.04 (C=O); 153.42 (C); 144.57 (CH=CH); 140.04 (C); 130.97 (C); 129.96 (C); 129.32 (CH arom.); 128.56 (CH arom.); 128.48 (C); 127.98 (C); 126.87 (CH arom.); 125.44 (CH arom.); 125.29 (CH arom.); 117.51 (CH=CH); 105.19 (CH arom.); 65.66 (CH<sub>2</sub>); 63.17 (CH<sub>2</sub>); 60.96 (OCH<sub>3</sub>); 58.00 (CH<sub>2</sub>); 56.13 (OCH<sub>3</sub>); 56.09 (CH<sub>2</sub>); 42.47 (NCH<sub>3</sub>); 29.23 (CH<sub>2</sub>); 28.69 (CH<sub>2</sub>); 27.32 (CH<sub>2</sub>); 27.29 (CH<sub>2</sub>); 25.93 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** solido bassofondente.

**(E)-7-(metil(2-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)etil)ammino)eptil 3,4,5-trimetossibenzoato (15) (ELF73)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **1** partendo da 80.2 mg di **80** (0.21 mmol) in 2 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, 74.9 mg di acido *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico (0.31 mmol), 20.5 mg di DMAP (0.17

mmol) e 72.3 mg di EDCI (0.38 mmol). Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna flash (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 98:2:0.2). Si ottengono 89.0 mg di prodotto puro, ottenuto come olio incolore, che vengono trasformati nel rispettivo cloridrato.

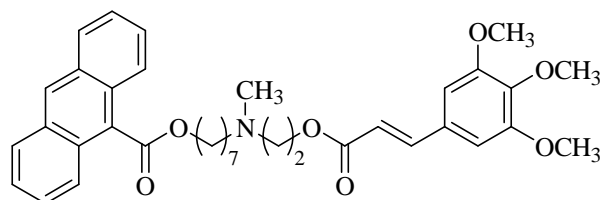
**Base: resa:** 71%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.54 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.23 (s, 4H, 2CH arom. benz.); 6.69 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.32 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.24 (q, 4H, 2CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3.84 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.82 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2.64 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=6.0 Hz); 2.36 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.26 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.70 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.44-1.25 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 166.84 (C=O); 166.16 (C=O); 153.39 (C); 152.87 (C); 144.77 (CH=CH); 142.13 (C); 140.12 (C); 129.85 (C); 125.47 (C); 117.27 (CH=CH); 106.78 (CH arom.); 105.24 (CH arom.); 65.13 (CH<sub>2</sub>); 62.15 (CH<sub>2</sub>); 60.87 (OCH<sub>3</sub>); 60.82 (OCH<sub>3</sub>); 57.92 (CH<sub>2</sub>); 56.19 (OCH<sub>3</sub>); 56.10 (OCH<sub>3</sub>); 55.69 (CH<sub>2</sub>); 42.66 (NCH<sub>3</sub>); 29.39 (CH<sub>2</sub>); 29.16 (CH<sub>2</sub>); 27.28 (CH<sub>2</sub>); 27.08 (CH<sub>2</sub>); 25.93 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

**(E)-7-(metil(2-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)etil)ammino)eptil antracen-9-carbossilato (16) (ELF72)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **1** partendo da 64.6 mg di **81** (0.16 mmol) in 2 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, 58.7 mg di acido *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico (0.25 mmol), 16.1 mg di DMAP (0.13 mmol) e 56.7 mg di EDCI

(0.30 mmol). Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna flash (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 98:2:0.2). Si ottengono 28.0 mg prodotto puro, ottenuto come olio giallo pallido, che vengono trasformati nel rispettivo cloridrato.

**Base: resa:** 29%.

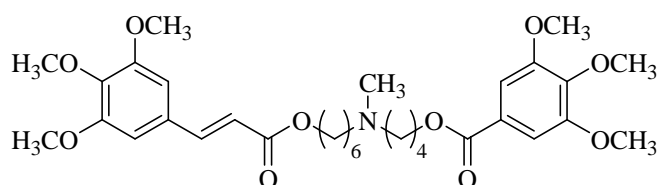


**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 8.49 (s, 1H, CH arom. antr.); 8.02 (d, 2H, 2CH arom. ant, J=8.8 Hz); 7.99 (d, 2H, 2CH arom. ant, J=8.4 Hz); 7.59 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 7.53-7.43 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 6.73 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.37 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.59 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 4.30 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.0 Hz); 3.86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 2.69 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 2.46 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.30 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.87 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 1.52-1.20 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 169.72 (C=O); 166.95 (C=O); 153.43 (C); 144.83 (CH=CH); 140.16 (C); 131.00 (C); 129.90 (C); 129.20 (CH arom.); 128.61 (CH arom.); 128.38 (C); 128.18 (C); 126.90 (CH arom.); 125.45 (CH arom.); 125.00 (CH arom.); 117.33 (CH=CH); 105.28 (CH arom.); 65.86 (CH<sub>2</sub>); 62.20 (CH<sub>2</sub>); 60.95 (OCH<sub>3</sub>); 57.98 (CH<sub>2</sub>); 56.14 (OCH<sub>3</sub>); 55.71 (CH<sub>2</sub>); 42.68 (NCH<sub>3</sub>); 29.17 (CH<sub>2</sub>); 28.73 (CH<sub>2</sub>); 27.32 (CH<sub>2</sub>); 27.07 (CH<sub>2</sub>); 26.06 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 70-72°C.

**(E)-4-(metil(6-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)esil)ammino)butil 3,4,5-trimetossibenzoato (17) (CF24)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **2** partendo da una soluzione di **89** (85.0 mg, 0.20 mmol) in 3 mL di CHCl<sub>3</sub> stabilizzato con amilene alla quale si aggiunge una soluzione del cloruro acilico dell'acido 3,4,5-trimetossibenzoico, ottenuto da 0.26 mmol di acido mediante la procedura generale per la sintesi dei cloruri acidi, in 3 mL del medesimo solvente. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 97:3:0.3). Si ottengono 80.4 mg di prodotto puro, come olio incolore, che viene trasformato nel cloridrato.

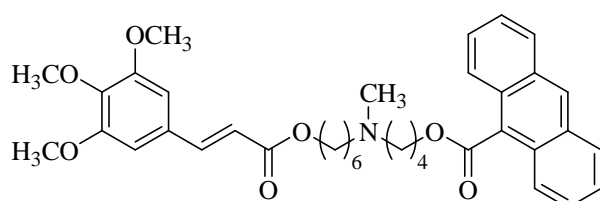
**Base: resa:** 65%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.56 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.26 (s, 2H, 2CH arom. benz.); 6.72 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.32 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.30 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 4.16 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3.87 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2.36 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 2.31 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 2.19 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.77 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 1.68 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.58 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.49-1.25 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.98 (C=O); 166.21 (C=O); 153.42 (C); 152.90 (C); 144.46 (CH=CH); 142.20 (C); 140.11 (C); 129.93 (C); 125.43 (C); 117.45 (CH=CH); 106.83 (CH arom.); 105.24 (CH arom.); 65.05 (CH<sub>2</sub>); 64.55 (CH<sub>2</sub>); 60.92 (OCH<sub>3</sub>); 60.87 (OCH<sub>3</sub>); 57.80 (CH<sub>2</sub>); 57.31 (CH<sub>2</sub>); 56.23 (OCH<sub>3</sub>); 56.14 (OCH<sub>3</sub>); 42.14 (NCH<sub>3</sub>); 28.72 (CH<sub>2</sub>); 27.21 (CH<sub>2</sub>); 26.77 (CH<sub>2</sub>); 25.95 (CH<sub>2</sub>); 23.83 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 62-65°C.

**(E)-4-(metil(6-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)esil)ammino)butil antracen-9-carbossilato (18) (CF23)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **2** partendo da una soluzione di **89** (85.0 mg, 0.21 mmol) in 3 mL di CHCl<sub>3</sub> stabilizzato con amilene alla quale si aggiunge una soluzione del cloruro acilico

dell'acido 9-carbossiantracenoico, ottenuto da 0.23 mmol di acido mediante la procedura generale per la sintesi dei cloruri acidi, in 5 mL del medesimo solvente. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 98:2:0.2). Si ottengono 39.8 mg di prodotto puro, come olio giallo, che viene trasformato nel cloridrato.

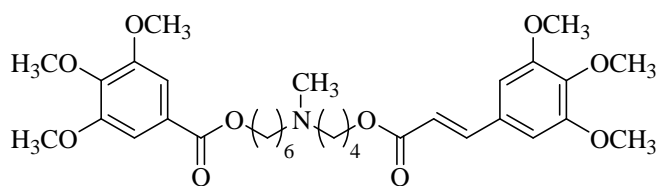
**Base: resa:** 30%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 8.50 (s, 1H, CH arom. antr.); 8.04-7.98 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 7.58 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.55-7.45 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 6.73 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.33 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.63 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 4.18 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.86 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 2.41 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.32 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 2.20 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.41 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 1.67 (sex, 4H, 2CH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 1.48-1.32 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 169.71 (C=O); 167.03 (C=O); 153.43 (C); 144.58 (CH=CH); 140.11 (C); 131.00 (C); 129.96 (C); 129.24 (CH arom.); 128.62 (CH arom.); 128.38 (C); 126.92 (CH arom.); 125.46 (CH arom.); 125.00 (CH arom.); 117.49 (CH=CH); 105.25 (CH arom.); 65.78 (CH<sub>2</sub>); 64.60 (CH<sub>2</sub>); 60.96 (OCH<sub>3</sub>); 57.70 (CH<sub>2</sub>); 57.18 (CH<sub>2</sub>); 56.15 (OCH<sub>3</sub>); 42.13 (NCH<sub>3</sub>); 28.74 (CH<sub>2</sub>); 27.19 (CH<sub>2</sub>); 26.81 (CH<sub>2</sub>); 25.96 (CH<sub>2</sub>); 23.82 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 67-69°C.

**(E)-6-(metil(4-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acrililossi)butil)ammino)esil 3,4,5-trimetossibenzoato (19) (CF28)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **1** partendo da 76.2 mg di **89** (0.18 mmol) in 3 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, 57.3 mg di acido 3,4,5-trimetossibenzoico (0.27 mmol), 17.6

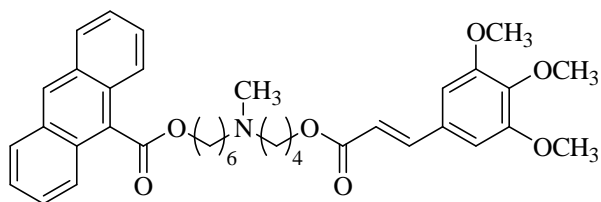
mg di DMAP (0.14 mmol) e 62.0 mg di EDCI (0.32 mmol). Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna flash (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 98:2:0.2). Si ottengono 55.2 mg prodotto puro, ottenuto come olio giallo pallido, che vengono trasformati nel rispettivo cloridrato.

**Base: resa:** 50%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.59 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 7.29 (s, 2H, 2CH arom. benz.); 6.75 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.33 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.30 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 4.21 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.92 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 3.87 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2.35 (p, 4H, 2NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.22 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.79-1.67 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.62-1.58 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.52-1.42 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.41-1.39 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 167.00 (C=O); 166.23 (C=O); 153.43 (C); 152.91 (C); 144.65 (CH=CH); 129.92 (C); 125.50 (C); 117.41 (CH=CH); 106.79 (CH arom.); 105.21 (CH arom.); 65.17 (CH<sub>2</sub>); 64.42 (CH<sub>2</sub>); 60.97 (OCH<sub>3</sub>); 60.91 (OCH<sub>3</sub>); 57.77 (CH<sub>2</sub>); 57.31 (CH<sub>2</sub>); 56.24 (OCH<sub>3</sub>); 56.16 (OCH<sub>3</sub>); 42.09 (NCH<sub>3</sub>); 28.74 (CH<sub>2</sub>); 27.23 (CH<sub>2</sub>); 27.17 (CH<sub>2</sub>); 26.77 (CH<sub>2</sub>); 26.00 (CH<sub>2</sub>); 23.77 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: P.f.:** sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

**(E)-6-(metil(4-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilil)ossi)buil)ammino)esil antracen-9-carbossilato (20) (CF27)**

Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **2** partendo da una soluzione di **89** (76.8 mg, 0.18 mmol) in 5 mL di  $\text{CHCl}_3$  stabilizzato con amilene alla quale si aggiunge una soluzione del cloruro acilico dell'acido 9-antracencarbossilico, ottenuto

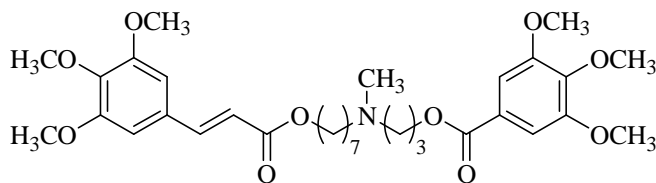
da 0.23 mmol di acido mediante la procedura generale per la sintesi dei cloruri acidi, in 5 mL del medesimo solvente. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$  98:2:0.2). Si ottengono 71.7 mg di prodotto puro, come olio giallo, che viene trasformato nel cloridrato.

**Base: resa:** 63%.

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 8.50 (s, 1H, CH arom. antr.); 8.02 (t, 4H, 4CH arom. ant,  $J=9.2$  Hz); 7.58 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 7.55-7.44 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 6.73 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.33 (d, 1H, CH=CH,  $J=15.6$  Hz); 4.61 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.8$  Hz); 4.21 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.4$  Hz); 3.87 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.86 (s, 6H,  $2\text{OCH}_3$ ); 2.39-2.30 (m, 4H,  $2\text{NCH}_2$ ); 2.20 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ); 1.87 (p, 2H,  $\text{CH}_2$ ,  $J=7.2$  Hz); 1.71 (p, 2H,  $\text{CH}_2$ ,  $J=7.2$  Hz); 1.62-1.55 (m, 6H,  $3\text{CH}_2$ ); 1.55-1.38 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 169.75 (C=O); 167.01 (C=O); 153.42 (C); 144.64 (CH=CH); 131.00 (C); 129.93 (C); 129.22 (CH arom.); 128.62 (CH arom.); 128.37 (C); 126.92 (CH arom.); 125.46 (CH arom.); 125.00 (CH arom.); 117.44 (CH=CH); 105.20 (CH arom.); 65.86 ( $\text{CH}_2$ ); 64.46 ( $\text{CH}_2$ ); 60.97 ( $\text{OCH}_3$ ); 57.76 ( $\text{CH}_2$ ); 57.35 ( $\text{CH}_2$ ); 56.14 ( $\text{OCH}_3$ ); 42.14 ( $\text{NCH}_3$ ); 28.76 ( $\text{CH}_2$ ); 27.19 ( $\text{CH}_2$ ); 26.79 ( $\text{CH}_2$ ); 26.08 ( $\text{CH}_2$ ); 23.83 ( $\text{CH}_2$ ) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 79-81°C.

**(E)-3-(metil(7-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilil)ossi)eptil)ammino)propil 3,4,5-trimetossibenzoato (21) (ELF86)**

Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **2** partendo da una soluzione di **85** (89.0 mg, 0.21 mmol) in 3 mL di  $\text{CHCl}_3$  stabilizzato con amilene alla quale si aggiunge una

soluzione del cloruro acilico dell'acido *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico, ottenuto da 0.25 mmol di acido mediante la procedura generale per la sintesi dei cloruri acidi, in 2 mL del medesimo solvente. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$  98:2:0.2). Si ottengono 94.0 mg di prodotto puro (olio incolore) che viene trasformato nel cloridrato.

**Base: resa:** 72%.

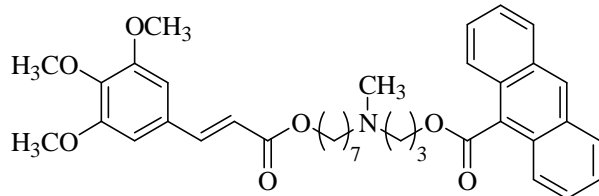
**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 7.55 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 7.26 (s, 2H, 2CH arom. benz.); 6.72 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.31 (d, 1H, CH=CH,  $J=15.6$  Hz); 4.43 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.4$  Hz); 4.15 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.8$  Hz); 3.87 (s, 9H,  $3\text{OCH}_3$ ); 3.85 (s, 6H,  $2\text{OCH}_3$ ); 3.84 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 2.46 (t, 2H,  $\text{NCH}_2$ ,  $J=7.2$  Hz); 2.31 (t, 2H,  $\text{NCH}_2$ ,  $J=7.2$  Hz); 2.21 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ); 1.91 (p, 2H,  $\text{CH}_2$ ,  $J=7.2$  Hz); 1.66 (p, 2H,  $\text{CH}_2$ ,  $J=7.2$  Hz); 1.53-1.20 (m, 8H,  $4\text{CH}_2$ ) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 167.00 (C=O); 166.16 (C=O); 153.41 (C); 152.90 (C); 144.54 (CH=CH); 142.17 (C); 140.06 (C); 129.94 (C); 125.41 (C); 117.47 (CH=CH); 106.79 (CH arom.); 105.21

(CH arom.); 64.60 (CH<sub>2</sub>); 63.58 (CH<sub>2</sub>); 60.92 (OCH<sub>3</sub>); 60.87 (OCH<sub>3</sub>); 57.97 (CH<sub>2</sub>); 56.21 (OCH<sub>3</sub>); 56.13 (OCH<sub>3</sub>); 54.20 (CH<sub>2</sub>); 42.21 (NCH<sub>3</sub>); 29.69 (CH<sub>2</sub>); 29.22 (CH<sub>2</sub>); 27.37 (CH<sub>2</sub>); 27.30 (CH<sub>2</sub>); 26.69 (CH<sub>2</sub>); 25.93 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: P.f.:** sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

**(E)-3-(metil(7-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilil)ossi)eptil)ammino)propil antracen-9-carbossilato (22) (ELF85)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **2** partendo da una soluzione di **85** (89.0 mg, 0.21 mmol) in 2 mL di CHCl<sub>3</sub> stabilizzato con amilene alla quale si aggiunge una soluzione del cloruro acilico dell'acido 9-antracencarbossilico, ottenuto

da 0.25 mmol di acido mediante la procedura generale per la sintesi dei cloruri acidi, in 3 mL del medesimo solvente. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 98:2:0.2). Si ottengono 90.0 mg di prodotto puro (olio giallo pallido) che viene trasformato nel cloridrato.

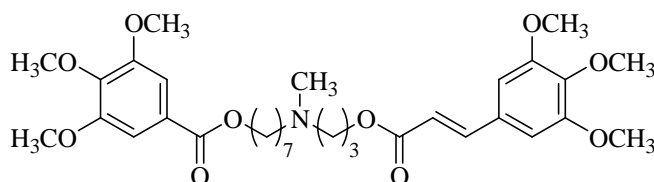
**Base: resa:** 68%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 8.49 (s, 1H, CH arom. antr.); 8.03 (d, 2H, 2CH arom. ant., J=8.0 Hz); 7.98 (d, 2H, 2CH arom. ant., J=8.4 Hz); 7.58 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.54-7.45 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 6.73 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.34 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.67 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 4.18 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.84 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 2.52 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.33 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 2.23 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.04 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.4 Hz); 1.67 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.4 Hz); 1.50-1.40 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.39-1.20 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 169.67 (C=O); 167.04 (C=O); 153.41 (C); 144.56 (CH=CH); 140.04 (C); 130.98 (C); 129.96 (C); 129.25 (CH arom. antr.); 128.62 (CH arom. antr.); 126.38 (C); 128.10 (C); 126.92 (CH arom. antr.); 125.46 (CH arom. antr.); 125.02 (CH arom. antr.); 117.51 (CH=CH); 105.19 (CH arom. cinn.); 64.66 (CH<sub>2</sub>); 63.25 (CH<sub>2</sub>); 60.96 (OCH<sub>3</sub>); 57.88 (CH<sub>2</sub>); 56.12 (OCH<sub>3</sub>); 54.23 (CH<sub>2</sub>); 42.19 (NCH<sub>3</sub>); 29.24 (CH<sub>2</sub>); 28.73 (CH<sub>2</sub>); 27.39 (CH<sub>2</sub>); 27.29 (CH<sub>2</sub>); 26.70 (CH<sub>2</sub>); 25.96 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: P.f.:** 58-62°C.

**(E)-7-(metil(3-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilil)ossi)propil)ammino)eptil 3,4,5-trimetossibenzoato (23) (ELF78)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **2** partendo da una soluzione di **86** (61.0 mg, 0.15 mmol) in 2 mL di CHCl<sub>3</sub> stabilizzato con amilene alla quale si aggiunge una

soluzione del cloruro acilico dell'acido *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico, ottenuto da 0.18 mmol di acido mediante la procedura generale per la sintesi dei cloruri acidi, in 3 mL del medesimo solvente. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 98:2:0.2). Si ottengono 50.0 mg di prodotto puro (olio giallo pallido) che viene trasformato nel cloridrato.

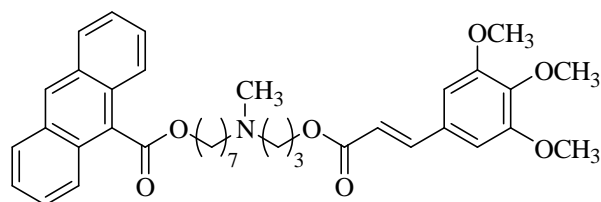
**Base: resa:** 53%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.56 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.26 (s, 2H, 2CH arom. benz.); 6.72 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.31 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.27 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 4.22 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.88 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.86 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2.43 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.31 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.20 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.87 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.74 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.43 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 1.38 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 1.50-1.23 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.91 (C=O); 166.23 (C=O); 153.43 (C); 152.91 (C); 144.65 (CH=CH); 142.19 (C); 140.17 (C); 129.90 (C); 125.51 (C); 117.36 (CH=CH); 106.84 (CH arom.); 105.28 (CH arom.); 65.19 (CH<sub>2</sub>); 63.03 (CH<sub>2</sub>); 60.92 (OCH<sub>3</sub>); 60.86 (OCH<sub>3</sub>); 57.74 (CH<sub>2</sub>); 56.23 (OCH<sub>3</sub>); 56.15 (OCH<sub>3</sub>); 54.26 (CH<sub>2</sub>); 42.13 (NCH<sub>3</sub>); 29.22 (CH<sub>2</sub>); 28.69 (CH<sub>2</sub>); 27.38 (CH<sub>2</sub>); 27.24 (CH<sub>2</sub>); 26.70 (CH<sub>2</sub>); 25.97 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

**(E)-7-(metil(3-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)propil)ammino)eptil antracen-9-carbossilato (24) (ELF79)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **2** partendo da una soluzione di **87** (45.5 mg, 0.12 mmol) in 2 mL di CHCl<sub>3</sub> stabilizzato con amilene alla quale si aggiunge una soluzione del cloruro acilico dell'acido 9-antracencarbossilico, ottenuto

da 0.13 mmol di acido mediante la procedura generale per la sintesi dei cloruri acidi, in 3 mL del medesimo solvente. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 98:2:0.2). Si ottengono 28.0 mg di prodotto puro (olio incolore) che viene trasformato nel cloridrato.

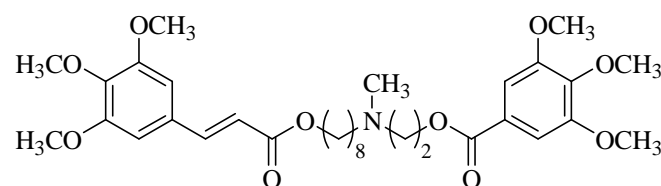
**Base: resa:** 40%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 8.51 (s, 1H, CH arom. antr.); 8.02 (t, 4H, 4CH arom. antr., J=8.8 Hz); 7.59 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.54-7.45 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 6.74 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.33 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.60 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 4.24 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.86 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 2.48 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.36 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 2.24 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.88 (sex, 4H, 2CH<sub>2</sub>, J= 6.8 Hz); 1.60-1.48 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.48-1.38 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.38-1.30 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 169.73 (C=O); 166.94 (C=O); 153.45 (C); 144.73 (CH=CH); 140.18 (C); 131.01 (C); 129.20 (CH arom.); 128.61 (CH arom.); 128.19 (C); 126.90 (CH arom.); 125.45 (CH arom.); 125.01 (CH arom.); 117.33 (CH=CH); 105.29 (CH arom.); 65.88 (CH<sub>2</sub>); 62.97 (CH<sub>2</sub>); 60.96 (OCH<sub>3</sub>); 57.65 (CH<sub>2</sub>); 56.17 (OCH<sub>3</sub>); 54.22 (CH<sub>2</sub>); 42.01 (NCH<sub>3</sub>); 29.16 (CH<sub>2</sub>); 28.72 (CH<sub>2</sub>); 27.35 (CH<sub>2</sub>); 27.01 (CH<sub>2</sub>); 25.56 (CH<sub>2</sub>); 26.07 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** solido bassofondente.

**(E)-2-(metil(8-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)ottil)ammino)etil 3,4,5-trimetossibenzoato (25) (CF34)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **1** partendo da 53.8 mg di **93** (0.12 mmol) in 4 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, 40.0 mg di acido 3,4,5-trimetossibenzoico (0.19 mmol), 12.0

mg di DMAP (0.10 mmol) e 43.8 mg di EDCI (0.22 mmol). Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna flash (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 96:4:0.4). Allo scopo di purificare ulteriormente il prodotto **25**, questo è sottoposto ad una seconda cromatografia su colonna sotto pressione usando come eluente WE2 privo di NH<sub>4</sub>OH. Si ottiene il prodotto puro come olio incolore che viene trasformato nel relativo cloridrato.

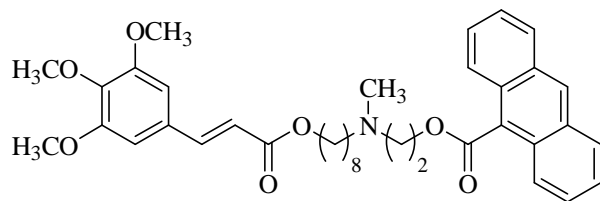
**Base: resa:** 42%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.58 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.29 (s, 2H, 2CH arom. benz.); 6.74 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.34 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.40 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.0 Hz); 4.18 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.89-3.86 (m, 18H, 6OCH<sub>3</sub>); 2.76 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=6.0 Hz); 2.43 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 2.33 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.71-1.63 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.53-1.45 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.44-1.22 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 167.01 (C=O); 166.15 (C=O); 153.40 (C); 152.88 (C); 144.54 (CH=CH); 142.17 (C); 140.02 (C); 129.94 (C); 125.25 (C); 117.47 (CH=CH); 106.84 (CH arom.); 105.17 (CH arom.); 64.64 (CH<sub>2</sub>); 63.14 (CH<sub>2</sub>); 60.93 (OCH<sub>3</sub>); 60.88 (OCH<sub>3</sub>); 58.08 (CH<sub>2</sub>); 56.19 (OCH<sub>3</sub>); 56.12 (OCH<sub>3</sub>); 55.62 (CH<sub>2</sub>); 42.82 (NCH<sub>3</sub>); 29.45 (CH<sub>2</sub>); 29.23 (CH<sub>2</sub>); 28.72 (CH<sub>2</sub>); 27.41 (CH<sub>2</sub>); 27.33 (CH<sub>2</sub>); 25.91 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

**(E)-2-(metil(8-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)ottil)ammino)etil antracen-9-carbossilato (26) (CF35)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **2** partendo da una soluzione di **93** (63.0 mg, 0.15 mmol) in 2 mL di CHCl<sub>3</sub> stabilizzato con amilene alla quale si aggiunge una soluzione del cloruro acilico dell'acido 9-antracencarbossilico, ottenuto

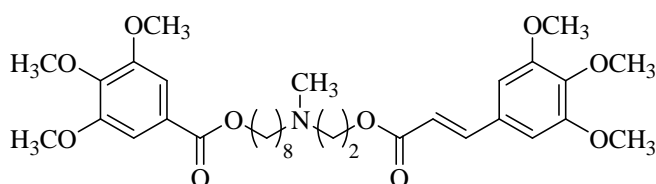
da 0.19 mmol di acido mediante la procedura generale per la sintesi dei cloruri acidi, in 8 mL del medesimo solvente. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/ NH<sub>4</sub>OH 98:2:0.2). Si ottengono 90.6 mg di prodotto puro (olio giallo pallido) che viene trasformato nel cloridrato.

**Base: resa:** 44%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 8.51 (s, 1H, CH arom. antr.); 8.15 (d, 2H, 2CH arom. ant. , J=8.8 Hz); 8.00 (d, 2H, 2CH arom. ant. , J=8.0 Hz); 7.59 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.54-7.45 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 6.75 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.34 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.72 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.6 Hz); 4.17 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3.88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.87 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 2.86 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 2.46 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 2.36 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.71-1.61 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.69-1.45 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.39-1.24 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 167.06 (C=O); 153.43 (C); 144.55 (CH=CH); 131.00 (C); 129.97 (C); 129.29 (CH arom.); 128.54 (CH arom.); 126.84 (CH arom.); 125.43 (CH arom.); 125.31 (CH arom.); 117.53 (CH=CH); 105.22 (CH arom.); 64.71 (CH<sub>2</sub>); 63.29 (CH<sub>2</sub>); 60.98 (OCH<sub>3</sub>); 58.09 (CH<sub>2</sub>); 56.16 (OCH<sub>3</sub>); 56.12 (CH<sub>2</sub>); 42.53 (NCH<sub>3</sub>); 29.49 (CH<sub>2</sub>); 29.25 (CH<sub>2</sub>); 28.74 (CH<sub>2</sub>); 27.40 (CH<sub>2</sub>); 25.92 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 60-64°C.

**(E)-8-(metil(2-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilil)ossi)etil)ammino)ottil 3,4,5-trimetossibenzoato (27) (CF38)**

Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **1** partendo da 103.8 mg di **95** (0.26 mmol) in 5 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, 93.0 mg di acido *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico (0.39

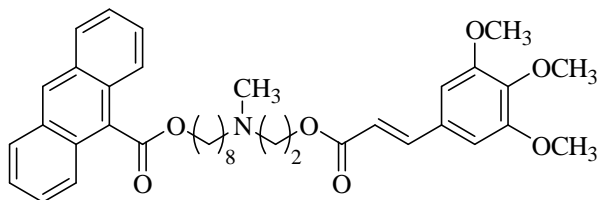
mmol), 25.0 mg di DMAP (0.21 mmol) e 90.0 mg di EDCI (0.47 mmol). Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna flash (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 95:5:0.5). Si ottengono 69.3 mg prodotto puro, ottenuto come olio incolore, che vengono trasformati nel rispettivo cloridrato.

**Base: resa:** 43%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.56 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.26 (s, 2H, 2CH arom. benz.); 6.71 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.35 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.30-4.24 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>O, J=6.0 Hz); 3.87 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2.67 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 2.38 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.28 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.72 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.50-1.19 (m, 10H, 5CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.94 (C=O); 166.24 (C=O); 153.41 (C); 152.89 (C); 144.78 (CH=CH); 142.14 (C); 140.13 (C); 129.90 (C); 125.51 (C); 117.33 (CH=CH); 106.80 (CH arom.); 105.25 (CH arom.); 65.22 (CH<sub>2</sub>); 62.24 (CH<sub>2</sub>); 60.91 (OCH<sub>3</sub>); 60.87 (OCH<sub>3</sub>); 58.02 (CH<sub>2</sub>); 56.22 (OCH<sub>3</sub>); 56.13 (OCH<sub>3</sub>); 55.70 (CH<sub>2</sub>); 42.72 (NCH<sub>3</sub>); 29.46 (CH<sub>2</sub>); 29.24 (CH<sub>2</sub>); 28.71 (CH<sub>2</sub>); 27.37 (CH<sub>2</sub>); 27.16 (CH<sub>2</sub>); 25.94 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

**(E)-8-(metil(2-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilil)ossi)etil)ammino)ottil antracen-9-carbossilato (28) (CF36)**

Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **1** partendo da 45.0 mg di **97** (0.11 mmol) in 4 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, 39.0 mg di acido *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico (0.16 mmol), 10.8 mg di DMAP (0.09 mmol) e 38.0 mg di EDCI

(0.19 mmol). Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna flash (eluente: CHX/ACT 1:9). Si ottengono 35.6 mg prodotto puro, ottenuto come olio giallo pallido, che vengono trasformati nel rispettivo cloridrato.

**Base: resa:** 51%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 8.52 (s, 1H, CH arom. antr.); 8.09-7.99 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 7.60 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.55-7.46 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 6.74 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.38 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.60 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 4.30 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.0 Hz); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.86 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 2.70 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 2.40 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.31 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.93-1.73 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.55-1.40 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.39-1.23 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm.

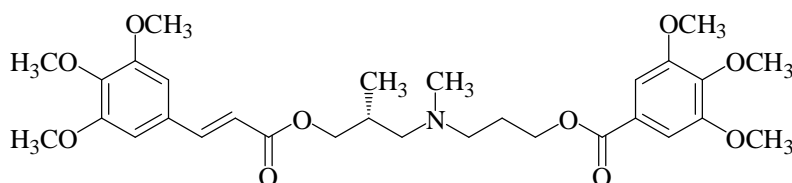
**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 167.28 (C=O); 153.44 (C); 144.81 (CH=CH); 131.01 (C); 129.93 (C); 129.20 (CH arom.); 128.61 (CH arom.); 128.39 (C); 126.90 (CH arom.); 125.46 (CH arom.); 125.03 (CH arom.); 117.37 (CH=CH); 105.25 (CH arom.); 65.91 (CH<sub>2</sub>); 62.26 (CH<sub>2</sub>); 60.97

(OCH<sub>3</sub>); 58.06 (CH<sub>2</sub>); 56.15 (OCH<sub>3</sub>); 55.72 (CH<sub>2</sub>); 42.73 (NCH<sub>3</sub>); 29.47 (CH<sub>2</sub>); 29.21 (CH<sub>2</sub>); 28.76 (CH<sub>2</sub>); 27.38 (CH<sub>2</sub>); 27.15 (C); 26.05 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 55-58°C.

### 5.1.2. Prodotti finali della serie dei derivati ramificati

#### (*S,E*)-3-(metil(2-metil-3-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acrililossi)propil)amino)propil 3,4,5-trimetossibenzoato (*(S)*-29) (CF16)



Ad una soluzione di **104** (58.0 mg, 0.15 mmol), in 4 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro e raffreddata a 0°C, si aggiungono in successione

0.22 mmol di acido 3,4,5-trimetossibenzoico (48.0 mg), 0.12 mmol di DMAP (14.8 mg) e infine 0.27 mmol di EDCI (52.0 mg). La miscela di reazione è mantenuta a 0°C per un'ora e mezza e successivamente a temperatura ambiente sotto flusso d'azoto e sotto agitazione magnetica per 48 h. Quindi si riprende la miscela con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e si lava la fase organica tre volte con con H<sub>2</sub>O e due volte con una soluzione satura di NaHCO<sub>3</sub>. La fase organica viene anidrificata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro ed il solvente allontanato per evaporazione sotto vuoto. Il grezzo di reazione così ottenuto viene purificato mediante cromatografia su silice sotto pressione (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 98:2:0.2). Il prodotto puro, ottenuto come olio di colore giallo pallido, è trasformato nel cloridrato per reazione con 1.2 eq di cloruro di acetile in MeOH anidro e successiva triturazione del solido in etere di petrolio.

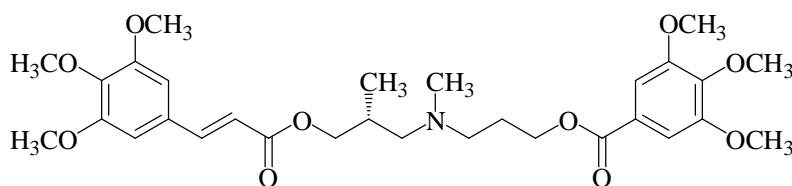
**Base: resa:** 73%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.55 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.25 (s, 2H, 2CH arom. benz.); 6.72 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.31 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.35 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 4.21 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>O, J=4.8 Hz, 10.5 Hz); 4.05 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz, 10.8 Hz); 3.90-3.80 (m, 18H, 6OCH<sub>3</sub>); 2.46 (td, 2H, CH<sub>2</sub>N, J=3.2 Hz, 6.8 Hz); 2.34 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>N, J=7.6 Hz, 12.0 Hz); 2.21 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.19-2.12 (m, 1H, CH<sub>2</sub>N); 2.11-2.02 (m, 1H, CH); 1.90 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 0.97 (d, 3H, CH<sub>3</sub>, J=6.8 Hz) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 167.01 (C=O); 166.17 (C=O); 153.41 (C); 152.89 (C); 144.61 (CH=CH); 142.15 (C); 140.09 (C); 129.90 (C); 125.42 (C); 117.34 (CH=CH); 106.78 (CH arom.); 105.24 (CH arom.); 67.96 (CH<sub>2</sub>); 63.47 (CH<sub>2</sub>); 61.34 (CH<sub>2</sub>N); 60.92 (OCH<sub>3</sub>); 60.85 (OCH<sub>3</sub>); 56.19 (OCH<sub>3</sub>); 56.14 (OCH<sub>3</sub>); 54.59 (CH<sub>2</sub>N); 42.64 (NCH<sub>3</sub>); 31.34 (CH); 26.76 (CH<sub>2</sub>); 15.79 (CH<sub>3</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

#### (*R,E*)-3-(metil(2-metil-3-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acrililossi)propil)amino)propil 3,4,5-trimetossibenzoato (*(R)*-30) (CF6)



Si procede come per il composto (*S*)-29, partendo da una soluzione di **105** (60.5 mg, 0.16 mmol), in 4 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro e raffreddata a 0°C, alla quale si aggiungono in successione 0.23 mmol di acido 3,4,5-trimetossibenzoico (50.5 mg), 0.12



mmol di DMAP (15.5 mg) e infine 0.27 mmol di EDCI (54.8 mg). Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su silice sotto pressione, usando come eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$  98:2:0.2. Il prodotto puro, ottenuto come olio di colore giallo pallido, è trasformato nel cloridrato.

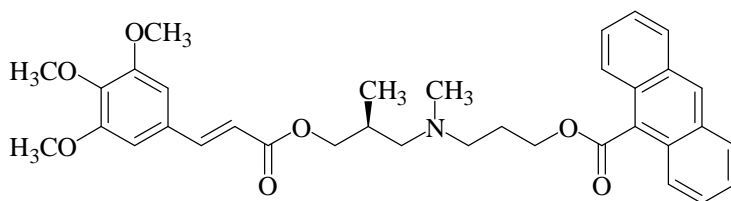
**Base: resa:** 61%.

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 7.56 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 7.26 (s, 2H, 2CH arom. benz.); 6.72 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.31 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 4.36 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.4$  Hz); 4.21 (dd, 1H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=5.2$  Hz, 10.8 Hz); 4.03 (dd, 1H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.4$  Hz, 10.8 Hz); 3.90-3.85 (m, 18H, 6 $\text{OCH}_3$ ); 2.56 (bs, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ); 2.43 (bs, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ); 2.29 (bs, 3H,  $\text{NCH}_3$ ); 2.18-2.08 (m, 1H, CH); 2.05-1.91 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.01 (d, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J=6.8$  Hz) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 166.96 (C=O); 166.17 (C=O); 153.42 (C); 152.91 (C); 144.79 (CH=CH); 142.22 (C); 140.14 (C); 129.85 (C); 125.28 (C); 117.18 (CH=CH); 106.81 (CH arom.); 105.26 (CH arom.); 67.79 ( $\text{CH}_2$ ); 63.25 ( $\text{CH}_2$ ); 61.10 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ); 60.93 ( $\text{OCH}_3$ ); 60.87 ( $\text{OCH}_3$ ); 56.22 ( $\text{OCH}_3$ ); 56.15 ( $\text{OCH}_3$ ); 54.55 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ); 42.44 ( $\text{NCH}_3$ ); 31.12 (CH); 26.39 ( $\text{CH}_2$ ); 15.89 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 49-53°C.

**(*S,E*)-3-(metil(2-metil-3-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloilossi)propil)amino) propil) antracen-9-carbossilato ((*S*)-31) (CF15)**



Ad una soluzione di **105** (50.0 mg, 0.13 mmol) in 4 mL di  $\text{CHCl}_3$  privo di etanolo, si aggiunge una soluzione di 9-antracencarbossilcloruro, ottenuto partendo da 0.17 mmol

di acido secondo la procedura generale di sintesi dei cloruri acidi, in 4 mL del medesimo solvente. La miscela di reazione è mantenuta in corrente di azoto sotto agitazione magnetica a 0°C per i primi 20 minuti dopodiché a temperatura ambiente per 63 h. Quindi si riprende con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e si lava con una soluzione satura di  $\text{NaHCO}_3$ . La fase organica viene anidrificata con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  e successivamente evaporata sotto vuoto. Il grezzo di reazione del prodotto viene purificato mediante cromatografia su colonna per gravità usando come eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$  98:2:0.2. Il prodotto puro, ottenuti sotto forma di olio giallo, viene trasformato nel cloridrato per reazione con 1.2 eq di cloruro di acetile in MeOH anidro e successiva triturazione del solido in etere di petrolio.

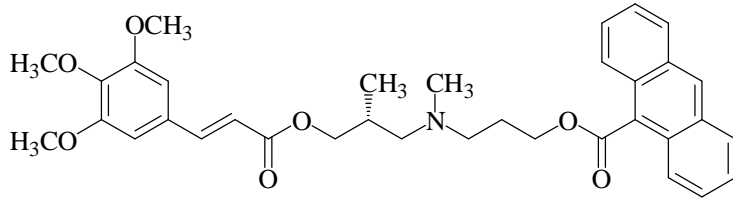
**Base: resa:** 32%.

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 8.50 (s, 1H, CH arom. antr.); 8.01 (dd, 4H, 4CH arom. antr.,  $J=8.4$  Hz); 7.56 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 7.53-7.47 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 6.69 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.32 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 4.69 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.4$  Hz); 4.24 (dd, 1H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=4.8$  Hz, 10.8 Hz); 4.08 (dd, 1H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.0$  Hz, 10.8 Hz); 3.86 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.82 (s, 6H, 2 $\text{OCH}_3$ ); 2.56 (t, 2H,  $\text{NCH}_2$ ,  $J=6.8$  Hz); 2.42 (dd, 1H,  $\text{NCH}_2$ ,  $J=7.6$  Hz); 2.31 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ); 2.30-2.22 (m, 1H,  $\text{NCH}_2$ ); 2.20-2.03 (m, 3H,  $\text{CH}_2$  e CH); 1.04 (d, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J=6.4$  Hz) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 169.59 (C=O); 167.01 (C=O); 153.38 (C); 144.88 (CH=CH); 130.96 (C); 129.84 (C); 129.33 (CH arom.); 128.64 (CH arom.); 128.38 (CH arom.); 128.25 (C); 125.49 (CH arom.); 124.93 (CH arom.); 117.15 (CH=CH); 105.24 (CH arom.); 67.61 ( $\text{CH}_2$ ); 63.86 ( $\text{CH}_2$ ); 60.96 ( $\text{OCH}_3$ ); 60.92 ( $\text{CH}_2$ ); 56.12 ( $\text{OCH}_3$ ); 54.72 ( $\text{CH}_2$ ); 42.30 ( $\text{NCH}_3$ ); 30.99 (CH); 26.22 ( $\text{CH}_2$ ); 15.94 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 80-82°C.

**(*R,E*)-3-(metil(2-metil-3-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilil)ossi)propil)amino)propil antracen-9-carbossilato ((*R*)-32) (CF5)**



Si procede come descritto per il composto (*S*)-31, partendo da una soluzione di **104** (40.0 mg, 0.11 mmol) in 2 mL di  $\text{CHCl}_3$  privo di etanolo, alla quale viene aggiunta una

soluzione del cloruro dell'acido 9-antracencarbossilico (ottenuto partendo da 0.14 mmol di acido) in 4 mL del medesimo solvente. Il grezzo di reazione del prodotto viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$  98:2:0.2). Il prodotto puro, ottenuto sotto forma di olio giallo, viene trasformato nel cloridrato.

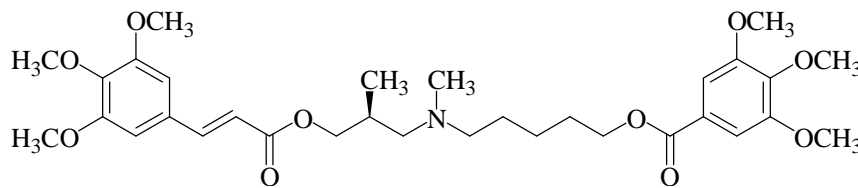
**Base: resa:** 37%.

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 8.50 (s, 1H, CH arom. antr.); 8.01 (t, 4H, 4CH arom. antr.,  $J=8.4$  Hz); 7.57 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 7.55-7.46 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 6.69 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.32 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 4.69 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.4$  Hz); 4.26 (dd, 1H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=5.2$  Hz, 10.8 Hz); 4.09 (dd, 1H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.0$  Hz, 10.8 Hz); 3.86 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.82 (s, 6H, 2 $\text{OCH}_3$ ); 2.56 (t, 2H,  $\text{NCH}_2$ ,  $J=6.8$  Hz); 2.43-2.38 (m, 1H,  $\text{NCH}_2$ ); 2.27 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ); 2.25-2.16 (m, 1H,  $\text{NCH}_2$ ); 2.14-2.04 (m, 3H,  $\text{CH}_2$  e CH); 1.02 (d, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J=6.8$  Hz) ppm.

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 169.69 (C=O); 167.10 (C=O); 153.37 (C); 144.65 (CH=CH); 130.98 (C); 129.91 (C); 129.23 (CH arom.); 128.61 (CH arom.); 128.38 (C); 126.93 (CH arom.); 125.46 (CH arom.); 125.00 (CH arom.); 117.38 (CH=CH); 105.21 (CH arom.); 67.86 ( $\text{CH}_2$ ); 64.16 ( $\text{CH}_2$ ); 61.25 ( $\text{NCH}_2$ ); 60.95 ( $\text{OCH}_3$ ); 56.11 ( $\text{OCH}_3$ ); 54.78 ( $\text{NCH}_2$ ); 42.57 ( $\text{NCH}_3$ ); 31.30 (CH); 26.75 ( $\text{CH}_2$ ); 15.83 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 90-93°C.

**(*S,E*)-5-(metil(2metil-3-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilil)ossi)propil)amino)pentil 3,4,5 trimetossibenzoato ((*S*)-33) (CF19)**



Si procede come per il composto (*S*)-29, partendo da una soluzione di **108** (50.0 mg, 0.12

mmol), in 4 mL di  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro e raffreddata a 0°C, alla quale si aggiungono in successione 0.18 mmol di acido 3,4,5-trimetossibenzoico (38.9 mg), 0.10 mmol di DMAP (11.9 mg) e infine 0.22 mmol di EDCI (42.1 mg). Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su silice sotto pressione, usando come eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$  98:2:0.2. Il prodotto puro, ottenuto come olio di colore giallo pallido, è trasformato nel cloridrato.

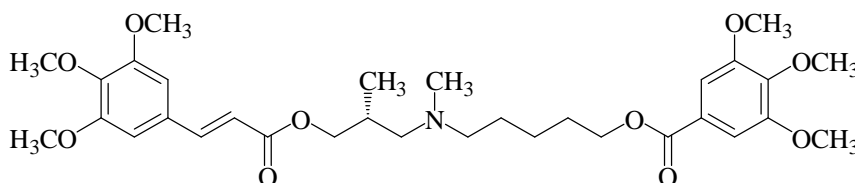
**Base: resa:** 29%.

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 7.58 (d, 1H, CH=CH,  $J=15.6$  Hz); 7.28 (s, 2H, 2CH arom. benz.); 6.74 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.34 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 4.30 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.8$  Hz); 4.25 (dd, 1H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=4.8$  Hz, 10.8 Hz); 4.02 (dd, 1H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.8$  Hz, 10.8 Hz); 3.98-3.82 (m, 18H, 6 $\text{OCH}_3$ ); 2.37-2.30 (m, 3H, 2 $\text{NCH}_2$ ); 2.21 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ); 2.19-2.11 (m, 1H,  $\text{NCH}_2$ ); 2.11-2.04 (m, 1H, CH); 1.77 (p, 2H,  $\text{CH}_2$ ,  $J=6.8$  Hz); 1.59-1.40 (m, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ); 1.00 (d, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J=6.4$  Hz) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 167.04 (C=O); 166.25 (C=O); 153.45 (C); 152.93 (C); 144.62 (CH=CH); 142.23 (C); 140.17 (C); 129.93 (C); 125.49 (C); 117.40 (CH=CH); 106.86 (CH arom. benz.); 105.30 (CH arom. cinn.); 68.09 ( $\text{CH}_2$ ); 65.16 ( $\text{CH}_2$ ); 61.30 ( $\text{NCH}_2$ ); 60.95 ( $\text{OCH}_3$ ); 60.89 ( $\text{OCH}_3$ ); 58.12 ( $\text{NCH}_2$ ); 56.25 ( $\text{OCH}_3$ ); 56.18 ( $\text{OCH}_3$ ); 42.69 ( $\text{NCH}_3$ ); 31.28 (CH); 28.72 ( $\text{CH}_2$ ); 26.96 ( $\text{CH}_2$ ); 23.84 ( $\text{CH}_2$ ); 15.88 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

**(*R,E*)-5-(metil(2metil-3-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloilossi)propil)amino)pentil 3,4,5 trimetossibenzoato ((*R*)-34) (CF 11)**



Si procede come per il composto (*S*)-29, partendo da una soluzione di **109** (49.0 mg, 0.12 mmol), in 4 mL di

$\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro e raffreddata a  $0^\circ\text{C}$ , alla quale si aggiungono in successione 0.18 mmol di acido 3,4,5-trimetossibenzoico (38.1 mg), 0.10 mmol di DMAP (11.7 mg) e infine 0.22 mmol di EDCI (41.3 mg). Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su silice sotto pressione, usando come eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$  98:2:0.2. Il prodotto puro, ottenuto come olio di colore giallo pallido, è trasformato nel cloridrato.

