



A.D. MDLXII

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Dipartimento Scienze del Farmaco Facoltà di Farmacia

Dottorato di ricerca in Scienze e Tecnologie Chimiche

Indirizzo Scienze Farmaceutiche

Settore Scientifico Disciplinare CHIM 08

XXIII Ciclo : 1 Gennaio 2008 – 30 Ottobre 2010

***Sintesi e attività cannabinergica di nuove molecole a struttura
1H-4-Diidropirazolo[3,4-a]pirrolizinica, 1H-4,5-Diidropirazolo[4,3-g]
indolizinica e 1H-4,5,6-Tetraidropirazolo[3,4-c]pirrolo
[1,2-c]azepinica***

Dottorando

Dott. Pinna Giansalvo

Tutor

Prof. Gerard A. Pinna

Indice

= Capitolo 1 : Introduzione e drug design

1.1 Cenni Storici

1.2 Il sistema Endocannabinoide (ECS)

1.3 Implicazioni fisiopatologiche del ECS

1.4 Classi di agenti che interagiscono con il ECS e progettazione delle molecole oggetto della tesi

= Capitolo 2 : Chimica

= Capitolo 3 : Parte Sperimentale

3.1 Chimica

Capitolo 1

1.1 – Cenni Storici

La canapa è una pianta a fiore angiosperma che appartiene alla famiglia delle cannabaceae, dette anche cannabinacee dell'ordine delle *urticales*.

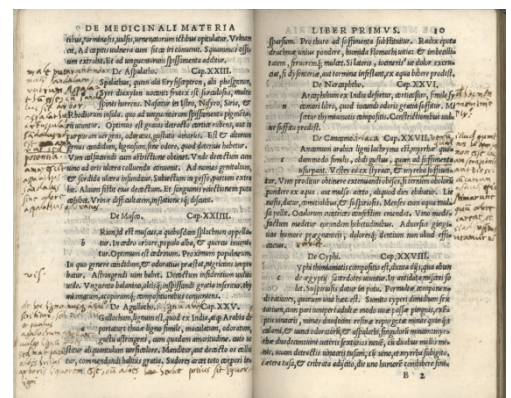
La cannabis è una pianta la cui storia in ambito farmacologico è datata sin dalle epoche più remote, infatti, prove dell'utilizzo di questa si hanno fin dai tempi del neolitico, come dimostrato dal ritrovamento di alcuni semi fossilizzati in una grotta in Romania. Tuttavia documenti che certificano un suo uso risalgono



solo a epoche successive come quella del grande impero cinese di Chen Nung, circa 5000 anni fa. In tal periodo fu infatti pubblicato un erbario mettendo in evidenza le proprietà medicamentose di numerose piante fra le quali anche la canapa. Essa era raccomandata per la malaria, la costipazione, il dolore, i “problemi femminili” e in associazione con vino e resina era indicata come analgesico durante gli interventi chirurgici.

Anche altre civiltà tuttavia hanno rilasciato testimonianze sull'uso di questa pianta, come ad esempio gli egizi, gli assiri e gli indiani. Gli assiri, che chiamavano la cannabis “*Gan zi gun nu*” la cui traduzione è “droga che porta altrove la mente”, hanno lasciato molte tavole dove riportano prescrizioni e rimedi medici basati sull'uso di piante locali. Altrettanto fecero gli egizi, dove in papiri documentavano l'uso della cannabis sulle partorienti o durante la nascita dei bambini. I più famosi consumatori di cannabis dell'antichità furono tuttavia gli Hindu di India e Nepal e gli Hashashin, presenti in Siria, dai quali prese il nome l'Hashish. *Ganja* è il termine in antica lingua sanscrita con cui si indicava la Cannabis che rappresentava per gli Hindù un elemento indispensabile per la meditazione e la preghiera.

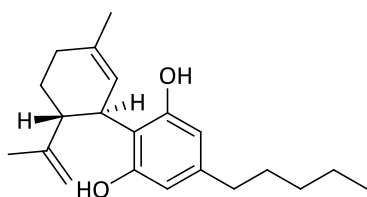
Il più importante testo risale, però al primo secolo A.C. e appartiene alla civiltà dei greci e dei romani. Infatti, un medico greco descrisse nel *Pedanius Dioscorides* circa 600 piante medicinali del medio-oriente fra le quali la cannabis che era segnalata avere proprietà



antiinfiammatorie e antidolorifiche. Il *Dioscorides herbal* rappresentò per circa 18 secoli il testo di riferimento per le successive civiltà.

Più recenti pubblicazioni si hanno solo a cavallo tra il 1600 e la fine del 1700 nelle quali si attribuivano alla cannabis nuovi ed importati effetti farmacologici. Infatti, nel 1621 Robert Burton, un ecclesiale, suggeriva nel libro *“The Anatomy of Melancony”* l’uso della cannabis nel trattamento della depressione. A seguito di ciò nel 1764, con il *“The New English Dispensatory”*, e nel 1794 con il *“The Edinburgh New Dispensatory”* veniva raccomandato l’uso della canapa nelle infiammazioni locali della pelle, nella tosse, nelle malattie veneree e nell’incontinenza. Nonostante furono scritti più di 100 articoli in merito all’uso pratico di questa pianta, in Europa essa non fu approfonditamente studiata per l’uso medico.

L’interesse di Sir William B. O’Shaughnessy¹, un medico irlandese che lavorava presso la facoltà di medicina di Calcutta agli inizi del XIX secolo, per la cannabis indusse il mondo scientifico occidentale a tenerla in grande considerazione. O’Shaughnessy iniziò a usare una tintura di canapa in pazienti con sintomatologie da tetano, rabbia, reumatismi ed epilessia a seguito delle sue osservazioni su animali portate avanti nel periodo di permanenza in India.



1
Cannabidiolo CBD

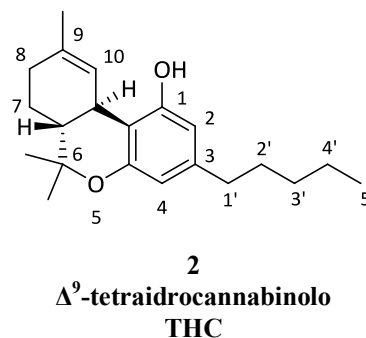
O’Shaughnessy rappresentò quindi il pioniere dei primi studi sulla cannabis, sui cannabinoidi e sul sistema endocannabinoide.

In primo luogo ciò che risultò fondamentale era dimostrare quale molecola contenuta nella pianta possedesse le proprietà farmacologiche descritte. Due dei primi lavori in merito furono quelli di Thomas Wood e collaboratori che per primi isolarono il cannabidiolo (CBD, **1**) e Robert Cahn che

delucidò svariati frammenti della struttura. Basandosi su questi lavori Alan Todd² in Inghilterra e Roger Adams³ in America completarono la sintesi e quindi la caratterizzazione chimica di questa molecola. Tuttavia questa rappresenta solo un metabolita del vero e

Pinna Giansalvo, Sintesi e attività cannabinergerica di nuove molecole a struttura 1H-4-Diidropirazolo[3,4-a]pirrolizinica, 1H-4,5-Diidropirazolo[4,3-g] indolizinica e 1H-4,5,6-Tetraidropirazolo[3,4-c]pirrolo[1,2-c]azepinica, Tesi di dottorato in Scienze e Tecnologie Chimiche, indirizzo Scienze Farmaceutiche, Università degli studi di Sassari

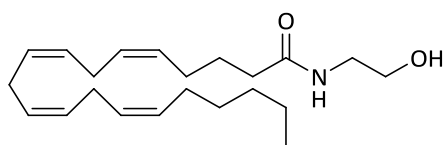
proprio farmaco che fu scoperto solo 30 anni più tardi da Mechoulam Shvo e Gaoni⁴. Essi testarono le molecole presenti nella cannabis sulle scimmie e scoprirono che il componente psico-attivo era strettamente connesso con il CBD prospettando quindi una struttura che non fosse biciclica come il metabolita, ma bensì triciclica e questo fu confermato chimicamente sempre da Todd e Adams attraverso studi di demolizione chimica e di analisi UV. Tale principio attivo fu chiamato inizialmente Δ^9 – tetraidrocannabinolo; la sua definitiva caratterizzazione, ottenuta solo 3 anni più tardi (1967), mise in evidenza la possibilità di isomeri ottici e geometrici di cui il più attivo è (-)-trans.



Grazie a tale scoperta e allo sviluppo di tecniche biomolecolari le ricerche si spostarono dallo studio della cannabis all'individuazione di un sistema complesso e sconosciuto chiamato successivamente sistema endocannabinoide

Infatti non fu difficile individuare pochi anni più tardi dalla determinazione del THC, 1988, da parte di Howlett⁵ e collaboratori il sito specifico nel cervello in cui questa molecola si legava, e successivamente da parte di Matsuda⁶ caratterizzare il primo recettore cannabinoide CB1 da una serie di recettori orfani accoppiati a G-protein clonati.

L'ipotesi di Mechoulam⁷ e Devane fu che non era possibile che il THC si legasse a un recettore privo di attività biologica endogena. Secondo loro, infatti, doveva esistere necessariamente un ligando endogeno capace di attivare e promuovere una risposta biologica del CB1. Scopo del lavoro di Devane fu proprio quello di identificare questa molecola.



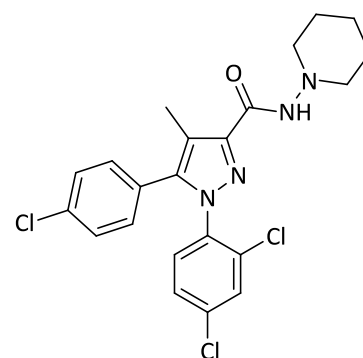
3
Anandamide

Dalla osservazione delle caratteristiche della pianta Devane assunse che i ligandi presenti nel cervello fossero di natura lipidica. L'isolamento fu un compito estremamente difficile vista l'instabilità della anandamide, che degrada facilmente perdendo qualsiasi tipo di attività. Tuttavia attraverso le poche quantità che riuscirono a isolare dalla purificazione del complesso ligando-recettore essi riuscirono ad eseguire un'analisi NMR che rivelò uno spettro somigliante a quello dell'acido arachidonico che presentava 8 protoni appartenenti a doppi legami che erano accoppiati a 10 protoni allilici. Attraverso l'uso della

spettrometria di massa e successive analisi NMR Devane e Mechoulan individuarono la presenza di un azoto compreso in uno spezzone etanol-amminico identificando conseguentemente l'arachidonil etanol amide detta anche anandamide (AEA). Tale termine deriva dalla lingua sanscrita "ananda" che vuol dire "estrema gioia" e amide per ricordare ciò che di peculiare presenta questa molecola.

Non più tardi di un anno Munro⁸ (1993) individuò un secondo recettore CB, il CB2, in linee cellulari di HL60 (*human promyelocytes leuchemic 60*) trattando queste con DMF che favorisce la loro differenziazione in granulociti. Le strutture proteiche ottenute dal trattamento con DMF furono clonate e le sequenze di alcuni recettori furono caratterizzate. Tra esse furono riconosciute sia il recettore per l'interleuchina-8 (IL-8) sia quello per l'adenosina (A₃). Un'altra sequenza invece non fu ben individuata anche se presentava un elevato grado di omologia con quella del recettore CB1 recentemente scoperto. Questa proteina chiamata CX5 presentava la capacità di interagire con l'anandamide in maniera minore rispetto ai recettori CB1 (K_i 1,6 μM contro 52 nM), Quindi, venne individuato l'RNA messaggero della proteina CX5 e la sua localizzazione prevalente a livello di organi periferici come milza timo etc. La caratterizzazione del mRNA e della struttura proteica portarono Munro e collaboratori nel 1993 a pubblicare un articolo dove indicavano la scoperta di un secondo recettore cannabinoide il CB2.

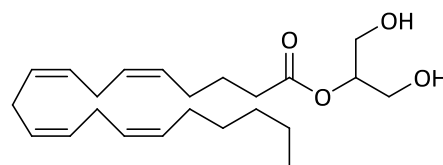
Le informazioni sempre più precise in merito a questo sistema di trasmissione convinse nel 1994 i ricercatori della Sanofi Aventis⁹ ad intraprendere un progetto di ricerca volto alla scoperta di un inibitore selettivo del recettore CB1. Questi sforzi consentirono di individuare l'SR141716A (**4**) un diarilpirazolo che successivamente autorizzarono alla commercializzazione con il nome di Rimonabant®.



4
SR141716A

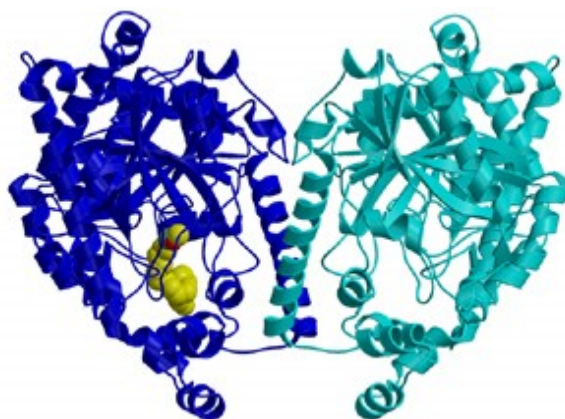
Nel 1995 un secondo messaggero cannabinoide, il 2 acilarachidonoil-glicerolo¹⁰ (2-AG), venne individuato da un equipe giapponese che non solo dimostrò la presenza di questo secondo mediatore, ma anche il fatto che esso possedesse affinità maggiore per i recettori CB1 e CB2 rispetto all'anandamide.

Il riconoscimento di questi due mediatori, a tutt'oggi i più importanti, ha spinto la ricerca verso una migliore conoscenza del sistema endocannabinoide attraverso l'individuazione di nuove proteine sia recettoriali che enzimatiche coinvolte quest'ultime nel metabolismo dei neurotrasmettitori endogeni.



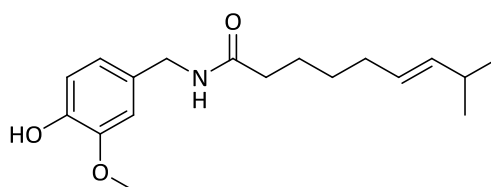
5
2-arachidonoglicerolo

A tal proposito è stata delineata non solo la via biosintetica dei cannabinoidi endogeni, ma anche la via catabolica. Nel 1996 infatti, fu per la prima volta clonata la FAAH¹¹ (*fatty acid amide hidrolase*) il principale enzima deputato al catabolismo del AEA e in maniera marginale del 2-AG che è degradato principalmente dalle MAGL (1997).



FAAH

Valutano in dettaglio il ruolo biochimico dell'anandamide Di Marzo e collaboratori¹²¹³ nel 1998 suggerirono la possibilità di un'interazione tra i ligandi endogeni ed esogeni cannabinoidi e un altro recettore, il recettore vanilloide TRPV1 (transient receptor potenzial vanilloid). Questo recettore è infatti sensibile alla capsaicina che presenta una catena alchilica lunga e con caratteristiche simili a quella dell'anandamide. Loro scoprirono infatti, che l'olvanil (agonista vanilloide) inibisce il trasporto facilitato dell'AEA dentro le cellule di alcuni basofili, che sempre la stessa molecola è un debole agonista dei CB1, ma non dei CB2 e che è in grado di promuovere l'idrolisi dell'AEA in maniera blanda da parte delle FAAH nelle cellule presentanti l'enzima. Le scoperte successive consentirono di ipotizzare un'attività sinergica dei sistemi di signaling mediati da recettori cannabinoidi e vanilloidi in alcuni eventi fisiopatologici fra cui l'iperanalgesia e la nocicezione spinale.



6
Capsaicina

L'osservazione che topi CB1 e CB2 knockout continuano a produrre effetti biologici anti-iperalgesci indotti dai cannabinoidi induce a ritenere che possa esistere un terzo recettore

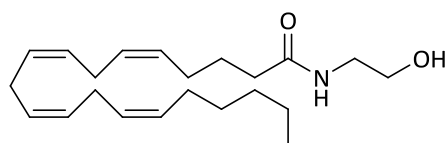
cannabinoideo. Nel 2007, infatti, Ryberg¹⁴ e altri hanno individuato un recettore orfano, il GPR55, a cui si legano con buona affinità radioligandi cannabinoidi come il [³H]-CP55940 e [³H]-SR141716A anche se con diversa selettività.

Recentemente insieme ai recettori metabotropici, è stata avanzata la possibile esistenza di una nuova famiglia di recettori cannabinoidi di tipo ionotropico¹⁵. Su questo i cannabinoidi svolgono un ruolo sia da agonista che antagonista a seconda della molecola e del dosaggio. Tali recettori canale appartenengono alla famiglia dei TRP (*transient receptor protein*) e sono sensibili all'azione dei cannabinoidi endogeni ed esogeni. La loro distribuzione è soprattutto a livello dei neuroni sensitivi nocicettivi e ciò ha fatto ipotizzare un loro coinvolgimento in un'azione periferica anti-nocicettiva e anti-iperalgica.

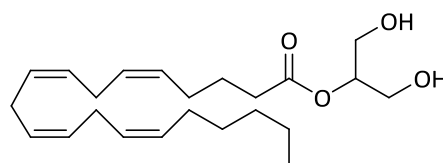
Capitolo 1

1.2 - Il Sistema Endocannabinoide (ECS)

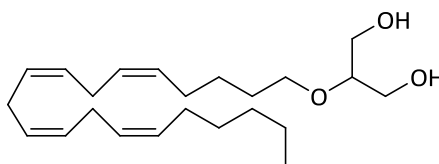
Dalle conoscenze raggiunte il sistema endocannabinoide può essere visto come una complessa rete di trasmissione lipidica ubiquitaria nell'organismo umano poiché presente sia a livello centrale che periferico. Avanzati approfondimenti hanno di recente riguardato i trasmettitori lipidici e i loro targets che vengono di seguito illustrati brevemente. A tutt'oggi cinque ligandi endogeni sono stati scoperti capaci di interagire con i recettori cannabinoidi: l'anandamide (arachidoinletanolammide, AEA, **3**), il 2-arachidonoilglicerolo (2-AG, **5**), il 2-arachidonoilglicerol etere (noladin etere, 2-AGE, **7**), la virodamina (**8**) e la *N*-arachidonoildopamina (**9**)¹⁶.



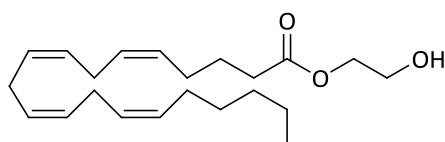
3
Anandamide



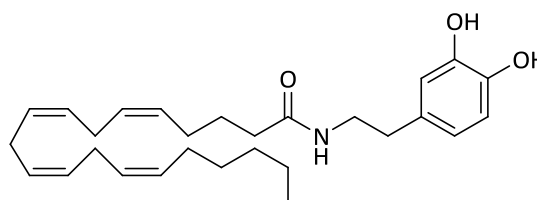
5
2-Arachidonoilglicerolo



7
Noladin etere



8
Virodamina

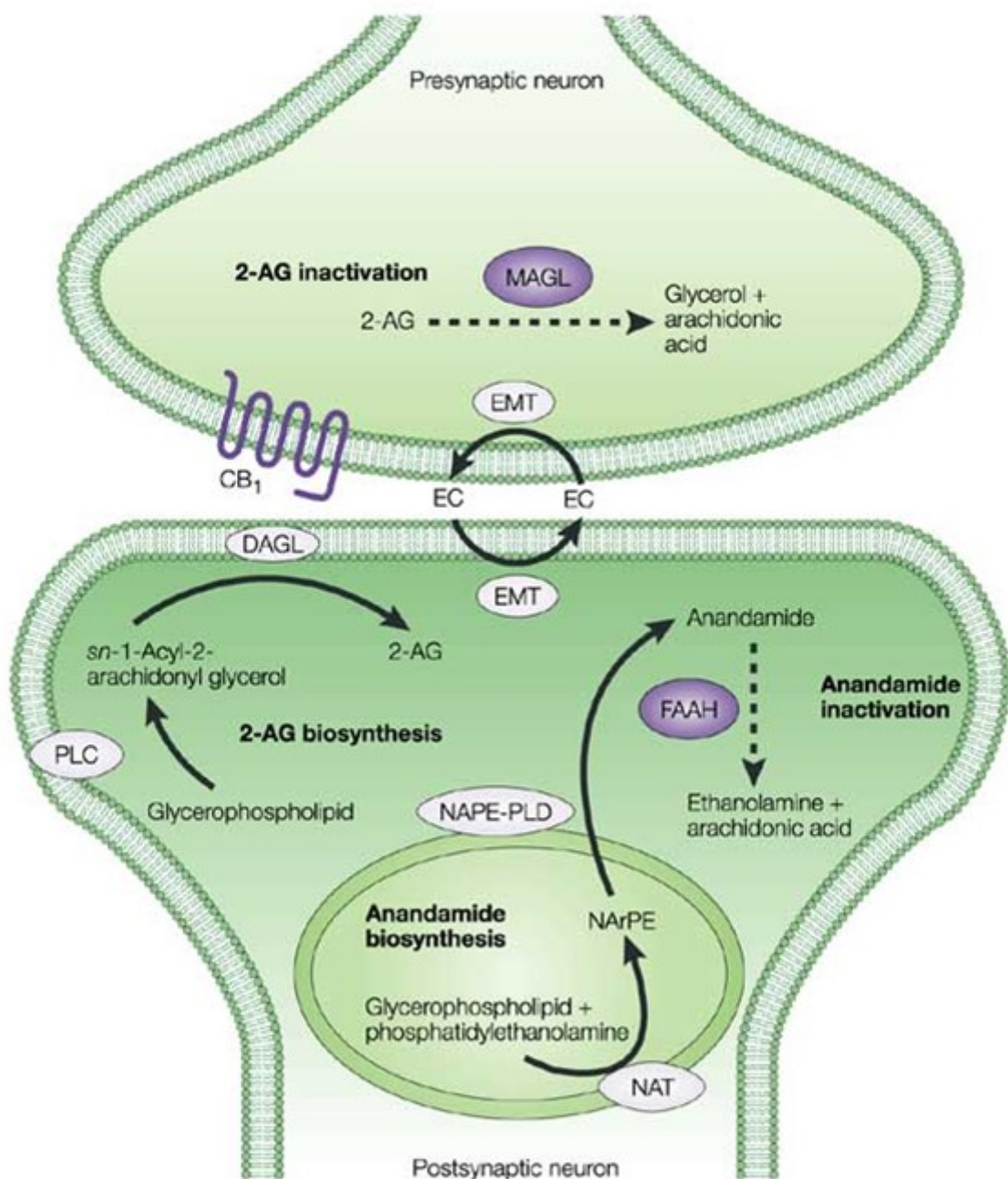


9
***N*-arachidonoildopamina**

Essi condividono uno scheletro comune, e cioè la porzione derivante dall'acido arachidonico, che è poi condensato nel processo biosintetico con un opportuno spezzone quale etanolamina, glicerolo o ancora dopamina. Le informazioni più sicure e approfondite riguardano solo i primi due mediatori che appaiono sicuramente i più importanti rispetto agli altri sia per quanto riguarda la loro abbondanza nel corpo umano sia per la capacità di legarsi con una buona affinità al recettore (AEA K_i CB1 = 32 nM, K_i CB2 = 1930; 2-AG K_i CB1 = 472 nM, K_i CB2 = 1400).

Questi due mediatori sono biosintetizzati da processi enzimatici completamente diversi che però necessitano in entrambi i casi della presenza del Ca^{2+} .

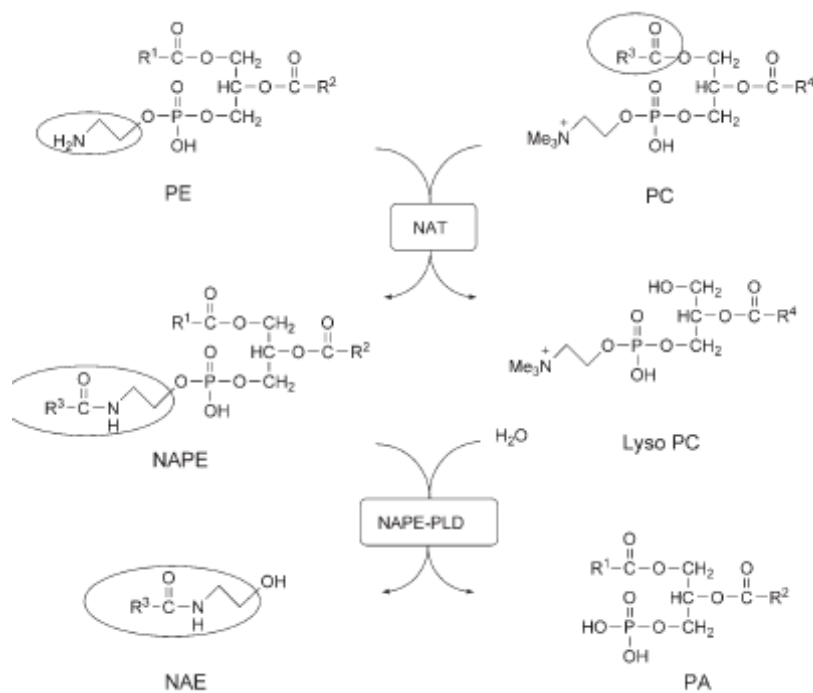
A tal proposito per l'anandamide sono state proposte due vie biogenetiche indipendenti¹⁷. La prima, prevede la formazione del mediatore a partire dall'acido arachidonico libero e l'etanolamina. Questo processo è stato confermato dal fatto che numerosi acidi grassi, tra i quali anche l'acido arachidonico, fungono da substrato per la formazione di *N*-aciletanolmine attraverso questa via. Tuttavia la reazione è aspecifica e



l'etanolanmina reagisce con i vari acidi grassi presenti a livello cellulare¹⁸.

La seconda via ha invece inizio con la formazione del *N*-arachidonoil fosfoetanolanmina (NAPE) attraverso la catalisi di una transacilasi la cui attività è dipendente dalla presenza di Ca^{2+} . La transacilasi trasferisce un'unità di acido arachidonico, della posizione 1 del glicerofosfolipide al gruppo amminico della fosfoetanolanmina¹⁹. È interessante osservare²⁰ che questa reazione è regioselettiva e coinvolge gli acili in posizione due del glicerofosfolipide. Questo limita l'efficienza nella sintesi dell'AEA, poiché è noto che l'acido arachidonico è solitamente esterificato in posizione due e solo tra lo 0,5-3,4%³ si trova esterificato in posizione uno. Ciò che appare quindi da questi dati è che la possibilità di creare NAPE attraverso questa transacilasi è limitata, tanto da mantenere bassi i livelli di anandamide nei tessuti.

Il NAPE subisce quindi l'azione idrolitica da parte di una fosfolipasi (PLD-type) che scinde il fosfolipide in glicerofosfolipide sn-1 liberando così il mediatore che potrà interagire con il proprio recettore.



La biosintesi del 2-AG è molto più complessa. Diverse vie biogenetiche sono state individuate nei vari tessuti dell'organismo tanto da far dedurre che un processo sia favorito su un altro unicamente secondo il tipo di cellula che riceve lo stimolo.

Una via produrrebbe questo mediatore da fosfolipidi inositolici (PI) attraverso due processi idrolitici differenti. Il primo vede l'azione di una fosfolipasi C (PLC) e successivamente di una diacilglicerol lipasi (DAGL)²¹. Il secondo invece, realizza la biosintesi attraverso una fosfolipasi A₁ (PLA₁) che forma un liso fosfoinositolo (lisoPI) che è successivamente idrolizzato da una differente fosfolipasi C. Questa fosfolipasi infatti è non da confondere con altre appartenenti alla stessa famiglia, ma è specifica solo per il lisoPI²².

In entrambi i casi è indispensabile l'azione del calcio le cui concentrazioni aumentano a seguito del rilascio dell'inositolo auto-promuovendo in questo modo la liberazione di 2-AG.

Un ulteriore processo biosintetico vuole la conversione dell'acido 2-arachidonoil-lisofosfatididico (2-arachidonoil-LPA) in 2-arachidonoiglicerolo attraverso una fosfatasi²³. Questo sarebbe confermato dal fatto che elevate quantità di acido arachidonico condensate a LPA in posizione 2 sono state riscontrate nel cervello dei ratti. Alternativamente il mediatore può essere ottenuto a partire dall'acidoarichidonico-PA (phosphatidic acid) che è prima convertito in 1-acil-2-arachidonoiglicerolo e successivamente per azione idrolitica in 2-AG.

Una volta sintetizzati questi neurotrasmettitori non sono trattiene all'interno di vescicole, ma sono in grado di liberarsi dalla membrana e andare a legarsi con i propri recettori sulla sinapsi in cui sono stati prodotti o nelle immediate vicinanze prima che perdano di attività.

Due recettori cannabinoidi principali sono stati clonati appartenenti alla classe A della famiglia dei recettori della rodopsina accoppiati a G-protein di tipo G_i e G_o. Come gli altri GPCRs (G-protein coupled receptors), la struttura dei recettori cannabinoidi è caratterizzata da 7 filamenti idrofobici amminoacidici orientati a formare α -eliche transmembranarie¹.

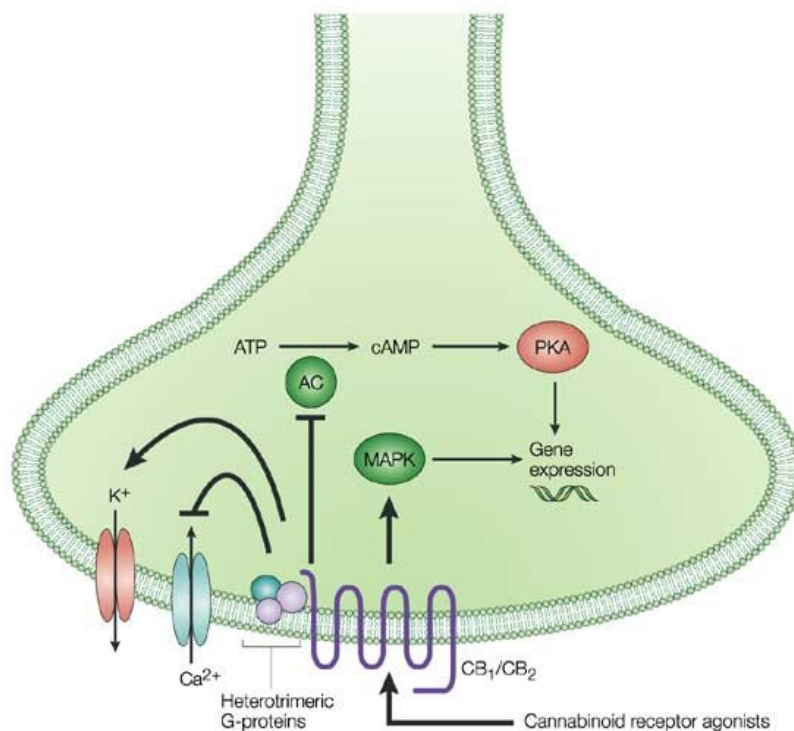
Il CB1 è espresso in maniera predominante nel cervello (sostanza nigra, globus pallidus, nucleo ectopeduncolare, caudato, putamen laterale ed ippocampo), nel cervelletto, nel midollo spinale e con bassa densità in organi periferici quali il sistema riproduttivo, e il tratto gastro-enterico e il fegato. I CB2 invece sono stati localizzati nelle tonsille, nella milza, negli organi linfoidei con grande abbondanza nei linfociti B e T, nelle cellule del sangue, in

cellule natural killer (NK), dove sarebbero coinvolti nel processo di differenziazione, e in maniera marginale nel SNC (microglia astrociti ed altri tipi di neuroni) soprattutto durante una condizione patologica²⁴. Struttura del recettore sono omologhe per circa il 44% della sequenza aminoacidica negli esseri umani, mentre il grado omologia aumenta quando si considerano le anse intra ed extracellulari dove la percentuale è molto alta, dal 35% all'82 %²⁵. Queste differenze sarebbero da attribuire a una conservazione nella specie del recettore CB1 a dispetto del CB2 che presenta maggiori varianti.

Nei confronti di questi recettori i ligandi classici presentano affinità differenti. Infatti, l'AEA (**1**) e il 2-AGE (**2**) sono molto più selettivi per i CB1, la virodamina attiva preferenzialmente i recettori CB2 mentre 2-AG è ugualmente potente ed efficace su entrambi i siti.

I recettori condividono una trasduzione del segnale complessa caratterizzata da più target coinvolti: adenilato ciclasi, canali del Ca²⁺, canali del K⁺, kinasi e ceramide.

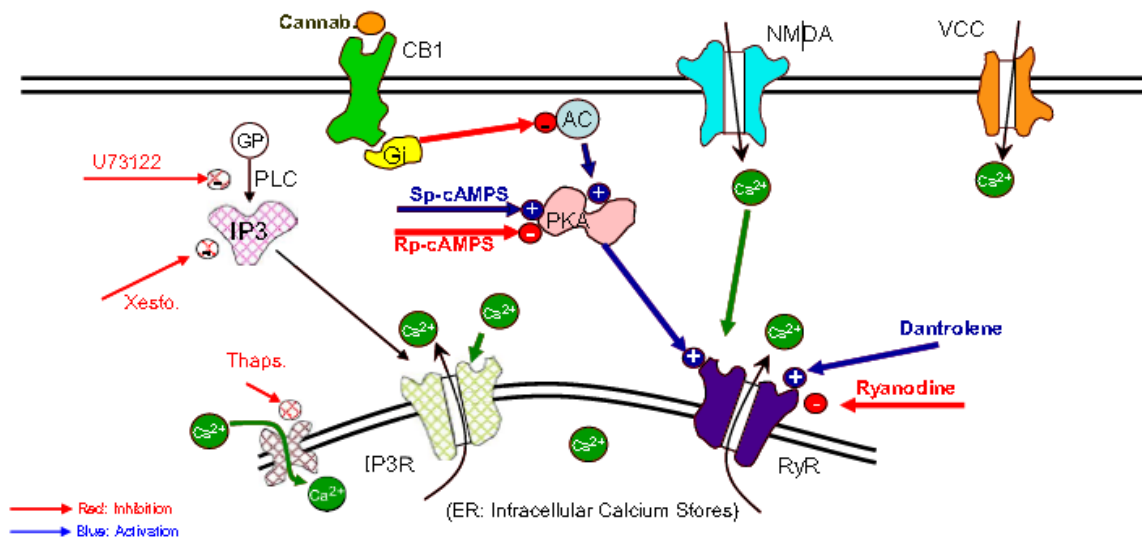
A seguito dell'attivazione cellulare la risposta più immediata è la modulazione, positiva o negativa, dell'attività dell'adenilato ciclasi e di conseguenza della produzione di AMPc. Questo processo è rapido e reversibile e avviene già a basse concentrazioni di cannabinoidi. La diminuzione dei livelli di AMPc, promossa dal legame con le G_i (G-protein inibitorie), riduce l'attivazione delle PKA (cAMP-dependent protein kinase A) che richiede questo secondo messaggero per dissociare subunità inibitorie a essa legate²⁶. La modulazione positiva, che determina l'incremento dei livelli di AMPc, avverrebbe molto più sporadicamente poiché è legata all'interazione eterodimerica tra il recettore CB1 e il recettore dopaminico D2²⁷. Infatti, a seguito della loro simultanea attivazione questo eterodimero mostra per entrambi i GPCR uno "switch" nell'accoppiamento con l'adenilato ciclasi. Essi, infatti, si legherebbero con G_{αs} (G-protein stimolanti) determinando l'aumento dei livelli di cAMP, una attivazione delle PKA e delle CREB (cAMP-response element binding) che mediano la trascrizione²⁸.



Nature Reviews | Drug Discovery

Una seconda risposta biologica indotta dai cannabinoidi è la regolazione dell'influsso di Ca²⁺ all'interno della cellula attraverso metodi diretti o indiretti. Quello diretto prevederebbe il blocco immediato dei canali di membrana N, P/Q e L voltaggio dipendenti a seguito del legame dell'endocannabinoide con il recettore. Quello indiretto invece è un meccanismo duale contrastante per messaggio trasdotto, di cui il primo è veloce, mentre il secondo è a lungo termine. Il rapido sarebbe dato dalle subunità βγ della proteina G che stimolano l'attività della PLCβ e di conseguenza della via dell'inositolo trifosfato (IP₃) che porta al rilascio di calcio dal pool intracellulare. Quello a lungo termine invece deriva dall'inibizione del cAMP e di conseguenza della fosforilazione da parte di PKA del recettore della rianodina (RyR)²⁹ che blocca il rilascio di calcio dalle riserve citosoliche.

La distribuzione dei recettori cannabinoidi nella terminazione presinaptica e l'individuazione in quella postsinaptica dei precursori degli endocannabinoidi e degli enzimi coinvolti nel loro metabolismo, suggeriscono che gli endocannabinoidi possono avere un segnale di trasmissione retrogrado³⁰ (dalla postsinapsi alla presinapsi). Questo sembrerebbe essere il motivo per il quale queste molecole sarebbero in grado di alterare con il loro meccanismo legato al Ca²⁺ la plasticità neuronale promuovendo o inibendo il rilascio di

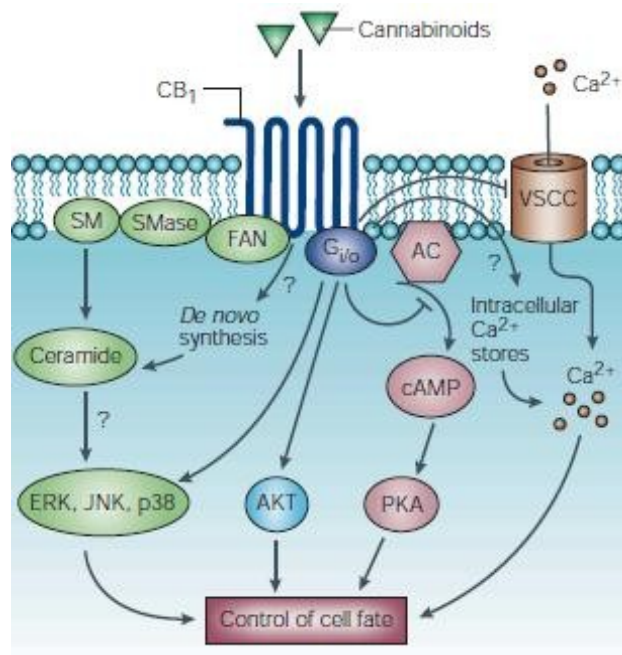


neurotrasmettitori. Infatti, recettori CB1 sono stati ritrovati in terminazioni presinaptiche secernenti acetilcolina, GABA, glutammato o norepinefrina. Tutto questo fa parte di un complesso sistema chiamato di depolarizzazione inducente la soppressione dell'inibizione (DSI) o eccitazione (DSE) riscontrato per la prima volta per il sistema cannabinoide a livello ippocampale e cerebellare³¹.

Come dimostrato per il calcio, i cannabinoidi possono modificare la funzionalità dei canali del potassio. In questo caso l'influsso all'interno della presinapsi renderebbe la cellula iperpolarizzata impedendo il rilascio di neuromediatrici³². L'attività dei cannabinoidi è stata dimostrata manifestarsi sul K⁺ principalmente attraverso due canali, K_{ir} (inwardly rectifying o GIRK) e K_A. Se il primo è attivato direttamente dal legame cannabinoide recettore, il secondo invece è attivato dalla riduzione dei livelli di AMPc³³

Il recettore CB1 si può accoppiare inoltre ad enzimi capaci di idrolizzare la sfingomielina, un componente ubiquitario della membrana presente sul lato esterno negli astrociti e glioma, ma non nei neuroni primari³⁴. L'idrolisi della sfingomielina rilascia fosfocolina e ceramide che fungono da secondi messaggeri. La ceramide, infatti, attiva la Raf-1 che promuove la via delle ERK 1/2³⁵ e di conseguenza tutta la cascata delle chinasi e di fattori promotori la differenziazione e la crescita cellulare come ad esempio JNK, p38 e MAPK.

Il segnale cannabinoide è terminato a seguito del trasporto e del catabolismo dei mediatori.

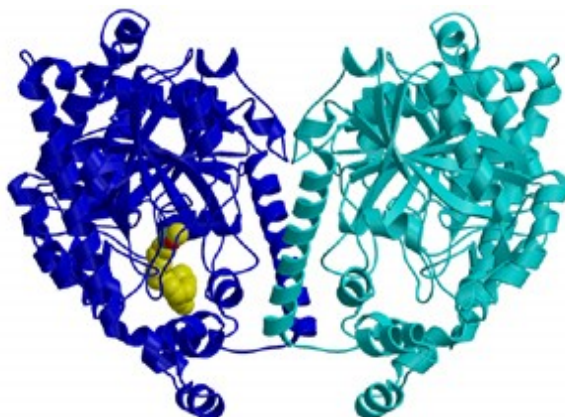


Il trasporto dell'AEA e del 2-AG avviene attraverso un unico trasportatore, cioè quello dell'anandamide membrane transporter (AMT) e non esistono evidenze, per ora, di una diffusione facilitata dei due mediatori attraverso le membrane. Secondo quanto documentato infatti, tra le due molecole esisterebbe una competizione. Questo rappresenta una particolarità poichè la differente localizzazione degli enzimi catabolici (vedi a seguito) uno nella postsinapsi (AEA) e l'altro nella presinapsi (2-AG) porterebbe a ritenere l'esistenza di due trasportatori distinti³⁶.

A differenza del trasporto il processo catabolico per l'AEA e per il 2-AG, come anticipato precedentemente, è distinto poiché coinvolge due idrolasi differenti: la FAAH (*fatty acid amide hydrolase*) per l'anandamide, la MAGL (*monoacylglycerol lipase*) per il 2-arachidonoilglicerolo.

La FAAH è un enzima presente nella postsinapsi e scinde l'AEA in acido arachidonico e etanolamina e solo in certe condizioni il 2-AG. Questo enzima appartiene alla famiglia delle serin-idrolasi e consiste di una sequenza di 579 aminoacidi di cui la Ser-241 è il sito nucleofilo catalitico³⁷. Peculiarità di questa idrolasi è che non solo metabolizza l'AEA, ma attraverso un'azione inversa può promuovere la sintesi della stessa sebbene grande quantità dei due precursori siano richiesti per orientare la reazione in tal senso³⁸. Assieme alle FAAH anche un'altra amidoidrolasi recentemente è stata riscontrata avere la capacità di scindere l'AEA.

Essa se pur rappresenta un enzima secondario è una vera e propria alternativa alle FAAH poiché lavora a pH acido a differenza della serin-idrolasi che predilige l'ambiente alcalino³⁹.



La MAGL è un enzima invece presinaptico è idrolizza preferenzialmente il 2-AG in acido arachidonico e glicerolo. Anch'esso appartiene alla famiglia delle serin-idrolasi ed è espressa in aree anatomiche dove il recettore CB1 è abbondante⁴⁰.

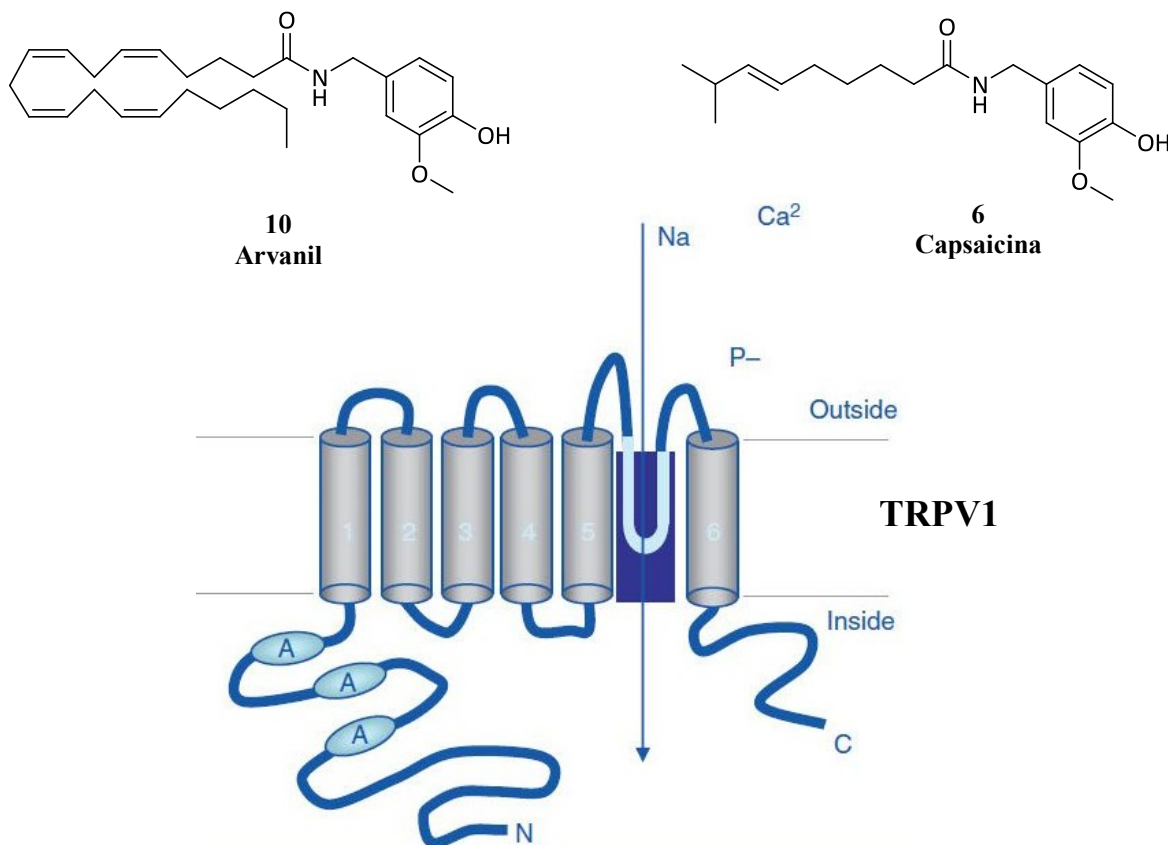
Accanto a questa prima via metabolica un'altra catabolica è stata osservata rappresentare una valida alternativa. Attraverso essa il 2-AG può essere trasformato in 2-arachidonoil LPA per l'azione di una chinasi. Questa via è importante per il riciclo del 2-AG per formare glicerofosfolipidi come i fosfoinositoli. Infatti, è stato dimostrato che il 2-arachidonoil LPA può essere metabolizzato in 1-stearoil-2-arachidonoil PA così che in questa forma possa entrare nel circolo biosintetico degli inositoli²⁵.

Infine un processo metabolico da entrambi i mediatori espresso, è quello ossidativo. Sia l'AEA che il 2-AG, infatti, possono essere trasformati dalle COX-2 in prostaglandine per la presenza dello spezzone arachidonico⁴¹.

Recenti scoperte hanno rivelato che i recettori CB1 e CB2 non rappresentano gli unici target macromolecolari interagenti con i cannabinoidi. A tal proposito è stato dimostrato che l'AEA è in grado di interagire con un recettore orfano, il GPR55, con il recettore vanilloide TRPV1 e con recettori ionotropici a livello periferico (ICRs ionotropic cannabinoid receptor).

Il recettore TRPV1 è un recettore canale non catione selettivo caratterizzato da sei domini transmembranari⁴². Esso è l'unico recettore appartenente alla famiglia TRP (*transient receptor protein*) in grado di interagire con la capsaicina. La sua localizzazione a livello delle fibre sensitive C conferisce a questo recettore un'estrema importanza per quanto riguarda la nocicezione.

Una vaga analogia strutturale tra l'anandamide e la capsaicina ha suggerito la possibilità, che le due molecole possano avere un target in comune. Infatti, l'arvanil (**10**), un ibrido AEA/capsaicina, si è dimostrato avere un agonismo parziale nei confronti del CB1 e pieno per il TRPV1, insieme alla capacità di bloccare l'AMT (anandamide membrane transporter)⁴³.