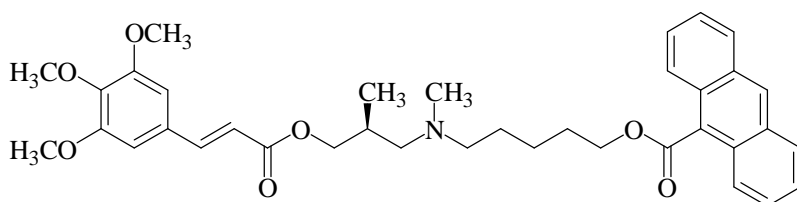
**Base: resa:** 71%.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.57 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 7.27 (s, 2H, 2CH arom. benz.); 6.74 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.33 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 4.29 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.4$  Hz); 4.23 (dd, 1H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=5.2$  Hz, 10.8 Hz); 4.01 (dd, 1H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.8$  Hz, 10.8 Hz); 3.95-3.85 (m, 18H, 6 $\text{OCH}_3$ ); 2.48-2.37 (m, 3H, 2 $\text{NCH}_2$ ); 2.19 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ); 2.13-2.11 (m, 1H,  $\text{NCH}_2$ ); 2.08-2.03 (m, 1H, CH); 1.78 (p, 2H,  $\text{CH}_2$ ,  $J=6.8$  Hz); 1.54-1.42 (m, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ); 0.98 (d, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J=6.4$  Hz) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 167.05 (C=O); 166.24 (C=O); 153.43 (C); 152.91 (C); 144.58 (CH=CH); 142.17 (C); 140.12 (C); 129.93 (C); 125.50 (C); 117.43 (CH=CH); 106.82 (CH arom. benz.); 105.25 (CH arom. cinn.); 68.12 ( $\text{CH}_2$ ); 65.18 ( $\text{CH}_2$ ); 61.34 ( $\text{NCH}_2$ ); 60.94 ( $\text{OCH}_3$ ); 60.89 ( $\text{OCH}_3$ ); 58.14 ( $\text{NCH}_2$ ); 56.23 ( $\text{OCH}_3$ ); 56.16 ( $\text{OCH}_3$ ); 42.73 ( $\text{NCH}_3$ ); 31.30 (CH); 28.72 ( $\text{CH}_2$ ); 27.05 ( $\text{CH}_2$ ); 23.84 ( $\text{CH}_2$ ); 15.86 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 97-100 $^\circ\text{C}$ .

**(*S,E*)-5-(metil(2-metil-3-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloilossi)propil)amino)pentil antracen-9-carbossilato ((*S*)-35) (CF20)**



Si procede come descritto per il composto (*S*)-31, partendo da una soluzione di **108** (50.0 mg, 0.12 mmol) in 2 mL di  $\text{CHCl}_3$  privo di etanolo, alla quale

viene aggiunta una soluzione del cloruro dell'acido 9-antracencarbossilico (ottenuto partendo da 0.16 mmol di acido) in 4 mL del medesimo solvente. Il grezzo di reazione del prodotto viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$  95:5:0.5). Il prodotto puro, ottenuto sotto forma di olio giallo, viene trasformato nel cloridrato.

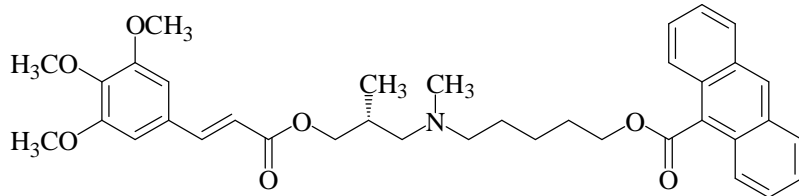
**Base: resa:** 54%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 8.50 (s, 1H, CH arom. antr.); 8.02 (t, 4H, 4CH arom. antr., J=8.8 Hz); 7.59 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.55-7.45 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 6.73 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.34 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.62 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 4.24 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>O, J=4.8 Hz, 10.8 Hz); 4.03 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz, 10.8 Hz); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 2.37-2.29 (m, 3H, 2NCH<sub>2</sub>); 2.20 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.18-2.13 (m, 1H, NCH<sub>2</sub>); 2.11-2.06 (m, 1H, CH); 1.90 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 1.59-1.46 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 0.98 (d, 3H, CH<sub>3</sub>, J=6.4 Hz) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 169.73 (C=O); 167.07 (C=O); 153.42 (C); 144.59 (CH=CH); 131.00 (C); 129.95 (C); 129.21 (CH arom.); 128.61 (CH arom.); 128.38 (C); 126.91 (CH arom.); 125.45 (CH arom.); 125.01 (CH arom.); 117.46 (CH=CH); 105.24 (CH arom.); 68.11 (CH<sub>2</sub>); 65.86 (CH<sub>2</sub>); 61.31 (CH<sub>2</sub>N); 60.96 (OCH<sub>3</sub>); 58.09 (CH<sub>2</sub>N); 56.15 (OCH<sub>3</sub>); 42.73 (NCH<sub>3</sub>); 31.32 (CH); 28.72 (CH<sub>2</sub>); 26.95 (CH<sub>2</sub>); 23.91 (CH<sub>2</sub>); 15.87 (CH<sub>3</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 86-88°C.

**(*R,E*)-5-(metil(2-metil-3-((3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)propil)amino)pentil antracen-9-carbossilato ((*R*)-36) (CF14)**



Si procede come descritto per il composto (*S*)-**31**, partendo da una soluzione di **109** (70.0 mg, 0.17 mmol) in 2 mL di CHCl<sub>3</sub> privo di etanolo, alla quale

viene aggiunta una soluzione del cloruro dell'acido 9-antracencarbossilico (ottenuto partendo da 0.22 mmol di acido) in 4 mL del medesimo solvente. Il grezzo di reazione del prodotto viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 95:5:0.5). Il prodotto puro, ottenuto sotto forma di olio giallo, viene trasformato nel cloridrato.

**Base: resa:** 71%.

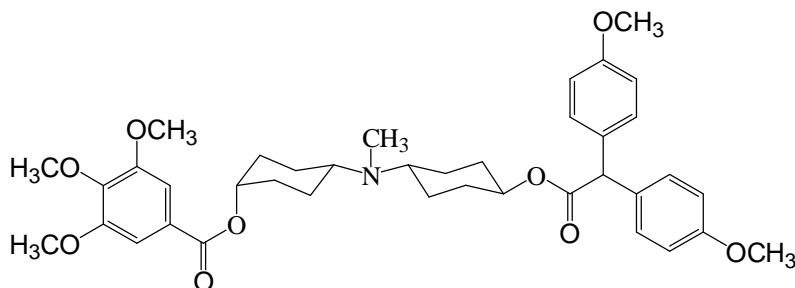
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 8.51 (s, 1H, CH arom. antr.); 8.02 (t, 4H, 4CH arom. antr., J=8.8 Hz); 7.58 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.55-7.45 (m, 4H, 4CH arom. antr.); 6.73 (s, 2H, 2CH arom. cinn.); 6.34 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.61 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 4.24 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>O, J=4.8 Hz, 10.8 Hz); 4.03 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz, 10.8 Hz); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 2.41-2.29 (m, 3H, 2NCH<sub>2</sub>); 2.20 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.18-2.11 (m, 1H, NCH<sub>2</sub>); 2.10-2.04 (m, 1H, CH); 1.90 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.59-1.46 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 0.98 (d, 3H, CH<sub>3</sub>, J=6.8 Hz) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 169.72 (C=O); 167.06 (C=O); 153.42 (C); 144.63 (CH=CH); 131.00 (C); 129.93 (C); 129.22 (CH arom.); 128.61 (CH arom.); 128.38 (C); 126.92 (CH arom.); 125.46 (CH arom.); 125.00 (CH arom.); 117.40 (CH=CH); 105.25 (CH arom.); 68.05 (CH<sub>2</sub>); 65.84 (CH<sub>2</sub>); 61.22 (CH<sub>2</sub>N); 60.97 (OCH<sub>3</sub>); 58.03 (CH<sub>2</sub>N); 56.16 (OCH<sub>3</sub>); 42.65 (NCH<sub>3</sub>); 31.25 (CH); 28.70 (CH<sub>2</sub>); 26.79 (CH<sub>2</sub>); 23.90 (CH<sub>2</sub>); 15.89 (CH<sub>3</sub>) ppm.

**ESI-MS *m/z* (%):** 614.2 (100) [M+H]<sup>+</sup>.

**Cloridrato: p.f.:** 81-84°C.

## 5.1.3. Prodotti finali della serie dicicloesamica esterea

***cis* 4-(metil(*trans* 4-((2,2-bis(4-metossifenil)acetil)ossi)cicloesil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (*cis/trans* 37A) (ELF60A) [145]**

Ad una soluzione di **113A** [**157**] (57.6 mg, 0.15 mmol) in 4 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, raffreddata a 0°C, sono aggiunti in sequenza: acido 2,2-bis-(4-metossifenil) acetico **153** (63.0 mg, 0.23 mmol),

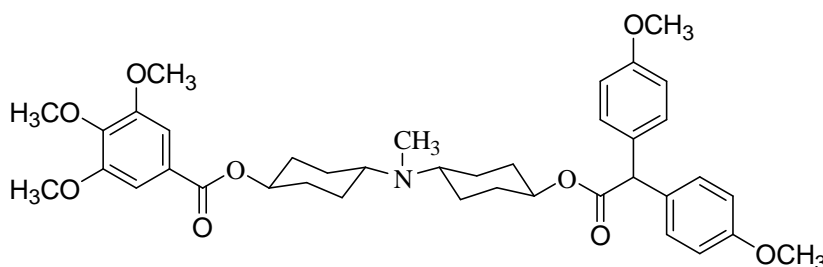
DMAP (15.0 mg, 0.12 mmol) e EDCI (53.3 mg, 0.28 mmol). La miscela di reazione viene mantenuta sotto agitazione magnetica a 0°C per 1h e successivamente a temperatura ambiente per 72h. La miscela di reazione viene ripresa con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e lavata 2 volte con H<sub>2</sub>O e 2 volte con una soluzione satura di NaHCO<sub>3</sub>. La fase organica viene anidrificata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, che viene poi filtrato ed il solvente rimosso a pressione ridotta. Il prodotto grezzo così ottenuto viene purificato mediante cromatografia sotto pressione usando come eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH (97:3:0.3). Si ottengono così 77.0 mg di prodotto puro come olio incolore che viene trasformato nel cloridrato per reazione con 2 eq di acetil cloruro in MeOH anidro e triturato con etere etilico anidro.

**Base: resa:** 74%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.32 (s, 2H, CH arom. benz.), 7.19 (d, 4H, CH arom., J=8.8 Hz), 6.83 (d, 4H, CH arom., J=8.8 Hz), 5.18 (bs, 1H, CH<sub>eq</sub>O), 4.86 (s, 1H, CH alif.), 4.73-4.68 (m, 1H, CH<sub>ax</sub>O), 3.90 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.89 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 3.76 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 2.70-2.58 (m, 2H, NCH), 2.28 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2.13-2.00 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 1.90-1.56 (m, 8H, CH<sub>2</sub>), 1.50-1.48 (m, 4H, CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 172.47 (C), 165.40 (C), 158.63 (C), 152.95 (C), 142.19 (C), 131.30 (C), 129.21 (CH arom.), 125.98 (C), 113.89 (CH arom.), 106.78 (CH arom. benz.), 73.29 (CHO), 69.84 (CHO), 60.92 (OCH<sub>3</sub>), 58.41 (NCH), 58.19 (NCH), 56.23 (OCH<sub>3</sub>), 55.60 (CH alif.), 55.23 (OCH<sub>3</sub>), 32.64 (NCH<sub>3</sub>), 30.67 (CH<sub>2</sub>), 29.39 (CH<sub>2</sub>), 27.31 (CH<sub>2</sub>), 24.85 (CH<sub>2</sub>) ppm;

**Cloridrato: p.f.:** 113-115°C.

***trans* 4-(metil(*trans* 4-((2,2-bis(4-metossifenil)acetil)ossi)cicloesil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (*trans/trans* 37B) (ELF60B) [145]**

Si procede come descritto per il composto **37A**, partendo da una soluzione di **113B** [**157**] (75.0 mg, 0.20 mmol) in 4 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, raffreddata a 0°C, alla quale sono aggiunti in

sequenza: acido 2,2-bis-(4-metossifenil) acetico **118** (82.0 mg, 0.30 mmol), DMAP (19.7 mg, 0.16 mmol) e EDCI (69.4 mg, 0.36 mmol). Il prodotto grezzo viene purificato mediante

cromatografia sotto pressione (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 98:2:0.2). Si ottengono così 80.0 mg di prodotto puro come olio incolore che viene trasformato nel cloridrato.

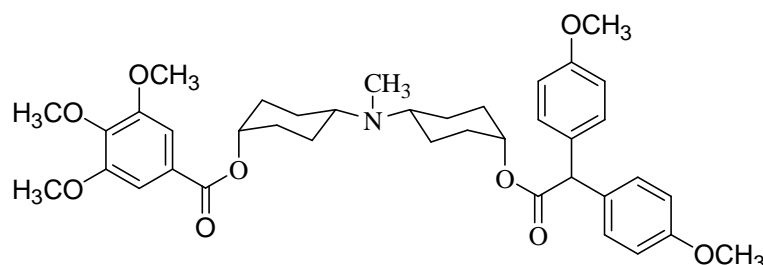
**Base: resa:** 59%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.27 (s, 2H, CH arom. benz.), 7.20 (d, 4H, CH arom., J=8.8 Hz), 6.83 (d, 4H, CH arom., J=8.8 Hz), 4.90-4.81 (m, 2H, CH<sub>ax</sub>O+CH alif.), 4.76-4.68 (m, 1H, CH<sub>ax</sub>O), 3.89 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 3.88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.76 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 2.68-2.51 (m, 2H, NCH), 2.25 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2.20-2.12 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.08-1.99 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.82-1.78 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 1.60-1.30 (m, 8H, CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 172.48 (C), 165.64 (C), 158.63 (C), 152.90 (C), 142.14 (C), 131.32 (C), 129.52 (CH arom.), 125.77 (C), 113.89 (CH arom.), 106.80 (CH arom. benz.), 73.44 (CHO), 73.32 (CHO), 60.91 (OCH<sub>3</sub>), 58.60 (NCH), 58.55 (NCH), 56.25 (OCH<sub>3</sub>), 55.61 (CH alif.), 55.23 (OCH<sub>3</sub>), 32.93 (NCH<sub>3</sub>), 30.91 (CH<sub>2</sub>), 30.61 (CH<sub>2</sub>), 27.54 (CH<sub>2</sub>), 27.51 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 99-100°C.

***cis* 4-(metil(*cis* 4-((2,2-bis(4-metossifenil)acetil)ossi)cicloesil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (*cis/cis* 37C) (ELF30A) [145]**



Si procede come descritto per il composto **37A**, partendo da una soluzione di **113C** [157] (89.0 mg, 0.24 mmol) in 5 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, raffreddata a 0°C, alla quale sono aggiunti in sequenza:

acido 2,2-bis-(4-metossifenil)acetico **118** (97.0 mg, 0.36 mmol), DMAP (23.0 mg, 0.19 mmol) e EDCI (82.0 mg, 0.43 mmol). Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia sotto pressione (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 98:2:0.2). Si ottengono così 103.0 mg di prodotto puro come olio incolore che viene trasformato nel cloridrato.

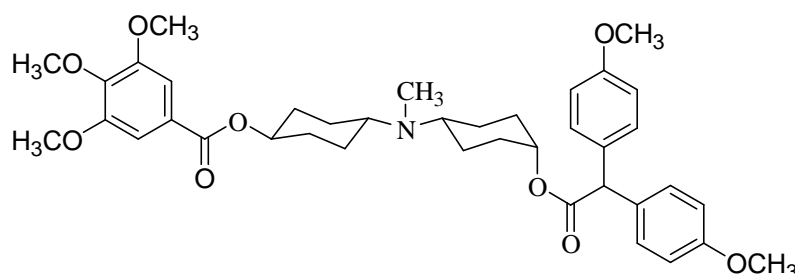
**Base: resa:** 64%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.31 (s, 2H, CH arom. benz.), 7.21 (d, 4H, CH arom., J=8.4 Hz), 6.82 (d, 4H, CH arom., J=8.4 Hz), 5.16 (bs, 1H, CH<sub>eq</sub>O), 4.99 (bs, 1H, CH<sub>eq</sub>O), 4.91 (s, 1H, CH alif.), 3.88 (s, 9H, OCH<sub>3</sub>), 3.74 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 2.63-2.50 (m, 2H, NCH), 2.17 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>), 2.10-2.01 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.00-1.88 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.80-1.68 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.68-1.55 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 1.55-1.48 (m, 6H, CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 172.17 (C), 165.39 (C), 158.62 (C); 152.93 (C); 142.20 (C); 131.34 (C); 129.59 (CH arom.), 125.98 (C), 113.87 (CH arom.), 106.79 (CH arom. benz.), 70.01 (CHO), 69.83 (CHO), 60.90 (OCH<sub>3</sub>), 58.09 (NCH), 58.08 (NCH), 56.20 (OCH<sub>3</sub>), 55.97 (CH alif.), 55.20 (OCH<sub>3</sub>), 32.47 (NCH<sub>3</sub>), 29.37 (CH<sub>2</sub>), 29.35 (CH<sub>2</sub>), 25.07 (CH<sub>2</sub>), 24.25 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 126-128°C.

***trans* 4-(metil(*cis* 4-((2,2-bis(4-metossifenil)acetil)ossi)cicloesil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (*trans/cis* 37D) (ELF30B)**



Si procede come descritto per il composto **37A**, partendo da una soluzione di **113D** [157] (106.5 mg,

0.29 mmol) in 5 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, raffreddata a 0°C, alla quale sono aggiunti in sequenza: acido 2,2-bis-(4-metossifenil) acetico **118** (117.0 mg, 0.43 mmol), DMAP (28.0 mg, 0.23 mmol) e EDCI (98.5 mg, 0.99 mmol). Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia sotto pressione (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 98:2:0.2). Si ottengono così 90.6 mg di prodotto puro come olio incolore che viene trasformato nel cloridrato.

**Base: resa:** 57%.

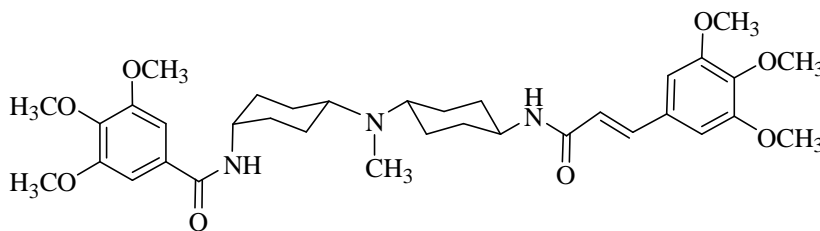
<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.28 (s, 2H, CH arom. benz.), 7.22 (d, 4H, CH arom., J=8.8 Hz), 6.84 (d, 4H, CH arom., J=8.8 Hz), 5.00 (bs, 1H, CH<sub>eq</sub>O), 4.92 (s, 1H, CH alif.), 4.90-4.80 (m, 1H, CH<sub>ax</sub>O), 3.89 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 3.88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.75 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 2.61-2.48 (m, 2H, NCH), 2.24-2.10 (m, 5H, NCH<sub>3</sub> e CH<sub>2</sub>), 2.99-1.88 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.87-1.78 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.61-1.38 (m, 10H, CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 172.20 (C), 165.65 (C), 158.63 (C), 152.90 (C), 142.14 (C), 131.35 (C), 129.59 (CH arom.), 125.82 (C), 113.89 (CH arom.), 106.81 (CH arom. benz.), 73.57 (CHO), 69.87 (CHO), 60.91 (OCH<sub>3</sub>), 58.29 (NCH), 56.24 (OCH<sub>3</sub>), 55.97 (CH alif.), 55.21 (OCH<sub>3</sub>), 32.77 (NCH<sub>3</sub>), 30.95 (CH<sub>2</sub>), 29.31 (CH<sub>2</sub>), 27.75 (CH<sub>2</sub>), 24.51 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 108-110°C.

#### 5.1.4. Prodotti finali della serie dicicloesamica ammidica

##### 3,4,5-trimetossi-N-(cis 4-(metil((trans 4-((2E)-3-(3,4,5-trimetossifenil)prop-2-enamido)cicloesil)ammino)cicloesil)benzammide (cis/trans 38A) (CG17A) [145]



Ad una soluzione di **12A** (60.0 mg, 0.10 mmol), in 5 mL di etanolo, vengono aggiunti 0.06 mL di HCOOH (1.63 mmol) e 0.01 mL di una

soluzione acquosa di HCHO al 37% (0.48 mmol). La miscela di reazione viene scaldata a 80°C, sotto agitazione magnetica, per 3 h. Trascorso questo tempo, il solvente viene eliminato sotto vuoto, il residuo viene ripreso con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e la fase organica lavata per 3 volte con una soluzione satura di NaHCO<sub>3</sub>. La fase organica viene anidrificata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, che viene poi allontanato per filtrazione, ed il solvente viene rimosso per evaporazione a pressione ridotta. Il grezzo di reazione viene purificato con cromatografia su colonna sotto pressione, eluendo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 90:10:0.1. Si ottengono 45.0 mg di prodotto puro sotto forma di olio incolore. Quindi si procede alla formazione del cloridrato per reazione con 2 eq di acetil cloruro in MeOH anidro. Il sale viene poi triturato con etere etilico anidro.

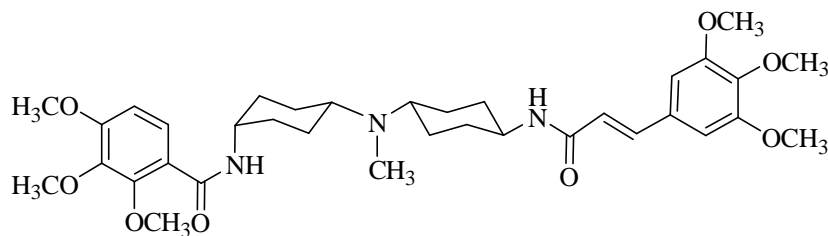
**Base: resa:** 73%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.48 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz), 6.96 (s, 2H, CH arom. benz.), 6.67 (s, 2H, CH arom. cinn.), 6.28 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz), 4.21-4.10 (m, 1H, CHN), 3.82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.81 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 3.76 (s, 10H, OCH<sub>3</sub> e CHN), 2.71-2.60 (m, 1H, CHN), 2.56-2.45 (m, 1H, CHN), 2.20 (s, 3H, CH<sub>3</sub>N), 2.18-2.01 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.76-1.64 (m, 8H, CH<sub>2</sub>), 1.53-1.42 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.21-1.12 (m, 4H, CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 166.59 (CO), 165.16 (CO), 153.36 (C), 153.15 (C), 140.78 (C=C), 139.51 (C), 130.44 (C), 130.20 (C), 128.07 (C), 120.31 (C=C), 104.92 (CH arom), 104.55 (CH arom), 60.95 (OCH<sub>3</sub>), 57.83 (NCH), 57.48 (NCH), 56.48 (OCH<sub>3</sub>), 56.09 (OCH<sub>3</sub>), 48.22 (OCH<sub>3</sub>), 45.44 (NCH), 32.35 (NCH<sub>3</sub>), 32.27 (CH<sub>2</sub>), 31.76 (CH<sub>2</sub>), 29.42 (CH<sub>2</sub>), 28.45 (CH<sub>2</sub>), 27.94 (CH<sub>2</sub>), 26.58 (CH<sub>2</sub>), 25.50 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 168-170°C.

**2,3,4-trimetossi-N-(cis 4-(metil((trans 4-((2E)-3-(3,4,5-trimetossifenil)prop-2-enammido) cicloesil))ammino)cicloesil)benzammide (cis/trans 39A) (CG15A) [145]**



Si procede come sopra descritto per la sintesi del composto *cis/trans* **38A**, partendo da 36.0 mg di **125A** (0.10 mmol), 0.04 mL di HCOOH (1.00 mmol) e

0.008 mL di una soluzione acquosa di HCHO al 37% (0.30 mmol). Si ottengono 36.0 mg di prodotto (olio incolore) che non necessita di ulteriore purificazione, quindi si procede alla formazione del cloridrato.

**Base: resa:** 100%.

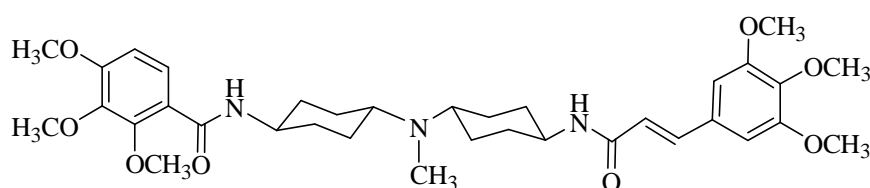
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.87 (d, 1H, CH arom., J=9.2 Hz), 7.49 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz), 6.74 (d, 1H, CH arom., J=9.2 Hz), 6.69 (s, 2H, CH arom.), 6.28 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz), 4.23 (bs, 1H, CHN), 3.97 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.87 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 3.83 (s, 10H, OCH<sub>3</sub> e CHN), 2.50-2.62 (m, 2H, CHN), 2.25 (s, 3H, CH<sub>3</sub>N), 2.00-2.15 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.71-1.95 (m, 4H, CH<sub>2</sub>), 1.40-1.68 (m, 5H, CH<sub>2</sub>), 1.15-1.25 (m, 5H, CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.59 (CO), 164.95 (CO), 157.50 (C), 154.90 (C), 152.60 (C), 141.71 (C), 140.62 (C=C), 139.46 (C), 130.53 (C), 126.57 (CH arom.), 120.48 (C=C), 119.16 (C), 107.59 (CH arom.), 104.89 (CH arom.), 61.68 (OCH<sub>3</sub>), 60.99 (OCH<sub>3</sub>), 60.92 (OCH<sub>3</sub>), 58.35 (NCH), 58.07 (NCH), 56.08 (OCH<sub>3</sub>), 48.46 (NCH), 44.88 (OCH<sub>3</sub>), 44.73 (NCH), 32.60 (CH<sub>2</sub>), 32.19 (NCH<sub>3</sub>), 29.08 (CH<sub>2</sub>), 28.02 (CH<sub>2</sub>), 25.85 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**ESI-MS m/z (%):** 614.2 (100) [M+H]<sup>+</sup>.

**Cloridrato: p.f.:** 119-121°C.

**2,3,4-trimetossi-N-(trans 4-(metil((trans 4-((2E)-3-(3,4,5-trimetossifenil)prop-2-enammido) cicloesil))ammino)cicloesil)benzammide (trans/trans 39B) (CG15B) [145]**



Si procede come sopra descritto per la sintesi del composto *cis/trans* **38A**, partendo da 64.0 mg di **125B** (0.10

mmol), 0.07 mL di HCOOH (1.70 mmol) e 0.014 mL di una soluzione acquosa di HCHO al 37% (0.50 mmol). Il grezzo di reazione viene purificato mediante colonna cromatografica per gravità, usando come eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 90:10:0.1. Si ottengono 28.0 mg di prodotto (olio incolore) che viene trasformato nel cloridrato.

**Base: resa:** 44%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.86 (d, 1H, CH arom., J=9.2 Hz), 7.50 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz), 6.75 (d, 1H, CH arom., J=9.2 Hz), 6.71 (s, 2H, CH arom.), 5.27 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz), 3.91 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.88 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>), 3.85 (s, 11H, OCH<sub>3</sub> e CHN), 2.49-2.60 (m, 2H, CHN), 2.26 (s, 3H, CH<sub>3</sub>N), 1.90-2.22 (m, 6H, CH<sub>2</sub>), 1.75-1.89 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.40-1.52 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.10-1.33 (m, 6H, CH<sub>2</sub>) ppm.



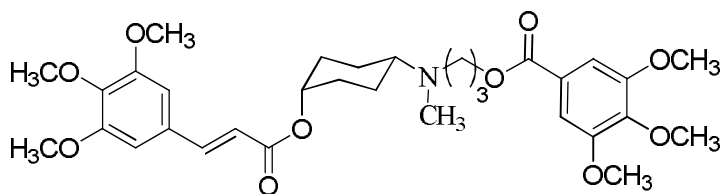
**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 165.02 (CO), 164.02 (CO), 156.28 (C), 153.38 (C), 152.26 (C), 141.77 (C), 140.71 (C=C), 139.47 (C), 130.51 (C), 126.60 (CH arom.), 120.39 (C=C), 119.22 (C), 107.62 (CH arom.), 104.88 (CH arom.), 61.46 (OCH<sub>3</sub>), 61.00 (OCH<sub>3</sub>), 59.02 (NCH), 58.76 (NCH), 56.10 (OCH<sub>3</sub>), 56.05 (OCH<sub>3</sub>), 52.58 (NCH), 48.42 (OCH<sub>3</sub>), 48.13 (OCH<sub>3</sub>), 33.12 (NCH<sub>3</sub>), 32.65 (CH<sub>2</sub>), 32.60 (CH<sub>2</sub>), 32.00 (CH<sub>2</sub>), 28.70 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**ESI-MS *m/z* (%):** 640.4 (100) [M+H]<sup>+</sup>.

**Cloridrato: p.f.:** 142-143°C.

### 5.1.5. Prodotti finali della serie cicloesilamminica

#### 3-(metil((1*s*,4*s*)-4-(((*E*)-3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilil)ossi)cicloesil)ammino)propil 3,4,5-trimetossibenzoato (*cis* 40A) (FB10A)



Ad una soluzione di **133A** (68.0 mg, 0.17 mmol) in 5 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, raffreddata a 0°C, vengono aggiunti in sequenza acido 3,4,5-trimetossibenzoico (37.1 mg,

0.25 mmol), DMAP (16.3 mg, 0.13 mmol) e EDCI (57.7 mg, 0.30 mmol). La miscela di reazione viene mantenuta, in agitazione sotto flusso di azoto, a 0°C per 1 h poi a temperatura ambiente per 72 h. La miscela di reazione viene ripresa con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> lavata 3 volte con H<sub>2</sub>O e 2 volte con una soluzione satura di NaHCO<sub>3</sub>. La fase organica viene anidrificata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro che viene poi allontanato per filtrazione ed il solvente eliminato per evaporazione sotto vuoto. Il prodotto grezzo così ottenuto viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione, eluendo con WE2. Il composto puro viene ottenuto sotto forma di olio incolore (55.0 mg).

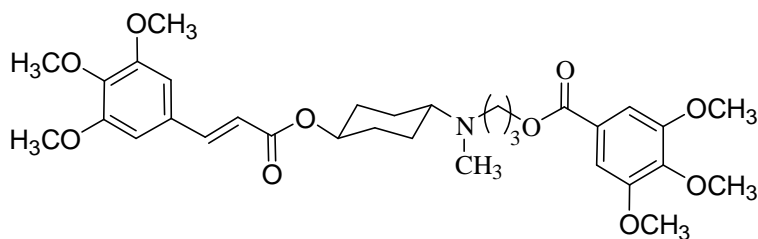
**Base: resa:** 55%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.57 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.27 (s, 2H, CH arom.); 6.74 (s, 2H, CH arom.); 6.33 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 5.13-5.06 (m, 1H, OCH<sub>eq</sub>); 4.36 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.87 (m, 18H, 6OCH<sub>3</sub>); 2.65 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N, J=6.8 Hz); 2.52-2.44 (m, 1H, NCH<sub>ax</sub>); 2.32 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.03-1.94 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.69-1.56 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.33 (CO); 166.22 (CO); 153.41 (C); 140.05 (C); 117.89 (C=C); 106.76 (CH arom.); 105.34 (CH arom.); 69.29 (OCH); 63.50 (CH<sub>2</sub>); 61.36 (OCH<sub>3</sub>); 60.93 (NCH); 60.88 (OCH<sub>3</sub>); 56.19 (OCH<sub>3</sub>); 50.18 (CH<sub>2</sub>); 37.93 (NCH<sub>3</sub>); 29.27 (CH<sub>2</sub>); 26.80 (CH<sub>2</sub>); 23.67 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 62-64°C.

#### 3-(metil((1*r*,4*r*)-4-(((*E*)-3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilil)ossi)cicloesil)ammino)propil 3,4,5-trimetossibenzoato (*trans* 40B) (FB10B)



Si usa la stessa procedura descritta per il composto **40A**, a partire dall'intermedio **133B**.

**Base: resa:** 58%.

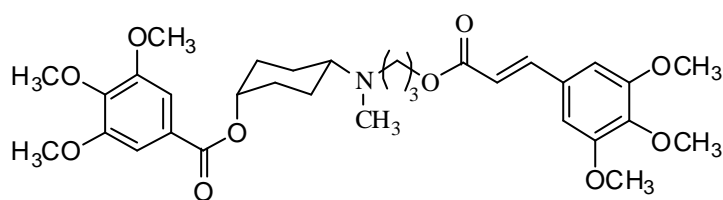
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.60 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.29

(s, 2H, CH arom.); 6.76 (s, 2H, CH arom.); 6.34 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.89-4.65 (m, 1H, OCH<sub>ax</sub>); 4.36 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=4.8 Hz); 3.87 (s, 18H, 6OCH<sub>3</sub>); 2.59 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N, J=6.4 Hz); 2.50-2.47 (m, 1H, NCH<sub>ax</sub>); 2.29 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.17-2.09 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.94-1.88 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.44-1.24 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 166.33 (CO); 166.22 (CO); 153.41 (C); 140.05 (C); 117.89 (C=C); 106.76 (CH aromatic); 105.34 (CH aromatic); 69.29 (OCH); 63.50 (CH<sub>2</sub>); 61.36 (OCH<sub>3</sub>); 60.93 (NCH); 60.88 (OCH<sub>3</sub>); 56.19 (OCH<sub>3</sub>); 50.18 (CH<sub>2</sub>); 37.93 (NCH<sub>3</sub>); 29.27 (CH<sub>2</sub>); 26.80 (CH<sub>2</sub>); 23.67 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

**(1s,4s)-4-(metil(3-(((E)-3-(3,4,5-trimetossifenil)acrililossi)propil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (cis 41A) (FRA120A)**



Si usa la stessa procedura descritta per il composto **40A**, a partire dall'intermedio **134A** e utilizzando l'acido *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico.

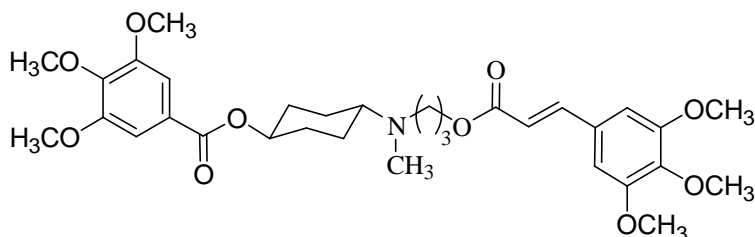
**Base: resa:** 74%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.57 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.30 (s, 2H, CH arom.); 6.72 (s, 2H, CH arom.); 6.31 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 5.22-5.17 (m, 1H, OCH<sub>eq</sub>); 4.26 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3.89 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.86 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 2.65-2.61 (m, 2H, CH<sub>2</sub>N); 2.59-2.48 (m, 1H, NCH<sub>ax</sub>); 2.32 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.13-2.07 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.91-1.73 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 166.94 (CO); 166.35 (CO); 153.44 (C); 152.94 (C); 144.77 (C=C); 142.24 (C); 140.21 (C); 129.93 (C); 129.81 (C); 117.23 (C=C); 106.79 (CH arom.); 105.27 (CH arom.); 69.90 (OCH); 62.90 (CH<sub>2</sub>); 61.25 (NCH); 60.96 (OCH<sub>3</sub>); 60.94 (OCH<sub>3</sub>); 56.26 (OCH<sub>3</sub>); 56.24 (OCH<sub>3</sub>); 50.32 (CH<sub>2</sub>); 37.42 (NCH<sub>3</sub>); 29.39 (CH<sub>2</sub>); 26.91 (CH<sub>2</sub>); 23.33 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 58-60°C.

**(1r,4r)-4-(metil(3-(((E)-3-(3,4,5-trimetossifenil)acrililossi)propil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (trans 41B) (FRA120B)**



Si usa la stessa procedura descritta per il composto **40A**, a partire dall'intermedio **134B** e utilizzando l'acido *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico.

**Base: resa:** 75%.

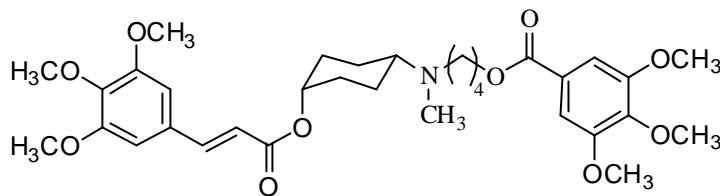
<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.56 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.23 (s, 2H, CH arom.); 6.72 (s, 2H, CH arom.); 6.32 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.89-4.79 (m, 1H, OCH<sub>ax</sub>); 4.22 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3.86 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.84 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 2.54 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N, J=6.8 Hz); 2.49-2.41 (m, 1H, NCH<sub>ax</sub>); 2.25 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.16-2.10 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.89-1.82 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.60-1.39 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 166.96 (CO); 166.62 (CO); 153.42 (C); 152.87 (C); 144.71 (C=C); 142.17 (C); 140.19 (C); 129.88 (C); 128.29 (C); 117.30 (C=C); 106.82 (CH arom.); 105.27 (CH

arom.); 73.58 (OCH); 62.90 (CH<sub>2</sub>); 61.64 (NCH); 60.90 (OCH<sub>3</sub>); 60.85 (OCH<sub>3</sub>); 56.22 (OCH<sub>3</sub>); 56.14 (OCH<sub>3</sub>); 50.22 (CH<sub>2</sub>); 37.76 (NCH<sub>3</sub>); 30.83 (CH<sub>2</sub>); 27.17 (CH<sub>2</sub>); 25.85 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

**4-(metil((1s,4s)-4-(((E)-3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)cicloesil)ammino)butil 3,4,5-trimetossibenzoato (cis 42A) (FRA126A)**



Si usa la stessa procedura descritta per il composto **40B**, a partire dall'intermedio **135A**.

**Base: resa:** 93%.

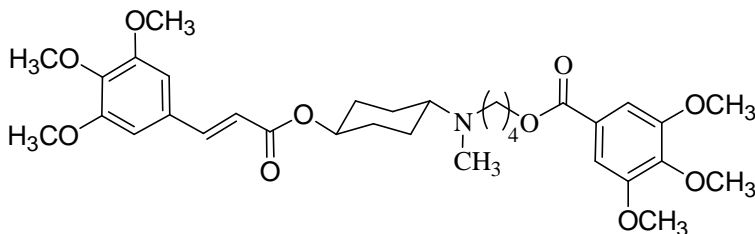
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.58 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.28

(s, 2H, CH arom.); 6.78 (s, 2H, CH arom.); 6.34 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 5.12-5.05 (m, 1H, OCH<sub>eq</sub>); 4.33 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.6 Hz); 3.89 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2.55 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N, J=7.4 Hz); 2.50-2.40 (m, 1H, NCH<sub>ax</sub>); 2.30 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.09-1.98 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.85-1.75 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.75-1.49 (m, 8H, 5CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.36 (CO); 166.27 (CO); 153.43 (C); 152.92 (C); 144.47 (C=C); 142.50 (C); 140.02 (C); 129.97 (C); 125.40 (C); 117.95 (C=C); 106.82 (CH arom.); 105.23 (CH arom.); 69.20 (OCH); 65.02 (CH<sub>2</sub>); 61.48 (NCH); 60.96 (OCH<sub>3</sub>); 60.92 (OCH<sub>3</sub>); 56.25 (OCH<sub>3</sub>); 56.19 (OCH<sub>3</sub>); 53.37 (CH<sub>2</sub>); 37.85 (NCH<sub>3</sub>); 29.38 (CH<sub>2</sub>); 26.79 (CH<sub>2</sub>); 23.92 (CH<sub>2</sub>); 23.50 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 63-66°C.

**4-(metil((1r,4r)-4-(((E)-3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)cicloesil)ammino)butil 3,4,5-trimetossibenzoato (trans 42B) (FRA126B)**



Si usa la stessa procedura descritta per il composto **40A**, a partire dall'intermedio **135B**.

**Base: resa:** 52%.

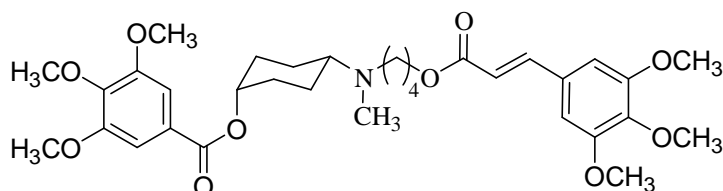
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.56 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.29

(s, 2H, CH arom.); 6.74 (s, 2H, CH arom.); 6.30 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.82-4.69 (m, 1H, OCH<sub>ax</sub>); 4.33 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.6 Hz); 3.90 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 3.87 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 2.53-2.40 (m, 3H, CH<sub>2</sub>N e NCH<sub>ax</sub>); 2.26 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.14-2.08 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.92-1.83 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.82-1.72 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.68-1.53 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.45-1.38 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.42 (CO); 166.26 (CO); 153.41 (C); 152.92 (C); 144.54 (C=C); 129.95 (C); 125.43 (C); 117.76 (C=C); 106.81 (CH arom.); 105.18 (CH arom.); 72.91 (OCH); 65.03 (CH<sub>2</sub>); 61.61 (NCH); 60.96 (OCH<sub>3</sub>); 60.92 (OCH<sub>3</sub>); 56.26 (OCH<sub>3</sub>); 56.14 (OCH<sub>3</sub>); 53.39 (CH<sub>2</sub>); 37.67 (NCH<sub>3</sub>); 30.92 (CH<sub>2</sub>); 26.72 (CH<sub>2</sub>); 25.86 (CH<sub>2</sub>); 24.26 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 55-58°C.

**(1s,4s)-4-(metil(4-(((E)-3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)butil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (cis 43A) (FRA123A)**



Si usa la stessa procedura descritta per il composto **40A**, a partire dall'intermedio **136A** e utilizzando l'acido *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico.

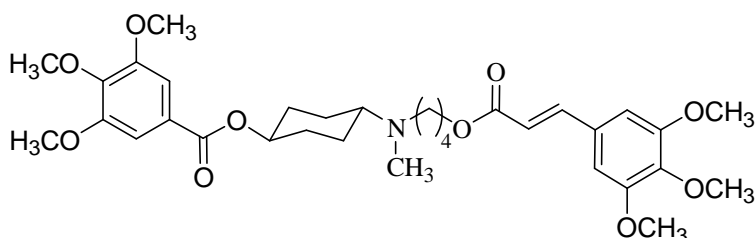
**Base: resa:** 75%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.57 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.30 (s, 2H, CH arom.); 6.73 (s, 2H, CH arom.); 6.31 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 5.24-5.12 (m, 1H, OCH<sub>eq</sub>); 4.21 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3.90 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.89 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.87 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 2.60-2.45 (m, 3H, CH<sub>2</sub>N e NCH<sub>ax</sub>); 2.28 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.18-2.02 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.75-1.68 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>); 1.68-1.52 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.98 (CO); 166.35 (CO); 153.42 (C); 152.92 (C); 144.69 (C=C); 142.10 (C); 140.02 (C); 129.88 (C); 125.94 (C); 117.34 (C=C); 106.76 (CH arom.); 105.23 (CH arom.); 69.91 (OCH); 64.41 (CH<sub>2</sub>); 61.24 (NCH); 60.94 (OCH<sub>3</sub>); 60.90 (OCH<sub>3</sub>); 56.17 (OCH<sub>3</sub>); 56.15 (OCH<sub>3</sub>); 53.32 (CH<sub>2</sub>); 37.53 (NCH<sub>3</sub>); 29.40 (CH<sub>2</sub>); 26.77 (CH<sub>2</sub>); 24.13 (CH<sub>2</sub>); 23.21 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 60-63°C.

**(1r,4r)-4-(metil(4-(((E)-3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)butil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (trans 43B) (FRA123B)**



Si usa la stessa procedura descritta per il composto **40A**, a partire dall'intermedio **136B** e utilizzando l'acido *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico.

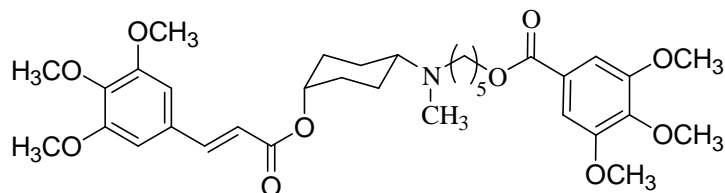
**Base: resa:** 61%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.57 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.25 (s, 2H, CH arom.); 6.73 (s, 2H, CH arom.); 6.32 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.89-4.79 (m, 1H, OCH<sub>ax</sub>); 4.20 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3.86 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.84 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 2.57-2.40 (m, 3H, CH<sub>2</sub>N e NCH<sub>ax</sub>); 2.25 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.21-2.10 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.93-1.85 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.75-1.68 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.68-1.35 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.99 (CO); 165.64 (CO); 153.42 (C); 152.87 (C); 144.65 (C=C); 142.14 (C); 140.19 (C); 129.91 (C); 125.74 (C); 117.40 (C=C); 106.80 (CH arom.); 105.22 (CH arom.); 73.63 (OCH); 64.44 (CH<sub>2</sub>); 61.60 (NCH); 60.93 (OCH<sub>3</sub>); 60.88 (OCH<sub>3</sub>); 56.23 (OCH<sub>3</sub>); 56.17 (OCH<sub>3</sub>); 53.37 (CH<sub>2</sub>); 37.75 (NCH<sub>3</sub>); 30.88 (CH<sub>2</sub>); 27.71 (CH<sub>2</sub>); 25.88 (CH<sub>2</sub>); 24.39 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 62-64°C.

**5-(metil((1s,4s)-4-(((E)-3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)cicloesil)ammino)pentil 3,4,5-trimetossibenzoato (cis 44A) (ELF26A)**



Si usa la stessa procedura descritta per il composto **40A**, a partire dall'intermedio **137A**.

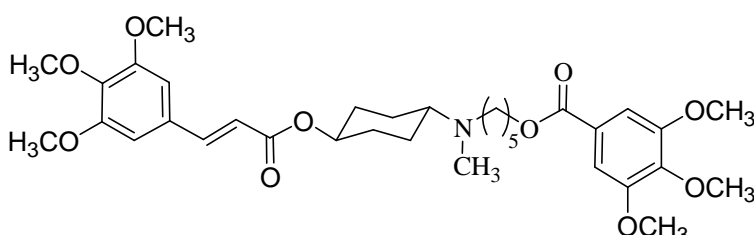
**Base: resa:** 82%. (olio incolore).

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.56 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.26 (s, 2H, CH arom.); 6.73 (s, 2H, CH arom.); 6.37 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 5.10-5.06 (m, 1H, OCH<sub>eq</sub>); 4.29 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.6 Hz); 3.87 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 2.48 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N, J=7.2 Hz); 2.48-2.38 (m, 1H, NCH<sub>ax</sub>); 2.27 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.08-2.00 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.85-1.73 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.72-1.59 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.59-1.47 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.55-1.38 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.32 (CO); 166.23 (CO); 153.41 (C); 152.91 (C); 144.40 (C=C); 142.19 (C); 140.05 (C); 129.97 (C); 125.44 (C); 117.97 (C=C); 106.83 (CH arom.); 105.23 (CH arom.); 69.22 (OCH); 65.11 (CH<sub>2</sub>); 61.33 (NCH); 60.92 (OCH<sub>3</sub>); 60.87 (OCH<sub>3</sub>); 56.23 (OCH<sub>3</sub>); 56.17 (OCH<sub>3</sub>); 53.80 (CH<sub>2</sub>); 37.89 (NCH<sub>3</sub>); 29.37 (CH<sub>2</sub>); 28.77 (CH<sub>2</sub>); 27.09 (CH<sub>2</sub>); 24.02 (CH<sub>2</sub>); 23.54 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** solido bassofondente.