L'attività dell'AEA sui recettori VR1 è stata ulteriormente confermata attraverso studi di ricombinazione genica del recettore. Questi studi hanno confermato l'interazione dell'AEA con il recettore vanilloide e le condizioni cellulari che possono influenzare quest'attività. I dati suggeriscono che l'interazione AEA/VR1 sia a livello citosolico. Questo spiegherebbe il motivo per il quale un'inibizione dell'AMT e delle FAAH⁴⁴ giocherebbe un ruolo chiave nella modulazione di una risposta antinocicettiva. L'attività dell'AEA sul VR1 ricombinato sarebbe inoltre incrementata anche quando le protein chinasi A e C sono stimulate. Infatti, PKC promuove l'internalizzazione del mediatore mentre PKA ne incrementa la biosintesi. Fattori minori invece possono essere temperature, pH e la presenza a livello cellulare di molecole come la palmitoiletanolamina.

La possibilità d'interazione con il sistema vanilloide non si limita solo all'azione diretta che l'anandamide avrebbe sul recettore TRPV1, ma anche su un meccanismo indiretto che ha permesso di individuare recentemente i recettori ionotropici cannabinoidei (ICRs). Sappiamo che gli ICRs appartengono alla famiglia dei recettori transienti al ponteziale (TRP) e che a seguito di attivazione possono portare a desensitizzazione di altri recettori ionici appartenenti alla propria famiglia come il TRPV1 visto in precedenza. I cannabinoidi verso questi recettori ionotropici presentano solo un agonismo parziale⁴⁵, ma è proprio questo che li caratterizza biologicamente. Infatti, ciò permette che la corrente in entrata di Ca^{2+} sia modesta tanto da non generare un'eccitazione neuronale, ma portare a una parziale depolarizzazione che inibisce l'apertura dei canali voltaggio dipendenti, impedendo che questi possano generare il potenziale d'azione^{46 47 48}. Questo è spiegato dal fatto che un aumento delle concentrazioni di Ca^{2+} può promuovere numerose risposte cellulari come le fosfatasi, tra le quali la fosfatasi 2B. Questa fosfatasi è in grado di defosforilare i canali ionici, TRPV1 e TRPA1, desensitizzandoli e limitandone così la loro apertura^{49 50}.

Capitolo 1

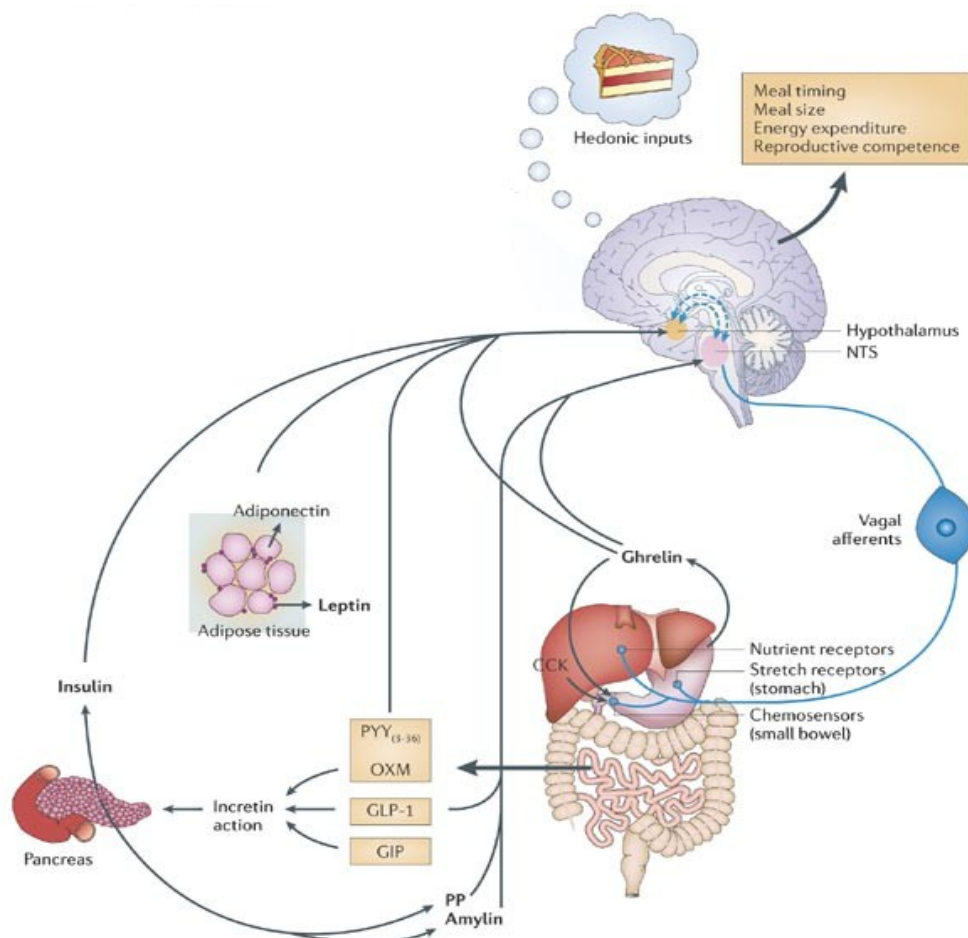
1.3 – Implicazioni fisiopatologiche del ECS

Dalla comprensione degli aspetti biologici che caratterizzano il sistema endocannabinoide è stato possibile dedurre in che modo esso intervenga in diverse patologie.

A tal proposito la correlazione tra cannabinoidi e le più importanti patologie è sotto riportata.

È noto sin dall'antichità che l'uso della cannabis incrementa l'appetito. Ciò è stato confermato anche da numerosi studi in seguito all'individuazione del THC. Questi studi documentano la capacità dello stesso di promuovere l'assunzione di cibo anche a basse dosi⁵¹. La scoperta di questa proprietà ha posto l'interrogativo circa il potenziale coinvolgimento dei cannabinoidi nel controllo dell'appetito e del metabolismo energetico. La risposta a questa domanda ha trovato numerose conferme attraverso l'attività diretta o indiretta di questa trasmissione.

In maniera diretta infatti l'anandamide, nell'area ventro-mediale ipotalamica, e il 2-

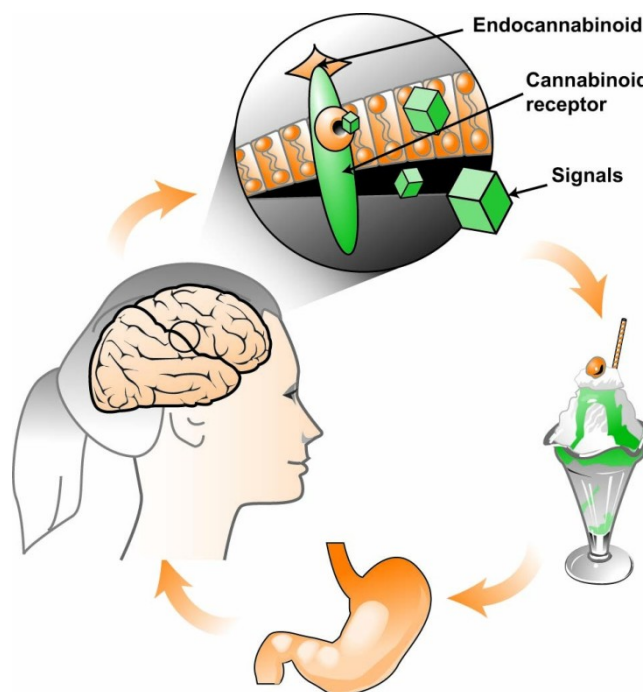


AG, nella shell del nucleus accumbens, determinano in seguito ad attivazione dei recettori CB1 un aumento dell'assunzione di cibo⁵².

La stessa risposta cannabinoidea è stata riscontrata anche dopo attivazione indiretta dei centri ipotalamici da parte di terminazioni nervose periferiche afferenti, tra le quali sono molto comuni quelle gastriche⁵³.

La modulazione del sistema endocannabinoide sull'assunzione di cibo sarebbe influenzata anche dalla leptina, un ormone proteico prodotto nel tessuto adiposo importante nella regolazione dell'assunzione di cibo e del metabolismo energetico⁵⁴. La leptina nel nucleo paraventricolare ipotalamico è in grado di accrescere, mediante la fosfofiterasi 3B, i livelli di AEA e 2-AG, ma anche la DSI data dal cAMP⁵⁵. Questo meccanismo rafforza l'effetto oressigenico dei cannabinoidi, incrementando in questo modo, attraverso la via ipotalamo/area ventro-tegmentale, l'effetto gratificante di rinforzo e la ricerca di cibo⁵⁶.

In conformità a tali informazioni è presumibile l'uso degli antagonisti CB1 per il trattamento dell'obesità. Infatti, questi farmaci bloccano il processo lipogenetico promosso dal sistema endocannabinoide, che appare sovra-espresso a livello epatico e nel tessuto adiposo nei soggetti obesi, e riduce l'effetto di rinforzo sui centri mesencefalici attenuando il desiderio di cibo.



Il trattamento con antagonisti CB1 ha dimostrato che non solo questi farmaci riducono il peso corporeo, ma abbassano la concentrazione triglicerica nel sangue, aumentano la concentrazione di HDL a dispetto delle LDL, diminuiscono la tolleranza al glucosio riducendo l'incidenza della sindrome metabolica⁵⁷.

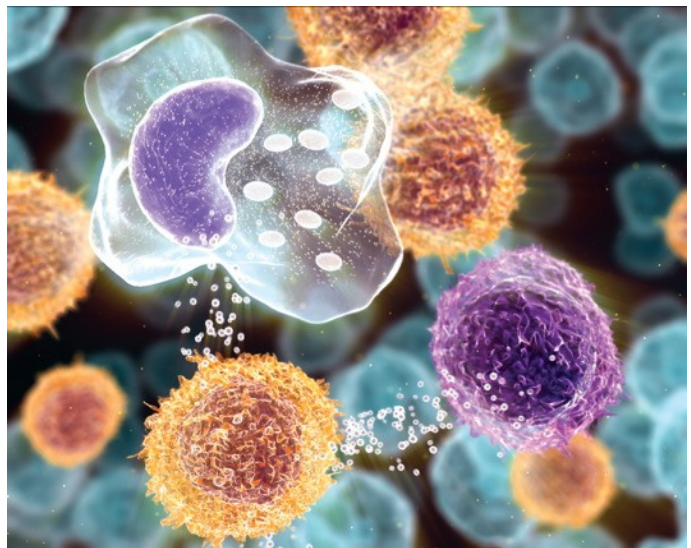
Uno dei primi usi della cannabis è stato come antidolorifico. La conferma degli studi successivi ha indicato il THC e i cannabinoidi mimetici come molecole da considerare nel caso del dolore acuto, cronico⁵⁸ e neuropatico⁵⁹. Questo processo antinocicettivo è esplicito

in diversi modi agendo sul sistema nervoso centrale⁶⁰, sul midollo⁶¹ e sulle terminazioni nervose periferiche⁶².

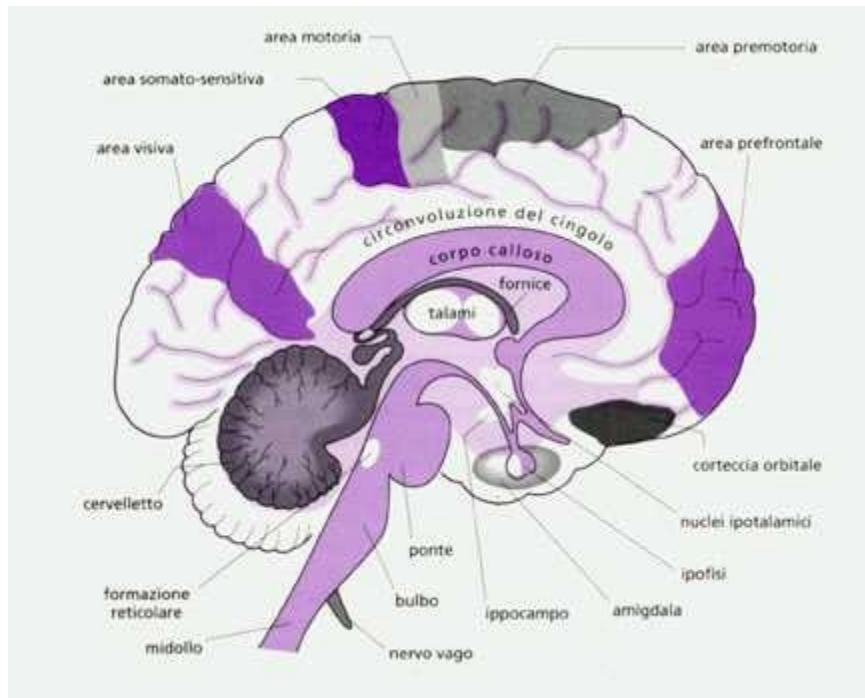
Il meccanismo biologico che regola questa importante azione farmacologica è prodotto dal sinergismo di azione tra il sistema endocannabinoide e i sistemi coinvolti nella percezione del dolore. I cannabinoidi promuovono il rilascio di oppioidi nell'area grigio periacqueduttale⁶³ bloccando l'ascesa dello stimolo alla corteccia. Più recenti scoperte hanno inoltre evidenziato l'esistenza nuovi targets come i recettori cannabinoidei ionotropici ICRs e i recettori vanilloidi TRPV1¹³ attivati dall'anandamide e capaci di bloccare la conduzione dello stimolo nocicettivo già nelle fibre nervose afferenti al sistema nervoso centrale.

Queste informazioni chiariscono come incrementati livelli di anandamide siano richiesti per l'attività antinocicettiva. A tal proposito gli agonisti cannabinoidei e i bloccanti delle FAAH e dei trasportatori di membrana destano estremo interesse per il trattamento del dolore^{11, 64}.

L'effetto antinfiammatorio dei cannabinoidi è dovuto principalmente al recettore CB2 poiché è localizzato prevalentemente nelle cellule del sangue mediante la risposta immunitaria. Attraverso questo recettore il sistema cannabinoide promuove il rilascio di fattori pro-infiammatori come

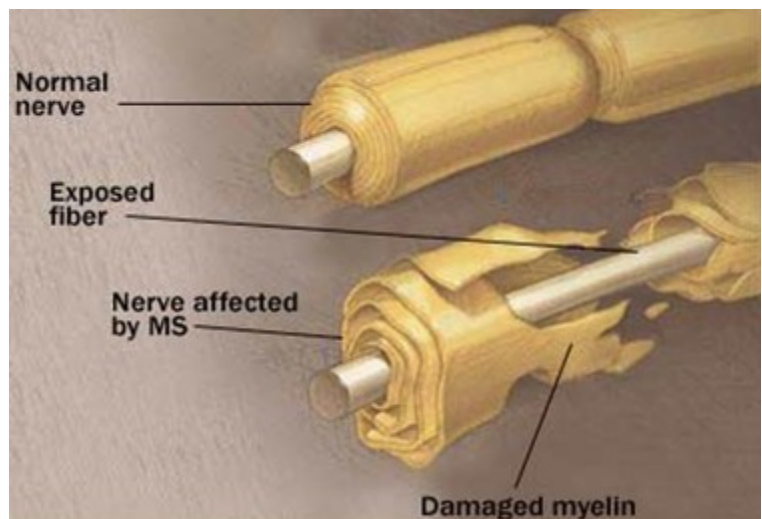


interleuchine (IL-1/12/6/10), chemochine, TNF α la migrazione e proliferazione cellulare nonché la morte cellulare programmata (apoptosi)⁶⁵.



Sono numerose le patologie a carico del SNC in cui interviene il sistema endocannabinoide. Molte di esse sono di tipo degenerativo e compromettono la funzionalità neuronale e le trasmissioni nervose.

La sclerosi multipla è una patologia infiammatoria della sostanza bianca immuno-mediata. Essa compromette la conduzione dell'impulso nervoso attraverso una demielinizzazione dei neuroni⁶⁶. È caratterizzata da tremori, atassia, debolezza e perdita progressiva delle funzioni



motorie e psichiche. La diminuzione del tono cannabinoide nel corpo striato e nella corteccia cerebrale ha dimostrato di attivare fattori pro-degenerativi come alcune caspasi, fra le quali la caspasi 3⁶⁷, in grado di apportare danni neuronali. Il trattamento con cannabinoidi sintetici, come lo WIN 52,212-2, ha dimostrato la capacità da parte del sistema endocannabinoide di ridurre i fattori pro-infiammatori come le citochine⁶⁸, l'attivazione delle cellule di microglia e l'infiltrazione di cellule T e CD4+ nel midollo spinale⁶⁹.

Pinna Giansalvo, Sintesi e attività cannabinoide di nuove molecole a struttura 1H-4-Diidropirazolo[3,4-a]pirrolizina, 1H-4,5-Diidropirazolo[4,3-g] indolizina e 1H-4,5,6-Tetraidropirazolo[3,4-c]pirrolo[1,2-c]azepina, Tesi di dottorato in Scienze e Tecnologie Chimiche, indirizzo Scienze Farmaceutiche, Università degli studi di Sassari

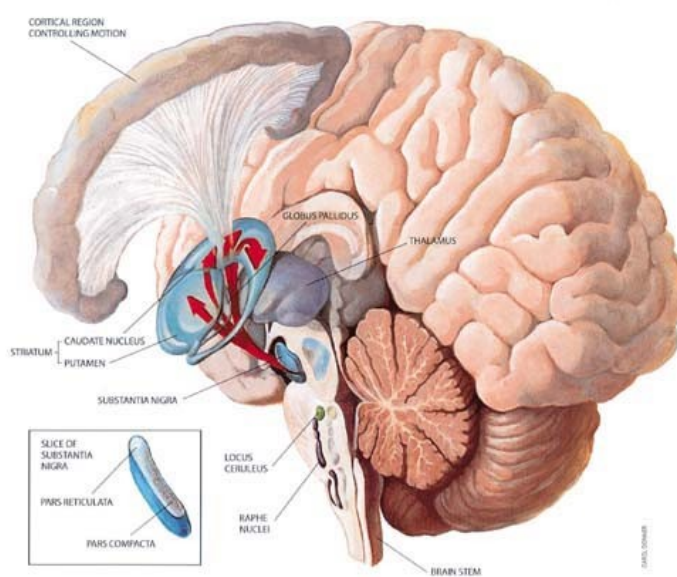
Gli endocannabinoidi sono inoltre coinvolti nella regolazione delle funzioni e dei disordini motori. Questo ruolo è confermato da una serie di evidenze quali: alterata espressione dei recettori CB1 e dei mediatori nei nuclei della base, l'effetto inibitorio della attività motoria indotta da fitocannabinoidi e i cannabinoidi di natura sintetica, l'interazione del sistema endocannabinoide con numerosi neurotrasmettitori a livello dei gangli della base.

La malattia di Parkinson è causata da una progressiva perdita dei neuroni dopaminergici nella sostanza nigra pars reticulata che riduce i livelli dopaminici nello striato interferendo con il movimento e la coordinazione. Questo genera tremori, rigidità e bradicinesia.

Nel Parkinson il sistema endocannabinoide appare iperattivo e ciò si riflette su un aumentato livello degli endocannabinoidi e dei recettori CB1 nonché su una ridotta funzionalità del trasportatore di membrana AMT e delle FAAH⁷⁰.

La somministrazione di antagonisti cannabinoidei, riduce l'inibizione presinaptica del release di GABA nella regione esterna del globus pallidus (GPe). Tale inibizione risulterebbe in un aumento del segnale GABAergico che antagonizza nella stessa area anatomica l'effetto prodotto del glutammato responsabile dell'iperattività. Tuttavia la somministrazione di antagonisti CB1 può avere anche effetti parkinsoniano-simili quando i recettori CB1 colpiti sono quelli del corpo striato e non quelli del GPe⁷¹.

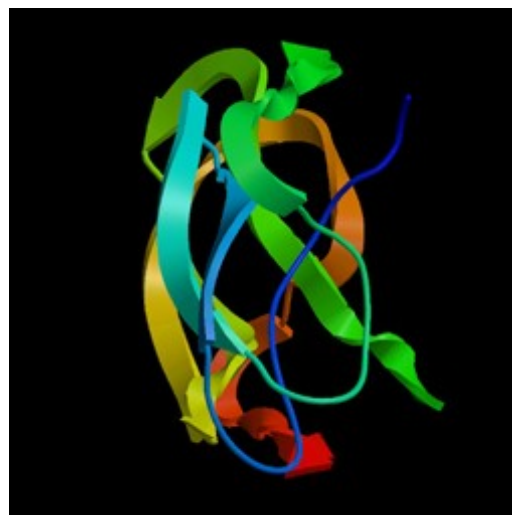
La patologia di Huntington è una progressiva degenerazione neuropsichiatrica causata da una proteina chiamata huntingtina. Questa alterazione comporta distonia, movimenti involontari e progressiva demenza. È stato dimostrato che in questa malattia, a carico dei nuclei della base, una delle prime trasmissioni a essere alterata è quella cannabinoidea⁷². Un'analisi più attenta ha evidenziato infatti, una riduzione dei recettori CB1, di 2-AG e AEA nello striato e un aumento delle concentrazioni degli stessi mediatori a



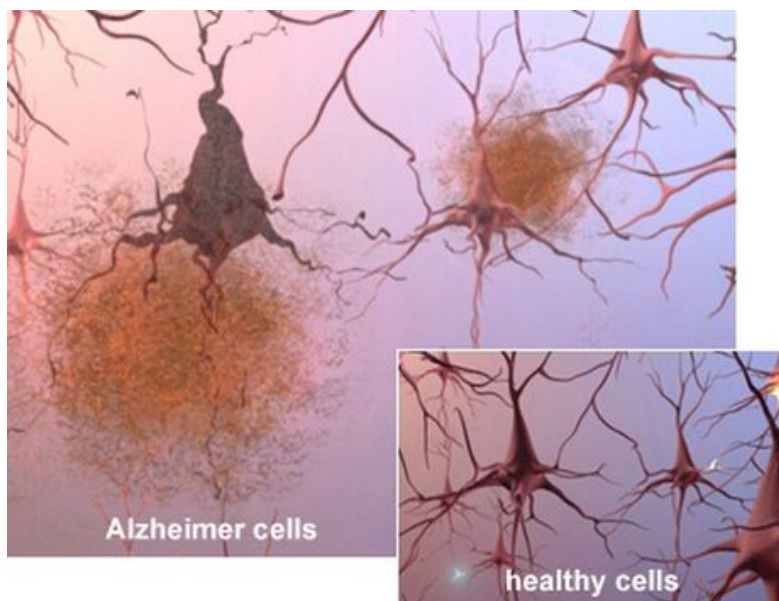
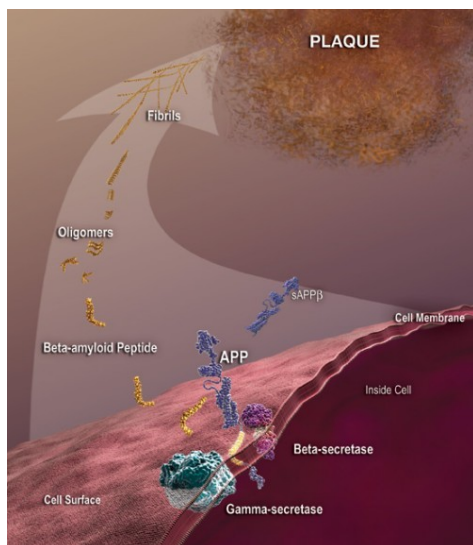
Pinna Giansalvo, Sintesi e attività cannabinoide di nuove molecole a struttura 1H-4-Diidropirazolo[3,4-a]pirrolizina, 1H-4,5-Diidropirazolo[4,3-g] indolizina e 1H-4,5,6-Tetraidropirazolo[3,4-c]pirrolo[1,2-c]azepina, Tesi di dottorato in Scienze e Tecnologie Chimiche, indirizzo Scienze Farmaceutiche, Università degli studi di Sassari

livello della sostanza nigra (responsabile dei movimenti involontari). La somministrazione di agonisti ha portato a un notevole miglioramento della sintomatologia del morbo di Huntington⁷³. Questo è attribuibile alle funzioni ipocinetiche promosse da queste molecole e anche alla loro funzione neuro-protettiva. L'effetto terapeutico dell'arvanil un ibrido AEA/capsaicina ha evidenziato come questo risultato positivo sia da attribuire all'interazione tra l'AEA e il CB1, ma anche al coinvolgimento del recettore TPRV1⁷⁴.

L'Alzheimer è una malattia principalmente dell'età senile la cui sintomatologia è la progressiva demenza e perdita della memoria. Questa patologia è caratterizzata dalla formazione di placche neuritiche costituite di un peptide, il β amiloide ($A\beta$), cui aderiscono le proteine τ iperfosforilate. Questo è accompagnato da uno stato infiammatorio che coinvolge astrociti e cellule di microglia.



In esperimenti farmacologici è stato riscontrato che le proteine accoppiate ai recettori CB1 sono marcatamente diminuite nel cervello dei soggetti affetti da questa patologia. A ciò si aggiunge un'incrementata nitrurazione dei recettori, fra i quali soprattutto quelli CB1 e CB2⁷⁵, e un'iperattività delle FAAH



Il trattamento con WIN 52,212-2, un agonista cannabinoide, ha dimostrato che un miglioramento delle condizioni si potrebbero avere per stimolazione dei recettori CB1 (effetto neuroprotettivo) e per regolazione del release dei fattori pro-infiammatori dalle cellule di microglia, mediante i CB2. Infatti, questo porterebbe alla riduzione della formazione del A β , all'incremento dei marker neuronali e al miglioramento nella perdita della memoria⁷⁶.

La schizofrenia è una patologia caratterizzata da episodi psicotici con sintomi positivi tra i quali allucinazioni, distacco e distorsione delle percezioni. Questi episodi si alternano con i sintomi negativi quali apatia, anedonia, perdita delle motivazioni e del contatto con l'esterno. La correlazione tra questa patologia e il sistema endocannabinoide si può riassumere nelle diverse osservazioni: il consumo di THC può produrre effetti psicotici sull'individuo tra i quali allucinazioni e delusioni⁷⁷, la cannabis peggiora gli episodi psicotici nei pazienti schizofrenici⁷⁸ come anche incrementa l'incidenza negli individui suscettibili alla patologia⁷⁹, aumentata densità recettoriale è stata riscontrata in pazienti postmortem in aree anatomiche coinvolte nella schizofrenia⁸⁰, i livelli di AEA sono incrementati nel fluido cerebro-spinale di pazienti schizofrenici⁸¹, il trattamento con neurolettici normalizza sia il segnale endocannabinoide sia l'attività recettoriale CB1 nel nucleus accumbens⁸², la schizofrenia efebica si è notata essere associata a un particolare polimorfismo CB1⁸³.

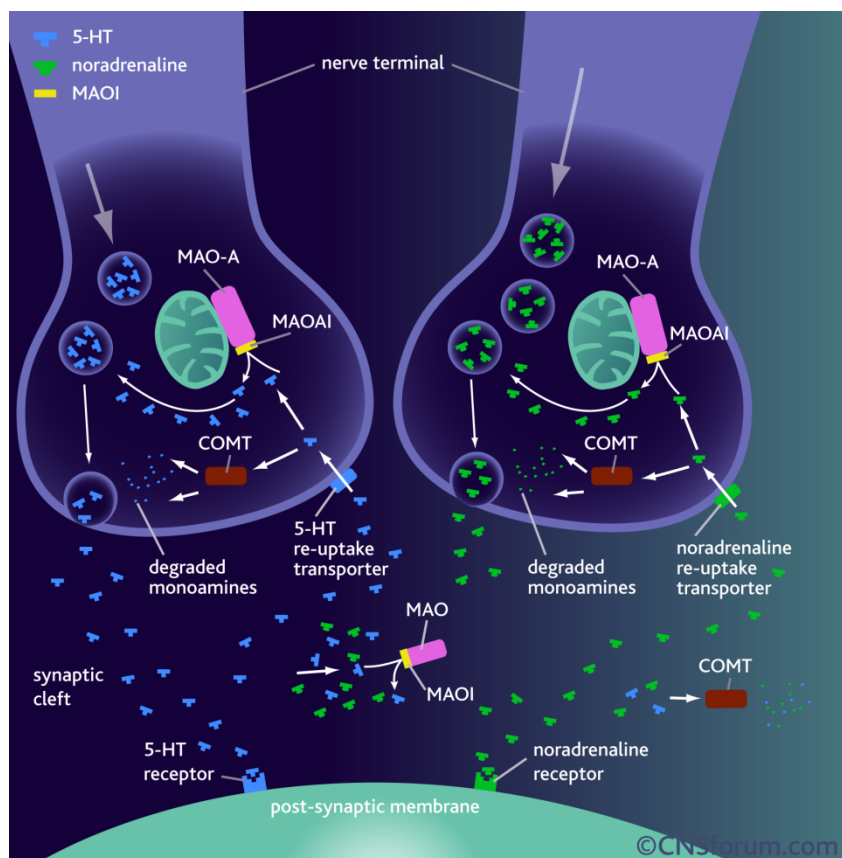
Tra i disturbi mentali l'ansia e la depressione rappresentano le patologie mentali più comuni. L'idea che il sistema endocannabinoide sia coinvolto nel comportamento emozionale, particolarmente nella depressione, è data dall'osservazione che l'uso del THC può alterare lo stato d'animo. Tuttavia gli effetti della cannabis sono bifasici poiché dipendono dalla via di somministrazione, dalla dose, da fattori esterni e dalla tolleranza⁸⁴. Questo è dimostrato da diversi dati sperimentali tra i quali il trattamento dei ratti con CP55,940. In questi test è stato riscontrato che in base all'età e alla dose il farmaco poteva avere sia un effetto ansiolitico che ansiogenico⁸⁵. I ridotti livelli di AEA e 2-AG circolanti nei pazienti depressi e l'osservazione che il Rimonabant® induce sia ansia che depressione sono stati ulteriori dati che hanno confermato l'importante ruolo svolto dai cannabinoidi nella regolazione dell'umore

Le proprietà antidepressive

cannabinoidee sono da attribuire all'incremento del release e il blocco del reuptake di trasmettitori monoaminergici come serotonina nel nucleo del Raphe e noradrenalina nel nucleus coeruleus. Non solo, gli agonisti cannabinoidei in analogia a quanto riscontrato con gli antidepressivi classici,

sono in grado di ridurre i livelli di brain-derived-neurotrophic-factor (BDNF) e di promuovere la neurogenesi a livello ippocampale.

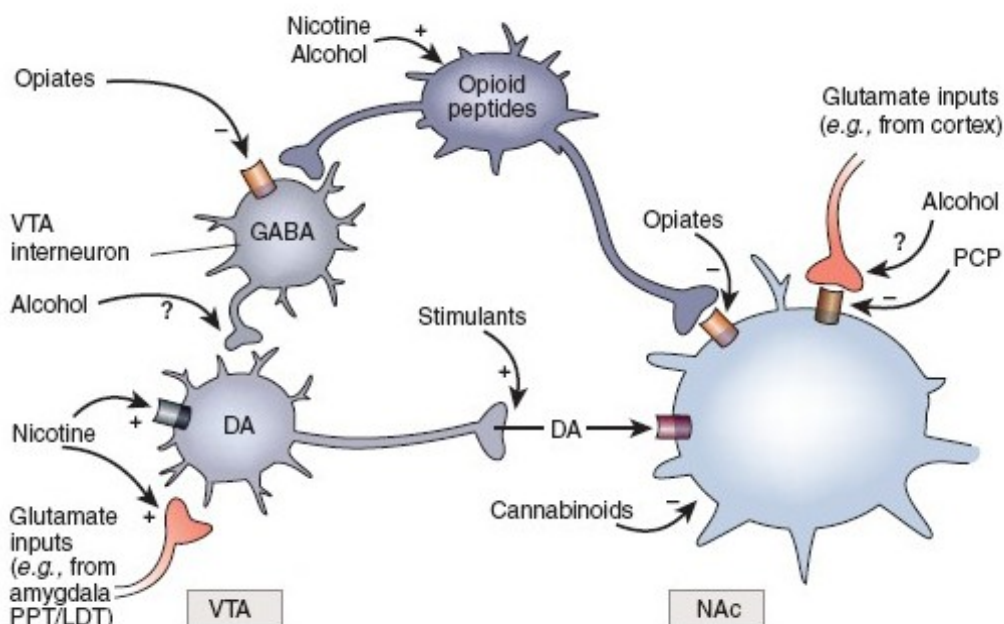
Alla luce di queste informazioni e dell'insorgenza di effetti collaterali a seguito dell'impiego dei classici antidepressivi e ansiolitici, il ruolo regolatorio svolto dal sistema endocannabinoide sta spingendo la ricerca verso molecole capaci di incrementare i livelli di AEA e 2-AG e di ridurre la funzionalità delle FAAH⁸⁶.



Pinna Giansalvo, Sintesi e attività cannabinerica di nuove molecole a struttura 1H-4-Diidropirazolo[3,4-a]pirrolizinica, 1H-4,5-Diidropirazolo[4,3-g] indolizinica e 1H-4,5,6-Tetraidropirazolo[3,4-c]pirrolo[1,2-c]azepinica, Tesi di dottorato in Scienze e Tecnologie Chimiche, indirizzo Scienze Farmaceutiche, Università degli studi di Sassari

La gratificazione prodotta dal bere, mangiare e attività sessuale è mediata da un circuito neuronale del piacere. Questo è costituito di due trasmissioni coinvolte, dopaminica e GABAergica che collegano quattro distinte aree anatomiche: limbico-ventrale prosencefalica, mesolimbica ventro-tegmentale (VTA), shell del nucleus accumbens (nAC) e nucleo ventrale del pallido. Molte delle sostanze d'abuso rinforzano questa via incrementandone la propensione alla ricerca⁸⁷.

La via principalmente colpita sembrerebbe essere VTA/nAC attraverso un maggior rilascio di dopamina. Questo è dimostrato da una serie di sostanze d'abuso come marijuana (THC) oppioidi e alcool⁸⁸. Gli oppioidi sarebbero in grado di ridurre il tono inibitorio dell'attività GABAergica sul VTA promuovendo un maggior rilascio di dopamina⁸⁹.



I cannabinoidi invece agiscono sulla trasmissione glutamatergica regolatoria, afferente sul nAC⁹⁰. Infatti, essi bloccherebbero con i recettori presinaptici il rilascio di glutammato promuovendo un maggior release di GABA dalla fibra efferente. A tal proposito l'SR141716A si è dimostrato essere capace di ridurre il rinforzo positivo indotto dalla nicotina⁹¹ nonché l'effetto ansiolitico a basse dosi.

La cocaina a differenza delle altre droghe non interviene sul VTA aumentandone la secrezione di dopamina, ma promuove lo stesso effetto bloccando il trasportatore di membrana, aumentando conseguentemente la concentrazione delle monoammine⁹².

Tuttavia l'arresto esercitato dai cannabinoidi sulla trasmissione del piacere è in grado di attenuare questo effetto di rinforzo⁹³.

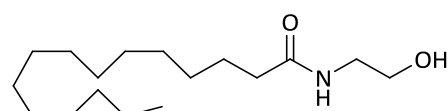
In maniera analoga il sistema endocannabinoide interviene anche sull'alcol, ma in maniera differente a seconda dell'età del soggetto. Infatti un l'SR141716A e gli inibitori delle FAAH sarebbero capaci di ridurre l'assunzione solamente in giovane età⁹⁴.

Oltre ai meglio conosciuti effetti del sistema endocannabinoide sul comportamento e problemi neuronali, i cannabinoidi endogeni e sintetici svolgono un'importante funzione sul sistema cardio-circolatorio.

L'ipertensione è stata una delle prime patologie cardio-circolatorie su cui si è investigato per il fatto che soggetti fumatori di cannabis presentano nel 22% dei casi uno stato ipoteso⁹⁵. Tuttavia il trattamento riporta delle limitazioni date da un rapido sviluppo di tolleranza agli effetti bradicinetici e ipotensivi indotti dal THC⁹⁶. L'effetto sul sistema cardio-circolatorio è confermato dall'incremento della pressione sanguigna e della contrattilità cardiaca indotta da antagonisti quale l'SR141716A⁹⁷.

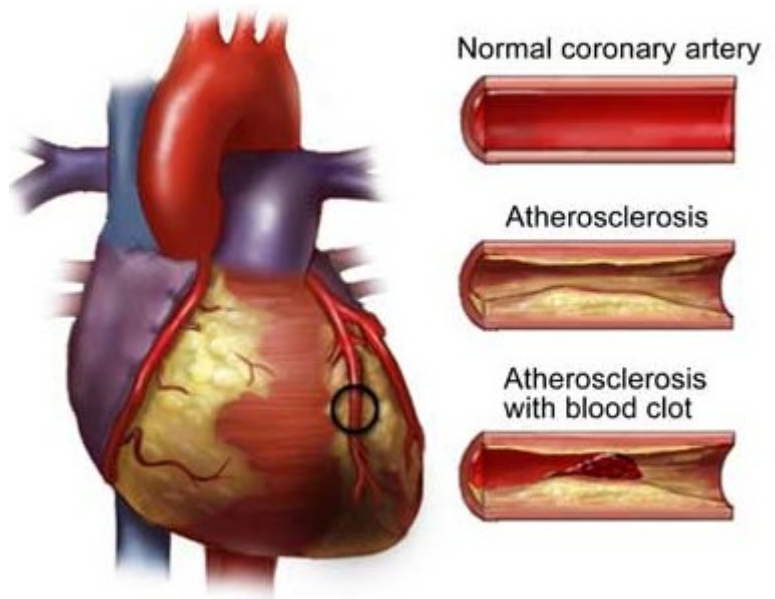
Ulteriore conferma è fornita dagli inibitori delle FAAH e del trasportatore di membrana che diminuendo il tono cannabinoide riducono la pressione sanguigna a valori basali, stabilizzando i fattori emodinamici e l'attività riflessa dei barorecettori⁴⁷. La diminuzione della pressione sanguigna sarebbe data da una riduzione iniziale della contrattilità cardiaca accompagnata da un successivo calo delle resistenze periferiche⁴⁷.

La capacità del sistema endocannabinoide di intervenire sul danno ischemico, vasale e cardiaco è riconducibile ai recettori CB2 come dimostrato dall'azione antagonista CB2 selettiva del SR144528⁹⁸. Il ruolo anti-ischemico è attribuito principalmente a due endocannabinoidi, il 2-AG e il PEA (palmitonoiletanolamina) e non all'anandamide. Essi mediano il loro effetto cardio-protettivo mediante l'attivazione del p38 per stimolare le ERK1/2 e protein chinasi C che promuovono il processo di ricrescita miocardica⁹⁹.



11
Palmitonoiletanolamina

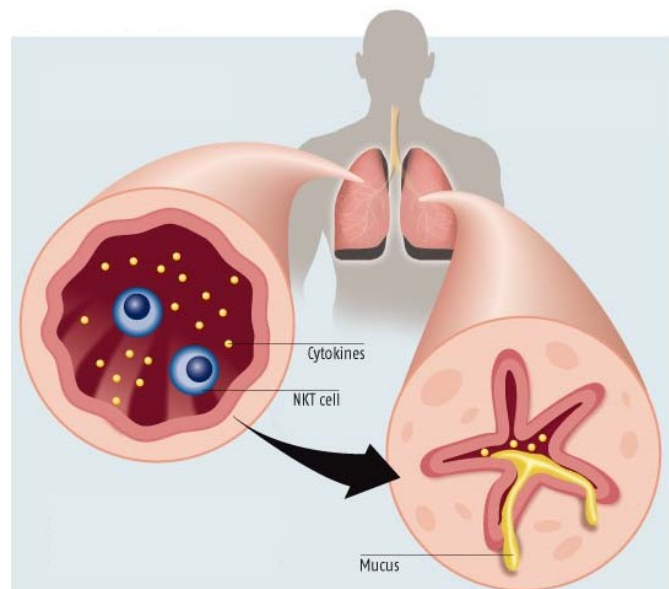
L'aterosclerosi, processo infiammatorio cronico dei vasi, coinvolgerebbe il sistema endocannabinoide. Infatti, somministrazioni orali di THC¹⁰⁰ in animali da esperimento hanno evidenziato un'alta incidenza nell'insorgenza dello stato patologico con una elevata espressione dei recettori CB2



nelle placche aterosclerotiche. L'assunzione di THC infatti indurrebbe una diminuzione dello stato infiammatorio e della liberazione di interferon- γ , insieme con una inibizione della chemiotassi dei macrofagi e della formazione delle placche⁵⁰.

Un'altra patologia cronica infiammatoria è l'asma. Fumare marijuana e masticare foglie di cannabis si è scoperto incrementare la ventilazione polmonare in maniera analoga ai classici β -adrenergici¹⁰¹. Tuttavia inalazioni continue di THC determinano bronco-costrizione probabilmente a causa di un effetto locale irritante¹⁰².

Il meccanismo alla base dell'azione broncodilatativa sembrerebbe dovuta all'attività dell'anandamide sui recettori CB1 localizzati nelle terminazioni assionali e nella muscolatura liscia dell'endotelio bronchiale. Il rilascio di anandamide infatti, bloccherebbe il release di acetilcolina dalla presinapsi riducendo la contrazione della muscolatura¹⁰³.

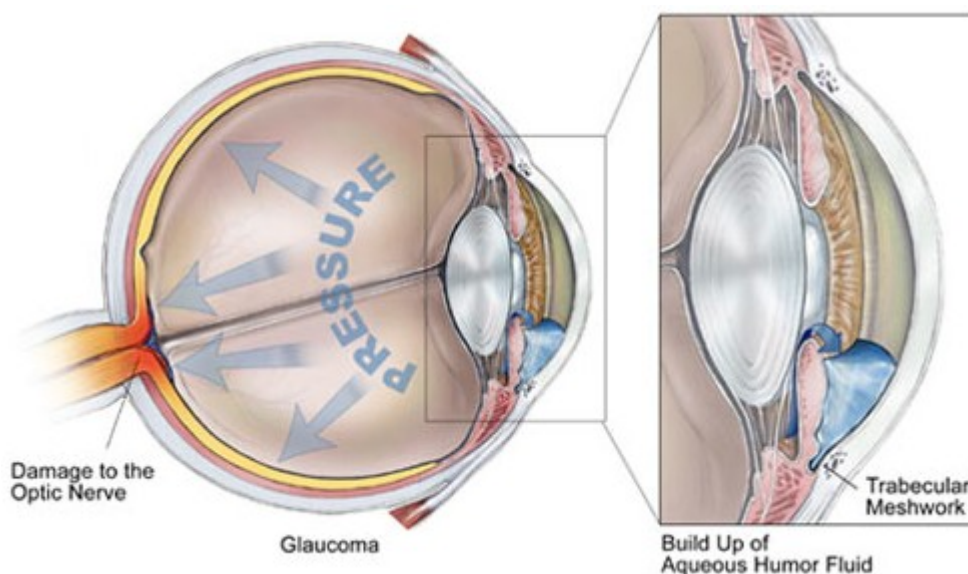


Le proprietà antiasmatiche dei cannabinoidi non sono apprezzate solo nel trattamento di patologie croniche, ma anche quando si tratta di asma di origine allergica. In

questo contesto il THC e il cannabidiolo si sono dimostrati capaci di attenuare il rilascio di IL e ridurre la produzione di muco¹⁰⁴.

Il glaucoma è una patologia dell'occhio che porta a cecità, caratterizzata da un'ipertensione intraoculare con conseguente danno nervoso. Il trattamento poco favorevole della terapia tradizionale, ha indotto la ricerca a individuare nuovi target su cui basare un nuovo intervento terapeutico.

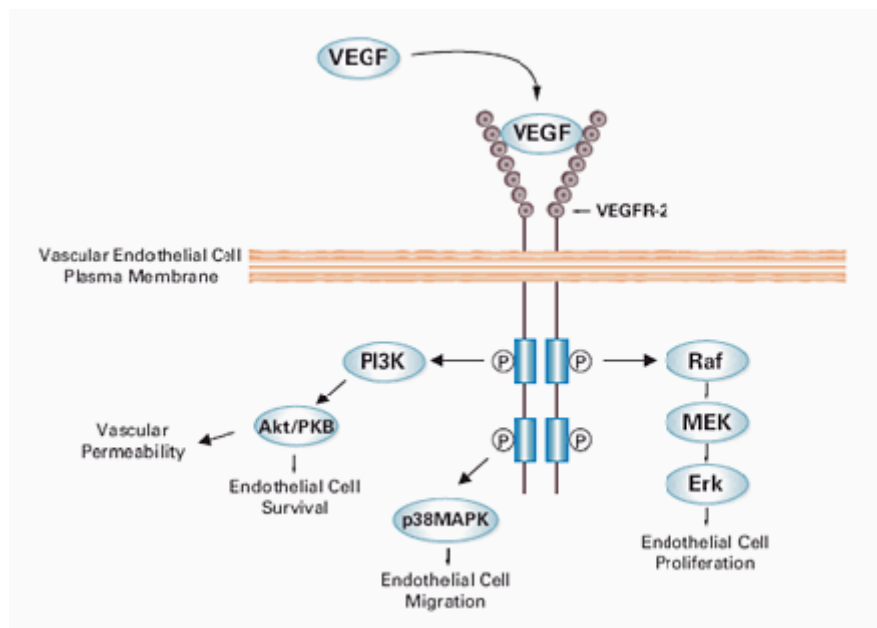
L'osservazione di una ridotta pressione intraoculare indotta dal THC in fumatori di marijuana¹⁰⁵ ha spinto a una approfondita investigazione sul ruolo che gli endocannabinoidi potrebbero avere in questa patologia. Studi clinici di somministrazioni di THC localmente o in maniera sistemica hanno confermato queste attività, ma hanno inoltre evidenziato diversi effetti collaterali sistemici come ipotensione, tachicardia, euforia o problemi oculari come cambiamento delle dimensioni della pupilla¹⁰⁶



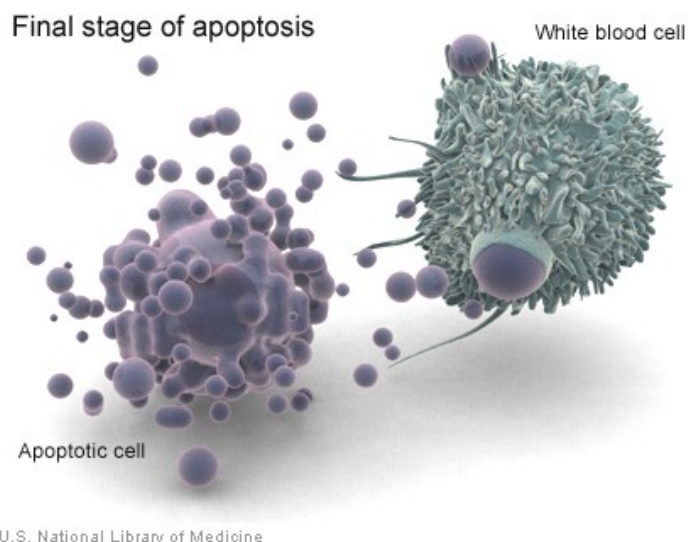
Un'analisi attenta sul meccanismo che media la diminuzione pressoria da tetraidrocannabinolo ha evidenziato il coinvolgimento dei recettori CB1. Quest'osservazione è basata sull'individuazione del recettore nella retina¹⁰⁷ e nei muscoli ciliari¹⁰⁸ nonché alla capacità di questi di esercitare un effetto protettivo sulla retina e sulla barriera retina/sangue¹⁰⁹.

Numerosi e recenti studi hanno suggerito che i cannabinoidi possono inoltre direttamente inibire la crescita tumorale.

L'anandamide, il 2-AG e gli inibitori del trasportatore di membrana hanno mostrato la capacità di indurre la morte cellulare per apoptosi, di ridurre la proliferazione e la migrazione delle cellule tumorali. Un'ipotesi molto probabile è che l'effetto apoptotico sia correlato a una incrementata sintesi della ceramide¹¹⁰ che prolunga l'attività delle Raf-1, delle MAPK, delle protein chinasi, JNK e p38. Il meccanismo antiproliferativo più in generale è da attribuire al blocco del cAMP e alla PKA che inibiscono l'attività dei fattori di crescita cellulare: (epidermal growth factor, tirosin chinasi, nerve growth factor e vascular o epitelial growth factor)⁶⁰.



L'azione antitumorale dei cannabinoidi appare di tipo bimodale. In particolare, a basse concentrazioni somministrate i cannabinoidi potrebbero o inibire l'attività antitumorale o per taluni tumori promuoverla. Infatti, concentrazioni nanomolari di queste molecole, in alcuni topi affetti da cancro ai polmoni, hanno dimostrato che esse accentuano lo sviluppo tumorale senza però ridurre il processo apoptotico¹¹¹.



Per contro tumori che esprimono alti livelli di recettori cannabinoidei quali i gliomi risentono positivamente dell'azione dei cannabinoidi.

Il sistema endocannabinoide interviene sulla motilità e secrezione gastro-intestinale sia in condizioni fisiologiche che patologiche. Numerosi studi attribuiscono questo ruolo alla colocalizzazione del recettore CB1 cannabinoide con quello colinergico¹¹². Questo recettore è localizzato nel tessuto muscolare liscio, nel plesso mesenterico¹¹³ e insieme al CB2 nella lamina propria. Come dimostra la somministrazione di agonisti CB1 (WIN 55,212-2 e CP55,940), ma non quelli CB2, i cannabinoidi hanno proprietà inibitorie sulla motilità gastro-intestinale¹¹⁴. Questo effetto è da attribuire all'inibizione del release di acetilcolina dalle placche nervose, del tono eccitatorio da noradrenalina, dell'attivazione dei canali del K e della modulazione del rilascio di adenosina. L'azione anti-colinergica accompagnata dal blocco del tono istaminico sarebbero le cause dell'inibizione della secrezione¹¹⁵ e dell'effetto antiinfiammatorio

Numerosi studi suggeriscono il ruolo svolto dal sistema endocannabinoide nelle funzioni riproduttive sia maschili che femminili.

Nei maschi questo sistema quando sovra-espresso, attraverso i CB1, ridurrebbe la capacità fertilizzante dello sperma e indurrebbe disfunzione erettile¹¹⁶.

Nelle femmine alti livelli recettoriali CB1, anandamide e FAAH sono presenti in fase di impianto embrionale nell'utero¹¹⁷. La biosintesi dell'endocannabinoide è dose e stadio-specifica durante lo sviluppo embrionale. Infatti, una concentrazione eccessiva in un momento non opportuno può comportare l'insorgenza di effetti collaterali come ad esempio

Pinna Giansalvo, Sintesi e attività cannabinoide di nuove molecole a struttura 1H-4-Diidropirazolo[3,4-a]pirrolizina, 1H-4,5-Diidropirazolo[4,3-g] indolizina e 1H-4,5,6-Tetraidropirazolo[3,4-c]pirrolo[1,2-c]azepina, Tesi di dottorato in Scienze e Tecnologie Chimiche, indirizzo Scienze Farmaceutiche, Università degli studi di Sassari

formazione di blastocisti e trofoblasti⁶⁷. Conseguentemente, il tono cannabinoideo può influire negativamente sulla gravidanza aumentando il rischio di aborto spontaneo^{118, 119}. Ruolo fondamentale a tal proposito è svolto dalle FAAH che riducendo i livelli di AEA permettono il mantenimento della gravidanza. Sebbene queste informazioni suggeriscano un potenziale uso di antagonisti CB1 in gravidanza, una particolare precauzione va rivolta alla possibilità che essi raggiungano l'embrione arrecando danni¹²⁰.

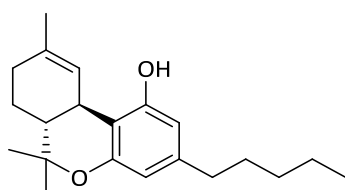
Capitolo 1

1.4 – Classi di agenti che interagiscono con ECS e progettazione delle molecole oggetto della tesi

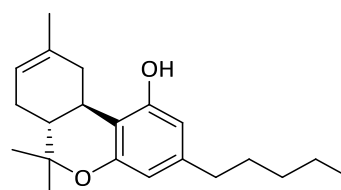
L'interesse a interagire con i diversi target del sistema endocannabinoide in maniera selettiva, ha portato a individuare molecole capaci di stimolare o inibire tale sistema. Attualmente, diverse classi di composti sono state sintetizzate e generalizzando le molecole possono essere classificate nelle seguenti famiglie:

- 1 Fitocannabinoidi e congeneri
- 2 Cannabinoidi endogeni e congeneri
3. Cannabinoidi di sintesi
 - Amminoalchilindoli e analoghi
 - Indoli, pirroli, indeni
 - Pirazoli e bioisosteri
 - Pirazoli condensati

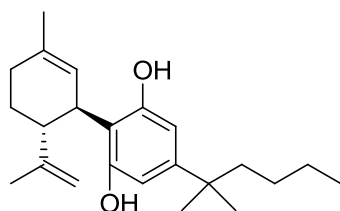
La ricerca dei fitocannabinoidi si è sviluppata a seguito della scoperta degli effetti biologici indotti dalla marijuana e dei principali componenti della *Cannabis Sativa*. La pianta è costituita di circa settanta composti tutti correlati con il Δ^9 -tetraidrocannabinolo (**2**) di cui molti sono a struttura terpenofenolica. Di questi, i derivati più attivi sono oltre il Δ^9 , anche il Δ^8 (**10**) e il cannabidiolo (CBD, **1**), quest'ultimo recentemente rivalutato come antagonista/agonista inverso.



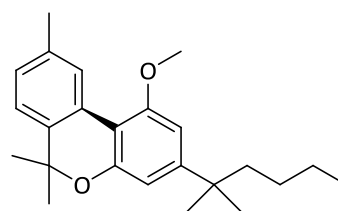
2
 Δ^9 -tetraidrocannabinolo



12
 Δ^8 -tetraidrocannabinolo



1
Cannabidiolo

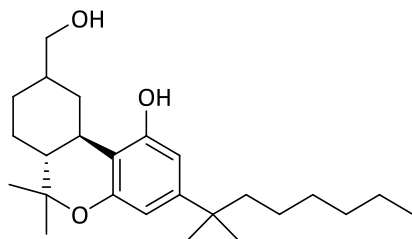


13
Cannabinolo

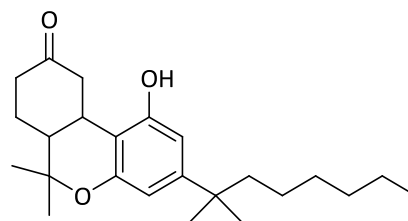
I requisiti strutturali che conferiscono l'attività biologica ai fitocannabinoidi sono stati ben stabiliti. L'aspetto strutturale fondamentale è un sistema tricyclico angolare di tipo

dibenzopirano da cui fuoriescono alcuni gruppi funzionali. I più importanti sono un pendaglio pentilico e un ossidrilico in posizione uno.

La farmacologia di modulazione della catena pentilica dimostra che la lunghezza ottimale varia da 5 a 7 atomi di carbonio come dimostrato dall'HU-210 (**14**) e dal Nabilone (**15**), entrambi potenti agonisti.



14
HU-210
Ki CB1 = 0.73 nM
Ki CB2 = 0.52 nM

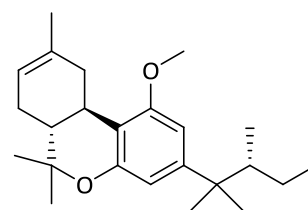


15
Nabilone
Ki CB1 = 2,2 nM
Ki CB2 = 1,8 nM

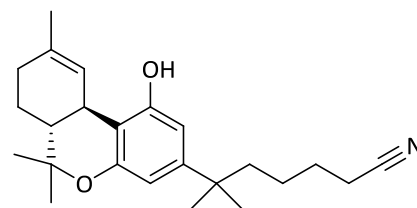
Il semplice allungamento o accorciamento della lunghezza della catena può compromettere l'attività in vivo come può anche orientarla verso un sottotipo recettoriale (JWH-359, **16**) o invertirla ad antagonista.

Il Nabilone (**15**), lo JWH-359 (**16**) e altri derivati dimostrano inoltre come la presenza di un gruppo *gem*-dimetilico sul carbonio direttamente legato all'anello aromatico può incrementare l'attività¹²¹. Anche nel caso in cui il pendaglio pentilico è funzionalizzato con un CN sul carbonio terminale, il corrispondente O-581 (**17**), mantiene una rilevante attività biologica¹²².

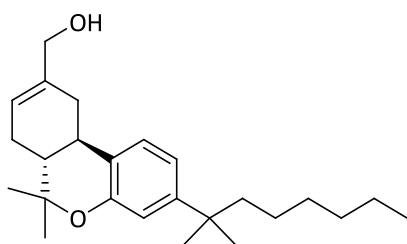
Insieme con la catena alchilica, l'ossidrilico in posizione uno è importante per l'attività biologica. La sostituzione di tale gruppo con H (JWH-051 **18**) o F risulta in perdita di affinità verso il recettore CB1 rispetto a **12**, mentre aumenta l'affinità di binding per il CB2. Recenti lavori hanno inoltre mostrato che la sostituzione dell'OH con CH₃O (1-metossi-THC JWH-229 **19**), può mantenere una buona attività per il CB2 mentre incrementa drasticamente i valori nM per i CB1¹²³.



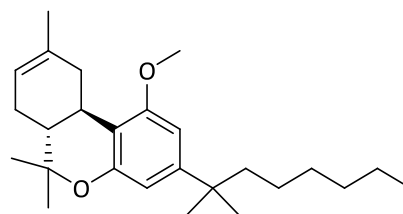
16
JWH-359
Ki CB1 = 2918 nM
Ki CB2 = 13 nM



17
O-581
Ki CB1 = 0,36 nM

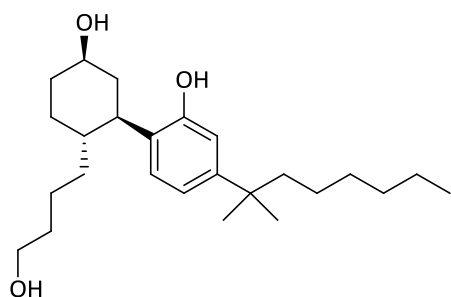


18
JWH-051
Ki CB1 = 1.2 nM
Ki CB2 = 0.032 nM



19
JWH-229
Ki CB1 = 3134 nM
Ki CB2 = 18 nM

La struttura tricyclica dibenzopirana è tuttavia un elemento che tollera appropriate modificazioni. Infatti, strutture di semplificazione molecolare a *core* biciclico, che rendono



20
CP-55,940
Ki CB1 = 1.6 nM
Ki CB2 = 1.1 nM

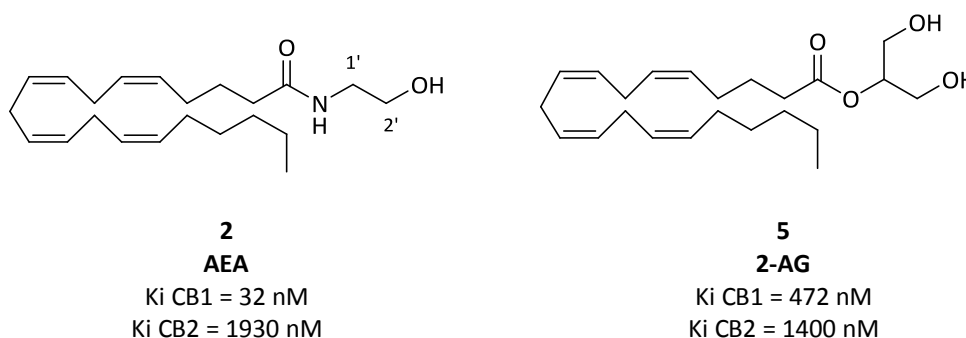
liberi i due nuclei carboniosi, manifestano attività biologica. Il prototipo di questa classe di composti è il CP-55,940 (**20**), un composto impiegato per i suoi valori di binding in numerosi studi farmacologici. Questa molecola ha dimostrato come la catena laterale e la porzione fenolica sono requisiti necessari per l'affinità, tanto che questi due gruppi sono stati mantenuti rispetto alla struttura della molecola madre.

Anche il cicloesile rappresenta uno spezzone importante soprattutto per modulare l'attività o la selettività recettoriale. Questo è stato dimostrato attraverso derivati biciclici a scaffold resorcinico progettati sulla piattaforma del cannabinoide naturale cannabidiolo (**2**). Questi hanno rivelato che la contrazione o l'incremento del cicloesile a ciclopentile o cicloeptile riduce l'attività.

	Molecola	R	Ki CB1 nM	Ki CB2nM
	21		11	1,5
	22		95	7
	23		18	2
	24		>10000	5424

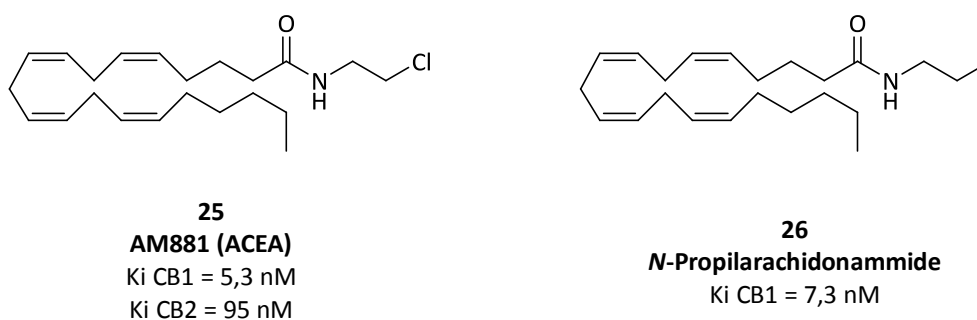
Analogamente la sostituzione bioisosterica di un metilene del ciclo con un atomo di azoto (**24**) porta a una pronunciata perdita di affinità.

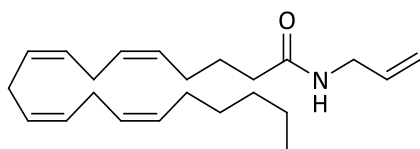
L'attività dell'AEA e del 2-AG è cruciale nella modulazione del sistema endocannabinoide, e così approfonditi studi SAR, assumendo come leads tali molecole endogene, potrebbero servire come utile approccio di drug design per individuare nuovi ligandi dei recettori cannabinoidei.



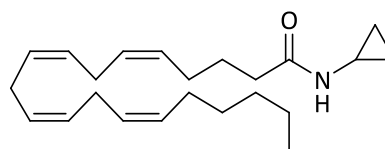
Studi computazionali hanno portato a osservare che il requisito strutturale di base dell'anandamide e congeneri è una conformazione a U o a J a livello del recettore CB1, con le α -eliche II, III e VII coinvolte nella regione di binding per questi ligandi¹²⁴.

Variazioni del semplice ossidrile dello spezzone idrossietilamminico di AEA (**2**) sono state proposte. Infatti, la funzionalità ossidrilica può essere favorevolmente sostituita con altri sostituenti come F o Cl (AM881, **25**) o CH₃ (*N*-propilarachidonammide, **26**). La catena alchilica così ottenuta può essere anche irrigidita da delle insaturazioni (AM883, **27**), oppure coinvolta nella formazione di cicli come nel caso del *N*-Arachidonoilciclopropilammina (ACPA, **26**). Le proprietà conferite alle molecole da queste modificazioni sono una maggiore lipofilia, un miglioramento dell'affinità per il recettore CB1 e una stabilità all'idrolisi da parte delle FAAH¹²⁵.



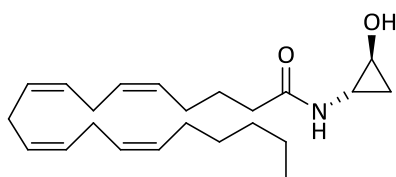


27
AM883
Ki CB1 = 9,9 nM

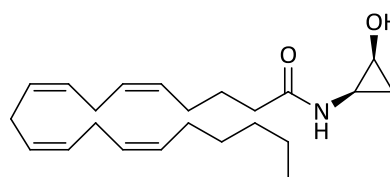


28
ACPA
Ki CB1 = 2,2 nM

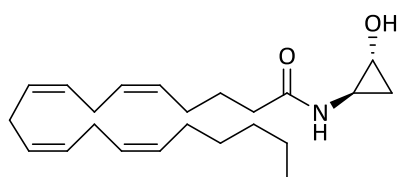
Ulteriori ricerche volte ad investigare il ruolo del pendaglio etanolamminico dell'anandamide sono risultate particolarmente interessanti. Gli analoghi ciclopropanolamidici, **29-30**, hanno dimostrato che i diastereoisomeri *cis* e *trans* esprimono simili affinità per il recettore CB1 suggerendo un ruolo ininfluenza della porzione dell'OH nella unità etanolamminica del ligando endogeno. La funzione ossidrilica dello spezzone ciclopropanico, per contro, orientata in *trans* rispetto all'N ammidico come in **29** e **30** favoriva l'interazione con il recettore vanilloide V1 suggerendo che la conformazione bioattiva per tale recettore dell'anandamide potrebbe essere la *anti*¹²⁶.



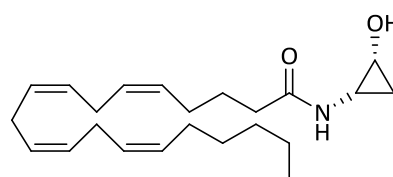
29



31

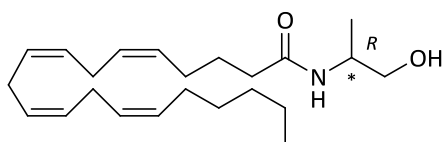


30



32

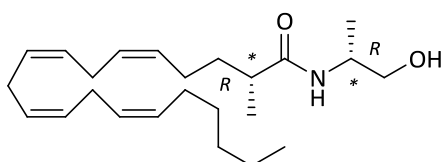
Oltre alle variazioni strutturali dell'eteroatomo terminale, l'anandamide è stata modificata a livello della porzione etilica del gruppo etanolamminico. L'obiettivo era quello di scoprire nuovi analoghi con maggiore stabilità verso gli enzimi idrolitici. L'attenzione è stata rivolta all'introduzione di un metile in posizione C-1' e C-2' dell'AEA. L'AM356 (**33**) contiene un metile in configurazione *R* che non solo conferisce una migliore attività verso il



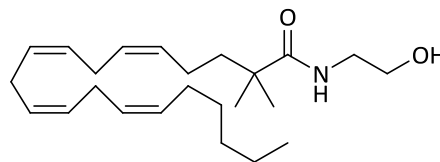
33
AM356
 Ki CB1 = 17,9 nM
 Ki CB2 = 868 nM

recettore CB1, ma anche un'apprezzabile stabilità idrolitica, poiché il miglior substrato per le FAAH è la S-AM356¹²⁷.

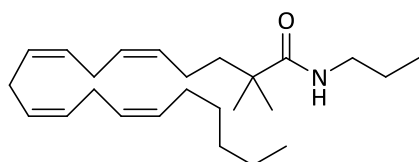
A differenza di quanto visto precedentemente l'eliminazione del OH (**36**) non migliora le caratteristiche di binding del cannabinoide (Ki CB1 = 73 nM), né rispetto all'omologo ossigenato né rispetto all'AEA. Come descritto prima, è necessario aumentare l'ingombro sterico intorno alla funzione ammidica per ottenere apprezzabili livelli di stabilità alle FAAH. Il positivo trend prodotto dalla metilazione ha indotto a incrementare l'ingombro sterico intorno alla funzione carbamoilica quanto più possibile. La doppia metilazione come in AM1116 (**34**) o l'inserimento di un gruppo *gem*-dimetilico come in **35** migliorano la stabilità enzimatica¹²⁸.



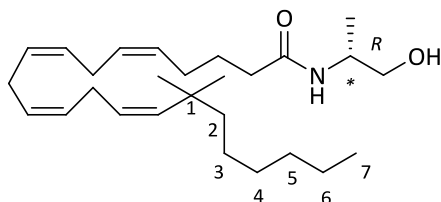
34
AM1116
 Ki CB1 = 7,4 nM



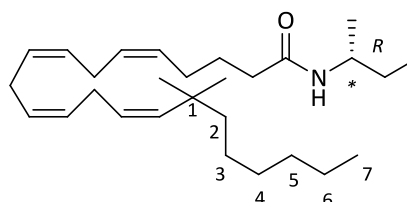
35
 Ki CB1 = 7,4 nM



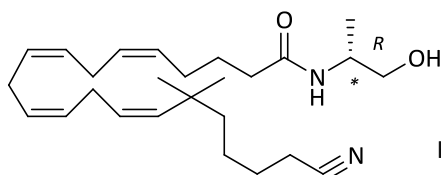
36
 Ki CB1 = 6,9 nM



37
 Ki CB1 = 1,7 nM



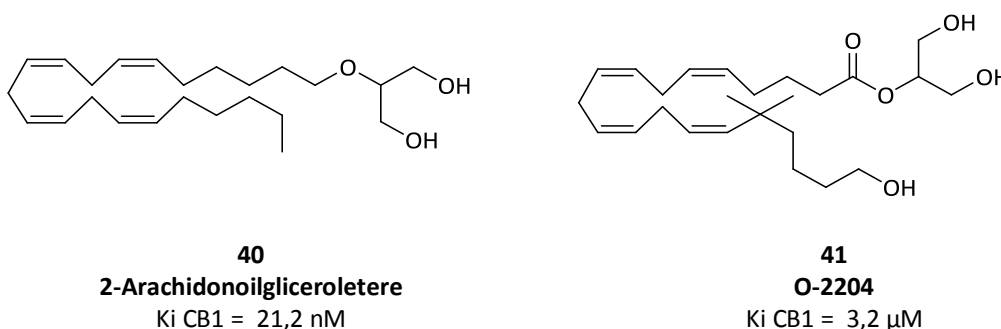
38
 Ki CB1 = 1,5 nM



39
O-1812
 Ki CB1 = 4,6 nM

Un'altra variazione degli analoghi della anandamide è stata lo sviluppo di congeneri con terminale a 5 atomi di carbonio simili a quello del THC e derivati. È stato notato, infatti, che l'incremento della catena a 7 atomi di carbonio con dimetilazione sul C geminale e la funzionalizzazione del C terminale con un CN portava ad un abbassamento dei valori di binding¹²⁹,.

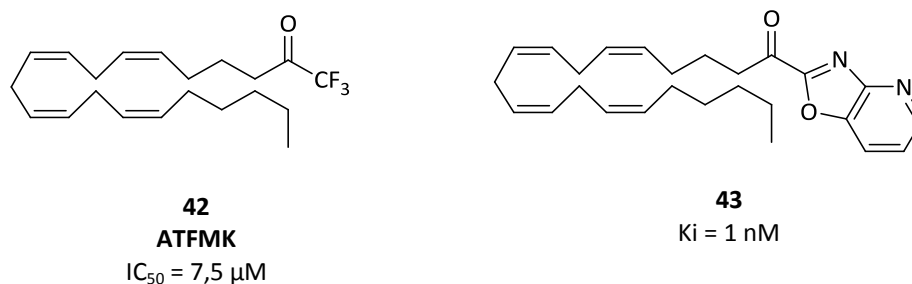
Sulla stessa falsa riga di questi ultimi composti sono stati proposti come agonisti cannabinoidei derivati del 2-AG. Di questi, due dei più significativi sono 2-arachidonoilgliceroletere (**40**) e l'O-2204 (**41**)¹³⁰.



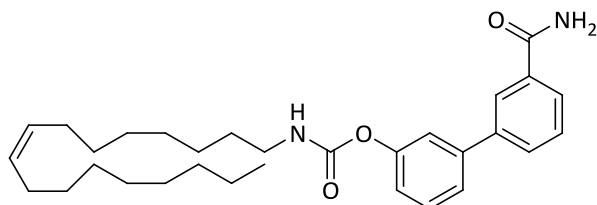
Ruolo dei composti descritti fin ora è quello di incrementare l'attività cannabinoidea mimando il ruolo svolto dall'AEA o 2-AG portando ad una maggiore affinità recettoriale.

Questa tuttavia non rappresenta l'unica strategia farmacologica adottata per tali scopi. Infatti, al fine di incrementare le concentrazioni sinaptiche dei due mediatori sono state sviluppate molecole capaci di agire sul metabolismo e sul trasportatore di membrana.

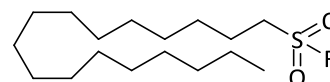
I più importanti composti sono gli inibitori delle FAAH sia di tipo reversibile che irreversibile. I reversibili sono derivati trifluometilchetonici¹³¹ dell'acido arachidonico esemplificati dal composto (ATFMK **42**) e i derivati ossazolpiridinici tipo **43** che accentuano il carattere elettrofilo del carbonile chetonico al fine di operare una più efficace interazione con la serina-241 del sito cationico dell'enzima ed in tal modo inibire l'effetto idrolitico¹³².



Per contro gli inibitori irreversibili formano un legame covalente con la serina-241, inattivando l'enzima. A questa classe di composti appartengono derivati carbammici (**44**) e solfonilfluoridici (AM374 **45**)¹³³

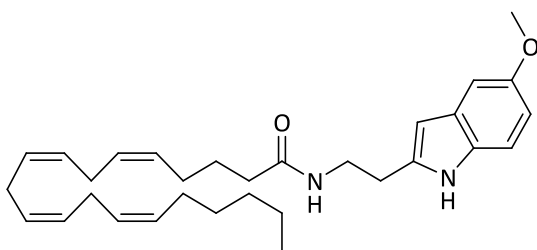


44
JP23
K_i = 58 nM

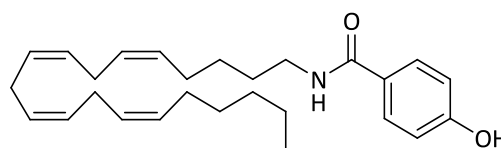


45
AM374
IC₅₀ = 7 nM

Gli inibitori del trasportatore di membrana rappresentano una classe di derivati in fase di studio che potrebbero offrire aspetti applicativi favorevoli. La metanandamide (**29**) è in tale contesto un importante agente poiché per primo consentì di dedurre il carattere stereospecifico opposto del trasportatore rispetto al recettore. Infatti, l'enantiomero *S* è responsabile dell'attività inibitoria sul trasportatore a differenza del recettore che preferisce l'enantiomero *R*¹³⁴. Il componente strutturale distintivo di questa nuova classe di agenti è una unità tetraenica non coniugata insieme con un gruppo aromatico (**47**) o eteroaromatico (**46**) unito alla porzione ammidica. Questa porzione può essere anche invertita per ottenere un farmacoforo che si è notato mantenere capacità inibitorie sull'AMT (anandamide membrane transporter) e acquistare maggiore stabilità all'azione idrolitica dell'enzima(**47**)¹³⁵.



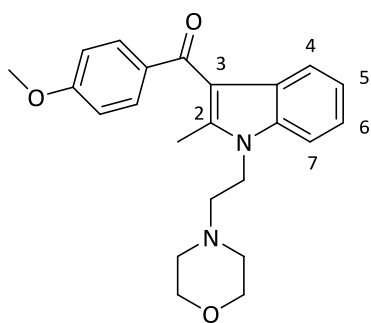
46
VDM-13
IC₅₀ = 10 μm



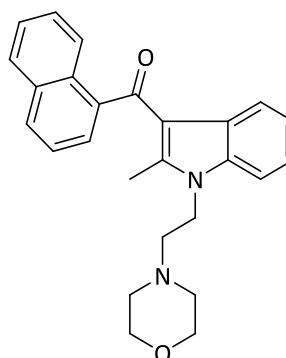
47
AM1172
IC₅₀ = 1,5 μm

Una promettente intensamente e perseguita area di sostanze attive sul sistema endocannabinoide è quella dei cannabinoidi sintetici.

La nascita di questi cannabinoidi è riconducibile alla scoperta della pravadolina (**48**), un derivato amminoalchilindolico con un pendaglio *p*-metossibenzoilico. Benché questo composto possedesse soltanto modesta CB1 affinità, questa scoperta stimolò gli sforzi a disegnare e sintetizzare nuovi derivati di origine sintetica analoghi e non della pravadolina¹³⁶.

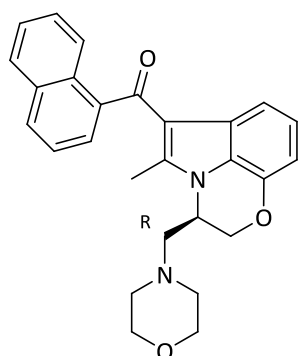


48
Pravadolina
Ki CB1 = 2511 nM

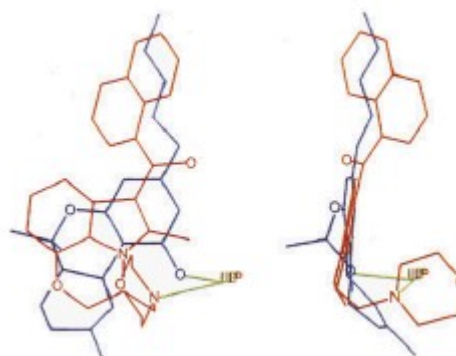


49
Ki CB1 = 16 nM

Divenne ben presto evidente che variazioni strutturali in posizione 2¹³⁷ e 3¹³⁸ della molecola madre fornivano composti con attività significativamente migliorata (**49**). Il sostituente sull'atomo di azoto indolico era rappresentato da uno spezzone morfolinetilico con una distanza ottimale tra gli atomi d'azoto di due atomi di carbonio.



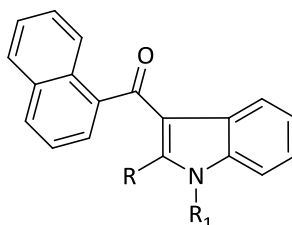
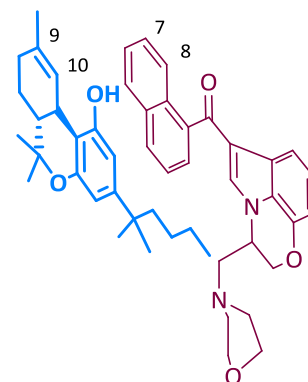
50
WIN-55,212-2
Ki CB1 = 2,2 nM
Ki CB2 = 0,3 nM



Ulteriori variazioni strutturali erano investigate e molte si sono dimostrate essere utili per l'attività. Il WIN 55,212-2 (**50**) contiene un ulteriore anello fuso e rappresenta un agonista cannabinoide CB1 di successo utilizzato per la sua efficacia nel trattamento della patologia di Alzheimer. L'*(R)*-enantiomero del WIN 55,212-2 è più potente in vitro (~ 3 volte) del *(S)*-enantiomero come indicano i dati di binding (*R* = 2,2 nM contro i *S* = 7,4 nM)¹⁷.

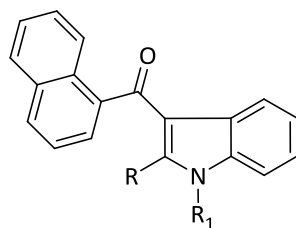
Nell'intento di individuare gli elementi farmacoforici, i modelli di minima energia del WIN-55,212-2 e del THC, sono stati confrontati allineando il gruppo fenolico del cannabinoide naturale con l'N morfolinico del composto di sintesi. Tale allineamento è legittimato da una potenziale interazione a ponte idrogeno tra i due elementi ed il recettore. Un secondo punto di contatto è rappresentato dalla catena lipidica del THC con i sostituenti 3-arilici del WIN-55,212-2¹³⁹.

Tuttavia, ulteriori allineamenti sono stati proposti, fra cui quello avanzato da Huffman, appare più rilevante per la determinazione del farmacoforo. Huffman, infatti, confrontando la struttura del WIN 55,212-2 (**50**) con il TCH (**2**) ipotizzava che il gruppo fenolico in uno fosse mimato dal gruppo carbonilico di **50** e che i carboni 9 e 10 del THC potessero sovrapporsi con quelli 7 e 8 dell'unità naftalenica¹⁴⁰. Questi studi hanno consentito di ipotizzare che la porzione morfolinica non fosse così importante e che essa potesse essere sostituita da un semplice pendaglio alchilico. Attraverso studi SAR è stato possibile costatare la modificazione più utile rappresentata dalla introduzione sull'N indolico dei 2-metilindoli di una catena alchilica a 5 atomi come in **53**. Tuttavia i derivati **51**, **52** e **54** con pendagli a 3, 4 e 6 atomi di carbonio rispettivamente, dimostrano rimarchevole CB2 affinità.



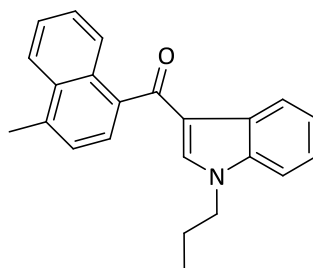
Molecole	R	R ₁	Ki CB1 nM	Ki CB2 nM
JWH-015 (51) ¹⁴¹	CH ₃		164	13,8
JWH-016 (52)	CH ₃		22	4,3
JWH-007 (53)	CH ₃		9,5	2,9
JWH-004 (54)	CH ₃		48	4,0
JWH-009 (55)	CH ₃		> 10000	141

In generale, la porzione N₁ tollera residui alchilici relativamente di piccole dimensioni specificamente i sostituenti N₁ contenenti un numero di atomi di carbonio superiore a 5 offrono bassa o nulla affinità sui recettori dei cannabinoidi.

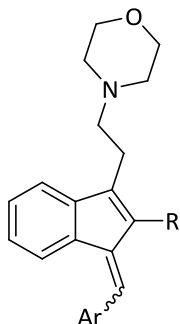


Molecole	R	R ₁	Ki CB1 nM	Ki CB2 nM
JWH-072 (56)	H		1050	170
JWH-073 (57)	H		8,9	27
JWH-018 (58)	H		9	2,9
JWH-019 (59)	H		9,8	5,6
JWH-020 (60)	H		128	205

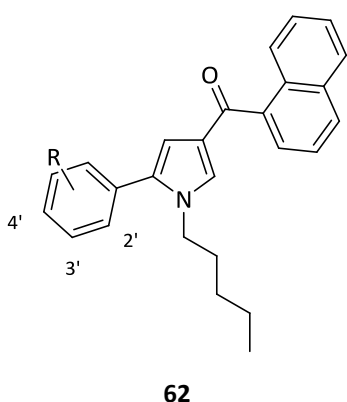
Il sostituito C₂ metilico non appare necessario per la CB affinità¹⁴². Infatti importanti derivati indolici non hanno questo gruppo. Gruppi alchilici a 3, 4 e 5 atomi di carbonio che protendono dall'N indolico oppaiono importanti per l'interazione con i recettori. Cannabinoidei. L'unità 1-naftolica che si estende dal nucleo centrale indolico può essere sostituita in posizione 4 con piccoli gruppi come CH₃ (**61**)¹⁴³ e CH₃O con incremento dell'attività sui recettori CB1.



61
JWH-120
Ki CB1 = 1054 nM

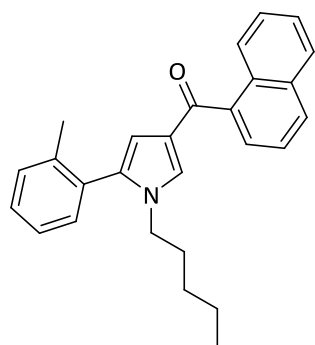


La sostituzione bioisosterica del N indolico con un CH₂ ha portato all'individuazione di nuovi potenziali cannabinoidi indenici¹⁴⁴. Questi composti sono stati ottenuti in una miscela d'isomeri *Z* e *E* di cui il più attivo possiede configurazione *Z*¹⁴⁵. Analoghi rigidi tetra ciclici che congelano nella corretta orientazione il pendaglio arilico hanno come risultato finale quello di conferire alle molecole caratteristiche ottimali di CB1 e CB2 affinità. Tuttavia diversi analoghi a struttura indenica che possiedono il sostituito alchilico in posizione 2 vengono di un punto di vista sintetico più facilmente prodotti in forma *E* rispetto alla *Z*.

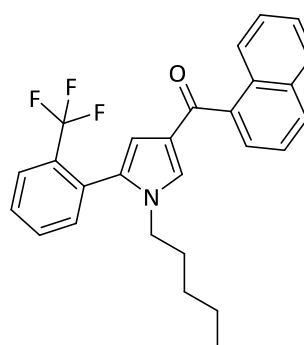


Un'estensiva ricerca di analoghi continuò a essere investigata finché una nuova classe di sostanza cannabinergiche è stata scoperta, i derivati cannabinoidi a struttura pirrolica. Questi composti originano per conversione del nucleo indolico in fenilpirrolo. Congeneri di questo offrono un buon profilo farmaco biologico soprattutto quando l'N pirrolico porta un pendaglio pentilico o esilico. Il composto **62** era il termine assunto come prototipo.

In questo contesto gli studi SAR hanno mostrato che l'inserzione di gruppi poco voluminosi e attivanti l'anello, come un metile o un metossile migliorano la CB1 affinità soprattutto quando sono inseriti in *orto* anziché *meta* o *para*. Per contro l'attività cannabimimetica indotta da gruppi voluminosi o disattivanti è diametralmente opposta¹⁴⁶.



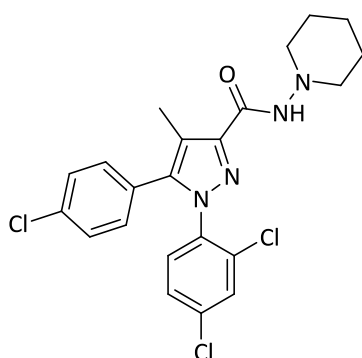
63
JHW-370
Ki CB1 = 5,6 nM
Ki CB2 = 3,4 nM



64
HW-392
Ki CB1 = 77 nM
Ki CB2 = 24 nM

Sebbene una grande varietà di modificazioni siano state realizzate sui derivati fin ora descritti le nuove molecole proposte mostravano maggiore effetto, da agonista o agonista parziale, nei confronti del recettore CB2. Infatti, diversamente da strutture tricicliche come il WIN-55,212-2 (**50**), negli aminoalchilindoli, nei alchilindoli e nei derivati pirrolici i valori nM per i CB2 si presentano solitamente inferiori rispetto a quanto riscontrato per i CB1..

Questi dati, non solo testimoniano un miglior agonismo verso il recettore CB2, ma dimostrano come queste strutture non abbiano un'elevata selettività, andando così ad agire su entrambi i recettori in maniera indistinta.

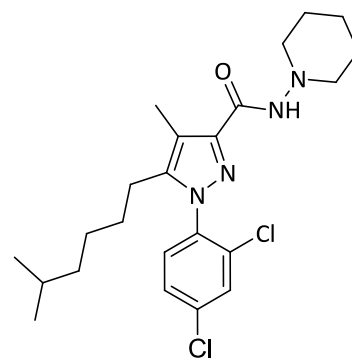


65
SR141716A
 Ki CB1 = 1,98 nM
 Ki CB2 = 514 nM

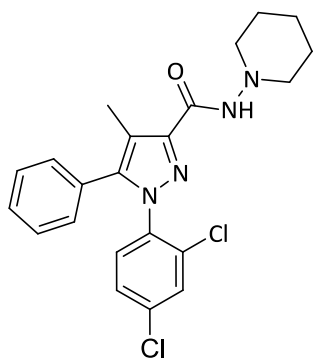
L'elaborazione del nucleo pirrolico per inserzione di un secondo atomo di azoto nel ciclo è di evidente importanza per l'attività. I pirazoli derivati come SR141716A (**65**), progettato e sintetizzato dalla Sanofi-Aventis nel 1994, risultava possedere attività antagonista.

L'SR141716 rappresenta un esempio di molecola altamente adatta alla modificazione strutturale sia a livello dei sostituenti che emergono dall'anello pirazolico che dello stesso ciclo.

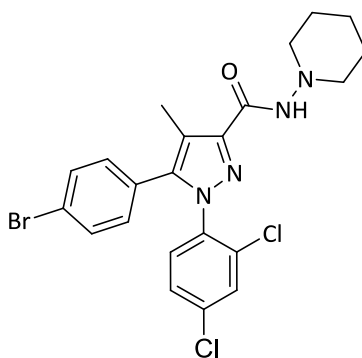
Così oltre all'anello pirazolico quasi tutti i derivati dell'SR141716A contengono come requisito strutturale assolutamente essenziale per la CB-affinità un fenile sul C₅ pirazolico¹⁴⁷ preferibilmente sostituito come dimostra la CB affinità del termine O-1559 (**66**) privo del fenile e del termine **67** non sostituito. Molti diarilpirazoli sostituiti con alogeni diversi dal cloro quali bromo (**68**) e iodio (**69**) sono importanti CB-ligandi con trend di affinità simile all'SR141716A. Altri esempi contenenti gruppi polari come NO₂(**70**) o NH₂ (**71**) al posto del cloro o semplicemente derivati con sostituenti shiftati in¹⁴⁸ in un'altra posizione dell'anello 5-arilico, determina una perdita considerevole in affinità.



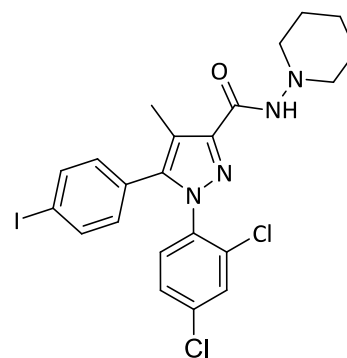
66
O-1559
 Ki CB1 = 233 nM



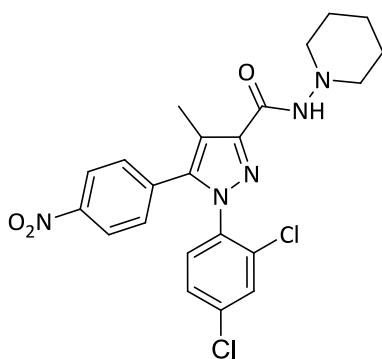
66
 Ki CB1 = 123 nM
 Ki CB2 = 217 nM



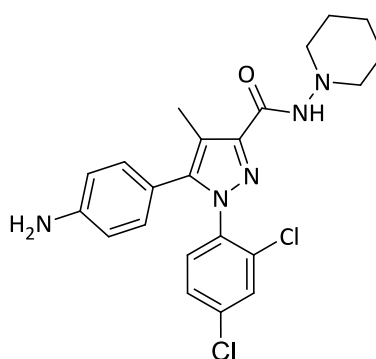
67
 Ki CB1 = 16,8 nM
 Ki CB2 = 1430 nM



68
 Ki CB1 = 7,29 nM
 Ki CB2 = 2290 nM



69
 Ki CB1 = 57,2 nM
 Ki CB2 = 252 nM

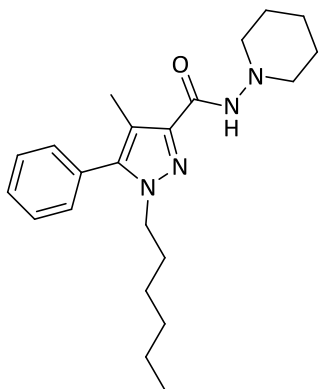


70
 Ki CB1 = 81,5 nM
 Ki CB2 = 958 nM

Il residuo N₁-diclorofenilico è stato ampiamente modificato. Tale gruppo è interessante da un punto di vista chimico poiché il diclofenile unito all'unità "N-N" incorporata nel ciclo appare come centro versatile che può essere elaborato in un ampio ventaglio di derivati. Tuttavia la sostituzione del N₁-diclorofenile per rimozione di un atomo di cloro o per sostituzione del cloro con un altro alogeno determina un discreto o marcato incremento dei valori nM di CB1 e CB2-affinità, rispettivamente. Analogamente alla rimozione, la sostituzione dei due atomi di cloro con degli alchili porta a derivati aventi valori di Ki in un intervallo che va da 150 a 430 nM¹⁴⁹.

Oltre agli analoghi N₁-arilici, semplici N₁-alchilderivati (**72**) sono significativi poiché questi composti esprimono buone CB affinità. Gli N₁-alchilderivati contenenti catene

alchiliche a 5-6 atomi di carbonio non ramificate sono ottime per l'affinità anche se alchili di minori o maggiori dimensioni possono mantenere soltanto apprezzabile attività¹⁵⁰.



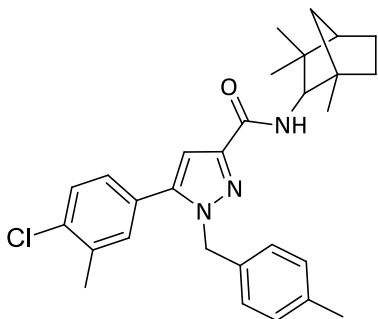
72
Ki CB1 = 21 nM

Il carbamoile in C₃ tollera diverse variazioni strutturali e in generale le idrazidi contenenti cicloalchilammine producono migliori CB-affinità rispetto a semplici alchilammidi (O-1269, **73**), eteri (O-848, **74**), chetoni (O-1272, **75**), alcoli (O-1876, **76**), alcani (O-1877, **77**) o morfoline (**78**). Queste modificazioni hanno portato ad una notevole perdita in attività, ma anche a scoprire le capacità di alcuni sostituenti di poter cambiare le potenzialità della molecola nei confronti del recettore. Lo scambio del gruppo piperidinico con un pentile (**77**) porta ad esempio composti

agonisti con valori di Ki di 422 nM.

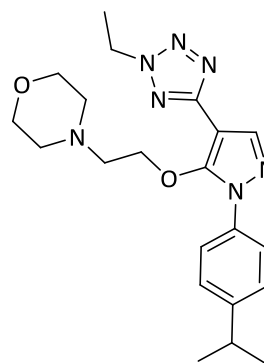
Nucleo	Molecola	R	Ki CB1 nM
	O-1269 (73)		32
	O-848 (74)		388
	O-1272 (75)		221
	O-1876 (76)		657
	O-1877 (77)		422
	78		79

Le osservazioni sovra citate suggerirebbero che la modulazione dei diversi sostituenti periferici del *core* pirazolico, anche se difficile per valutare nell'ambito di un contesto di generale visione, svolgono un ruolo importante nel determinismo delle attività biologica.



79
SR144528
Ki CB1 = 437 nM
Ki CB2 = 0,6 nM

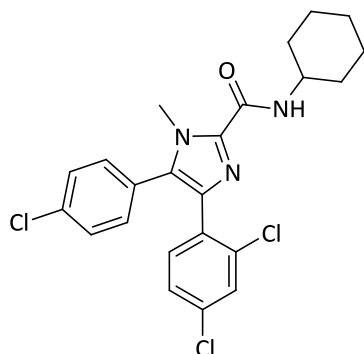
Infatti, accanto ai ligandi CB1 nati dallo studio del SR141716A, un nuovo prototipo di tipo pirazolico SR144528 (**79**) rappresentava il ligando di scelta per il recettore CB2¹⁵¹. Insieme a **79** anche il composto pirazolico **80**¹⁵² altamente modificato dall'assenza di un gruppo C₅-aromatico e dalla mancanza della funzione C₃-carbamoilica recante un pendaglio N₁-isopropilarilico C₄-tetrazolico mostra CB2 selettività.