**5-(metil((1r,4r)-4-(((E)-3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)cicloesil)ammino)pentil 3,4,5-trimetossibenzoato (*trans* 44B) (ELF26B)**



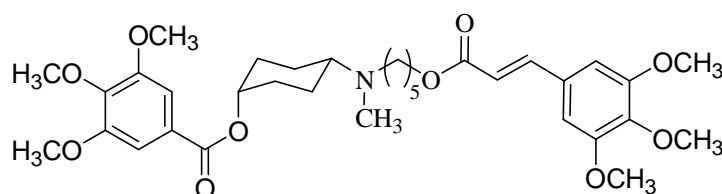
Si usa la stessa procedura descritta per il composto **40A**, a partire dall'intermedio **137B**. **Base: resa:** 42%. (olio incolore)

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.54 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.27 (s, 2H, CH arom.); 6.72 (s, 2H, CH arom.); 6.29 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.80-4.68 (m, 1H, OCH<sub>ax</sub>); 4.29 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.6 Hz); 3.88 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 3.84 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 2.48-2.38 (m, 3H, CH<sub>2</sub>N e NCH<sub>ax</sub>); 2.22 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.14-2.07 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.90-1.82 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.80-1.72 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.60-1.30 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.38 (CO); 166.23 (CO); 153.40 (C); 152.91 (C); 144.48 (C=C); 142.18 (C); 140.05 (C); 129.95 (C); 125.47 (C); 117.79 (C=C); 106.82 (CH arom.); 105.19 (CH arom.); 72.97 (OCH); 65.14 (CH<sub>2</sub>); 61.51 (NCH); 60.92 (OCH<sub>3</sub>); 60.88 (OCH<sub>3</sub>); 56.23 (OCH<sub>3</sub>); 56.12 (OCH<sub>3</sub>); 53.72 (CH<sub>2</sub>); 37.83 (NCH<sub>3</sub>); 30.94 (CH<sub>2</sub>); 28.74 (CH<sub>2</sub>); 27.58 (CH<sub>2</sub>); 25.90 (CH<sub>2</sub>); 23.95 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** solido bassofondente.

**(1s,4s)-4-(metil(5-(((E)-3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)pentil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (*cis* 45A) (ELF34A)**



Si usa la stessa procedura descritta per il composto **40A**, a partire dall'intermedio **138A** e utilizzando l'acido *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico.

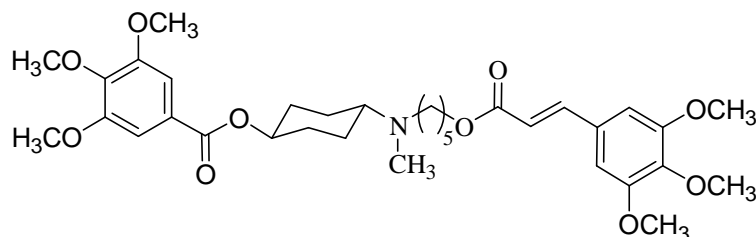
**Base: resa:** 77%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.55 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.28 (s, 2H, CH arom.); 6.72 (s, 2H, CH arom.); 6.31 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 5.20-5.10 (m, 1H, OCH<sub>eq</sub>); 4.17 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.6 Hz); 3.87 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.84 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2.56-2.42 (m, 3H, CH<sub>2</sub>N e NCH<sub>ax</sub>); 2.27 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.15-2.02 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.79-1.68 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>); 1.68-1.38 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 166.98 (CO); 166.32 (CO); 153.40 (C); 152.91 (C); 144.64 (C=C); 142.16 (C); 140.08 (C); 129.88 (C); 125.92 (C); 117.36 (C=C); 106.74 (CH arom.); 105.21 (CH arom.); 69.85 (OCH); 64.50 ( $\text{CH}_2$ ); 61.17 (NCH); 60.91 ( $\text{OCH}_3$ ); 60.87 ( $\text{OCH}_3$ ); 56.15 ( $\text{OCH}_3$ ); 56.13 ( $\text{OCH}_3$ ); 53.63 ( $\text{CH}_2$ ); 37.60 ( $\text{NCH}_3$ ); 29.37 ( $\text{CH}_2$ ); 28.72 ( $\text{CH}_2$ ); 27.18 ( $\text{CH}_2$ ); 23.99 ( $\text{CH}_2$ ); 23.14 ( $\text{CH}_2$ ) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 50-53°C.

**(1*r*,4*r*)-4-(metil(5-(((*E*)-3-(3,4,5-trimetossifenil)acriloil)ossi)pentil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (*trans* 45B) (ELF34B)**



Si usa la stessa procedura descritta per il composto **40A**, a partire dall'intermedio **138B** e utilizzando l'acido *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico.

**Base: resa:** 43%. (olio incolore).

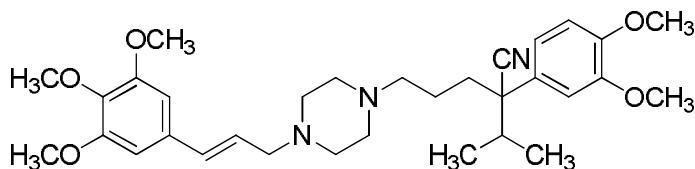
$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.56 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 7.24 (s, 2H, CH arom.); 6.72 (s, 2H, CH arom.); 6.32 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 4.89-4.79 (m, 1H,  $\text{OCH}_{\text{ax}}$ ); 4.20 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.6$  Hz); 3.87 (s, 6H,  $2\text{OCH}_3$ ); 3.86 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.85 (s, 6H,  $2\text{OCH}_3$ ); 3.84 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 2.53-2.38 (m, 3H,  $\text{CH}_2\text{N}$  e  $\text{NCH}_{\text{ax}}$ ); 2.24 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ); 2.21-2.10 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.93-1.82 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.78-1.68 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.68-1.35 (m, 8H,  $4\text{CH}_2$ ) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 166.99 (CO); 165.61 (CO); 153.42 (C); 152.87 (C); 144.60 (C=C); 142.17 (C); 140.12 (C); 129.92 (C); 125.73 (C); 117.43 (C=C); 106.83 (CH arom.); 105.25 (CH arom.); 73.60 (OCH); 64.53 ( $\text{CH}_2$ ); 61.52 (NCH); 60.91 ( $\text{OCH}_3$ ); 60.86 ( $\text{OCH}_3$ ); 56.23 ( $\text{OCH}_3$ ); 56.14 ( $\text{OCH}_3$ ); 53.66 ( $\text{CH}_2$ ); 37.87 ( $\text{NCH}_3$ ); 29.65 ( $\text{CH}_2$ ); 28.71 ( $\text{CH}_2$ ); 27.48 ( $\text{CH}_2$ ); 25.84 ( $\text{CH}_2$ ); 25.94 ( $\text{CH}_2$ ) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** solido bassofondente.

### 5.1.6. Prodotti finali della serie piperazinica

**(*E*)-2-(3,4-dimetossifenil)-2-isopropil-5-(4-(3-(3,4,5-trimetossifenil)allil)piperazina-1-il)pentano nitrile (46) (FRA105)**



Ad una soluzione di **143** (60.0 mg, 0.21 mmol) in 2 mL di  $\text{CH}_3\text{CN}$  anidro, vengono aggiunti  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (28.4 mg, 0.21 mmol) ed una soluzione di **153** (70.0 mg, 0.21 mmol) in 1 mL di  $\text{CH}_3\text{CN}$  anidro. La miscela di reazione viene scaldata a 60°C, in agitazione magnetica e sotto flusso di azoto, per 3 h e poi viene mantenuta a temperatura ambiente per 16 h. La miscela di reazione viene ripresa con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e lavata 3 volte con acqua basica. Quindi la fase organica viene anidrificata con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ed il solvente rimosso per evaporazione sotto vuoto. Il prodotto grezzo viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione, usando come eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$  95:5:0.5. Si ottengono 70.0 mg di prodotto puro come olio giallo. Quindi si procede alla formazione del cloridrato per reazione con 2 eq di acetil cloruro in  $\text{MeOH}$  anidro. Il sale viene poi triturato con etere etilico anidro.

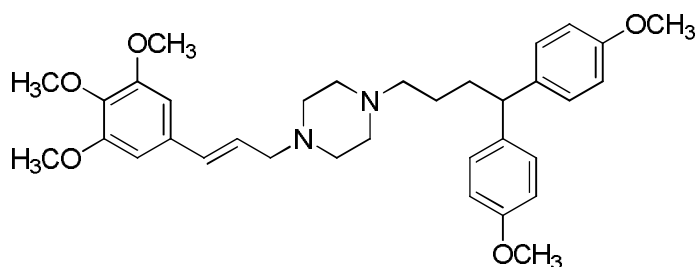
**Base: resa:** 62%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 6.92-6.90 (m, 1H, CH arom.); 6.89 (s, 2H, CH arom.); 6.59 (s, 2H, CH arom.); 6.42 (d, 1H, C=C, J=16.0 Hz); 6.17 (dt, 1H, C=C, J=16.0 Hz, 6.8 Hz); 3.91-3.82 (m, 15H, 5OCH<sub>3</sub>); 3.12 (d, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 2.65-2.32 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub> pip.); 2.29 (t, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.18-2.02 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.81-1.70 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.49-1.62 (m, 1H, CH); 1.18 (d, 3H, CH<sub>3</sub>, J=6.4 Hz); 0.78 (d, 3H, CH<sub>3</sub>, J=6.8 Hz) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 153.29 (C); 149.03 (C); 148.30 (C); 132.61 (C=C); 132.59 (C); 130.65 (C); 126.07 (C=C); 121.35 (C); 118.69 (CH arom.); 111.14 (CH arom.); 109.58 (CH arom.); 103.35 (CH arom.); 60.88 (OCH<sub>3</sub>); 60.88 (CH<sub>2</sub>C=C); 57.92 (CH<sub>2</sub>); 56.03 (OCH<sub>3</sub>); 56.01 (OCH<sub>3</sub>); 55.99 (OCH<sub>3</sub>); 55.90 (OCH<sub>3</sub>); 53.37 (C); 53.13 (CH<sub>2</sub> pip.); 53.02 (CH<sub>2</sub> pip.); 37.84 (CH); 35.68 (CH<sub>2</sub>); 22.93 (CH<sub>2</sub>); 18.96 (CH<sub>3</sub>); 18.59 (CH<sub>3</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

**(E)-1-(4,4-bis(4-metossifenil)butil)-4-(3-(3,4,5-trimetossifenil)allil)piperazina (47)  
(FRA115)**



Si procede come per **46**, partendo da una soluzione di **143** (43.0 mg, 0.15 mmol) in 2 mL CH<sub>3</sub>CN anidro, **157** (51.0 mg, 0.15 mmol) e K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (20.0 mg, 0.15 mmol). Il grezzo di reazione viene purificato con una cromatografia su colonna

per gravità (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 95:5:0.5). Si ottengono 50.0 mg di prodotto puro come olio marrone chiaro che viene trasformato nel cloridrato.

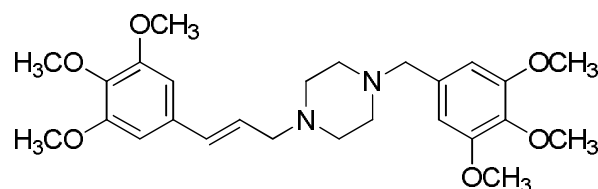
**Base: resa:** 60%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.12 (d, 4H, CH arom., J=8.8 Hz); 6.84 (d, 4H, CH arom., J=8.8 Hz); 6.60 (s, 2H, CH aromatic); 6.43 (d, 1H, C=C, J=15.6 Hz); 6.19 (dt, 1H, C=C, J=15.6 Hz, 6.8 Hz); 3.92-3.72 (m, 16H, CH e 5OCH<sub>3</sub>); 3.13 (d, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 2.47 (bs, 8H, 4CH<sub>2</sub> pip.); 2.36 (t, 2H, 2CH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 2.05-1.93 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.58-1.48 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 157.81 (C); 133.31 (C); 137.60 (C); 132.88 (C=C); 132.66 (C); 128.61 (CH arom.); 126.22 (C=C); 113.78 (CH arom.); 103.34 (CH arom.); 60.96 (OCH<sub>3</sub>); 60.92 (CH<sub>2</sub>C=C); 58.59 (CH<sub>2</sub>); 55.21 (OCH<sub>3</sub>); 53.24 (OCH<sub>3</sub>); 53.24 (CH<sub>2</sub> pip.); 53.19 (CH<sub>2</sub> pip.); 49.58 (CH); 33.97 (CH<sub>2</sub>); 25.42 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

**(E)-1-(3,4,5-trimetossibenzil)-4-(3-(3,4,5-trimetossifenil)allil)piperazina (48) (ELF43)**



Si procede come per **46**, partendo da una soluzione di **143** (67.0 mg, 0.23 mmol) in 4 mL CH<sub>3</sub>CN anidro, **144** (59.6 mg, 0.28 mmol) e K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (32.0 mg, 0.22 mmol). Il grezzo di reazione viene purificato con una cromatografia su colonna sotto pressione

(eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 98:2:0.2). Si ottengono 66.0 mg di prodotto puro come olio giallo pallido che viene trasformato nel cloridrato.

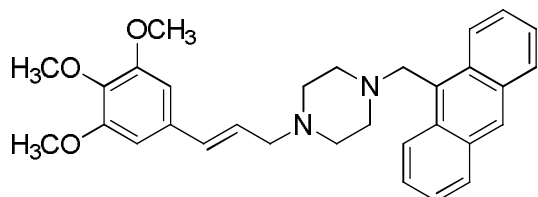
**Base: resa:** 61%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 6.58 (s, 2H, CH arom.); 6.54 (s, 2H, CH arom.); 6.42 (d, 1H, C=C, J=15.6 Hz); 6.18 (dt, 1H, C=C, J=15.6 Hz, 6.8 Hz); 3.90-3.75 (m, 18H, 6OCH<sub>3</sub>); 3.44 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 3.15 (d, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.4 Hz); 2.52 (bs, 8H, 4CH<sub>2</sub> pip.) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 153.31 (C); 153.09 (C); 137.82 (C); 137.00 (C); 133.78 (C); 133.02 (C=C); 132.59 (C); 126.00 (C=C); 105.91 (CH arom.); 103.40 (CH arom.); 63.16 (CH<sub>2</sub>); 60.90 (CH<sub>2</sub>C=C); 60.81 (OCH<sub>3</sub>); 56.13 (OCH<sub>3</sub>); 55.04 (OCH<sub>3</sub>); 53.20 (CH<sub>2</sub> pip.); 52.96 (CH<sub>2</sub> pip.) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 87°C (d).

**(E)-1-(antracen-9-ilmetil)-4-(3-(3,4,5-trimetossifenil)allil)piperazina (49) (ELF44)**



Si procede come per **46**, partendo da una soluzione di **143** (59.4 mg, 0.20 mmol) in 4 mL CH<sub>3</sub>CN anidro, **144** (55.0 mg, 0.24 mmol) e K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (28.0 mg, 0.24 mmol). In questo caso però la reazione viene mantenuta a 60°C per 28 h prima di procedere con la lavorazione. Il

grezzo di reazione viene purificato con una cromatografia su colonna sotto pressione (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 98:2:0.2). Si ottengono 34.0 mg di prodotto puro come olio giallo che viene trasformato nel cloridrato.

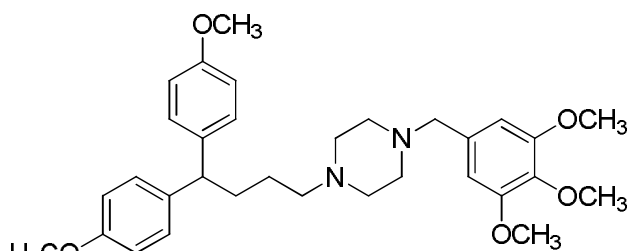
**Base: resa:** 35%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 8.48 (d, 2H, CH arom., J=8.8 Hz); 8.41 (s, 1H, CH arom.); 8.00 (d, 2H, CH arom., J=8.4 Hz); 7.68-7.40 (m, 4H, CH arom.); 6.59 (s, 2H, CH arom.); 6.41 (d, 1H, C=C, J=16.0 Hz); 6.21 (dt, 1H, C=C, J=16.0 Hz, 6.4 Hz); 4.47 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 3.85 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.15 (d, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 2.72 (bs, 4H, 2CH<sub>2</sub> pip.); 2.52 (bs, 4H, 2CH<sub>2</sub> pip.) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 153.32 (C); 133.25 (C=C); 132.53 (C); 131.40 (C); 129.55 (C); 128.96 (CH arom.); 127.47 (CH arom.); 125.62 (C=C e CH arom.); 125.07 (CH arom.); 124.86 (CH arom.); 103.43 (CH arom.); 60.92 (OCH<sub>3</sub>); 60.75 (CH<sub>2</sub>); 56.07 (OCH<sub>3</sub>); 54.18 (CH<sub>2</sub>); 53.25 (CH<sub>2</sub> pip.); 52.97 (CH<sub>2</sub> pip.) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 90°C (d).

**1-(4,4-bis(4-metossifenil)butil)-4-(3,4,5-trimetossibenzil)piperazina (50) (ELF37)**



Si procede come per **46**, partendo da una soluzione di **157** (72.0 mg, 0.21 mmol) in 3 mL CH<sub>3</sub>CN anidro, **145** (55.0 mg, 0.21 mmol) e K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (29.0 mg, 0.21 mmol). Il grezzo di reazione viene purificato con una cromatografia su colonna sotto pressione (eluente:

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 97:3:0.3). Si ottengono 57.0 mg di prodotto puro come olio incolore che viene trasformato nel cloridrato.

**Base: resa:** 52%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.12 (d, 4H, CH arom., J=8.4 Hz); 6.80 (d, 4H, CH arom., J=8.4 Hz); 6.55 (s, 2H, CH arom.); 3.85 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.80 (t, 1H, CH, J=8.0 Hz); 3.75 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.42 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 2.44 (bs, 6H, 3CH<sub>2</sub>); 2.38-2.29 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 2.03-1.94 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.49-1.38 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

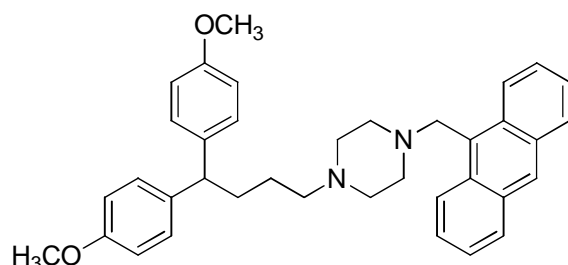


<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 157.80 (C); 153.06 (C); 137.51 (C); 136.87 (C); 134.05 (C); 128.61 (CH arom.); 113.78 (CH arom.); 105.83 (CH arom.); 63.28 (CH<sub>2</sub>); 60.85 (OCH<sub>3</sub>); 58.64 (CH<sub>2</sub>); 56.13 (OCH<sub>3</sub>); 55.22 (OCH<sub>3</sub>); 53.26 (CH<sub>2</sub>); 53.11 (CH<sub>2</sub>); 49.57 (CH); 34.00 (CH<sub>2</sub>); 25.45 (CH<sub>2</sub>) ppm.

ESI-MS *m/z* (%): 353.4 (100) [M+H]<sup>+</sup>.

Cloridrato: p.f.: sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

#### 1-(antracen-9-ilmetil)-4-(4,4-bis(4-metossifenil)butil)piperazina (51) (ELF42)



Si procede come per **46**, partendo da una soluzione di **157** (255.6 mg, 0.73 mmol) in 12 mL CH<sub>3</sub>CN anidro, **148** (202.0 mg, 0.73 mmol) e K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (101.0 mg, 0.73 mmol). Il grezzo di reazione viene purificato con una cromatografia su colonna sotto pressione (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 99:1:0.1). Si

ottengono 79.0 mg di prodotto puro come olio marrone chiaro che viene trasformato nel cloridrato.

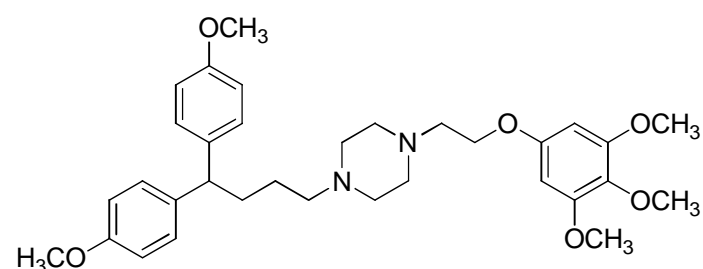
Base: resa: 20%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.48 (d, 2H, CH arom., J=8.8 Hz); 8.41 (s, 1H, CH arom.); 8.00 (d, 2H, CH arom., J=8.0 Hz); 7.61-7.40 (m, 4H, CH arom.); 7.12 (d, 4H, CH arom., J=6.8 Hz); 6.80 (d, 4H, CH arom., J=6.8 Hz); 4.43 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 3.88-3.66 (m, 7H, CH e 2OCH<sub>3</sub>); 2.65 (bs, 4H, 2CH<sub>2</sub> pip.); 2.50-2.22 (m, 6H, 2CH<sub>2</sub> pip. e CH<sub>2</sub>); 2.08-1.90 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.52-1.39 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 157.87 (C); 137.67 (C); 131.46 (C); 129.86 (C); 128.99 (CH aromatic); 128.67 (CH arom.); 127.44 (CH arom.); 125.62 (CH arom.); 125.22 (CH arom.); 124.91 (CH arom.); 113.84 (CH arom.); 58.54 (CH<sub>2</sub>); 55.25 (OCH<sub>3</sub>); 54.32 (CH<sub>2</sub>); 53.37 (CH<sub>2</sub>); 53.21 (CH<sub>2</sub>); 49.59 (CH); 33.98 (CH<sub>2</sub>); 25.39 (CH<sub>2</sub>) ppm.

Cloridrato: P.f.: 120-122°C.

#### 1-(4,4-bis(4-metossifenil)butil)-4-(2-(3,4,5-trimetossifenossi)etil)piperazina (52) (FRA116)



Si procede come per **46**, partendo da una soluzione di **157** (59.0 mg, 0.17 mmol) in 2 mL CH<sub>3</sub>CN anidro, **151** (50.0 mg, 0.17 mmol) e K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (23.0 mg, 0.17 mmol). Il grezzo di reazione viene purificato con una cromatografia su colonna sotto pressione (eluente:

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 95:5:0.5). Si ottengono 70.0 mg di prodotto puro come olio giallo pallido che viene trasformato nel cloridrato.

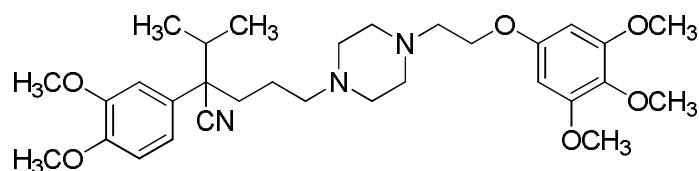
Base: resa: 73%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.14 (d, 4H, CH arom., J=4.4 Hz); 6.80 (d, 4H, CH arom., J=4.4 Hz); 6.15 (s, 2H, CH arom.); 4.05 (t, 2H, OCH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 3.82 (s, 7H, CH e 2OCH<sub>3</sub>); 3.78 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.75 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 2.78 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N, J=6.8 Hz); 2.58 (bs, 4H, 2CH<sub>2</sub> pip.); 2.44 (bs, 4H, 2CH<sub>2</sub> pip.); 2.35 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 2.04-1.92 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.52-1.48 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 157.81 (C); 155.42 (C); 153.68 (C); 137.60 (C); 128.62 (CH arom.); 113.79 (CH arom.); 92.39 (CH arom.); 66.15 ( $\text{OCH}_2$ ); 61.02 ( $\text{OCH}_3$ ); 58.58 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ); 57.25 ( $\text{NCH}_2$ ); 56.09 ( $\text{OCH}_3$ ); 55.22 ( $\text{OCH}_3$ ); 53.66 ( $\text{CH}_2$  pip.); 53.14 ( $\text{CH}_2$  pip.); 49.58 (CH); 33.95 ( $\text{CH}_2$ ); 25.42 ( $\text{CH}_2$ ) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** sale igroscopico, punto di fusione non misurabile.

**2-(3,4-dimetossifenil)-2-isopropil-5-(4-(2-(3,4,5-trimetossifenossi)etil)piperazin-1-il)pentano nitrile (53) (FRA 101)**



Si procede come per **46**, partendo da una **151** (75.0 mg, 0.25 mmol) in 2 mL  $\text{CH}_3\text{CN}$  anidro, **153** (86.0 mg, 0.25 mmol) e  $\text{K}_2\text{CO}_3$  (35.0 mg, 0.25 mmol). Il grezzo di reazione viene purificato con una cromatografia su colonna sotto pressione (eluente:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$  95:5:0.5). Si ottengono 112.0 mg di prodotto puro come olio incolore che viene trasformato nel cloridrato.

**Base: resa:** 80%.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.94-6.87 (m, 1H, CH arom.); 6.86-6.78 (m, 2H, CH arom.); 6.14 (s, 2H, CH arom.); 4.02 (t, 2H,  $\text{OCH}_2$ ,  $J=6.0$  Hz); 3.87 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.86 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.81 (s, 6H, 2 $\text{OCH}_3$ ); 3.76 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 2.75 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ,  $J=6.0$  Hz); 2.55 (bs, 4H, 2 $\text{CH}_2$  pip.); 2.37 (bs, 4H, 2 $\text{CH}_2$  pip.); 2.27 (t, 2H,  $\text{NCH}_2$ ,  $J=7.2$  Hz); 2.14-1.77 (m, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ); 1.54-1.23 (m, 1H, CH); 1.15 (d, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J=3.4$  Hz); 0.77 (d, 3H,  $\text{CH}_3$ ,  $J=3.4$  Hz) ppm.

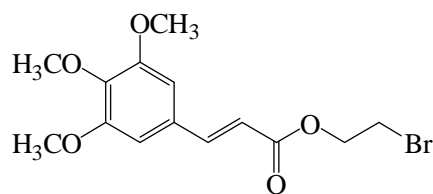
$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 155.38 (C); 153.67 (C); 149.02 (C); 148.30 (C); 130.65 (C); 121.37 (CN); 118.71 (CH arom.); 111.12 (CH arom.); 109.53 (CH arom.); 92.36 (CH arom.); 66.15 ( $\text{OCH}_2$ ); 61.01 ( $\text{OCH}_3$ ); 57.93 ( $\text{CH}_2\text{N}$ ); 57.21 ( $\text{NCH}_2$ ); 56.08 ( $\text{OCH}_3$ ); 55.99 ( $\text{OCH}_3$ ); 53.59 ( $\text{CH}_2$  pip.); 53.38 (CCN); 52.99 ( $\text{CH}_2$  pip.); 37.86 (CH); 35.76 ( $\text{CH}_2$ ); 22.95 ( $\text{CH}_2$ ); 18.97 ( $\text{CH}_3$ ); 18.61 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

**Cloridrato: p.f.:** 90-92°C.

## 5.2. Intermedi

### 5.2.1. Intermedi della serie alchilamminica

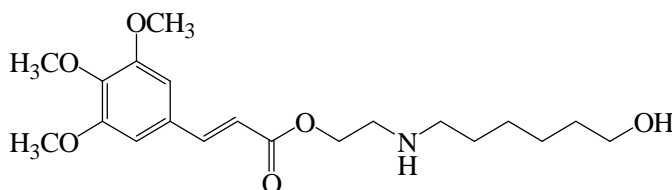
**(E)-2-bromoetil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (54) (ELF 47) [156]**



Ad una soluzione del cloruro acilico dell'acido *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico, ottenuto secondo la procedura generale di sintesi dei cloruri acidi a partire da 1.0 g di acido (4.20 mmol), in 7 mL di  $\text{CHCl}_3$  privo di etanolo, in atmosfera inerte, vengono aggiunti 0.27 mL di 2-bromo-1-etanolo (3.78 mmol). Tale soluzione viene raffreddata a 0°C in bagno di ghiaccio per 90 minuti, dopodiché viene posta a temperatura ambiente per 22 h. La fase organica viene poi lavata per tre volte con una soluzione acquosa di NaOH al 10%, anidrificata con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro ed evaporata sotto vuoto. Si ottiene il prodotto desiderato sotto forma di solido giallo pallido che non necessita di ulteriori purificazioni. **Resa:** 100%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.62 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.74 (s, 2H, 2CH arom.); 6.35 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.50 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.6 Hz); 3.87 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.57 (t, 2H, CH<sub>2</sub>Br, J=6.0 Hz) ppm.

**(E)-2-((6-idrossiesil)amino)etil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (55) (ELF50)**



Si solubilizzano sotto flusso d'azoto 600.0 mg di **54** (1.74 mmol) in 6 mL di acetonitrile anidro, si aggiungono 407.0 mg di 6-ammino-1-esanolo (3.48 mmol) e 480.0 mg di K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3.48 mmol). La miscela di reazione

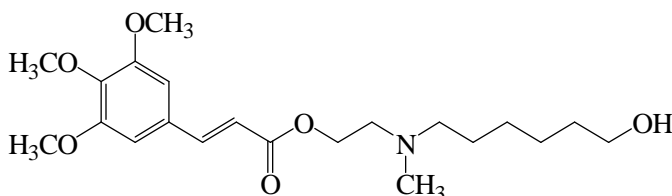
è mantenuta a temperatura ambiente sotto flusso di azoto per 30h. Si elimina poi il solvente a pressione ridotta e si riprende il residuo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, che viene lavato due volte con H<sub>2</sub>O e due volte con una soluzione satura di NaHCO<sub>3</sub>. La fase organica viene anidrificata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e quindi evaporata sotto vuoto. Il grezzo di reazione così ottenuto viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione utilizzando come eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 90:10:1. Si ottengono 160.0 mg di **55** sotto forma di olio giallo pallido.

**Resa:**24%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.56 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.71 (s, 2H, 2CH arom.); 6.33 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.27 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=4.8 Hz); 3.90-3.80 (m, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 3.61-3.53 (m, 2H, CH<sub>2</sub>O); 2.89 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=4.4 Hz); 2.61 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=6.4 Hz); 1.59-1.41 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.40-1.23 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

**ESI-MS m/z (%)**: 382.2 (100) [M+H]<sup>+</sup>.

**(E)-2-((6-idrossiesil)metilamino)etil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (56) (ELF54)**

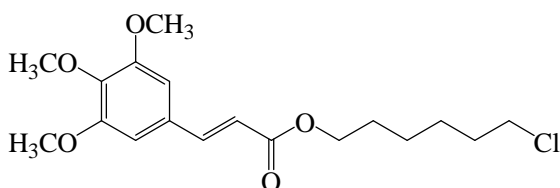


Si segue la procedura generale di metilazione riduttiva partendo da 156.0 mg di **55** (0.41 mmol), 0.26 mL di HCOOH (6.95 mmol) e 0.06 mL di una soluzione acquosa al 37% di HCHO (2.04 mmol). In questo caso,

il grezzo di reazione necessita di purificazione mediante cromatografia sotto pressione (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 96:4:0.4). Si ottengono 38.0 mg di un olio incolore. **Resa:** 24%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.61 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.75 (s, 2H, 2CH arom.); 6.37 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.33 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.0 Hz); 3.88 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.62 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 2.75 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 2.47 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.36 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.63 -1.48 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.46-1.28 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm

**(E)-6-Cloroesil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (57) (ELF 48) [156]**



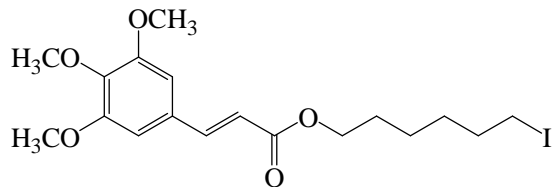
Ad una soluzione del cloruro acilico dell'acido *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico, ottenuto secondo la procedura generale di sintesi dei cloruri acidi a partire da 300.0 mg di acido (1.26 mmol), in 5 mL di CHCl<sub>3</sub> privo di etanolo, in atmosfera inerte, vengono aggiunti 0.14 mL di 6-cloro-1-esanolo (1.26 mmol). Tale soluzione viene raffreddata a 0°C in bagno di ghiaccio per 30 minuti, dopodiché viene posta a

temperatura ambiente per 17 h. La fase organica viene poi lavata per tre volte con una soluzione acquosa di NaOH al 10%, anidrificata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro ed evaporata sotto vuoto. Si ottiene un olio marroncino che viene purificato mediante flash cromatografia, utilizzando come eluente CHX/ACT 7:3. Si ottengono 335.2 mg di prodotto desiderato, sotto forma di olio giallo pallido.

**Resa:** 75%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.47 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 6.64 (s, 2H, 2CH arom.); 6.23 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.07 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3.75 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.74 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.41 (t, 2H, CH<sub>2</sub>Cl, J=6.8 Hz); 1.71-1.54 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.42-1.23 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-6-iodoesil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (58) (ELF 49) [156]**



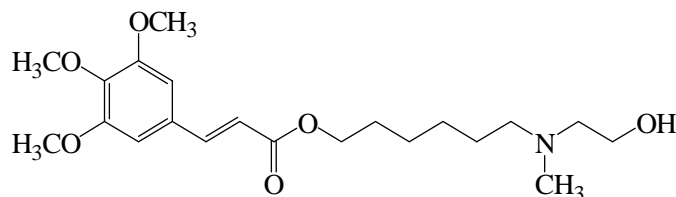
Si solubilizzano 335.2 mg di **57** (0.94 mmol) in 5 mL di acetone, si aggiungono 563.2 mg di NaI (3.76 mmol) e si pone la miscela di reazione sotto agitazione magnetica alla temperatura di 58°C in condizioni di assenza di

luce. Dopo 48 h si evapora il solvente sotto vuoto, il residuo viene ripreso con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e lavato tre volte con acqua. La fase organica, anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, è infine portata a secco. Si ottengono 404.6 mg di un olio denso bruno che non necessita di ulteriore purificazione. **Resa:** 96%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.58 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.74 (s, 2H, 2CH arom.); 6.33 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.19 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.88 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.19 (t, 2H, CH<sub>2</sub>I, J=6.8 Hz); 1.91-1.79 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.86-1.68 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.50-1.38 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.98 (C=O); 153.44 (C); 144.66 (CH=CH); 140.16 (C); 129.92 (C); 117.40 (CH=CH); 105.28 (CH arom.); 64.61 (CH<sub>2</sub>); 60.95 (OCH<sub>3</sub>); 56.18 (OCH<sub>3</sub>); 33.13 (CH<sub>2</sub>); 29.83 (CH<sub>2</sub>); 26.54 (CH<sub>2</sub>); 25.10 (CH<sub>2</sub>); 6.79 (CH<sub>2</sub>) ppm.

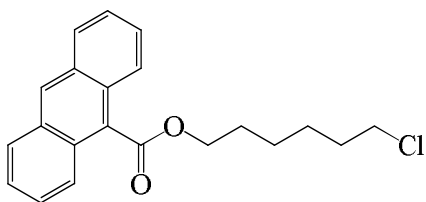
**(E)-6-((2-idrossietil)metilamino)esil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (59) (ELF 51)**



Ad una soluzione di **58** (661.0 mg, 1.47 mmol) in 4 ml di acetonitrile anidro, vengono aggiunti 0.24 mL di 2-metilammino-etanolo (2.95 mmol).

La miscela di reazione è mantenuta sotto flusso di N<sub>2</sub> e a temperatura ambiente per 48 h. Successivamente si riprende con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e si lava per tre volte con una soluzione acquosa di NaOH al 10%. La fase organica viene anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e quindi evaporata sotto pressione. Si ottengono 530.0 mg di prodotto desiderato sotto forma di olio giallo che non necessita di ulteriore purificazione. **Resa:** 91%.

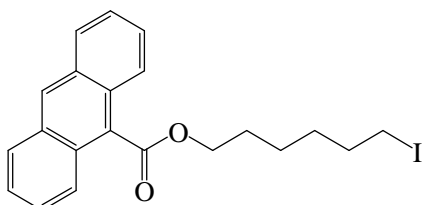
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.56 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.73 (s, 2H, 2CH arom.); 6.32 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.17 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.86 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.55 (t, 2H, CH<sub>2</sub>I, J=5.6 Hz); 2.99 (bs, 1H, OH); 2.49 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 2.37 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.21 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.77-1.60 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.53-1.42 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.41-1.26 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

**6-cloroetil antracen-9-carbossilato (60) (ELF56)**

Ad una soluzione del cloruro acilico dell'acido 9-carbossiantracenoico, ottenuto secondo la procedura generale di sintesi dei cloruri acidi a partire da 602.0 mg di acido (2.71 mmol), in 15 mL di  $\text{CHCl}_3$  privo di etanolo, in atmosfera inerte, vengono aggiunti 0.31 mL di 6-cloro-1-esanolo (2.71 mmol) in 15 mL di  $\text{CHCl}_3$  privo

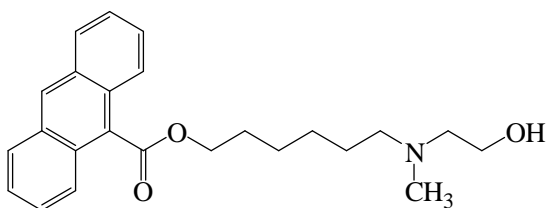
di etanolo. La miscela di reazione è mantenuta sotto corrente di azoto in bagno di ghiaccio per 30 minuti, poi a temperatura ambiente per 17 h. Quindi si riprende con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e si lava tre volte con una soluzione satura di  $\text{NaHCO}_3$ . La fase organica, anidrificata su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , viene evaporata sotto vuoto. Si ottengono 800.0 mg di prodotto desiderato sotto forma di olio giallo intenso che non necessita di ulteriore purificazione. **Resa:** 87%.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.52 (s, 1H, CH arom.); 8.15-7.97 (m, 4H, 4CH arom.); 7.62-7.42 (m, 4H, 4CH arom.); 4.63 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.8$  Hz); 3.54 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ,  $J=4.8$  Hz); 1.91 (p, 2H,  $\text{CH}_2$ ,  $J=3.2$  Hz); 1.80 (p, 2H,  $\text{CH}_2$ ,  $J=3.6$  Hz); 1.63-1.46 (m, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ) ppm.

**6-iodoetil antracen-9-carbossilato (61) (ELF57)**

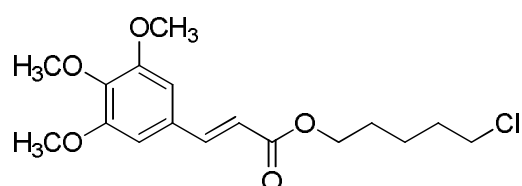
Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **58** partendo da 800.0 mg di **60** (2.35 mmol) in 6 mL di acetone e 1.41 g di NaI. Si ottengono 913.0 mg del prodotto desiderato sotto forma di olio marrone che non necessita di ulteriori purificazioni. **Resa:** 90%.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.52 (s, 1H, CH arom.); 8.15-7.97 (m, 4H, 4CH arom.); 7.65-7.42 (m, 4H, 4CH arom.); 4.63 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.4$  Hz); 3.17 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{I}$ ,  $J=6.8$  Hz); 1.99-1.73 (m, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ); 1.60-1.37 (m, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ) ppm.

**6-((2-idrossietil)metilammino)etil-antracen-9-carbossilato (62) (ELF58)**

Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **59**, su 860.0 mg di **61** (1.99 mmol) in 6 mL di acetonitrile anidro e 0.32 mL di 2-metilammino-etanolo (3.98 mmol). Si ottengono 792.0 mg di prodotto desiderato sotto forma di olio marrone che non necessita di ulteriore purificazione. **Resa:** 100%.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.48 (s, 1H, CH arom.); 8.05-7.87 (m, 4H, 4CH arom.); 7.56-7.40 (m, 4H, 4CH arom.); 4.62 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.8$  Hz); 3.57 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=5.2$  Hz); 2.50 (t, 2H,  $\text{NCH}_2$ ,  $J=5.6$  Hz); 2.39 (t, 2H,  $\text{NCH}_2$ ,  $J=6.8$  Hz); 2.23 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ); 1.89 (p, 2H,  $\text{CH}_2$ ,  $J=6.8$  Hz); 1.57-1.43 (m, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ); 1.42-1.30 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ) ppm.

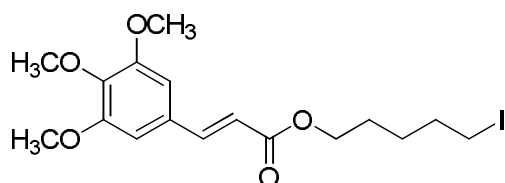
**(E)-5-cloropentil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (63) (GDE1) [156]**

Si segue la procedura della sintesi di **54** partendo da una soluzione del cloruro acilico dell'acido *trans*-3-4-5-trimetossicinnammico, ottenuto secondo la procedura generale di sintesi dei cloruri acidi a partire da 1.0 g di acido (4.20

mmol), in 6 mL di cloroformio privo di etanolo e 0.49 mL (4.20 mmol) di 5-cloro-1-pentanol. Si ottengono 1.29 g di un olio incolore che non necessita di ulteriore purificazione. **Resa:** 89%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.60 (d, 1H, CH=CH, J=16.0Hz); 6.75 (s, 2H, 2CH arom.); 6.34 (d, 1H, CH=CH, J=16.0Hz); 4.22 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3.86 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.56 (t, 2H, CH<sub>2</sub>Cl, J=6.4 Hz); 1.88-1.76 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.74-1.70 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.61-1.56 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

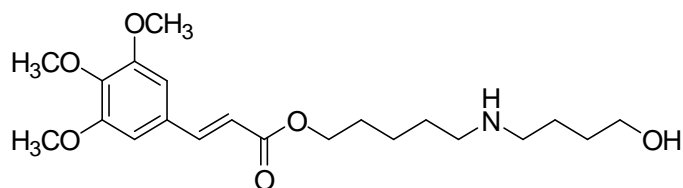
**(E)-5-iodopentil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (64) (GDE2) [156]**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **58** partendo da 589.0 mg (1.70 mmol) di **63** in 8 mL di acetone e 1.0 g di NaI (6.81 mmol). Si ottengono 702.0 mg di prodotto desiderato sotto forma di un olio giallo pallido che non necessitano di purificazione. **Resa:** 95%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.60 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 6.74 (s, 2H, 2CH arom.); 6.34 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.21 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.6 Hz); 3.87 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.21 (t, 2H, CH<sub>2</sub>I, J=6.6 Hz); 1.92-1.85 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.75-1.71 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.56-1.54 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-5-((4-idrossibutil)amino)pentil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (65) (RI1)**



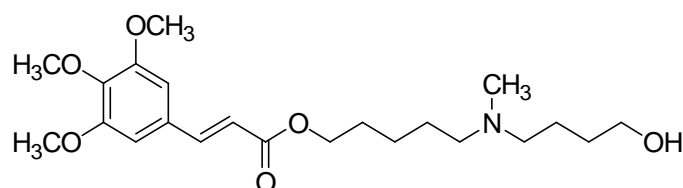
Si solubilizzano sotto flusso di azoto 209.0 mg di **64** (0.48 mmol) in 5 mL di acetonitrile anidro, si aggiungono 0.09 mL di 4-ammino-1-butanol (0.96 mmol). La miscela di reazione viene scaldata a 60°C per 4 h. Si

evapora sotto vuoto il solvente, si riprende il residuo con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e si lava tre volte con una soluzione acquosa di NaOH al 10%. La fase organica viene anidrificata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e quindi evaporata sotto vuoto. Il grezzo di reazione così ottenuto viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione utilizzando come eluente WE1. Si ottengono 45.0 mg di prodotto desiderato sotto forma di olio incolore. **Resa:** 72.5%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.53 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.71 (s, 2H, 2CH arom.); 6.29 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.13 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.83 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.51 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.0 Hz); 3.44 (bs, 1H, OH); 2.61-2.56 (m, 4H, 2NCH<sub>2</sub>); 1.72-1.48 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>); 1.49-1.32 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.98 (C=O); 153.38 (C); 144.61 (CH=CH); 140.04 (C); 129.91 (C); 117.39 (CH=CH); 105.21 (CH arom.); 64.36 (CH<sub>2</sub>); 62.44 (CH<sub>2</sub>); 60.90 (OCH<sub>3</sub>); 56.12 (OCH<sub>3</sub>); 49.64 (CH<sub>2</sub>); 49.32 (CH<sub>2</sub>); 32.39 (CH<sub>2</sub>); 29.31 (CH<sub>2</sub>); 26.59 (CH<sub>2</sub>); 26.44 (CH<sub>2</sub>); 23.73 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-5-((4-idrossibutil)(metil)amino)pentil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (66) (RI2)**



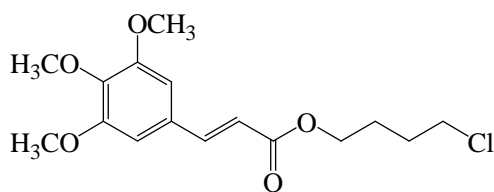
Si segue la procedura generale di metilazione riduttiva partendo da 90.0 mg di **65** (0.23 mmol), 0.15 mL di HCOOH (3.87 mmol) e 0.03 mL di una soluzione acquosa al 37% di

HCHO (1.14 mmol). Si ottengono 78.9 mg di prodotto desiderato che non necessita di ulteriore purificazione. **Resa:** 85%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.54 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.71 (s, 2H, 2CH arom.); 6.30 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.15 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.84 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.51 (bs, 2H, CH<sub>2</sub>O); 2.41-2.30 (m, 4H, 2NCH<sub>2</sub>); 2.19 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.74-1.51 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>); 1.51-1.50 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.48-1.32 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 166.96 (C=O); 153.39 (C); 144.57 (CH=CH); 140.06 (C); 129.93 (C); 117.42 (CH=CH); 105.22 (CH arom.); 64.39 (CH<sub>2</sub>); 62.60 (CH<sub>2</sub>); 60.90 (OCH<sub>3</sub>); 58.17 (CH<sub>2</sub>); 57.74 (CH<sub>2</sub>); 56.13 (OCH<sub>3</sub>); 41.21 (NCH<sub>3</sub>); 32.54 (CH<sub>2</sub>); 28.62 (CH<sub>2</sub>); 26.45 (CH<sub>2</sub>); 26.14 (CH<sub>2</sub>); 23.89 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-4-clorobutil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (67) (ELF 45)**



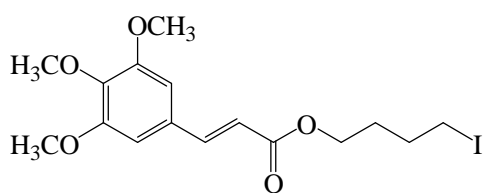
Si segue la procedura descritta per il prodotto **54** partendo da 300.0 mg di acido *trans*-3,4,5-trimetossicinnamico (1.26 mmol) in 5 mL di CHCl<sub>3</sub> privo di etanolo per ottenere il corrispondente cloruro acilico. Questo viene solubilizzato in 3 mL CHCl<sub>3</sub> privo di etanolo e vengono aggiunti 0.12 mL

di 4-cloro-butanolo (1.26 mmol). Il grezzo di reazione (olio marrone chiaro) viene purificato mediante flash cromatografia, utilizzando come eluente CHX/ACT 7:3. Si ottengono 280.6 mg di prodotto desiderato, sotto forma di olio giallo pallido. **Resa:** 68%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.60 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 6.75 (s, 2H, 2CH arom.); 6.33 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.24 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.0 Hz); 3.89 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.60 (t, 2H, CH<sub>2</sub>Cl, J=6.0 Hz); 1.98-1.82 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 153.46 (C); 144.90 (CH=CH); 129.85 (C); 117.17 (CH=CH); 105.29 (CH arom.); 63.67 (CH<sub>2</sub>); 60.97 (OCH<sub>3</sub>); 56.18 (OCH<sub>3</sub>); 44.50 (CH<sub>2</sub>); 29.23 (CH<sub>2</sub>); 26.21 (CH<sub>2</sub>) ppm.