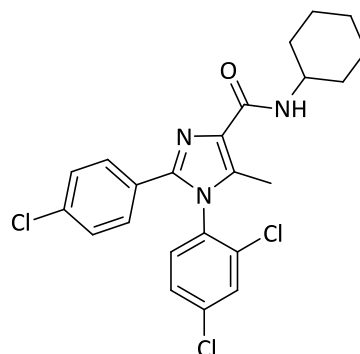
80
Ki CB1 = >80000 nM
Ki CB2 = 835 nM

Una ulteriore utile modificazione strutturale dell'SR141716A è stata la sostituzione del ciclo pirazolico con una varietà di altri eterocicli bioisosteri come l'imidazolo **81** e **82**, il triazolo **83** e il tiazolo **84** con un trend di attività che variava da composti spiccatamente attivi (**81**) a derivati solo moderatamente attivi (**82**, **83** e **84**). Altri eterocicli sono stati investigati e talune azone e diazine erano individuate come interessanti surrogati del pirazolo. Per esempio il derivato piridinico (**85**) Il composto **86** che contiene un ciclo pirazinico esprimono una simile CB1 affinità e potenza. Benchè i sistemi eterociclici sopracitati sono più frequentemente incontrati nei ligandi dei recettori CB derivati azetidini, idantoinici e chiloninoni possono rappresentare accettabili varianti come come evidenziato dai composti **87**, **88** e **89** con CB affinità diversa e tuttavia rilevante per alcuni

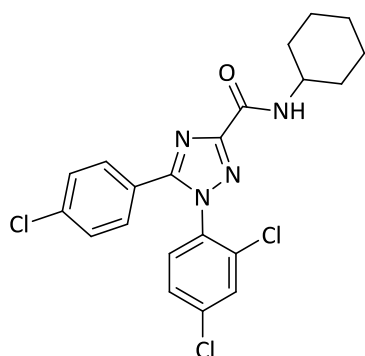
termini. In questo ambito è interessante osservare che la sostituzione dell' eterociclo con un anello benzenico risulta in un composto **90** che mantiene una modesta attività biologica¹⁵³



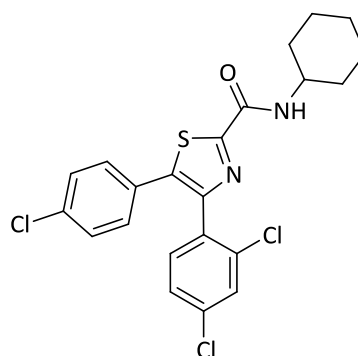
81
Ki CB1 = 6,1 nM



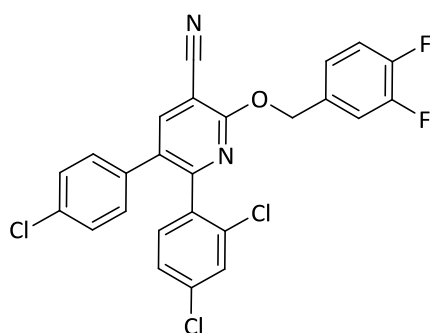
82
Ki CB1 = 403 nM



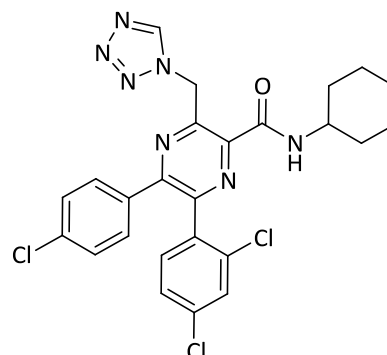
83
Ki CB1 = 400 nM



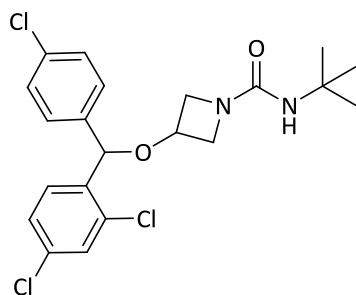
84
Ki CB1 = 227 nM



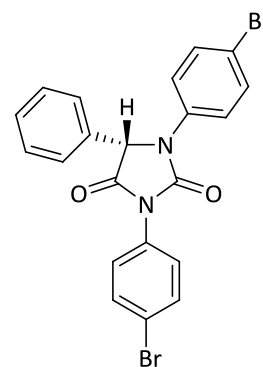
85
IC₅₀ = 1,3 nM



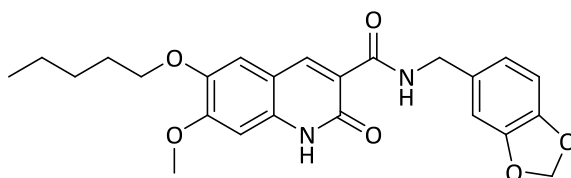
86
IC₅₀ = 2 nM



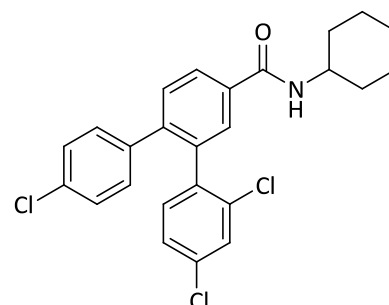
87
Ki CB1 = 0,6 nM



88
Ki CB1 = 311 nM



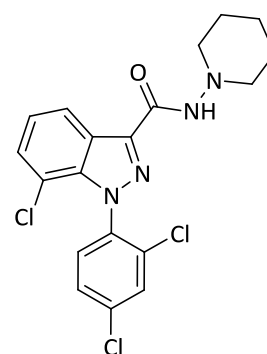
89
JTE-907
Ki CB1 = 3436 nM
Ki CB2 = 0,087 nM



90
Ki CB1 = 113 nM

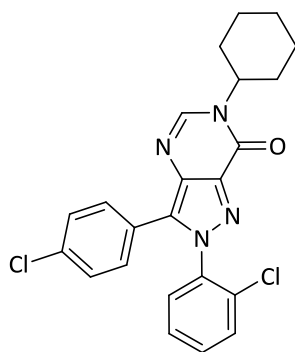
Un secondo approccio di farmacomodulazione è stato indirizzato verso la riduzione dei gradi di libertà molecolare per ottenere variazioni dello scaffold molecolare da cui fosse più facile prevedere la disposizione spaziale appropriata dei sostituenti di un'efficace interazione recettoriale.

Un primo irrigidimento strutturale prevedeva la semplice fusione del ciclo monoclorurato al pirazolo per ottenere derivati indazolici quali l'O-1248 (**91**)¹⁵⁴. Il composto **91** non produce elevata CB-affinità presumibilmente perché contiene un atomo di cloro sul sistema biciclico in una posizione non corretta ad una efficace interazione.

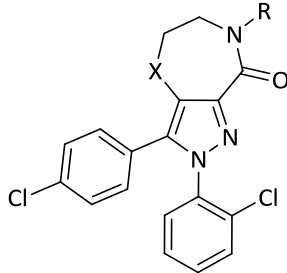


91
O-1248
Ki CB1 = 475 nM

Pertanto la presenza di un sistema biciclico non è un prerequisito negativo per l'attività biologica; semplici composti biciclici come **92** e **93**¹⁵⁵ per cui il lato di fusione è il C₃-



92
Ki CB1 = 20 nM



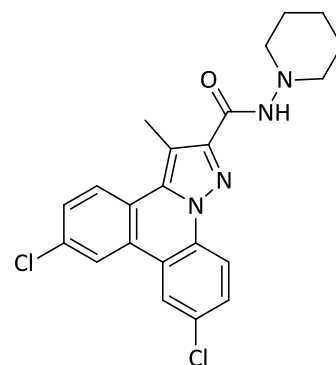
93
X = O, CH₂

C₄ pirazolico rappresentano infatti, una nuova sottofamiglia di CB ligandi. La disposizione del C₃-carbonile nel nucleo biciclico ad anello condensato a sei (**92**) e sette (**93**) termini può verosimilmente fornire una chiara informazione circa la corretta orientazione anti del carbonile C₃ rispetto al *p*-clorofenile per il mantenimento della attività biologica. La

funzine carbonilica è pertanto importante per l'appropriato "positioning" dei substrati pirazolici all'interno del sito orto sterico del recettore CB1 così da mimare i substrati endogeni lipidici.

Questi composti hanno inoltre presentato un profilo cinetico interessante, poiché possono esser assunti per via orale come profarmaci che per scissione dell'anello lattamico forniscono i relativi principi attivi.

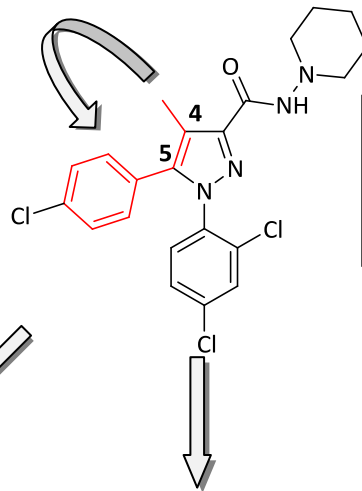
Per incrementare la diversità strutturale dei composti rigidi derivanti dall'SR141716A molecole a struttura pirazol[1,5-*f*]fenantridinica (**94**)¹⁵⁶ sono state indagate. Queste molecole non solo presentano un irrigidimento tra l'anello monoclorurato e il pirazolo, ma bloccano in una struttura tetraciclica planare anche il pendaglio diclorofenilico, che per fusione degli anelli perde uno degli alogeni. Queste caratteristiche rendono la molecola molto affine per il recettore CB e incrementano la selettività per il sottotipo CB1 com'è dimostrato dai dati di binding.



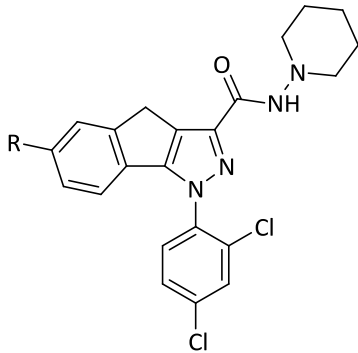
94
Ki CB1 = 48 nM
Ki CB2 = 3340 nM

La CB-affinità era ulteriormente definita con la scoperta di analoghi triciclici del SR141716A che possedevano un interessante profilo biofarmacologico.

Specificatamente l'incorporazione dell'elemento farmacoforico *p*-clorofenilpirazolilmetile appariva vantaggiosa per congelare la putativa conformazione bioattiva in composti triciclici a chemotipo 1,4 diidroindeno[1,2-*c*]pirazolico, 1,4,5-diidrobenzo[*g*]indazolico e 1,4,5,6-tetraidrobenzo[6,7]cicloep[1,2-*c*]piralico¹⁵⁷.



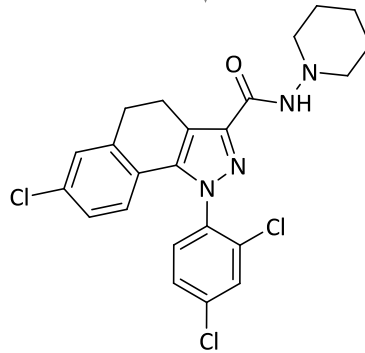
K_i CB1 (nM) = $1,8 \pm 0,075$
 K_i CB2 (nM) = 514 ± 30
 selectivity ratio K_i CB1/ K_i CB2 =
 1:285,5



95

chemotipo

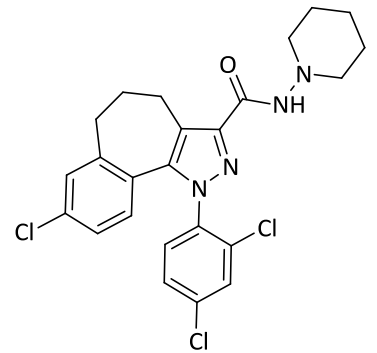
1,4 diidroindeno[1,2-c]pirazolico



96

chemotipo

1,4,5-diidrobenzo[g]indazolico



97

chemotipo

1,4,5,6
tetraidrobenzo[6,7]
cicloepata[1,2c]pirazolico.

a : R = CH_3 K_i CB1 (nM) = 363 ± 30
 K_i CB2 (nM) = $0,037 \pm 0,003$
 selectivity ratio
 K_i CB1/ K_i CB2 = 9810:1

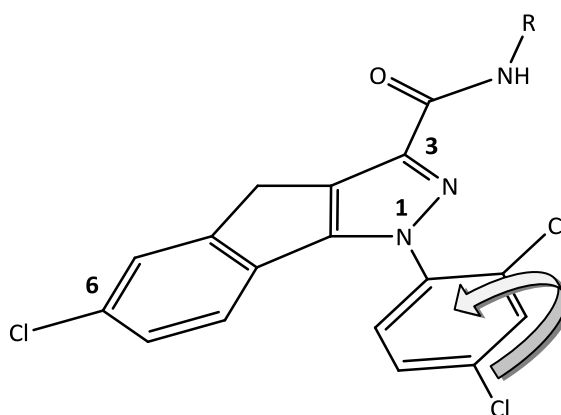
b : R = Cl K_i CB1 (nM) = 2050 ± 90
 K_i CB2 (nM) = $0,34 \pm 0,06$
 selectivity ratio
 K_i CB1/ K_i CB2 = 6029:1

K_i CB1 (nM) = $14,8 \pm 0,43$
 K_i CB2 (nM) = 227 ± 5
 selectivity ratio
 K_i CB1/ K_i CB2 = 1:15,3

K_i CB1 (nM) = $0,00035 \pm 0,000005$
 K_i CB2 (nM) = $21 \pm 0,5$
 selectivity ratio
 K_i CB1/ K_i CB2 = 1:60000

Omizzando questa classificazione l'1,4-diidroindeno[1,2-c]pirazolo (95) presenta il gruppo carbamoilico in posizione C₃ e il sostituito (Cl o CH₃) unito al centro C₆. Il centro N₁ mantiene la sostituzione 2,4-diclorofenilica caratteristica dei diarilpirazoli flessibili in precedenza descritti. Per i chemotipi omologhi il sostituito è localizzato nelle posizioni C₇ e C₈ rispettivamente.

La taglia dell'anello carbociclico centrale nei tre prototipi appare critico per l'attività biologica. Quando l'anello carbociclico centrale dei pirazoli triciclici è costituito da un ciclo a cinque unità carboniose il benzene e il pirazolo a esso fuso sono coplanari, mentre il diclorofenile è relativamente libero di ruotare. I risultanti composti mostrano rilevante attività verso i recettori CB2 accompagnata da elevata selettività.



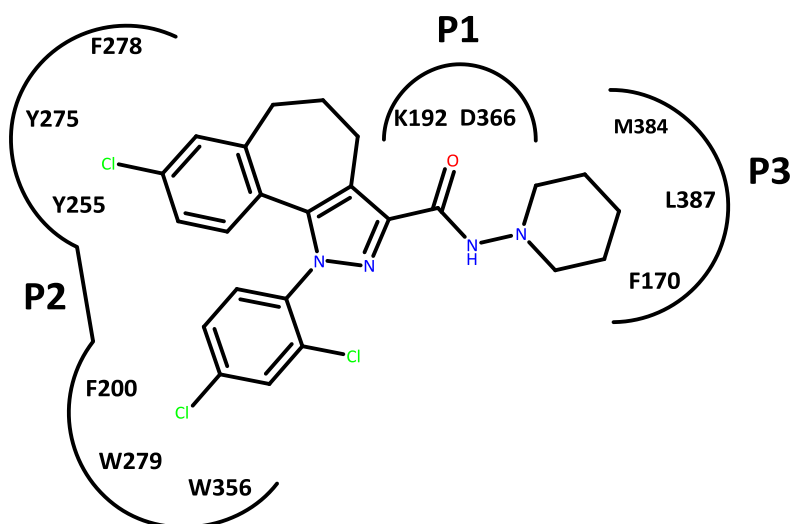
È importante riconoscere per questi derivati alcuni semplici requisiti di partenza per la CB2 affinità. Primo fra tutti i composti che presentano un Cl o un CH₃ sul C₆ insieme a uno spezzone carbamoilico sul C₃ contenente residui amminici, quali ammine eterocicliche sature o alchili voluminosi, risultano potenti ligandi CB2. Secondariamente, modificazioni strutturali che aboliscono la coniugazione tra l'N₁-diclorofenile e il sistema triciclico non appaiono sfavorevoli per la CB2 attività.

I diidrobenczo[g]indazoli **96** contengono nel sistema triciclico un anello centrale carbonioso a sei termini che dispone il benzene ed il pirazolo su piani non coplanari fra loro. Questa topografia dell'unità triciclica orienta i sostituenti sul N₁, C₃ e C₇ in modo diverso rispetto ai composti coplanari e questa nuova situazione si riflette sulle proprietà dei ligandi che mostrano infatti CB attività da moderate a buone senza spiccata selettività.

Un terzo anello carbociclico centrale a sette termini è stato incorporato nei pirazoli triciclici per dare composti appartenenti al chemotipo 1,4,5,6-tetraidrobenczo[6,7]cicloeppta[1,2-c]pirazolo **97** i cui analoghi mostravano superba CB1 affinità e selettività come esemplificato dal composto NESS. I derivati tetraidrobenczocicloepptapirazolici differiscono dai precedenti per la disposizione geometrica del benzene e del pirazolo della piattaforma triciclica che risultano orientati su piani ortogonali tra loro con limitata coniugazione. I benzocicloepptapirazoli hanno tuttavia in

comune con i derivati appartenenti ai precedenti chemotipi la schiera di sostituenti che si estende dalla periferia del sistema tricyclico.

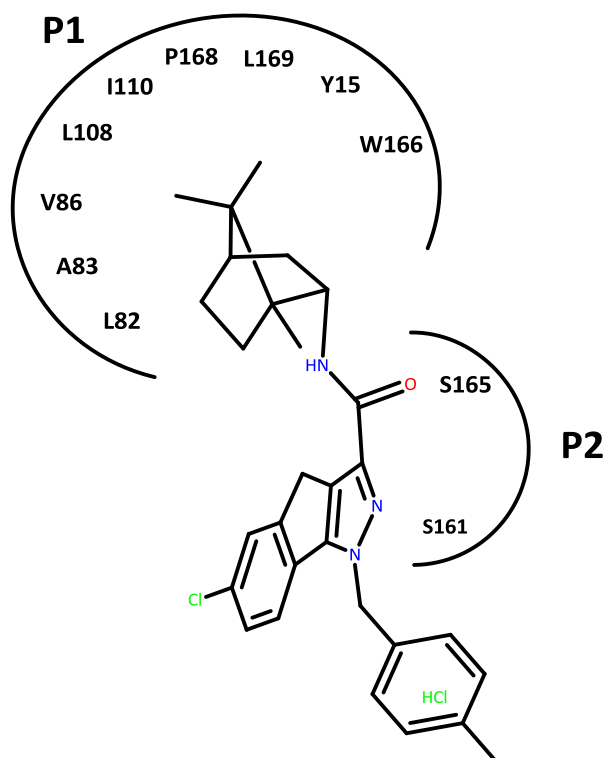
Il diverso comportamento dei composti tricyclici sui due sottotipi recettoriali è stato valutato anche attraverso studi di grafica molecolare. In particolare da studi di docking il recettore CB1 presenta tre siti d'interazione P1, P2 e P3 critici per la stabilità del complesso NESS0327 (**97**)/CB1. Il sito P1 è formato dai residui K3.192-D6.366, ed è una regione coinvolta in un ponte idrogeno definito "hydrogen bond site". La vasta area P2 rappresentata da sei amminoacidi (W6.279, F3.200, W6.356 e Y5.275, W4.255) è una regione che stabilisce interazioni di tipo Van der Waals con gli atomi di cloro fenili del ligando. La tasca intermedia P3, formata da quattro amminoacidi (V196, F170, L387 e M38) rappresenta una zona di interazione tra il recettore e il pendaglio piperidinico del ligando¹⁵⁸.



Diversamente dal composto **97**, il composto **95**, come riportato da Chiecchero e collaboratori, non è in grado di occupare adeguatamente i siti P2 e P3, ma di stabilire unicamente un legame idrogeno con la regione individuata dagli amminoacidi K192 e D366¹⁵⁹.

Questo diverso modo di interagire riduce l'affinità per il recettore CB1 come dimostrano i valori di K_i degli analoghi planari pari a 363 o 2050 nM.

A conferma delle precedenti osservazioni Zhang e collaboratori basandosi su un modello recettoriale CB2 costruito sull'antagonista SR144528, dimostrava la capacità del nucleo 1,4-diidroindeno[1,2-c]pirazolico presenti nei derivati planari di fittare il recettore CB2 a livello di 2 tasche aminoacidiche, P1 e P2. Il sito P1 compreso tra i domini (II, III, IV e V) consistente di nove residui aminoacidici, L82, A83, V86, L108, I110, P168, L169, Y15 e W166 sarebbe in grado di ospitare gruppi alchilici voluminosi come l'anello fenchilico del SR144528 mentre il sito P2 darebbe luogo con gli amminoacidi S4.165 e S4.161 a un fit idrofilico con i gruppi carbossamidico e l'azoto pirazolico rispettivamente¹⁶⁰.



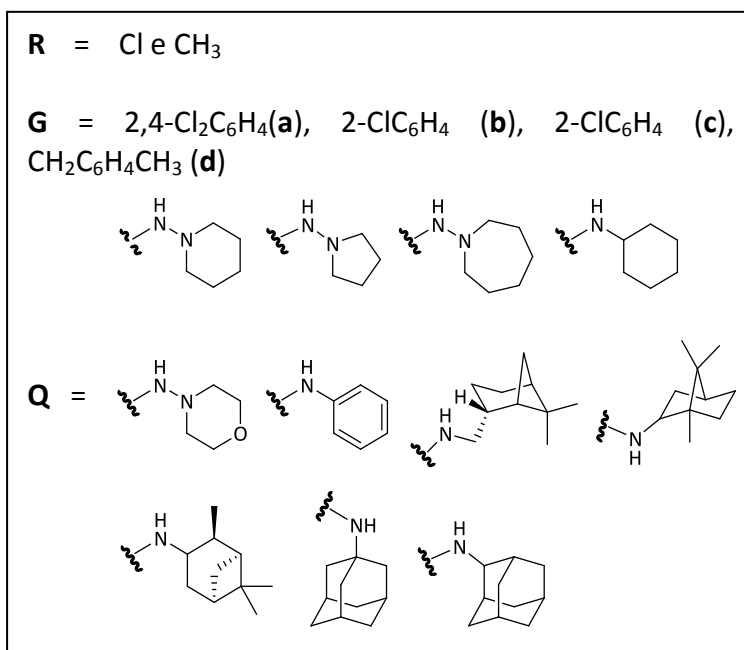
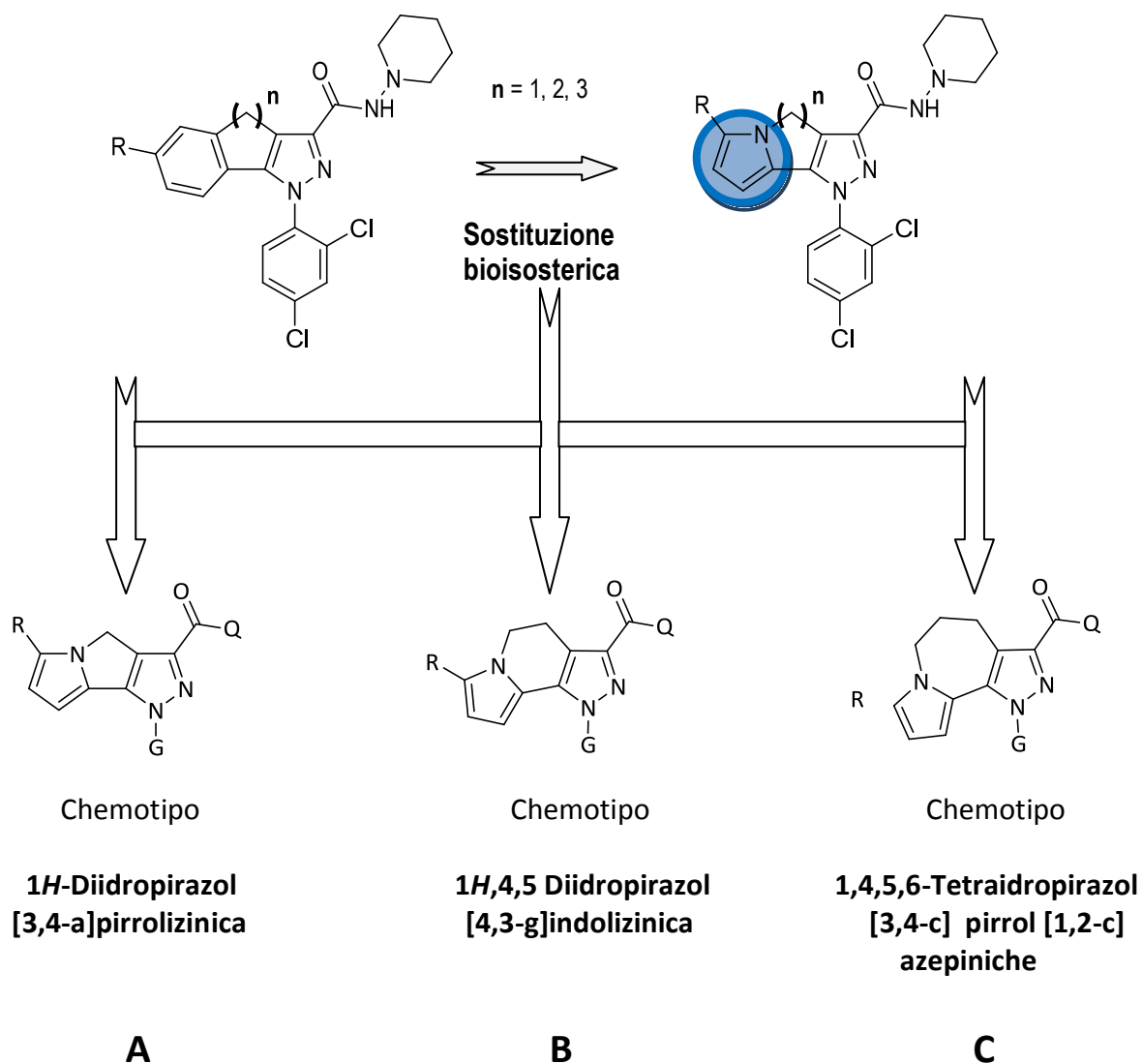
Quindi uno sguardo d'insieme verso i pirazoli triciclici indica alcune interessanti osservazioni. I composti **95a,b** a piattaforma triciclica planare dimostrano eccellente attività verso i recettori CB2 soprattutto quando i sostituenti su N₁, C₃ e C₆ sono rispettivamente un cloro fenile, un carbonile recante alcuni eterocicli azotati e un metile.

L'uso invece di uno scaffold triciclico non coplanare come nei derivati benzocicloeptopirazolici esaltava la CB1 affinità per i composti recanti sul C₈ un atomo di cloro e sul N₁ e C₃ gli stessi sostituenti individuati per la piattaforma planare. In generale questi composti offrono un ampio spettro di CB-attività rendendoli preziosi riferimenti per uno studio di scaffold diversity.

In questo contesto al fine di acquisire nuove informazioni circa i rapporti struttura attività è sembrato interessante sostituire la porzione benzenica fusa sul carbociclo centrale del sistema triciclico di **95**, **96** e **97** con un pirrolo diversamente sostituito per dare nuove piattaforme tricicli che di tipo 1,4-diidropirazol-pirrolizina (**A**, n=1), 1,4,5 diidropirazol[4,3-g]indolizina (**B**, n=2) e 1,4,5,6-tetraidropirazol[3,4-c]pirrol[1,2-c]azepiniche (**C**, n=3).

Il pirrolo è ormai da lungo tempo considerato un efficace bioisostero del benzene con sorprendenti differenze sia per quanto riguarda il lato di fusione allorquando inserito in un sistema condensato sia per la presenza di eventuali sostituenti della posizione α e β asimmetriche tra loro.

I nuovi composti progettati sono oggetto di sintesi in questi tre anni di dottorato.

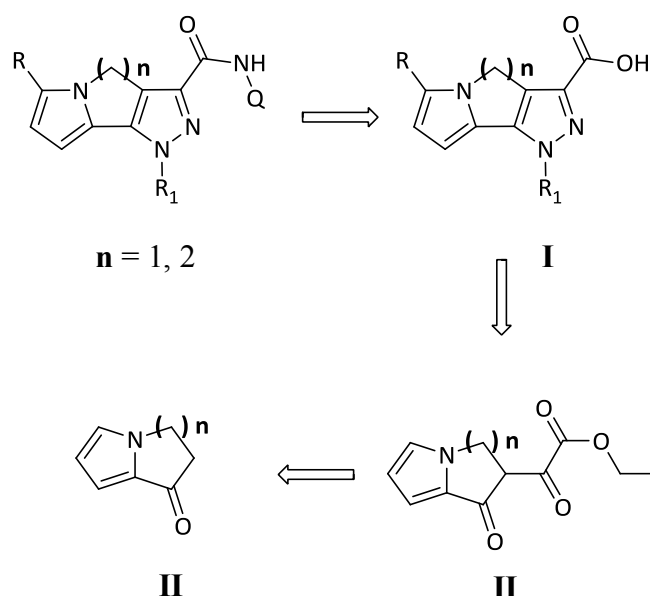


Capitolo 2

Chimica

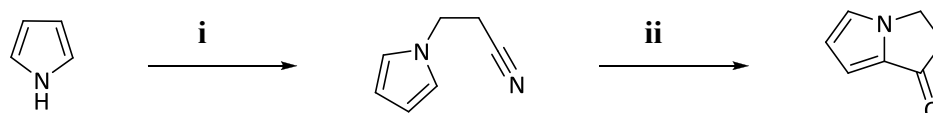
La preparazione delle molecole progettate potrebbe essere realizzata secondo l'analisi retro sintetica proposta nello schema 1 che coinvolge la finale formazione delle ammidi della serie **A**, **B** e **C** per reazione di coupling tra un'ammina Q-NH₂ e un acido a piattaforma triciclica (**I**). La sintesi degli acidi (**I**) era ispirata dal metodo generale di preparazione dei composti della serie benzenica e comporta la conversione di chetoesteri **II** a pirroli tricicli per reazione con appropriate idrazine. La strategia sarebbe facilitata dalla semplice trasformazione del ciclanone **III** di partenza a derivato dichetoestereo (**II**) attraverso una reazione di Claisen.

Schema 1



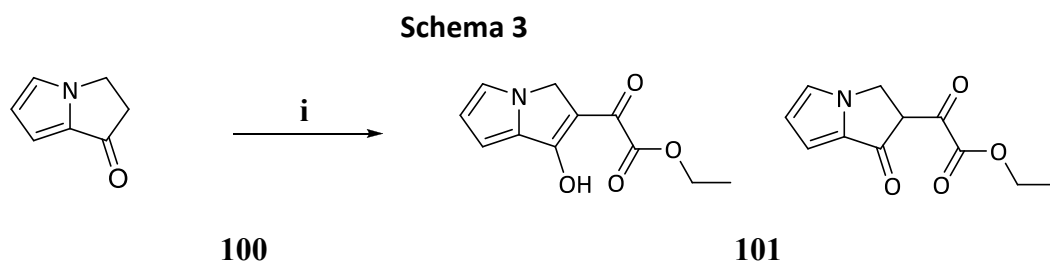
La preparazione del 2,3-diidro-1*H*-pirrolizina **100** partiva dal pirrolo **98** che era alchilato con l'acrilonitrile in presenza di una base ingombrata come il TRITON-B (a basse temperature per dare soddisfacenti rese di pirrolpropionitrile **99**). Il successivo trattamento con AlCl₃, KCl e NaCl a 120°C induceva una reazione di Friedel-Craft intramolecolare che portava al chetone¹⁶¹ **100** con resa del 70%.

Schema 2



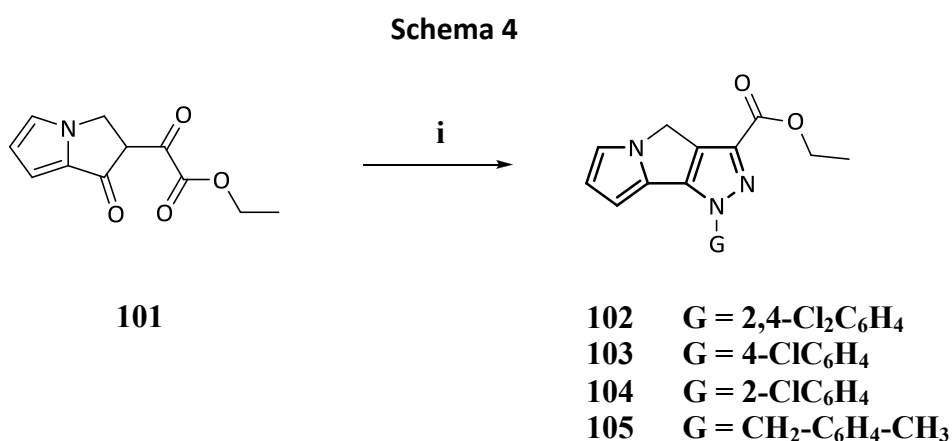
Reattivi e condizioni: i) acrilonitrile, tritor. -20°C , 1,5h; ii) AlCl₃, KCl, NaCl, 120°C , H₂O, 90°C.

La reazione del 2,3-diidro-1*H*-pirrolizinone con dietilossalato in presenza di un equivalente di EtONa forniva il dichetoestere 2-osso-2-(1,osso-2,3-diidro-1*H*-pirrolizin-2-il) etil acetato¹⁶² **101** in rese pari all'80% come miscuglio tautomerico.



Reattivi e condizioni: i) EtOH_{ass}, Na, dietilossalato, temp.amb., 1h.

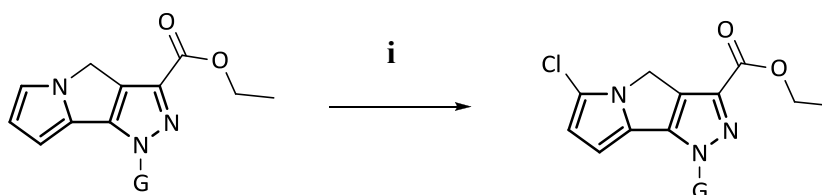
Il miscuglio tautomerico era quindi lasciato reagire con l'opportuna idrazina in EtOH anidro per dare i tricicli 1-(2,4-diclorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizin-3-carbossilato di etile **102**, 1-(4-clorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizin-3-carbossilato di etile **103**, 1-(2-clorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizin-3-carbossilato di etile **104** e 1-(4-metilbenzil)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizin-3-carbossilato di etile **105** in rese che oscillavano tra il 70 e 80%. (Schema 4)¹⁶³.



Reattivi e condizioni: i) 2,4-diclorofenilidrazina o 4-clorofenilidrazina o 2-clorofenilidrazina o 4-metilbenzilidrazina, EtOH_{ass}, 2g, 80°C.

I tricicli **106-109** sostituiti sulla porzione pirrolica erano facilmente accessibili trattando il triciclo non sostituito (**102** e **105**) con *N*-clorosuccinimide (NCS) a 60°C in CHCl₃¹⁶⁴ (schema 5).

Schema 5



102 G = 2,4-Cl₂C₆H₄

103 G = 4-ClC₆H₄

104 G = 2-ClC₆H₄

105 G = CH₂-C₆H₄-CH₃

106 G = 2,4-Cl₂C₆H₄

107 G = 4-ClC₆H₄

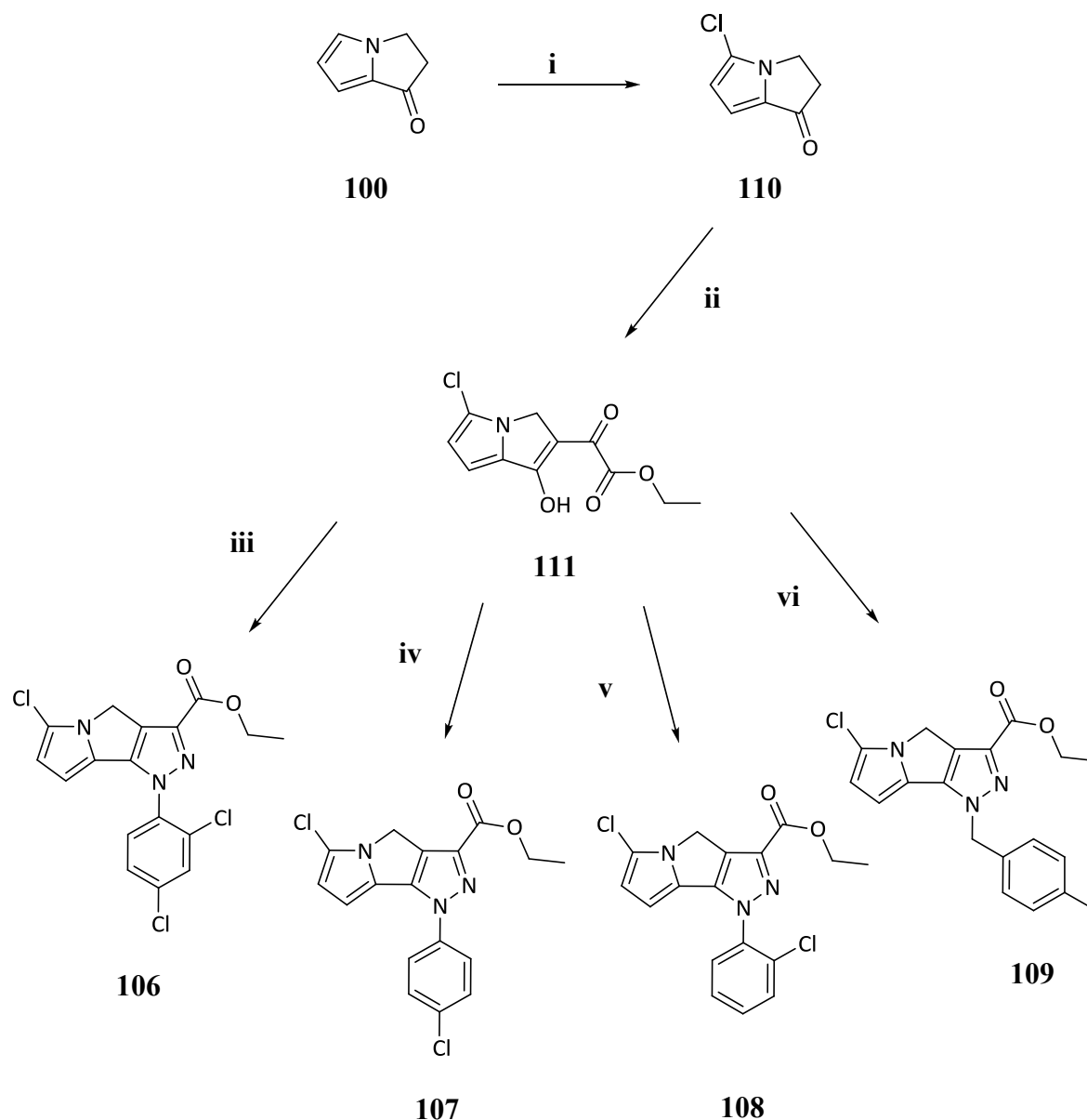
108 G = 2-ClC₆H₄

109 G = CH₂-C₆H₄-CH₃

Reattivi e condizioni: i) NCS, CHCl₃, 60°C, 5h.

Alternativamente, i tricicli alogenati sono stati preparati a partire dal cloro-chetone **110** con una sequenza sintetica che coinvolge la reazione di Claisen (**111**)² e la successiva ciclizzazione con l'appropriata idrazina a 6-cloro-1-(2,4-diclorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossilato di etile **106**, 6-cloro-1-(4-clorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossilato di etile **107**, 6-cloro-1-(2-clorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossilato di etile **108** e 6-cloro-1-(4-metilbenzil)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossilato di etile **109** (Schema 6)³.

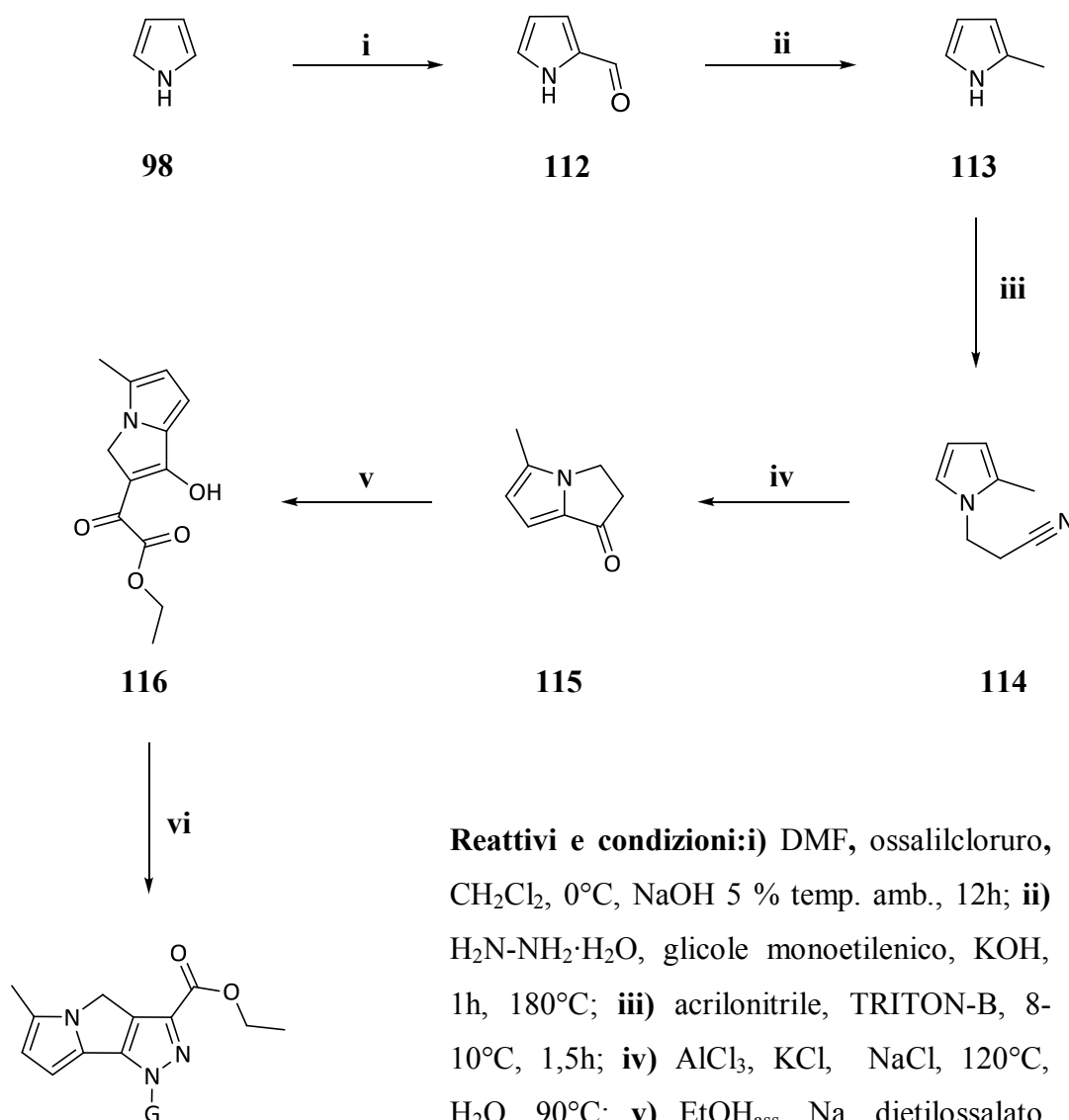
Schema 6



Reattivi e condizioni: **i)** NCS, CHCl_3 , 60°C , 5h; **ii)** EtOH_{ass} , Na, dietilossalato, temp. amb., 1h; **iii)** 2,4-diclorofenilidrazina EtOH_{ass} , 2g, 80°C ; **iv)** 4-diclorofenilidrazina EtOH_{ass} , 2g, 80°C ; **v)** 2-diclorofenilidrazina EtOH_{ass} , 2g, 80°C ; **vi)** 4-metilbenzilidrazina EtOH_{ass} , 2g, 80°C .

La sintesi dei tricicli **117-120** è riassunta nello schema 7. Il 2-metilpirrolo (**113**) era preparato dal pirrolo per trattamento con DMF e ossalilcloruro seguito dalla immediata reazione di riduzione della pirrol-2-carbaldeide secondo Wolff-Kishner. La conversione del 2-metilpirrolo¹⁶⁵ (**123**) nel 3-(2metil-1H-pirrolil)propanitrile **114** e successiva ciclizzazione di Friedel-Craft forniva una affidabile procedura per la sintesi del desiderato chetone 5-metil-2,3-diidro-1H-pirrolizina **115** con rese del 20%¹.

Schema 7

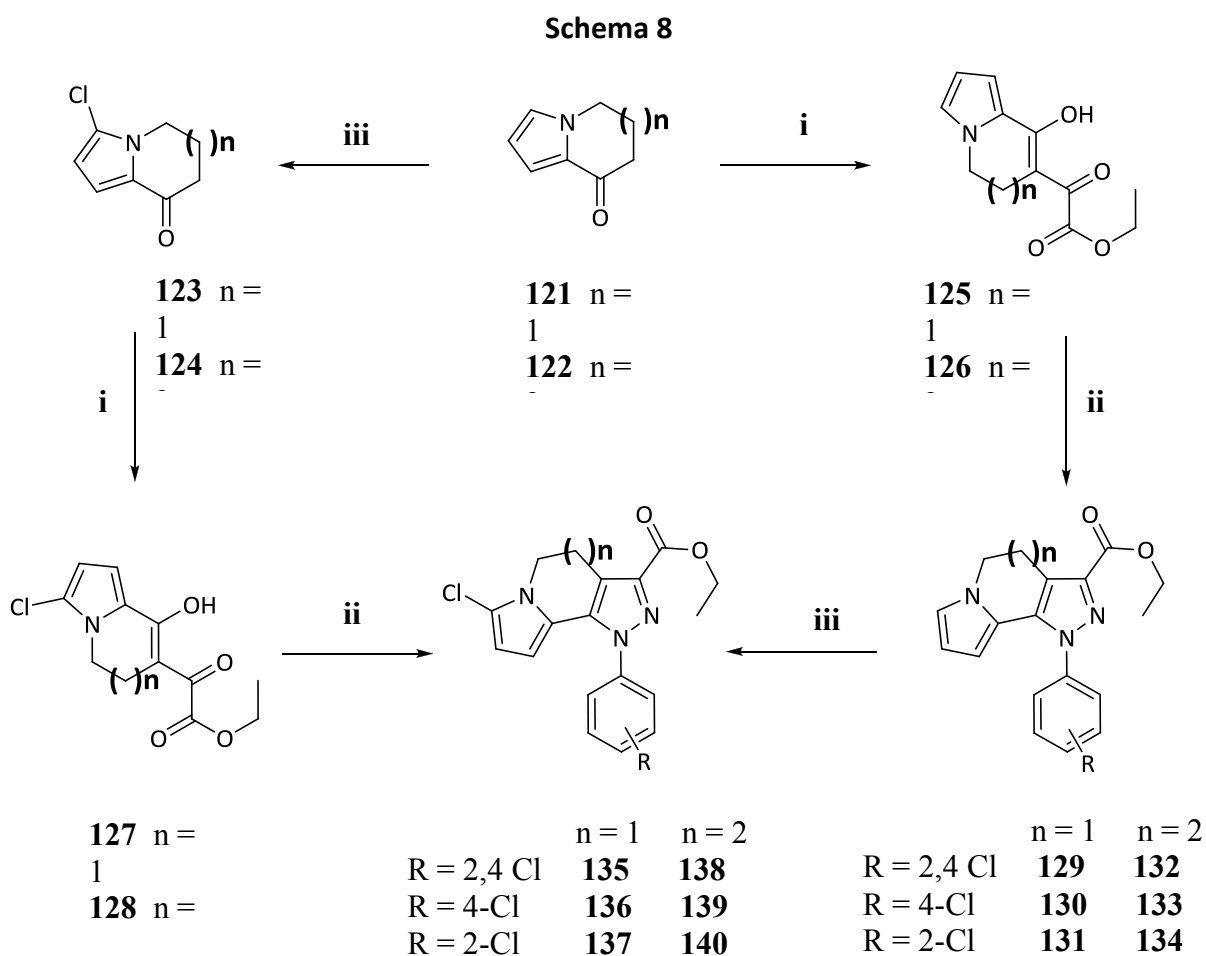


- 117** G = 2,4-Cl₂C₆H₄
118 G = 4-ClC₆H₄
119 G = 2-ClC₆H₄
120 G = CH₂-C₆H₄-CH₃

Reattivi e condizioni: **i**) DMF, ossalilcloruro, CH₂Cl₂, 0°C, NaOH 5 % temp. amb., 12h; **ii**) H₂N-NH₂·H₂O, glicole monoetilenico, KOH, 1h, 180°C; **iii**) acrilonitrile, TRITON-B, 8-10°C, 1,5h; **iv**) AlCl₃, KCl, NaCl, 120°C, H₂O, 90°C; **v**) EtOH_{ass.}, Na, dietilossalato, temp. amb., 1h **vi**) 2,4-diclorofenilidrazina o 4-clorofenilidrazina o 2-clorofenilidrazina o 4-metilbenzilidrazina EtOH_{ass.}, 2g, 80°C.