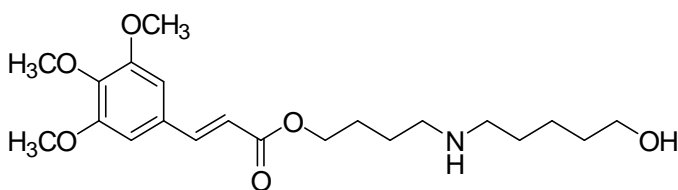
**(E)-4-iodobutil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (68) (ELF 46)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **58** partendo da 270.6 mg (0.82 mmol) di **29** in 5 mL di acetone e 493.3 mg di NaI (3.29 mmol). Si ottengono 327.7 mg di prodotto desiderato sotto forma di un olio denso arancione che non necessitano di purificazione. **Resa:** 95%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.57 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.73 (s, 2H, 2CH arom.); 6.31 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.20 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.0 Hz); 3.86 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.21 (t, 2H, CH<sub>2</sub>I, J=6.8 Hz); 1.98-1.87 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.84-1.74 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-4-((5-idrossipentil)amino)butil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (69) (RI5)**



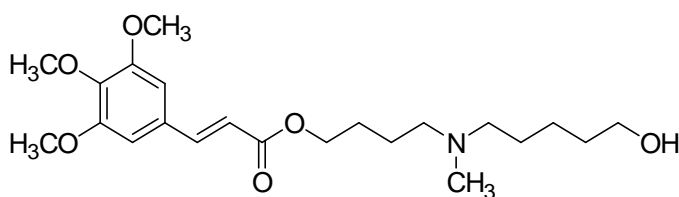
Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **65**, su 356.0 mg di **68** (0.85 mmol) in 5 mL di acetonitrile anidro, 0.18 mL di 5-amino-1-pentanol (1.70 mmol) e 117 mg di K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (0.85 mmol). Si

ottengono 119.3 mg di prodotto desiderato (olio giallo pallido) dopo aver purificato il grezzo di reazione due volte mediante flash cromatografia, utilizzando come eluente la prima volta CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 90:10:1 e la seconda WE1. **Resa:** 35.6%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.53 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 6.70 (s, 2H, 2CH arom.); 6.29 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.14 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.83 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.56 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3.21 (bs, 1H, OH); 2.64-2.57 (m, 4H, 2NCH<sub>2</sub>); 1.78-1.68 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.68-1.42 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>); 1.42-1.32 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 166.95 (C=O); 153.38 (C); 144.63 (CH=CH); 140.05 (C); 129.87 (C); 117.37 (CH=CH); 105.19 (CH arom.); 64.26 (CH<sub>2</sub>); 62.19 (CH<sub>2</sub>); 60.91 (OCH<sub>3</sub>); 56.12 (OCH<sub>3</sub>); 49.52 (CH<sub>2</sub>); 49.26 (CH<sub>2</sub>); 29.53 (CH<sub>2</sub>); 29.06 (CH<sub>2</sub>); 28.57 (CH<sub>2</sub>); 28.24 (CH<sub>2</sub>); 26.55 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-4-((5-idrossipentil)(metil)amino)butil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (70) (RI6)**



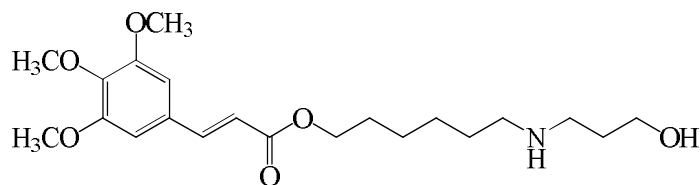
Si segue la procedura generale di metilazione riduttiva partendo da 119.3 mg di **69** (0.30 mmol), 0.19 mL di HCOOH (5.13 mmol) e 0.04 mL di una soluzione acquosa al 37% di HCHO (1.51 mmol). Si ottengono

112.5 mg di prodotto desiderato come olio giallo pallido che non necessita di ulteriore purificazione. **Resa:** 92%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.54 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.71 (s, 2H, 2CH arom.); 6.30 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.17 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.84 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.58 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 2.40-2.25 (m, 4H, 2NCH<sub>2</sub>); 2.16 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.74-1.50 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>); 1.50-1.40 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.40-1.32 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 166.99 (C=O); 153.39 (C); 144.62 (CH=CH); 140.05 (C); 129.91 (C); 117.40 (CH=CH); 105.20 (CH arom.); 64.43 (CH<sub>2</sub>); 62.62 (CH<sub>2</sub>); 60.92 (OCH<sub>3</sub>); 57.68 (CH<sub>2</sub>); 57.35 (CH<sub>2</sub>); 56.13 (OCH<sub>3</sub>); 41.11 (NCH<sub>3</sub>); 32.48 (CH<sub>2</sub>); 28.88 (CH<sub>2</sub>); 26.76 (CH<sub>2</sub>); 24.14 (CH<sub>2</sub>); 23.91 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-6-((3-idrossipropil)ammino)esil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (71) (ELF89)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **65**, su 1.29 g di **58** (2.88 mmol) in 10 mL di acetonitrile anidro, 0.18 mL di 3-ammino-1-propanolo (5.76 mmol). Si ottengono 920.0 mg di

prodotto desiderato (olio giallo) dopo aver purificato il grezzo di reazione mediante flash cromatografia, utilizzando come eluente WE1. **Resa:** 81%.

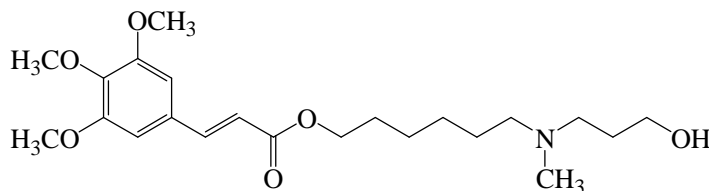
<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.50 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.78 (s, 2H, 2CH arom.); 6.27 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.11 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.80 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.79 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.69 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.6 Hz); 3.51 (bs, 2H, NH+OH); 2.79 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=6.0 Hz); 2.56 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.63 (sex, 4H, 2CH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 1.45 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.40-1.22 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 166.98 (C=O); 153.35 (C); 144.57 (CH=CH); 140.01 (C); 129.89 (C); 117.37 (CH=CH); 105.20 (CH arom.); 64.43 (CH<sub>2</sub>); 63.48 (CH<sub>2</sub>); 60.86 (OCH<sub>3</sub>); 56.10 (OCH<sub>3</sub>);



49.49 (CH<sub>2</sub>); 49.37 (CH<sub>2</sub>); 30.48 (CH<sub>2</sub>); 29.42 (CH<sub>2</sub>); 28.61 (CH<sub>2</sub>); 28.81 (CH<sub>2</sub>); 25.78 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-6-((3-idrossipropil)(metil)ammino)esil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (72) (ELF91)**



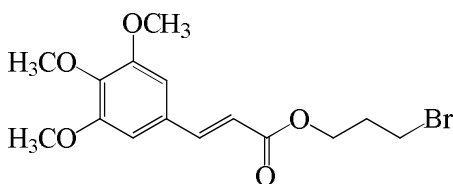
Si segue la procedura generale di metilazione riduttiva partendo da 563.0 mg di **71** (1.43 mmol), 0.91 mL di HCOOH (24.20 mmol) e 0.20 mL di una soluzione acquosa al 37% di HCHO (7.13 mmol). Si

ottengono 571.0 mg di prodotto desiderato come olio giallo pallido che non necessita di ulteriore purificazione. **Resa:** 97%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.49 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.67 (s, 2H, 2CH arom.); 6.26 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.10 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3.79 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.78 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.69 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.6 Hz); 2.48 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=6.0 Hz); 2.27 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.14 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.68-1.58 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.48-1.20 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 166.91 (C=O); 153.34 (C); 144.50 (CH=CH); 140.01 (C); 129.89 (C); 117.41 (CH=CH); 105.19 (CH arom.); 64.45 (CH<sub>2</sub>); 64.42 (CH<sub>2</sub>); 60.83 (OCH<sub>3</sub>); 58.30 (CH<sub>2</sub>); 57.97 (CH<sub>2</sub>); 56.07 (OCH<sub>3</sub>); 41.88 (NCH<sub>3</sub>); 28.62 (CH<sub>2</sub>); 27.78 (CH<sub>2</sub>); 27.09 (CH<sub>2</sub>); 26.91 (CH<sub>2</sub>); 22.66 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-3-bromopropil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (73) (ST22) [156]**



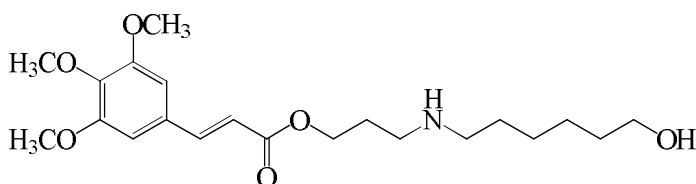
Si segue la procedura della sintesi di **54** partendo da una soluzione del cloruro acilico dell'acido *trans*-3-4-5-trimetossicinnammico, ottenuto secondo la procedura generale di sintesi dei cloruri acidi a partire da 860.0 mg di acido (3.61 mmol), in 6 mL di cloroformio privo di etanolo e 0.28 mL (3.25 mmol) di 3-bromo-1-

propanolo. Si ottengono 1.07 g di un olio giallo pallido che non necessita di ulteriore purificazione. **Resa:** 82%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.58 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.73 (s, 2H, 2CH arom.); 6.32 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.32 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.0 Hz); 3.86 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.50 (t, 2H, CH<sub>2</sub>Br, J=6.4 Hz); 2.23 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.0 Hz) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 166.44 (C=O); 153.29 (C); 144.89 (CH=CH); 140.08 (C); 129.76 (C); 116.77 (CH=CH); 105.19 (CH arom.); 62.04 (CH<sub>2</sub>); 60.67 (OCH<sub>3</sub>); 55.96 (OCH<sub>3</sub>); 31.75 (CH<sub>2</sub>); 29.51 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-3-((6-idrossiesil)ammino)propil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (74) (ELF90)**



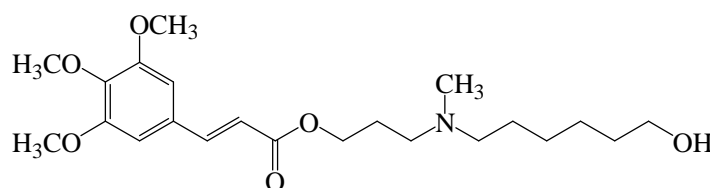
Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **65**, su 664.5 mg di **73** (1.85 mmol) in 3 mL di acetonitrile anidro, 434.0 mg di 6-ammino-1-esanolo (3.70 mmol) e 512.0 mg di K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (3.70 mmol).

Si ottengono 370.5 mg di prodotto desiderato (olio incolore) dopo aver purificato il grezzo di reazione mediante flash cromatografia, utilizzando come eluente WE1. **Resa:** 51%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.60 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.74 (s, 2H, 2CH arom.); 6.32 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.26 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.0 Hz); 3.87 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.61 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 2.72 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.61 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 1.90 (p, 4H, 2CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.83 (bs, 1H, NH); 1.61-1.58 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.40-1.30 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.99 (C=O); 153.43 (C); 144.81 (CH=CH); 140.16 (C); 129.87 (C); 117.25 (CH=CH); 105.26 (CH arom.); 62.80 (CH<sub>2</sub>); 62.68 (CH<sub>2</sub>); 60.96 (OCH<sub>3</sub>); 56.17 (OCH<sub>3</sub>); 49.81 (CH<sub>2</sub>); 46.61 (CH<sub>2</sub>); 32.65 (CH<sub>2</sub>); 29.88 (CH<sub>2</sub>); 29.22 (CH<sub>2</sub>); 27.04 (CH<sub>2</sub>); 25.62 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-3-((6-idrossiesil)(metil)ammino)propil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (75) (ELF92)**



Si segue la procedura generale di metilazione riduttiva partendo da 223.7 mg di **74** (1.43 mmol), 0.36 mL di HCOOH (9.63 mmol) e 0.08 mL di una soluzione acquosa al 37% di HCHO (2.83 mmol). Si

ottengono 211.5 mg di prodotto desiderato come olio giallo che non necessita di ulteriore purificazione. **Resa:** 91%.

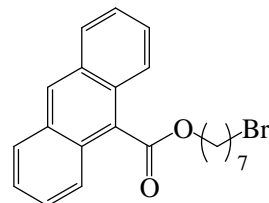
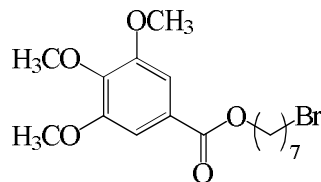
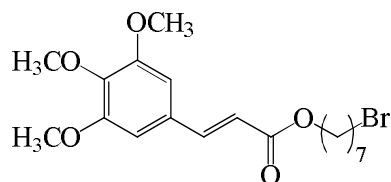
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.54 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 6.71 (s, 2H, 2CH arom.); 6.29 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.19 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.84 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.56 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 2.42 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.30 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 2.18 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.83 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 1.54-1.49 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.49-1.40 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.40-1.20 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

**<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.95 (C=O); 153.40 (C); 144.68 (CH=CH); 140.11 (C); 129.88 (C); 117.31 (CH=CH); 105.25 (CH arom.); 63.03 (CH<sub>2</sub>); 62.56 (CH<sub>2</sub>); 60.91 (OCH<sub>3</sub>); 57.58 (CH<sub>2</sub>); 56.14 (OCH<sub>3</sub>); 54.18 (CH<sub>2</sub>); 42.09 (NCH<sub>3</sub>); 32.67 (CH<sub>2</sub>); 27.16 (CH<sub>2</sub>); 27.08 (CH<sub>2</sub>); 26.54 (CH<sub>2</sub>); 25.64 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-8-bromoottil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (76) (ELF63) [156]**

**7-bromoetil 3,4,5-trimetossibenzoato (77) (ELF68)**

**7-bromoetil antracen-9-carbossilato (78) (ELF69)**



Si segue la procedura della sintesi di **54** partendo da una soluzione del cloruro acilico degli acidi *trans*-3-4-5-trimetossicinnammico o 3-4-5-trimetossibenzoico o 9-antracencarbossilico, ottenuti secondo la procedura generale di sintesi dei cloruri acidi a partire da 1.2 eq del rispettivo acido, in 6 mL di cloroformio privo di etanolo e 1.2 eq di 3-bromo-1-propanolo. Si ottengono rispettivamente 393.0 mg di **76** (solido bianco, **resa:** 71%, **p.f.:** 78-80°C), 212.0 mg di **77** (olio incolore, **resa:** 37%) e 394.0 mg di **78** (olio arancione, **resa:** 41%) che non necessita di ulteriore purificazione.

**(Prodotto 76)  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 7.58 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.75 (s, 2H, 2CH arom.); 6.33 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.19 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=6.8 Hz); 3.88 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.40 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{Br}$ , J=6.8 Hz); 1.86 (p, 2H,  $\text{CH}_2$ , J=6.8 Hz); 1.70 (p, 2H,  $\text{CH}_2$ , J=6.8 Hz); 1.55-1.30 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm.  **$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 167.05 (C=O); 153.42 (C); 144.64 (CH=CH); 140.03 (C); 129.94 (C); 117.43 (CH=CH); 105.16 (CH arom.); 62.56 (CH<sub>2</sub>); 60.98 (OCH<sub>3</sub>); 56.15 (OCH<sub>3</sub>); 33.94 (CH<sub>2</sub>); 32.67 (CH<sub>2</sub>); 28.63 (CH<sub>2</sub>); 28.41 (CH<sub>2</sub>); 28.04 (CH<sub>2</sub>); 25.83 (CH<sub>2</sub>) ppm.

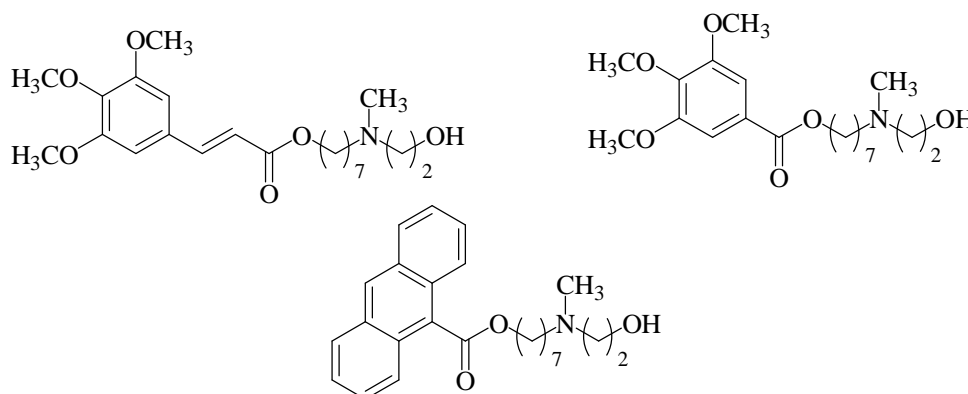
**(Prodotto 77)  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 7.28 (s, 2H, 2CH arom.); 4.29 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=6.8 Hz); 3.90 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.89 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.39 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{Br}$ , J=6.8 Hz); 1.85 (p, 2H,  $\text{CH}_2$ , J=7.2 Hz); 1.75 (p, 2H,  $\text{CH}_2$ , J=7.2 Hz); 1.50-1.32 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm.  **$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 166.22 (C=O); 152.91 (C); 142.16 (C); 125.46 (C); 106.79 (CH arom.); 62.21 (CH<sub>2</sub>); 60.88 (OCH<sub>3</sub>); 56.24 (OCH<sub>3</sub>); 33.80 (CH<sub>2</sub>); 32.65 (CH<sub>2</sub>); 28.63 (CH<sub>2</sub>); 28.38 (CH<sub>2</sub>); 28.02 (CH<sub>2</sub>); 25.82 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**(Prodotto 78)  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 8.49 (s, 1H, CH arom.); 8.08 (d, 2H, 2CH arom., J=8.4 Hz); 8.05 (d, 2H, 2CH arom., J=8.4 Hz); 7.60-7.40 (m, 4H, 4CH arom.); 4.62 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=6.4 Hz); 3.38 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{Br}$ , J=6.8 Hz); 1.92-1.78 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.60-1.30 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm.  **$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 169.74 (C=O); 131.02 (C); 129.26 (CH arom.); 128.66 (CH arom.); 128.41 (C); 129.96 (CH arom.); 125.48 (CH arom.); 125.02 (CH arom.); 65.81 (CH<sub>2</sub>); 33.88 (CH<sub>2</sub>); 32.66 (CH<sub>2</sub>); 29.13 (CH<sub>2</sub>); 28.77 (CH<sub>2</sub>); 28.70 (CH<sub>2</sub>); 26.06 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-7-((2-idrossietil)(metil)ammino)eptil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (79) (ELF80)**

**6-((2-idrossietil)(metil)ammino)esil 3,4,5-trimetossibenzoato (80) (ELF71)**

**6-((2-idrossietil)(metil)ammino)esil antracen-9-carbossilato (81) (ELF70)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **59**, partendo da 1 eq di **76** o **77** o **78** e 2 eq di 2-metilammino-etanolo nella minima quantità di acetonitrile anidro. Si ottengono rispettivamente **79** che non necessita di ulteriore purificazione (olio giallo-arancio, **resa**: 100%), **80** dopo purificazione tramite colonna flash usando come eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$  95:5:0.5 (olio incolore, **resa**: 77%), **81** dopo purificazione tramite colonna flash usando come eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$  96:4:0.4 (olio giallo pallido, **resa**: 66%).

**(Prodotto 79)  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 7.52 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.69 (s, 2H, 2CH arom.); 6.28 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.13 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=6.4 Hz); 3.82 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.51 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=5.2 Hz); 2.99 (bs, 1H, OH); 2.44 (t, 2H,  $\text{NCH}_2$ , J=5.6 Hz); 2.32 (t, 2H,  $\text{NCH}_2$ , J=7.2 Hz); 2.16 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ); 1.64 (p, 2H,  $\text{CH}_2$ , J=6.4 Hz); 1.48-1.20 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.  **$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 166.98 (C=O); 153.37 (C); 144.52 (CH=CH); 140.05 (C); 129.92 (C); 117.44 (CH=CH); 105.23 (CH arom.); 64.56 (CH<sub>2</sub>); 60.86 (OCH<sub>3</sub>);

58.86 (CH<sub>2</sub>); 58.41 (CH<sub>2</sub>); 57.72 (CH<sub>2</sub>); 56.10 (OCH<sub>3</sub>); 41.63 (NCH<sub>3</sub>); 29.13 (CH<sub>2</sub>); 28.66 (CH<sub>2</sub>); 27.14 (CH<sub>2</sub>); 25.89 (CH<sub>2</sub>) ppm.

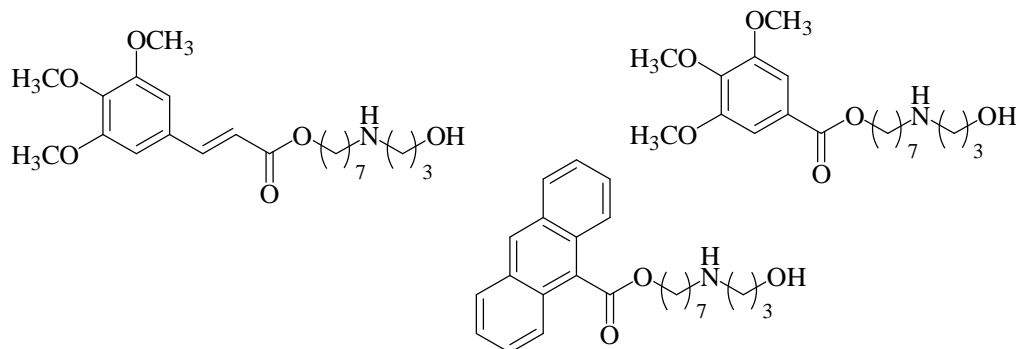
**(Prodotto 80)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.27 (s, 2H, 2CH arom.); 4.28 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.89 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.55 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.2 Hz); 2.92 (bs, 1H, OH); 2.50 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 2.38 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 2.22 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.75 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.50-1.28 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

**(Prodotto 81)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.51 (s, 1H, CH arom.); 8.04 (d, 2H, 2CH arom., J=8.8 Hz); 8.05 (d, 2H, 2CH arom., J=8.4 Hz); 7.58-7.40 (m, 4H, 4CH arom.); 4.61 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.57 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.2 Hz); 2.92 (bs, 1H, OH); 2.51 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 2.39 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 2.25 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.88 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.50-1.20 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-6-((3-idrossipropil)ammino)esil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (82) (ELF81)**

**6-((3-idrossipropil)ammino)esil 3,4,5-trimetossibenzoato (83) (ELF74)**

**6-((3-idrossipropil)ammino)esil antracen-9-carbossilato (84) (ELF75)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **59**, partendo da 1 eq di **76** o **77** o **78** e 2 eq di 3-ammino-1-etanolo nella minima quantità di acetonitrile anidro. Si ottengono rispettivamente **82** che non necessita di ulteriore purificazione (olio incolore, **resa**: 72%), **83** dopo purificazione tramite colonna flash usando come eluente WE1 (olio incolore, **resa**: 71%), **84** dopo purificazione tramite colonna flash usando come eluente WE1 (olio giallo pallido, **resa**: 48%).

**(Prodotto 82)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.53 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.71 (s, 2H, 2CH arom.); 6.29 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.14 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.83 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.73 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.6 Hz); 2.91 (bs, 2H, NH+OH); 2.80 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=6.0 Hz); 2.55 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 1.72-1.62 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.50-1.38 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.38-1.25 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 167.05 (C=O); 153.42 (C); 144.58 (CH=CH); 140.10 (C); 129.95 (C); 117.48 (CH=CH); 105.27 (CH arom.); 64.61 (CH<sub>2</sub>); 64.19 (CH<sub>2</sub>); 60.93 (OCH<sub>3</sub>); 56.16 (OCH<sub>3</sub>); 49.87 (CH<sub>2</sub>); 49.71 (CH<sub>2</sub>); 30.56 (CH<sub>2</sub>); 29.74 (CH<sub>2</sub>); 29.12 (CH<sub>2</sub>); 28.68 (CH<sub>2</sub>); 27.12 (CH<sub>2</sub>); 25.88 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**(Prodotto 83)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.24 (s, 2H, 2CH arom.); 4.24 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.85 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.73 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.6 Hz); 3.21 (bs, 1H, OH); 2.80 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=6.0 Hz); 2.55 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.71 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.64 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 1.48-1.23 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 166.21 (C=O); 152.87 (C); 142.12 (C); 125.48 (C); 106.78 (CH arom.); 65.15 (CH<sub>2</sub>); 64.00 (CH<sub>2</sub>); 60.84 (OCH<sub>3</sub>); 56.20 (OCH<sub>3</sub>); 49.76 (CH<sub>2</sub>); 49.70 (CH<sub>2</sub>); 30.64 (CH<sub>2</sub>); 29.74 (CH<sub>2</sub>); 29.30 (CH<sub>2</sub>); 28.65 (CH<sub>2</sub>); 27.11 (CH<sub>2</sub>); 25.89 (CH<sub>2</sub>) ppm.

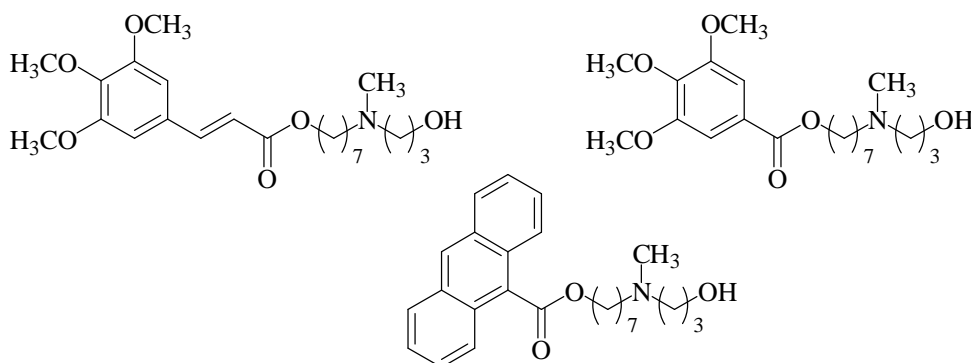
**(Prodotto 84)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.50 (s, 1H, CH arom.); 8.03 (d, 2H, 2CH arom., J=8.8 Hz); 8.00 (d, 2H, 2CH arom., J=8.4 Hz); 7.55-7.40 (m, 4H, 4CH arom.); 4.60 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O,

J=6.8 Hz); 3.78 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.2 Hz); 3.21 (bs, 1H, OH); 2.82 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 2.56 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 1.86 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.66 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=5.2 Hz); 1.50-1.20 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-6-((3-idrossipropil)(metil)ammino)esil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (85) (ELF84)**

**6-((3-idrossipropil)(metil)ammino)esil 3,4,5-trimetossibenzoato (86) (ELF76)**

**6-((3-idrossipropil)(metil)ammino)esil antracen-9-carbossilato (87) (ELF77)**

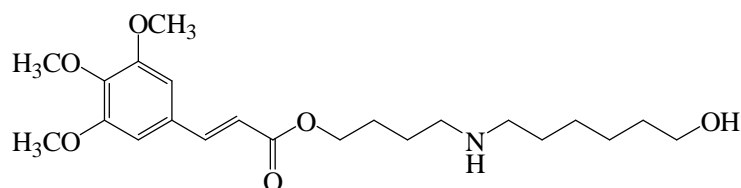


Si segue la procedura generale di metilazione riduttiva partendo da 1 eq di **82** o **83** o **84**, 17 eq di HCOOH e 5 eq di HCHO (soluzione acquosa al 37%). Si ottengono così i prodotti finali **85** (olio incolore, **resa**: 100%), **86** (olio incolore, **resa**: 79%), **87** (olio giallo, **resa**: 87%), che non necessitano di ulteriore purificazioni.

**(Prodotto 85) <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.56 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 6.73 (s, 2H, 2CH arom.); 6.31 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.16 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3.86 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.85 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.76 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.2 Hz); 2.56 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 2.33 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.21 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.72-1.63 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.50-1.42 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.42-1.25 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm.

**(Prodotto 86) <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.26 (s, 2H, 2CH arom.); 4.27 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.87 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.75 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.4 Hz); 2.47 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 2.32 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.6 Hz); 2.20 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.73 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.65 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 1.50-1.23 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.24 (C=O); 152.88 (C); 142.10 (C); 125.50 (C); 106.77 (CH arom.); 65.18 (CH<sub>2</sub>); 64.59 (CH<sub>2</sub>); 60.86 (OCH<sub>3</sub>); 58.50 (CH<sub>2</sub>); 58.06 (CH<sub>2</sub>); 56.21 (OCH<sub>3</sub>); 41.85 (NCH<sub>3</sub>); 29.16 (CH<sub>2</sub>); 28.67 (CH<sub>2</sub>); 27.65 (CH<sub>2</sub>); 27.17 (CH<sub>2</sub>); 27.10 (CH<sub>2</sub>); 25.92 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**(Prodotto 87) <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 8.50 (s, 1H, CH arom.); 8.03 (d, 2H, 2CH arom., J=8.8 Hz); 8.00 (d, 2H, 2CH arom., J=8.4 Hz); 7.55-7.42 (m, 4H, 4CH arom.); 4.61 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.78 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.2 Hz); 2.56 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 2.34 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.21 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.88 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 1.67 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 1.50-1.20 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 169.77 (C=O); 131.01 (C); 129.20 (CH arom.); 128.61 (CH arom.); 128.39 (C); 129.92 (CH arom.); 125.46 (CH arom.); 125.02 (CH arom.); 65.91 (CH<sub>2</sub>); 64.61 (CH<sub>2</sub>); 58.45 (CH<sub>2</sub>); 58.07 (CH<sub>2</sub>); 41.85 (NCH<sub>3</sub>); 29.15 (CH<sub>2</sub>); 28.72 (CH<sub>2</sub>); 27.65 (CH<sub>2</sub>); 27.18 (CH<sub>2</sub>); 27.03 (CH<sub>2</sub>); 26.03 (CH<sub>2</sub>) ppm.

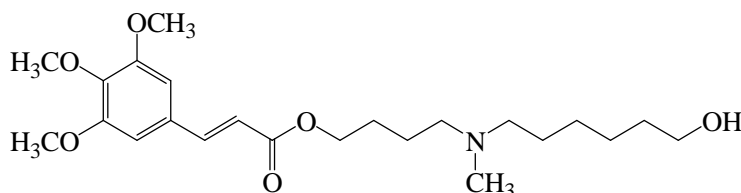
**(E)-4-(6-idrossiesilamino)butil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (88) (CF25)**

Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **65**, su 275.0 mg di **68** (0.65 mmol) in 4 mL di acetonitrile anidro, 0.18 mL di 6-ammino-1-esanolo

(1.30 mmol) e 90.5 mg di  $K_2CO_3$  (0.65 mmol). Si ottengono 152.7 mg di prodotto desiderato (olio giallo pallido) dopo aver purificato il grezzo di reazione mediante flash cromatografia, utilizzando come eluente  $CH_2Cl_2/MeOH/NH_4OH$  90:10:1. **Resa:** 57%.

**$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ :** 7.50 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.67 (s, 2H, 2CH arom.); 6.25 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.13 (t, 2H,  $CH_2O$ , J=6.8 Hz); 3.80 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.78 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.50 (t, 2H,  $CH_2O$ , J=6.4 Hz); 2.57 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 2.53 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.45 (bs, 2H, OH+NH); 1.71-1.60 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.59-1.49 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.58-1.45 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.33-1.20 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

**$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ :** 166.92 (C=O); 153.35 (C); 144.63 (CH=CH); 140.04 (C); 129.85 (C); 117.29 (CH=CH); 105.20 (CH arom.); 64.28 (CH<sub>2</sub>); 62.24 (CH<sub>2</sub>); 60.86 (OCH<sub>3</sub>); 56.09 (OCH<sub>3</sub>); 49.74 (CH<sub>2</sub>); 49.40 (CH<sub>2</sub>); 32.64 (CH<sub>2</sub>); 29.75 (CH<sub>2</sub>); 27.05 (CH<sub>2</sub>); 26.55 (CH<sub>2</sub>); 26.31 (CH<sub>2</sub>); 25.67 (CH<sub>2</sub>) ppm.

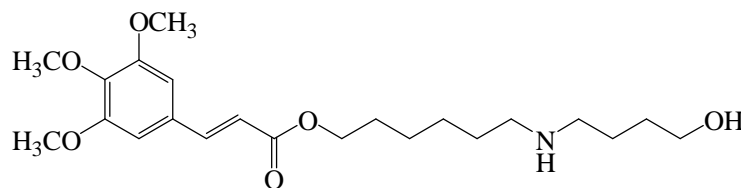
**(E)-4-(6-idrossiesilmetilamino)butil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (89) (CF26)**

Si segue la procedura generale di metilazione riduttiva partendo da 152.7 mg di **88** (0.37 mmol), 0.23 mL di HCOOH (6.34 mmol) e 0.05 mL di una soluzione acquosa al

37% di HCHO (1.80 mmol). Si ottengono 153.6 mg di prodotto desiderato sotto forma di olio giallo pallido che non necessita di ulteriore purificazione. **Resa:** 97%.

**$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ :** 7.50 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.68 (s, 2H, 2CH arom.); 6.26 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.13 (t, 2H,  $CH_2O$ , J=6.4 Hz); 3.80 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.79 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.51 (t, 2H,  $CH_2O$ , J=6.8 Hz); 2.86 (bs, 1H, OH); 2.30-2.22 (m, 4H, 2NCH<sub>2</sub>); 2.12 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.61 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.54-1.44 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.43-1.33 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.32-1.18 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

**$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ :** 166.97 (C=O); 153.34 (C); 144.61 (CH=CH); 139.99 (C); 129.87 (C); 118.00 (CH=CH); 105.17 (CH arom.); 64.39 (CH<sub>2</sub>); 62.40 (CH<sub>2</sub>); 60.87 (OCH<sub>3</sub>); 57.66 (CH<sub>2</sub>); 57.25 (CH<sub>2</sub>); 56.08 (OCH<sub>3</sub>); 42.10 (NCH<sub>3</sub>); 32.66 (CH<sub>2</sub>); 27.25 (CH<sub>2</sub>); 27.06 (CH<sub>2</sub>); 26.73 (CH<sub>2</sub>); 25.67 (CH<sub>2</sub>); 23.63 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-6-(4-idrossibutilamino)esil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (90) (CF21)**

Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **65** partendo da 285.0 mg di **58** (0.63 mmol) in 4 mL di acetonitrile anidro, 0.12 mL di

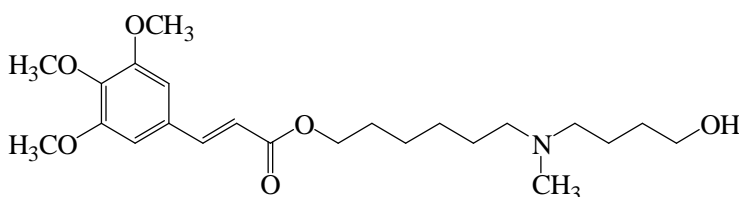
4-ammino-1-butanolo (1.27 mmol) e 87.0 mg di  $K_2CO_3$  (0.63 mmol). Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione utilizzando come eluente

CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 95:5:0.5. Si ottengono 182.5 mg di **90** sotto forma di olio giallo pallido. **Resa:** 70%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.58 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.75 (s, 2H, 2CH arom.); 6.34 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.19 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3.89 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.57 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 2.68-2.58 (m, 4H, 2NCH<sub>2</sub>); 1.72-1.58 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>); 1.54 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.47-1.32 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 167.27 (C=O); 153.44 (C); 144.61 (CH=CH); 129.96 (C); 117.48 (CH=CH); 105.27 (CH arom.); 64.52 (CH<sub>2</sub>); 62.58 (CH<sub>2</sub>); 60.97 (OCH<sub>3</sub>); 56.18 (OCH<sub>3</sub>); 49.66 (CH<sub>2</sub>); 49.39 (CH<sub>2</sub>); 32.60 (CH<sub>2</sub>); 29.53 (CH<sub>2</sub>); 28.83 (CH<sub>2</sub>); 28.66 (CH<sub>2</sub>); 26.93 (CH<sub>2</sub>); 25.85 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-6-(4-idrossibutilmetilamino)esil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (91) (CF22)**



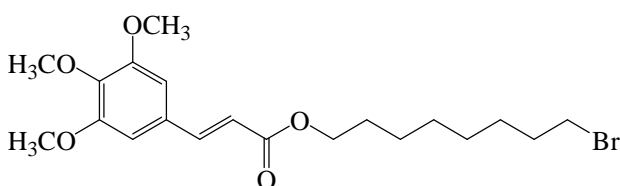
Si segue la procedura generale di metilazione riduttiva partendo da 172.5 mg di **90** (0.42 mmol), 0.26 mL di HCOOH (7.17 mmol) e 0.06

mL di una soluzione acquosa al 37% di HCHO (2.10 mmol). Si ottengono 165.6 mg di prodotto desiderato come olio giallo pallido che non necessita di ulteriore purificazione. **Resa:** 93%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.53 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.71 (s, 2H, 2CH arom.); 6.30 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.14 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 3.84 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.52-3.47 (m, 2H, CH<sub>2</sub>O); 2.36-2.24 (m, 4H, 2NCH<sub>2</sub>); 2.17 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.70-1.55 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>); 1.54-1.44 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.53-1.23 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 166.96 (C=O); 153.40 (C); 144.51 (CH=CH); 140.07 (C); 129.94 (C); 117.47 (CH=CH); 105.23 (CH arom.); 64.49 (CH<sub>2</sub>); 62.63 (CH<sub>2</sub>); 60.88 (OCH<sub>3</sub>); 58.23 (CH<sub>2</sub>); 57.87 (CH<sub>2</sub>); 56.12 (OCH<sub>3</sub>); 41.23 (NCH<sub>3</sub>); 32.66 (CH<sub>2</sub>); 28.64 (CH<sub>2</sub>); 27.09 (CH<sub>2</sub>); 26.74 (CH<sub>2</sub>); 26.30 (CH<sub>2</sub>); 25.88 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-8-bromoottil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (92) (CF29)**



Si segue la procedura della sintesi di **54** partendo da una soluzione del cloruro acilico dell'acido *trans*-3-4-5-trimetossicinnammico, ottenuto secondo la procedura generale di sintesi dei cloruri

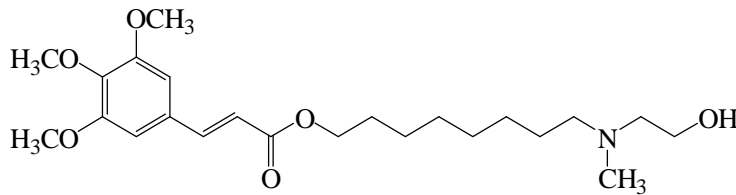
acidi a partire da 200.0 mg di acido (0.84 mmol), in 5 mL di cloroformio privo di etanolo e 0.14 mL (0.83 mmol) di 8-bromo-1-ottanolo. Il grezzo di reazione viene purificato mediante flash cromatografia utilizzando come eluente CHX/Act 7:3, ottenendo 143.6 mg del prodotto desiderato come olio giallo. **Resa:** 40%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.55 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.72 (s, 2H, 2CH arom.); 6.31 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.16 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.85 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.84 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.37 (t, 2H, CH<sub>2</sub>Br, J=6.8 Hz); 1.85 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 1.70 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 1.44-1.24 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 167.07 (C=O); 153.43 (C); 144.61 (CH=CH); 129.96 (C); 117.48 (CH=CH); 105.20 (CH arom.); 64.64 (CH<sub>2</sub>); 60.98 (OCH<sub>3</sub>); 56.16 (OCH<sub>3</sub>); 33.98 (CH<sub>2</sub>); 32.74 (CH<sub>2</sub>); 29.07 (CH<sub>2</sub>); 28.70 (CH<sub>2</sub>); 28.63 (CH<sub>2</sub>); 28.05 (CH<sub>2</sub>); 25.87 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**ESI-MS m/z (%)**: 429.0 (100) [M+H]<sup>+</sup>.

**(E)-8-(2-idrossietilmetilamino)ottil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (93) (CF32)**



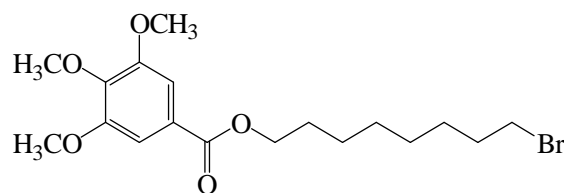
Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **65** partendo da 138.3 mg (0.32 mmol) di **92** in 4 mL di acetonitrile anidro, 0.052 mL di 2-metilamminoetanolo (0.64

mmol) e 44.0 mg di  $K_2CO_3$  (0.32 mmol). Si ottengono 63.3 mg di prodotto desiderato dopo aver purificato il grezzo di reazione mediante flash cromatografia utilizzando come eluente  $CH_2Cl_2/MeOH/NH_4OH$  90:10:1. **Resa:** 46%.

**$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ :** 7.54 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.71 (s, 2H, 2CH arom.); 6.30 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.15 (t, 2H,  $CH_2O$ , J=6.8 Hz); 3.84 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.54 (t, 2H,  $CH_2O$ , J=5.2 Hz); 2.96 (bs, 1H, OH); 2.47 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 2.35 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.19 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.64 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 1.47-1.38 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.37-1.19 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

**$^{13}C$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ :** 167.02 (C=O); 153.39 (C); 144.54 (CH=CH); 140.01 (C); 129.94 (C); 117.47 (CH=CH); 105.18 (CH arom.); 64.64 (CH<sub>2</sub>); 60.91 (OCH<sub>3</sub>); 58.81 (CH<sub>2</sub>); 58.33 (CH<sub>2</sub>); 57.74 (CH<sub>2</sub>); 56.11 (OCH<sub>3</sub>); 41.60 (NCH<sub>3</sub>); 29.40 (CH<sub>2</sub>); 29.22 (CH<sub>2</sub>); 28.71 (CH<sub>2</sub>); 27.21 (CH<sub>2</sub>); 27.18 (CH<sub>2</sub>); 25.91 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**8-bromoottil 3,4,5-trimetossibenzoato (94) (CF31)**

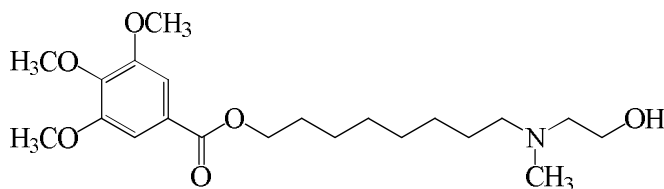


Si segue la procedura della sintesi di **54** partendo da una soluzione del cloruro acilico dell'acido 3-4-5-trimetossibenzoico, ottenuto secondo la procedura generale di sintesi dei cloruri acidi a partire da 250.0 mg di acido (1.18 mmol), in 4 mL di cloroformio privo di

etanolo e 0.20 mL (1.18 mmol) di 8-bromo-1-ottanolo. Il grezzo di reazione viene purificato mediante flash cromatografia utilizzando come eluente CHX/ACT 8:2, ottenendo 173.5 mg del prodotto desiderato come olio giallo pallido. **Resa:** 37%.

**$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ :** 7.27 (s, 2H, CH arom.); 4.28 (t, 2H,  $CH_2O$ , J=6.8 Hz); 3.88 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.37 (t, 2H,  $CH_2Br$ , J=6.4 Hz); 1.82 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.74 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.43-1.22 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

**8-((2-idrossietil)(metil)ammino)ottil 3,4,5-trimetossibenzoato (95) (CF37)**



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **65**, su 173.5 mg di **94** (0.43 mmol) in 3 mL di acetonitrile anidro, 0.07 mL di 2-metilamminoetanolo (0.86 mmol) e 59.0 mg di  $K_2CO_3$ . Il grezzo di reazione viene

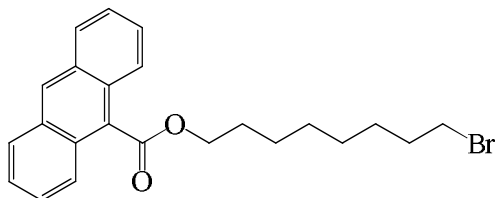
purificato mediante flash cromatografia utilizzando come eluente  $CH_2Cl_2/MeOH/NH_3$  95:5:0.5, ottenendo 103.8 mg del prodotto desiderato come olio incolore. **Resa:** 100%.

**$^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ :** 7.28 (s, 2H, 2CH arom.); 4.29 (t, 2H,  $CH_2O$ , J=6.8 Hz); 3.89 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.56 (t, 2H,  $CH_2O$ , J=5.2 Hz); 2.50 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N, J=5.2 Hz); 2.37



(t, 2H, CH<sub>2</sub>N, J=7.2 Hz); 2.22 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.75 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.50-1.22 (m, 10H, 5CH<sub>2</sub>) ppm.

### 8-bromoottil antracen-9-carbossilato (96) (CF30)



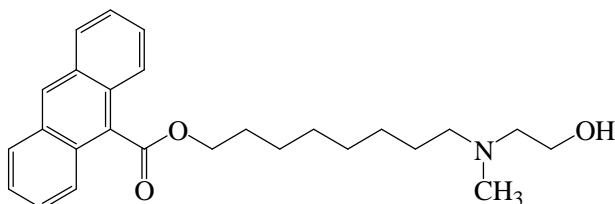
Si segue la procedura della sintesi di **54** partendo da una soluzione del cloruro acilico dell'acido 9-antracencarbossilico, ottenuto secondo la procedura generale di sintesi dei cloruri acidi a partire da 250.0 mg di acido (1.12 mmol), in 5 mL di cloroformio privo di etanolo e 0.19 mL (1.24 mmol)

di 8-bromo-1-ottanolo. Il grezzo di reazione viene purificato mediante flash cromatografia utilizzando come eluente CHX/ACT 8:2, ottenendo 370.8 mg del prodotto desiderato come olio giallo. **Resa:** 80%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.50 (s, 1H, CH arom.); 8.07 (d, 2H, 2CH arom., J=8.8 Hz); 8.00 (d, 2H, 2CH arom., J=8.4 Hz); 7.57-7.48 (m, 4H, 4CH arom.); 4.63 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.38 (t, 2H, CH<sub>2</sub>Br, J=4.8 Hz); 1.95-1.77 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.47-1.38 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 169.78 (C=O); 131.03 (C); 129.25 (CH arom.); 128.66 (CH arom.); 128.41 (C); 126.95 (CH arom.); 125.49 (CH arom.); 125.04 (CH arom.); 70.92 (CH<sub>2</sub>); 65.91 (CH<sub>2</sub>); 33.99 (CH<sub>2</sub>); 32.76 (CH<sub>2</sub>); 29.16 (CH<sub>2</sub>); 28.66 (CH<sub>2</sub>); 28.07 (CH<sub>2</sub>); 26.02 (CH<sub>2</sub>) ppm.

### 8-(2-idrossietilmetilamino)ottil antracen-9-carbossilato (97) (CF33)



Si segue la procedura descritta per la sintesi del prodotto **65**, su 186.0 mg di **96** (0.45 mmol) in 6 mL di acetonitrile anidro, 0.07 mL di 2-metilammino-etanolo (0.90 mmol). Si ottengono 45.0 mg di prodotto desiderato (olio giallo)

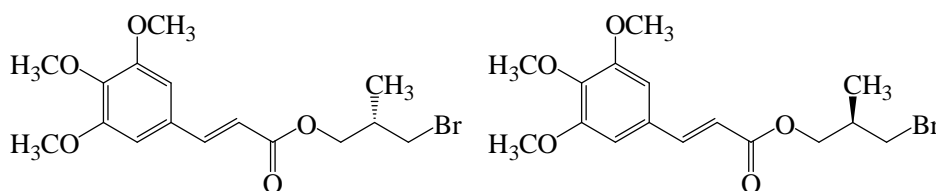
dopo aver purificato il grezzo di reazione mediante flash cromatografia utilizzando come eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 90:10:1. **Resa:** 25%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.50 (s, 1H, CH arom.); 8.05-8.00 (m, 4H, 4CH arom.); 7.61-7.47 (m, 4H, 4CH arom.); 4.61 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz); 3.57 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.2 Hz); 2.50 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 2.37 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 2.20 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.88 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 1.53-1.42 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.51-1.20 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

## 5.2.2. Intermedi della serie dei derivati ramificati

(*S,E*)-3-bromo-2-metilpropil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (**98**) (CF1)

(*R,E*)-3-bromo-2-metilpropil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (**99**) (CF8)



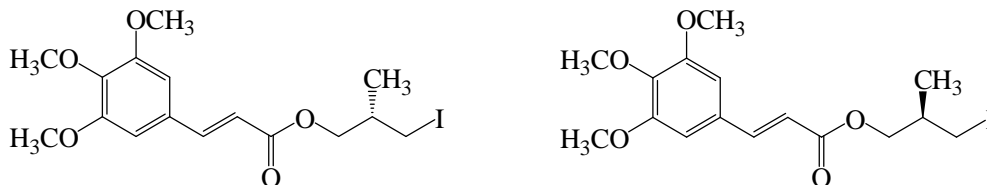
Ad 1 eq del cloruro dell'acido 3,4,5-trimetossicinnamico (ottenuto secondo la procedura generale di sintesi dei cloruri acilici), solubilizzato nella minima quantità di cloroformio privo

di etanolo, vengono aggiunti 1eq rispettivamente dell'alcol (*S*)-(+)-3-bromo-2-metil-1-propanolo o (*R*)-(-)-3-bromo-2-metil-1-propanolo. La miscela è mantenuta sotto agitazione magnetica sotto flusso d'azoto a 0°C per 30 minuti e quindi a temperatura ambiente per 16 h. Quindi si riprende con CHCl<sub>2</sub> e si lava tre volte con una soluzione acquosa di NaOH al 10%. La fase organica viene anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e portata a secco per ottenere il grezzo di reazione che viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione (eluente: CHX/ACT 7:3). I composti purificati si presentano come olio giallo pallido. **Resa (prodotto 98):** 99%. **Resa (prodotto 99):** 96%.