L'acilazione del chetone **115** utilizzando ossalato di etile dava il dichetoestere **116**² che era ciclizzato con l'appropriata fenilidrazina a 1-(2,4-diclorofenil)-6-metil-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizin-3-carbossilato di etile **117**, 1-(4-clorofenil)-6-metil-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizin-3-carbossilato di etile **118**, 1-(2-clorofenil)-6-metil-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizin-3-carbossilato di etile **119** e 1-(4-metilbenzil)-6-metil-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizin-3-carbossilato di etile **120**³.

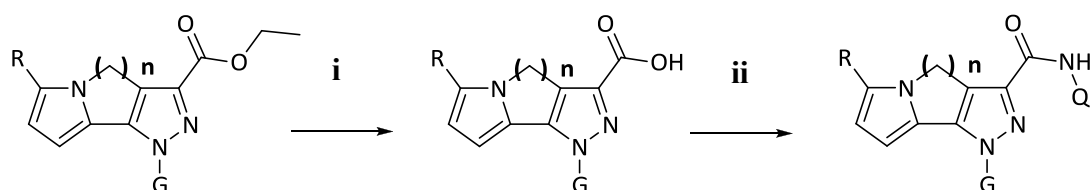
Una procedura sequenziale similare era impiegata per la preparazione dei derivati pirazolindolizini e pirazolpirrolazepinici (schema 8). In accordo, la condensazione dei chetoni 6,7-diidroindolizin-8(4*H*)-one¹⁶⁶ **121**, 7,8-didro-5*H*-pirrolo[1,2*a*]azepin-9(6*H*)-one¹⁶⁷ **122**, 3-cloro-6,7-diidroindolizin-8(4*H*)-one **123** e 4-cloro-7,8-didro-5*H*-pirrolo[1,2*a*]azepin-9(6*H*)-one **124** con ossalato di etile forniva i dichetoesteri² **125-128** in buone rese. La ciclizzazione di **125-128** con le appropriate idrazine portava ai derivati tricicli **129-140**³. I composti triciclici **135-140** erano alternativamente preparati facendo reagire i tricicli **129-134** con *N*-clorosuccinimide in soluzione cloroformica.



Reattivi e condizioni: i) EtOH_{ass}, Na, dietilossalato, temp. amb., 1h; ii) 2,4-diclorofenilidrazina o 4-clorofenilidrazina o 2-clorofenilidrazina o 4-metilbenzilidrazina, EtOH_{ass}, 7h, 80°C; iii) NCS, CHCl₃, 60°C, 5h.

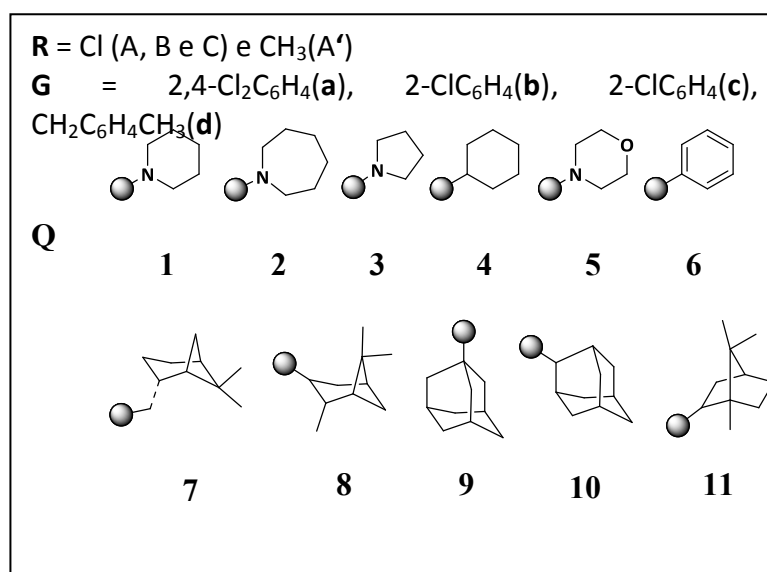
Gli esteri **106-109**, **117-120** e **135-137** e **138-140** erano idrolizzati con LiOH in soluzione di tetraidrofurano e H₂O ad acidi **141-144**, **145-148** e **149-151** e **152-154**¹⁶⁸ che attivati con N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimmidecloridrata (EDC) e idrossibenzotriazolo (HOBT) producevano per reazione con la desiderata ammina, le ammidi **Aa1-11**, **Ab1-11**, **Ac1-11**, **Ad1-11**, **A'a1-11**, **A'b1-11**, **A'c1-11**, **A'd1-11**, **Ba1-7**, **Bb1-7**, **Bc1-7**, **Ca1-7**, **Cb1-7**, **Cc1-7**³ in modeste rese (schema 9).

Schema 9



	n = 1		n = 2		n = 3		n = 1		n = 2		n = 3		
R	Cl	CH ₃	Cl	Cl	Cl	CH ₃	Cl	Cl	Cl	Cl	Cl		
G = 2,4-Cl₂C₆H₃	106	117	135	138	141	145	149	152	142	146	150	153	Aa1-11; Ab1-11; Ac1-11; Ad1-11; A'a1-11; A'b1-11; A'c1-11; A'd1-11; Ba1-7; Bb1-7; Bc1-7 Ca1-7; Cb1-7; Cc1-7
G = 4-Cl C₆H₄	107	118	136	139	142	146	150	153	143	147	151	154	
G = 2-Cl C₆H₄	108	119	137	140	143	147	151	154	144	148			
G = CH₂-C₆H₄-CH₃	109	120											

Reattivi e condizioni: i) LiOH 0,8M, THF, 3h, 66°C; ii) EDC, HOBT, ammina, CH₂Cl₂.



Capitolo 3

3.1 – Parte Sperimentale Chimica

Procedure generali.

I punti di fusione venivano determinati con l'apparecchio Kopfler e non sono stati corretti.

Per la cromatografia su strato sottile venivano utilizzate lastre di gel di silice del tipo Poligram® SIL N-HR/HV₂₅₄ e SIL G-25 UV₂₅₄.

I composti venivano purificati sgranandoli con opportuni solventi, per cromatografia (70-230 mesh ASTM) o per flash cromatografia (FC) su gel di silice (SiO₂) Merck® 60 (230-400 mesh ASTM) o Biotage (Flash Master Personal), eluendo con miscele appropriate di solventi.

Gli spettri infrarossi (IR) degli oli venivano registrati in film, mentre quelli dei solidi in emulsione con nujol o in film da soluzioni cloro formiche su lenti di NaCl, utilizzando uno spettrofotometro Jasco FT/IR 460 plus e gli assorbimenti venivano indicati in numeri d'onda ν (cm⁻¹).

Gli spettri H-NMR venivano registrati a temperatura ambiente con uno spettrofotometro tipo Varian Unity-200, utilizzato a 200 MHz e usando come standard interno il TMS.

I chemical shifts erano espressi in unità δ o ppm e le costanti di accoppiamento J in Hz.

Le molteplicità venivano indicate come s (singoletto), brs (singoletto allargato), d (doppietto), t (tripletto), dd (doppio doppietto), dt (doppio tripletto), m (multipletto). I dati spettroscopici concordavano con le strutture attribuite.

Le analisi elementari venivano eseguite presso il laboratorio di Microanalisi, Dipartimento di Chimica, presso l'Università degli Studi di Sassari e fornivano valori compresi nell'intervallo del $\pm 0.4\%$ rispetto ai valori teorici.

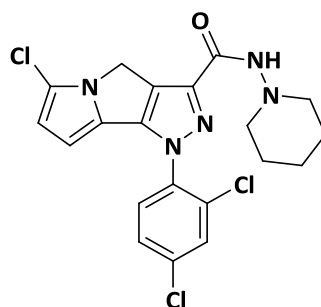
Tutte le reazioni che impiegavano reagenti sensibili all'aria o all'umidità venivano eseguite in atmosfera inerte di azoto o di argon.

Tutti i materiali, i solventi, i reagenti, i precursori e le ammine necessarie per la preparazione dei composti finali venivano acquistati da fornitori specializzati.

Metodo generale I: preparazione delle ammidi Aa1-11, Ab1-11, Ac1-11, Ad1-11, A'a1-11, A'b1-11, A'c1-11, A'd1-11, Ba1-7, Bb1-7, Bc1-7, Ca1-7, Cb1-7 e Cc1-7

Ad una soluzione dell'acido **141-144, 145-148, 149-151 e 152-154** in CH₂Cl₂ (15 ml per mmol) sono stati addizionati HOBt x H₂O (1,2mmol) ed EDC (1,2 mmol). La miscela è stata lasciata in agitazione a temperatura ambiente per 1 ora, quindi è stata addizionata l'appropriata ammina (2 mmol). La soluzione è stata lasciata in agitazione a temperatura ambiente per 12 ore, quindi spenta con H₂O. La fase organica è stata lavata più volte con acqua, seccata, concentrata a pressione ridotta per dare un residuo semisolido. Il residuo è stato purificato per flash cromatografia (SiO₂) e sgranato con una miscela etere di petrolio/etere etilico per ottenere i desiderati composti **Aa1-11, Ab1-11, Ac1-11, Ad1-11, A'a1-11, A'b1-11, A'c1-11, A'd1-11, Ba1-7, Bb1-7, Bc1-7, Ca1-7, Cb1-7 e Cc1-7**.

6-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Aa1**

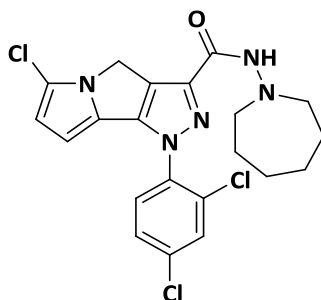


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **141** con la *N*-amminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Aa1** come un solido arancio.

Rf	0.21 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	60 %
Pf	170-172.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.30-1.50 (m, 2H), 1.60.1.80 (m, 4H), 2.80-3.00 (m, 2H), 4.91 (s, 2H), 5.92 (d, 1H, J=3.8 Hz), 6.08 (d, 1H, J=3.6 Hz), 7.30-7.40 (m, 1H), 7.42 (d, 1H, J=8.6 Hz), 7.53 (d, 1H, J=8.6 Hz), 7.62 (s, 1H)

6-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(omopiperidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Aa2**

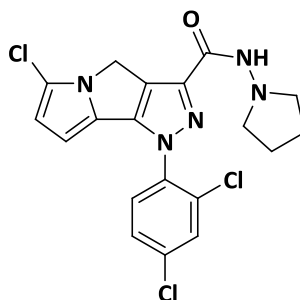


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **141** con la *N*-omoamminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Aa2** come un solido

Rf	0.25 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	65 %
Pf	167-168.2°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.50-1.90 (m, 8H), 3.00-3.30 (m, 4H), 4.89 (s, 2H), 5.92 (d, 1H, J=3.8 Hz), 6.09 (d, 1H, J=3.6 Hz), 7.30-7.40 (m, 1H), 7.42 (d, 1H, J=8.6 Hz), 7.53 (d, 1H, J=8.6 Hz), 7.62 (s, 1H)

6-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(pirrolidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Aa3**

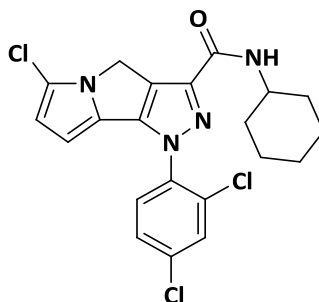


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **141** con la *N*-pirrolidina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Aa3** come un solido arancio chiaro sottile.

Rf	0.20 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	69 %
Pf	141-143.2°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.92 (s, 4H), 3.02 (s, 4H), 4.93 (s, 2H), 5.92 (d, 1H, J=3.8 Hz), 6.08 (d, 1H, J=3.8 Hz), 7.43 (dd, 1H, J=8.6 e 2.0 Hz), 7.53 (d, 1H, J=8.6 Hz), 7.54 (s,1H), 7.62 (d, 1H, J=2.0 Hz)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	22.2, 45.4, 55.6, 100.6, 109.3, 115.9, 118.0, 125.1, 125.5, 128.1, 128.8, 130.6, 135.4, 135.8, 141.0, 144.4., 159.1

6-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(cicloesil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Aa4**

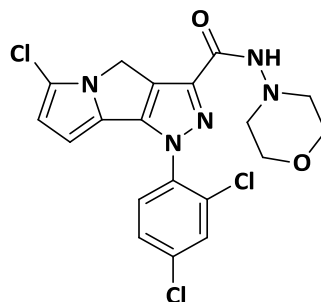


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **141** con la cicloesilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Aa4** come un solido marroncino chiaro.

Rf	0.61 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	65 %
Pf	194-196.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.00-1.60 (m, 4H), 1.40-1.90 (m,4H), 1.90-2.10 (m, 2H), 3.90-4.05 (m, 1H), 4.91 (s, 2H), 5.92 (s, 1H), 6.07 (s, 1H), 6.60-6.70 (m, 1H), 7.20-7.60 (m, 3H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	24.9, 25.5, 33.1, 45.4, 48.2, 100.5, 109.2, 115.8, 124.8, 125.7, 128.1, 128.8, 130.6, 135.7, 141.9, 160.0

6-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(morfolin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Aa5**

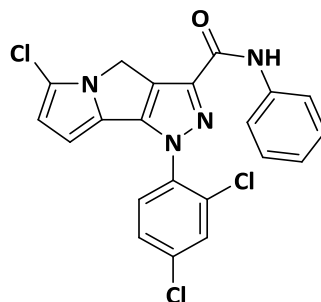


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **141** con la *N*-amminomorfolina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Aa5** come un solido giallastro.

Rf	Etp AcOEt 8 : 2
Resa	55 %
Pf	115-117°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	3.80 (s, 6H), 4.30-4.40 (m, 2H), 4.90 (s, 2H), 5.94 (d, 1H, J=3.6 Hz), 6.08 (d, 1H, J=3.6 Hz), 7.41 (d, 1H, J=7.0 Hz), 7.50 (d, 1H, J=9.0 Hz), 7.61 (s, 1H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	45.8, 100.1, 109.1, 118.1, 127.8, 128.1, 130.8, 135.6, 141.3, 144.5, 160.2

6-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(anilin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Aa6**

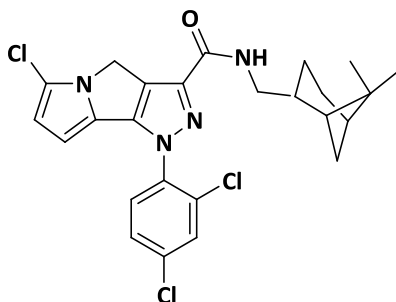


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **141** con l'anilina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Aa6** come un solido rossastro.

Rf	0.25 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	65 %
Pf	217-220.2°C
^1HNMR (200 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	4.97 (s, 2H), 5.96 (s, 1H), 6.11 (s, 1H), 7.10-7.20 (m, 1H), 7.20-7.80 (m, 6H), 7.37 (t, 2H, $J=7.0$ Hz)

6-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(mirtanil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Aa7**

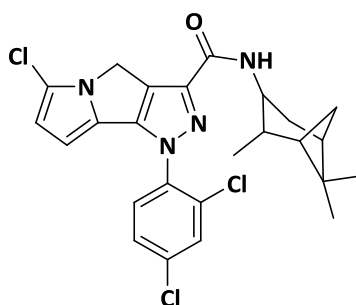


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **141** con la *N*-mirtanilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:5 per ottenere **Aa7** come un solido marroncino.

Rf	0.55 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	55 %
Pf	250-253°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.08 (s, 3H), 1.20 (s, 3H), 1.40-2.00 (m, 7H), 2.10-2.40 (m, 2H), 3.30-3.50 (m, 2H), 4.91 (s, 2H), 5.92 (d, 1H, J=3.6 Hz), 6.08 (d, 1h, J=4.0 Hz), 6.85-7.00 (m, 1H), 7.43 (d, 1H, J=8.8 Hz), 7.53 (d, 1H, J=8.8 Hz), 7.72 (s, 1H)
[α]_D	-2.41°(CHCl ₃ c=0.1678, t=20°C)

6-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(isopinocafenil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Aa8**

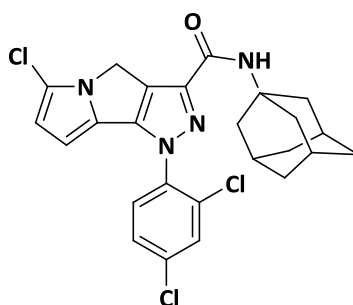


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **141** con la isopinocanfenilammina nel desiderato prodotto finale

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Aa8** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.60 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	55 %
Pf	196-197°C
$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	0.80-1.00 (m, 1H), 1.10 (s, 3H), 1.18 (d, 3H, $J=7.4$ Hz), 1.25 (s, 3H), 1.60-1.80 (m, 2H), 1.80-2.05 (m, 2H), 2.34-2.45 (m, 1H), 2.55-2.78 (m, 1H), 4.40-4.60 (m, 1H), 4.93 (s, 2H), 5.94 (s, 1H), 6.08 (s, 1H), 6.80 (d, 1H, $J=6.2$ Hz), 7.40-7.70 (m, 3H)
$[\alpha]_D$	-13.79° (CHCl_3 $c=0.0870$, $t=20^\circ\text{C}$)

6-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(adamantan-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Aa9**

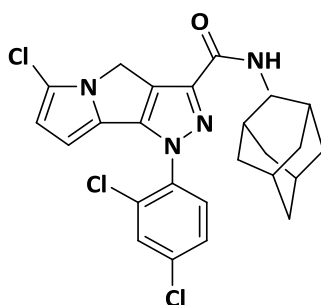


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **141** con la *N*-adamantanammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Aa9** come un solido arancio.

Rf	Etp AcOEt 8 : 2
Resa	65 %
Pf	190-192°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.72 (s, 6H), 2.14 (s, 9H), 4.90 (s, 2H), 5.91 (d, 1H, J=3.6 Hz), 6.08 (d, 1H, J=3.6 Hz), 6.64 (s, 1H), 7.72 (dd, 1H, J=11.6 e 2.2 Hz), 7.58 (d, 1H, J=11.6 Hz), 7.62 (d, 1H, J=2.2 Hz)

6-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(2-adamantan-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Aa10**

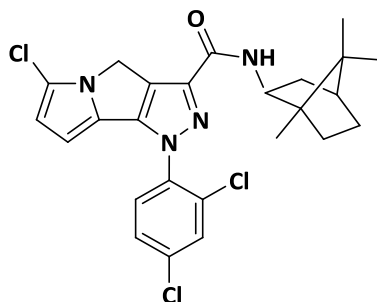


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **141** con la 2-*N*-adamantanammina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Aa10** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.62 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	60 %
Pf	166-168°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.60-2.00 (m, 14H), 4.10-4.15 (m, 1H), 4.91 (s, 2H), 5.93 (d, 1H, J=3.6 Hz), 6.08 (d, 1H, J=4.0 Hz), 7.26 (d, 1H, J=9.4 Hz), 7.42 (dd, 1H, J=8.4 e 2.2 Hz), 7.55 (d, 1H, J=8.6 Hz), 7.62 (d, 1H, J=1.8 Hz)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	27.1, 27.2, 31.9, 32.0, 37.1, 37.5, 45.4, 53.2, 100.5, 109.2, 115.8, 124.7, 125.7, 128.1, 128.9, 130.5, 135.6, 142.0, 144.4, 160.2

6-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(bornil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Aa11**

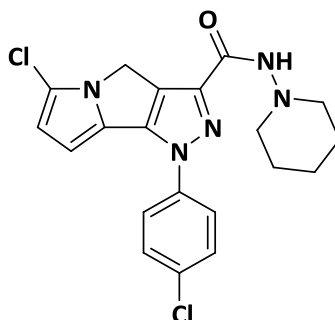


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **141** con la *N*-bornilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Aa11** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.58 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	62 %
Pf	175-176°C
^1HNMR (200 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	0.90 (s, 6H), 1.00 (s., 3H), 1.20-1.50 (m, 3H), 1.50-1.80 (m, 3H), 2.25-2.45 (m, 1H), 4.35-4.46 (m, 1H), 4.91 (s, 2H), 5.93 (d, 1H, $J=3.4$ Hz), 6.08 (d, 1H, $J=3.2$ Hz), 6.92 (d, 1H, $J=9.2$ Hz), 7.44 (d, 2H, $J=8.0$ Hz), 7.54 (s, 1H), 7.62 (d, 2H, $J=8.0$ Hz)
^{13}CNMR (50 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	13.8, 18.6, 19.8, 28.0, 37.4, 45.4, 48.2, 49.8, 109.2, 115.8, 124.7, 125.7, 128.1, 128.9, 130.5, 161.1
$[\alpha]_D$	-2.11° (CHCl_3 c=0.0888, t=20°C)

6-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ab1**



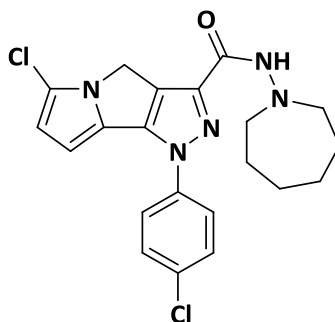
Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con la *N*-amminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Ab1** come un solido arancio.

Rf	0.18 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	55 %
Pf	148-150.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.40-1.60 (m, 2H), 1.77-1.89 (m, 4H), 2.91 (t, 4H, J=5.4 Hz), 4.90 (s, 2H), 6.15 (d, 1H, J=4.0 Hz), 6.26 (d, 1H, J=3.8 Hz), 7.51 (d, 1H, J=9.0 Hz), 7.64 (s, 1H), 7.76 (d, 1H, J=8.8 Hz)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	24.1, 29.5, 29.6, 31.0, 33.7, 45.1, 56.6, 100.9, 109.2, 118.0, 121.1, 122.9, 124.1, 126.7, 129.7, 144.8, 158.7, 178.9

Ùù

6-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(omopiperidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ab2**

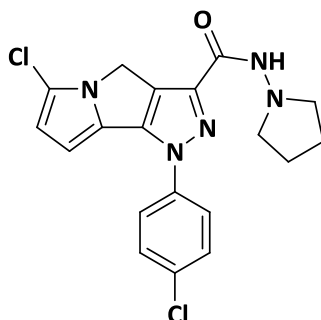


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con la *N*-omoamminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Ab2** come un solido

Rf	0.24 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	70 %
Pf	148-150°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.52-1.90 (m, 8H), 3.16-3-27 (m, 4H), 4.90 (s, 2H), 6.14 (d, 1H, J=3.2 Hz), 6.26 (d, 1H, J=3.6 Hz), 7.51 (d, 2H, J=8.6 Hz), 7.75 (d, 2H, J=8.6 Hz), 8.11 (s, 1H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	26.3, 27.0, 45.2, 58.3, 100.8, 109.1, 116.4, 118.1, 121.1, 125.7, 126.3, 129.7, 133.0, 137.8, 140.6, 158.7

6-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(pirrolidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ab3**

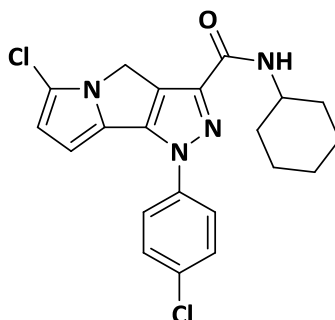


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con la *N*-pirrolidina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Ab3** come un solido arancio chiaro sottile.

Rf	0.23 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	90 %
Pf	190-192°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.92-1.97 (m, 4H), 2.97-3.16 (m, 4H), 4.91 (s, 2H), 6.15 (d, 1H, J=4.0 Hz), 6.26 (d, 1H, J=3.8 Hz), 7.51 (d, 2H, J=9.0 Hz), 7.63 (s, 1H), 7.75 (d, 2H, J=9.0 Hz)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	22.2, 45.2, 55.6, 100.8, 109.1, 116.4, 118.0, 121.1, 125.7, 126.3, 133.1, 137.8, 140.5, 141.3, 159.1

6-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(cicloesil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ab4**

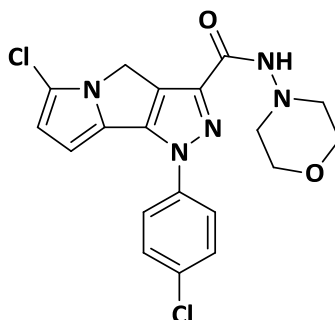


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con la cicloesilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ab4** come un solido marroncino chiaro.

Rf	0.40 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	42 %
Pf	146.5-147°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.20-2.20 (m, 10H), 3.90-4.16 (m, 1H), 4.89 (s, 2H), 6.14 (d, 1H, J=3.4 Hz), 6.26 (d, 1H, J=3.6 Hz), 6.81 (d, 1H, J=8.6 Hz), 7.51 (d, 2H, J=8.6 Hz), 7.76 (d, 2H, J=8.6 Hz)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	24.9, 25.5, 33.2, 45.2, 48.2, 100.8, 109.1, 118.3, 121.1, 125.8, 139.2, 141.4, 160.1

6-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(morfolin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ab5**

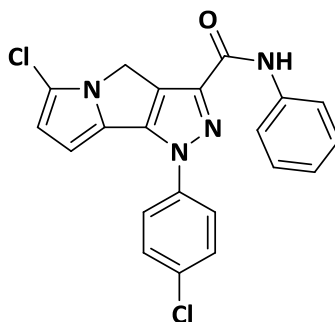


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con la *N*-amminomorfolina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Ab5** come un solido giallastro.

Rf	0.16 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	038 %
Pf	223-223.7°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	3.00 (t, 4H, J=4.4 e 4.6 Hz), 3.89 (t, 4H, J=4.8 e 4.6 Hz), 4.90 (s, 2H), 6.15 (d, 1H, J=3.8 Hz), 6.27 (d, 1H, J=4.0 Hz), 7.52 (d, 2H, J=8.6 Hz), 7.73 (s, 1H), 7.76 (d, 2H, J=8.8 Hz)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	45.1, 56.1, 66.4, 101.0, 109.2, 116.5, 118.0, 121.2, 125.6, 126.4, 133.2, 137.7, 140.2, 141.5, 158.5

6-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(anilin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ab6**

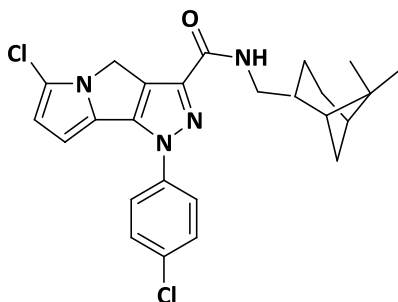


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con l'anilina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ab6** come un solido rossastro.

Rf	0.55 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	30 %
Pf	205-206°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	4.95 (s, 2H), 6.17 (d, 1H, J=3.4 Hz), 6.29 (d, 1H, J=3.6 Hz), 7.16 (t, 1H, J=7.0 Hz), 7.39 (t, 2H, J=7.8 Hz), 7.54 (d, 2H, J=9.0 Hz), 7.72 (d, 2H, J=7.8 Hz), 7.80 (d, 2H, J=8.4 Hz), 8.69 (s, 1H)

6-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(mirtanil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ab7**

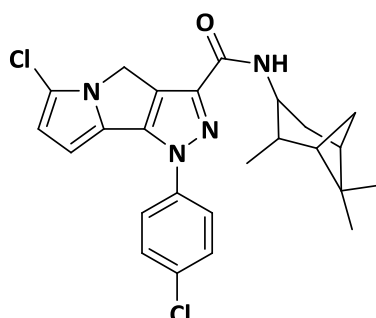


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con la *N*-mirtanilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:5 per ottenere **Ab7** come un solido marroncino.

Rf	0.55 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	53 %
Pf	155-156.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	0.80-1.00 (m, 1H) 1.10 (s, 3H), 1.21 (s, 3H), 1.45-1.65 (m, 3H), 1.80-2.10 (m, 3H), 2.25-2.40 (m, 2H), 3.38-3.50 (m, 2H), 4.90 (s, 2H), 6.14 (s, 1H), 6.25 (s,1H), 6.90-7.00 (m, 1H), 7.51 (d, 1H, J=8.6 Hz), 7.75 (d, 1H, J=8.6 Hz)
[α]_D	-8.59° (CHCl ₃ c=0.1892, t=20°C)

6-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(isopinocafenil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ab8**

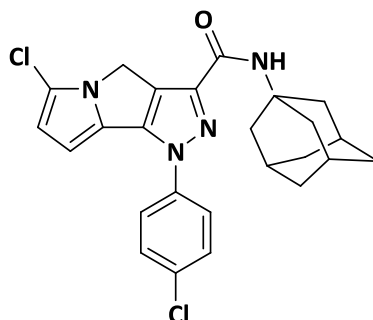


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con la isopinocafenilammina nel desiderato prodotto finale

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ab8** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.57 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	35 %
Pf	234-235°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	0.80-1.00 (m, 2H), 1.10 (s, 3H), 1.19 (d, 3H, J=7.2 Hz), 1.26 (s, 3H), 1.50-2.10 (m, 4H), 2.38-2.60 (m, 1H), 2.60-2.80 (m, 1H), 4.40-4.60 (m, 1H), 4.91 (s, 2H) 6.14 (d, 1H, J=3.8 Hz), 6.26 (d, 1H, J=3.6 Hz), 6.83 (d, 1H, J=9.8 Hz), 7.52 (d, 2H, J= 8.6 Hz), 7.77 (d, 2H, J=9.0 Hz)
[α]_D	-13.41° (CHCl ₃ c=0.1606, t=20°C)

6-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(adamantan-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ab9**

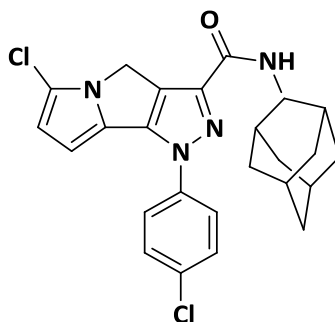


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con la *N*-adamantanammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ab9** come un solido arancio.

Rf	0.62 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	33 %
Pf	206-207.2°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.50-1.90 (m, 8H), 2.16 (s, (H), 4.88 (s, 2H), 6.13-6.15 (m, 1H), 6.22-6.26 (m, 1H), 7.51 (d, 2H, J=8.4 Hz), 7.75 (d, 2H, J=8.6 Hz)

6-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(2-adamantan-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ab10**

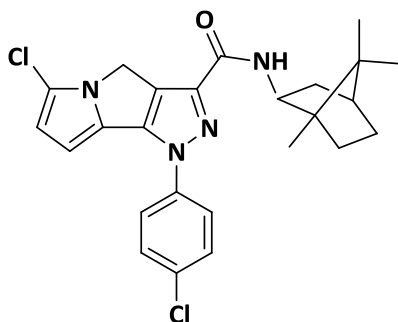


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con la 2-*N*-adamantanammina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ab10** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.61 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	36 %
Pf	220-222°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.60-2.10 (m, 15H), 4.25 (d, 1H, J=8.2 Hz), 4.89 (s, 2H), 6.15 (d, 1H, J=4.0 Hz), 6.27 (d, 1H, 3.8 Hz), 7.30 (d, 1H, 8.2 Hz), 7.51 (d, 2H, J=9.0 Hz), 7.77 (d, 2H, J=8.8 Hz)

6-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(bornil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ab11**

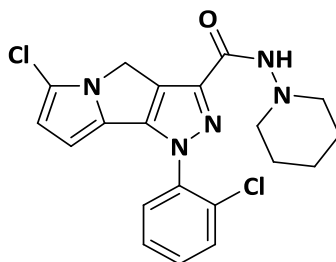


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con la *N*-bornilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ab11** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.57 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	71 %
Pf	175.6-177°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	0.91 (s, 6H), 1.01 (s, 3H), 1.20-1.40 (m, 3H), 1.40-1.80 (m, 3H), 2.25-2.45 (m, 1H), 4.36-4.45 (m, 1H), 4.89 (s, 2H), 6.14 (d, 1H, J=3.6 Hz), 6.26 (d, 1H, J=3.6 Hz), 6.97 (d, 1H, J=9.6 Hz), 7.52 (d, 2H, J=9.0 Hz), 7.78 (d, 2H, J=8.8 Hz)
[α]_D	-2.67° (CHCl ₃ c=0.2169, t=20°C)

6-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ac1**

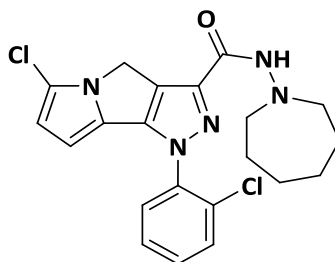


Ottenuto secondo metodo generale **I** per condensazione del dell'acido **142** con la *N*-amminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Ac1** come un solido arancio.

Rf	0.20 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	0.30 %
Pf	95-97.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.37-1.45 (m, 2H), 1.65-1.90 (m, 4H), 2.87 (t, 4H, J=5.2 e 5.4 Hz), 4.92 (s, 2H), 5.91 (d, 1H, J=3.8 Hz), 6.07 (d, 1H, J=3.6 Hz), 7.40-7.65 (m, 5H)

6-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(omopiperidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ac2**

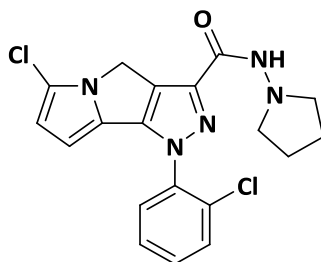


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con la *N*-omoamminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Ac2** come un solido

Rf	0.36 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	33 %
Pf	90.1-92°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.60-1.80 (m, 10H), 3.10-3.30 (m, 4H), 4.93 (s, 2H), 5.91 (d, 1H, J=4.0 Hz), 6.06 (d, 1H, J=3.6 Hz), 7.35-7.60 (m, 4H), 8.07 (bs, 1H)

6-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(pirrolidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ac3**

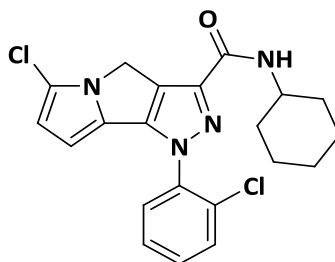


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con la *N*-pirrolidina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Ac3** come un solido arancio chiaro sottile.

Rf	0.30 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	30 %
Pf	163.4-165.9°C
$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	1.90-1.97 (m, 4H), 2.95-3.05 (m, 4H), 4.94 (s, 2H), 5.91 (d, 1H, $J=3.6$ Hz), 6.07 (d, 1H, $J=3.8$ Hz), 7.38-7.65 (m, 5H)
$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	22.2, 45.5, 55.6, 100.5, 109.2, 124.9, 125.8, 127.8, 128.1, 129.8, 130.5, 130.8, 159.3

6-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(cicloesil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ac4**

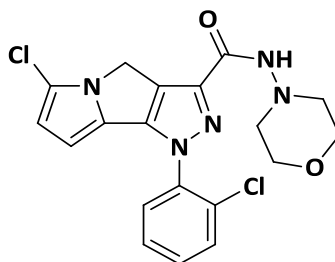


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con la cicloesilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ac4** come un solido marroncino chiaro.

Rf	0.48 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	34 %
Pf	85-86.1
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.05-1.50 (m, 4H), 1.50-1.90 (m, 4H), 1.90-2.05 (m, 2H), 3.80-4.00 (m, 1H), 4.92 (s, 2H), 5.91 (d, 1H, J=3.8 Hz), 6.06 (d, 1H, J=3.6 Hz), 6.85 (d, 1H, J=7.8 Hz), 7.38-7.62 (m, 5H)

6-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(morfolin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ac5**

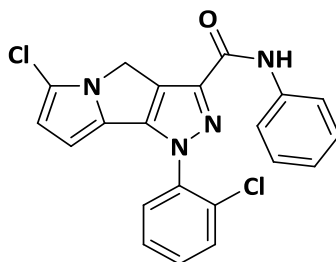


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con la *N*-amminomorfolina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Ac5** come un solido giallastro.

Rf	0.20 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	30 %
Pf	166.7-168°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.97 (s, 4H), 3.87 (s, 4H), 4.93 (s, 2H), 5.92 (s, 1H), 6.08 (s, 1H), 7.30-7.80 (m, 5H)

6-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(anilin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ac6**

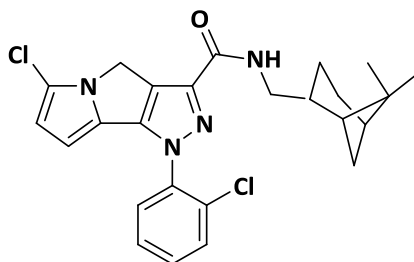


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con l'anilina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ac6** come un solido rossastro.

Rf	Etp AcOEt 8 : 2
Resa	44 %
Pf	201-205°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	4.97 (s, 2H), 5.94 (d, 1H, J=4.0 Hz), 6.9 (d, 1H, J=4.0 Hz), 7.35 (dd, 1H, J=6.8, 7.6 Hz), 7.20-7.80 (m, 8H), 8.71 (s, 1H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	45.4, 100.7, 109.3, 115.9, 118.0, 119.7, 124.3, 124.7, 125.7, 127.8, 128.0, 129.0, 129.8, 130.6, 130.9, 136.7, 137.5, 141.4, 160.0

6-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(mirtanil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ac7**

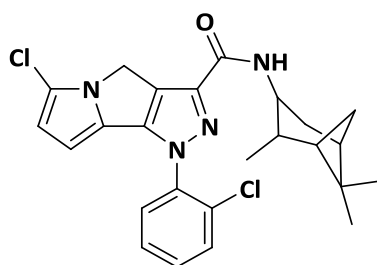


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con la *N*-mirtanilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:5 per ottenere **Ac7** come un solido marroncino.

Rf	0.60 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	92.5-94°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	0.80-1.00 (m, 2H), 1.09 (s, 3H), 1.20 (s, 3H), 1.40-2.00 (m, 5H), 2.10-2.30 (m, 2H), 3.30-3.60 (m, 2H), 4.94 (s, 2H), 5.91 (s, 1H), 6.07 (s, 1H), 6.90-7.05 (m, 1H), 7.20-7.60 (m, 4H)
[α]_D	-1.46° (CHCl ₃ c=0.1918, t=20°C)

6-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(isopinocafenil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ac8**

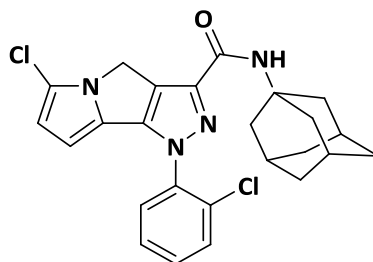


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con la isopinocafenilammina nel desiderato prodotto finale

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ac8** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.60 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	178.9-181.2°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	0.80-1.05 (m, 2H), 1.10 (s, 3H), 1.18 (d, 1H, J=7.6 Hz), 1.25 (s, 3H), 1.60-1.80 (m, 1H), 1.80-2.00 (m, 2H), 2.30-2.50 (m, 1H), 1.58-1.77 (m, 1H), 4.40-4.60 (m, 1H), 4.93 (s, 2H), 5.93 (d, 1H, J=3.8 Hz), 6.07 (d, 1H, J=3.6 Hz), 6.83 (d, 1H, J=8.0 Hz), 7.38-7.70 (m, 4H)
[α]_D	-19.16° (CHCl ₃ c=0.1456, t=20°C)

6-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(adamantan-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ac9**

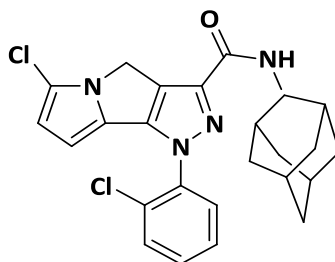


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con la *N*-adamantanammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ac9** come un solido arancio.

Rf	0.60 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	50 %
Pf	185.1-186.4°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.72 (s, 6H), 2.14 (s, 9H), 4.91 (s, 2H), 5.90 (d, 1H, J=3.6 Hz), 6.06 (d, 1H, J=4.0 Hz), 6.67 (s, 1H), 7.40-7.65 (m, 4H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	29.4, 36.3, 41.6, 45.4, 52.1, 100.4, 109.0, 115.6, 124.6, 125.9, 127.7, 128.1, 129.7, 130.3, 130.8, 136.8, 142.4, 144.4, 160.3

6-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(2-adamantan-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ac10**

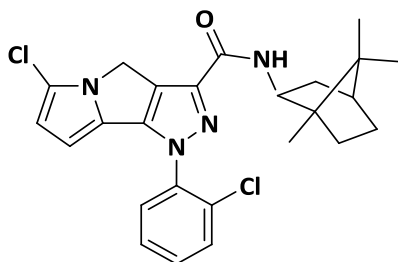


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con la 2-*N*-adamantanammina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ac10** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.58 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	48 %
Pf	80.1-82°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.60-2.10 (m, 14H), 4.20-4.30 (m, 1H), 4.92 (s, 2H), 5.12 (d, 1H, J=3.8 Hz), 6.07 (d, 1H, J=3.6 Hz), 7.29 (d, 1H, J=9.2 Hz), 7.40-7.70 (m, 4H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	27.2, 27.3, 31.9, 32.0, 37.1, 37.5, 45.4, 53.2, 100.4, 109.0, 115.6, 124.5, 126.0, 127.7, 128.1, 129.7, 130.3, 130.8, 136.9, 141.7, 160.4

6-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(bornil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ac11**

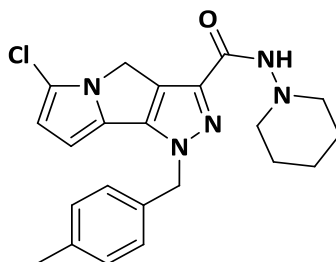


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **142** con la *N*-bornilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ac11** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.57 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	45 %
Pf	75.1-76°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	0.91 (s, 6H), 1.00 (s, 3H), 1.20-1.80 (m, 6H), 2.35-2.45 (m, 1H), 4.35-4.45 (m, 1H), 4.92 (s, 2H), 5.92 (d, 1H, J=3.2 Hz), 6.07 (d, 1H, J=3.0 Hz), 6.96 (d, 1H, J=9.4 Hz), 7.38-7.60 (m, 4H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	13.8, 18.6, 19.8, 28.0, 27.4, 44.9, 45.4, 48.2, 49.8, 53.7, 100.4, 109.1, 115.6, 118.1, 125.9, 128.1, 130.3, 130.8, 141.6, 144.4, 161.3,
[α]_D	-10.45° (CHCl ₃ c=0.1728, t=20°C)

6-Cloro-1-(4-metilbenzil)-*N*-(piperidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ad1**

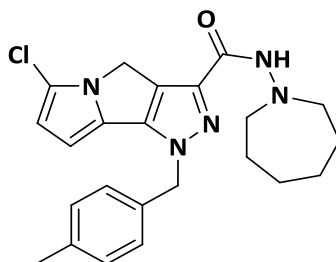


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **144** con la *N*-amminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Ad1** come un solido arancio.

Rf	0.21 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	42 %
Pf	205.1-206
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.38-1.60 (m, 2H), 1.65-1.90 (m, 4H), 2.35 (s, 3H), 2.75-3.00 (m, 4H), 4.79 (s, 2H), 5.31 (s, 2H), 5.50-5.60 (m, 1H), 5.90-6.00 (m, 1H), 7.19 (s, 4H), 7.57 (s, 1H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	23.9, 43.7, 54.9, 99.4, 105.2, 109.4, 111.7, 115.5, 124.7, 125.8, 126.5, 128.1, 131.8, 139.1, 139.8, 160.1

6-Cloro-1-(4-metilbenzil)-*N*-(omopiperidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ad2**

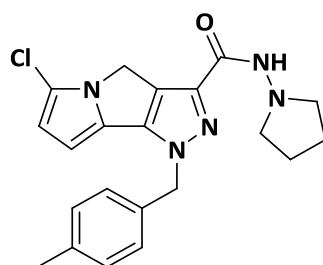


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **144** con la *N*-omoamminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Ad2** come un solido

Rf	0.28 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	42 %
Pf	162-163.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.60-1.90 (m, 8H), 3.10-3.30 (m, 4H), 4.78 (s, 2H), 5.30 (s, 2H), 5.56 (s, 1H), 5.98 (s, 1H), 7.19 (s, 4H), 8.01 (s, 1H)

6-Cloro-1-(4-metilbenzil)-*N*-(pirrolidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ad3**

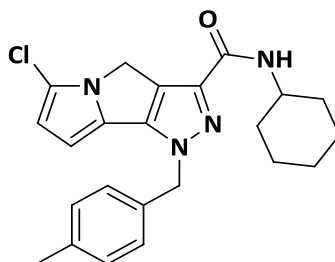


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **144** con la *N*-pirrolidina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Ad3** come un solido arancio chiaro sottile.

Rf	0.25 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	42 %
Pf	181-182.2°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.90-2.00 (m, 4H), 2.34 (s, 3H), 2.80-3.20 (m, 4H), 4.80 (s, 2H), 5.31 (s, 2H), 5.70 (d, 1H, J=3.2 Hz), 5.98 (d, 1H, J=3.0), 7.19 (s, 4H), 7.56 (s, 1H)

6-Cloro-1-(4-metilbenzil)-N-(cicloesil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-a]pirrolizina-3-carbossammide **Ad4**

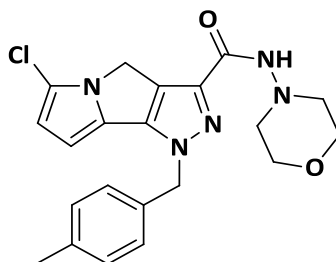


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **144** con la cicloesilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ad4** come un solido marroncino chiaro.

Rf	0.50 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	158-160.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.10-1.50 (m, 4H), 1.50-1.90 (m,4H), 1.90-2.10 (m, 2H), 2.34 (s, 3H), 3.90-4.05 (m, 1H), 4.76 (s, 2H), 5.37 (s, 2H), 5.70 (s, 1H), 5.88 (s, 1H), 7.21 (s, 4H)

6-Cloro-1-(4-metilbenzil)-*N*-(morfolin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ad5**

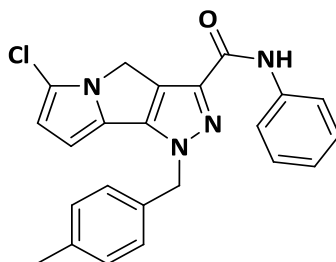


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **144** con la *N*-amminomorfolina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Ad5** come un solido giallastro.