**(Prodotto 98) <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.54 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 6.70 (s, 2H, 2CH arom.); 6.30 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.16 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>O, J=5.6 Hz, 11.2 Hz); 4.12 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>O, J=6.0 Hz, 11.2 Hz); 3.82 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.46-3.38 (m, 2H, CH<sub>2</sub>Br); 2.20 (sex, 1H, CH, J=6.8 Hz); 1.05 (d, 3H, CH<sub>3</sub>, J=6.8 Hz) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.61 (C=O); 153.40 (C); 145.04 (CH=CH); 140.19 (C); 129.74 (C); 116.89 (CH=CH); 105.28 (CH arom.); 66.99 (CH<sub>2</sub>); 60.88 (OCH<sub>3</sub>); 56.12 (OCH<sub>3</sub>); 36.92 (CH<sub>2</sub>); 34.77 (CH); 15.75 (CH<sub>3</sub>) ppm.

**(Prodotto 99) <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.60 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.75 (s, 2H, 2CH arom.); 6.34 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.22 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>O, J=5.6 Hz, 11.2 Hz); 4.14 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>O, J=7.2 Hz, 11.2 Hz); 3.89 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.55-3.42 (m, 2H, CH<sub>2</sub>Br); 2.27 (sex, 1H, CH, J=5.6 Hz); 1.11 (d, 3H, CH<sub>3</sub>, J=6.8 Hz) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 166.72 (C=O); 153.46 (C); 145.12 (CH=CH); 129.78 (C); 116.94 (CH=CH); 105.31 (CH arom.); 66.60 (CH<sub>2</sub>); 60.98 (OCH<sub>3</sub>); 56.19 (OCH<sub>3</sub>); 36.90 (CH<sub>2</sub>); 34.82 (CH); 15.80 (CH<sub>3</sub>) ppm.

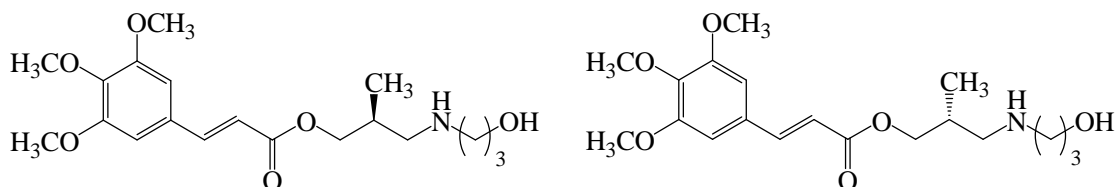
**(*S,E*)-3-iodio-2-metilpropil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (100) (CF3)**  
**(*R,E*)-3-iodio-2-metilpropil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (101) (CF10)**



Ad una soluzione di **98** o **99** in acetone (3 mL/mmol), si aggiungono 4 eq di NaI e si pone la miscela di reazione sotto agitazione magnetica alla temperatura di 58°C in condizioni di assenza di luce. Dopo 48 h si evapora il solvente sotto vuoto, il residuo viene ripreso con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e lavato tre volte con acqua. La fase organica viene anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e infine portata a secco. Si ottengono così i prodotti **100** (solido bruno, **resa:** 89%, **p.f.:** 85-88°C) e **101** (olio denso bruno, **resa:** 93%) che non necessitano di ulteriore purificazione.

**(Prodotto 100) <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.59 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.75 (s, 2H, 2CH arom.); 6.34 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.17 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>O, J=5.6 Hz, 11.2 Hz); 4.12 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>O, J=6.0 Hz, 11.2 Hz); 3.88 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.28 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>I, J=4.8 Hz, 9.6 Hz); 3.25 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>I, J=6.0 Hz, 10.0 Hz); 1.99-1.88 (sex, 1H, CH, J=6.2 Hz); 1.07 (d, 3H, CH<sub>3</sub>, J=6.4 Hz) ppm.

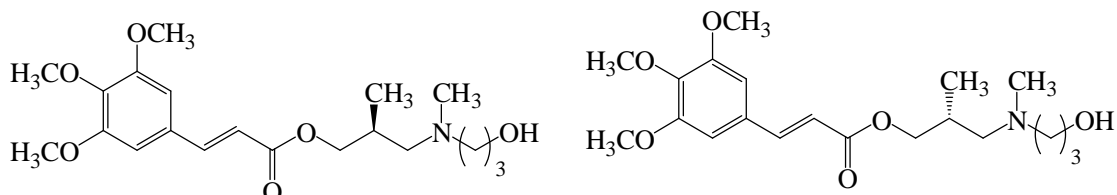
**(Prodotto 101) <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.55 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.71 (s, 2H, CH arom.); 6.30 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.15 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>O, J=5.6 Hz, 11.2 Hz); 4.03 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>O, J=7.2 Hz, 11.2 Hz); 3.84 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.30 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>I, J=5.2 Hz, 11.2 Hz); 3.23 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>I, J=6.0 Hz, 10.0 Hz); 1.92 (sex, 1H, CH, J=5.6 Hz); 1.03 (d, 3H, CH<sub>3</sub>, J=6.8 Hz) ppm.

**(*S,E*)-3-(3-idrossipropilamino)-2-metilpropil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato**  
**(102) (CF12)****(*R,E*)-3-(3-idrossipropilamino)-2-metilpropil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato**  
**(103) (CF2)**

Ad una soluzione di 1 eq di iodioalchilestere **100** o **101** in acetonitrile anidro (1 mL/mmol) vengono aggiunti 1 eq  $K_2CO_3$  e 2 eq di 3-ammino-1-propanolo. La miscela di reazione è mantenuta sotto corrente di azoto a 60°C per 4 h e 30 minuti. A reazione terminata il solvente viene evaporato sotto pressione. Il residuo viene ripreso con  $CH_2Cl_2$  e la fase organica viene lavata con una soluzione acquosa di NaOH al 10%. Si anidrifca la fase organica con  $Na_2SO_4$  anidro e si evapora sotto vuoto. I prodotti desiderati vengono ottenuti per purificazione del grezzo di reazione mediante cromatografia flash, usando in entrambi i casi come eluente  $CH_2Cl_2/MeOH/NH_4OH$  95:5:0.5. Vengono così ottenuti rispettivamente **102** (olio giallo pallido, **resa:** 28%) e **103** (olio giallo, **resa:** 50%).

**(Prodotto 102)**  $^1H-NMR$  ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.59 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.76 (s, 2H, 2CH arom.); 6.34 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.12 (t, 2H,  $CH_2O$ , J=5.6 Hz); 3.88 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.81 (t, 2H, OCH<sub>2</sub>, J=5.2 Hz); 3.08 (bs, 1H, OH); 2.90 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 2.70 (dd, 1H, NCH<sub>2</sub>, J=6.4 Hz, 12.0 Hz); 2.56 (dd, 1H, NCH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz, 12.0 Hz); 2.12 (sex, 1H, CH, J=6.8 Hz); 1.77-1.68 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.02 (d, 3H, CH<sub>3</sub>, J=6.8 Hz) ppm. **ESI-MS**  $m/z$  (%): 368.3 (100)  $[M+H]^+$ .

**(Prodotto 103)**  $^1H-NMR$  ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 7.54 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.72 (s, 2H, 2CH arom.); 6.30 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.07 (dd, 2H,  $CH_2O$ , J=1.6 Hz, 6.0 Hz); 3.84 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.75 (t, 2H, OCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 3.30-3.11 (bs, 2H, OH+NH); 2.83 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=6.0 Hz); 2.63 (dd, 1H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz, 12.0 Hz); 2.49 (dd, 1H, NCH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz, 11.6 Hz); 2.02 (sex, 1H, CH, J=6.4 Hz); 1.71-1.60 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 0.97 (d, 3H, CH<sub>3</sub>, J=6.8 Hz) ppm.

**(*S,E*)-3-(3-idrossipropilmetilamino)-2-metilpropil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (104)**  
**(CF13)****(*R,E*)-3-(3-idrossipropilmetilamino)-2-metilpropil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (105)**  
**(CF4)**

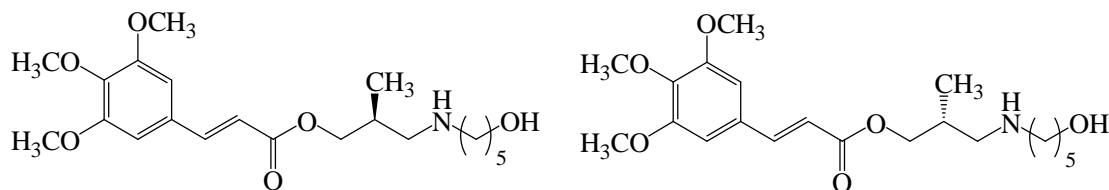
Si segue la procedura generale di metilazione riduttiva partendo rispettivamente dal prodotto **102** o **103**. I prodotti finali **104** (olio giallo pallido, **resa:** 79%) e **105** (olio giallo, **resa:** 64%) vengono ottenuti per purificazione del grezzo di reazione mediante cromatografia sotto pressione, uando in entrambi i casi come eluente  $CH_2Cl_2/MeOH/NH_4OH$  95:5:0.5.

**(Prodotto 104)**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.60 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.76 (s, 2H, 2CH arom.); 6.35 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.17 (dd, 1H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=5.6 Hz, 11.2 Hz); 4.04 (dd, 1H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=6.0 Hz, 10.8 Hz); 3.89 (s, 6H, 2 $\text{OCH}_3$ ); 3.87 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.81 (t, 2H,  $\text{OCH}_2$ , J=5.2 Hz); 2.61 (t, 2H,  $\text{NCH}_2$ , J=5.6 Hz); 2.24 (dd, 1H,  $\text{NCH}_2$ , J=6.4 Hz, 11.2 Hz); 2.45-2.32 (m, 4H,  $\text{NCH}_2+\text{NCH}_3$ ); 2.13 (sex, 1H, CH, J=6.4 Hz); 1.81-1.70 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.06 (d, 3H,  $\text{CH}_3$ , J=6.4 Hz) ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 166.95 (C=O); 153.43 (C); 144.87 (CH=CH); 140.16 (C); 129.88 (C); 117.19 (CH=CH); 105.30 (CH arom.); 67.84 ( $\text{CH}_2$ ); 64.03 ( $\text{CH}_2$ ); 62.08 ( $\text{CH}_2$ ); 60.95 ( $\text{OCH}_3$ ); 58.70 ( $\text{CH}_2$ ); 56.17 ( $\text{OCH}_3$ ); 42.12 ( $\text{NCH}_3$ ); 30.99 (CH); 27.84 ( $\text{CH}_2$ ); 15.70 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

**(Prodotto 105)**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.57 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 6.73 (s, 2H, 2CH arom.); 6.33 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 4.17 (dd, 1H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=5.2 Hz, 10.8 Hz); 4.06 (dd, 1H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=6.4 Hz, 10.8 Hz); 3.86 (s, 6H, 2 $\text{OCH}_3$ ); 3.85 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.77 (t, 2H,  $\text{OCH}_2$ , J=5.2 Hz); 2.61 (t, 2H,  $\text{NCH}_2$ , J=5.6 Hz); 2.39 (dd, 1H,  $\text{NCH}_2$ , J=6.8 Hz, 11.2 Hz); 2.35-2.30 (m, 4H,  $\text{NCH}_2+\text{NCH}_3$ ); 2.13 (sex, 1H, CH, J=6.8 Hz); 1.79-1.70 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.02 (d, 3H,  $\text{CH}_3$ , J=6.8 Hz) ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 166.94 (C=O); 153.43 (C); 144.87 (CH=CH); 140.19 (C); 129.87 (C); 117.18 (CH=CH); 105.33 (CH arom.); 67.80 ( $\text{CH}_2$ ); 63.88 ( $\text{CH}_2$ ); 62.05 ( $\text{CH}_2$ ); 60.92 ( $\text{OCH}_3$ ); 58.54 ( $\text{CH}_2$ ); 56.17 ( $\text{OCH}_3$ ); 42.08 ( $\text{NCH}_3$ ); 30.97 (CH); 27.85 ( $\text{CH}_2$ ); 15.65 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

**(S,E)-3-(5-idrossipentilamino)-2 metilpropil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (106) (CF17)**

**(R,E)-3-(5-idrossipentilamino)-2 metilpropil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (107) (CF7)**



Ad una soluzione di 1 eq di iodioalchilestere **100** o **101** in acetonitrile anidro (1 mL/mmol) vengono aggiunti 1 eq  $\text{K}_2\text{CO}_3$  e 2 eq di 5-ammino-1-pentanol. La miscela di reazione è mantenuta sotto corrente di azoto a  $60^\circ\text{C}$  per 4 h. A reazione terminata il solvente viene evaporato sotto pressione. Il residuo viene ripreso con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e la fase organica viene lavata con una soluzione acquosa di NaOH al 10%. Si anidrifca la fase organica con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro e si evapora sotto vuoto. I prodotti desiderati vengono ottenuti per purificazione del grezzo di reazione mediante cromatografia flash, usando in entrambi i casi come eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$  95:6:0.8. Vengono così ottenuti rispettivamente **106** (olio giallo pallido, resa: 46%) e **107** (olio marrone chiaro, resa: 47%).

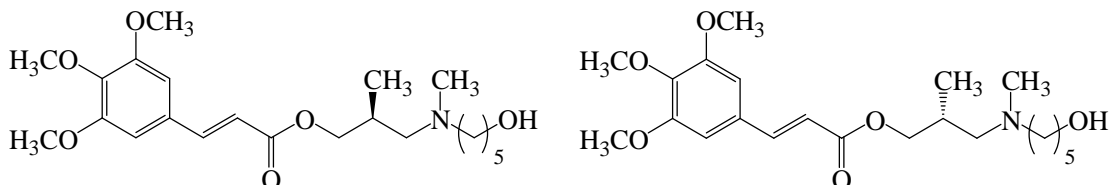
**(Prodotto 106)**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.58 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.75 (s, 2H, 2CH arom.); 6.33 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.14 (d, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=6.0 Hz); 3.88 (s, 6H, 2 $\text{OCH}_3$ ); 3.87 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.63 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=6.4 Hz); 2.67-2.53 (m, 3H, 2 $\text{NCH}_2$ ); 2.48 (dd, 1H,  $\text{NCH}_2$ , J=5.2 Hz, 12.0 Hz); 2.41-2.30 (bs, 2H, OH+NH); 2.06 (sex, 1H, CH, J=6.4 Hz); 1.59-1.42 (m, 4H, 2 $\text{CH}_2$ ); 1.41-1.32 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 0.98 (d, 3H,  $\text{CH}_3$ , J=6.8 Hz) ppm.  $^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 167.08 (C=O); 153.40 (C); 144.87 (CH=CH); 140.13 (C); 129.84 (C); 117.17 (CH=CH); 105.28 (CH arom.); 67.47 ( $\text{CH}_2$ ); 62.28 ( $\text{CH}_2$ ); 60.93 ( $\text{OCH}_3$ ); 56.16 ( $\text{OCH}_3$ ); 52.92 ( $\text{CH}_2$ ); 49.80 ( $\text{CH}_2$ ); 33.10 (CH); 32.35 ( $\text{CH}_2$ ); 29.40 ( $\text{CH}_2$ ); 23.39 ( $\text{CH}_2$ ); 15.50 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

**(Prodotto 107)**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.56 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.73 (s, 2H, 2CH arom.); 6.32 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.11 (d, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=5.6 Hz); 3.86 (s, 6H, 2 $\text{OCH}_3$ ); 3.85 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.59 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=6.8 Hz); 2.68-2.51 (m, 3H, 2 $\text{NCH}_2$ ); 2.49 (dd, 1H,

NCH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz, 12.0 Hz); 2.04 (sex, 1H, CH, J=6.4 Hz); 2.00-1.88 (bs, 2H, OH+NH); 1.60-1.45 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.43-1.32 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 0.99 (d, 3H, CH<sub>3</sub>, J=6.8 Hz) ppm.

**(S,E)-3-(5-idrossipentilmetilamino)-2metilpropil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (108)**  
(CF18)

**(R,E)-3-(5-idrossipentilmetilamino)-2metilpropil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (109)**  
(CF9)



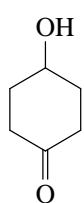
Si segue la procedura generale di metilazione riduttiva partendo rispettivamente dal prodotto **106** o **107**. Dopo la lavorazione delle reazioni si ottengono i prodotti finali **108** (olio incolore, **resa**: 98%) e **109** (olio giallo pallido, **resa**: 93%) che non necessitano di ulteriore purificazione.

**(Prodotto 108)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.58 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 6.74 (s, 2H, 2CH arom.); 6.34 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.24 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>O, J=4.8 Hz, 10.8 Hz); 4.02 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz, 10.8 Hz); 3.87 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.61 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 2.37-2.25 (m, 3H, 2NCH<sub>2</sub>); 2.19 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.18-2.11 (m, 1H, NCH<sub>2</sub>); 2.10-2.01 (m, 1H, CH); 1.60-1.50 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.50-1.42 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.41-1.32 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 0.99 (d, 3H, CH<sub>3</sub>, J=6.8 Hz) ppm.

**(Prodotto 109)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.57 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 6.74 (s, 2H, 2CH arom.); 6.33 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.24 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>O, J=4.4 Hz, 10.4 Hz); 4.02 (dd, 1H, CH<sub>2</sub>O, J=6.8 Hz, 10.8 Hz); 3.87 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.61 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 2.36-2.26 (m, 3H, 2NCH<sub>2</sub>); 2.18 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.17-2.10 (m, 1H, NCH<sub>2</sub>); 2.09-2.01 (m, 1H, CH); 1.98 (bs, 1H, OH); 1.60-1.52 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.51-1.41 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.41-1.32 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 0.98 (d, 3H, CH<sub>3</sub>, J=6.8 Hz) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 167.16 (C=O); 153.43 (C); 144.62 (CH=CH); 139.81 (C); 129.94 (C); 117.44 (CH=CH); 105.27 (CH arom.); 68.18 (CH<sub>2</sub>); 62.83 (CH<sub>2</sub>); 61.32 (CH<sub>2</sub>); 60.95 (OCH<sub>3</sub>); 58.10 (CH<sub>2</sub>); 56.18 (OCH<sub>3</sub>); 42.74 (NCH<sub>3</sub>); 32.55 (CH<sub>2</sub>); 31.27 (CH); 26.99 (CH<sub>2</sub>); 23.47 (CH<sub>2</sub>); 15.91 (CH<sub>3</sub>) ppm.

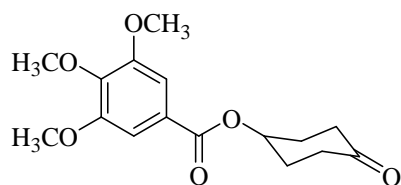
### 5.2.3. Intermedi della serie dei derivati dicicloesanic esterici

#### 4-idrossicicloesano (110) (ST40) [151]



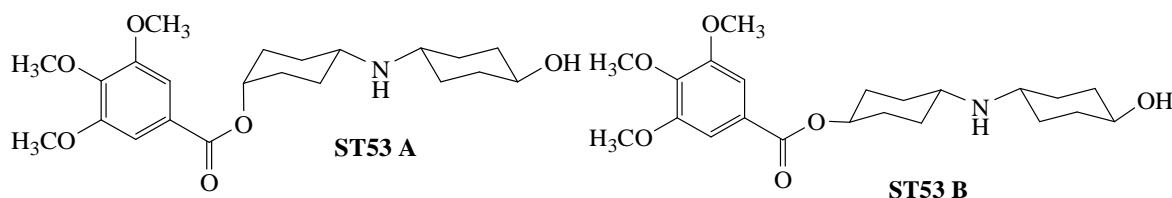
Si solubilizza il cicloesandiolo (6.00 g, 51.7 mmol) in una miscela 70:30 CH<sub>3</sub>CN: H<sub>2</sub>O (290 mL) e si aggiungono cerioammonionitrato, CAN, (2.85 g, 5.2 mmol) e NaBrO<sub>3</sub> (7.84 g, 51.95 mmol). Si scalda a 80°C per 15 min, dopodichè si raffredda in ghiaccio, si basifica con una soluzione acquosa di NaOH al 10% e si estrae con etere etilico. La fase organica viene anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro ed evaporata a pressione ridotta. Si ottengono 4.50 g di prodotto desiderato che non richiede purificazione. **Resa**: 75%

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 4.18-4.13 (m, 1H, CHOH); 2.61-2.50 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 2.32-2.21 (m, 3H, CH<sub>2</sub>+OH); 2.06-1.40 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

**4-ossocicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (111) (ST51) [157]**

Si solubilizza il cloruro dell'acido 3,4,5-trimetossibenzoico, ottenuto a partire da 2.79 g (13,1 mmoli) di acido, seguendo la procedura generale per la sintesi dei cloruri acilici, in  $\text{CHCl}_3$  stabilizzato con amilene e a questa soluzione si aggiunge 1.00 g (8.76 mmoli) di **110**. Si lascia sotto corrente di azoto alla temperatura di  $60^\circ\text{C}$  per 14 h. Si basifica con una soluzione acquosa di NaOH al 10%, si separa la fase acquosa che viene riestratta 2 volte con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Le fasi organiche riunite vengono anidricate su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  ed evaporate a pressione ridotta. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia sotto pressione, utilizzando come eluente CHX/ACT 7:3. **Resa:** 70%.

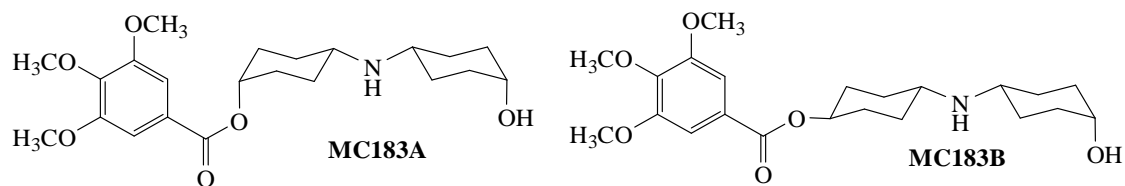
**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 7.25 (s, 2H, 2CH arom.); 5.44-5.38 (m, 1H, CHO); 3.91 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.90 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2.66-2.57 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 2.50-2.41 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 2.18 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

**4-(4-idrossicicloesilammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoati (cis/trans 112A e trans/trans 112B) [157]**

Si segue la procedura generale della reazione di amminazione riduttiva precedentemente descritta, partendo dal 4-ossocicloesilestere **111** (1.32 g, 3.9 mmoli) e dal *trans*-4-amminocicloesanol. Quest'ultimo viene ottenuto per trattamento del corrispondente cloridrato commerciale con 1 eq di metilato sodico per 30' a temperatura ambiente. I due isomeri puri si ottengono mediante flash cromatografia utilizzando come eluente  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$  90:10:0.5. Il prodotto **112A** si presenta come olio incolore (**resa:** 31%), mentre il prodotto **112B** sotto forma di solido giallo pallido (**resa:** 24%, **p.f.:**  $127-128^\circ\text{C}$ ).

**(Prodotto 112A)  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 7.27 (s, 2H, 2CH arom.); 5.12 (bs, 1H, CHO); 3.91 (s, 9H, 3 OCH<sub>3</sub>); 3.60 (tt, 1H, CHOH,  $J=10.6$  Hz, 4.0 Hz); 2.71 (tt, 1H, CHN,  $J=9.6$  Hz, 3.2 Hz); 2.59 (tt, 1H, CHN,  $J=10.8$  Hz, 3.60 Hz); 2.06-1.10 (m, 18H, 8 CH<sub>2</sub>, OH e NH) ppm. **IR (film liquido):** 3350 (OH e NH); 1723 (CO)  $\text{cm}^{-1}$ .

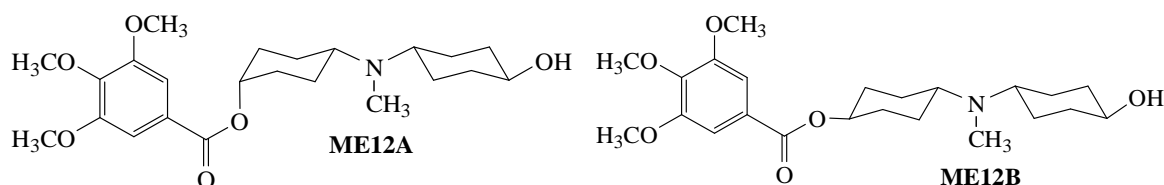
**(Prodotto 112B)  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 7.27 (s, 2H, 2CH arom.); 4.92 (tt, 1H, CHOH,  $J=10.8$  Hz, 4.4 Hz); 3.90 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 3.62 (tt, 1H, CHOH,  $J=10.6$  Hz, 4.0 Hz); 2.66 (t, 1H, CHN,  $J=11.2$  Hz); 2.60 (t, 1H, CHN,  $J=10.8$  Hz); 2.15-1.13 (m, 18H, 8CH<sub>2</sub>, OH e NH) ppm. **IR (film liquido):** 3350 (OH e NH); 1723 (CO)  $\text{cm}^{-1}$ .

**4-(4-idrossicicloesilammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoati (cis/cis 112C e trans/cis 112D) [157]**

Si segue la procedura generale della reazione di amminazione riduttiva, partendo dal 4-ossocicloesilestere **111** (1.28 g, 4.10 mmol) e dal *cis*-4-amminocicloesano. Quest'ultimo viene ottenuto per trattamento del corrispondente trifluoroacetato (**117**) con 1 eq di metilato sodico per 2 h a temperatura ambiente. I due isomeri puri si ottengono mediante flash cromatografia utilizzando come eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 90:10:0.5. **112C resa:** 18%, **112D resa:** 11%. **(Prodotto 112C)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.31 (s, 2H, 2CH arom.); 5.18-5.13 (m, 1H, CHO); 3.90-3.95 (m, 7H, 2OCH<sub>3</sub>+CHO); 3.88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2.82-2.70 (m, 2H, 2NCH); 2.09-2.00 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.82-1.50 (m, 14H, 7CH<sub>2</sub>) ppm. **IR (film liquido) v:** 3350 (OH e NH); 1723 (CO) cm<sup>-1</sup>.

**(Prodotto 112D)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.25 (s, 2H, 2CH arom.); 4.93 (tt, 1H, CHO, J<sub>aa</sub>=10.8 Hz, J<sub>ae</sub>=4.4 Hz); 3.96-3.90 (m, 1H, CHO); 3.89 (s, 6H, 2 OCH<sub>3</sub>); 3.88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2.82-2.73 (m, 2H, 2NCH); 2.19-2.10 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 2.09-2.00 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.82-1.35 (m, 12H, 6CH<sub>2</sub>) ppm. **IR (film liquido) v:** 3350 (OH e NH); 1723 (CO) cm<sup>-1</sup>.

**4-((4-idrossicicloesil)(metil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoati (*cis/trans* 113A e *trans/trans* 113B)**

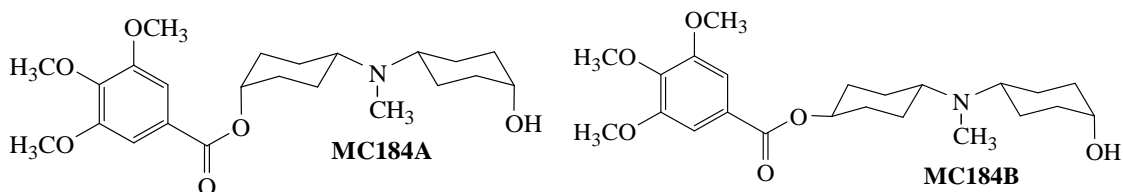


Si segue la procedura generale di metilazione riduttiva partendo rispettivamente dal prodotto **112A** o **112B**. Dopo la lavorazione delle reazioni si ottengono i prodotti finali **113A** (olio incolore, **resa:** 100%) e **113B** (olio giallo pallido, **resa:** 100%) che non necessitano di ulteriore purificazione.

**(Prodotto 113A)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.31 (s, 2H, 2CH arom.); 5.18 (bs, 1H, CHO); 3.90 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 3.61-3.51 (m, 1H, CHOH); 2.69-2.51 (m, 2H, 2CHN); 2.26 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 1.18-2.20 (m, 17H, 8CH<sub>2</sub>+OH) ppm. **IR (film liquido) v:** 3370 (OH e NH); 1714 (CO) cm<sup>-1</sup>.

**(Prodotto 113B)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.28 (s, 2H, 2CH arom.); 4.95-4.78 (m, 1H, CHO); 3.91 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 3.61-3.55 (m, 1H, CHOH); 2.70-2.50 (m, 2H, 2CHN); 2.27 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.20-1.18 (m, 17H, 8CH<sub>2</sub>+OH); ppm. **IR (film liquido) v:** 3370 (OH e NH); 1714 (CO) cm<sup>-1</sup>.

**4-((4-Idrossicicloesil)(metil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoati (*cis/cis* 113C e *trans/cis* 113D) [157]**

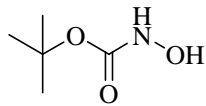


Si segue la procedura generale di metilazione riduttiva partendo rispettivamente dal prodotto **112C** o **112D**. Dopo la lavorazione delle reazioni si ottengono i prodotti finali **113C** (olio incolore, **resa:** 100%) e **113D** (olio giallo pallido, **resa:** 86%) che non necessitano di ulteriore purificazione.

**(Prodotto 113C)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.32 (s, 2H, CH arom.); 5.22-5.17 (m, 1H, CHO); 4.00-3.95 (m, 1H, CHO); 3.90 (m, 6H, 2 OCH<sub>3</sub>); 3.89 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2.70-2.60 (m, 2H, 2NCH); 2.33 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.13-2.04 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.88-1.45 (m, 16H, 8 CH<sub>2</sub>) ppm. **IR (film liquido) v:** 3370 (OH e NH); 1714 (CO) cm<sup>-1</sup>.

**(Prodotto 113D)**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.27 (s, 2H, CH arom.); 4.92-4.84 (m, 1H, CHO); 4.00-3.95 (m, 1H, CHO); 3.90 (s, 6H, 2  $\text{OCH}_3$ ); 3.89 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 2.75-2.55 (m, 2H, 2  $\text{NCH}$ ); 2.32 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ); 2.20-2.12 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.98-1.71 (m, 6H, 3  $\text{CH}_2$ ); 1.55-1.49 (m, 8H, 4  $\text{CH}_2$ ) ppm. **IR (film liquido)**  $\nu$ : 3370 (OH e NH); 1714 (CO)  $\text{cm}^{-1}$ .

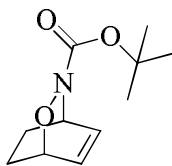
**ter-butil idrossicarbammato (114) (MC179) [153]**



Si solubilizza la idrossilamina cloridrato (5.06 g, 72.80 mmol) in 65 mL di una miscela 20:80 di  $\text{H}_2\text{O}$  e THF e si aggiunge  $\text{NaHCO}_3$  (12.20 g, 145.20 mmol). Dopo 10 min si addiziona il di-ter-butildicarbonato (3.95 g, 18.10 mmol) e si lascia la miscela sotto agitazione a temperatura ambiente per 4.5 h. Si allontana il precipitato bianco formatosi per filtrazione su terra di diatomee e si evapora a pressione ridotta il filtrato. L'olio così ottenuto viene solubilizzato in 40 mL di etile acetato e lavato con 50 mL di una soluzione satura di NaCl. La fase acquosa è estratta con etile acetato (5x20 mL) fino a che l'analisi TLC (eluente CHX/EtOAc 5:5) indica che tutto il prodotto è stato estratto nella fase organica. Le fasi organiche riunite vengono anidrificate su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro ed evaporate a pressione ridotta. All'olio così ottenuto si aggiunge toluene (120 mL) e si evapora ancora per ottenere un solido che viene addizionato di 30 mL di esano ed agitato vigorosamente per alcuni minuti. Il solido bianco viene filtrato sotto vuoto, lavato con esano e seccato: si ottengono 1.90 g del prodotto desiderato. **Resa**: 20%. **P.f.**: 55-57°C.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 1.46 (s, 9H) ppm.

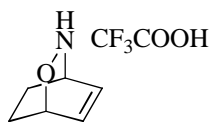
**ter-butil 2-ossa-3-azabicyclo[2.2.2]ott-7-en-3-carbossilato (115) (MC180) [153]**



Ad una miscela 50%  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ : $\text{CH}_3\text{OH}$  (30 mL) raffreddata a 0°C si aggiunge  $\text{NaIO}_4$  (1.68 g, 7.88 mmol), 1,3-cicloesadiene (0.86 mL, 9.02 mmol) e **114** (1 g, 7.52 mmol). Si lascia a temperatura ambiente sotto agitazione per 18h e poi si scalda a 40°C per 1 h. Si allontana il precipitato bianco formatosi mediante filtrazione sotto vuoto; il filtrato giallo viene evaporato al rotavapor. L'olio ottenuto viene solubilizzato in 14 mL di etile acetato e lavato 2 volte con 10 mL di una soluzione al 40% di  $\text{NaHSO}_3$ . Le fasi acquose vengono riunite e estratte con etile acetato. Le fasi organiche riunite sono lavate con 3 mL di  $\text{H}_2\text{O}$  e poi con 3 mL di una soluzione satura di NaCl. Vengono anidrificate su  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anidro ed evaporate sotto vuoto a dare 1.59 g del prodotto desiderato (olio giallo-ambra) che non necessita di purificazione. **Resa**: 100%.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.60-6.50 (m, 2H,  $\text{CH}=\text{CH}$ ); 4.75-4.70 (m, 2H,  $\text{CHN}+\text{CHO}$ ); 2.21-2.06 (m, 2H); 1.51-1.42 (m, 10H); 1.40-1.30 (m, 1H) ppm.

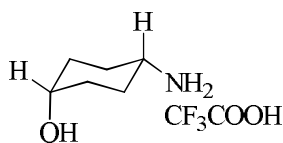
**2-ossa-3-azabicyclo[2.2.2]ott-7-en 2,2,2-trifluoroacetato (116) (MC181) [153]**



A **115** (5.11 g, 24.00 mmol), solubilizzato in 50 mL di  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , si aggiungono a 0°C 9.13 mL di acido trifluoroacetico. Dopo 1 h a 0°C si lascia la miscela sotto agitazione per 3 h a temperatura ambiente. Si allontana il solvente sotto vuoto e si concentra da  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (5x10 mL) per rimuovere completamente l'eccesso di  $\text{CF}_3\text{COOH}$ . Si tritura l'olio ottenuto con  $\text{Et}_2\text{O}$  anidro; si raffredda a 0°C e si filtra il solido ottenuto che viene seccato sottovuoto. Si ottengono 4.09 g del prodotto desiderato (solido marrone chiaro). **Resa**: 76%. **P.f.**: 122-123°C.

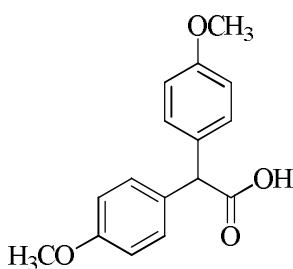
$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{DMSO}$ )  $\delta$ : 6.86-6.81 (m, 1H,  $\text{CH}=\text{CH}$ ); 6.63-6.58 (m, 1H,  $\text{CH}=\text{CH}$ ); 4.97-4.94 (m, 1H); 4.55-4.53 (m, 1H); 2.12-2.00 (m, 2H); 1.47-1.39 (m, 2H) ppm.



**4-amminocicloesanol 2,2,2-trifluoroacetato (117) (MC181) [153]**

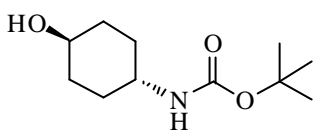
**116** (3.99 g, 17.7 mmoli), solubilizzato in 40 mL di EtOH assoluto, viene idrogenato in apparato Parr a 65 psi in presenza di 0.145 g di Pd/C al 10%. Dopo 20 h si filtra la miscela su terra di diatomee e il filtrato viene concentrato a pressione ridotta a dare 41.15 g del prodotto desiderato (solido bianco). **Resa:** 100%. **P.f.:** 134-136°C.

**<sup>1</sup>H-NMR (DMSO) δ:** 7.80 (bs, 2H, NH<sub>2</sub>); 4.47 (bs, 1H, OH); 3.75 (s, 1H, CHOH); 2.96 (tt, 1H, CHNH<sub>2</sub>, J<sub>aa</sub> = 10.0 Hz, J<sub>ae</sub> = 4.4 Hz); 1.73-1.56 (m, 6H); 1.48-1.38 (m, 2H) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR (DMSO) δ:** 63.58 (CHOH); 50.16 (CHNH<sub>2</sub>); 30.00 (2CH<sub>2</sub>); 24.57 (2CH<sub>2</sub>) ppm.

**acido bis-(4-metossi-fenil)-acetico (118) (MC202) [153]**

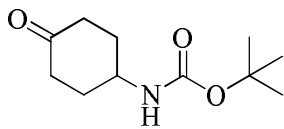
Ad una miscela di anisolo (4.34 mL, 40.0 mmol) ed acido acetico glaciale (2 mL) si aggiunge metà di una soluzione di acido gliossilico (1.84 g, 20.0 mmol) in acido acetico glaciale (5 mL) e H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. (15 gocce). Si scalda a 50°C e si aggiunge l'altra metà della soluzione di acido gliossilico e si lascia a t.a. sotto agitazione per 27 h. Si evapora a pressione ridotta e l'olio rosso ottenuto, per aggiunta di H<sub>2</sub>O, dà origine ad un precipitato appiccicoso che viene estratto con Et<sub>2</sub>O. Si anidrifica la fase organica su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e si evapora al rotavapor per ottenere 4.83 g di un olio giallo-ambra che viene purificato per cromatografia sotto pressione (eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/CH<sub>3</sub>COOH 99:1:1). Il prodotto desiderato (3.38 g, olio giallo chiaro) viene poi triturato con etere di petrolio a dare un solido bianco-sporco. **Resa:** 62%. **P.f.:** 103-105°C.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.24-7.20 (m, 4H, 4CH arom.); 6.87-6.84 (m, 4H, 4CH arom.); 4.94 (s, 1H, CH); 3.78 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>) ppm.

**5.2.4. Intermedi della serie dicicloesamica ammidica****tert-butil ((1r,4r)-4-idrossicicloesil)carbammato (119) (CG5) [154]**

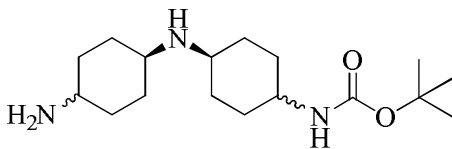
1.00 g (6.60 mmol) di 4-*trans*-amminocicloesanol-HCl è solubilizzato in H<sub>2</sub>O a temperatura ambiente. La soluzione viene posta in bagno di ghiaccio ed addizionata di 1.83 mL (13.2 mmol) di Et<sub>3</sub>N e di 1.44 g (6.60 mmol) di diterbutildicarbonato precedentemente solubilizzato in THF; si forma una sospensione opaca. Si mantiene la reazione sotto agitazione a temperatura ambiente per tutta la notte. Poi si riprende la miscela con etere etilico e si lava la fase organica per 3 volte con H<sub>2</sub>O. La fase eterea è anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e successivamente evaporata sotto vuoto. Si ottengono così 1.25 g di **119** (polvere bianca) che viene impiegato come tale nella reazione successiva. **Resa:** 88%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 4.35 (bs, 1H, OH); 3.53-3.59 (m, 1H, CHO); 3.37-3.41 (m, 1H, CHN); 1.93-1.99 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.41 (s, 9H, 3CH<sub>3</sub>); 1.30-1.41 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.10-1.21 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

**tert-butil (4-ossocicloesil)carbammato (120) (CG6) [154]**

656.4 mg (3.05 mmol) di **119** vengono solubilizzati in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro ed addizionati di un egual quantitativo di celite (656.4 mg) e di 978.2 mg (4.58 mmol) di piridinio cloro cromato (PCC). Quest'ultimo è aggiunto sotto corrente di azoto, a piccole dosi e ad intervalli di tempo di circa 5' una dall'altra. Al termine delle aggiunte la miscela si colora di marrone. La reazione è mantenuta a temperatura ambiente per 21 h, poi evaporata a pressione ridotta. Si ottiene un solido marrone che viene trattato con 20 mL di una soluzione di etile acetato/n-esano (1:1) per 15 min. Il solido marrone indisciolto è filtrato sotto vuoto, mediante filtro Gooch e le acque madri sono portate a secco al rotavapor. Si ottengono 611.3 mg di una polvere marrone che non necessita di purificazione. **Resa:** 94%.

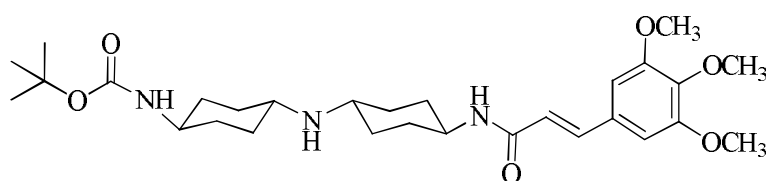
**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 4.59 (bs, 1H, NH); 3.90 (bs, 1H, CHN); 2.45-2.30 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$ ); 2.26-2.12 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.65-1.50 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.42 (s, 9H,  $3\text{CH}_3$ ) ppm. **IR (film liquido)  $\nu$ :** 1711 (CO); 1678 (CONH)  $\text{cm}^{-1}$ .

**tert-butil (4-((4-aminocicloesil)amino)cicloesil)carbammato (*trans/cis* 121A e *trans/trans* 121B) (CG7A e CG7B) [145]**

Si segue la procedura generale di amminazione riduttiva partendo da 611.3 mg (2.87 mmol) di **119** solido, 327.8 mg (2.87 mmol) di 1,4-*trans*-diamminocicloesano e 1.02 mL (3.44 mmol) di titanio(IV)isopropossido. Dopo 2 h tutto il **119** ha reagito e si procede con l'aggiunta di 360.7 mg (5.74 mmol) di sodiocianoboroidruro e di 3 mL di etanolo assoluto. Il grezzo di reazione (solido color panna) viene purificato tramite flash cromatografia utilizzando come eluente WE4. La separazione cromatografica ha permesso di isolare i due isomeri della serie *trans*, il *trans/cis* (**121A**, 70.3 mg, **resa:** 16%) e il *trans/trans* (**121B**, 63.7 mg, **resa:** 14%).

**(Prodotto 121A):  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 4.70-4.62 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{eq}}\text{N}$ ); 2.75-2.61 (m, 2H,  $2\text{CHN}$ ); 2.54-2.43 (m, 1H, CHN); 1.91-1.88 (m, 6H,  $3\text{CH}_2$ ); 1.68-1.61 (m, 6H,  $\text{NH}_2+2\text{NH}+\text{CH}_2$ ); 1.43 (s, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1.35-1.28 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.11-1.09 (m, 6H,  $3\text{CH}_2$ ) ppm. **IR (film liquido)  $\nu$ :** 1680 (CONH)  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI-MS  $m/z$  (%):** 312.2 (100) [ $M+\text{H}$ ] $^+$ .

**(Prodotto 121B):  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 4.46-4.40 (m, 1H,  $\text{CH}_{\text{ax}}\text{N}$ ); 2.68-2.61 (m, 1H, CHN); 2.61-2.45 (m, 2H,  $2\text{CHN}$ ); 2.05-1.80 (m, 12H,  $\text{NH}_2+2\text{NH}+4\text{CH}_2$ ); 1.41 (s, 9H,  $\text{CH}_3$ ); 1.11-1.09 (m, 8H,  $4\text{CH}_2$ ) ppm. **IR (film liquido)  $\nu$ :** 1680 (CONH)  $\text{cm}^{-1}$ . **ESI-MS  $m/z$  (%):** 312.3 (100) [ $M+\text{H}$ ] $^+$ .

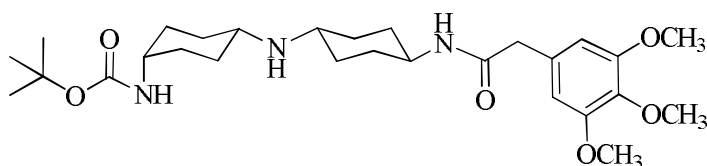
**tert-butil *N*-(*cis* 4-((*trans* 4-((*2E*)-3-(3,4,5-trimetossifenil)prop-2-enamido)cicloesil)amino)cicloesil)carbammato (*cis/trans* 122A) (CG10A) [145]**

Ad una soluzione di **121**<sup>o</sup> (205.0 mg, 0.66 mmol) in 5 mL di  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro a  $0^\circ\text{C}$ , vengono aggiunti in sequenza acido 3,4,5-trimetossicinnamico (240.0 mg, 0.99 mmol), DMAP (64.0 mg, 0.53 mmol) e EDCI (227.0 mg, 1.19 mmol). La miscela viene mantenuta in agitazione a  $0^\circ\text{C}$  per 1 h, poi a t.a. per altre 72 h. La miscela viene ripresa con  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  e la fase organica viene lavata 2 volte con  $\text{H}_2\text{O}$  e 2 volte con

una soluzione satura di NaHCO<sub>3</sub>. Dopo aver anidrificato con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, il solvente viene rimosso a pressione ridotta. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia flash, utilizzando come eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH (95:5:0.5). Si ottengono 230.0 mg di composto desiderato (solido giallo pallido). **Resa:** 61%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.44 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz), 6.63 (s, 2H, 2CH arom.), 6.32 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz), 4.69 (bs, 1H, CH<sub>eq</sub>N), 3.78 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.75 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>), 3.60-3.52 (m, 1H, CHN), 2.70-2.68 (m, 1H, CHN), 2.50-2.40 (m, 1H, CHN), 2.00-1.83 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 1.66-1.48 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>), 1.36 (s, 9H, 3CH<sub>3</sub>), 1.18-1.08 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm. **ESI-MS m/z (%):** 532.4 (100) [M+H]<sup>+</sup>.

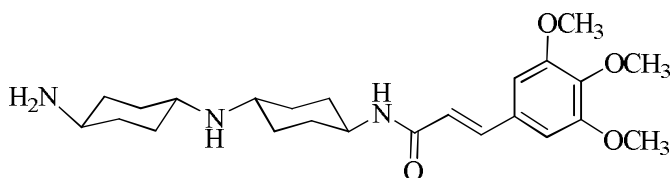
***tert*-butil *N*-((*trans* 4-((*trans* 4-((*E*)-3-(3,4,5-trimetossifenil)prop-2-enamido)cicloesil)ammino)cicloesil)carbammato (*trans/trans* 122B) (CG10B) [145]**



Si usa la stessa procedura descritta per il composto **121A**, a partire dall'intermedio **121B**. **Resa:** 26%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.50 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz), 6.70 (s, 2H, 2CH arom.), 6.28 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz), 4.40 (bs, 1H, CH<sub>ax</sub>N), 3.85 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>), 3.34-3.42 (m, 1H, CHN), 2.44-2.56 (m, 2H, 2CHN), 1.87-2.06 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>), 1.43 (s, 9H, 3CH<sub>3</sub>), 1.12-1.24 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

**(*E*)-*N*-((*cis* 4-((*trans* 4-amminocicloesil)ammino)cicloesil)-3-(3,4,5-trimetossifenil)prop-2-enamide (*cis/trans* 123A) (CG12A) [145]**

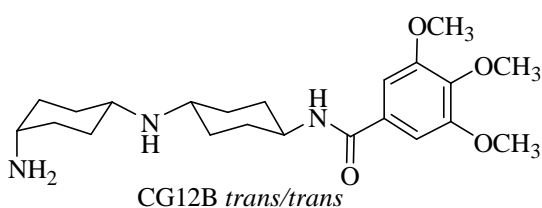


Ad una soluzione di **121A** (205.0 mg, 0.39 mmol) in 1 mL of CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, vengono aggiunti 0.77 mL di CF<sub>3</sub>COOH (10.0 mmol), e la reazione viene mantenuta in

agitazione a t.a. per 2 h. Quindi vengono aggiunti 10 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e la fase organica viene lavata 3 volte con una soluzione acquosa di NaOH 10% p/v. Dopo aver anidrificato con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, il solvente viene rimosso per evaporazione sotto vuoto. Si ottengono così 130.0 mg di prodotto desiderato, sotto forma di olio incolore, che non necessita di ulteriore purificazione. **Resa:** 75%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.48 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz), 6.69 (s, 2H, 2CH arom.), 6.26 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz), 3.83 (s, 10H, 3OCH<sub>3</sub>+CHN), 2.89-2.82 (m, 1H, CHN); 2.75-2.68 (m, 1H, CHN), 2.52-2.45 (m, 1H, CHN), 2.12-2.00 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.95-1.80 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.53-1.44 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>), 1.39-1.16 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm.

**(*E*)-*N*-((*trans* 4-((*trans* 4-amminocicloesil)ammino)cicloesil)-3-(3,4,5-trimetossifenil)prop-2-enamide (*trans/trans* 123B) (CG12B) [145]**

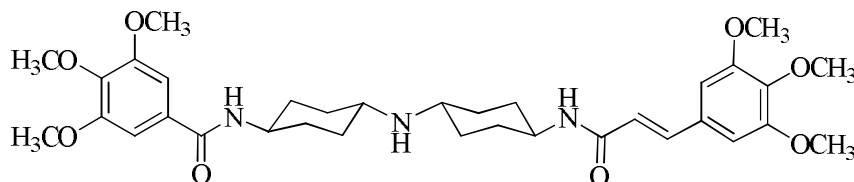


Si usa la stessa procedura descritta per il composto **123A**, a partire dall'intermedio **122B**. **Resa:** 80%.

<sup>1</sup>H NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.49 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz); 6.69 (s, 2H, 2CH arom.), 6.25 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz), 3.84 (s, 10H,

3OCH<sub>3</sub>+CHN), 2.59-2.65 (m, 1H, CHN), 2.47-2.54 (m, 2H, 2CHN), 2.02-2.11 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.78-1.99 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 1.18-1.30 (m, 10H, 5CH<sub>2</sub>) ppm.

**3,4,5-trimetossi-N-(cis 4-((trans 4-((2E)-3-(3,4,5-trimetossifenil)prop-2-enammido) cicloesil)ammino)cicloesil)benzamide (cis/trans 124A) (CG16A) [145]**

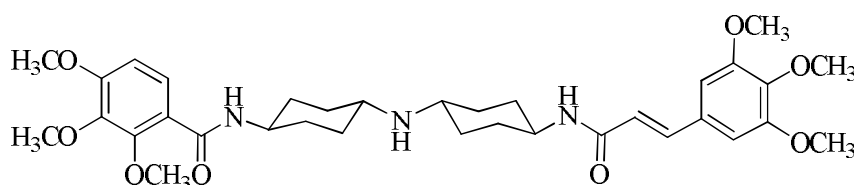


Ad una soluzione di **123A** (130.0 mg, 0.30 mmol) in 5 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro a 0°C, vengono

aggiunti in sequenza acido 3,4,5-trimetossibenzoico (96.0 mg, 0.45 mmol), DMAP (30.0 mg, 0.24 mmol) e EDCI (104.0 mg, 0.54 mmol). La miscela viene mantenuta in agitazione a 0°C per 1 h, poi a t.a. per altre 20 h. La miscela viene ripresa con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e la fase organica viene lavata 2 volte con H<sub>2</sub>O e 2 volte con una soluzione satura di NaHCO<sub>3</sub>. Dopo aver anidrificato con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, il solvente viene rimosso a pressione ridotta. Si ottengono 60.0 mg di composto desiderato (olio incolore) che non necessitano di ulteriore purificazione. **Resa:** 55%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.50 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz), 6.95 (s, 2H, 2CH arom.), 6.71 (s, 2H, 2CH arom.), 6.25 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz), 4.20-4.10 (m, 1H, CHN), 3.89 (s, 10H, 3OCH<sub>3</sub>+CHN), 3.86 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>), 2.86-2.79 (m, 1H, CHN), 2.58-2.49 (m, 1H, CHN), 2.12-2.05 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 2.02-1.92 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.87-1.64 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>), 1.30-1.18 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm.

**2,3,4-trimetossi-N-(cis 4-((trans 4-((2E)-3-(3,4,5-trimetossifenil)prop-2-enammido) cicloesil)ammino)cicloesil)benzamide (cis/trans 125A) (CG13A) [145]**

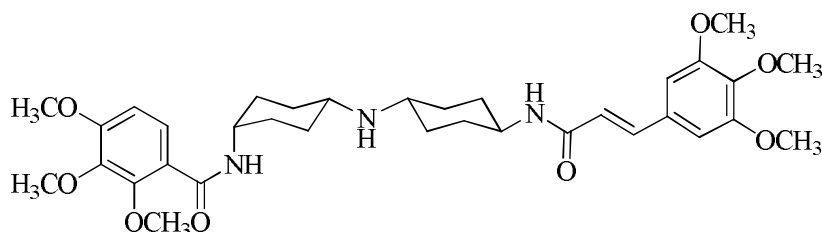


Si usa la stessa procedura descritta per il composto **122A**, a partire dall'intermedio **123A** usando l'acido 2,3,4-

trimetossibenzoico. **Resa:** 19%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** =7.85 (d, 1H, CH arom., J=9.2 Hz), 7.50 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz), 6.74 (d, 1H, CH arom., J=9.2 Hz), 6.70 (s, 2H, 2CH arom.), 6.28 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz), 4.15-4.23 (m, 1H, CHN), 3.95 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.84 (s, 10H, 3OCH<sub>3</sub>+CHN), 2.69-2.76 (m, 1H, CHN), 2.52-2.56 (m, 1H, CHN), 1.91-2.10 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 1.67-1.79 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 1.36-1.43 (m, 2H, CH<sub>2</sub>), 1.18-1.23 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm. **ESI-MS m/z (%):** 626.4 (100) [M+H]<sup>+</sup>.

**2,3,4-trimetossi-N-(trans 4-((trans 4-((2E)-3-(3,4,5-trimetossifenil)prop-2-enammido) cicloesil)ammino)cicloesil)benzamide (trans/trans 125B) (CG13B) [145]**



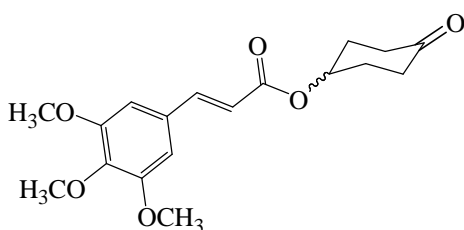
Si usa la stessa procedura descritta per il composto **122A**, a partire dall'intermedio **123B** usando l'acido 2,3,4-

trimetossibenzoico. **Resa:** 42%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$ : 7.84 (d, 1H, CH arom., J=9.2 Hz), 7.50 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz), 6.74 (d, 1H, CH arom., J=8.8 Hz), 6.70 (s, 2H, 2CH arom.), 6.31 (d, 1H, CH=CH, J=15.6 Hz), 3.96 (s, 2H, 2CHN), 3.91 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.88 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>), 3.86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.84 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>), 2.58-2.65 (m, 2H, 2CHN), 2.04-2.15 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 1.90-2.00 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>), 1.20-1.35 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm. **ESI-MS *m/z* (%)**: 626.4 (100) [M+H]<sup>+</sup>.

### 5.2.5. Intermedi della serie cicloesilamminica

#### 4-ossocicloesil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (**126**) (PAS18)

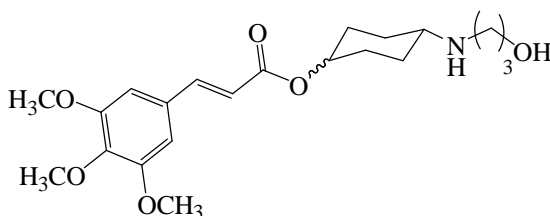


Si solubilizza il cloruro dell'acido, ottenuto a partire da 1.5 mmol dell'acido 3,4,5-trimetossicinnamico e 2.0 mmol di SOCl<sub>2</sub>, seguendo la procedura generale per la sintesi dei cloruri acilici, in CHCl<sub>3</sub> stabilizzato con amilene e a questa soluzione si aggiunge **110** (1.0 mmol). Si procede come descritto per la sintesi di **111**.

**Resa:** 71%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$ : 7.63 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.77 (s, 2H, 2CH arom.); 6.37 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 5.84-5.27 (m, 1H, CHO); 3.90 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.89 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2.66-2.57 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 2.46-2.37 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 2.21-2.12 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

#### (*E*)-4-(3-idrossipropilammino)cicloesil-3-(3,4,5-trimetossifenil) acrilato (*cis* **127A** e *trans* **127B**) (FB8A e FB8B)



Si segue la procedura generale di amminazione riduttiva partendo da 600.0 mg (1.80 mmol) di **126** solido, 0.16 mL di (2.87 mmol) di 3-ammino-1-propanolo (2.16 mmol) e 1.06 mL (3.60 mmol) di titanio(IV) isopropossido. Dopo 3 h tutto il **126** ha reagito e si procede con

l'aggiunta di 226.8 mg (3.60 mmol) di sodiocianoboroidruo e di 3 mL di etanolo assoluto. Il grezzo di reazione viene purificato tramite flash cromatografia utilizzando come eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH (98:6:0.8). Si ottiene così una miscela 1:1 dei due isomeri (456.0 mg, olio giallo pallido, **resa:** 12%), come si evince dallo spettro protonico.

Tramite una ulteriore cromatografia sotto pressione della miscela isomerica (eluente: WE1) si ottengono i due isomeri puri **127A** (olio giallo pallido, **resa:** 17%) e **127B** (olio giallo pallido, **resa:** 10%).

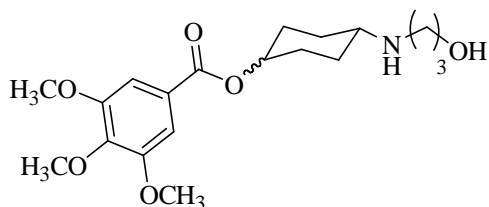
**(Prodotto 127A+127B) <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$ : 7.60-7.42 (m, 2H, 2CH=CH); 6.78-6.65 (m, 4H, 4 CH arom.); 6.40-6.17 (m, 2H, CH=CH); 5.04-4.99 (m, 1H, OCH<sub>eq</sub>); 4.83-4.77 (m, 1H, OCH<sub>ax</sub>); 3.92-3.68 (m, 22H, 18OCH<sub>3</sub>+2CH<sub>2</sub>O); 2.90-2.80 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 2.51-2.38 (m, 2H, 2NCH<sub>ax</sub>); 2.10-1.78 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>); 1.75-1.30 (m, 12H, 6CH<sub>2</sub>) ppm. **IR (film liquido)  $\nu$** : 3350 (NH); 1707 (CO); 1636 (OCN) cm<sup>-1</sup>.

**(Prodotto 127A) <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$ : 7.53 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.71 (s, 2H, 2CH arom.); 6.29 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 5.04-4.99 (m, 1H, OCH<sub>eq</sub>); 3.84 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.86 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.75 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.2 Hz); 3.02 (bs, 1H, NH); 2.85 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N, J=6.0 Hz); 2.86-2.83 (m, 1H, NCH<sub>ax</sub>); 1.90-1.86 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.71-1.67 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.66 (t, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.0 Hz); 1.57-1.51 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>)**  $\delta$ : 166.26 (CO); 153.35 (C);

144.36 (C=C); 139.96 (C); 129.92 (C); 117.88 (C=C); 105.16 (CH arom.); 69.90 (CH<sub>eq</sub>); 63.98 (CH<sub>2</sub>); 60.87 (NCH<sub>ax</sub>); 56.12 (OCH<sub>3</sub>); 55.15 (OCH<sub>3</sub>); 46.79 (CH<sub>2</sub>); 31.40 (CH<sub>2</sub>OH); 28.26 (NHCH<sub>2</sub>); 27.96 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**(Prodotto 127B)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.55 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.74 (s, 2H, 2CH arom.); 6.30 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.83-4.77 (m, 1H, OCH<sub>ax</sub>); 3.84 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.79 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.2 Hz); 2.89 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N, J=6.0 Hz); 2.67 (bs, 1H, NH); 2.51-2.46 (m, 1H, NCH<sub>ax</sub>); 2.06-2.00 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.71-1.67 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.45 (t, 2H, CH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 1.25-1.19 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm. <sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 166.35 (CO); 153.40 (C); 144.52 (C=C); 140.04 (C); 129.94 (C); 117.88 (C=C); 105.19 (CH arom.); 72.59 (CH<sub>ax</sub>); 63.36 (CH<sub>2</sub>); 60.93 (NCH<sub>ax</sub>); 56.12 (OCH<sub>3</sub>); 55.20 (OCH<sub>3</sub>); 46.10 (CH<sub>2</sub>); 31.24 (CH<sub>2</sub>OH); 28.30 (NHCH<sub>2</sub>); 27.96 (CH<sub>2</sub>) ppm.

**4-(3-idrossipropilammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (*cis* 128A e *trans* 128B) (FRA 118A e FRA 118B)**



Si segue la procedura generale di amminazione riduttiva partendo da 600.0 mg (1.90 mmol) di **111** solido, 176 mg (2.3 mmol) di 3-ammino-1-propanolo e 1.15 mL (3.80 mmol) di titanio(IV)isopropossido. Dopo 4 h tutto **111** ha reagito e si procede con l'aggiunta di 226.8 mg (3.60 mmol) di

sodiocianoboroidruo e di 3 mL di etanolo assoluto. Il grezzo di reazione viene purificato tramite flash cromatografia utilizzando come eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH (90:10:1). Si ottiene così una miscela 1:1 dei due isomeri (260.0 mg, olio incolore, **resa**: 12%), come si evince dallo spettro protonico.

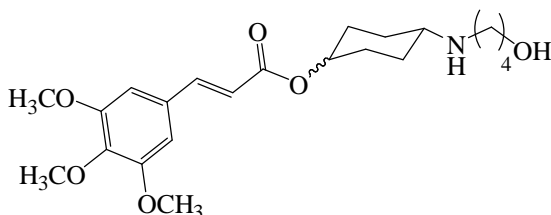
Tramite una ulteriore cromatografia sotto pressione della miscela isomerica (eluente: WE1) si ottengono i due isomeri puri **128A** (olio giallo, **resa**: 11%) e **128B** (solido bianco, **resa**: 11%).

**(Prodotto 128A+128B)** IR (film liquido) ν: 3368 (NH); 1712 (CO); 1663 (OCN) cm<sup>-1</sup>.

**(Prodotto 128A)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.29 (s, 2H, 2CH arom.); 5.19-5.11 (m, 1H, OCH<sub>eq</sub>); 3.91 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.89 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.81 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.2 Hz); 2.93 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N, J=5.6 Hz); 2.68-2.57 (m, 1H, NCH<sub>ax</sub>); 2.05-1.95 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.89-1.78 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.77-1.52 (m, 6H, 3CH<sub>2</sub>) ppm.

**(Prodotto 128B)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.26 (s, 2H, 2CH arom.); 5.01-4.76 (m, 1H, OCH<sub>ax</sub>); 3.90 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.89 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.81 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=5.2 Hz); 2.92 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N, J=5.6 Hz); 2.61-2.50 (m, 1H, NCH<sub>ax</sub>); 2.18-2.01 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.77-1.68 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.63-1.48 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.37-1.20 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

**4-(4-idrossibutilammino)cicloesil 3-(3,4,5-trimetossifenil)-(E)-acrilato (*cis* 129A e *trans* 129B) (FRA124A e FRA124B)**



Si segue la procedura generale di amminazione riduttiva partendo da 465.0 mg (1.39 mmol) di **126** solido, 0.82 mL (2.78 mmol) di 4-ammino-1-butanolo e 0.82 mL (2.78 mmol) di titanio(IV)isopropossido. Dopo 4 h tutto **126** ha reagito e si procede con l'aggiunta di 175.0 mg

(2.78 mmol) di sodiocianoboroidruo e di 3 mL di etanolo assoluto. Si ottiene così una miscela 1:1 dei due isomeri (393.0 mg, olio giallo, **resa**: 8%), come si evince dallo spettro protonico.

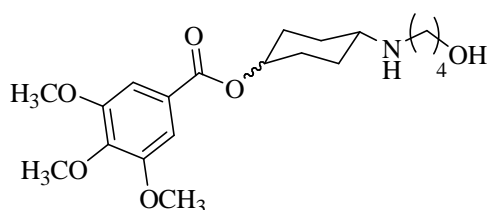
Tramite cromatografia sotto pressione della miscela isomerica (eluente: WE1) si ottengono i due isomeri puri **124A** (olio giallo chiaro, **resa**: 11%) e **124B** (solido bianco, **resa**: 11%).

**(Prodotto 124A+124B) IR (film liquido) v**: 3368 (NH); 1712 (CO); 1663 (OCN)  $\text{cm}^{-1}$ .

**(Prodotto 124A)  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** : 7.58 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.77 (s, 2H, 2CH arom.); 6.34 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 5.12-5.03 (m, 1H,  $\text{OCH}_{\text{eq}}$ ); 3.89 (s, 6H,  $2\text{OCH}_3$ ); 3.87 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.59 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=5.0 Hz); 2.70 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ , J=5.4 Hz); 2.67-2.53 (m, 1H,  $\text{NCH}_{\text{ax}}$ ); 2.01-1.89 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.85-1.73 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.72-1.53 (m, 8H,  $4\text{CH}_2$ ) ppm.

**(Prodotto 124B)  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** : 7.57 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.74 (s, 2H, 2CH arom.); 6.31 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.89-4.78 (m, 1H,  $\text{OCH}_{\text{ax}}$ ); 3.87 (s, 6H,  $2\text{OCH}_3$ ); 3.86 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.73 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=5.0 Hz); 2.69 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ , J=5.4 Hz); 2.58-2.47 (m, 1H,  $\text{NCH}_{\text{ax}}$ ); 2.13-2.00 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$ ); 1.73-1.55 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$ ); 1.54-1.39 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.33-1.18 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ) ppm.

**4-((5-idrossipentil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (*cis* 130A e *trans* 130B)  
(FRA121A e FRA121B)**



Si segue la procedura generale di amminazione riduttiva partendo da 438.0 mg (1.31 mmol) di **126** solido, 0.17 mL (1.57 mmol) di 4-ammino-1-butanolo e 0.75 ml (2.62 mmol) di titanio(IV)isopropossido. Dopo 3 h tutto **126** ha reagito e si procede con l'aggiunta di 165.0 mg (2.62 mmol) di sodiocianoboroidruo e di 3 mL di etanolo assoluto. Il grezzo di reazione viene purificato tramite flash cromatografia utilizzando come eluente WE1. Si ottiene così una miscela 1:1 dei due isomeri (200.0 mg, olio giallo, **resa**: 8%), come si evince dallo spettro protonico.

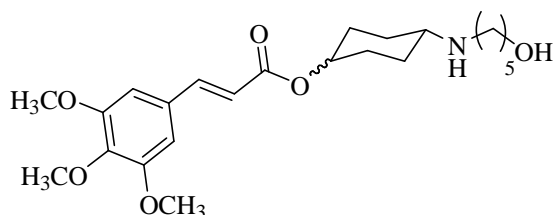
Tramite cromatografia sotto pressione della miscela isomerica (eluente: WE1) si ottengono i due isomeri puri **130A** (olio giallo chiaro, 65 mg **resa**: 11%) e **130B** (solido bianco 65 mg, **resa**: 11%).

**(Prodotto 130A+130B) IR (film liquido) v**: 3368 (NH); 1712 (CO); 1663 (OCN)  $\text{cm}^{-1}$ .

**(Prodotto 130A)  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** : 7.28 (s, 2H, 2CH arom.); 5.19-5.11 (m, 1H,  $\text{OCH}_{\text{eq}}$ ); 3.89 (s, 6H,  $2\text{OCH}_3$ ); 3.87 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.55 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=5.0 Hz); 3.23 (bs, 2H, NH+OH); 2.69 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ , J=5.2 Hz); 2.66-2.57 (m, 1H,  $\text{NCH}_{\text{ax}}$ ); 2.10-1.95 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.91-1.78 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.72-1.52 (m, 8H,  $4\text{CH}_2$ ) ppm.

**(Prodotto 130B)  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$** : 7.26 (s, 2H, 2CH arom.); 4.99-4.87 (m, 1H,  $\text{OCH}_{\text{ax}}$ ); 3.89 (s, 6H,  $2\text{OCH}_3$ ); 3.88 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.58 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=5.0 Hz); 2.99 (bs, 2H, NH+OH); 2.70 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ , J=5.2 Hz); 2.62-2.51 (m, 1H,  $\text{NCH}_{\text{ax}}$ ); 2.20-2.04 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$ ); 1.74-1.48 (m, 6H,  $3\text{CH}_2$ ); 1.38-1.25 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ) ppm.

**(E)-4-((5-idrossipentil)ammino)cicloesil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (*cis* 131A e *trans* 131B) (ELF24A e ELF24B)**



Si segue la procedura generale di amminazione riduttiva partendo da 1.40 g (4.19 mmol) di **126** solido, 0.55 mL (5.02 mmol) di 5-ammino-1-pentanololo e 2.48 ml (8.37 mmol) di titanio(IV)isopropossido. Dopo 3 h tutto **126** ha reagito e si procede con

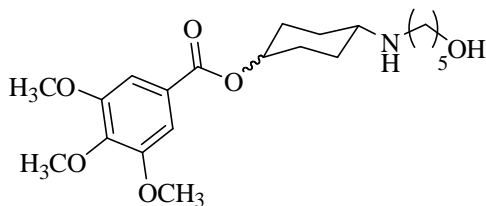
l'aggiunta di 526.0 mg (8.37mmol) di sodiocianoboroidruro e di 6 mL di etanolo assoluto. Il grezzo di reazione viene purificato tramite flash cromatografia utilizzando come eluente WE1. Si ottiene così una miscela 1:1 dei due isomeri (520.0 mg, olio giallo, **resa**: 30%), come si evince dallo spettro protonico.

Tramite varie cromatografie sotto pressione della miscela isomerica (eluente: WE1) si ottengono i due isomeri puri **131A** (olio incolore, **resa**: 15%) e **131B** (olio giallo pallido, **resa**: 8%).

**(Prodotto 131A)**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.57 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.75 (s, 2H, 2CH arom.); 6.33 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 5.11-5.06 (m, 1H,  $\text{OCH}_{\text{eq}}$ ); 3.89 (s, 6H,  $2\text{OCH}_3$ ); 3.87 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.64 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=6.4 Hz); 2.66 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ , J=6.8 Hz); 2.62-2.53 (m, 1H,  $\text{NCH}_{\text{ax}}$ ); 2.03-1.93 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.80-1.73 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.68-1.50 (m, 6H,  $3\text{CH}_2$ ); 1.49-1.40 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$ ) ppm.

**(Prodotto 131B)**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.57 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.75 (s, 2H, 2CH arom.); 6.32 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.90-4.78 (m, 1H,  $\text{OCH}_{\text{ax}}$ ); 3.88 (s, 9H,  $3\text{OCH}_3$ ); 3.65 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=6.6 Hz); 2.64 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ , J=7.0 Hz); 2.55-2.45 (m, 1H,  $\text{NCH}_{\text{ax}}$ ); 2.12-2.07 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 2.07-1.98 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.68-1.38 (m, 8H,  $4\text{CH}_2$ ); 1.32-1.19 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ) ppm.

**4-((5-idrossipentil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (*cis* 132A e *trans* 132B) (ELF32A e ELF32B)**



Si segue la procedura generale di amminazione riduttiva partendo da 1.06 g (3.44 mmol) di **111** solido, 0.45 mL (4.13 mmol) di 5-ammino-1-pentanol e 2.04 ml (6.88 mmol) di titanio(IV)isopropossido. Dopo 5 h tutto **111** ha reagito e si procede con l'aggiunta di 432.0 mg (6.88

mmol) di sodiocianoboroidruro e di 6 mL di etanolo assoluto. Il grezzo di reazione viene purificato tramite flash cromatografia utilizzando come eluente WE1. Si ottiene così una miscela 1:1 dei due isomeri (830.0 mg, olio giallo, **resa**: 61%), come si evince dallo spettro protonico.

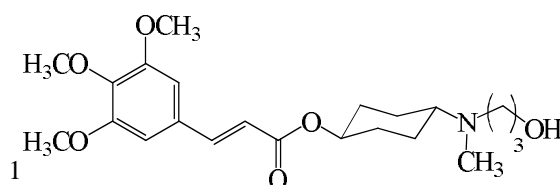
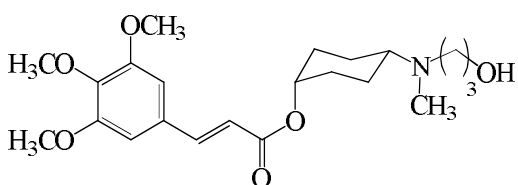
Tramite cromatografia sotto pressione della miscela isomerica (eluente: WE1) si ottengono i due isomeri puri **132A** (olio incolore, **resa**: 21%) e **132B** (solido bianco, **resa**: 26%, **p.f.**: 131-132°C).

**(Prodotto 132A)**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.30 (s, 2H, 2CH arom.); 5.19-5.11 (m, 1H,  $\text{OCH}_{\text{eq}}$ ); 3.90 (s, 6H,  $2\text{OCH}_3$ ); 3.89 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.61 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=6.4 Hz); 2.66 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ , J=7.2 Hz); 2.67-2.59 (m, 1H,  $\text{NCH}_{\text{ax}}$ ); 2.10-2.00 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.88-1.75 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$ ); 1.72-1.40 (m, 8H,  $4\text{CH}_2$ ) ppm.

**(Prodotto 132B)**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.27 (s, 2H, 2CH arom.); 4.98-4.88 (m, 1H,  $\text{OCH}_{\text{ax}}$ ); 3.90 (s, 6H,  $2\text{OCH}_3$ ); 3.89 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.64 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ , J=6.4 Hz); 2.68 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ , J=7.2 Hz); 2.58-2.48 (m, 1H,  $\text{NCH}_{\text{ax}}$ ); 2.18-2.08 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 2.07-2.00 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.96-1.72 (m, 4H,  $2\text{CH}_2$ ); 1.66-1.39 (m, 8H,  $4\text{CH}_2$ ) ppm.

**(E)-(1s,4s)-4-((3-idrossipropil)(metil)ammino)cicloesil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (*cis* 133A) (FB9A)**

**(E)-(1r,4r)-4-((3-idrossipropil)(metil)ammino)cicloesil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (*trans* 133B) (FB9B)**





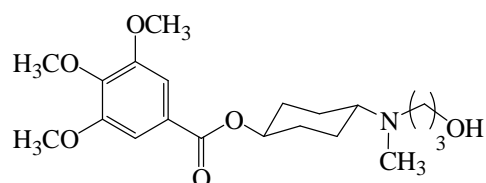
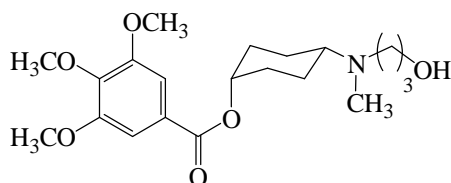
Si applica la procedura generale di metilazione riduttiva a partire da **127A** o **127B**. Dopo la lavorazione si ottengono rispettivamente **133A** (olio giallo pallido, **resa:** 75%) e **133B** (olio giallo, **resa:** 94%).

**(Prodotto 133A)**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.58 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 6.75 (s, 2H, 2CH arom.); 6.35 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 5.13-4.98 (m, 1H,  $\text{OCH}_{\text{eq}}$ ); 3.88 (s, 6H,  $2\text{OCH}_3$ ); 3.86 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.80 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=4.8$  Hz); 2.74 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ,  $J=5.4$  Hz); 2.50-2.46 (m, 1H,  $\text{NCH}_{\text{ax}}$ ); 2.31 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ); 2.05-2.01 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.72-1.56 (m, 8H,  $4\text{CH}_2$ ) ppm.

**(Prodotto 133B)**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.57 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 6.76 (s, 2H, 2CH arom.); 6.31 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 4.83-4.60 (m, 1H,  $\text{OCH}_{\text{ax}}$ ); 3.87 (s, 6H,  $2\text{OCH}_3$ ); 3.86 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.80 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=4.8$  Hz); 2.74 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ,  $J=5.4$  Hz); 2.50-2.46 (m, 1H,  $\text{NCH}_{\text{ax}}$ ); 2.31 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ); 2.05-2.00 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.72-1.56 (m, 8H,  $4\text{CH}_2$ ) ppm.

**(1s,4s)-4-((3-idrossipropil)(metil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (cis 134A)**  
**(FRA119A)**

**(1r,4r)-4-((3-idrossipropil)(metil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (trans 134B)**  
**(FRA119B)**



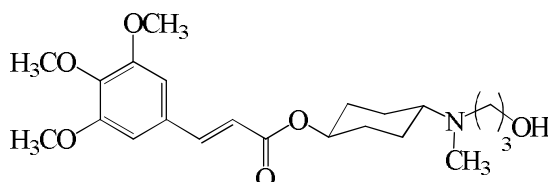
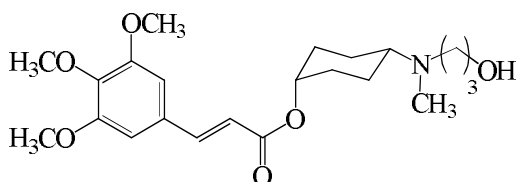
Si applica la procedura generale di metilazione riduttiva a partire da **128A** o **128B**. Dopo la lavorazione si ottengono rispettivamente **134A** (olio giallo, **resa:** 90%) e **134B** (olio giallo, **resa:** 96%).

**(Prodotto 134A)**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.30 (s, 2H, aromatic); 5.23-5.18 (m, 1H,  $\text{OCH}_{\text{eq}}$ ); 3.89 (s, 9H,  $3\text{OCH}_3$ ); 3.80 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.0$  Hz); 2.75 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ,  $J=4.0$  Hz); 2.59-2.57 (m, 1H,  $\text{NCH}_{\text{ax}}$ ); 2.32 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ); 1.72-1.61 (m, 10H,  $5\text{CH}_2$ ) ppm.

**(Prodotto 134B)**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.26 (s, 2H, 2CH arom.); 4.89-4.81 (m, 1H,  $\text{OCH}_{\text{ax}}$ ); 3.89 (s, 6H,  $2\text{OCH}_3$ ); 3.88 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.81 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{O}$ ,  $J=6.0$  Hz); 2.72 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{N}$ ,  $J=6.0$  Hz); 2.68-2.57 (m, 1H,  $\text{NCH}_{\text{ax}}$ ); 2.32 (s, 3H,  $\text{NCH}_3$ ); 2.19-2.16 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.91-1.89 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.72-1.52 (m, 6H,  $3\text{CH}_2$ ) ppm.

**(E)-(1s,4s)-4-((4-idrossibutil)(metil)ammino)cicloesil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (cis 135A) (FRA125A)**

**(E)-(1r,4r)-4-((4-idrossibutil)(metil)ammino)cicloesil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (trans 135B) (FRA125B)**



Si applica la procedura generale di metilazione riduttiva a partire da **129A** o **129B**. Dopo la lavorazione si ottengono rispettivamente **135A** (olio giallo pallido, **resa:** 87%) e **135B** (olio giallo, **resa:** 94%).

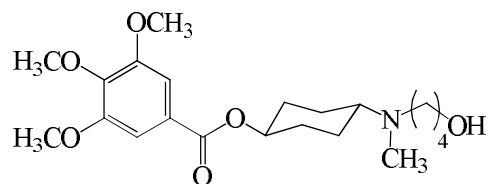
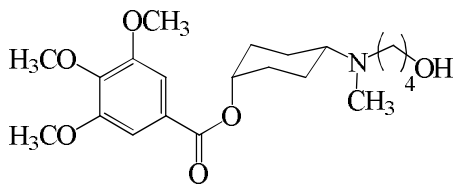
**(Prodotto 135A)**  $^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.59 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 6.77 (s, 2H, 2CH arom.); 6.35 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 5.14-5.07 (m, 1H,  $\text{OCH}_{\text{eq}}$ ); 3.90 (s, 6H,  $2\text{OCH}_3$ ); 3.88

(s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.60-3.52 (m, 2H, CH<sub>2</sub>O); 2.55-2.48 (m, 3H, CH<sub>2</sub>N and NCH<sub>ax</sub>); 2.29 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.11-2.01 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.80-1.48 (m, 10H, 5CH<sub>2</sub>) ppm.

**(Prodotto 135B)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.56 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.74 (s, 2H, 2CH arom.); 6.31 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.83-4.71 (m, 1H, OCH<sub>ax</sub>); 3.87 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 3.55 (bs, 2H, CH<sub>2</sub>O); 2.53 (bs, 2H, CH<sub>2</sub>N); 2.49 (bs, 1H, NCH<sub>ax</sub>); 2.13 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.08-2.18 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.98-1.86 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.75-1.61 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.53-1.38 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-(1s,4s)-4-((4-idrossibutil)(metil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (cis 136A)**  
(FRA122A)

**(E)-(1r,4r)-4-((4-idrossibutil)(metil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (trans 136B)**  
(FRA122B)



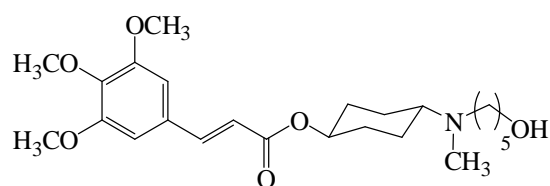
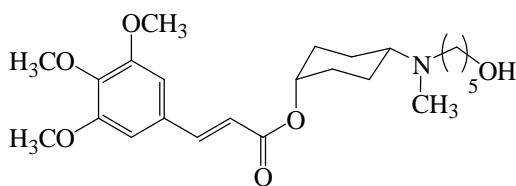
Si applica la procedura generale di metilazione riduttiva a partire da **129A** o **129B**. Dopo la lavorazione si ottengono rispettivamente **136A** (olio giallo, **resa**: 90%) e **136B** (olio giallo, **resa**: 96%).

**(Prodotto 136A)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.31 (s, 2H, 2CH arom.); 5.27-5.19 (m, 1H, OCH<sub>eq</sub>); 3.89 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 3.55 (bs, 2H, CH<sub>2</sub>O); 2.66-2.57 (m, 1H, NCH<sub>ax</sub>); 2.53 (bs, 2H, CH<sub>2</sub>N); 2.28 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.20-2.08 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.83-1.52 (m, 10H, 5CH<sub>2</sub>) ppm.

**(Prodotto 136B)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.25 (s, 2H, 2CH arom.); 4.95-4.78 (m, 1H, OCH<sub>ax</sub>); 3.89 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.54 (bs, 2H, CH<sub>2</sub>O); 2.63-2.40 (m, 3H, CH<sub>2</sub>N and NCH<sub>ax</sub>); 2.23 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.20-2.10 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 2.00-1.80 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.78-1.40 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-(1s,4s)-4-((5-idrossipentil)(metil)ammino)cicloesil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (cis 137A)** (ELF25A)

**(E)-(1r,4r)-4-((5-idrossipentil)(metil)ammino)cicloesil 3-(3,4,5-trimetossifenil)acrilato (trans 137B)** (ELF25B)



Si applica la procedura generale di metilazione riduttiva a partire da **131A** o **131B**. Dopo la lavorazione si ottengono rispettivamente **137A** (olio incolore, **resa**: 77%) e **137B** (olio incolore, **resa**: 84%).

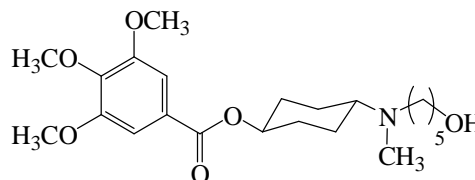
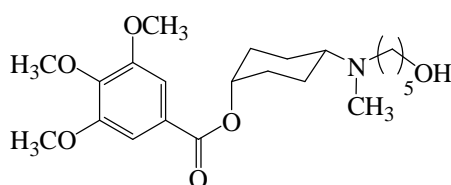
**(Prodotto 137A)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.58 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.76 (s, 2H, 2CH arom.); 6.35 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 5.14-5.08 (m, 1H, OCH<sub>eq</sub>); 3.90 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.64 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 2.49 (t, 2H, CH<sub>2</sub>N, J=6.8 Hz); 2.50-2.39 (m, 1H, NCH<sub>ax</sub>); 2.29 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.03-1.93 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.80-1.50 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>); 1.49-1.38 (m, 2H, 2CH<sub>2</sub>) ppm.

**(Prodotto 137B)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.57 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.75 (s, 2H, 2CH arom.); 6.32 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 4.90-4.72 (m, 1H, OCH<sub>ax</sub>); 3.88 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 3.65

(t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.6 Hz); 2.44 (m, 3H, CH<sub>2</sub>N and NCH<sub>ax</sub>); 2.25 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.20-2.07 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.88-1.96 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.63-1.52 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.51-1.36 (m, 8H, 4CH<sub>2</sub>) ppm.

**(E)-(1s,4s)-4-((5-idrossipentil)(metil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (cis 138A) (ELF33A)**

**(E)-(1r,4r)-4-((4-idrossipentil)(metil)ammino)cicloesil 3,4,5-trimetossibenzoato (trans 138B) (ELF33B)**



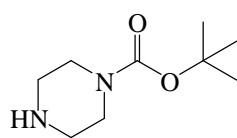
Si applica la procedura generale di metilazione riduttiva a partire da **132A** o **132B**. Dopo la lavorazione si ottengono rispettivamente **138A** (olio incolore, **resa**: 99%) e **138B** (olio incolore, **resa**: 54%).

**(Prodotto 138A)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.31 (s, 2H, 2CH arom.); 5.26-5.18 (m, 1H, OCH<sub>eq</sub>); 3.90 (s, 9H, 3OCH<sub>3</sub>); 3.62 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 2.58-2.48 (m, 3H, CH<sub>2</sub>N and NCH<sub>ax</sub>); 2.11 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.18-2.08 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.78-1.67 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.67-1.54 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub>); 1.54-1.45 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.45-1.31 (m, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

**(Prodotto 138B)** <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.27 (s, 2H, 2CH arom.); 4.93-4.82 (m, 1H, OCH<sub>ax</sub>); 3.89 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.64 (t, 2H, CH<sub>2</sub>O, J=6.4 Hz); 2.58-2.40 (m, 3H, CH<sub>2</sub>N and NCH<sub>ax</sub>); 2.26 (s, 3H, NCH<sub>3</sub>); 2.18-2.08 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.98-1.83 (m, 2H, CH<sub>2</sub>); 1.65-1.30 (m, 10H, 5CH<sub>2</sub>) ppm.

### 5.2.6. Intermedi della serie piperazinica

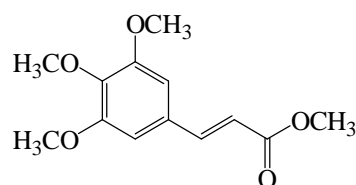
#### **ter-butyl piperazina-2-carbossilato (139) (PAS9) [155]**



Ad una soluzione di piperazina (1.00 g, 11.60 mmol) in metanolo si aggiungono, in bagno di ghiaccio, 2.94 mg (13.34 mmol) di di-terbutildicarbonato precedentemente solubilizzato in metanolo. Si nota la formazione di una opalescenza bianca nel pallone di reazione. Si scalda la miscela a 50°C, immediatamente l'opalescenza scompare, e dopo un'ora la reazione è finita. Si porta a secco e si riprende il residuo solido con etere etilico. Si forma una sospensione che viene filtrata su filtro a pieghe. Si estrae poi dalla fase etera tre volte con acido citrico 1 M in soluzione acquosa, che viene poi lavato per tre volte con acetato di etile. La fase organica viene alcalinizzata con una soluzione satura di Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, poi si estrae per tre volte con acetato di etile, il quale viene poi anidrificato con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e portato a secco. Si ottengono 700.0 mg di prodotto, un olio trasparente che tenuto alla pompa cristallizza in una polvere bianca. **Resa**: 32.0%. ppm.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 3.38 (t, 4H, CH<sub>2</sub>NtBoc, J=5.2 Hz); 2.80 (t, 4H, CH<sub>2</sub>NH, J=5.2 Hz); 1.71 (bs, 1H, NH); 1.46 (s, 9H, 3CH<sub>3</sub>) ppm.

#### **metil 3-(3,4,5 trimetossifenil)-(E)-acrilato (140) (MC218) [158]**

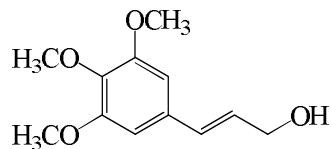


Dopo aver solubilizzato 20 g (84 mmoli) di acido 3,4,5-trimetossicinnamico in MeOH, si aggiungono 100 gocce di H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrato. La miscela di reazione è lasciata per 42 h a 65°C e 18 h a temperatura ambiente. Il precipitato formatosi per

raffreddamento della miscela a 5°C viene filtrato ed essiccato a dare 19.09 g di solido bianco. **Resa:** 90%. **P.f.:** 99-100°C.

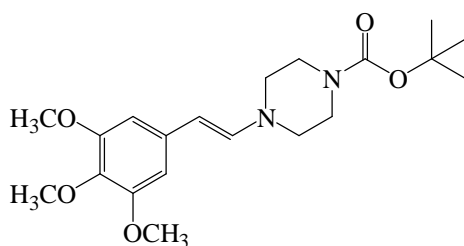
<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.59 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.74 (s, 2H, 2CH arom.); 6.35 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 3.89 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.80 (s, 3H, CH<sub>3</sub>OCO) ppm.

**3-(3,4,5-trimetossifenil)prop-2-(E)-ene-1-olo (141) (MC142) [159]**



2,26 g (8.97 mmol) di **140** vengono solubilizzati, in atmosfera inerte, in 60 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro. Si porta la temperatura a -78°C in un bagnetto EtOH/N<sub>2</sub> liquido, e poi si aggiungono, goccia a goccia 13.2 mL (10.81 mmol) di DIBAL-H (dibutil alluminio idruro) al 10% in toluene. La reazione viene tenuta a -78°C sotto agitazione in atmosfera inerte per 45 min. In un intervallo di 30 min si ripristina la temperatura ambiente, poi si aggiungono circa 20 mL di soluzione acquosa satura di tartrato di sodio, e la miscela viene lasciata sotto agitazione per 90 min. Si separano le due fasi, si aggiunge H<sub>2</sub>O e si estrae 3 volte con acetato di etile. Quindi la fase organica viene lavata con una soluzione satura di NaCl, anidrificata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro, infine portata a secco sotto vuoto. Si ottengono così 1.78 g di prodotto pulito che non necessita di ulteriore purificazione (olio incolore). **Resa:** 89%. <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.59 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.52 (s, 2H, 2CH arom.); 6.32-6.25 (dt, 1H, CH=CH, J=5.6 Hz, 16.0 Hz); 4.32 (d, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.0 Hz); 3.87 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 2.49 (bs, 1H, OH) ppm.

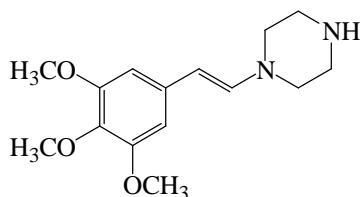
**(E)-ter-butyl 4-(3-(3,4,5-trimetossifenil)allil)piperazina-1-carbossilato (142) (FRA103)**



In ambiente inerte, ad una soluzione di **141** (200.0 mg, 0.89 mmol) con la minima quantità di CHCl<sub>3</sub> privo di etanolo si aggiungono 0.15 mL (1.07 mmol) di trietilammina anidra. Si pone la miscela in bagno di ghiaccio e poi si aggiungono 0.08 mL (1.07 mmol) di mesil cloruro quindi si lascia in agitazione 75 min a temperatura ambiente. Si aggiungono poi 348.0 mg (0.89 mmol) di **139**, e si lascia la reazione per 22 h a t.a. sotto agitazione. La reazione viene ripresa con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, e si lava tre volte con una soluzione satura di NaHCO<sub>3</sub>. La fase organica viene anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e portata a secco. Il grezzo di reazione viene purificato per cromatografica sotto pressione, usando come eluente CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>3</sub> 97:3:0.3. Si ottengono 182.0 mg di un olio giallo-arancio. **Resa:** 52%.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ: 6.59 (s, 2H, 2CH arom.); 6.45 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 6.14 (dt, 1H, CH=CH, J=6.8 Hz, 16.0 Hz); 3.83 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.49-3.40 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub> pip.); 3.11 (d, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.8 Hz); 2.49-2.38 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub> pip.); 1.42 (s, 9H, 3CH<sub>3</sub>) ppm.

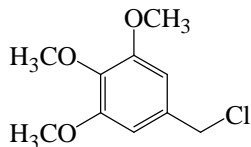
**1-(3-(3,4,5-trimetossifenil)-(E)-allil)piperazina (143) (FRA104)**



182.0 mg di **142** (0.46 mmol) vengono solubilizzati in 7 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro, quindi si aggiungono 0.93 mL di CF<sub>3</sub>COOH. Dopo 80 min sotto agitazione la reazione è finita. Si evapora il solvente e si riprende il residuo con una soluzione acquosa di NaOH al 10% p/v, che viene estratta 3 volte in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. La fase organica viene anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e poi portata a secco. Si ottengono 117.0 mg di un olio giallo-arancio. **Resa:** 87%.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.58 (s, 2H, 2CH arom.); 6.41 (d, 1H, CH=CH,  $J=16.0$  Hz); 6.18 (dt, 1H, CH=CH,  $J=6.8$  Hz, 16.0 Hz); 3.83 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.80 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.12 (d, 2H, CH<sub>2</sub>,  $J=6.8$  Hz); 2.98-2.87 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub> pip.); 2.46 (bs, 4H, 2CH<sub>2</sub> pip.); 1.89 (bs, 1H, NH) ppm.

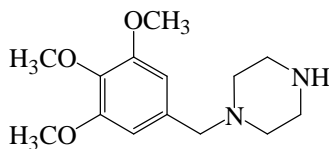
#### 5-(clorometil)-1,2,3-trimetossibenzene (144) (ELF35) [160]



Ad una soluzione di 3,4,5-trimetossibenzilalcol (338.0 mg, 1.71 mmol) in 5 mL di  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro, in atmosfera inerte ed in un bagnetto di ghiaccio, vengono aggiunti 0.50 mL di  $\text{SOCl}_2$  (6.82 mmol). La reazione è mantenuta a 0°C e dopo 45 min è terminata. Si evapora il solvente a pressione ridotta e si lava il residuo così ottenuto tre volte con cicloesano per allontanare l'eccesso di cloruro di tionile. Si ottengono 386.0 mg di prodotto desiderato che non necessita di ulteriore purificazione (solido giallo). **Resa:** 100%.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.58 (s, 2H, 2CH arom.); 4.51 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 3.83 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>) ppm.

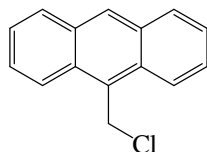
#### 1-(3,4,5-trimetossibenzil)piperazina (145) (ELF36) [161]



Ad una soluzione di piperazina (614.0 mg, 7.13 mmol) in 50 mL di THF anidro sgocciolo una soluzione di ELF35 in 10 mL di THF anidro. La reazione viene mantenuta a 70°C per 4 h. Si forma un precipitato bianco che viene allontanato per filtrazione. Il filtrato viene portato a secco al rotavapor, il solido viene ripreso con ACT e lavato 4 volte con  $\text{H}_2\text{O}$  basificata con NaOH al 10% fino a  $\text{pH}=12$ , poi 2 volte con una soluzione satura di NaCl. Il prodotto resta nelle acque basiche, così vengono portate a secco al rotavapor ed il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia sotto pressione per allontanare il prodotto di sostituzione (eluente:  $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_3$  90:20:0.5). Si ottengono 176.0 mg di **ELF36** (solido bianco). **Resa:** 37%.

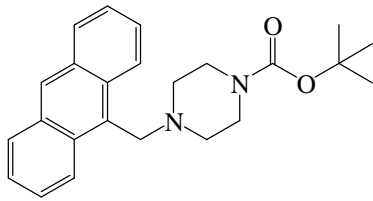
$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.58 (s, 2H, 2CH arom.); 3.77 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.74 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.33 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 2.81 (t, 4H, 2CH<sub>2</sub> pip.,  $J=4.8$  Hz); 2.33 (bs, 4H, 2CH<sub>2</sub> pip.); 1.93 (bs, 1H, NH) ppm.

#### 9-(clorometil)antracene (146) (ELF39) [162]



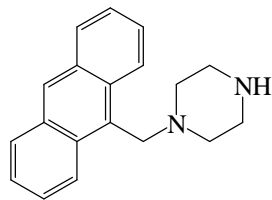
Ad una soluzione di 9-antracenmetanolo (400.0 mg, 1.92 mmol) in 20 mL di  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro, in atmosfera inerte ed in un bagnetto di ghiaccio, vengono aggiunti 0.56 mL di  $\text{SOCl}_2$  (7.68 mmol). La reazione è mantenuta a 0°C per 30 min, quindi è portata a temperatura ambiente e successivamente alla temperatura di riflusso per 4 h. A reazione completata, si evapora il solvente a pressione ridotta e si lava il residuo così ottenuto tre volte con cicloesano per allontanare l'eccesso di cloruro di tionile. Si ottengono 432.0 mg di prodotto desiderato che non necessita di ulteriore purificazione (solido giallo-verde). **Resa:** 99%.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 6.48 (s, 1H, CH arom.); 8.32 (d, 2H, CH arom.,  $J=9.2$  Hz); 8.03 (d, 2H, CH arom.,  $J=8.4$  Hz); 7.62 (t, 2H, CH arom.,  $J=6.8$  Hz); 7.52 (t, 2H, CH arom.,  $J=7.6$  Hz); 5.61 (s, 2H, CH<sub>2</sub>) ppm.