Rf	0.20 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	30 %
Pf	168.1-170°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.58 (s, 4H), 2.35 (s, 3H), 3.79 (s, 4H), 4.38-4.46 (bs, 1H), 4.77 (s, 2H), 5.33 (s, 2H), 5.70 (d, 1H, J=4.0), 5.98 (d, 1H, J=3.6 Hz), 7.19 (s, 4H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	21.4, 45.0, 48.6, 56.7, 104.9, 115.4, 118.1, 128.0, 131.0, 134.3, 148.6, 161.3

6-Cloro-1-(4-metilbenzil)-*N*-(anilin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ad6**

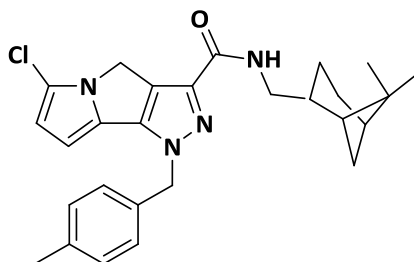


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **144** con l'anilina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ad6** come un solido rossastro.

R_f	0.60 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	168-169°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.33 (s, 3H), 4.76 (s, 2H), 5.37 (s, 2H), 5.70 (s, 1H), 5.88 (s, 1H), 7.10-7.50 (m, 7H), 7.70 (d, 2H, J=7.2 Hz), 8.69 (s, 1H)

6-Cloro-1-(4-metilbenzil)-*N*-(mirtanil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ad7**

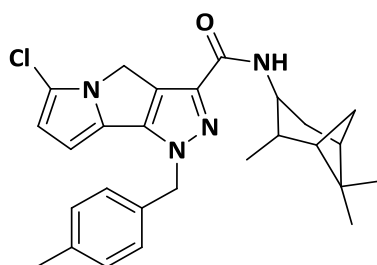


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **144** con la *N*-mirtanilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:5 per ottenere **Ad7** come un solido marroncino.

Rf	0.59 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	123.1-125°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	0.80-1.00 (m, 2H) 1.09 (s, 3H), 1.21 (s, 3H), 1.45-1.65 (m, 1H), 1.80-2.10 (m, 4H), 2.25-2.40 (m, 2H), 2.34 (s, 3H), 3.38-3.50 (m, 2H), 2.33 (s, 3H), 4.76 (s, 2H), 5.37 (s, 2H), 5.70 (s, 1H), 5.88 (s, 1H), 6.990-7.00 (m,1H), 7.20 (s, 4H)
[α]_D	-3.65° (CHCl ₃ c=0.1820, t=20°C)

6-Cloro-1-(4-metilbenzil)-*N*-(isopinocafenil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ad8**

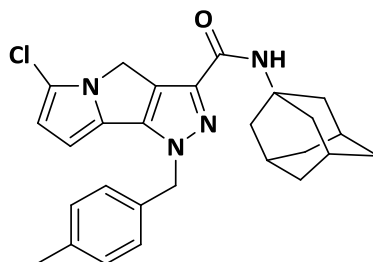


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **144** con la isopinocanfenilammina nel desiderato prodotto finale

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ad8** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.77 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	41 %
Pf	93.2-95°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.10 (s, 3H), 1.17 (d, 3H, J=7.0 Hz), 1.25 (s, 3H), 1.60-2.04 (m, 4H), 2.25-2.45 (m, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.60-2.80 (m, 1H), 4.38-4.56 (m, 1H), 4.79 (s, 2H), 5.32 (s, 2H), 5.55 (d, 1H, J=3.4 Hz), 5.70 (d, 1H, J=3.6 Hz), 6.77 (d, 1H, J=8.6 Hz), 7.20 (s, 4H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	20.8, 21.1, 23.3, 28.0, 35.2, 37.0, 38.5, 41.6, 45.3, 46.0, 47.8, 55.7, 99.4, 108.8, 115.3, 124.7, 125.7, 127.9, 129.6, 131.8, 138.4, 139.4, 142.7, 160.9
[α]_D	-14.56 (CHCl ₃ c=0.1915, t=20°C)

6-Cloro-1-(4-metilbenzil)-*N*-(adamantan-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ad9**

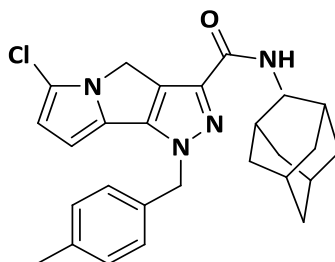


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **144** con la *N*-adamantanammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ad9** come un solido arancio.

Rf	0.77 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	50 %
Pf	158.9-154.3°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.72 (s, 6H), 2.14 (s, 9H), 4.76 (s, 2H), 5.37 (s, 2H), 5.70 (s, 1H), 5.88 (s, 1H), 6.80-6.90 (m, 1H), 7.22 (s, 4H)

6-Cloro-1-(4-metilbenzil)-*N*-(2-adamantan-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ad10**

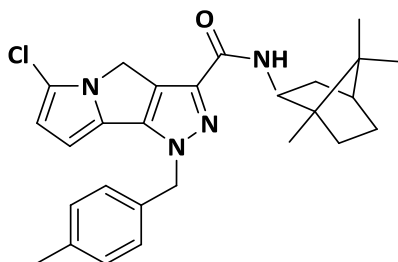


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **144** con la 2-*N*-adamantanammina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ad10** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.72 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	51 %
Pf	171-172°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.60-2.10 (m, 14H), 4.18-4.28 (m, 1H), 4.76 (s, 2H), 5.37 (s, 2H), 5.70 (s, 1H), 5.88 (s, 1H), 7.10-7.30 (m, 4H), 7.69 (s, 1H)

6-Cloro-1-(4-metilbenzil)-*N*-(bornil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **Ad11**

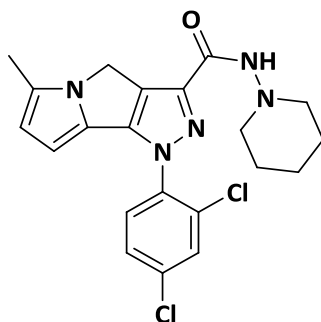


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **144** con la *N*-bornilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ad11** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.63 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	167.0-169°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	0.91 (s, 6H), 1.01 (s, 3H), 1.20-1.40 (m, 3H), 1.40-1.80 (m, 3H), 2.25-2.45 (m, 1H), 2.34 (s, 3H), 4.36-4.45 (m, 1H), 4.76 (s, 2H), 5.37 (s, 2H), 5.77 (s, 1H), 5.81 (s, 1H), 6.80-6.90 (m, 1H), 7.19 (s, 4H)
[α]_D	-6.86° (CHCl ₃ c=0.1938, t=20°C)

6-Metil-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'a1**

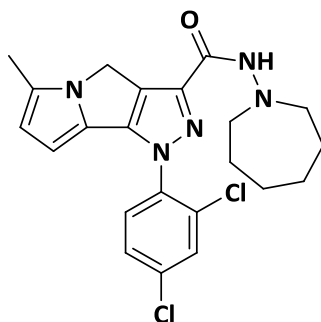


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **145** con la *N*-amminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **A'a1** come un solido arancio.

Rf	0.21 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	30 %
Pf	157-158.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.35-1.50 (m, 2H), 1.60-1.80 (m, 4H), 2.27 (s, 3H), 2.88 (t, 4H, J=5.0 e 4.8 Hz), 4.83 (s, 2H), 5.87 (d, 1H, J=3.0 Hz), 5.94 (d, 1H, J=3.0 Hz), 7.42 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.55 (d, 1H, J=8.6 Hz), 7.62 (s, 2H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	11.9, 23.2, 25.3, 44.4, 57.1, 99.7, 109.5, 118.1, 124.8, 125.2, 128.0, 128.8, 129.2, 130.6, 135.5, 135.7, 145.2, 158.5

6-Metil-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(omopiperidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'a2**

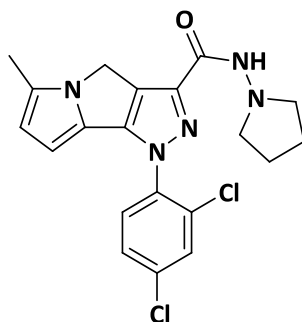


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **145** con la *N*-omoamminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **A'a2** come un solido

Rf	0.25 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	45 %
Pf	154-155°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.50-1.90 (m, 8H), 2.27 (s, 3H), 3.05-3.30 (m, 4H), 4.83 (s, 2H), 5.89 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 7.38-7.62 (m, 3H), 7.90-8.10 (m, 1H)

6-Metil-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(pirrolidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'a3**

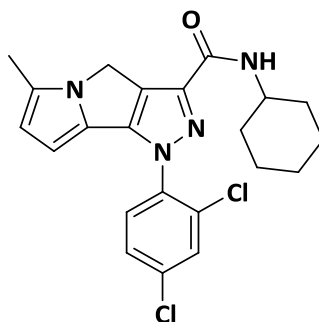


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **145** con la *N*-pirrolidina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **A'a3** come un solido arancio chiaro sottile.

Rf	0.23 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	40 %
Pf	157-158.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.92 (s, 4H), 2.27 (s, 3H), 3.02 (s, 4H), 4.84 (s, 2H), 5.88 (d, 1H; J=3.2 Hz), 5.94 (d, 1H; J=2.8 Hz), 7.33 (dd, 1H, J=9.0 e 1.8 Hz) 7.53 (d, 1H, J=8.8 Hz), 7.61 (d, 1H, J=1.8 Hz) 7.45-7.60 (bs, 1H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	11.9, 22.2, 44.5, 55.6, 99.7, 109.5, 124.8, 125.1, 128.0, 128.8, 129.3, 130.6, 135.5, 135.7, 140.8, 145.3, 159.4

6-Metil-1-(2,4-diclorofenil)-N-(cicloesil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'a4**

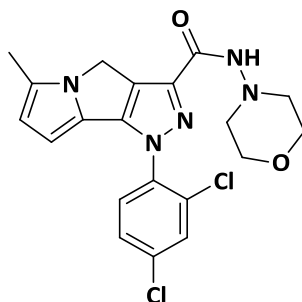


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **145** con la cicloesilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'a4** come un solido marroncino chiaro.

Rf	0.60 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	130-132.5°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.10-1.80 (m, 8H), 1.90-2.10 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 3.86-4.00 (m, 1H), 4.83 (s, 2H), 5.88 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 6.70-6.80 (m, 1H), 7.41 (d, 1H, J=9.8 Hz), 7.54 (d, 1H, J=9.8 Hz), 7.62 (s, 1H)

6-Metil-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(morfolin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'a5**

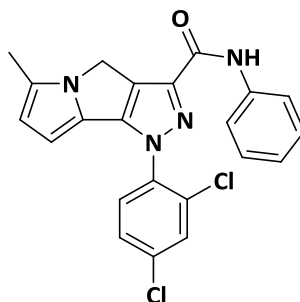


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **145** con la *N*-amminomorfolina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **A'a5** come un solido giallastro.

Rf	0.18 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	35 %
Pf	128.1-129.9°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.27 (s, 3H), 3.80 (s, 6H), 4.30-4.40 (m, 2H), 4.79 (s, 2H), 5.90 (s, 1H), 5.93 (s, 1H), 7.30-7.60 (m, 3H), 7.70-7.80 (m, 1H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	11.8, 29.7, 41.3, 43.1, 44.8, 47.4, 99.6, 109.3, 111.7, 116.3, 118.0, 124.8, 127.8, 128.0, 129.2, 130.7, 135.3, 141.9, 161.2

6-Metil-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(anilin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'a6**

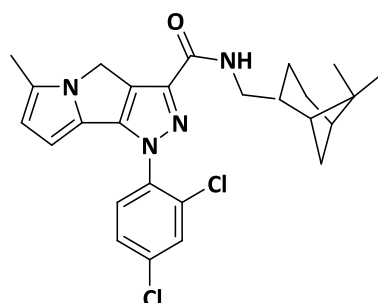


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **145** con l'anilina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'a6** come un solido rossastro.

Rf	0.60 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	0.35 %
Pf	181-181.5°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.28 (s, 3H), 4.87 (s, 2H), 5.92 (s,1H), 5.95 (s, 1H), 7.10-7.80 (m, 8H), 8.72 (s, 1H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	11.9, 29.7, 44.4, 99.9, 109.6, 119.6, 124.3, 124.9, 128.7, 129.0, 129.3, 130.6, 135.6, 137.5, 141.5, 159.2

6-Metil-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(mirtanil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'a7**

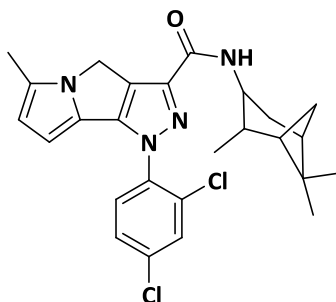


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **145** con la *N*-mirtanilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:5 per ottenere **A'a7** come un solido marroncino.

Rf	0.62 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	0.35 %
Pf	178-179.5°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	0.80-1.00 (m, 2H), 1.09 (s, 3H), 1.21 (s, 3H), 1,40-1.60 (m, 2H), 1.80-2.10 (m, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.20-2.40 (m, 2H), 3.35-3.56 (m, 2H), 4.83 (s, 2H), 5.88 (d, 1H, J=3.0 Hz), 5.94 (d, 1H, J=3.4 Hz), 6.83-7.00 (m, 1H), 7.41 (dd, 1H, J=8.6 e 1.6 Hz), 7.53 (d, 1H, J=8.6 Hz), 7.62 (d, 1H, J=1.6 Hz)
[α]_D	-3.08° (CHCl ₃ c=0.2048, t=20°C)

6-Metil-1-(2,4-diclorofenil)-N-(isopinocafenil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'a8**

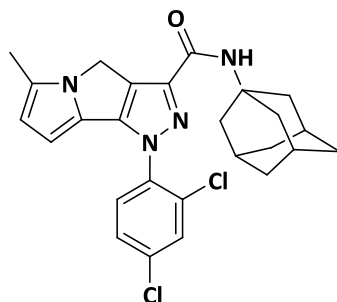


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **145** con la isopinocanfenilammina nel desiderato prodotto finale

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'a8** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.61 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	135.1-137°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.10 (s, 3H), 1.18 (d, 1H, J=7.4 Hz), 1.25 (s, 3H), 1.60-1.90 (m, 1H), 1.80-2.05 (m, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.20-2.50 (m, 2H), 2.55-2.80 (m, 1H), 4.40-4.60 (m, 1H), 4.84 (s, 2H), 5.88 (d, 1H, J=3.6 Hz), 5.95 (d, 1H, J=3.6 Hz), 6.82 (d, 1H, J=8.8 Hz), 7.41 (dd, 1H, J=2.0 e 8.4 Hz), 7.55 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.62 (d, 1H, J=2.2 Hz)
[α]_D	-15.61° (CHCl ₃ c=0.1717, t=20°C)

6-Metil-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(adamantan-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'a9**

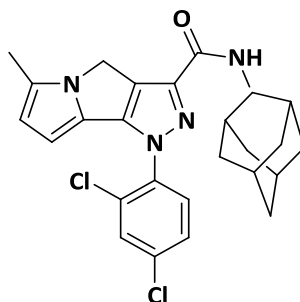


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **145** con la *N*-adamantanammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'a9** come un solido arancio.

Rf	0.70 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	203-204.5°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.72 (s, 6H), 2.14 (s, 9H), 2.26 (s, 3H), 4.81 (s, 3H), 5.87 (d, 1H, J=3.6 Hz), 5.94 (d, 1H, J=3.4 Hz), 7.41 (d, 1H, J=10.4 e 2.2 Hz), 7.58 (d, 1H, J=10.4 Hz), 7.61 (d, 1H, J=2.2 Hz)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	11.8, 29.4, 36.3, 41.6, 44.4, 52.1, 95.9, 99.6, 109.3, 118.0, 124.7, 125.0, 128.0, 128.9, 129.1, 130.5, 135.4, 135.9, 142.5, 145.3, 160.5

6-Metil-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(2-adamantan-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'a10**

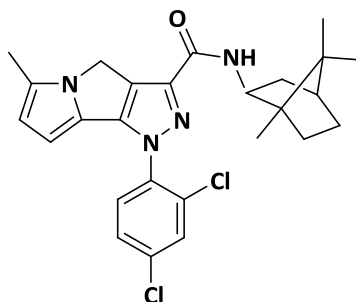


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **145** con la 2-*N*-adamantanammina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'a10** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.70 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	42 %
Pf	215.7-217.2°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.60-2.10 (m, 14H), 2.27 (s, 3H), 4.17-4.33 (m, 1H), 4.82 (s, 2H), 5.91 (d, 1H, j=8.4 Hz), 7.20-7.30 (m, 1H), 7.41 (d, 1H, J=7.0 Hz), 7.55 (d, 1H, J=8.2 Hz), 7.61 (s, 1H)

6-Metil-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(bornil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'a11**

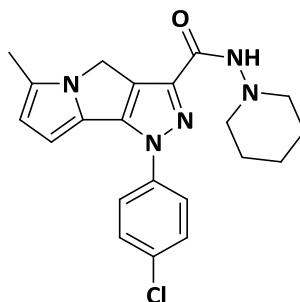


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **145** con la *N*-bornilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'a11** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.61 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	198.7-200.1°C
$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	0.91 (s, 6H), 1.00 (s, 3H), 1.10-1.50 (m, 3H), 1.50-1.90 (m, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.24-2.50 (m, 1H), 4.38-4.50 (m, 1H), 4.82 (s, 2H), 5.89 (s, 1H), 5.93 (s, 1H), 6.93 (d, 1H, $J=7.8$ Hz), 7.30-7.62 (m, 3H)
$[\alpha]_D$	11.9, 13.8, 18.6, 19.8, 28.3, 44.9, 48.2, 49.8, 53.6, 99.6, 109.4, 123.8, 128.0, 129.1, 130.6, 135.4, 141.7, 161.4
$[\alpha]_D$	-2.63° (CHCl_3 c=0.2050, t=20°C)

6-Metil-1-(4-clorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'b1**

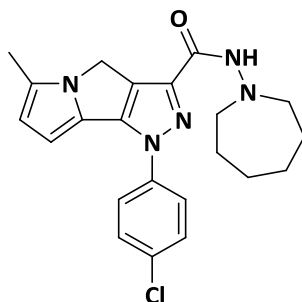


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **146** con la *N*-amminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **A'b1** come un solido arancio.

Rf	0.19 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	37 %
Pf	100.1-101.2°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.80-2.00 (m, 4H), 2.27 (s, 3H), 3.55-3.59 (m, 4H), 3.70-3.78 (m, 4H), 4.77 (s, 2H), 5.99 (d, 1H, J=2.6 Hz), 6.22 (d, 1H, J=2.8 Hz), 7.48 (d, 2H, J=9.0 Hz), 7.79 (d, 2H, J=8.8 Hz)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	11.9, 24.7, 25.8, 26.8, 29.6, 44.1, 44.5, 47.8, 95.9, 99.9, 109.0, 118.0, 120.7, 125.3, 128.8, 129.5, 132.2, 138.4, 140.9, 142.2, 161.0

6-Metil-1-(4-clorofenil)-*N*-(omopiperidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'b2**

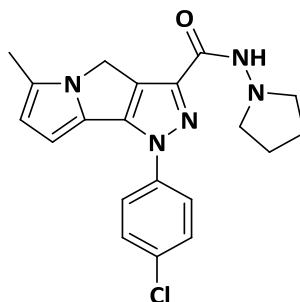


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **146** con la *N*-omoamminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **A'b2** come un solido

Rf	0.28 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	150-153°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.40-2.00 (m, 8H), 2.28 (s, 3H), 3.73 (t, 2H, J=5.8 Hz), 4.15 (t, 2H, J=5.2 e 6.0 Hz), 4.79 (s, 2H), 6.00 (d, 1H, J=3.2 Hz), 6.24 (d, 1H, J=4.0 Hz), 7.49 (d, 2H, J=8.4 Hz), 7.79 (d, 2H, J=8.4 Hz)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	11.9, 26.9, 27.1, 29.8, 44.7, 47.7, 49.0, 99.9, 109.0, 120.6, 125.4, 129.1, 129.5, 132.1, 138.5, 142.3, 162.4

6-Metil-1-(4-clorofenil)-*N*-(pirrolidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossamide **A'b3**

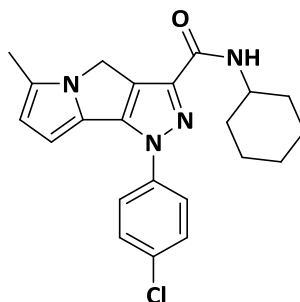


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **146** con la *N*-pirrolidina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **A'b3** come un solido arancio chiaro sottile.

Rf	0.23 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	40 %
Pf	223-225.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.92 (s, 4H), 3.02 (s, 4H), 4.79 (s, 2H), 6.00 (d, 1H, J=2.6 Hz), 6.21 (d, 1H, J=2.6 Hz), 6.83 (d, 1H, J=7.6 Hz), 7.49 (d, 2H, J=8.6 Hz), 7.80 (d, 2H, J=8.8 Hz)

6-Metil-1-(4-clorofenil)-*N*-(cicloesil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'b4**

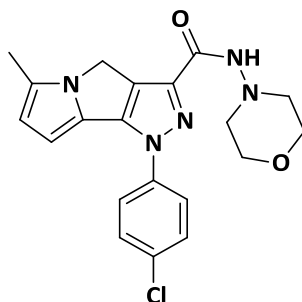


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **146** con la cicloesilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'b4** come un solido marroncino chiaro.

Rf	0.40 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	153.2-155°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.05-1.45 (m, 4H), 1.60-1.80 (m, 4H), 1.95-2.20 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 3.90-4.05 (m, 1H), 4.79 (s, 2H), 6.00 (d, 1H, J=2.6 Hz), 6.21 (d, 1H, J=2.6 Hz), 6.83 (d, 1H, J=7.6 Hz), 7.49 (d, 2H, J=8.6 Hz), 7.80 (d, 2H, J=8.8 Hz)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	11.9, 24.9, 25.5, 33.2, 44.2, 48.1, 100.1, 109.3, 121.0, 125.2, 126.0, 129.6, 132.6, 138.2, 141.2, 142.3, 160.4

6-Metil-1-(4-clorofenil)-*N*-(morfolin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'b5**

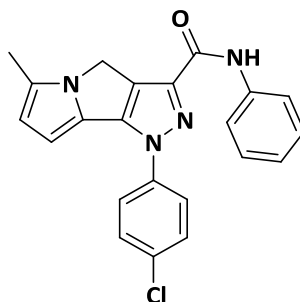


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **146** con la *N*-amminomorfolina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **A'b5** come un solido giallastro.

Rf	0.25 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	30 %
Pf	180-181.7°C
$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	2.29 (s, 3H), 3.82 (s, 6H), 4.40-4.50 (m, 2H), 4.80 (s, 2H) 6.01 (s, 1H), 6.23c (s, 1H), 7.30-7.43 (m, 1H), 7.49 (d, 2H, $J=6.6$ Hz), 7.77 (d, 1H, $J=6.8$ Hz),

6-Metil-1-(4-clorofenil)-*N*-(anilin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'b6**

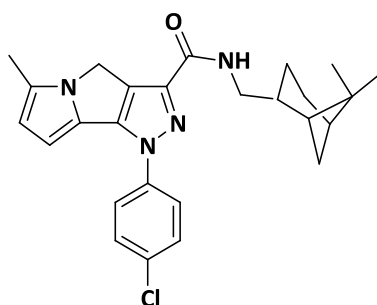


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **146** con l'anilina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'b6** come un solido rossastro.

Rf	0.60 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	39 %
Pf	200-205.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.27 (s, 3H), 4.80 (s, 2H), 6.01 (s, 1H), 6.23 (s, 1H), 7.18 (t, 1H, J=6.6 Hz), 7.37 (t, 2H, J=7.2 e 8.0 Hz), 7.50 (d, 2H, J=7.2 Hz), 7.70 (d, 2H, J=8.4 Hz), 7.81 (d, 2H, J=7.0 Hz), 8.71 (s, 1H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	11.9, 24.9, 33.2, 44.1, 48.0, 100.4, 109.5, 118.0, 119.6, 121.0, 124.3, 125.0, 126.1, 128.0, 129.0, 129.6, 132.8, 137.5, 138.0, 140.9, 142.7, 159.2

6-Metil-1-(4-clorofenil)-*N*-(mirtanil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'b7**

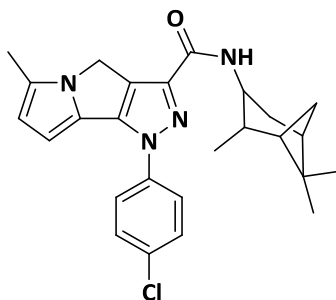


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **146** con la *N*-mirtanilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:5 per ottenere **A'b7** come un solido marroncino.

Rf	0.51 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	45 %
Pf	145.2-147.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	0.80-1.00 (m, 2H), 1.10 (s, 3H), 1.22 (s, 3H), 1.50-1.75 (m, 1H), 1.80-2.05 (m, 5H), 2.10-2.45 (m, 2H), 3.33-3.58 (m, 1H), 4.80 (s, 2H), 6.00 (d, 1H, J=3.4 Hz), 6.22 (d, 1H, J=3.4 Hz), 6.90-7.00 (m, 1H), 7.49 (d, 2H, J=8.4 Hz), 7.79 (d, 2H, J=8.2 Hz)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	11.9, 19.8, 23.2, 25.9, 28.0, 33.3, 38.7, 41.6, 43.8, 44.2, 44.7, 100.1, 109.3, 118.0, 121.0, 126.0, 129.6, 132.6, 138.2, 141.5, 142.3, 160.2
[α]_D	-3.34° (CHCl ₃ c=0.1931, t=20°C)

6-Metil-1-(4-clorofenil)-*N*-(isopinocafenil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'b8**

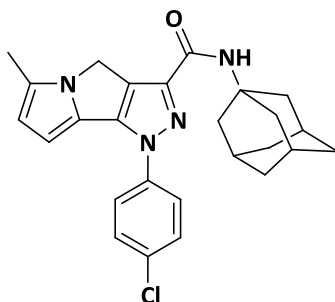


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **146** con la isopinocanfenilammina nel desiderato prodotto finale

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'b8** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.58 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	43 %
Pf	236-237.6°C
^1HNMR (200 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	0.90-1.10 (m, 2H), 1.11 (s, 3H), 1.18 (d, 3H, J=6.8 Hz), 1.26 (s, 3H), 1.60-1.80 (m, 1H), 1.80-2.10 (m, 2H), 2.29 (s, 3H), 2.40-2.60 (m, 1H), 2.50-2.80 (m, 1H), 4.40-4.60 (m, 1H), 4.81 (s, 2H), 6.06 (s, 1H), 6.21 (s, 1H), 6.87 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.50 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.81 (d, 1H, J=8.4 Hz)
^{13}CNMR (50 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	11.9, 20.8, 23.4, 28.0, 35.3, 37.0, 38.5, 41.6, 44.2, 46.0, 47.7, 100.09, 109.3, 121.1, 125.2, 129.6, 132.6, 138.2, 141.2, 142.3, 160.8
$[\alpha]_D$	-8.17° (CHCl_3 c=0.1676, t=20°C)

6-Metil-1-(4-clorofenil)-*N*-(adamantan-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'b9**

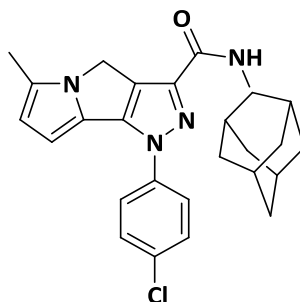


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **146** con la *N*-adamantanammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'b9** come un solido arancio.

Rf	0.70 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	45 %
Pf	242-244.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.74 (s, 6H), 2.00-2.35 (m, 12H), 4.80 (s, 2H), 5.93-5.99 (m, 1H), 6.18-6.23 (m, 1H), 6.63-6.73 (m, 1H), 7.49 (d, 1H, J=7.8 Hz), 7.79 (d, 1H, J=8.6 Hz)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	11.9, 29.5, 36.4, 41.7, 44.2, 52.1, 100.0, 109.2, 118.1, 121.0, 125.2, 126.0, 129.6, 132.5, 138.2, 142.0, 142.3, 160.6

6-Metil-1-(4-clorofenil)-*N*-(2-adamantan-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'b10**

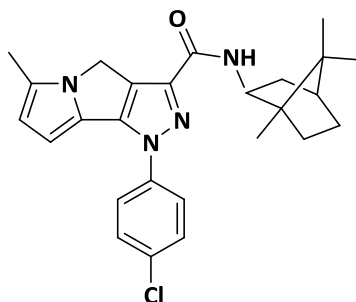


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **146** con la 2-*N*-adamantanammina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'b10** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.72 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	151.3-152.9°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.80-2.10 (m, 15H), 2.29 (s, 3H), 4.25 (d, 1H, 7.8 Hz), 4.80 (s, 2H), 6.04 (d, 1H, J=3.0 Hz), 6.23 (d, 1H, J=3.2 Hz), 7.33 (d, 1H, J=7.8 Hz), 7.50 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.82 (d, 2H, J=8.8 Hz)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	11.9, 27.2, 32.0, 37.1, 44.2, 55.2, 100.1, 109.1, 118.12, 121.0, 125.2, 126.0, 129.6, 138.2, 141.3

6-Metil-1-(4-clorofenil)-*N*-(bornil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'b11**

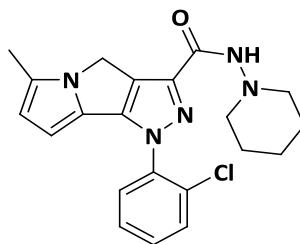


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **146** con la *N*-bornilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'b11** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.65 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	38 %
Pf	268.1-269.7°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	0.91 (s, 6H), 1.01 (s, 3H), 1.20-1.80 (m, 7H), 2.28 (s, 3H), 4.36-4.35 (m, 1H), 4.80 (s, 2H), 6.01 (m, 1H), 6.22 (m, 1H), 7.00 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.50 (d, 2H, J=9.0 Hz), 7.82 (d, 2H, J=8.8 Hz)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	11.9, 15.0, 18.6, 28.4, 45.0, 49.7, 100.1, 109.3, 118.0, 121.1, 125.2, 129.6, 133.2, 140.2, 142.4, 152.3
[α]_D	-2.36 (CHCl ₃ c=0.1269, t=20°C)

6-Metil-1-(2-clorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'c1**

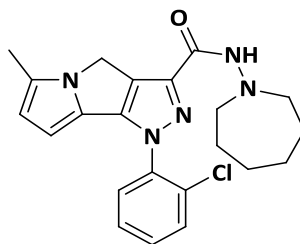


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **147** con la *N*-amminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **A'c1** come un solido arancio.

Rf	20 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	82.1-83.6
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.80-2.00 (m, 4H), 2.27 (s, 3H), 3.55-3.59 (m, 4H), 3.70-3.78 (m, 4H), 4.79 (s, 2H), 5.90 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 7.40-7.70 (m, 5H)

6-Metil-1-(2-clorofenil)-*N*-(omopiperidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'c2**

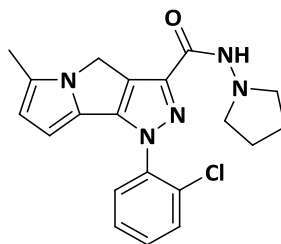


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **147** con la *N*-omoamminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **A'c2** come un solido

Rf	0.26 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	41 %
Pf	°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.60-1.80 (m, 10H), 2.27 (s, 3H), 3.10-3.30 (m, 4H), 4.89 (s, 2H), 5.90 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 7.40-7.70 (m, 5H)

6-Metil-1-(2-clorofenil)-*N*-(pirrolidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'c3**

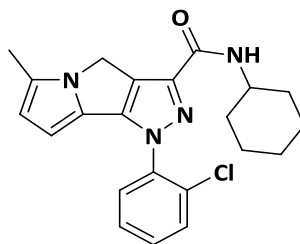


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **147** con la *N*-pirrolidina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **A'c3** come un solido arancio chiaro sottile.

Rf	0.26 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	43 %
Pf	138-141-1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.92 (s, 4H), 2.27 (s, 3H), 3.02 (s, 4H), 4.89 (s, 2H), 5.90 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 7.40-7.70 (m, 5H)

6-Metil-1-(2-clorofenil)-N-(cicloesil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'c4**

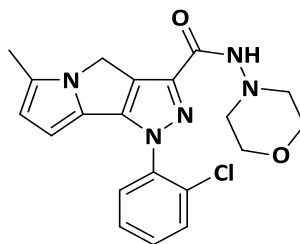


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **147** con la cicloesilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'c4** come un solido marroncino chiaro.

Rf	0.40 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	41 %
Pf	99.1-99.2°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.05-1.45 (m, 4H), 1.60-1.80 (m, 4H), 1.95-2.20 (m, 2H), 2.28 (s, 3H), 3.90-4.05 (m, 1H), 5.90 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 7.40-7.70 (m, 5H)

6-Metil-1-(2-clorofenil)-*N*-(morfolin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'c5**

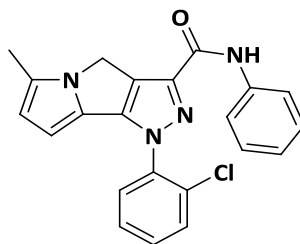


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **147** con la *N*-amminomorfolina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **A'c5** come un solido giallastro.

Rf	0.23 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	38 %
Pf	88.1-90.2
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.27 (s, 3H), (3.81 (s, 6H)4.30-4.45 (m, 2H), 4.81 (s, 2H), 5.88 (d, 1H, J=3.2 Hz), 5.93 (d, 1H, J=2.8 Hz), 7.25-7.60 (m, 5H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	11.8, 43.0, 47.3, 67.3, 99.4, 109.2, 118.0, 125.1, 127.6, 129.9, 130.0, 130.9, 137.0, 141.4, 161.3

6-Metil-1-(2-clorofenil)-*N*-(anilin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'c6**

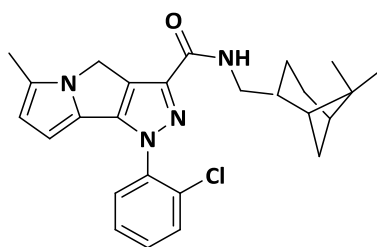


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **147** con l'anilina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'c6** come un solido rossastro.

Rf	0.58 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	206-207°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.28 (s, 3H), 4.89 (s, 2H), 5.90 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 7.13 (t, 1 H, J=6.8 e 7.4 Hz), 7.26 (t, 2H, J=7.2 e 7.6 Hz), 7.40-7.70 (m ,6H), 8.74 (s, 1H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	11.9, 44.5,109.5, 119.6, 124.2, 124.7, 125.0, 127.7, 128.0, 129.0, 129.2, 129.8, 130.4, 130.9, 136.9, 137.6, 141.2, 145.8, 159.3

6-Metil-1-(2-clorofenil)-*N*-(mirtanil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'c7**

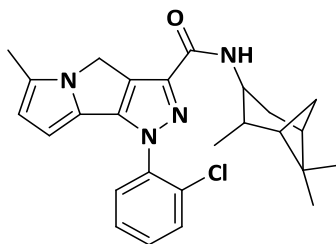


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **147** con la *N*-mirtanilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:5 per ottenere **A'c7** come un solido marroncino.

Rf	0.51 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	111-112.3°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	0.80-1.00 (m, 2H), 1.10 (s, 3H), 1.22 (s, 3H), 1.50-1.75 (m, 1H), 1.80-2.05 (m, 5H), 2.10-2.45 (m, 2H), 3.33-3.58 (m, 1H), 4.80 (s, 2H), 6.00 (d, 1H, J=3.4 Hz), 6.22 (d, 1H, J=3.4 Hz), 6.90-7.00 (m, 1H), 7.40-7.70 (m, 5H)
[α]_D	-2.71° (CHCl ₃ c=0.1771, t=20°C)

6-Metil-1-(2-clorofenil)-*N*-(isopinocafenil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'c8**

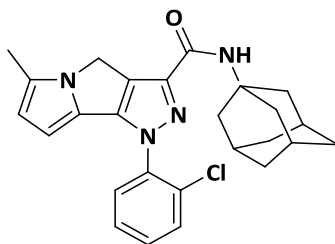


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **147** con la isopinocafenilammina nel desiderato prodotto finale

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'c8** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.58 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	41 %
Pf	161-163.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	0.80-1.00 (m, 2H), 1.10 (s, 3H), 1.18 (d, 3H, J=7.2 Hz), 1.24 (s, 3H), 1.60-1.80 (m, 1H), 1.80-2.05 (m, 2H), 2.05-2.40 (m, 1H), 2.50-2.70 (m ,1H), 4.40-4.60 (m, 1H), 4.85 (s, 2H), 5.87 (d, 1H, J=3.0 Hz), 5.93 (d, 1H, J=2.8 Hz), 6.85 (d, 1H, J=8.6 Hz), 7.35-7.60 (m, 4H)
[α]_D	-18.38° (CHCl ₃ c=0.1974, t=20°C)

6-Metil-1-(2-clorofenil)-*N*-(adamantan-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'c9**

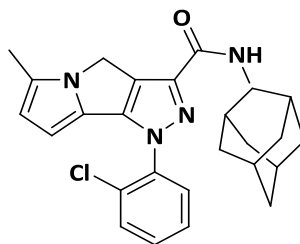


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **147** con la *N*-adamantanammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'c9** come un solido arancio.

Rf	0.61 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	206-207°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.72 (s, 6H), 2.15 (s, 9H), 2.26 (s, 3H), 4.82 (s, 2H), 5.87 (d, 1H, J=3.4 Hz), 5.92 (d, 1H, J=3.4 Hz), 6.69 (d, 1H, J=9.0 Hz), 7.30-7.60 (m, 4H)

6-Metil-1-(2-clorofenil)-*N*-(2-adamantan-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'c10**

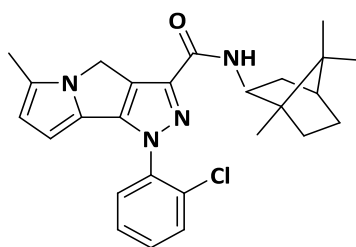


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **147** con la 2-*N*-adamantanammina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'c10** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.72 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	37 %
Pf	158.2-159.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.60-2.10 (m, 15H), 2.27 (s, 3H), 4.24 (d, 1H, J=7.8 Hz), 4.83 (s, 2H), 5.87 (d, 1H, J=3.4 Hz), 5.93 (d, 1H, J=3.4 Hz), 7.32 (d, 1H, J=7.8 Hz), 7.20-7.60 (m, 4H)

6-Metil-1-(2-clorofenil)-*N*-(bornil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'c11**

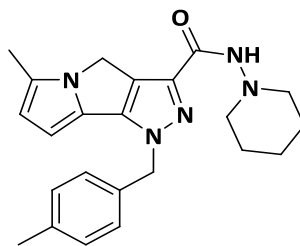


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **147** con la *N*-bornilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'c11** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.62 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	39 %
Pf	176.1-178.2
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	0.90 (s, 3H), 0.95 (d, 3H, J=20.0 Hz), 1.10-1.40 (m, 4H), 1.25 (s, 3H), 1.60-1.90 (m, 3H), 2.27 (s, 3H), 2.30-2.50 (m, 1H), 4.37-4.50 (m, 1H), 4.83 (s, 2H), 5.87 (d, 1H, J=3.4 Hz), 5.93 (d, 1H, J=3.4 Hz), 6.70 (d, 1H, J=9.0 Hz), 7.35-7.70 (m, 4H)
[α]_D	-6.98° (CHCl ₃ c=0.1941, t=20°C)

6-Metil-1-(4-metilbenzil)-*N*-(piperidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'd1**

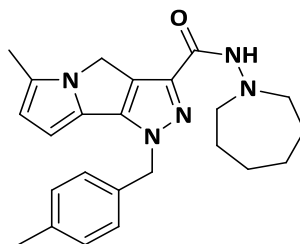


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **148** con la *N*-amminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **A'd1** come un solido arancio.

Rf	0.22 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	46 %
Pf	124.1-126°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.50-1.80 (m, 8H), 2.21 (s, 6H), 2.33 (s, 3H), 3.10-3.33 (m, 4H), 4.71 (s, 2H), 5.30 (s, 2H), 5.63 (s, 1H), 5.85 (s, 1H), 7.05-7.35 (m, 4H), 8.00 (s, 1H)

6-Metil-1-(4-metilbenzil)-*N*-(omopiperidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'd2**

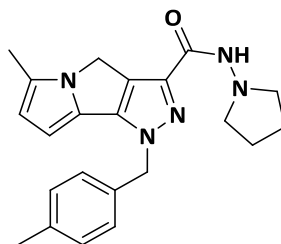


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **148** con la *N*-omoamminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **A'd2** come un solido

Rf	0.30 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	38 %
Pf	139.2-140°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.50-1.80 (m, 8H), 2.20 (s, 3H), 2.33 (s, 3H), 3.67-3.73 (m, 2H), 4.10-4.25 (m, 2H), 4.68 (s, 2H), 5.33 (s, 2H), 5.61 (s, 1H), 5.84 (s, 1H), 7.05-7.35 (m, 5H)

6-Metil-1-(4-metilbenzil)-*N*-(pirrolidin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'd3**

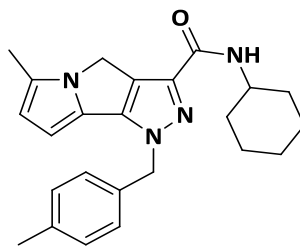


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **148** con la *N*-pirrolidina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **A'd3** come un solido arancio chiaro sottile.

Rf	0.23 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	40 %
Pf	150-152.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.90-2.00 (m, 4H), 2.21 (s, 3H), 2.33 (s, 3H), 2.90-3.10 (m, 4H), 4.72 (s, 2H), 5.31 (s, 2H), 5.64 (s, 1H), 5.86 (s, 1H), 7.10-7.30 (m, 4H), 7.59 (s, 1H)

6-Metil-1-(4-metilbenzil)-*N*-(cicloesil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'd4**

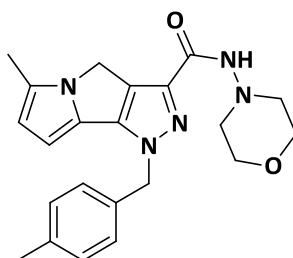


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **148** con la cicloesilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'd4** come un solido marroncino chiaro.

Rf	0.44 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	38 %
Pf	163.9-165.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.10-1.50 (m, 4H), 1.60-1.90 (m, 4H), 2.00-2.10 (m, 2H), 2.21 (s, 3H), 2.33 (m, 3H), 3.90-4.00 (m, 1H), 4.71 (s, 2H), 5.31 (s, 2H), 5.63 (s, 1H), 5.86 (s, 1H), 6.76 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.10-7.30 (m, 4H)

6-Metil-1-(4-metilbenzil)-*N*-(morfolin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'd5**

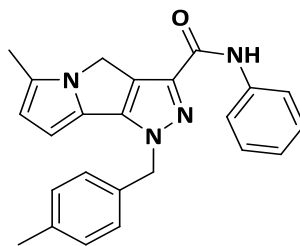


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **148** con la *N*-amminomorfolina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **A'd5** come un solido giallastro.

Rf	0.23 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	41 %
Pf	182.6-183.4°C
$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	2.20 (s, 3H), 2.34 (m, 3H), 2.90-3.05 (m, 4H), .70-3.90 (m, 4H), 4.71 (s, 2H), 5.66 (s, 2H), 5.86 (s, 1H), 7.10-7.30 (m, 4H), 7.66 (s, 1H)

6-Metil-1-(4-metilbenzil)-*N*-(anilin-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'd6**

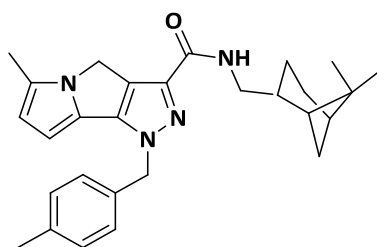


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **148** con l'anilina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'd6** come un solido rossastro.

Rf	0.60 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	45 %
Pf	213-215.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.23 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 4.77 (s, 2H), 5.37 (s, 2H), 5.71 (s, 1H), 5.88 (s, 1H), 7.10-7.50 (m, 7H), 7.70 (d, 2H, J=7.4 Hz), 8.69 (s, 1H)

6-Metil-1-(4-metilbenzil)-*N*-(mirtanil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'd7**

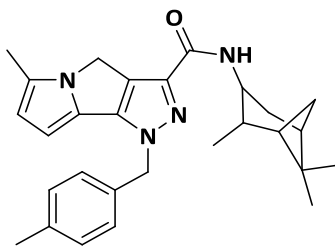


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **148** con la *N*-mirtanilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:5 per ottenere **A'd7** come un solido marroncino.

Rf	0.54 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	113.1-114°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	0.80-1.00 (m, 2H), 1.09 (s, 3H), 1.21 (s, 3H), 1.40-2.00 (m, 7H), 2.21 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 3.25-3.45 (m, 2H), 4.72 (s, 2H), 5.32 (s, 2H), 5.60-5.66 (m, 1H), 5.83-5.87 (m, 1H), 6.80-7.00 (m, 1H), 7.05-7.30 (m, 4H)
[α]_D	-9.00° (CHCl ₃ c=0.1300, t=20°C)

6-Metil-1-(4-metilbenzil)-*N*-(isopinocafenil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'd8**

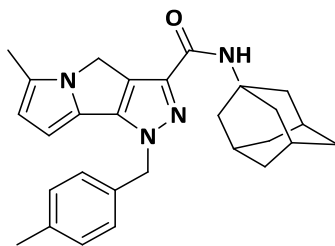


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **148** con la isopinocafenilammina nel desiderato prodotto finale

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'd8** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.60 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	39 %
Pf	142-145.1°C
$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	0.80-1.00 (m, 2H), 1.10 (s, 3H), 1.18 (d, 3H, $J=9.0$ Hz), 1.25 (s, 3H), 1.60-1.80 (dd, 1H, $J=6.0$ e 14.0 Hz) 1.80-2.05 (m, 2H), 2.22 (s, 3H), 2.34 (m, 3H), 2.30-2.60 (m, 1H), 2.60-2.80 (m, 1H), 4.40-4.55 (m, 1H), 4.72 (s, 2H), 5.33 (s, 2H), 5.61 (d, 1H, $J=3.6$ Hz), 5.86 (d, 1H, $J=3.2$ Hz), 6.77 (d, 1H, $J=8.6$ Hz), 7.10-7.30 (m, 4H)
$[\alpha]_D$	-11.72° (CHCl_3 c=0.2005, t=20°C)

6-Metil-1-(4-metilbenzil)-*N*-(adamantan-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'd9**

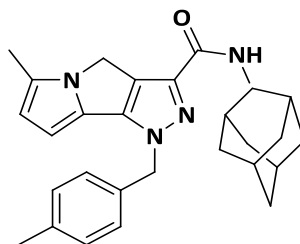


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **148** con la *N*-adamantanammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'd9** come un solido arancio.