**ter-butyl 4-(antracen-9-ilmetil)piperazina-1-carbossilato (147) (ELF40)**

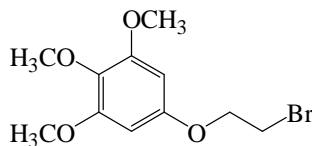
Ad una soluzione di **146** (432.0 mg, 1.91 mmol) e Et<sub>3</sub>N anidra (0.3 mL, 2.29 mmol) in 10 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro viene sgocciolata una soluzione di **139** (355.0 mg, 1.91 mmol) in 5 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro. La miscela di reazione è mantenuta tutta la notte in agitazione a temperatura ambiente. La fase organica viene poi lavata 3 volte con una soluzione satura di NaHCO<sub>3</sub>, anidrificata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, poi il solvente viene allontanato per evaporazione a pressione ridotta. Si ottengono così 637.0 mg di un solido arancione che non necessita di ulteriore purificazione. **Resa:** 89%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 8.48 (s, 1H, CH arom.); 8.44 (d, 2H, arom., J=12.4 Hz); 8.01 (d, 2H, aromatic, J=8.0 Hz); 7.58-7.42 (m, 4H, 4CH arom.); 4.44 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 3.38 (bs, 4H, 2CH<sub>2</sub> pip.); 2.57 (bs, 4H, 2CH<sub>2</sub> pip.); 1.58-1.37 (m, 9H, 3CH<sub>3</sub>) ppm.

**1-(antracen-9-ilmetil)piperazina (148) (ELF41)**

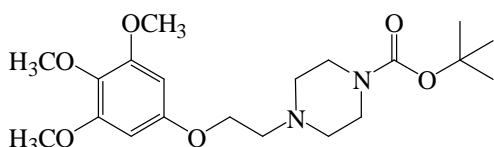
Ad una soluzione di **147** (404.0 mg, 1.07 mmol) in 10 mL di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anidro vengono aggiunti 2.14 mL di CF<sub>3</sub>COOH (2 mL di acido per mmol di **147**). La miscela di reazione viene mantenuta in agitazione 2 h a temperatura ambiente, quindi il solvente viene allontanato per evaporazione a pressione ridotta ed il residuo, ripreso con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> viene lavato tre volte con una soluzione satura di NaHCO<sub>3</sub>. Dopo aver anidrificato la fase organica con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, il solvente viene evaporato sotto vuoto. Si ottengono 277.0 mg di un solido marrone che non necessita di ulteriore purificazione. **Resa:** 93%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 8.49 (d, 2H, 2CH arom., J=8.8 Hz); 8.42 (s, 1H, CH arom.); 8.00 (d, 2H, 2CH arom., J=8.0 Hz); 7.58-7.42 (m, 4H, 4CH arom.); 4.42 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 2.82 (t, 4H, 2CH<sub>2</sub> pip., J=4.8 Hz); 2.72-2.52 (m, 4H, 2CH<sub>2</sub> pip.); 2.14 (bs, 1H, NH) ppm.

**5-(2-bromoetossi)-1,2,3-trimetossibenzene (149) (FRA97)**

Ad una soluzione di 1.0 g (5.43 mmol) di 3,4,5-trimetossifenolo in DMF anidra si aggiungono 6.76 g (48.9 mmol) di K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> e 1.22 g (6.38 mmol) di 1,2-dibromo-etilene. La reazione viene tenuta in atmosfera inerte sotto agitazione a 60°C per 24 h. Poi viene ripresa con una soluzione acquosa satura di NaCl, dalla quale si estrae 3 volte con acetato di etile. La fase organica viene anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> poi portata a secco per evaporazione sotto vuoto. Si ottengono 1.43 g di un olio marrone. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia flash, utilizzando come eluente CHX/ACT (7:3). Si ottengono 1.15 g di prodotto desiderato sotto forma di olio incolore. **Resa:** 74.5%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 6.16 (s, 2H, 2CH arom.); 4.26 (t, 2H, OCH<sub>2</sub>, J=6.0 Hz); 3.83 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.78 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.62 (t, 2H, CH<sub>2</sub>Br, J=6.0 Hz) ppm.

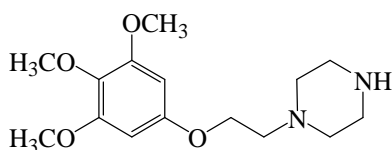
**ter-butyl 4-(2-(3,4,5-trimetossifenossi)etil)piperazina-1-carbossilato (150) (FRA98)**

Si prepara una miscela solida di 400.0 mg (2,14 mmol) di **139**, 625.0 mg (2,14 mmol) di **149** e 297.0 mg (2,14 mmol) di K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Si solubilizza la miscela solida in 2 mL di CH<sub>3</sub>CN anidro. Si lascia la reazione

a 60°C sotto agitazione in atmosfera inerte per 7 h, poi per altre 16 h a temperatura ambiente. La miscela viene ripresa con H<sub>2</sub>O, alcalinizzata con NaOH in soluzione acquosa al 10% p/v, ed estratta tre volte con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Dopo aver anidrificato la fase organica su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, viene portata a secco al rotavapor. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia flash, utilizzando come fase mobile CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/CH<sub>3</sub>OH/NH<sub>3</sub> 95:5:1. Si ottengono 695.0 mg di prodotto desiderato (olio incolore). **Resa:** 86%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 6.14 (s, 2H, 2CH arom.); 4.05 (t, 2H, OCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 3.82 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.77 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.45 (t, 4H, 2 CH<sub>2</sub> pip., J=5.6 Hz); 2.78 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=6.0 Hz); 2.50 (t, 4H, 2CH<sub>2</sub> pip., J=6.0 Hz); 1.44 (s, 9H, 3CH<sub>3</sub>) ppm.

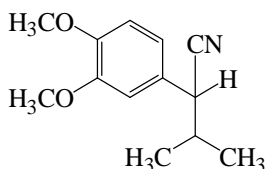
#### 1-(2-(3,4,5-trimetossifenossi)etil)piperazina (151) (FRA100)



Ad una soluzione di **150** (695.0 mg, 1.82 mmol) in 5 ml di CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> vengono aggiunti 3.66 mL di CF<sub>3</sub>COOH (2 mL di acido per mmol di **150**). Si lascia sotto agitazione a temperatura ambiente per 2 ore, al termine delle quali la reazione è terminata. Si porta a secco, si riprende con NaOH al 10% p/v in soluzione acquosa, e si estrae tre volte in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Dopo aver anidrificato su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> si porta a secco. Si ottengono così 511.0 mg di un olio marroncino che non necessita di ulteriori purificazioni. **Resa:** 95%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 6.12 (s, 2H, 2CH arom.); 4.04 (t, 2H, OCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 3.80 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 3.74 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2.89 (t, 4H, 2 CH<sub>2</sub> pip., J=5.6 Hz); 2.79 (t, 2H, NCH<sub>2</sub>, J=5.6 Hz); 2.52 (bs, 4H, 2CH<sub>2</sub> pip.); 2.02 (bs, 1H, NH) ppm.

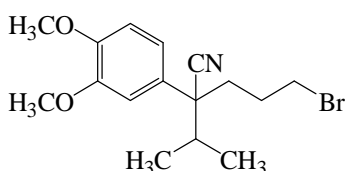
#### 2-(3,4-dimetossifenil)-3-metil-butirronitrile (152) (SD41) [163]



4 g di una sospensione al 50% in toluene di sodioammide vengono sospesi in 100 mL di THF anidro. Alla miscela, mantenuta sotto corrente di azoto, si aggiungono 10 g (56 mmol) di omoveratronitrile. Dopo 30' si aggiungono 6 mL (63 mmol) di bromuro di isopropile e si lascia in agitazione a temperatura ambiente per 4 h. Si procede aggiungendo del ghiaccio ed estraendo il prodotto dalla fase acquosa con etere etilico, che viene poi anidrificato su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ed evaporato sotto vuoto. Si ottengono 12 g del prodotto desiderato. **Resa:** 98%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 6.84-6.74 (m, 3H, 3CH arom.); 3.89 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.87 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.59 (d, 1H, CHCN, J=5.7 Hz); 2.17-1.98 (m, 1H, CHCH<sub>3</sub>); 1.02 (d, 6H, 2 CHCH<sub>3</sub>, J=5.7 Hz) ppm.

#### 5-bromo-2(3,4-dimetossifenil)-2-isopropilpentannitrile (153) (EDP 95) [164]

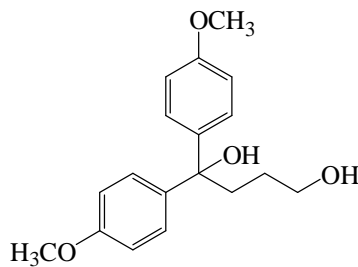


1.5 g (6.84 mmol) di **152** vengono solubilizzati, in ambiente inerte, in 15 mL di THF anidro. Dopo aver portato la temperatura a -78°C si aggiungono 5.25 mL (8.50 mmol) di *n*-butil-litio (soluzione di 1.6 M in esano). Al momento dell'aggiunta la soluzione passa da incolore a gialla. La miscela di reazione viene mantenuta per 90 min sotto agitazione a -78°C, dopodichè si aggiungono 1.40 mL (13.70 mmol) di 1,3-dibromopropano. La miscela di reazione viene portata a temperatura ambiente e si lascia in agitazione tutta la notte. Quindi viene trattata prima con NH<sub>4</sub>Cl in soluzione acquosa e poi con etere etilico. La fase organica viene anidrificata su Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> e portata a secco. Il grezzo di

reazione viene purificato tramite cromatografia flash utilizzando come eluente CHX/ACT (7:3), ottenendo 1.24 g di prodotto desiderato. **Resa:** 53.4%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 6.87-6.84 (m, 1H, CH arom.); 6.80-6.75 (m, 2H, CH arom.); 3.80 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.32-3.21 (m, 2H, CH<sub>2</sub>Br); 2.21-1.82 (m, 4H, CH<sub>2</sub>); 1.44 (bs, 1H, CH(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>); 1.11 (t, 3H, CHCH<sub>3</sub>, J=6.5 Hz); 0.72 (t, 3H, CHCH<sub>3</sub>, J=6.5 Hz) ppm. **IR (film liquido) ν:** 2240 (CN) cm<sup>-1</sup>.

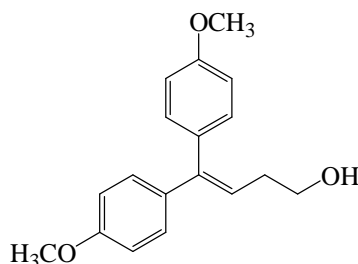
#### 1,1-bis-(4-metossi-fenil)-butan-1,4-diolo (154) (FRA111) [164]



In un pallone da 200 mL munito di refrigerante, sotto flusso di azoto, si versa 50 mL di THF anidro nel quale si sospendono 686.0 mg (28.22 mmol) di Mg metallico ed una punta di spatola di I<sub>2</sub>. Poi vengono aggiunti 3.64 mL (29.07 mmol) di 4-bromo-anisolo. Questa ultima aggiunta viene eseguita goccia a goccia per evitare decorsi violenti della reazione. La sospensione da marrone diventa incolore (si consuma lo iodio) e si mantiene in agitazione a t.a. per 90 min. Dopodichè si procede aggiungendo alla miscela di reazione il  $\gamma$ -butirrolattone (0.89 mL, 11.62 mmol). Si porta poi la miscela di reazione a 65°C per 3 h. Quindi si acidifica con HCl 2N, e la miscela vira da verde a giallo-marrone. Si porta a secco il THF, si riprende il residuo con etere etilico, e si lava per 3 volte con una soluzione acquosa satura di NaCl. La fase organica viene anidrificata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e portata a secco sotto vuoto per ottenere 3.0 g di olio verde-giallo che viene utilizzato come tale nel successivo step sintetico. **Resa:** 100%.

**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.32 (d, 4H, 4CH arom., J=8.8 Hz); 6.83 (d, 4H, 4CH arom., J=8.8 Hz); 4.02 (t, 2H, CH<sub>2</sub>OH, J=7.2 Hz); 3.78 (s, 6H, 2OCH<sub>3</sub>); 2.50 (t, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz); 1.95 (p, 2H, CH<sub>2</sub>, J=7.2 Hz) ppm.

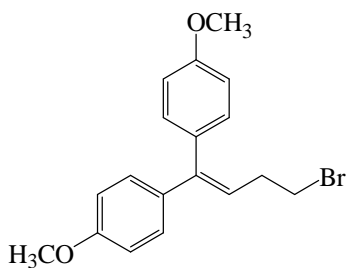
#### 4,4-bis(4-metossifenil)but-3-en-1-olo (155) (FRA112) [164]



Ad una soluzione di **154** (1.0 g, 3.31 mmol) nella minima quantità di EtOH al 96%, vengono aggiunti 4.3 mL di HCl 6N. La soluzione passa da incolore a arancio-marrone e viene riscaldata a 60°C per 15 h. Poi l'acidità viene neutralizzata con una soluzione satura di NaHCO<sub>3</sub> ed il solvente portato a secco a pressione ridotta. Il residuo viene ripreso con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> e lavato con soluzione acquosa satura di NaCl; la fase organica viene anidrificata con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anidro e portata a secco sotto vuoto. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia flash, utilizzando come eluente CHX/ACT (8:2) ottenendo così 400.0 mg di prodotto pulito (olio incolore). **Resa:** 43%.

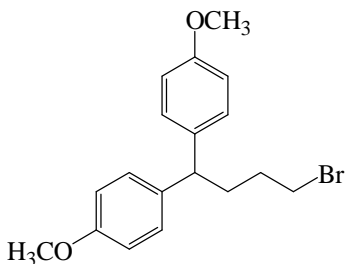
**<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>) δ:** 7.15 (d, 2H, 2CH arom., J=8.4 Hz); 7.11 (d, 2H, 2CH arom., J=8.4 Hz); 6.91 (d, 2H, 2CH arom., J=8.4 Hz); 6.80 (d, 2H, aromatici, J=4.8 Hz); 5.97 (t, 1H, C=CH, J=7.6 Hz); 3.82 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.76 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3.69 (t, 2H, CH<sub>2</sub>OH, J=6.6 Hz); 2.40 (q, 2H, CH<sub>2</sub>, J=6.6 Hz) ppm.



**4,4'-(4-bromobut-1-ene-1,1-diil)bis(metossibenzene) (156) (FRA113) [164]**

In atmosfera inerte, si solubilizzano 423.0 mg (1.49 mmol) di **155** e 593 mg (1.79 mmol) di  $\text{CBr}_4$  in 5 ml di  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro. In questa soluzione viene sgocciolata una soluzione di  $\text{PPh}_3$  (468.0 mg, 1.79 mmol) in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  anidro precedentemente preparata. La reazione viene tenuta sotto agitazione a temperatura ambiente per 7 h. La miscela viene poi portata a secco al rotavapor ed il residuo ridisciolto in 2 ml di  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ . Si aggiunge esano freddo ( $8^\circ\text{C}$ ) per cercare di precipitare il prodotto, ottenendo solo la formazione di un'opalescenza bianca. Allora la miscela viene tenuta a  $4^\circ\text{C}$  per 24 h, ma comunque non si formano precipitati. Allora si porta a secco ottenendo un residuo solido che viene subito purificato mediante cromatografia flash utilizzando come eluente CHX/ACT (9:1). Si ottengono 330.0 mg di prodotto desiderato (un olio giallo). **Resa:** 64%.

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 7.19 (d, 2H, 2CH arom.,  $J=8.8$  Hz); 7.10 (d, 2H, 2CH arom.,  $J=8.8$  Hz); 6.92 (d, 2H, 2CH arom.,  $J=8.8$  Hz); 6.82 (d, 2H, 2CH arom.,  $J=8.8$  Hz); 5.96 (t, 1H,  $\text{C}=\text{CH}$   $J=7.2$  Hz); 3.85 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.80 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3.42 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{Br}$ ,  $J=6.8$  Hz); 2.70 (q, 2H,  $\text{CH}_2$ ,  $J=7.2$  Hz) ppm.

**4,4'-(bromobutan-1,1-diil)bis(metossibenzene) (157) (FRA114) [164]**

La reazione viene condotta nell'idrogenatore di Parr. Si solubilizzano 310.0 mg (0.89 mmol) di **156** in etanolo assoluto, e poi vi si sospendono 40.0 mg di Pd/C. La reazione viene lasciata per 4 h a temperatura a 53 Psi. Poi viene filtrata su filtro a pieghe per eliminare il catalizzatore ed il solvente viene eliminato per evaporazione sotto vuoto. Si ottengono 260.0 mg di prodotto desiderato (olio giallo-marrone) che viene usato come tale nel successivo step sintetico. **Resa:** 84%.

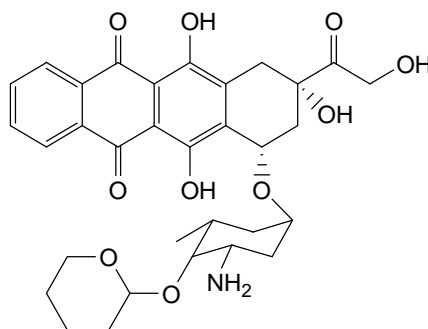
**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :** 7.14 (d, 4H, 4CH arom.,  $J=8.8$  Hz); 6.83 (d, 4H, 4CH arom.,  $J=8.8$  Hz); 3.83 (t, 1H, CH,  $J=8.0$  Hz), 3.78 (s, 6H, 2 $\text{OCH}_3$ ); 3.40 (t, 2H,  $\text{CH}_2\text{Br}$ ,  $J=6.6$  Hz); 2.15-2.13 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ); 1.83 (p, 2H,  $\text{CH}_2$ ,  $J=6.8$  Hz) ppm.

## Cap.6. PARTE FARMACOLOGICA SPERIMENTALE

### 6.1. Aumento dell'uptake nucleare della pirarubicina

La valutazione dell'attività anti-MDR delle molecole progettate e sintetizzate è stata effettuata presso il Laboratorio di Biochimica dell'Università di Parigi Nord mediante misure spettrofluorimetriche.

Viene utilizzato a questo scopo un farmaco chemioterapico fluorescente, la pirarubicina (4'-*O*-tetraidropiranil-adriamicina, THP-ADR), che presenta un massimo di assorbimento a 590 nm (fig.6.1).



**Figura 6.1:** 4'-*O*-tetraidropiranil-adriamicina (pirarubicina, THP-ADR).

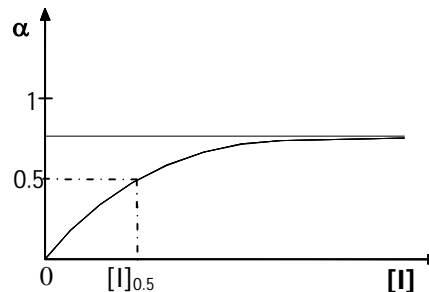
La caratteristica fondamentale di questa molecola è che la fluorescenza si annulla quando viene incorporata per intercalazione a livello delle basi del DNA. Osservando la diminuzione del segnale di fluorescenza a 590 nm, secondo il metodo di Mankhetkorn e Garnier-Suillerot [165], si può calcolare l'incremento della quantità di THP-ADR incorporata all'interno dei nuclei delle cellule. La concentrazione totale di THP-ADR ( $C_n$ ) legata ai nuclei delle cellule resistenti, viene valutata allo steady-state in presenza di differenti concentrazioni dei prodotti da testare. Allo steady-state la riduzione del segnale di fluorescenza è rigorosamente proporzionale alla concentrazione totale di farmaco legato ai nuclei cellulari. Con questo metodo è molto semplice evidenziare che la quantità di farmaco nei nuclei delle cellule resistenti è più bassa di quella delle cellule sensibili.

L'incremento del valore di  $C_n$  è generalmente proporzionale all'aumento della concentrazione di inibitore e può essere quantificato utilizzando la seguente equazione:

$$\alpha = [(C_n)_{Ri} - (C_n)_{R0}] / [(C_n)_{S} - (C_n)_{R0}]$$

- $\alpha$  = incremento della concentrazione nucleare di THP-ADR provocato dall'aggiunta di inibitore;
- $(C_n)_{R0}$  = concentrazione intracellulare totale di THP-ADR nelle cellule resistenti in assenza di inibitore;
- $(C_n)_{S}$  = concentrazione intracellulare totale di THP-ADR nelle cellule sensibili;
- $(C_n)_{Ri}$  = concentrazione intracellulare totale di THP-ADR nelle cellule resistenti in presenza di una [I] di inibitore.

Il valore di  $\alpha$  può variare tra 0 e 1. In particolare  $\alpha=0$  in assenza di inibitore e  $\alpha=1$  quando la quantità totale di pirarubicina nelle cellule resistenti è uguale a quella presente nelle cellule sensibili, in quanto si ha il blocco completo dell'efflusso Pgp-mediato del farmaco. Nella maggior parte dei casi non è possibile inibire completamente questo efflusso e  $\alpha$  raramente è uguale a 1 ma tende ad un valore definito  $\alpha_{\max}$  (fig.6.2).



**Figura 6.2:** curva di saturazione per un dato inibitore.

L'attività del modulatore viene riportata utilizzando i parametri capaci di stimare l'attività chemiosensibilizzante, in particolare:

- $[I]_{0.5}$  → è la concentrazione di inibitore  $[I]$  in grado di determinare un valore di  $\alpha=0.5$ , rappresenta cioè la quantità di inibitore necessaria per incrementare del 50% l'incorporazione di THP-ADR nelle cellule resistenti rispetto alle cellule sensibili. Indica quindi la *potenza* dell'inibitore;
- $\alpha_{\max}$  → è il livello massimo di concentrazione nucleare a cui tende THP-ADR in seguito all'aggiunta dell'inibitore. Indica quindi l'*efficacia* dell'inibitore.

Le cellule tumorali che vengono utilizzate in questo test appartengono ad una linea cellulare eritroleucemica umana chiamate K562. Le cellule resistenti alla doxorubicina (K562/DOXO) vengono ottenute per esposizione continua a concentrazioni crescenti di doxorubicina e sono mantenute in un terreno contenente doxorubicina (400 nM) fino a 1-4 settimane prima dell'esperimento. Queste linee cellulari esprimono un'unica glicoproteina di membrana con un peso molecolare di 180000 Da [166]. Sia le linee cellulari sensibili che quelle resistenti vengono fatte crescere in mezzo di coltura RPMI 1640 (Sigma) arricchito di L-glutammina e FCS 10% alla temperatura di 37°C in atmosfera umidificata (95% di aria e 5% di CO<sub>2</sub>). Le colonie, che presentano all'inizio una densità di 10<sup>5</sup> cell/mL, crescono esponenzialmente fino a 8-10x10<sup>5</sup> cell/mL in tre giorni. Per le misure a breve termine si scelgono linee cellulari in fase di crescita esponenziale. La vitalità cellulare è saggiata mediante l'estruzione di tripan blue. Il numero di cellule viene determinato mediante il coulter counter. L'incubazione viene effettuata in presenza di 4'-O-tetraidropiranyl-adriamicina (THP-ADR). Le cellule (2x10<sup>6</sup> cell/mL) sono poste in sospensione in una cuvetta di quarzo di 1 cm contenente 2 mL di tampone a 37°C, all'interno di uno spettrofluorimetro tradizionale sotto agitazione. Il tampone contiene HEPES 5 mM, NaCl 132 mM, KCl 3.5 mM, CaCl<sub>2</sub> 1 mM, MgCl<sub>2</sub> 0.5 mM, glucosio 5 mM, a pH 7.25.

Un'aliquota della soluzione di THP-ADR viene aggiunta rapidamente in modo da ottenere una soluzione finale con concentrazione  $10^6$  M. La riduzione del segnale della fluorescenza è determinato in funzione del tempo via via che prosegue l'incubazione delle cellule con il farmaco.

Quando  $10^6$  cell/mL vengono incubate con una soluzione di 1  $\mu$ M di THP-MDR lo steady-state viene raggiunto in circa 30 minuti.

## 6.2. Aumento della citotossicità della doxorubicina

L'attività dei modulatori di aumentare la resistenza alla doxorubicina è stata valutata sulle stesse linee cellulari utilizzate nel test di uptake nucleare della pirarubicina (K562 e K562/DOXO resistente a 400 nM di doxorubicina) mediante il metodo colorimetrico MTT descritto da Alley [167]. Questo metodo misura la capacità delle cellule di ridurre il 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio bromuro di colore giallo, nei cristalli di formazan di colore blu scuro; questa riduzione può avvenire solo e soltanto se gli enzimi mitocondriali sono attivi e pertanto può essere correlata alla vitalità cellulare.

Le sospensioni cellulari sono preparate da colture cellulari in crescita esponenziale, piastrate in micropiastre da 96 pozzetti ad una densità di 5000 cellule/pozzetto in un volume di 160 o 180  $\mu$ L per pozzetto ed incubate con gli agenti revertenti disciolti in mezzo di coltura (RPMI 1640) ad una concentrazione 10x rispetto a quella finale ed in presenza o meno di doxorubicina in un range di concentrazioni finali compreso tra 0.001 e 0.1  $\mu$ M per la linea sensibile e 0.1 e 10  $\mu$ M per la linea resistente. Al termine del periodo di incubazione (72 h a 37°C in atmosfera umidificata al 5% di CO<sub>2</sub>) le piastre vengono centrifugate a bassa velocità e si aggiungono 50  $\mu$ L di una soluzione di MTT (concentrazione finale 0.2 mg/mL) a cui segue un'incubazione di 4 h a 37°C in atmosfera umidificata al 5% di CO<sub>2</sub>. Allo scadere del tempo di incubazione il terreno viene gentilmente aspirato lasciando nei pozzetti circa 20  $\mu$ L di terreno, ed i cristalli di formazan di colore blu scuro che si sono formati vengono solubilizzati con 150  $\mu$ L di dimetilsolfossido sotto agitazione ed al buio. Le micropiastre vengono infine lette a 540 nm in un lettore automatico di piastre a 96 pozzetti interfacciato con il software Microplate Manager/pc version 4.0 (Bio-RadLaboratories, Milano, Italy) per l'analisi automatizzata dei dati.

I valori di IC<sub>50</sub> sono determinati sulle curve dose-risposta ottenute, rappresentando graficamente su scala semilogaritmica la crescita cellulare dei campioni trattati come percentuale del controllo non trattato (asse delle y) rispetto alle concentrazioni di doxorubicina usate (asse delle x). Il parametro chiave che si ottiene da questo test di citotossicità è il Reversal Fold (**RF**), che esprime la reversione della resistenza e si ottiene dal rapporto tra la IC<sub>50</sub> della doxorubicina in assenza o in presenza del modulatore nelle cellule resistenti. Maggiore è il valore di RF più potente ed efficace è l'inibitore.

$$\mathbf{RF} = \frac{\text{IC}_{50} \text{ in K562/DOXO in assenza di inibitore}}{\text{IC}_{50} \text{ in K562/DOXO in presenza di inibitore}}$$

Il terreno di coltura RPMI 1640, il siero bovino fetale (FCS) e gli antibiotici (penicillina, streptomina) sono della Euroclone Company (Celio, Italia). Il colorante 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio bromuro (MTT) ed il dimetilsolfossido (DMSO), impiegati nel metodo colorimetrico, sono della Sigma Chemical Co (St. Louis, MO, U.S.A.).

Le soluzioni madre ( $10^{-2}$  M) dei composti saggiati sono state preparate in DMSO e conservate a 4°C fino al momento dell'uso.

La soluzione madre di MTT, 5 mg/mL di tampone fosfato pH 7.4 (PBS), filtrata con filtri da 0.45 µm (Nalgene) è conservata a 4°C per un mese.

### 6.3. Studio di stabilità in plasma

Le soluzioni degli analiti sono state preparate pesando circa 1 mg di polvere con una bilancia elettronica Mettler Toledo ( $\pm 0.1$  mg) e solubilizzati con 1 mL di acetonitrile, utilizzando un bagno ad ultrasuoni (Soltec). Le soluzioni così ottenute (stock solutions) hanno una concentrazione di 1000 µg/mL e vengono conservate a 4°C fino all'utilizzo.

Per la preparazione dei campioni la stock solution dei singoli composti viene diluita fino ad una concentrazione di 10 µM (spiked solution 1) e 1 µM (spiked solution 2) in acqua mQ:acetonitrile 80:20 (v/v) + 10 mM acido formico.

I campioni sono stati preparati in eppendorf, aggiungendo 10 µL di spiked solution 1 ad un'aliquota di 100 µL di plasma o PBS (concentrazione dell'analita pari a 1 µM), e messi ad incubare a 37°C in una stufa termostatica G-Therm per i seguenti tempi: 0, 30, 60 e 120 minuti. Per ogni tempo di incubazione i campioni sono stati preparati in triplo, in modo da rappresentare un profilo di degradazione con quindici campioni (cinque tempi di incubazione per tre repliche). Dopo il tempo di incubazione, ai campioni sono stati aggiunti 300 µL di soluzione di standard interno (verapamile 50 ng/mL) in acetonitrile, in modo da bloccare l'eventuale idrolisi in corso, degradando le proteine plasmatiche. Le soluzioni così ottenute vengono centrifugate per 3 minuti a 10000 rpm, il surnatante trasferito in vial e portato ad un volume di 1,5 mL con una soluzione 10 mM di acido formico in acqua mQ.

I campioni sono stati analizzati con il metodo LC-MS/MS usando una colonna Pursuit C18, lunghezza 50 mm, diametro 2 mm e 5 µm di dimensioni delle particelle, come eluenti sono state utilizzate una soluzione A (0,1 % HCOOH in acqua mQ) e una soluzione B (0,1 % HCOOH in acetonitrile) in gradiente di eluizione a 20 % al min (tabella 6.1) con un flusso di 0.35 mL/min.

tempo (min)	A (%)	B (%)
0:00	90	10
4:00	10	90
7:00	10	90
7:01	90	10
11:00	90	10

**Tabella 6.1:** *gradiente di eluizione.*

In parallelo sono stati preparati, con la stessa procedura, campioni in plasma con ketoprofene etilestere (al tempo 0 e 2 h), per poter controllare l'attività enzimatica del plasma utilizzato. La scelta di questa molecola è stata effettuata in quanto, da prove di stabilità in plasma condotte precedentemente, aveva mostrato un tempo di dimezzamento pari a due ore.

La curva di calibrazione è stata preparata aggiungendo un appropriato volume dalle spiked solutions 1 e 2 a 300  $\mu$ L di soluzione di standard interno (verapamile 50 ng/mL in acetonitrile). Le soluzioni sono poi state portate ad un volume di 1,5 mL con una soluzione 10 mM di acido formico in acqua mQ.

Le concentrazioni dei livelli di calibrazione rispetto ai campioni di plasma e PBS sono le seguenti: 0, 0.10, 0.20, 0.50, 0.75 e 1.00  $\mu$ M.

Le soluzioni di calibrazione sono state analizzate in sestuplo con il metodo LC-MS/MS precedentemente descritto. Le curve di calibrazione degli analiti sono state ottenute riportando il valore del rapporto tra le aree degli ioni quantificatori degli analiti e dell'ISTD (Peak Area Ratio o PAR) in funzione delle rispettive concentrazioni. Quindi è stata applicata una regressione lineare per ottenere la miglior retta passante per i punti ottenuti sperimentalmente.

#### **6.4. Meccanismo di interazione nei confronti della Pgp e selettività rispetto a MRP1 e BCRP**

Il meccanismo di interazione dei composti selezionati con la Pgp e la valutazione dell'interazione dei medesimi composti anche con altre due pompe di efflusso appartenenti alla famiglia ABC e coinvolte nella resistenza crociata ai farmaci antitumorali, ovvero MRP1 e BCRP, sono stati valutati presso l'Università di Bari, tramite tre test combinati.

##### **6.4.1. Determinazione della permeabilità apparente [168]**

In questo primo test sono utilizzate cellule Caco-2, donate dal Dr. A. Cavallini e dalla Dr.ssa C. Messa dal Laboratorio di Biochimica dell'istituto "S. de Bellis" di Bari.

Il test misura il flusso del composto attraverso la membrana delle cellule Caco-2 monostrato. Si determina così la permeabilità apparente del composto, data dal rapporto tra due flussi (BA/AB), ovvero il flusso del composto dal compartimento basolaterale a quello apicale (BA, indice di una diffusione passiva) e il flusso dal compartimento apicale a quello basolaterale (BA, indice di un trasporto attivo).

Quando il rapporto è  $< 2$  il composto può essere considerato un inibitore, quando è  $> 2$  il composto viene classificato come substrato.

#### **6.4.2. Consumo cellulare di ATP [169]**

Il secondo test, effettuato sempre in cellule Caco-2, è volto a misurare il consumo cellulare di ATP dovuto al trasporto mediato dalla Pgp. Generalmente un substrato determina consumo di ATP mentre gli inibitori lasciano invariata la concentrazione di ATP cellulare. Esiste però una categoria di substrati che non consumano ATP: sono i substrati non trasportati, che si legano alla proteina ma, non essendo trasportati da essa, non determinano consumo di ATP.

#### **6.4.3. Inibizione del trasporto di un probe fluorescente nelle cellule MDCK-MDR1, MDCK-MRP1 e MDCK-BCRP [170]**

Il terzo test è effettuato su una linea cellulare di tumore renale canino MDCK che sovraesprime la Pgp e stabilisce la potenza dell'interazione del composto con la proteina misurando l'inibizione del trasporto del probe fluorescente calceina-AM (substrato della Pgp) in presenza del composto da testare.

Con quest'ultimo test è possibile inoltre determinare la potenza del modulatore, oltre che nei confronti della Pgp, anche su altre due pompe di efflusso, MRP1 e BCRP, in quanto sono disponibili cellule MDCK che esprimono specificamente solo uno dei tre tipi di proteina. Quindi il test è utile per determinare la selettività del composto sui trasportatori ABC coinvolti nella MDR nell'uomo.

Le linee cellulari usate sono le MDCK-MDR1, MDCK-MRP1 e MDCK-BCRP, donate dal Prof. P. Borst, NKI-AVL Institute, Amsterdam, Olanda. Nelle cellule che esprimono la Pgp o la MRP1 si usa il probe fluorescente calceina-AM, mentre nelle cellule che esprimono la BCRP si usa il probe fluorescente Hoechst 33342.

## Cap.7 BIBLIOGRAFIA

- [1] A. Palmeira, E. H. Sousa, M. M. Vasconcelos, M. Pinto, (2012), *Curr. Med. Chem.*, **19**, 1946-2025.
- [2] B. T. Hill, (1996), *Int. J. Oncology*, **9**, 197-203.
- [3] P. S. Lacombe, J. A. G. Vicente, J. G. Pagès, P. L. Morselli, (1996), *Drugs*, **51**, 552-570.
- [4] S. E. Kane, (1996), *Advances in Drug Research*, **24**, 181-252.
- [5] L. A. Mitscher, S. P. Pillai, E. J. Gentry, D. M. Shankel, (1999), *Med. Res. Rev.*, **19**, 477-496.
- [6] M. Volm, J. Mattern, (1996), *Crit. Rev. Oncogenesis*, **7**, 227-244 .
- [7] M. Dietel, (1991), *Phatol. Res. Pract.*, **187**, 892-905.
- [8] W. T. Beck, (1990), *Cancer Treat. Rev.*, **17 (Supp. A)**, 11-20.
- [9] C. S. Morrow, K. H. Cowan, (1990), *Cancer Cells*, **2**, 15-22.
- [10] J.R. Hammond, R. M. Johnstone, P. Gros, (1989), *Cancer Res.*, **49**, 3896-3871.
- [11] Y. A. Hannun, (1997), *Blood*, **89**, 1845-1853.
- [12] Y. Liu, T. Han, A. E. Giuliano, M. C. Cabot, (2001), *FASEB Journal*, **15**, 719-730.
- [13] R. G. Deeley, S. P. C. Cole, (1997), *Cancer Biol.*, **8**, 193-204.
- [14] R. J. Scheper, H. J. Broxterman, G. L. Scheffer, P. Kaaijk, W. S. Dalton, T. H. M. van Heijningen, C. K. van Kalken, M. L. Slovak, E. G. E. de Vries, P. van der Valk, C. J. L. M. Meijer, H. M. Pinedo, (1993), *Cancer Res.*, **53**, 1475-1479.
- [15] D. D. Ross, W. Yang et al., (1999), *J. Natl. Cancer Inst.*, **91**, 429-433.
- [16] G. Rappa, A. Lorico, R. A. Flavell, A. C. Sartorelli, (1997), *Cancer Res.*, **57**, 5232-5237.
- [17] J. Renes, E. G. E. De Vries, E. F. Nienhuis, P. L. M. Jansen, M. Muller, (1999), *Brit. J. Pharmacol.*, **126**, 681-688.
- [18] L. Manciu, X. B. Chang, J. R. Riordan, J. M. Ruyschaert, (2000), *Biochemistry*, **39**, 13026-13033.
- [19] W. Loo, D. M. Clarke, (2000), *J. Biol. Chem.*, **275**, 5253-5256.
- [20] F. X. Mahon, F. Belloc, V. Lagarde, C. Chollet, J. Reiffers, J. M. Goldman, J. V. Melo, (2003), *Blood*, **101**, 2368-73.
- [21] E. Erba, D. Bergamaschi, L. Bassano, S. Ronzoni, G. Di Liberti, I. Muradore, S. Vignati, G. Faircloth, J. Jimeno, M. D'Incalci, (2000), *Br. J. Cancer*, **82**, 1732-9.
- [22] M. L. Linenberger, T. Hong, D. Flowers, E. L. Sievers, T. A. Gooley, J. M. Bennett, (2001), *Blood*, **98**, 988-94.
- [23] E. K. Rowinsky, (1997), *Annual Review of Medicine*, **48**, 353-374.
- [24] L. J. Goldstein, H. Galski, A. Fojo, M. Willingham, S. L. Lai, A. Gazdar, (1989), *J. Nat. Cancer Inst.*, **81**, 116-124.
- [25] J. A. Holmes, R. R. West, (1994), *Br. J. Cancer*, **69**, 382-384.
- [26] B. J. Trock, F. Leonessa, R. Clarke, (1997), *J. Nat. Cancer Inst.*, **89**, 917-31.
- [27] P. M. Jones, A. M. George, (1998), *J. Membrane Biol.* **166**, 133-147.
- [28] J. Robert, (1997), *Drugs of future*, **22**, 149-158.
- [29] I. B. Roninson, H. T. Abelson, D. E. Housman, N. Howell, A. Varshavsky, (1984), *Nature*, **309 (5969)**, 626-628.
- [30] J. R. Riordan, K. Deuchars, N. Kartner, N. Alon; J. Trent, V. Ling, (1985), *Nature*, **316 (6031)**, 817-819.
- [31] P. Gros, J. Croop, D. Housman, (1986), *Cell*, **47 (3)**, 371-380.
- [32] W. Loo, M. C. Barlett, D. M. Clarke, (2003), *J. Biol. Chem.*, **278**, 20449-20452.



- [33] S. G. Aller, Jodie Yu, A. Ward, Y. Weng, S. Chittaboina, R. Zhuo, P. M. Harrel, Y. T. Trinh, Q. Zhang, I. L. Urbatsh, G. Chang, (2009), *Science*, **323**, 1718-1721.
- [34] Li, J., Jaimes, K. F. & Aller, S.G., (2014), *Protein Sci.*, **23**, 42-46.
- [35] E. W. Yu, G. McDermott, H. I. Zgurskaya, H. Nikaido, D. E. Koshland, (2003), *Science*, **300**, 976-980.
- [36] D. S. Murray, M. A. Schumacher, R. G. Brennan, (2004), *J. Biol. Chem.*, **279**, 14365.
- [37] M. A. Schumacher, R. G. Brennan, (2002), *Mol. Microbiol.*, **45**, 885-893.
- [38] W. Loo, D. M. Clarke, (2001), *J. Biol. Chem.*, **276**, 36877-36880.
- [39] I. K. Pajeva, C. Globish, M. Wiese, (2009), *FEBS Journal*, **276**, 7016-7026.
- [40] C. Globisch, I. K. Pajeva, M. Wiese, (2008), *Chem. Med. Chem*, **3**, 280-295.
- [41] F. G. Sharom, R. Liu, Y. Romsicki, P. Lu, (1999), *Biochim. Biophys. Acta*, **1461**, 327-345.
- [42] A. V. Ravna, I. Sylte, G. Sager, (2007), *Theor. Biol. Med. Model*, **4**, 33.
- [43] R. Prajapati, A. T. Sangamwar, (2014), *Biochim. Biophys. Acta*, **1838**, 2882-2898.
- [44] J. G. Wise, (2012), *Biochemistry*, **51**, 5125-5141.
- [45] L. Pan, (2015), *Scientific Reports*, **5:7880**, 1-10.
- [46] M. Müller, P. L. Jansen, (1998), *J. Hepatol.*, **28**, 344-354.
- [47] R. Krishna, L. D Mayer, (2000), *Eur. J. Pharm. Sci.*, **11**, 265-283.
- [48] A. H. Schinkel, (1997), *Cancer Biol.*, **8**, 161-170.
- [49] R. H. Stephens, O. Neil, C. A. Carlson, M. Rowland, G. Waehurs, (2001), *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **296**, 584-591.
- [50] R. W. Johnstone, A. A. Ruefli, M. J. Smyth, (2000), *Trends Biochem. Sci.*, **25**, 1-6.
- [51] S. Dey, S. Gunda, A. K. Mitra, (2004), *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **311**, 246-255.
- [52] A. G de Boer, I. C. J. van der Sandt, P. J. Gaillard, (2003), *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **43**, 629-656.
- [53] M. King, W. Su, A. Chang, A. Zuckerman, G. W. Pasternak, (2001), *Nature Neurosci.*, **4**, 268-274.
- [54] X. D. Liu, Q. Liu, (2001), *Acta Pharmacol. Sinica*, **22**, 111-116.
- [55] F. Ushigome, H. Takanaga, H. Matsuo, S. Yanai, K. Tsukimori, H. Nakano, T. Uchiumi, T. Nakamura, M. Kuwano, H. Ohtani, Y. Sawada, (2000), *Eur. J. Pharmacol.*, **408**, 1-10.
- [56] K. Ueda, N. Okamura, M. Hirai, Y. Tarrigawara, T. Saeki, N. Kioka, T. Komano, R. Hori, (1992), *J. Biol. Chem.*, **267(34)**, 24248-24252.
- [57] A. Pohl, H. Lage, P. Muller, T. Pomorski, A. Hermann, (2002), *Biochem. J.*, **365(1)**, 259-268.
- [58] Y. C. Zhang, L. Z. Benet, (2001), *Clin. Pharmacokinet.*, **40**, 159-168.
- [59] A. G. de Boer, I. C. J. van der Sandt, P. J. Gaillard, (2003), *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, **43**, 629-656.
- [60] A. Tsuji, I. Tamai, (1997), *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **25**, 287-98.
- [61] H. Kusuvara, Y. Sugiyama, (2001), *Drug Disc. Today*, **6**, 150-156.
- [62] A. H. Schinkel, E. Wagenaar, C.A.A.M. Mol, L. Vandeemter, (1996), *J. Clin Invest.*, **97**, 2517-2524.
- [63] S. Vogelgesang, I. Cascorbi, E. Schroeder, J. Pahnke, H. K. Kroemer, W. Siegmund, C. Kunert-Keil, L. C. Walker, R. W. Warzok, (2002), *Pharmacogenetics*, **12**, 535-541.
- [64] A. Bartels, A. T. M. Willemsen, R. Kortekaas, B. M. de Jong, R. de Vries, (2008), *Neural Transm.*, **115**, 1001-1009.
- [65] S. Rapposelli, M. Digiacomo, A. Balsamo, (2009), *Curr. Top. Med. Chem.*, **9**, 209-217.
- [66] M. Drozdziak, M. Bialecka, K. Mysliwiec, K. Honczarenko, J. Stankiewicz, S. Zbigniew, (2003), *Pharmacogenetics*, **13**, 259-263.

- [67] R. Kortekaas, K. L. Leenders, J. C. H. van Oostrom, W. Vaalburg, J. Bart, A. T. M. Willemsen, N. H. Hendrikse, (2005), *Ann. Neurol.*, **57**, 176-179.
- [68] A. Wood-Kaczmar, S. Gandhi, N. W. Wood, (2006), *Trends Mol. Med.*, **12**, 521-528.
- [69] R. M. Raaphorst, A. D. Windhorst, P. H. Elsinga, N. A. Colabufo, A. A. Lammertsma, G. Luurtsema, (2015), *Clinical Pharm. Ther.*, **97**, 362-371.
- [70] M. Hennessy, (2002), *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **21**, 1284-1293.
- [71] W. Y. Kin, L. Benet, (2004), *Pharm. Res.*, **21**, 1284-1293.
- [72] T. Fojo, S. Bates, (2003), *Oncogene*, **22**, 7512-7523.
- [73] D. M. Bollag, D. A. McQueney, J. Zhu, O. Hensens, L. Koupal, J. Liesch, M. Goetz, E. Lazarides, C. M. Woods, (1995), *Cancer Res.*, **55**, 2325-2333.
- [74] F. K. Engels, A. Sparreboom, R. A. Mathot, J. Verweij, (2005), *Br. J. Cancer*, **93**, 173-177.
- [75] N.H. Patel, M.L. Rothenberg, (1994), *Invest New Drug*, **12**, 1-13.
- [76] F. Fusi, S. Saponara, M. Valoti, S. Dragoni, P. D'Elia, (2006), *Curr. Drug Targets*, **7**, 949-959.
- [77] W. Priebe, R. Perez-Soler, (1994), *Pharmacol. Therapeut*, **60**, 215-234.
- [78] C. Pawlak-Roblin, P. F. Tosi, L. Perrin, J. Devy, L. Venteo, P. Albert, C. Nicolau, C. Madoulet, (2004), *Eur. J. Cancer*, **40**, 606-613.
- [79] A. Stege, A. Pribsch, C. Nieth, H. Lage, (2004), *Cancer Gene Ther.*, **11**, 699-706.
- [80] X. Tian, M. J. Zamek-Gliszczynski, P. Zhang, L. R. Brouwer, (2004), *Mol. Pharmacol.*, **66**, 1004-1010.
- [81] J. Robert., C. Jarry, (2003), *J. Med. Chem.*, **46**, 4805-4817.
- [82] Z. Binkhathlan, A. Lavasanifar, (2013), *Curr. Cancer Drug Targets*, **13**, 326-46.
- [83] S. Modok, H. R. Mellor, R. Callaghan, (2006), *Curr. Opin. Pharmacol.*, **6**, 350-354.
- [84] T. Tsuruo, H. Iida, S. Tsukagoshi, Y. Sakurai, (1981), *Cancer Res.*, **41**, 1967-1972.
- [85] L. M. Slater, P. Sweet, M. Stupecky, S. Gupta, (1986), *J. Clin. Invest.*, **77**, 1405-1408.
- [86] T. Tsuruo, H. Iida, Y. Kitatani, K. Yokota, S. Tsukagoshi, Y. Sakurai, (1984), *Cancer Res.*, **44**, 4303-4307.
- [87] T. Tsuruo, H. Iida, M. Nojiri, S. Tsukagoshi, Y. Sakurai, (1983), *Cancer Res.*, **43**, 2905-2910.
- [88] K. Haussermann, B. Benz, V. Geleker, K. Schumacher, M. Eichelbaum, (1991), *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **50**, 1245-1255.
- [89] G. Toffoli, F. Simone, G. Corona, M. Rashack, B. Cappelletto, M. Gigante, M. Baiocchi, (1995), *Biochem. Pharmacol.*, **50**, 187-196.
- [90] D. Berge, R. Citarella, M. Dutia, L. Greenberg, W. Hallet, R. Paul, D. Powel, (1999), *J. Med. Chem.*, **42**, 2145-2161.
- [91] J. F. Eliason, H. Ramuz, T. Yoshikubo, T. Ishikawa, T. Yamamoto, T. Tsuruo, (1995), *Biochem. Pharmacol.*, **50**, 187-196.
- [92] M. Abderrabi, S. Marchal, J. L. Merlin, (1996), *Anti Cancer Drugs*, **7**, 430-436.
- [93] P. R. Twentyman, N. M. Bleehen, (1991), *Eur. J. Cancer*, **27**, 1639-1642.
- [94] P. A. to Boekhorst, J. Van Kapel, M. Schoester, P. Sonneveld, (1992), *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **30**, 238-242.
- [95] W. Jansen, E. Venema, H. Pinedo, U. Bamberg, A. Heckel, E. Boven, (1993), *Proc. Am. Ass. Cancer Res.*, **34(A)**, 1908-1915.
- [96] T. Saeki, T. Nomizu, M. Toi, Y. Ito, S. Noguchi, T. Kobayashi, T. Asaga, H. Minami, N. Yamamoto, K. Aogi, T. Ikeda, Y. Ohashi, W. Sato, T. Tsuruo, (2007), *J. Clin. Oncol.*, **25**, 411-417.
- [97] S. Modok, H. R. Mellor, R. Callaghan, (2006), *Curr. Opin. Pharmacol.*, **6**, 350-354.
- [98] B. L. Lum, M. P. Gosland, (1995), *Hematol. Oncol. Clin. North. Am.*, **9**, 319-336.