Rf	0.61 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	36 %
Pf	178-179.3°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.72 (s, 6H), 2.14 (s, 9H), 2.20 (s, 3H), 2.33 (s, 3H), 4.69 (s, 2H), 5.30 (s, 2H), 5.55-5.65 (m, 1H), 5.80-5.90 (m, 1H), 6.63 (s, 1H), 7.10-7.50 (m, 4H)

6-Metil-1-(4-metilbenzil)-*N*-(2-adamantan-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'd10**

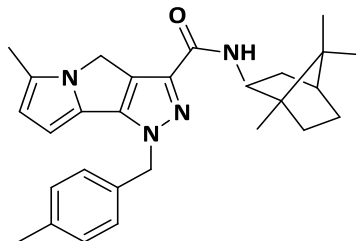


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **148** con la 2-*N*-adamantanammina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'd10** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.71 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	167-168.9°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.60-2.10 (m, 14H), 1.89 (s, 6H), 2.20 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 4.70 (s, 2H), 5.33 (s, 2H), 5.71 (d, 1H, J=3.4 Hz), 5.84 (d, 1H, J=3.4 Hz), 7.10-7.50 (m, 5H)

6-Metil-1-(4-metilbenzil)-*N*-(bornil-1-il)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossammide **A'd11**

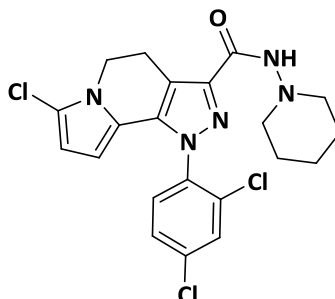


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **148** con la *N*-bornilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **A'd11** come un solido arancio chiaro.

Rf	0.63 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	50 %
Pf	180-181.9
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	0.90 (s, 6H), 0.90-1.00 (m, 3H), 1.00-2.00 (m, 7H) 2.20 (s, 3H), 2.34 (s, 3H), 4.30-4.50 (m, 1H), 4.70 (s, 2H), 5.34 (s, 2H), 5.50-5.60 (m, 1H), 5.80-5.85 (m, 1H), 6.90-7.00 (m, 1H), 7.10-7.50 (m, 4H)
[α]_D	-4.00° (CHCl ₃ c=0.1050, t=20°C)

7-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossamide **Ba1**

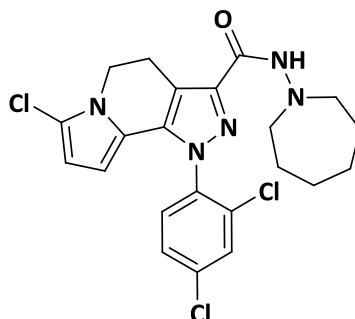


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **149** con la *N*-amminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Ba1** come un solido arancio.

Rf	0.23 Etp AcOEt 7 : 3
Resa	66 %
Pf	165-165.6°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.38-1.60 (m, 2H), 1.60-1.80 (m,4H), 2.70-2.90 (m, 4H), 3.39 (t, 2H, J=6.6 e 7.8 Hz), 4.10 (t, 2H, J=6.9 Hz), 5.40 (d, 1H, J=3.9 Hz), 5.95 (d, 1H, J=3.9 Hz), 7.30-7.60 (m, 3H)

7-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossamide **Ba2**

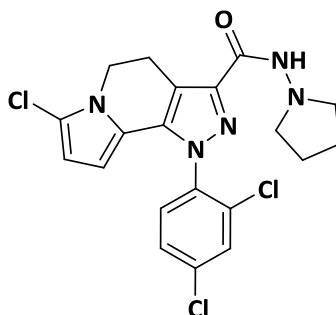


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **149** con la *N*-omoamminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Ba2** come un solido

Rf	0.28 Etp AcOEt 75 : 25
Resa	36 %
Pf	150-152.5°C
^1HNMR (200 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	1.45-1.80 (m, 8 H), 3.14 (t, 4H, $J=5.6$ e 5.4 Hz), 3.39 (t, 2H, $J=6.6$ e 6.8 Hz), 4.10 (t, 2H, $J=6.8$ Hz), 5.41 (d, 1H, $J=3.8$ Hz), 5.93 (d, 1H, $J=4.2$ Hz), 7.44 (s, 2H), 7.63 (s, 1H), 8.01 (s, 1H)

7-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossamide **Ba3**

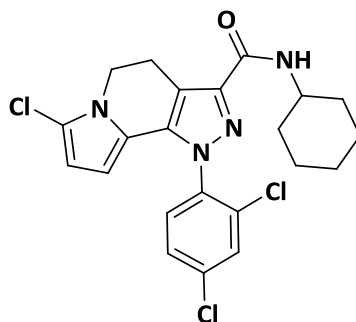


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **149** con la *N*-pirrolidina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Ba3** come un solido arancio chiaro sottile.

Rf	0.22 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	63 %
Pf	170.2-170.7°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.90 (s, 4H), 3.00 (s, 4H), 3.39 (t, 2H, J=6.6 e 6.8 Hz), 4.10 (t, 2H, J=6.8 Hz), 5.41 (d, 1H, J=3.8 Hz), 5.93 (d, 1H, J=4.2 Hz), 7.44 (s, 2H), 7.63 (s, 1H), 8.01 (s, 1H)

7-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossamide **Ba4**

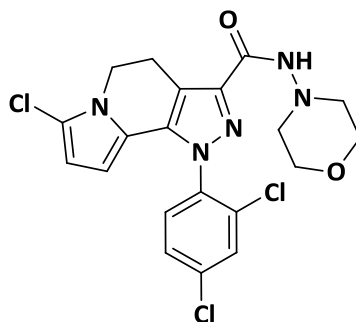


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **149** con la cicloesilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ba4** come un solido marroncino chiaro.

Rf	0.55 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	190-192°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.10-1.50 (m, 6H), 1.60-1.90 (m, 2H), 1.95-2.10 (m, 2H), 3.40 (t, 2H, J=7.2 e 6.8 Hz), 3.90-4.00 (m, 1H), 4.10 (t, 2H, J=6.8 Hz), 5.40 (d, 1H, J=3.8 Hz), 5.94 (t, 2H, J=3.8 Hz), 6.70-6.90 (m, 1H), 7.44 (s, 2H), 7.62 (s,1H)

7-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossamide **Ba5**

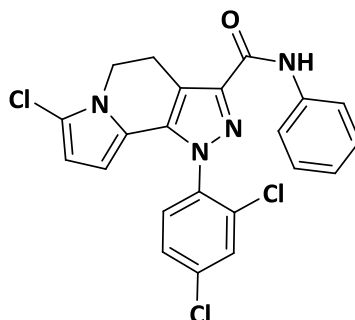


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **149** con la *N*-amminomorfolina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Ba5** come un solido giallastro.

Rf	0.34 Etp AcOEt 3 : 7
Resa	70 %
Pf	190-192°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2,95 (t, 4H, J=4,4 e 4,6 Hz); 3,39 (t, 2H, J=6,8 e 7,0 Hz); 3,86 (t, 4H, J=4,6 e 4,6 Hz); 4,10 (t, 2H, J=6,8 Hz); 5,40 (d, 1H, J=3,8 Hz); 5,94 (d, 1H, J=3,8 Hz); 6,80 (m, 1H); 7,27 (d, 2H, J=1,2 Hz); 7,62 (s, 1H)

7-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossamide **Ba6**

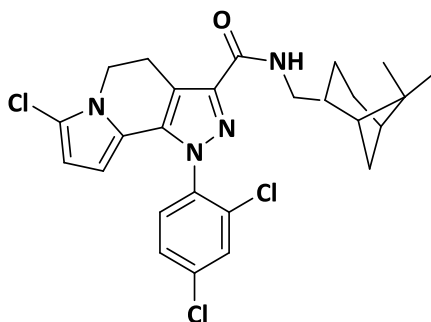


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **149** con l'anilina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ba6** come un solido rossastro.

Rf	0.41 Etp AcOEt 85 : 15
Resa	64%
Pf	176-177.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	3,45 (t, 2H, J=7,0 Hz); 4,14 (t, 2H, J=6,8 Hz); 5,44 (d, 1H, J=3,8 Hz); 5,96 (d, 1H, J=3,8 Hz); 7,05-7,64 (m, 8H); 8,69 (s, 1H)

7-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossamide **Ba7**

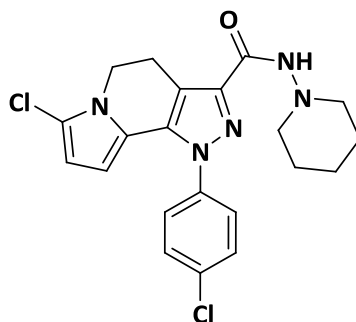


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **149** con la *N*-mirtanilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:5 per ottenere **Ba7** come un solido marroncino.

Rf	0.60 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	60 %
Pf	192-193°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	0.80-1.00 (m, 2H), 1.07 (s, 3H), 1.02 (s, 3H), 1.00-1.20 (m, 5H), 1.57 (s, 2H), 1.50-1.70 (m, 1H), 1.80-2.00 (m, 4H), 2.20-2.40 (m, 2H), 3.30-3.50 (m, 2H), 3.40 (t, 2H, J=7.2 e 6.6 Hz), 4.10 (t, 2H, 6.0 e 7.0 Hz), 5.41 (d, 1H, J=3. Hz), 5.95 (d, 1H, J=3.2 Hz), 6.80-7.00 (m, 1H), 7.45 (s, 2H), 7.63 (s, 1H)
[α]_D	-1.86° (CHCl ₃ c=, t=20°C)

7-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossamide **Bb1**

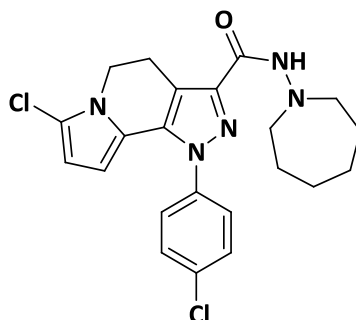


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **150** con la *N*-amminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Bb1** come un solido arancio.

Rf	0.23 Etp AcOEt 7 : 3
Resa	66%
Pf	155-155.6°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.40-1.60 (m, 2H), 1.70-1.90 (m, 4H), 2.85 /t, 4H, J=6.6 Hz), 3.36 (t, 2H, J=7.0 Hz), 4.10 (t, 2H, J=6.4 e 7.2 Hz), 5.78 (d, 1H, J=4.0 Hz), 5.96 (d, 1H, J=4.0 Hz), 7.52 (d, 1H, J=2.2 Hz), 7.61 (s, 1H)

7-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossamide **Bb2**

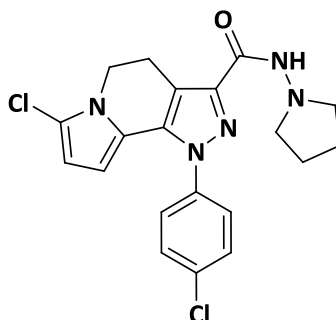


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **150** con la *N*-omoamminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Bb2** come un solido

Rf	0.28 Etp AcOEt 72 : 25
Resa	36%
Pf	180-184.2°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.60.1.85 (m, 8H), 3.05-3.15 (m, 4H), 3.37 (t, 2H, J=6.6 e 6.4 Hz), 4.10 (t, 2H, J=6.8 e 7.2 Hz), 5.79 (d, 1H, J=3.4 Hz), 5.97 (d, 1H, J=3.4 Hz), 7.52 (s, 2H), 7.53 (s 2H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	13.9, 20.7, 24.8, 26.2, 26.9, 41.7, 58.4, 63.0, 95.8, 105.2, 106.7, 113.0, 114.0, 118.0, 118.6, 120.4, 126.6, 134.8, 135.3, 137.9, 142.1, 159.9

7-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossamide **Bb3**

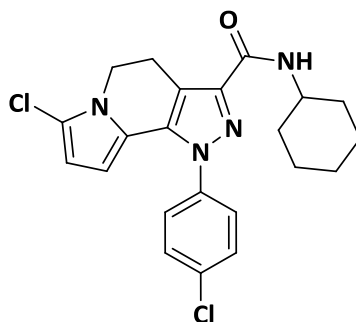


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **150** con la *N*-pirrolidina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Bb3** come un solido arancio chiaro sottile.

Rf	0.22 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	63%
Pf	158-160°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.90 (s, 4H), 3.00 (s, 4H), 3.35 (t, 2H, J=7.0 Hz), 4.10 (t, 2H, J=7.0 Hz), 5.78 (d, 1H, J=4.2 Hz), 5.97 (d, 1H, J=4.0 Hz), 7.51 (s, 2H), 7.52 (s, 2H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	20.7, 22.2, 41.8, 55.6, 105.3, 106.7, 108.0, 118.7, 120.3, 126.1, 126.6, 129.5, 134.9, 135.4, 137.8, 141.8, 160.6

7-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossamide **Bb4**

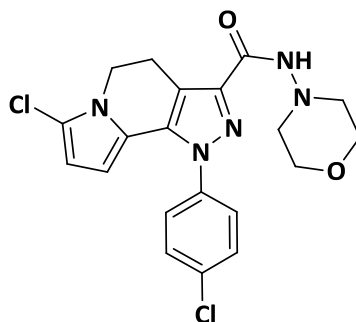


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **150** con la cicloesilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Bb4** come un solido marroncino chiaro.

Rf	0.35 Etp AcOEt 9 : 1
Resa	36%
Pf	193-195°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.20-1.60 (m, 4H), 1.60-1.90 (m, 4H), 1.90-2.10 (m, 2H), 3.37 (t, 2H, J=6.4 e 6.6 Hz), 3.95-4.02 (m, 1H), 4.11 (t, 2H, J=6.8 Hz), 5.78 (d, 1H, J=4.0 Hz), 5.97 (d, 1H, J=3.8 Hz), 6.81 (d, 1H, J=8.2 Hz), 7.20-7.40 (m, 4H)

7-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossamide **Bb5**

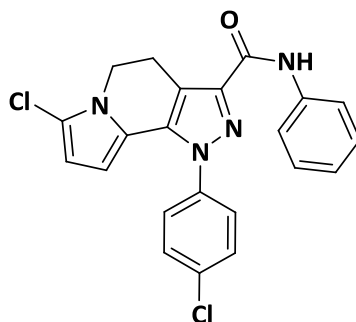


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **150** con la *N*-amminomorfolina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Bb5** come un solido giallastro.

Rf	0.31 Etp AcOEt 3 : 7
Resa	76 %
Pf	158-160°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.95 (t, 4H, J=4.0 e 4.2 Hz), 3.35 (t, 2H, J=7.0 Hz), 3.86 (t, 4H, J=4.2 e 4.6 Hz), 4.11 (t, 2H, J=6.8 e 6.6 Hz), 5.78 (d, 1H, J=3.8 Hz), 6.00 (d, 1H, J=4.0 Hz), 7.52 (s, 4H), 7.69 (s, 1H)

7-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossamide **Bb6**

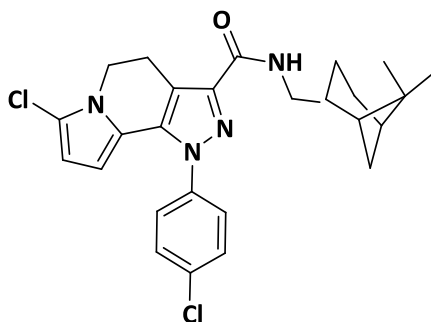


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **150** con l'anilina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Bb6** come un solido rossastro.

Rf	0.39 Etp AcOEt 85 : 15
Resa	60 %
Pf	175-178.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	3.42 (t, 2H, J=6.6 e 6.8 Hz), 4.15 (t, 2H, J=6.6 e 6.8 Hz), 5.82 (d, 1H, J=3.8 Hz), 5.99 (d, 1H, J=3.4 Hz), 7.10-7.80 (m, 9H), 8.71 (s, 1H)

7-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossamide **Bb7**

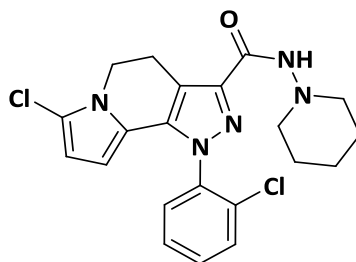


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **150** con la *N*-mirtanilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:5 per ottenere **Bb7** come un solido marroncino.

Rf	0.36 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	69 %
Pf	134-136.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	0.80-1.00 (m, 2H), 1.08 (s, 3H), 1.20 (s, 3H), 1.40-1.75 (m, 1H), 1.80-2.05 (m, 4H), 2.20-2.40 (m, 2H), 3.20-3.45 (m, 2H), 3.30-3.50 (m, 2H), 4.10 (t, 2H, J=6.6 e 7.2 Hz), 5.79 (d, 1H, J=4.0 Hz), 5.97 (d, 1H, J=3.8 Hz), 6.90-7.00 (m, 1H), 7.40-7.70 (m, 4H)
[α]_D	-2.44° (CHCl ₃ c=, t=20°C)

7-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossamide **Bc1**

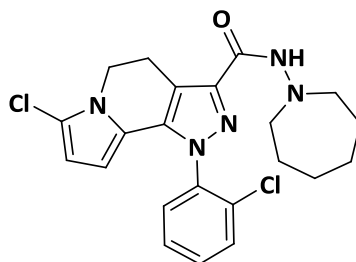


Ottenuto secondo metodo generale **I** per condensazione del dell'acido **151** con la *N*-amminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Bc1** come un solido arancio.

Rf	0.50 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	60 %
Pf	182-184°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.40-1.60 (m, 2H), 1.60-1.90 (m, 4H), 2.80-3.00 (m, 4H), 3.40 (t, 2H, J=6.4 e 7.2 Hz), 4.10 (t, 2H, J=6.8 Hz), 5.34 (d, 1H, J=4.0 Hz), 5.92 (d, 1H, J=3.8 Hz), 7.40-7.65 (m, 5H)

7-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossamide **Bc2**

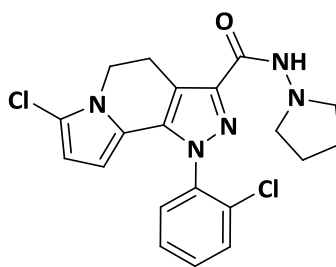


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **151** con la *N*-omoamminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Bc2** come un solido

Rf	0.22 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	50 %
Pf	155-157°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.55-1.90 (m, 8H), 3.14 (t, 4H, J=5.0 Hz), 3.41 (t, 2H, J=6.2 e 7.4 Hz), 4.10 (t, 2H, J=6.6 e 7.2 Hz), 5.33 (d, 1H, J=4.2 Hz), 5.92 (d, 1H, J=3.8 Hz), 7.40-7.65 (m, 4H), 8.05 (s, 1H)

7-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossamide **Bc3**

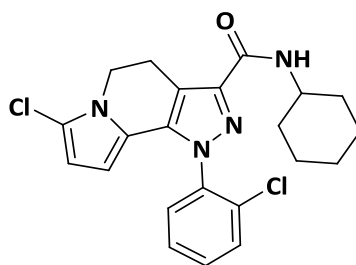


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **151** con la *N*-piperolidina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Bc3** come un solido arancio chiaro sottile.

Rf	0.20 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	67 %
Pf	180-181°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.90 (s, 4H), 3.00 (s, 4H), 3.42 (t, 2H, J=6.8 Hz), 4.11 (t, 2H, J=6.6 Hz), 5.34 (d, 1H, J=4.0 Hz), 5.92 (d, 1H, J=4.0 Hz), 7.40-7.75 (m ,5H)

7-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossamide **Bc4**

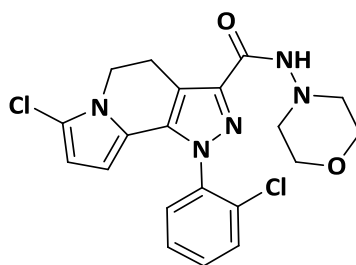


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **151** con la cicloesilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Bc4** come un solido marroncino chiaro.

Rf	0.42 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	60 %
Pf	175-176°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.10-1.40 (m, 4H), 1.50-1.90 (m, 4H), 1.90-2.10 (m, 2H), 3.40 (t, 2H, J=6.2 e 7.0 Hz), 3.80-4.00 (m, 1H), 4.10 (t, 2H, J=6.6 e 7.4 Hz), 5.33 (d, 1H, J=3.8 Hz), 5.92 (d, 1H, J=3.8 Hz), 6.80 (d, 1H, J=7.6 Hz), 7.30-7.75 (m ,4H)

7-Cloro-1-(2-clorofenil)-N-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-g]indolizina-3-carbossamide **Bc5**

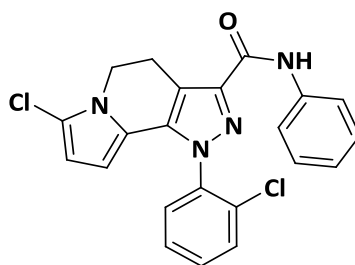


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **151** con la *N*-amminomorfolina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Bc5** come un solido giallastro.

Rf	0.11 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	55 %
Pf	175-175.5°C
^1HNMR (200 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	2.80-2.95 (m, 4H), 3.32 (t, 2H, $J=6.8$ Hz), 3.70-3.85 (m, 4H), 4.03 (t, 2H, $J=6.8$ e 5.4 Hz), 5.27 (d, 1H, $J=3.8$ Hz), 5.85 (d, 1H, $J=3.8$ Hz), 7.40-7.60 (m, 4H), 7.66 (s, 1H)
^{13}CNMR (50 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	20.6, 29.7, 42.1, 56.0, 66.4, 104.4, 107.0, 112.9, 118.8, 120.4, 127.9, 129.5, 130.7, 131.4, 132.5, 136.7, 141.8, 159.9

7-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossamide **Bc6**

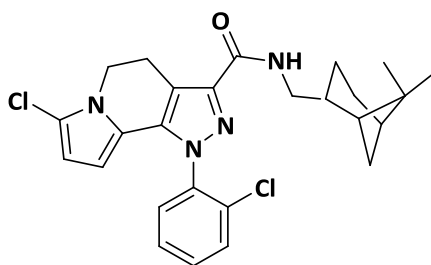


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **151** con l'anilina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Bc6** come un solido rossastro.

Rf	0.42 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	60 %
Pf	175-176°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	3.46 (t, 2H, J=7.0 Hz), 4.14 (t, 2H, J=6.6 e 6.8 Hz), 5.37 (d, 1H, J=3.8 Hz), 5.94 (d, 1H, J=4.0 Hz), 7.11 (t, 1H, J=7.4 e 7.2 Hz), 7.35 (t, 2H, J=8.0 e 7.4 Hz), 7.40-7.70 (m, 6H), 8.74 (s, 1H)

7-Cloro-1-(2-clorofenil)-N-(piperidin-1-il)-4,5-diidropirazolo[4,3-g]indolizina-3-carbossamide **Bc7**

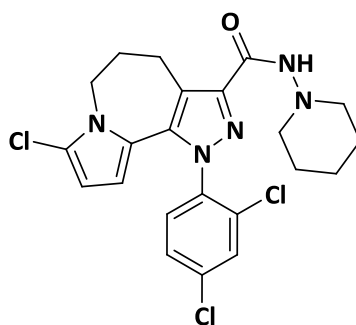


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **151** con la *N*-mirtanilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:5 per ottenere **Bc7** come un solido marroncino.

Rf	0.50 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	68 %
Pf	169-170°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.07 (s, 3H), 1.20 (s, 3H), 1.57 (s, 2H), 1.80-2.00 (m, 3H), 2.20-2.40 (m ,2H), 3.30-3.50 (m, 1H), 3.41 (t, 2H, J=7.0 Hz), 4.11 (t, 2H, J=6.6 e 6.8 Hz), 5.34 (d, 1H, J=3.8 Hz), 5.92 (d, 1H, J=3.8 Hz), 6.95-7.00 (m, 1H), 7.40-7.60 (m, 4H)
[α]_D	-0.94° (CHCl ₃ c=, t=20°C)

8-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-1,4,5,6-tetraidropirazolo[3,4-*c*]pirrolo[1,2-*a*]azepine-3-carbossamide **Ca1**

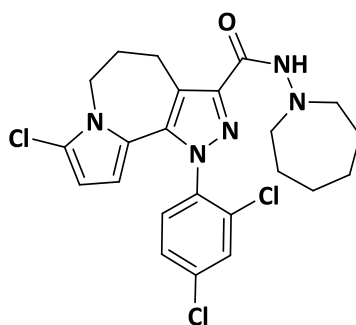


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **149** con la *N*-amminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Ca1** come un solido arancio.

Rf	0.18 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	72.8-73°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.42-1.90 (m, 6H), 2.00-2.20 (m, 2H), 3.02 (t, 2H, J=6.2 e 7.2 Hz), 3.57-3.90 (m, 4H), 4.05-4.30 (m, 2H), 5.34 (d, 1H, J=4.2 Hz), 5.89 (d, 1H, J=4.2 Hz), 7.30-7.60 (m, 4H)

8-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(omopiperidin-1-il)-1,4,5,6-tetraidropirazolo[3,4-*c*]pirrolo[1,2-*a*]azepine-3-carbossamide **Ca2**

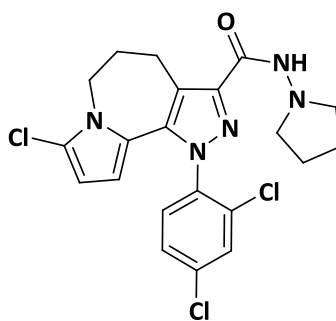


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **149** con la *N*-omoamminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Ca2** come un solido rosa

Rf	0.21 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	160-161.5°C
^1HNMR (200 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	1.50-1.80 (m, 8H), 2.2.30 (m, 2H), 3.05-3.2° (m, 2H), 3.20-3.40 (m, 2H), 4.05-4.20 (m, 2H), 5.33 (d, 1H, $J=3.8$ Hz), 5.89 (d,1H, $J=4.0$ Hz), 7.42 (s, 2H), 7.54 (s, 1H), 8.04 (s, 1H)
^{13}CNMR (50 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	23.9, 26.2, 26.9, 44.7, 58.3, 106.8, 108.4, 118.0, 118.4, 121.5, 128.1, 130.6, 133.5, 135.8, 136.2, 136.9, 141.5, 143.9, 160.2

8-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(pirrolidin-1-il)-1,4,5,6-tetraidropirazolo[3,4-*c*]pirrolo[1,2-*a*]azepine-3-carbossamide **Ca3**

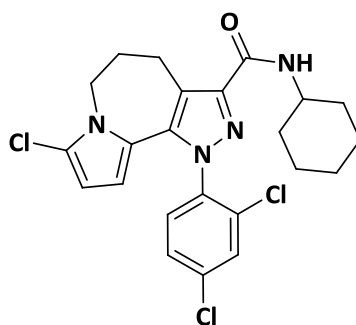


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **149** con la *N*-pirrolidina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Ca3** come un solido arancio chiaro sottile.

Rf	Etp AcOEt 8 : 2
Resa	%
Pf	160-162°C
^1HNMR (200 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	1.89 (s, 4H), 2.00-2.20 (m, 2H), 2.99 (s, 4H), 3.31 (t, 2H, $J=6.8$ e 7.2 Hz), 4.00-4.20 (m, 2H), 5.33 (d, 1H, $J=4.2$ Hz), 5.89 (d, 1H, $J=4.2$ Hz), 7.41 (s, 2H), 7.54 (s, 1H), 7.60 (s, 1H)
^{13}CNMR (50 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	22.2, 23.9, 27.0, 44.8, 55.4, 106.8, 108.0, 121.5, 125.7, 128.1, 130.5, 133.5, 135.6, 135.9, 136.2, 136.8, 143.7, 160.7

8-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(cicloesil-1-il)-1,4,5,6-tetraidropirazolo[3,4-*c*]pirrolo[1,2-*a*]azepine-3-carbossamide **Ca4**

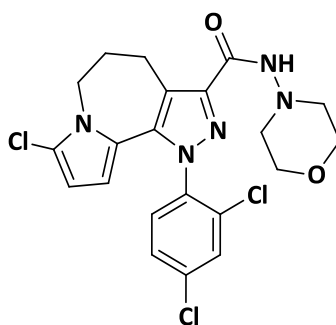


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **149** con la cicloesilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ca4** come un solido marroncino chiaro.

Rf	0.21 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	42 %
Pf	150.8-152°C
^1HNMR (200 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	1.00-1.50 (m, 4H), 1.50-1.90 (m, 4H), 1.90-2.10 (m, 2H), 2.00-2.20 (m, 2H), 3.20-3.40 (m, 2H), 3.80-4.00 (m, 1H), 4.00-4.20 (m, 2H), 5.33 (d, 1H, $J=2.4$ Hz), 5.89 (d, 1H, $J=2.6$ Hz), 6.83 (d, 1H, $J=7.6$ Hz), 7.41 (s, 2H), 7.53 (s, 1H)

8-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(morfolin-1-il)-1,4,5,6-tetraidropirazolo[3,4-*c*]pirrolo[1,2-*a*]azepine-3-carbossamide **Ca5**

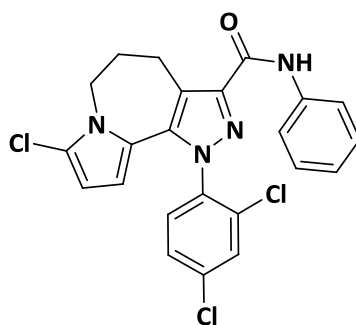


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **149** con la *N*-amminomorfolina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Ca5** come un solido giallastro.

Rf	0.19 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	34%
Pf	208-210°C
^1HNMR (200 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	2.00-2.20 (m, 2H), 2.90-3.00 (m, 4H), 3.20-3.40 (m, 2H), 3.75-3.90 (m, 4H), 4.05-4.20 (m, 2H), 5.33 (d, 1H, $J=4.0$ Hz), 5.89 (d, 1H, $J=3.8$ Hz), 7.42 (s, 2H), 7.55 (s, 1H), 7.69 (s, 1H)

8-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-*N*-(anilin-1-il)-1,4,5,6-tetraidropirazolo[3,4-*c*]pirrolo
[1,2-*a*]azepine-3-carbossamide **Ca6**

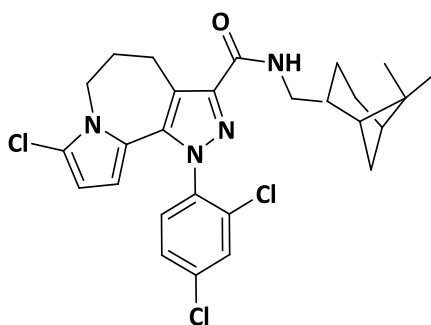


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **149** con l'anilina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Ca6** come un solido rossastro.

Rf	0.68 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	33 %
Pf	167.170°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.00-2.20 (m, 2H), 3.20-3.40 (m, 2H), 4.05-4.20 (m, 2H), 5.35-5.40 (m, 1H), 5.87-5.95 (m, 1H), 7.00-7.10 (m, 1H), 7.34 (t, 2H, J=7.2 Hz), 7.44 (s, 2H), 7.56 (s, 1H), 7.66 (d, 1H, J=7.0 Hz)

8-Cloro-1-(2,4-diclorofenil)-N-(mirtanil-1-il)-1,4,5,6-tetraidropirazolo[3,4-c]pirrolo
[1,2-a]azepine-3-carbossamide **Ca7**

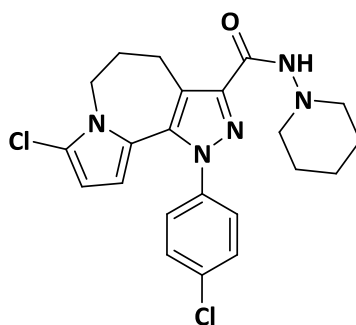


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **149** con la *N*-mirtanilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:5 per ottenere **Ca7** come un solido marroncino.

Rf	0.68 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	32 %
Pf	154-155°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	0.80-1.00 (m, 2H), 1.07 (s, 3H), 1.19 (s, 3H), 1.30-1.60 (m, 1H), 1.60-2.00 (m, 4H), 2.00-2.20 (m, 2H), 2.10-2.30 (m, 2H), 3.20-3.50 (m, 4H), 5.34 (s, 1H), 5.89 (s, 1H), 6.90-7.10 (m, 1H), 7.42 (s, 2H), 7.53 (s, 1H)
[α]_D	-2.10° (CHCl ₃ c=0.1876, t=20°C)

8-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-1,4,5,6-tetraidropirazolo[3,4-*c*]pirrolo
[1,2-*a*]azepine-3-carbossamide **Cb1**

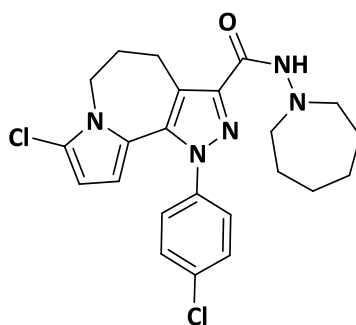


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **150** con la *N*-amminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Cb1** come un solido arancio.

Rf	0.18 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	20 %
Pf	83.8-87°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.27-1.40 (m, 2H), 1.50-1.80 (m, 4H), 2.00-2.34 (m, 4H), 2.80-3.00 (m, 1H), 3.20-3.47 (m, 2H), 3.61-3.80 (m, 3H), 4.05-4.20 (m, 2H), 5.30 (d, 1H, J=4.2 Hz), 5.86 (d, 1H, J=3.4 Hz), 7.30-7.60 (m, 4H), 7.66 (s, 1H)

8-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(omopiperidin-1-il)-1,4,5,6-tetraidropirazolo[3,4-*c*]pirrolo [1,2-*a*]azepine-3-carbossamide **Cb2**

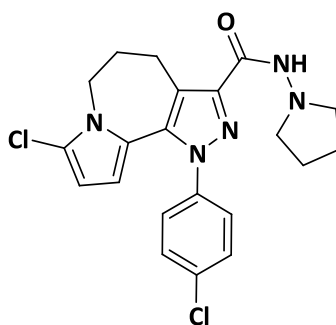


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **150** con la *N*-omoamminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Cb2** come un solido

Rf	0.25 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	34 %
Pf	176-179°C
^1HNMR (200 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	1.60-1.90 (m, 8H), 2.00-2.20 (m, 2H), 3.13 (t, 4H, $J=5.6$ e 4.8 Hz), 3.26 (t, 2H, $J=6.8$ e 7.0 Hz), 4.10-4.25 (m, 2H), 5.45 (d, 1H, $J=4.0$ Hz), 5.92 (d, 1H, $J=4.0$ Hz)m 7.30-7.45 (m, 4H), 8.09 (s, 1H)

8-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(pirrolidin-1-il)-1,4,5,6-tetraidropirazolo[3,4-*c*]pirrolo
[1,2-*a*]azepine-3-carbossamide **Cb3**

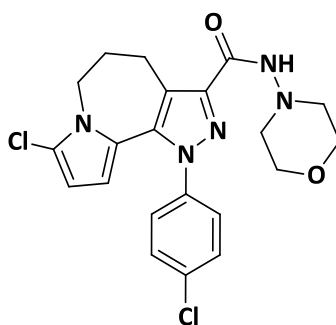


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **150** con la *N*-pirrolidina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Cb3** come un solido arancio chiaro sottile.

Rf	0.22 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	35 %
Pf	145.3-150°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.80-.2.80 (m, 4H), 2.00-2.20 (m, 2H), 3.20-3.40 (m, 2H), 3.80-4.00 (m, 4H), 4.05-4.20 (m, 2H), 5.44 (d, 1H, J=4.0 Hz), 5.92 (d, 1H, J=4.2 Hz), 7.51 (d, 2H, J=9.0 Hz), 7.75 (s, 1H), 7.80 (d, 2H, J=8.8 Hz),

8-Cloro-1-(4-clorofenil)-*N*-(morfolin-1-il)-1,4,5,6-tetraidropirazolo[3,4-*c*]pirrolo
[1,2-*a*]azepine-3-carbossamide **Cb5**

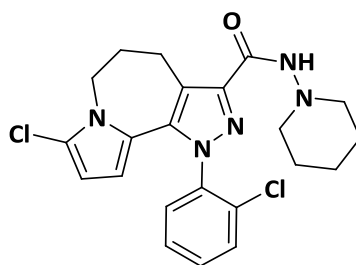


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **150** con la *N*-amminomorfolina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Cb5** come un solido giallastro.

Rf	0.18 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	33 %
Pf	157.2-159.9°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.29 (s, 3H), 2.99 (t, 4H, J=4.8 e 4.4 Hz), 3.88 (t, 4H, 4.6 e 4.4 Hz), 4.80 (s, 2H), 5.31 (s, 1H), 6.01 (d, 1H, J=2.8 Hz), 6.23 (d, 1H, J=3.4 Hz), 7.51 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.75 (s, 1H), 7.80 (d, 2H, J=9.2 Hz),

8-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(piperidin-1-il)-1,4,5,6-tetraidropirazolo[3,4-*c*]pirrolo
[1,2-*a*]azepine-3-carbossamide **Cc1**

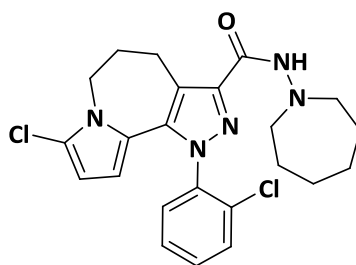


Ottenuto secondo metodo generale **I** per condensazione del dell'acido **151** con la *N*-amminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Cc1** come un solido arancio.

Rf	0.14 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	40 %
Pf	82-84°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.20-1.40 (m, 2H), 1.50-1.80 (m, 4H), 2.00-2.20 (m, 4H), 2.80-3.00 (m, 1H), 3.20-3.40 (m, 2H), 3.60-3.80 (m, 3H), 4.05-4.20 (m, 2H), 5.30 (d, 1H, J=4.2 Hz), 5.86 (d, 1H, J=3.4 Hz), 7.30-7.60 (m, 4H), 7.66 (s, 1H)

8-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(omopiperidin-1-il)-1,4,5,6-tetraidropirazolo[3,4-*c*]pirrolo
[1,2-*a*]azepine-3-carbossamide **Cc2**

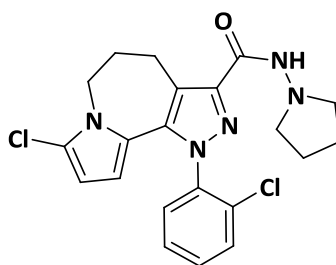


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **151** con la *N*-omoamminopiperidina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per ottenere **Cc2** come un solido

Rf	0.20 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	34 %
Pf	180-183°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.40-1.80 (m, 8H), 2.00-2.20 (m, 2H), 3.00-3.30 (m, 4H), 3.20-3.40 (m, 2H), 3.60-3.80 (m, 3H), 4.05-4.20 (m, 2H), 5.29 (s, 1H), 5.86 (s, 1H), 7.30-7.60 (m, 4H), 8.09 (s, 1H)

8-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(pirrolidin-1-il)-1,4,5,6-tetraidropirazolo[3,4-*c*]pirrolo
[1,2-*a*]azepine-3-carbossamide **Cc3**

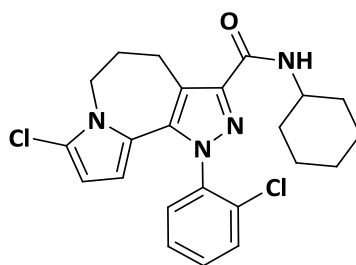


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **151** con la *N*-pirrolidina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Cc3** come un solido arancio chiaro sottile.

Rf	0.20 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	40 %
Pf	210-211°C
^1HNMR (200 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	1.80-2.00 (m, 4H), 2.00-2.20 (m, 2H), 2.80-3.00 (m, 4H), 3.20-3.40 (m, 2H), 4.05-4.20 (m, 2H), 5.28 (s, 1H), 5.86 (s, 1H), 7.36-7.60 (m, 4H), 7.64 (s, 1H)

8-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(cicloesil-1-il)-1,4,5,6-tetraidropirazolo[3,4-*c*]pirrolo
[1,2-*a*]azepine-3-carbossamide **Cc4**

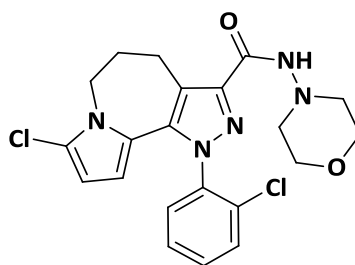


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **151** con la cicloesilammina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Cc4** come un solido marroncino chiaro.

Rf	0,54 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	41 %
Pf	191-192°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.05-1.45 (m, 4H), 1.47-1.80 (m, 4H), 1.90-2.05 (m, 2H), 2.00-2.20 (m, 2H), 3.20-3.40 (m, 2H), 3.80-4.00 (m, 1H), 4.05-4.20 (m, 2H), 5.29 (s, 1H), 5.86 (s, 1H), 6.80-6.95 (m, 1H), 7.30-7.60 (m, 4H)

8-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(morfolin-1-il)-1,4,5,6-tetraidropirazolo[3,4-*c*]pirrolo
[1,2-*a*]azepine-3-carbossamide **Cc5**

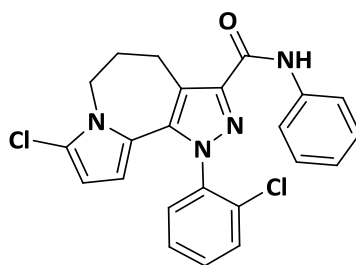


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **151** con la *N*-amminomorfolina nel desiderato prodotto.

Purificato per flash cromatografia (SiO_2) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 1:1 per ottenere **Cc5** come un solido giallastro.

Rf	0.19 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	34 %
Pf	135-137°C
^1HNMR (200 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	2.00-2.20 (m, 2H), 2.80-3.00 (m, 4H), 3.20-3.40 (m, 2H), 3.70-3.90 (m, 4H), 4.05-4.20 (m, 2H), 5.29 (s, 1H), 5.86 (s, 1H), 7.30-7.60 (m, 4H), 7.75 (s, 1H)

8-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(anilin-1-il)-1,4,5,6-tetraidropirazolo[3,4-*c*]pirrolo
[1,2-*a*]azepine-3-carbossamide **Cc6**

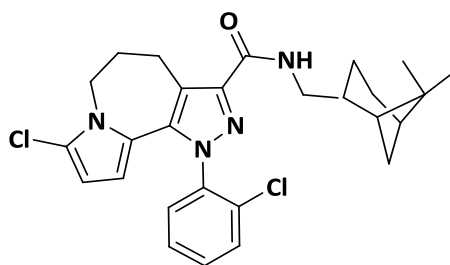


Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **151** con l'anilina cloridrata in presenza di trietilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:15 per ottenere **Cc6** come un solido rossastro.

Rf	0.61 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	36%
Pf	170-171°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.00-2.25 (m, 2H), 3.30-3.45 (m, 2H), 4.00-4.25 (m, 2H), 5.32 (d, 1H, J=3.8 Hz), 5.87 (d, 1H, J=3.6 Hz), 7.10 (t, 1H, J=7.6 Hz), 7.34 (t, 2H, J=6.8 e 7.6 Hz), 7.40-7.60 (m, 4H), 7.67 (d, 2H, J=8.0 Hz), 8.80 (s, 1H)

8-Cloro-1-(2-clorofenil)-*N*-(mirtanil-1-il)-1,4,5,6-tetraidropirazolo[3,4-*c*]pirrolo
[1,2-*a*]azepine-3-carbossamide **Cc7**



Ottenuto secondo metodo generale I per condensazione del dell'acido **151** con la *N*-mirtanilammina nel desiderato prodotto finale.

Purificato per flash cromatografia (SiO₂) eluendo con una miscela di Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 85:5 per ottenere **Cc7** come un solido marroncino.

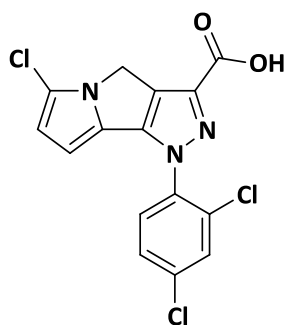
Rf	0.68 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	39 %
Pf	205-206°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.07 (s, 3H), 1.19 (s, 3H), 1.40-1.60 (m, 1H), 1.70-1.90 (m, 6H), 2.00-2.20 (m, 2H), 2.20-2.40 (m, 2H), 3.20-3.40 (m, 2H), 3.10-3.30 (m, 2H), 4.05-4.20 (m, 2H), 5.28 (d, 1H, J=4.0 Hz), 5.85 (d, 1H, J=4.0 Hz), 6.95-7.05 (m, 1H), 7.30-7.60 (m, 4H)
[α]_D	-4.49° (CHCl ₃ c=0.1470, t=20°C)

Metodo generale II: preparazione degli Acidi 141-144, 145-148, 149-151 e 152-154

Ad una soluzione dei tricicli **106-109, 117-120, 135-137 e 138-140** in THF (5 ml per mmol) è stata versata una soluzione 0,8M di LiOH (2 eq). È stato tutto portato a riflusso e lasciato sotto agitazione per 5h. Il solvente organico è stato allontanato sotto pressione ed il grezzo è stato acidificato con HCl 2N fino a pH acido. Il precipitato formatosi è stato filtrato e seccato per dare gli attesi acidi **141-144, 145-148, 149-151 e 152-154**

Acido 6-cloro-1-(2,4-diclorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossilico

141

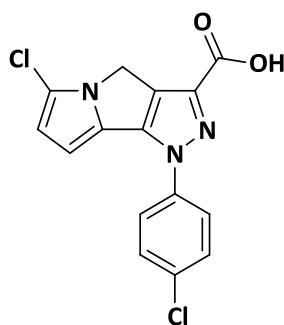


Ottenuto secondo metodo generale II per idrolisi del dell'estere **106** nel desiderato prodotto. **141** come un solido giallastro.

Rf	0.24 CHCl ₃ MeOH 9 :1
Resa	90%
Pf	262.5-265°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	4.89 (s, 2H), 5.95 (d, 1H, J=3.2 Hz), 6.08 (d, 1H, J=3.2 Hz), 7.20-7.70 (m, 3H)

Acido 6-cloro-1-(4-clorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossilico

142

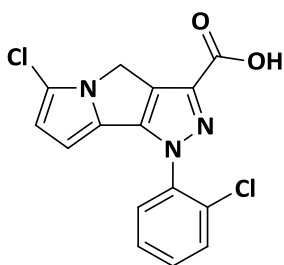


Ottenuto secondo metodo generale II per idrolisi del dell'estere **107** nel desiderato prodotto. **142** come un solido giallastro.

Rf	0.22 CHCl ₃ MeOH 9 :1
Resa	90%
Pf	256-257.9°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	4.99 (s, 2H), 6.29 (d, 1H, J=4.0 Hz), 6.51 (d, 1H, J=4.0 Hz), 7.70 (d, 2H, J=9.0 Hz), 7.83 (d, 2H, J=9.0 Hz)

Acido 6-cloro-1-(2-clorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossilico

143

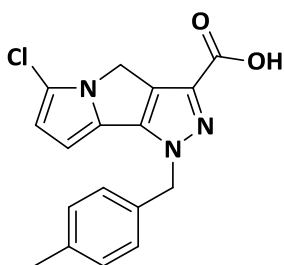


Ottenuto secondo metodo generale II per idrolisi del dell'estere **108** nel desiderato prodotto. **143** come un solido giallastro.

Rf	0.30 CHCl ₃ MeOH 9 :1
Resa	90%
Pf	239-240.6°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.50 (s, 2H), 5.88(d, 1H, J=3.8 Hz), 6.17 (d, 1H, J=3.6 Hz), 7.60-7.80 (m, 4H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	14.3, 21.0, 46.1, 55.9, 60.9, 98.6, 11.7, 118.8, 126.7, 128.0, 129.4, 131.6, 136.2, 138.1, 142.7, 161.7

Acido 6-cloro-1-(4-metilbenzil)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossilico

144

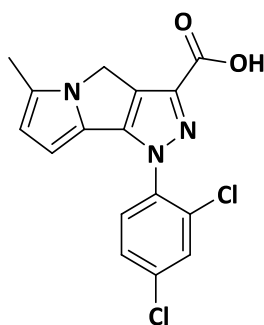


Ottenuto secondo metodo generale II per idrolisi del dell'estere **109** nel desiderato prodotto. **144** come un solido giallastro.