- [99] E. K. Rowinsky, L. Smith, Y.-M. Wang, P. Chaturvedi, M. Villalona, E. Campbell, et al., (1998), *J. Clin. Oncol.*, **16**, 2964-2976.
- [100] M. V. Seiden, K. D. Swenerton, U. Matulonis, S. Campos, P. Rose, G. Batist, et al., (2002), *Gynecol. Oncol.*, **86**.
- [101] L. Gandhi, M. W. Harding, M. Neubauer, C. J. Langer, M. Moore, R. J. Helen, B. E. Johnson, T. J. Lynch, (2007), *Cancer*, **109**, 924-932.
- [102] L. D. Cripe, H. Uno, E. M. Paietta, M. R. Litzow, R. P. Katterling, J. M. Bennett, et al., (2010), *Blood*, **116**, 4077-4085.
- [103] M. M. Gottesman, T. Fojo, S. E. Bates, (2002), *Nat. Rev. Cancer*, **2**, 48-58.
- [104] N. Dodic, B. Dumaitre, A. Daugan, P. Pianetti, (1995), *J Med Chem*, **38**, 2418-2426.
- [105] I. E. L. M. Kuppens, et al., (2007), *Clin. Cancer Res.*, **13**, 3276-3285.
- [106] A. S. T. Planting, P. Sonneveld, A. Van Der Gaast, A. Sparreboom, et al., (2005), *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **55**, 91-99.
- [107] P. Kannan, S. Telu, S. Shukla, S. V. Ambudkar, et al., (2011), *ACS Chem. Neurosci.*, **2**, 82-89.
- [108] T. Iwashina, (2003), *Biol Sci Space*, **17**, 24-44
- [109] M. Hadjeri, M. Barbier, X. Ronot, A. M. Mariotte, A. Boumendjel, J. Boutonnat, (2003), *J. Med. Chem.*, **46**, 2125-2131
- [110] J. B. Harborne, C.A. Williams, (2000), *Phytochemistry*, **55**, 481-504.
- [111] M. E. Morris, S. Zhang, (2006), *Life Sci.*, **78**, 2116-2130.
- [112] L. Pourcel, J. M. Routaboul, V. Cheynier, L. Lepiniec, I. Debeaujon, (2007), *Trends Plant Sci.*, **12**, 29-36.
- [113] C. Rice-Evans, (2001), *Curr Med Chem*, **8**, 797-807.
- [114] W. J. Go, J. H. Ryu, F. Qiang, H. K. Han, (2009), *J. Nat. Prod.*, **72**, 1616-1619.
- [115] K. Ishii, S. Tanaka, K. Kagami, K. Henmi, H. Toyoda, T. Kaise, T. Hirano, (2010), *Cancer Invest.*, **28**, 220-229.
- [116] S. C. Shin, C. Li, J. S. Choi, (2009), *Pharmazie*, **64**, 579-583
- [117] Q. Mi, B. Cui, D. Lantvit, E. Reyes-Lim, H. Chai, J. M. Pezzuto, D. Kinghorn, S. M. Swanson, (2003), *Anticancer Res.*, **23**, 3607-3615.
- [118] Q. Mi, B. Cui, G. L. Silva, D. Lantvit, E. Lim, H. Chai, M. You, M. G. Hollingshead, J. G. Mayo, A. D. Kinghorn, J. M. Pezzuto, (2001), *Cancer Research*, **61**, 4030-4037.
- [119] H. J. Zhu, J. S. Wang, J. S. Markowitz, J. L. Donovan, B. B. Gibson, H. A. Gefroh, C. L. Devane, (2006), *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **317**, 850-857.
- [120] M. L. Holland, D. T. Lau, J. D. Allen, J. C. Arnold, (2007), *Br. J. Pharmacol.*, **152**, 815-824.
- [121] J. Kobayashi, (1997), *Nippon Rinsho*, **55**, 1135-1142
- [122] G. Corea, E. Fattorusso, V. Lanzotti, O. Tagliatalata-Scafati, G. Appendino, M. Ballero, P.N. Simon, C. Dumontet, A. Di Pietro, (2003), *J. Med. Chem.*, **46**, 3395-3402.
- [123] C. C. Wang, J. X. Zhang, X. L. Shen, C. K. Wan, A. K. Tse, W. F. Fong, (2004), *Biochem. Pharmacol.*, **68**, 843-855
- [124] S. Jain, S. Laphookhieo, Z. Shi, L. W. Fu, L. S. Akiyama, Z. S. Chen, D. T. Youssef, R. W. van Soest, K. A. El Sayed, (2007), *J. Nat. Prod.*, **70**, 928-931.
- [125] Z. Shi, S. Jain, I. W. Kim, X. X. Peng, I. Abraham, D. T. Youssef, L. W. Fu, K. El Sayed, S. V. Ambudkar, Z. S. Chen, (2007), *Cancer Sci.*, **98**, 1373-1380.
- [126] S. Singh, N. R. Prasad, E. E. Chufan, B. A. Patel, Y.-J. W., Z.-S. C., S. V. Ambudkar, T.T. Talele, (2014), *J. Med. Chem.*, **57**, 4058-4072.
- [127] J. A. Kellen, (1993), *Anticancer Res.*, **13**, 959-961.
- [128] S. Gupta, F. Thadepalli, G. Gollapudi, (1995), *Int. J. Onc.*, **7**, 475-480.

- [129] C. Muller, F. Goubin, E. Ferrandis, I. Cornil-Scwartz, J. D. Bailly, C. Bordier, J. Bènard, B. I. Sikic, G. Laurent, (1995), *Mol. Pharmacol.*, **47**, 51-56.
- [130] R. Maitra, P. A. Halpin, K. H. Karlson, R. L. Page, D. Y. Paik, M. O. Leavitt, B. D. Moyer, B. A. Stanton, J. W. Hamilton, (2001), *J. Med. Chem.*, **44**, 594-601.
- [131] S. Ibrahim, J. Peggins, A. Knapton, T. Licht, A. Aszalos, (2001), *Anticancer Res.*, **21**, 847-856.
- [132] J. Robert, (1994), *Anticancer Res.*, **14**, 2371.
- [133] R. B. Wang, C. L. Kuo, L. L. Lien, E. J. Lien, (2003), *J. Clin. Pharm. Ther.*, **28**, 203-228.
- [134] M. Hagivara, (1988), *Pharmacol.*, **37**, 2987-2992.
- [135] M. J. Robinson, A. H. Corbett, N. Osheroff, (1993), *Biochemistry*, 3638-3643.
- [136] P. Chiba, W. Holzer, M. Landau, G. Bechmann, K. Lorenz, B. Plagens, M. Hitzler, E. Richter, G. Ecker, (1998), *J. Med. Chem.*, **41**, 4001-4011.
- [137] P. Chiba, (1996), *Mol. Pharmacol.*, **49**, 1122-1130.
- [138] D. Schmid, G. Ecker, S. Kopp, M. Hitzler, P. Chiba, (1999), *Biochem. Pharmacol.*, **58**, 1447-1456.
- [139] E. Teodori, S. Dei, C. Martelli, S. Scapecchi, F. Gualtieri, (2006), *Curr. Drug Targets*, **7**, 893-909.
- [140] N. A. Colabufo, F. Berardi, M. Cantore, M. Contino, C. Inglese, M. Niso, R. Perrone, (2009), *J. Med. Chem.*, **53**(5), 1883-1897.
- [141] A. Seelig, E. Landwojtowiez, (2000), *Eur. J. Pharm. Sci.*, **12**, 31-40.
- [142] I. Pajeva, M. Wiese, (2002), *J. Med. Chem.*, **45**, 5671-5686.
- [143] C. Martelli, M. Coronello, S. Dei, D. Manetti, F. Orlandi, S. Scapecchi, M. N. Romanelli, M. Salerno, E. Mini, E. Teodori, *J. Med. Chem.*, (2010), **53**, 1755-1762.
- [144] S. Dei, M. Coronello, E. Floriddia, G. Bartolucci, C. Bellucci, L. Guandalini, D. Manetti, M. N. Romanelli, M. Salerno, I. Bello, E. Mini, E. Teodori, *E. J. Med. Chem.*, (2014), **87**, 398-412.
- [145] E. Teodori, D. Silvia, E. Floriddia, M. G. Perrone, D. Manetti, M. N. Romanelli, M. Contino, N. A. Colabufo, (2015), *ChemMedChem*, **10**, 1339-1343.
- [146] T. R. Stouch, A. Gudmundsson, (2002), *Adv. Drug Deliver. Rev.*, **54**, 315-328.
- [147] P. Chiba, W. Holzer, M. Landau, G. Bechmann, K. Lorenz, B. Plagens, M. Hitzler, E. Richter, . G. Ecker, (1998), *J. Med. Chem.*, **41**, 4001-4011.
- [148] M. C. Wenlock, R. P. Austin, P. Barton, A. M. Davis, P. D. Leeson, (2003), *Journ. Med. Chem.*, **46**, 1250-1256.
- [149] D. F. Veber, S. R. Johnson, H. Y. Cheng, B.R. Smith, K. W. Ward, K. D. Dopple, (2002), *Journ. Med. Chem.*, **45**, 2615-2623.
- [150] C. Lipinski, F. Lombardo, B. W. Dominy, P. J. Feeney, (1997), **23**, 3-25.
- [151] H. Tomioka, K. Oshima, H. Nozaki, (1982), *Tetrahedron Lett.*, **23**, 539-542.
- [152] R. J. Mattson, K. M. Pham, D. J. Leuck, K. A. Cowen, (1990), *J. Org. Chem.*, **55**, 2552-2554.
- [153] W. H. Baarschers, J. P. Vukmanich, (1986), *Can. J. Chem.*, **64**, 932-935.
- [154] I. R. Greig, M. R. Scheridan, R. Fisher, M. J. Tozer, J. A. Clase, A. Smith, A. R. Tuffnell, R. J. Vant'T Hof, (2010), *Patent PIMCO 2664 Limited*, WO 2010/32009.
- [155] J.A. Spicer, S. A. Gamage, G. J. Finlay, W. A. Denny, 2002, *Bioorg. Med. Chem.*, 19-29.
- [156] E. Teodori, S. Dei, A. Garnier-Suillerot, F. Gualtieri, D. Manetti, C. Martelli, M. N. Romanelli, S. Scapecchi, P. Sudwan, M. Salerno, (2005), *J. Med. Chem.*, **48**, 7426-7436.
- [157] E. Teodori, C. Martelli, M. Salerno, N. Darghal, S. Dei, A. Garnier-Suillerot, F. Gualtieri, D. Manetti, S. Scapecchi, M. N. Romanelli, (2007), *J. Med. Chem.*, **50**, 599-602.
- [158] J. R. Peterson, M. E. Russell, I. B. Surjasmita, (1988), *J. Chem. Eng. Data*, **33**, 534-537.

- [159] J. Bourdron, L. Commeiras, P. Barbier, V. Bourgarel-Rev, E. Pasquier, N. Vanthuvne, J.-C. Hubaud, V. Peyrot, J.-L. Parrain, (2006), *Bioorg. Med. Chem.*, **14**, 5540-5548.
- [160] V. Percec, B. C. Won, M. Peterca, P. A. Heiney, (2007), *JACS*, **36**, 11265-11278.
- [161] C. Zhang, C. Tan, X. Zu, X. Zhai, F. Liu, B. Chu, X. Ma, Y. Chen, P. Gong, Y. Jiang, (2011), *E. J. Med. Chem.*, **46**, 1404-1414.
- [162] M. Goto, T. Matsumoto, M. Sumimoto, H. Kurosaki, (2000), *Bull. Chem. Soc. Japan*, **73**, 97-105.
- [163] E. Teodori, S. Dei, P. Ouidu, R. Budriesi, A. Chiarini, A. Garnier-Suillerot, F. Gualtieri, D. Manetti, M. N. Romanelli, S. Scapecchi, (1999), *J. Med. Chem.*, **42**, 1687-1697.
- [164] G. Chen, H. Xia, Y. Cai, D. Ma, J. Yuan, C. Yuan, (2011), *Med. Chem. Commun.*, **2**, 315-320.
- [165] S. Mankhetkorn, A. Garnier-Suillerot, (1998), *Eur. J. Pharmacol.*, **343**, 313-321.
- [166] T. Tsuruo, H. Iida, H. Kawataba, T. Oh-hara, H. Hamada, T. Utakoji, (1986), *Jpn. J. Cancer Res.*, **46**, 682-687.
- [167] M. C. Alley, D. A. Scudiero, A. Monks, M. L. Hursey, M. J. Czerwinski, D. L. Fine, B. J. Abbott, J. G. Mayo, R. H. Shoemaker, M. R. Boyd, (1988), *Cancer Res.* **48**, 589-601.
- [168] C. Inglese, M. G. Perrone, F. Berardi, R. Perrone, N. A. Colabufo, (2011), *Curr. Drug Metab.*, **12**, 702-712.
- [169] L. Kangas, M. Grönroos, A.L. Nieminen, (1984), *Med. Biol.*, **62**, 338-343.
- [170] B. J. Feng, B. Mills, R. E. Davidson, R. J. Mireles, J. S. Janiszewski, M. D. Troutman, S. M. de Moraes, (2008), *Drug Metab. Dispos.*, **36**, 268-275.



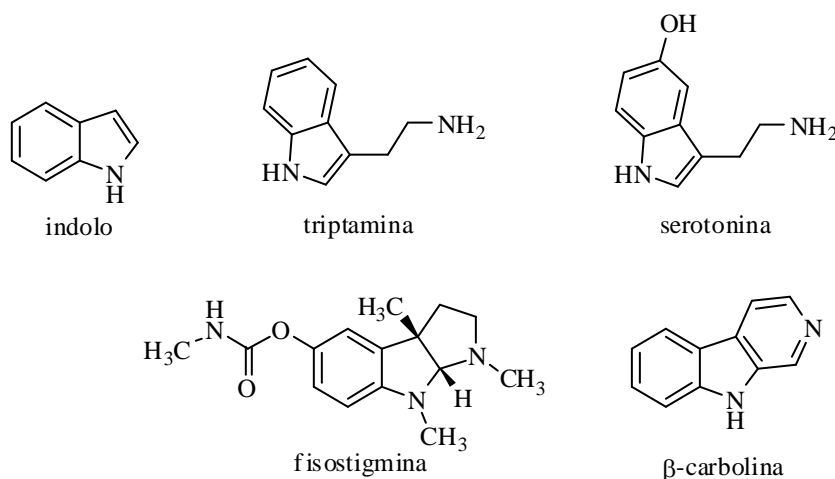
## Cap.8. STUDIO DELLA REATTIVITA' DI NUOVI ACCETTORI DI MICHAEL A STRUTTURA INDOLICA



### 8.1. Composti indolici

Durante il terzo anno di dottorato sono stata ospite per un periodo di tre mesi nel laboratorio del Prof. Mauro Adamo presso il Royal College of Surgeons in Ireland a Dublino. Durante questo periodo mi sono occupata di uno dei progetti già in corso nel laboratorio dublinese riguardante lo studio della reattività di nuovi accettori di Michael a struttura indolica.

Il nucleo indolico è largamente presente in molti composti di origine naturale, molti dei quali hanno importanti funzioni biologiche (fig.8.1).



**Figura 8.1:** indolo ed alcuni esempi di noti derivati a struttura indolica con importanti attività biologiche.

Il nucleo indolico si ritrova anche in numerose classi di farmaci, come per esempio antitumorali [1], antidepressivi e antinfiammatori [2], così la possibilità di ottenere indoli variamente sostituiti attraverso nuove metodiche sintetiche rappresenta un interessante campo di studio. In particolare nei tre mesi che ho trascorso a Dublino il lavoro è stato improntato sulla sintesi del 3-nitro-2-stiril-1*H*-indolo e sullo studio della sua reattività in reazioni di Michael.

### 8.1.1. Nitrazione del 2-metil-1H-indolo

E' ben risaputo che la presenza di un nitro gruppo in sistemi coniugati influenza profondamente la reattività. Studi precedenti portati avanti dal gruppo di ricerca del prof. M. Adamo su 3,5-dimetil-4-nitroisossazoli hanno mostrato come il gruppo metilico è attivato in presenza del gruppo nitro e può essere facilmente deprotonato per diventare un nucleofilo molto utile come building block per la sintesi di composti con importanti attività biologiche, quindi è stato deciso di estendere lo studio ad una differente serie di composti eterociclici, nello specifico è stato scelto il 3-nitro-2-stiril-1H-indolo (fig.8.2).

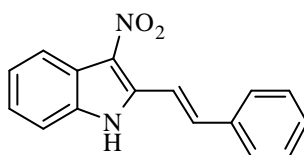


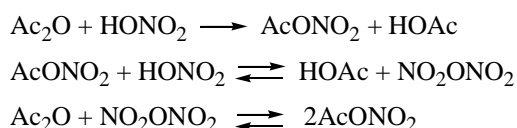
Figura 8.2: 3-nitro-2-stiril-1H-indolo.

Ci sono molti lavori in letteratura inerenti lo studio della nitrazione del 2-metil-1H-indolo [3-6], che riportano diverse procedure. Anche all'interno del gruppo di ricerca del Prof. M. Adamo era già stata studiata questa reazione. Nessuna tra tutte queste procedure aveva però dato i risultati desiderati, in quanto non era stato possibile ottenere una nitrazione selettiva in posizione 3 dell'indolo, ottenendo invece miscele di composti polinitrati complicate da purificare.

Solo partendo dall'indolo protetto con il Boc sull'atomo di azoto (*ter*-butil-2-metil-1H-indolo-1-carbossilato, **158** schema 8.2), secondo la procedura di Pelkey e Gribble [7], era stato possibile ottenere la nitrazione selettiva in posizione 3, ma con basse rese.

Quindi il primo scopo del mio progetto dublinese è stato quello di ottimizzare le condizioni di reazione di questa via sintetica per aumentarne la resa.

L'agente nitrante utilizzato in questa reazione è l'acetil nitrato, generato dalla reazione di anidride acetica e acido nitrico secondo l'equilibrio riportato nello schema 8.1.

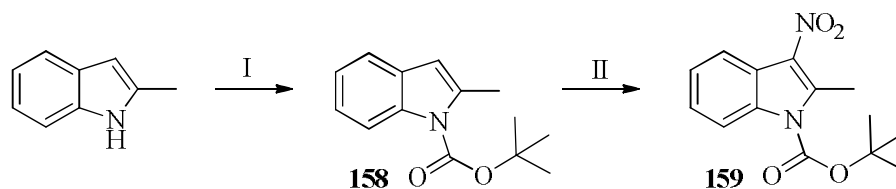


Schema 8.1: generazione dell'acetil nitrato.

Quando l'anidride acetica è in eccesso rispetto all'acido nitrico, l'acetil nitrato e l'acido acetico sono gli unici prodotti [6].



L'*N-ter*-butossicarbonil-2-metil-1*H*-indolo **158** è facilmente preparato sgocciolando una soluzione di *tert*-butossicarbonil anidride in THF ad una soluzione di 2-metil-1*H*-indolo commerciale e DMAP in THF (schema 8.2). Quindi il derivato **158** viene nitrato, secondo la procedura di Pelkey e Gribble, come precedentemente descritto. L'agente nitrante viene generato aggiungendo una soluzione di acido nitrico al 70% ad un eccesso di anidride acetica a 0°C (schema 8.1), questa soluzione viene poi aggiunta ad una soluzione di **158** in Ac<sub>2</sub>O a -70°C (schema 8.2).



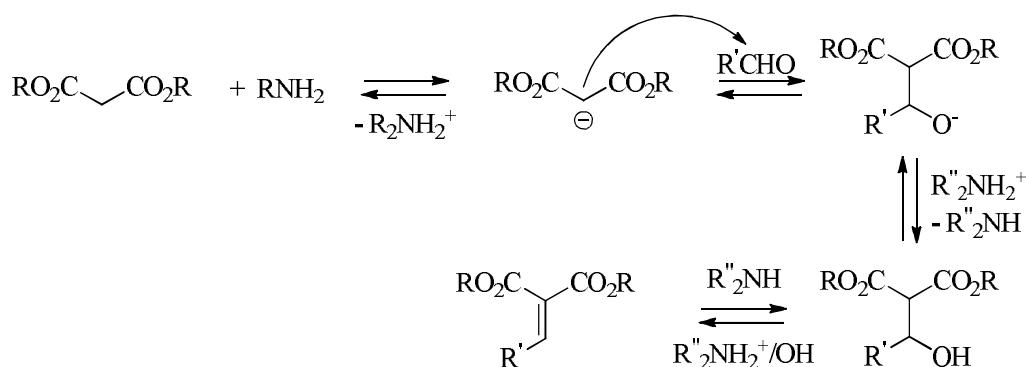
**Schema 8.2:** (I) Boc<sub>2</sub>O (1.5 eq), DMAP (1 eq), THF; (II) Ac<sub>2</sub>O, HNO<sub>3</sub> 70%, -70°C.

Si ottiene così il nitroindolo desiderato **159**, con una piccola percentuale di indolo dinitrato come prodotto secondario che viene facilmente allontanato per purificazione tramite cromatografia su colonna sotto pressione.

### 8.1.2. Sintesi del 3-nitro-2-stiril-1*H*-indolo

Lo step successivo è stato l'ottimizzazione della sintesi del 3-nitro-2-stiril-1*H*-indolo **160** (schema 8.4) tramite una condensazione di Knoevenagel con benzaldeide. La reazione di Knoevenagel è una condensazione tra un'aldeide o un chetone e un composto con protoni acidi, generalmente un composto 1,3-dicarbonilico, catalizzata da un'ammina primaria o secondaria [8].

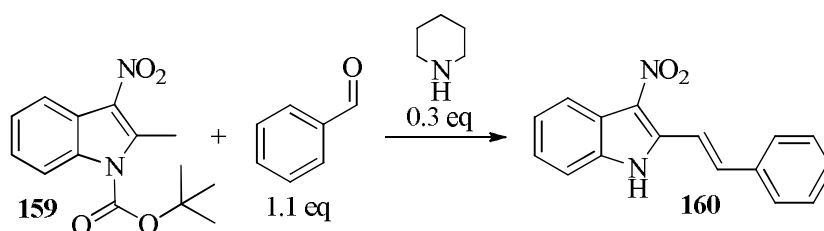
Il meccanismo di tale reazione è illustrato nello schema 8.3 e si può notare come inizialmente si forma un enolato che reagisce con l'aldeide e l'addotto aldolico risultante subisce una eliminazione indotta dalla base.



**Schema 8.3:** rappresentazione di una reazione generica di Knoevenagel.

Grazie alla presenza del gruppo nitro (elettron-accettore) sul sistema indolico, i protoni del gruppo metilico in posizione 2 sono sufficientemente acidi da permettere la

condensazione del nostro composto con la benzaldeide. Durante questa reazione si ottiene direttamente il derivato **160**, in quanto contemporaneamente alla condensazione si ha anche la deprotezione dell'atomo di azoto (schema 8.4).



Schema 8.4: EtOH, 7 h, 85°C.

Inizialmente il composto è stato ottenuto con una resa 55%, così le condizioni di reazione sono state ottimizzate per aumentarne la resa, dato che questo è il composto di cui si vuol studiare la reattività. Tutte le variazioni effettuate, in termini di rapporti equivalenti, solventi, temperatura e tempo di reazione, sono riportate in tabella 8.1. Nelle migliori condizioni trovate la resa è stata del 85%.

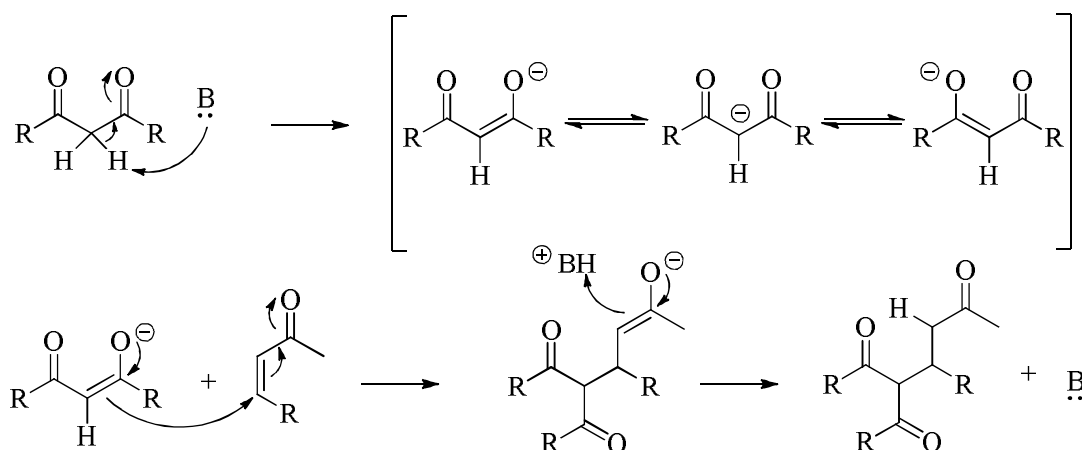
benzaldehyde (eq)	piperidina (eq)	solvente	temperatura (°C)	tempo di reazione (h)	resa (%)
1.1	0.3	EtOH	85	7	55
1.5	0.5	EtOH	85	7	56
1.5	0.5 (DMAP)	EtOH	85	7	0
1.5	0.5	CHCl <sub>3</sub>	70	7	49
1.5	0.5	ciclopentilmetil estere	85	24	53
2.0	0.5	CHCl <sub>3</sub>	70	24	73
2.0	0.5	ciclopentilmetil estere	85	24	72
2.0	0.5	CHCl <sub>3</sub>	70	48	85

Tabella 8.1: condizioni provate per la condensazione di Knoevenagel.

Il prodotto **160** ottenuto è stereochimicamente puro, ovvero come singolo diastereoisomero (*E*), come si evidenzia dall'analisi dalle costanti di accoppiamento nello spettro protonico

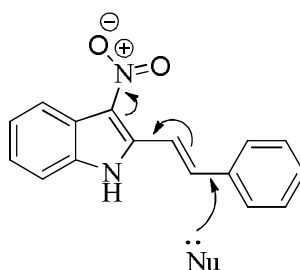
## 8.2. Studio della reattività del composto (*E*)-3-nitro-2-stiril-1*H*-indolo in reazioni di Michael

La reazione di addizione di Michael è una reazione molto utile per la formazione di nuovi legami C-C. La reazione avviene tra un nucleofilo o “donatore di Michael” e un alchene elettrofilo o “accettore di Michael”. L’esempio classico (schema 8.5) è quello su un composto carbonilico  $\alpha,\beta$ -insaturo che, in condizioni basiche, genera un enolato, indispensabile per il successivo step di formazione del legame C-C.



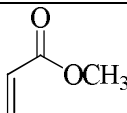
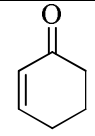
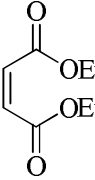
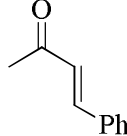
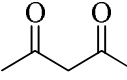
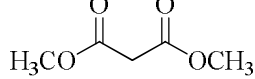
**Schema 8.5:** *meccanismo generale di una addizione di Michael su un composto carbonilico  $\alpha,\beta$ -insaturo.*

Ipotizzando che la presenza del nitro gruppo coniugato con il sistema indolico potesse facilitare l’addizione di nucleofili, è stata studiata la reattività del composto **160** in reazioni di Michael, che dovrebbero avvenire secondo il meccanismo riportato in fig.8.3.



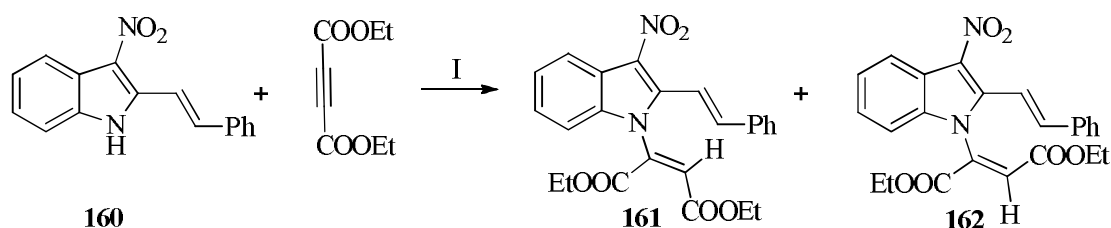
**Figura 8.3:** *possibile addizione di Michael sul composto 160; Nu= nucleofilo.*

Per lo studio di questa reazione, stati utilizzati diversi nucleofili, differenti basi o il catalizzatore a trasferimento di fase (PTC) cinconidinio bromuro, e differenti condizioni di reazione, come riportato nella tabella 8.2.

nucleofilo	base/catalizzatore	solvente	risultato
	+ chinidina + Et <sub>3</sub> N + K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	CHCl <sub>3</sub> /THF/toluene/DMF DMF toluene	no no no
	+ Et <sub>3</sub> N + K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	DMF toluene	no no
EtOOC—C≡C—COOEt	+ Et <sub>3</sub> N	DMF	sì
	+ Et <sub>3</sub> N + K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> + PTC	DMF toluene	no no
	+ Et <sub>3</sub> N + K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> + PTC	DMF toluene	no no
	+ Et <sub>3</sub> N + K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> + PTC	DMF toluene	no no
	+ Et <sub>3</sub> N + K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> + PTC	DMF toluene	no sì
H <sub>3</sub> C—NO <sub>2</sub>	+ Et <sub>3</sub> N + K <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> + PTC	DMF toluene	no no

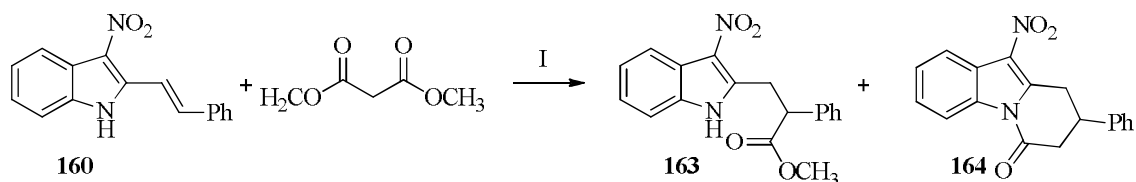
**Tabella 8.2:** studio di reattività del composto **160**; PTC= cinconidinio bromuro.

Tra tutte quelle provate, solo due reazioni hanno dato risultato positivo (tabella 8.2). La prima è la reazione del composto **160** con il dietil acetileno dicarbossilato, ma sfortunatamente in questo caso non c'è stata un'addizione di Michael bensì un'alchilazione sull'atomo di azoto (schema 8.6). Si ottengono i due prodotti **161** e **162**.



**Schema 8.6:** (I) Et<sub>3</sub>N, DMF.

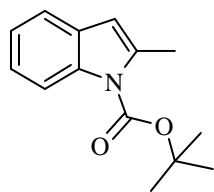
La seconda è la reazione del composto indolico con dimetil malonato. In questo caso l'addizione di Michael ha dato origine a due prodotti: l'intermedio aperto **163** ed il composto triciclico **164** (schema 8.7).



Schema 8.7: (I) cinchonidinio bromuro,  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , toluene.

### 8.3. PARTE CHIMICA SPERIMENTALE

#### *ter*-butil 2-metil-1*H*-indolo-1-carbossilato (158) [100]

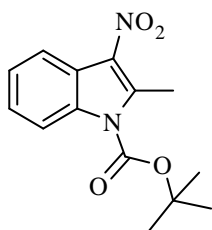


Ad una soluzione di 2-metil-1*H*-indolo (1.31 g, 10.0 mmol) e DMAP (1.22 g, 10.0 mmol) in 10 mL di THF viene sgocciolata una soluzione di di-*ter*-butil dicarbonato ( $\text{Boc}_2\text{O}$ ) (3.27 g, 15.0 mmol) in 10 mL di THF. La miscela di reazione viene mantenuta tutta la notte a t.a., quindi viene trattata con 20 mL di acqua ed estratta a per tre volte con ACT. Dopo aver anidrificato le fasi organiche riunite con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , il solvente viene rimosso per evaporazione a pressione ridotta. Il grezzo di reazione viene purificato mediante cromatografia su colonna sotto pressione, usando come eluente etere di petrolio/ACT 95:5. Il prodotto viene ottenuto come solido bianco. **Resa:** 98%.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.12-8.10 (m, 1H, CH arom.); 7.45-7.42 (m, 1H, CH arom.); 7.25-7.16 (m, 2H, 2CH arom.); 6.32 (s, 1H, CH=C); 2.60 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 1.69 (s, 9H, 3 $\text{CH}_3$ ) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 150.85 (C=O); 137.91 (C); 136.63 (C); 129.50 (C); 123.21 (CH); 122.76 (CH); 119.60 (CH); 115.62 (CH); 108.10 (CH); 83.84 (C); 28.42 ( $\text{CH}_3$  Boc); 17.30 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

#### *ter*-butil 2-metil-3-nitro-1*H*-indolo-1-carbossilato (159)

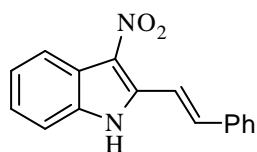


Per generare l'acetil nitrato, una soluzione di acido nitrico al 70% (0.71 mL, 11.28 mmol) viene sgocciolata in un pallone contenente anidride acetica raffreddata a  $0^\circ\text{C}$  (7.46 mL, 78.9 mmol). La soluzione viene poi portata a t.a., mantenuta in agitazione 15 minuti, poi usata immediatamente. Nel frattempo viene preparata una soluzione di 2-metil-1*H*-indolo (870.0 mg, 3.76 mmol) in 18.8 mL di anidride acetica (5 mL/mmol); tale soluzione viene raffreddata a  $-70^\circ\text{C}$ . L'acetil nitrato viene sgocciolato in un tempo di 30 min nella soluzione, mantenendo la temperatura a  $-70^\circ\text{C}$ . La miscela di reazione appare molto densa e di colore verde acqua. La miscela di reazione viene mantenuta in agitazione 2 h a  $-70^\circ\text{C}$ , quindi viene versata in una beuta contenente 20 g di ghiaccio, posta in un bagnetto di ghiaccio, e viene mantenuta finchè il ghiaccio all'interno della beuta non si è tutto sciolto. Si forma un precipitato giallo chiaro che viene filtrato su Buchner e lavato con anidride acetica. Il solido viene purificato con colonna flash (eluente: etere di petrolio/ACT 95:5). Si ottiene così il prodotto desiderato come solido bianco. **Resa:** 71%.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 8.24-8.21 (m, 1H, CH arom.); 8.07-8.05 (m, 1H, CH arom.); 7.40-7.30 (m, 2H, 2CH arom.); 3.06 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ); 1.73 (s, 9H, 3 $\text{CH}_3$ ) ppm.

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 149.32 (C=O); 142.30 (C); 133.81 (C); 131.54 (C); 125.92 (CH); 125.23 (CH); 121.81 (C); 120.58 (CH); 115.13 (CH); 86.86 (C); 28.27 ( $\text{CH}_3$  Boc); 15.20 ( $\text{CH}_3$ ) ppm.

**(E)-3-nitro-2-stiril-1H-indolo (160)**



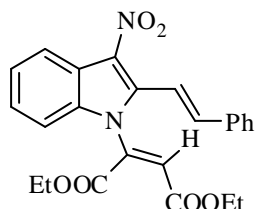
Ad una soluzione di *ter*-butil 2-metil-3-nitro-1*H*-indolo-1-carbossilato (252.0 mg, 0.92 mmol) in 1.84 mL di CHCl<sub>3</sub> (2 mL/mmol), vengono aggiunti 187  $\mu$ L di benzaldeide (1.83 mmol) e 45  $\mu$ L di piperidina (0.46 mmol). La miscela di reazione viene scaldata a 70°C per 48 h. Si forma un precipitato giallo che viene recuperato mediante filtrazione su Buchner. Il prodotto desiderato viene ottenuto come solido giallo che non necessita di ulteriore purificazione. **Resa:** 85%.

**<sup>1</sup>H-NMR (DMSO)  $\delta$ :** 12.7 (bs, 1H, NH); 8.12-8.10 (m, 1H, CH arom.); 8.03 (d, 1H, CH=CH, J=16.4 Hz); 7.74-7.68 (m, 3H, 2CH arom.+CH=CH); 7.54-7.31 (m, 6H, 6CH arom.) ppm.

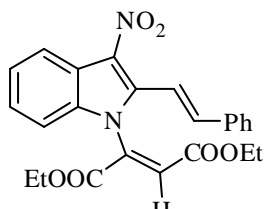
**<sup>13</sup>C-NMR (DMSO)  $\delta$ :** 139.43 (C); 137.12 (CH); 135.52 (C); 134.50 (C); 129.67 (CH); 129.20 (CH); 127.48 (CH); 121.51 (CH); 125.06 (C); 123.64 (CH); 121.40 (C); 120.03 (CH); 115.96 (CH); 112.49 (CH) ppm.

**dietil 2-(3-nitro-2-((E)-stiril)-1H-indol-1-il)maleato (161)**

**dietil 2-(3-nitro-2-((E)-stiril)-1H-indol-1-il)fumarato (162)**



**161**



**162**

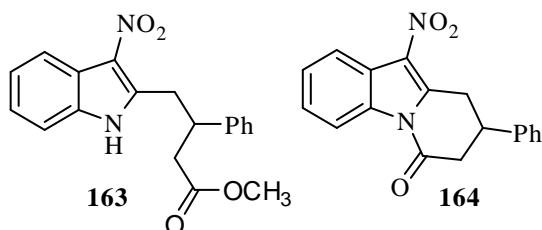
Ad una soluzione di **158** (320.0 mg, 1.21 mmol) in 6.0 mL di THF, vengono aggiunti 169  $\mu$ L di Et<sub>3</sub>N (1.21 mmol) e 0.97 mL di dietil acetileno dicarbossilato (6.05 mmol). Il colore della soluzione passa immediatamente da arancione a rosso e poi a nero. La miscela di reazione viene mantenuta 8 h in agitazione a

temperatura ambiente. Quindi il solvente viene evaporato al rotavapor con una pompa ad alto vuoto ed il grezzo di reazione è purificato mediante cromatografia su colonna flash (eluente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/etere di petrolio 7:3). Si ottengono due prodotti di alchilazione sull'atomo di azoto, entrambi sotto forma di olio giallo, cioè il prodotto **161** e **162** (**resa totale:** 61%).

**(Prodotto 161) <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ :** 8.32-8.30 (m, 1H, CH arom.); 7.77 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.52-7.50 (m, 2H, 2CH arom.); 7.50-7.27 (m, 6H, 6CH arom.); 7.20 (d, 1H, CH=CH, J=16.4 Hz); 6.73 (s, 1H, CH=CH); 4.31 (q, 3H, CH<sub>3</sub>, J=8.0 Hz); 4.06 (q, 3H, CH<sub>3</sub>, J=8.0 Hz); 1.33 (t, 2H, CH<sub>2</sub>, J=8.0 Hz); 0.99 (t, 2H, CH<sub>2</sub>, J=8.0 Hz) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ :** 163.53 (C=O); 161.50 (C=O); 140.48 (CH); 139.06 (C); 135.97 (C); 135.48 (C); 134.80 (C); 130.59 (CH); 129.86 (CH); 128.96 (CH); 127.52 (CH); 125.92 (CH); 125.11 (CH); 121.57 (C=C); 121.50 (C); 115.63 (C=C); 110.42 (C=C); 62.94 (CH<sub>2</sub>); 62.22 (CH<sub>2</sub>); 14.06 (CH<sub>3</sub>); 13.63 (CH<sub>3</sub>) ppm.

**(Prodotto 162) <sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ :** 8.32-8.30 (m, 1H, CH arom.); 7.74 (d, 1H, CH=CH, J=16.0 Hz); 7.48-7.45 (m, 2H, 2CH arom.); 7.47 (s, 1H, CH=CH); 7.46-7.27 (m, 6H, 6CH arom.); 7.05 (d, 1H, CH=CH, J=16.4 Hz); 4.25-4.10 (m, 3H, CH<sub>3</sub>); 3.98 (t, 3H, CH<sub>3</sub>, J=8.0 Hz); 1.09 (t, 2H, CH<sub>2</sub>, J=8.0 Hz); 0.87 (t, 2H, CH<sub>2</sub>, J=8.0 Hz) ppm. **<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$ :** 162.11 (C=O); 161.99 (C=O); 139.67 (C); 139.01 (CH); 135.67 (C); 135.58 (C); 135.48 (C); 130.28 (CH); 129.71 (CH); 128.95 (CH); 127.40 (CH); 125.57 (CH); 124.78 (CH); 121.48 (CH); 121.49 (C=C); 116.75 (C=C); 110.21 (C=C); 63.27 (CH<sub>2</sub>); 62.02 (CH<sub>2</sub>); 13.97 (CH<sub>3</sub>); 13.62 (CH<sub>3</sub>) ppm.

**metil 4-(3-nitro-1H-indol-2-il)-3-fenilbutanoato (163)**  
**10-nitro-8-fenil-8,9-diidropirido[1,2-a]indol-6(7H)-one (164)**



Ad una miscela solida di **158** (64.0 mg, 0.25 mmol),  $K_2CO_3$  (125.0 mg, 1.25 mmol) e cinconidinio bromuro (23.0 mg, 0.05 mmol) vengono aggiunti 0.5 mL di toluene e, dopo 5 min, 143  $\mu$ L di dimetil malonato (1.25 mmol). La sospensione viene tenuta in agitazione 3 giorni a temperatura ambiente, monitorandola

con TLC. Quindi il solvente viene evaporato al rotavapor ed il grezzo di reazione è purificato mediante cromatografia su colonna flash (eluente:  $CH_2Cl_2$ /etere di petrolio 8:2). Si ottengono due prodotti, entrambi sotto forma di olio giallo pallido, cioè l'intermedio aperto **163** (**resa:** 72%) ed il derivato triciclico **164** (**resa:** 9%).

**(Prodotto 163)**  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 9.12 (bs, 1H, NH); 8.19 (d, 1H, CH arom.,  $J=4.0$  Hz); 7.30-7.10 (m, 8H, 8CH arom.); 3.71-3.62 (m, 2H,  $CH_2CO$ ); 3.52 (s, 4H,  $OCH_3+CH$ ); 2.70-2.54 (m, 2H,  $CH_2$ ) ppm.

**(Prodotto 162)**  $^1H$ -NMR ( $CDCl_3$ )  $\delta$ : 8.52-8.48 (m, 1H, CH arom.); 8.24-8.21 (m, 1H, CH arom.); 7.50-7.12 (m, 7H, 7CH arom.); 4.25-4.10 (m, 1H,  $CH_2CO$ ); 3.60-3.52 (m, 1H, CH); 3.48-3.25 (m, 1H,  $CH_2CO$ ); 3.23-3.06 (m, 2H,  $CH_2$ ) ppm.

## 8.4. Bibliografia

- [1] X.-X. Han, C.-B. Cui, Q.-Q. Gu, W.-M. Zhu, H.-B. Liu, J.-Y. Gu, H. Osada, (2005), *Tetrahedron*, **46**, 6137.
- [2] N. K. Kaushik, N. Kaushik, P. Attri, N. Kumar, C. H. Kim, A. K. Verma, E. H. Choi, (2013), *Molecules*, **18**, 6620.
- [3] W. E. Noland, L. R. Smith, D. C. Johnson, (1963), *J. Org. Chem.*, **28**, 2262.
- [4] W. E. Noland, L. R. Smith, K. R. Rush, (1965), *J. Org. Chem.*, **30**, 3457.
- [5] G. Berti, A. Da Settimo, E. Nannipieri, (1968), *J. Chem. Soc.*, 2145.
- [6] J. G. Hoggett, R. B. Moodie, J. R. Penton, K. Schofield, (1971), *Nitration and aromatic reactivity*, Cambridge.
- [7] E. T. Pelkey, G. W. Gribble, (1999), *Synthesis*, **7**, 1117.
- [8] B. List, (2010), *Angew. Chem. Int. Ed.*, **49**, 1730.

## 9. PUBBLICAZIONI E COMUNICAZIONI

- P1)** S. DEI, M. CORONNELLO, E. FLORIDDIA, G. BARTOLUCCI, C. BELLUCCI, L. GUANDALINI, D. MANETTI, M. N. ROMANELLI, M. SALERNO, I. BELLO, E. MINI, E. TEODORI. *Multidrug Resistance (MDR) reversers: high activity and efficacy in a series of asymmetrical N,N-bis(alkanol)amine aryl esters*. DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.09.084
- P2)** L. GUANDALINI, M. V. MARTINO, L. DI CESARE MANNELLI, G. BARTOLUCCI, F. MELANI, R. MALIK, S. DEI, E. FLORIDDIA, D. MANETTI, F. ORLANDI, E. TEODORI, C. GHELARDINI, M. N. ROMANELLI. *Substituted piperazines as nootropic agents: 2- or 3-phenyl derivatives structurally related to the cognition-enhancer DM235*. DOI: 10.1016/j.bmcl.2015.03.009
- P3)** E. TEODORI, S. DEI, E. FLORIDDIA, M. G. PERRONE, D. MANETTI, M. N. ROMANELLI, M. CONTINO, N. A. COLABUFO. *Arylamino esters as P-glycoprotein modulators: SAR studies to establish requirements for potency and selectivity*. DOI: 10.1002/cmdc.2015.00.143
- P4)** M. MENICATTI, L. GUANDALINI, S. DEI, E. FLORIDDIA, E. TEODORI, P. TRALDI, G. BARTOLUCCI. *The power of LC-energy resolved MS/MS methods for stability investigation: the case of multidrug resistance inhibitors in plasma samples*. DOI: 10.1002/rcm.7453
- C1)** E. FLORIDDIA. *Progettazione e sintesi di modulatori delle proteine di trasporto coinvolte nella multidrug resistance (MDR)*. PhD day<sup>4</sup>, Firenze, 16 maggio 2013, Atti P-28
- C2)** E. FLORIDDIA, F. ORLANDI, C. BELLUCCI, D. MANETTI, M. N. ROMANELLI, M. SALERNO, S. SCAPECCHI, E. TEODORI, S. DEI. *New N-alkanol-N-cyclohexanolamine aryl ester derivatives as reverting agents of Multidrug Resistance (MDR)*. VII MEETING “Nuove prospettive in Chimica Farmaceutica” NPCF7, Savigliano (CN) 29-31 maggio 2013, Atti P1.8
- C3)** S. DEI, E. FLORIDDIA, M. CORONNELLO, C. BELLUCCI, D. MANETTI, F. ORLANDI, M. N. ROMANELLI, M. SALERNO, S. SCAPECCHI, E. TEODORI. *New multidrug resistance (MDR) agents endowed with good potency and efficacy*. XXII National Meeting on Medicinal Chemistry NMMC 2013, Roma 10-13 settembre 2013, Atti P. OE. 39
- C4)** E. FLORIDDIA. *Derivati piperazinici e piperidinici come modulatori della Multidrug Resistance (MDR)*. PhD day<sup>5</sup>, Firenze, 29 maggio 2014, Atti T-43
- C5)** E. FLORIDDIA, C. BELLUCCI, D. MANETTI, M. N. ROMANELLI, M. SALERNO, E. TEODORI, S. DEI. *New potent piperazine and aminopiperidine derivatives as reverting agents of Multidrug Resistance (MDR)*. VIII MEETING “Nuove prospettive in Chimica Farmaceutica” NPCF8, Parma 9-11 giugno 2014, Atti O-7
- C6)** M. MENICATTI, L. GUANDALINI, S. DEI, E. FLORIDDIA, E. TEODORI, G. BARTOLUCCI. *Stability in biological fluids by LC-MS/MS analysis of Multidrug Resistance inhibitors*. 8°MS-Pharmaday, Sansepolcro (AR), 11-13 giugno 2014, Atti pg. 36-37



- C7)** E. TEODORI, S. DEI, E. FLORIDDIA, M. CORONNELLO, G. BARTOLUCCI, D. MANETTI, M. N. ROMANELLI, M. SALERNO. *Aminoarylesters as multidrug resistance (MDR) reverting agents endowed with high potency and efficacy*. IX Joint Meeting in Medicinal Chemistry, Atene (Grecia) 7-10 giugno 2015, Atti O11
- C8)** S. DEI, E. TEODORI, E. FLORIDDIA, C. BELLUCCI, D. MANETTI, M. N. ROMANELLI, M. SALERNO. *Flavonoid aminoesters acting as reversing agents of Pgp-dependent multidrug resistance (MDR)*. IX Joint Meeting in Medicinal Chemistry, Atene (Grecia) 7-10 giugno 2015, Atti P88
- C9)** M. MENICATTI, L. GUANDALINI, S. DEI, E. FLORIDDIA, E. TEODORI, P. TRALDI, G. BARTOLUCCI. *Multidrug resistance inhibitors in plasma samples: the power of LC-energy resolved MS/MS methods for stability investigation*. Bioanalitica 2015: Nuovi approcci bioanalitici per la determinazione di sostanze ad attività biologica, farmaceutica e nutraceutica, Firenze 26 giugno 2015, Book of Abstracts pg. 16