Rf	0.43 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	95%
Pf	Sopra I 280°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.27 (s, 3H), 4.85 (s, 2H), 5.45 (s, 2H), 6.03 (d, 1H, J=3.6 Hz), 6.12 (d, 1H, J=3.8 Hz), 7.17 (d, 2H, J=7.8 Hz), 7.24 (d, 1H, J=8.0 Hz), 13.01 (s, 1H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	17.0, 20.7, 28.0, 47.5, 99.8, 101.2, 112.8, 113.9, 125.6, 126.2, 127.8, 128.1, 129.3, 132.6, 136.4, 137.5, 141.4, 162.5

Acido 6-metil-1-(2,4-diclorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossilico

145

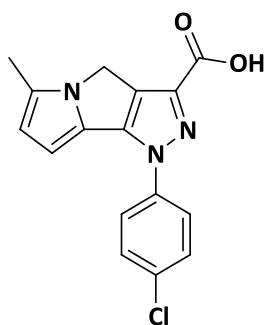


Ottenuto secondo metodo generale II per idrolisi del dell'estere **117** nel desiderato prodotto. **145** come un solido giallastro.

Rf	0.42 CHCl ₃ MeOH 9 : 1
Resa	85 %
Pf	253-254.5°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.29 (s, 3H), 2.98 (bs, 1H), 4.83 (s, 2H), 5.93 (s, 1H), 5.96 (s, 1H), 7.42 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.56 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.62 (s, 1H)

Acido 6-metil-1-(4-clorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossilico

146

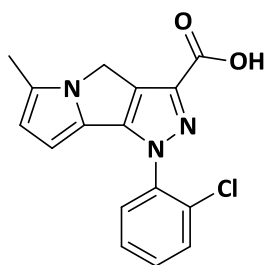


Ottenuto secondo metodo generale II per idrolisi del dell'estere **118** nel desiderato prodotto. **146** come un solido giallastro.

Rf	0.40 CHCl ₃ MeOH 9 : 1
Resa	90 %
Pf	254.2-256.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2,25 (s, 3H), 4.86 (s, 2H), 5.98 (d, 1H, J=2.4 Hz), 6.33 (d, 1H, J=3.4 Hz), 7.68 (d, 2H, J=8.6 Hz), 7.84 (d, 2H, J=8.8 Hz)

Acido 6-metil-1-(2-clorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossilico

147

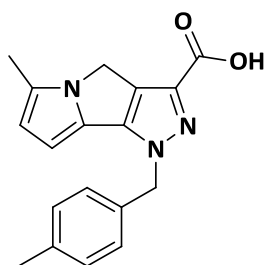


Ottenuto secondo metodo generale II per idrolisi del dell'estere **119** nel desiderato prodotto. **147** come un solido giallastro.

Rf	0.40 CHCl ₃ MeOH 9 : 1
Resa	90 %
Pf	234.8-236.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.23 (s, 3H), 4.91 (s, 2H), 5.70 (s 1H), 5.86 (s, 1H), 7.17 (bs, 1H), 7.50-7.90 (m, 4H)

Acido 6-metil-1-(4-metilbenzil)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossilico

148

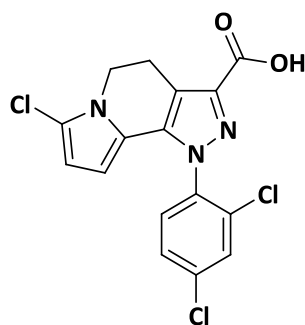


Ottenuto secondo metodo generale II per idrolisi del dell'estere **120** nel desiderato prodotto. **148** come un solido giallastro.

Rf	0.43 CHCl ₃ MeOH 9 : 1
Resa	97%
Pf	Oltre i 280°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.21 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 4.68 (s, 2H), 5.42 (s, 2H), 6.30 (d, 1H, J=3.6 Hz), 5.87 (d, 1H, J=3.6 Hz), 7.15 (d, 2H, J=7.8 Hz), 7.26 (d, 2H, J=7.8 Hz)

Acido 7-cloro-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossilico

149

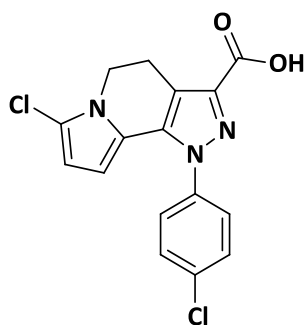


Ottenuto secondo metodo generale II per idrolisi del dell'estere **135** nel desiderato prodotto. **149** come un solido marroncino

Rf	0.44 CHCl ₃ MeOH 9 : 1
Resa	64%
Pf	239-240.7°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	3.32 (t, 2H, J=7.8 e 6.9 Hz), 4.13 (t, 2H, J=6.9 Hz), 5.41 (d, 1H, J=3.9 Hz), 5.96 (d, 1H, J=3.9 Hz), 7.51 (s, 2H), 7.72 (s, 1H)

Acido 7-cloro-1-(4-clorofenil)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossilico

150

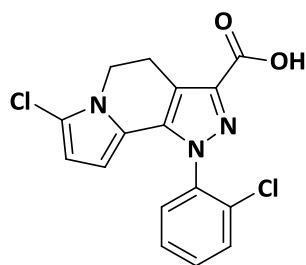


Ottenuto secondo metodo generale II per idrolisi del dell'estere **136** nel desiderato prodotto. **150** come un solido marroncino

Rf	0.42 CHCl ₃ MeOH 9 : 1
Resa	98 %
Pf	189-191°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	3.18 (t, 2H, J=7.4 Hz), 4.10 (t, 2H, J=6.8 Hz), 5.68 (d, 1_H, J=3.8 Hz), 6.09 (d, 1H, J=3.0 Hz), 7.66 (s, 4H)

Acido 7-cloro-1-(2-clorofenil)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossilico

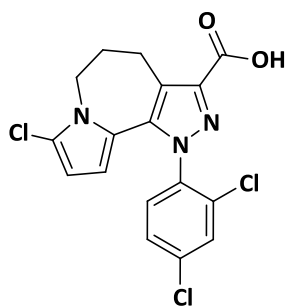
151



Ottenuto secondo metodo generale II per idrolisi del dell'estere **137** nel desiderato prodotto. **151** come un solido marroncino

Rf	0.41 CHCl ₃ MeOH 9 : 1
Resa	95%
Pf	199.8-202°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	3.30-3.40 (m, 2H), 4.05-4.15 (m, 2H), 5.36 (s, 1H), 5.93 (s, 1H), 7.40-7.80 (m, 4H)

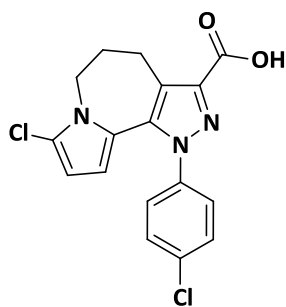
Acido 8-cloro-1-(2,4-diclorofenil)-1,4,5,6-tetraidropirazolo[3,4-c]pirrolo[1,2-c]azepin-3-carbossilico **152**



Ottenuto secondo metodo generale II per idrolisi del dell'estere **138** nel desiderato prodotto. **152** come un solido arancio

Rf	0.50 CHCl ₃ MeOH 9 : 1
Resa	92 %
Pf	112-113.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.51 (m, 2H), 3.00-3.80 (m, 4H), 5.29 (d, 1H, J=4.0 Hz), 5.97 (d, 1H, J=4.2 Hz), 7.64 (s, 2H), 7.81 (s, 1H)

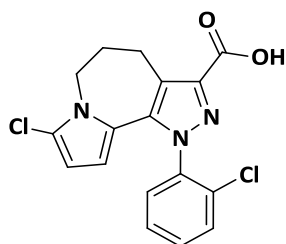
Acido 8-cloro-1-(4-clorofenil)-1,4,5,6-tetraidropirazol[3,4-c]pirrol[1,2-c]azepin-3-carbossilico **153**



Ottenuto secondo metodo generale II per idrolisi del dell'estere **139** nel desiderato prodotto. **153** come un solido arancio

Rf	0.50 CHCl ₃ MeOH 9 : 1
Resa	94 %
Pf	178-179°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.95-2.10 (m, 2H), 2.90-3.10 (m, 2H), 4.00-4.20 (m, 2H), 5.36 (d, 1H, J=3.6 Hz), 6.02 (d, 1H, J=3.6 Hz), 7.30-7.70 (m, 4H)

Acido 8-cloro-1-(2-clorofenil)-1,4,5,6-tetraidropirazol[3,4-c]pirrol[1,2-c]azepin-3-carbossilico **154**



Ottenuto secondo metodo generale II per idrolisi del dell'estere **140** nel desiderato prodotto. **154** come un solido arancio

Rf	0.47 CHCl ₃ MeOH 9 : 1
Resa	90 %
Pf	190-191.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.95-2.10 (m, 2H), 3.00-3.18 (m, 2H), 4.00-4.20 (m, 2H), 5.20 (d, 1H, J=4.1 Hz), 5.98 (d, 1H, J=4.0 Hz), 7.50-7.70 (m, 4H)

Metodo generale III: preparazione degli Esteri 102-105, 106-109, 117-120, 129-131, 132-134, 135-137 e 138-140

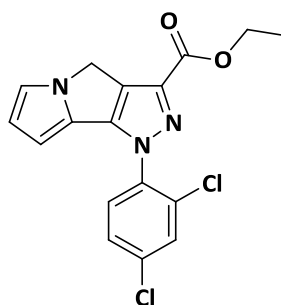
Ad una sospensione di dichetoestere **101, 111, 116, 125, 126, 127 e 128** in EtOH anidro (ml per mmol) è stata introdotta la desiderata idraziana (1,2 eq) a spatolate. Dopo aver fatto agitare per qualche minuto la sospensione la miscela è stata portata a temperatura di refluxo. La soluzione è stata raffreddata, versata in ghiaccio e il precipitato formatosi è stato filtrato e seccato per dare gli attesi tricicli **102-105, 106-109, 117-120, 129-131, 132-134, 135-137 e 138-140**.

Metodo generale IV: preparazione degli Esteri 106-109, 117-120, 135-137 e 138-140

Ad una soluzione di triciclo **102-105, 129-131 e 132-134** in CHCl₃ (ml per mmol) è stata aggiunta a spatolate la NCS (1,2 eq). Dopo aver fatto agitare per qualche minuto la sospensione la miscela è stata portata a temperatura di refluxo per 5h. La soluzione organica è stata raffreddata e lavata con NaHCO₃. La fase organica è stata anidrificata e concentrata per dare un grezzo purificato per FC der fornire gli attesi tricicli alogenati **106-109, 135-137 e 138-140**

1-(2,4-Diclorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-a]pirrolizina-3-carbossilato di etile

102

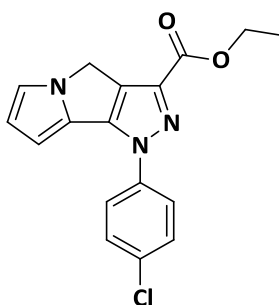


Ottenuto secondo metodo generale III per reazione di **101** con la 2,4-diclorofenilidrazina cloridrata per dare in 2 giorni il desiderato prodotto **102** come solido marroncino.

Rf	0.41 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	86%
Pf	130-131.2°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.43 (t, 3H, J=7.0 Hz), 4.45 (q, 2H, J=7.2 Hz), 4.98 (s, 2H), 5.93 (d, 1H, J=3.4 Hz), 6.24 (t, 1H, J=2.8 e 3.4 Hz), 7.02 (s, 1H), 7.41 (dd, 1H, J=8.2 e 2.2 Hz), 7.57 (d, 1H, J=8.4 Hz) e 7.60 (d, 1H, J=2.2 Hz)

1-(4-Clorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-a]pirrolizina-3-carbossilato di etile

103

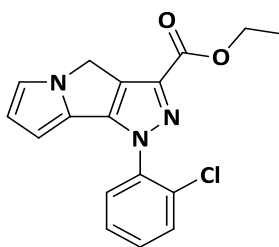


Ottenuto secondo metodo generale III per reazione di **101** con la 4-clorofenilidrazina cloridrata per dare in 2 giorni il desiderato prodotto **103** come solido marroncino.

Rf	0.24 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	66 %
Pf	123-123.5°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.44 (t, 3H, J=7.0 Hz), 4.46 (q, 2H, J=7.0 Hz), 4.95 (s, 2H), 6.20-6.40 (m, 2H), 7.05 (s, 1H), 7.50 (d, 2H, J=8.2 Hz), 7.80 (d, 2H, J=8.2 Hz)

1-(2-Clorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossilato di etile

104

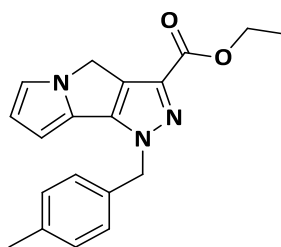


Ottenuto secondo metodo generale III per reazione di **101** con la 2-clorofenilidrazina cloridrata per dare in 2 giorni il desiderato prodotto **104** come solido marroncino.

Rf	0.22 Etp AcOEt 85 : 15
Resa	60%
Pf	110-111.7°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.43 (t, 3H, J=7.0 e 7.2 Hz), 4.45 (q, 2H, J=7.2 Hz), 4.99 (s, 2H), 5.91 (d, 1H, J=3.6 Hz), 6.27 (dd, 1H, J=3.4 e 2.8 Hz), 7.01 (s, 1H), 7.30-7.60 (m, 4H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	14.4, 46.3, 61.3, 99.5, 112.0, 119.2, 126.4, 127.0, 127.6, 128.5, 130.4, 130.5, 136.9, 138.3, 144.8, 161.8

6-Cloro-1-(4-metilbenzil)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossilato di etile

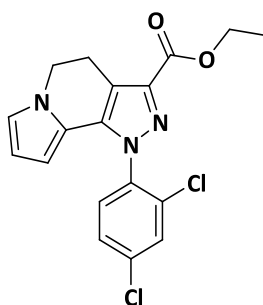
105



Ottenuto secondo metodo generale III per reazione di **101** con la 4-metilbenzilidrazina cloridrata per dare in 2 giorni il desiderato prodotto **105** come solido marroncino.

Rf	0.31 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	60%
Pf	176.4-176.9°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.41 (t, 3H, J=7.2 Hz), 2.33 (s, 3H), 4.42 (q, 2H, J=7.2 e 7.0 Hz), 4.84 (s, 2H), 5.42 (s, 2H), 5.52 (d, 1H, J=3.2 Hz), 6.13 (dd, 1H, J=3.0, 2.8 e 6 Hz), 6.91 (d, 1H, J=1.0 Hz), 7.16 (d, 2H, J=7.8 Hz), 7.27 (d, 2H, J=8.0 Hz)

1-(2,4-Diclorofenil)-4,5-diidropirazolo[4,3-g]indolizina-3-carbossilato di etile

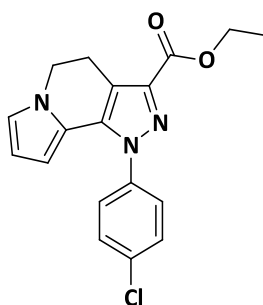


Ottenuto secondo metodo generale III per reazione di **125** con la 2,4-diclorofenilidrazina cloridrata per dare in 8 ore il desiderato prodotto **129** come solido giallastro.

Rf	0.41 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	80%
Pf	181.7-182.5°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1,31 (t, 3H, J=6,9 e 7,8 Hz); 3,31 (t, 2H, J=6,9 Hz); 4,16 (t, 2H, J=6,9 Hz); 4,44 (q, 2H, J=6,9e 7,8 Hz); 5,48 (d, 1H, J=2,1 Hz); 6,05 (t, 1H, J=3,0 e 6,9 Hz); 6,76 (s, 1H); 7,34-7,48 (m, 2H); 7,60 (s, 1H)

1-(4-Clorofenil)-4,5-diidropirazolo[4,3-g]indolizina-3-carbossilato di etile

130

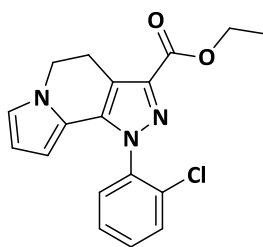


Ottenuto secondo metodo generale III per reazione di **125** con la 4-clorofenilidrazina cloridrata per dare in 8 ore il desiderato prodotto **130** come solido giallastro.

Rf	0.36 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	80%
Pf	171.8.7-172.5°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1,33 (t, 3H, J=6,9 e 7,8 Hz); 3,33 (t, 2H, J=6,9 Hz); 4,16 (t, 2H, J=6,9 Hz); 4,44 (q, 2H, J=6,9e 7,8 Hz); 5,48 (d, 1H, J=2,1 Hz); 6,05 (t, 1H, J=3,0 e 6,9 Hz); 6,76 (s, 1H); 7,51 (d, 2H, J=8.4 Hz), 7,78 (d, 2H, J=8.4 Hz)

1-(2-Clorofenil)-4,5-diidropirazolo[4,3-g]indolizina-3-carbossilato di etile

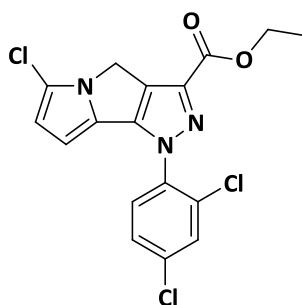
131



Ottenuto secondo metodo generale III per reazione di **125** con la 2-clorofenilidrazina cloridrata per dare in 2 giorni il desiderato prodotto **131** come solido giallastro.

Rf	0.40 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	76 %
Pf	165-166.5°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.43 (t, 3H, J=7.0 e 7.4 Hz), 3.34 (t, 2H, J=6.2 e 6.6 Hz), 4.16 (t, 2H, J=6.2 e 6.6 Hz), 4.45 (q, 2H, J=7.0 e 7.2 Hz), 5.43 (s, 1H), 6.03 (s, 1H), 6.76 (s, 1H), 7.40-7.60 (m, 4H)

6-cloro-1-(2,4-diclorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-*a*]pirrolizina-3-carbossilato di etile

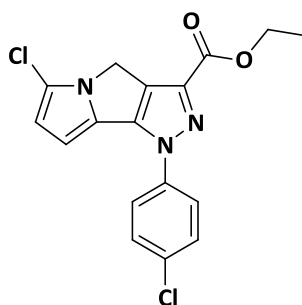


Ottenuto secondo metodo generale III per reazione di **111** con la 2,4-diclorofenilidrazina cloridrata per 2 giorni.

Ottenuto secondo metodo generale IV per alogenazione elettrofila del tricyclo **102**. Il grezzo è stato purificato per FC Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 9:1 per dare il prodotto desiderato **106** come un solido giallastro

Rf	0.26 Etp AcOEt 85 : 15
Resa	70 %
Pf	170-171.2°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.44 (t, 1H, J=7.0 e 7.4 Hz), 4.46 (q, 2H, J=7.2 e 7.0 Hz), 4.89 (s, 2H), 5.94 (d, 1H, J=3.8 Hz), 6.10 (d, 1H, J=4.0 Hz), 7.40 (dd, 1H, J=8.6 e 2.2 Hz), 7.57 (d, 1H, J=8.8 Hz), 7.60 (d, 1H, J=2.2)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	14.4, 46.3, 61.4, 99.6, 112.1, 119.3, 126.5, 126.8, 128.0, 129.2, 130.4, 130.8, 135.8, 138.7, 144.9, 161.7

6-cloro-1-(4-clorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-a]pirrolizina-3-carbossilato di etile



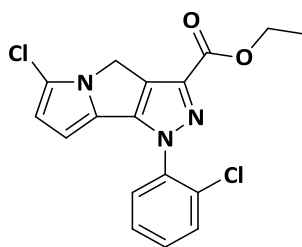
Ottenuto secondo metodo generale III per reazione di **111** con la 4-clorofenilidrazina cloridrata per 2 giorni.

Ottenuto secondo metodo generale IV per alogenazione elettrofila del tricyclo **103**. Il grezzo è stato purificato per FC Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 9:1 per dare il prodotto desiderato **107** come un solido giallastro

Rf	Etp AcOEt 8 : 2
Resa	90 %
Pf	178.8-179.4°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.44 (t ,3H, J=7.0 Hz), 4.46 (q, 2H, J=7.0 Hz), 4.86 (s, 2H), 6.16 (d, 1H, J=3.2 Hz), 6.27 (d, 1H, J=4.0 Hz), 7.50 (d, 2H, J=8.4 Hz), 7.80 (d, 2H, J=8.4 Hz)

6-cloro-1-(2-clorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-a]pirrolizina-3-carbossilato di etile

108



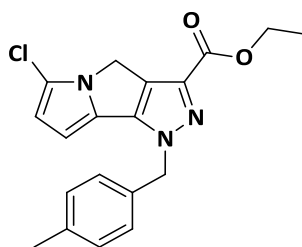
Ottenuto secondo metodo generale III per reazione di **111** con la 2-clorofenilidrazina cloridrata per 2 giorni.

Ottenuto secondo metodo generale IV per alogenazione elettrofila del tricyclo **104**. Il grezzo è stato purificato per FC Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 9:1 per dare il prodotto desiderato **108** come un solido giallastro

Rf	0.59 Etp AcOEt 9 : 1
Resa	85 %
Pf	106.4-107.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.44 (t, 3H, J=7.0 e 7.2 Hz), 4.46 (q, 2H, J=7.4 e 7.0 Hz), 4.90 (s, 2H), 5.93 (d, 1H, J=3.6 Hz), 6.08 (d, 1H, J=3.6 Hz), 7.35-7.60 (m, 4H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	14.1, 45.3, 61.4, 100.6, 11.0, 118.0, 125.8, 128.4, 129.8, 130.5, 131.9, 136.7, 138.4, 144.2, 161.6

6-Cloro-1-(4-metilbenzil)-1,4-diidropirazolo[3,4-a]pirrolizina-3-carbossilato di etile

109

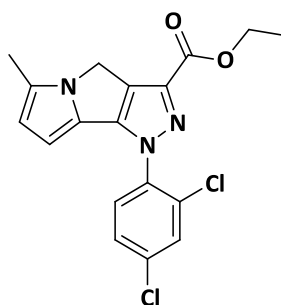


Ottenuto secondo metodo generale III per reazione di **111** con la 4-metilbenzilidrazina cloridrata per 2 giorni.

Ottenuto secondo metodo generale IV per alogenazione elettrofila del tricyclo **105**. Il grezzo è stato purificato per FC Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 9:1 per dare il prodotto desiderato **109** come un solido giallastro

Rf	0.51 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	60%
Pf	133.0-134.9°C
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.43 (t, 3H, J=7.2 e 7.0 Hz), 2.34 (s, 3H), 4.44 (q, 2H, J=7.0 Hz), 4.75 (s, 2H), 5.42 (s, 2H), 5.47 (d, 1H, J=4.0 Hz), 5.97 (d, 1H, J=3.8 Hz), 7.17 (d, 2H, J=7.8 Hz), 7.24 (d, 2H, J=7.8 Hz)

6-Metil-2,4-diclorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-a]pirrolizina-3-carbossilato di etile

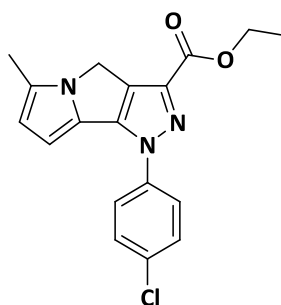


Ottenuto secondo metodo generale IV per alogenazione elettrofila del tricyclo **116**. Il grezzo è stato purificato per FC Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 9:1 per dare il prodotto desiderato **117** come un solido giallino

Rf	0.17 Etp AcOEt 9 : 1
Resa	72 %
Pf	160.162.3°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.44 (t, 3H, J=7.0 e 7.4 Hz), 2.29 (s, 3H), 4.46 (q, 2H, J=7.0 e 7.2 Hz), 4.80 (s, 2H), 5.89 (d, 1H, J=3.6 Hz), 5.91 (d, 1H, J=3.8 Hz), 7.40 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.56 (d, 1H, J=8.6 Hz), 7.61 (s, 1H)

6-Metil-1-(4-clorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-a]pirrolizina-3-carbossilato di etile

118

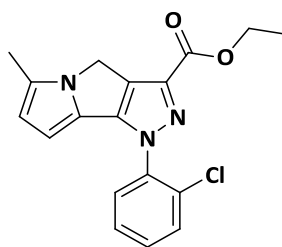


Ottenuto secondo metodo generale IV per alogenazione elettrofila del tricyclo **116**. Il grezzo è stato purificato per FC Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 9:1 per dare il prodotto desiderato **118** come un solido giallastro.

Rf	0.24 Etp AcOEt 9 : 1
Resa	60 %
Pf	175-176.4°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.44 (t, 3H, J=7.2 e 7.0 Hz), 2.30 (s, 3H), 4.46 (q, 2H, J=7.0 Hz), 4.76 (s, 2H), 6.01 (d, 1H, J=2.6 Hz), 6.23 (d, 1H, J=3.6 Hz), 7.49 (d, 2H, J=9.0 Hz), 7.85 (d, 2H, J=9.0 Hz)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	12.0, 14.4, 61.4, 100.3, 109.5, 118.7, 121.5, 127.4, 129.6, 196.34

6-Metil-1-(2-clorofenil)-1,4-diidropirazolo[3,4-a]pirrolizina-3-carbossilato di etile

119

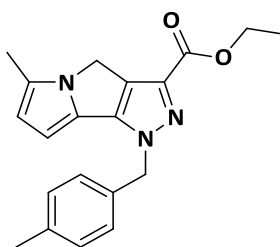


Ottenuto secondo metodo generale IV per alogenazione elettrofila del tricyclo **116**. Il grezzo è stato purificato per FC Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 9:1 per dare il prodotto desiderato **119** come un solido giallastro.

Rf	0.25 Etp AcOEt 9 : 1
Resa	70 %
Pf	156.3-157.4°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.44 (t, 3H, J=7.0 e 7.2 Hz), 2.28 (s, 3H), 4.46 (q, 2H, J=7.2 Hz), 4.80 (s, 2H), 5.88 (s, 1H), 5.93 (s, 1H), 7.36-7.60 (m, 4H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	11.9, 14.4, 44.4, 61.3, 99.7, 109.5, 118.0, 125.2, 126.0, 127.6, 128.5, 128.9, 130.0, 130.3, 130.5, 137.0, 138.4, 141.5, 145.1, 161.9

6-Metil-1-(4-metilbenzil)-1,4-diidropirazolo[3,4-a]pirrolizina-3-carbossilato di etile

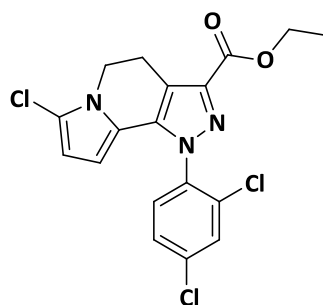
119



Ottenuto secondo metodo generale IV per alogenazione elettrofila del tricyclo **116**. Il grezzo è stato purificato per FC Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 9:1 per dare il prodotto desiderato **119** come un solido giallastro.

Rf	0.34 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	70 %
Pf	167.4-168.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.42 (t, 3H, J=7.0 e 7.2 Hz), 2.21 (s, 3H), 2.32 (s, 3H), 4.41 (q, 2H, J=6.8 e 7.4 Hz), 4.65 (s, 2H), 5.40 (s, 2H), 5.54 (d, 1H, J=3.4 Hz), 5.84 (d, 1H, J=3.8 Hz), 7.14 (d, 2H, J=8.2 Hz), 7.26 (d, 2H, J=7.8 Hz)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	11.8, 14.4, 21.1, 44.3, 56.0, 61.0, 98.9, 109.1, 125.0, 126.4, 127.6, 128.1, 128.5, 129.5, 131.7, 136.3, 138.2, 143.2, 162.0

7-cloro-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-diidropirazolo[4,3-*g*]indolizina-3-carbossilato di etile



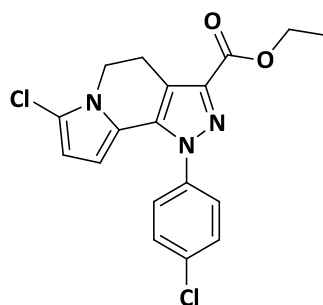
Ottenuto secondo metodo generale III per reazione di **127** con la 2-clorofenilidrazina cloridrata per 2 giorni.

Ottenuto secondo metodo generale IV per alogenazione elettrofila del tricyclo **129**. Il grezzo è stato purificato per FC Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 9:1 per dare il prodotto desiderato **135** come un solido marroncino.

Rf	0.44 Etp AcOEt 85 : 15
Resa	79 %
Pf	186-186.7°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1,43 (t, 3H, J=6,6 e 7,8 Hz); 3,34 (t, 2H, J=6,9 Hz); 4,13 (t, 2H, J=6,9 Hz); 4,45 (q, 2H, J=6,9 Hz); 5,30 (d, 1H, J=3,9 Hz); 5,96 (d, 1H, J=3,9 Hz); 7,43-7,44 (m, 2H); 7,60 (s, 1H)

7-cloro-1-(4-clorofenil)-4,5-diidropirazolo[4,3-g]indolizina-3-carbossilato di etile

136



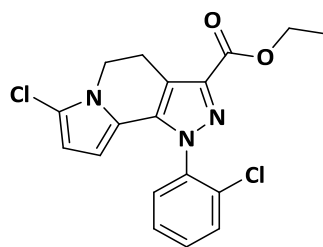
Ottenuto secondo metodo generale III per reazione di **127** con la 2-clorofenilidrazina cloridrata per 2 giorni.

Ottenuto secondo metodo generale IV per alogenazione elettrofila del tricyclo **130**. Il grezzo è stato purificato per FC Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 9:1 per dare il prodotto desiderato **136** come un solido marroncino.

Rf	0.52 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	87 %
Pf	154-155°
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.43 (t, 3H, J=7.0 Hz), 3.30 (t, 2H, J=7.2 e 7.0 Hz), 4.12 (t, 2H, J=7.0 e 6.4 Hz), 4.44 (q, 2H, J=7.0 Hz), 5.77 (d, 1H, J=3.6 Hz), 5.98 (d, 1H, J=3.8 Hz), 7.47 (d, 2H, J=9.0), 7.55 (d, 2H, J=8.0 Hz)

7-cloro-1-(2-clorofenil)- 4,5-diidropirazolo[4,3-g]indolizina-3-carbossilato di etile

137

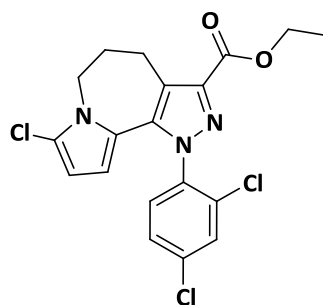


Ottenuto secondo metodo generale III per reazione di **127** con la 2-clorofenilidrazina cloridrata per 2 giorni.

Ottenuto secondo metodo generale IV per alogenazione elettrofila del tricyclo **131**. Il grezzo è stato purificato per FC Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 9:1 per dare il prodotto desiderato **137** come un solido marroncino.

Rf	0.54 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	80 %
Pf	163.2-165.0°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.43 (t, 3H, J=7.0 e 7.4 Hz), 3.35 (t, 2H, J=6.2 e 6.6 Hz), 4.13 (t, 2H, J=6.2 e 6.6 Hz), 4.45 (q, 2H, J=7.0 e 7.2 Hz), 5.36 (s, 1H), 5.94 (s, 1H), 7.40-7.60 (m, 4H)

8-cloro-1-(2,4-diclorofenil)-1,4,5,6-tetraidropirazol[3,4-c]pirrol[1,2-c]azepin-3-carbossilato di etile **138**

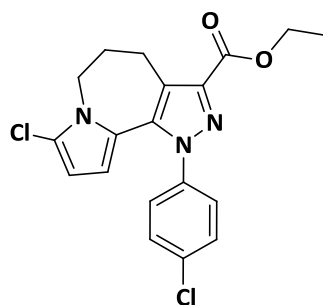


Ottenuto secondo metodo generale III per reazione di **128** con la 2,4-diclorofenilidrazina cloridrata per 2 giorni.

Ottenuto secondo metodo generale IV per alogenazione elettrofila del tricyclo **132**. Il grezzo è stato purificato per FC Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 9:1 per dare il prodotto desiderato **138** come un solido color salmone.

Rf	0.55 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	66 %
Pf	108-110°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.42 (t, 3H, J=7.0 e 7.2 Hz), 2.00-2.27 (m, 2H), 3.20-3.40 (m, 2H), 4.00-4.20 (m, 2H), 4.44 (q, 2H, J=7.4 Hz), 5.36 (d, 1H, J=3.8 Hz), 5.90 (d, 1H, J=4.2 Hz), 7.30-7.60 (m, 3H)

8-cloro-1-(4-clorofenil)-1,4,5,6-tetraidropirazol[3,4-c]pirrol[1,2-c]azepin-3-carbossilato di etile **139**

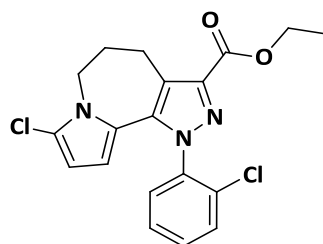


Ottenuto secondo metodo generale III per reazione di **128** con la 2,4-diclorofenilidrazina cloridrata per 2 giorni.

Ottenuto secondo metodo generale IV per alogenazione elettrofila del tricyclo **133**. Il grezzo è stato purificato per FC Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 9:1 per dare il prodotto desiderato **139** come un solido color salmone

Rf	0.52 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	60 %
Pf	152-153.1°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.41 (t, 3H, J=6.8 Hz), 1.95-2.10 (m, 2H), 3.20 (t, 2H, 6.8 e 6.4 Hz), 4.00-4.20 (m, 2H), 4.43 (q, 2H, J=7.0 Hz), 5.45 (d, 1H, J=3.6 Hz), 5.92 (d, 1H, J=4.0 Hz) 7.30-7.70 (m, 4H)

8-cloro-1-(2-clorofenil)-1,4,5,6-tetraidropirazol[3,4-c]pirrol[1,2-c]azepin-3-carbossilato di etile **140**



Ottenuto secondo metodo generale III per reazione di **128** con la 2,4-diclorofenilidrazina cloridrata per 2 giorni.

Ottenuto secondo metodo generale IV per alogenazione elettrofila del tricyclo **134**. Il grezzo è stato purificato per FC Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 9:1 per dare il prodotto desiderato **140** come un solido color salmone.

Rf	0.51 Etp AcOEt 7 : 3
Resa	65%
Pf	157.1-158.9°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.41 (t, 3H, J=6.8 e 7.2 Hz), 2.15-2.13 (m, 2H), 3.20-3.40 (m, 2H), 4.00-4.20 (m, 2H), 4.44 (q, 2H, J=6.8 e 7.2 Hz), 5.32 (d, 1H, J=3.6 Hz), 5.86 (d, 1H, J=4.0 Hz) 7.30-7.70 (m, 4H)

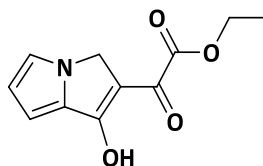
Metodo generale V: preparazione dei Dichetoesteri 101, 111, 116, 125, 126, 127 e 128

Sotto atmosfera inerte una soluzione di EtOH anidro (ml per mmol) e sodio (1 eq) preparata estemporaneamente, è stata addizionata di dietilossalato (1,2 eq) e dopo 15 min del opportuno chetone tra **100, 110, 115, 121, 122, 123 e 124**.

Dopo 1h di agitazione a temperatura ambiente, la miscela è stata versata in ghiaccio e HCl 2N. Il precipitato formato è stato filtrato e seccato all'aria per dare il dichetoesteri desiderati **101, 111, 116, 125, 126, 127 e 128**.

2-(1-Idrossi-3*H*-pirrolizin-2-il)-2-ossacetato di etile

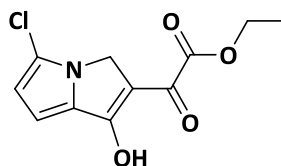
101



Ottenuto secondo metodo generale V per reazione del chetone **100** al desiderato **101** come solido verde.

Rf	0.56 Etp AcOEt 7 : 3
Resa	86%
Pf	70.3-71.5°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.42 (t, 3H, J=7.4 e 7.0 Hz), 4.40 (q, 2H, J=7.2 e 7.0 Hz), 5.09 (s, 2H), 6.55-6.58 (m, 1H), 6.86 (d, 1H, J=4.2), 7.16 (s, 1H)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	14.1, 47.0, 62.4, 109.7, 117.3, 117.5, 118.1, 123.8, 133.4, 149.8, 162.5, 184.0

2-(5-Cloro-1-idrossi-3*H*-pirrolizin-2-il)-2-ossoacetato di etile

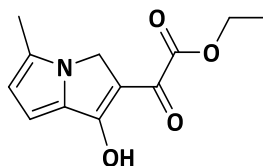


Ottenuto secondo metodo generale V per reazione del chetone **110** al desiderato **111** come solido giallo.

Rf	0.28 Etp AcOEt 7 : 3
Resa	80%
Pf	71.3-72.0°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.42 (t, 3H, J=6.8 e 7.0 Hz), 4.99 (s, 2H), 6.42 (d, 1H, J=3.8 Hz), 6.43 (d, 1H, J=3.6 Hz),

2-(1-Idrossi-5-metil-3*H*-pirrolizin-2-il)-2-ossoacetato di etile

116

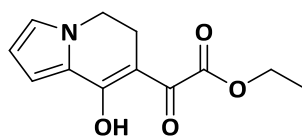


Ottenuto secondo metodo generale V per reazione del chetone **115** al desiderato **116** come solido giallo.

Rf	0.14 Etp AcOEt 8 : 2
Resa	72 %
Pf	66.5-67.9°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.42 (t, 3H, J=7.0 Hz), 2.34 (s, 3H), 4.41 (q, 2H, J=7.0 Hz), 4.91 (s, 2H), 6.31 (d, 1H, J=4.0 Hz), 6.82 (d, 1H, J=4.0 Hz), 13.03 (bs, 1H)

2-(8-Idrossi-5,6-diidroindolizin-7-il)-2-ossoacetato di etile

125

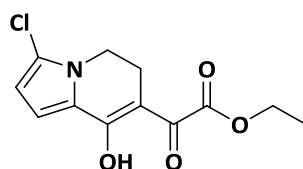


Ottenuto secondo metodo generale V per reazione del chetone **121** al desiderato **125** come solido giallo.

c	0.52 Etp AcOEt 7 : 3
Resa	80%
Pf	72.1-73°C
¹H NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1,41 (t, 3H, J=6,9 Hz); 3,27 (t, 2H, J=6,9 e 6,0 Hz); 4,09 (t, 2H, J=6,9 e 6,6 Hz); 4,37 (q, 2H, J=6,9 Hz); 6,34 (dd, 1H, J=4,8 e 3,9 Hz); 6,95 (d, 1H, J=6,9 Hz); 7,11 (d, 1H, J=3,9 Hz); 15,97 (s, 1H)

2-(3-Cloro-8-idrossi-5,6-diidroindolizin-7-il)-2-ossoacetato di etile

127

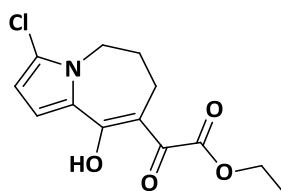


Ottenuto secondo metodo generale V per reazione del chetone **123** al desiderato **127** come solido giallo.

Rf	0.60 Etp AcOEt 7 : 3
Resa	70%
Pf	77-77.7°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1..41 (t, 3H; J=7.2, 7.0 Hz), 3.28 (t, 2H, J=6.4 Hz), 4.04 (t, 2H, J=6.6 e 6.4 Hz), 6.28 (d, 1H, J=4.2 Hz), 7.09 (d, 1H, J=4.2 Hz), 15.81 (s, 1H)

2-(9-Idrossi-6,7-diidro-5*H*-pirrolo[1,2-*a*]azepin-8-il)-2-ossoacetato di etile

127



Ottenuto secondo metodo generale V per reazione del chetone **124** al desiderato **128** come solido rosso.

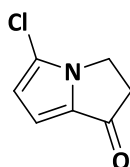
Rf	Etp AcOEt 7 : 3
Resa	80%
Pf	80.1-82°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.41 (t, 3H, J=7.2 Hz), 2.40-2.80 (m, 2H), 4.10-4.30 (m, 2H), 4.35 (q, 2H, J=7.0 e 7.2 Hz), 6.22 (s, 1H), 6.96 (d, 1H, J=4.2 Hz), 15.08 (s, 1H)

Metodo generale VI: preparazione dei Chetoni 110, 123 e 124

Ad una soluzione di chetone **100**, **121** e **122** in CHCl_3 (5ml per mmol) è stata aggiunta a spatolate la NCS (1,2 eq). Dopo aver fatto agitare per qualche minuto la sospensione la miscela è stata portata a temperatura di reflusso per 5h. La soluzione organica è stata raffreddata e lavata con NaHCO_3 . La fase organica è stata anidrificata e concentrata per dare un grezzo purificato per FC der fornire gli attesi chetoni alogenati **110**, **123** e **124**

3-Cloro-6-idropirrolizin-7(5H)-one

110

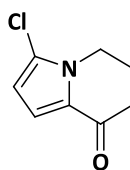


Ottenuto secondo metodo generale VI per reazione del chetone **100** al desiderato **110** come solido giallastro.

Rf	0.64 Etp AcOEt 1 : 1
Resa	70%
Pf	76.2-77°C
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	3.10 (t, 2H, J=6.2 Hz), 4.22 (t, 2H, 6.4 e 6.2Hz), 6.38 (d, 1H, J=4.2Hz), 6.72 (d, 1H, J=4.2 Hz),

3-Cloro-6,7-diidroindolizin-8(5H)-one

123

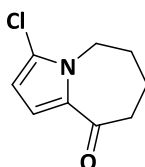


Ottenuto secondo metodo generale V per reazione del chetone **121** al desiderato **123** come olio giallo.

Rf	0.52 Etp AcOEt 7 : 3
Resa	70%
Pf	-
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.22-2.36 (m, 2H), 2.60 (t, 2H, J=7.0 e 6.2 Hz), 4.06 (t, 2H, J=5.8 Hz), 6.21 (d, 1H, J=4.4 Hz), 7.01 (d, 1H, J=4.2 Hz)

3-Cloro-7,8-diidro-(5*H*)- pirrol[1,2*a*]azepin-9(6*H*)-one

124

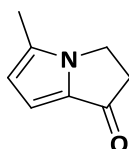


Ottenuto secondo metodo generale V per reazione del chetone **122** al desiderato **124** come olio rosso.

Rf	0.54 Etp AcOEt 7 : 3
Resa	80%
Pf	-
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	1.80-2.20 (m, 4H), 2.75 (t, 2H, J=5.6 e 6.4 Hz), 4.27 (t, 2H, J=5.2 e 6.4 Hz), 6.16 (d, 1H, J=4.6 Hz), 6.98 (d, 1H, J=4.2 Hz)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	19.7, 25.7, 39.3, 40.1, 43.6, 44.2, 108.3, 109.5, 116.0, 119.2, 121.6, 122.9, 128.9, 134.1, 190.5

3-Metil-6-idropirolizin-7(5H)-one

115

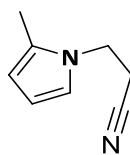


Una miscela di AlCl_3 (3,37 eq), KCl (1,26 eq) e NaCl (1,58 eq) è stata portata a 130°C fino a completo discioglimento. Alla massa fusa, sotto forte agitazione, è stato versato più rapidamente possibile il 3-(2-metil-1*H*-pirrol)propanitrile **114**. Dopo 30 min sotto agitazione il miscuglio semiliquido è stato versato rapidamente in ghiaccio e H_2O (6ml per mmol). La soluzione acquosa scura è stata quindi riscaldata a 40°C per un'ora e poi a 90°C per un'altra ora. Raffreddata è stata estratta con CH_2Cl_2 , il solvente organico anidrificato e concentrato per dare un grezzo scuro purificato per FC Etp (etere di petrolio) AcOEt (acetato di etile) 7:3 per dare **115** come un solido marroncino chiaro che tende ad imbrunire col tempo.

Rf	0.20 Etp AcOEt 85 : 15
Resa	20%
Pf	$55.6\text{-}57^\circ\text{C}$
$^1\text{H NMR}$ (200 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	2.30 (s, 3H), 3.07 (t, 2H, $J=6.0$ e 6.4 Hz), 4.14 (t, 2H, $J=6.0$ e 6.2 Hz) 6.26 (d, 1H, $J=4.0$), 6.69 (d, 1H, $J=4.0$ Hz)
$^{13}\text{C NMR}$ (50 MHz, CDCl_3, δ/ppm)	11.7, 14.1, 45.1, 110.7, 116.7, 134.7, 149.5, 182.9

3-(2-metil-1*H*-pirrol)propanitrile

114



Ad una soluzione di pirrolo **98** in TRITON B in soluzione acquosa al 40% (0,05 eq) a 5°C è stato aggiunto molto lentamente e cautamente l'acetonitrile (1,58 eq) mantenendo la temperatura a tra gli 8 e 12°C. Terminata l'aggiunta è stato lasciato tutto a 12°C per 30 minuti e poi 1 ora a temperatura ambiente. La soluzione densa è stata trasferita in bolla per la distillazione sotto vuoto a 90°C con un vuoto di 0.05 Atm per dare **114** come un olio chiaro.

Rf	Non si vede ne a 256 nm ne a 366 nm
Resa	70%
Bp	90°C a 0.05 atm
H¹NMR (200 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	2.26 (s, 3H), 2.69 (t, 2H, J=7.0 Hz), 4.12 (t, 2H, J=7.2 e 6.8 Hz), 5.95-6.00 (m, 1H), 6.09 (t, 1H, J=3.2 Hz), 6.62 (t, 1H, J=1.8 e 2.8 Hz)
C¹³NMR (50 MHz, CDCl₃, δ/ppm)	11.5, 20.0, 41.7, 107.5, 107.9, 117.1, 119.5, 127.8

Bibliografia

-
- 1 O'Shaughnessy W.B. *On the preparations of the Indian hemp (Cannabis indica); their effects on the animal system in health, and their utility in the treatment of tetanus and other convulsive diseases.* Transactions of the Medical and Physical Society, **1838–1840** 71(102), 421–426
 - 2 Jacob A., Todd A.R. *Cannabis indica. Part II. Isolation of cannabidiol from Egyptian hashish. Observations on the structure of cannabinol.* J.Chem. Soc. **1940**, 649–653
 - 3 Adams R. et al. *Structure of cannabinol. III Synthesis of cannabinol, 1-hydroxy-3-n-amylo-6,6,9-trimethyl-dibenzopyran.* J. Am. Chem. Soc. **1940**, 62, 2204–2207
 - 4 Gaoni Y., Mechoulam R. *The isolation and structure of delta-1-tetrahydrocannabinol and other neutral cannabinoids from hashish.* J. Am. Chem. Soc. **1971**, 93, 217–224
 - 5 Howlett A.C. et al. *Cannabinoid physiology and pharmacology: v30 years of progress.* Neuropharmacology **2004**, 47, 345–358
 - 6 Matsuda L.A. et al. *Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA.* Nature **1990**, 346, 561–564
 - 7 Devane W.A., Hanus L., Breuer A., Pertwee R.G., Stevenson L.A., Griffin G., Gibson D., Mandelbaum A., Etinger A., Mechoulam R. *Isolation and structure of a brain constituent that binds to the cannabinoid receptor* Science **1992**, 258(5090), 1946–1949
 - 8 Munro S. et al. *Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids.* Nature **1993**, 365, 61–65
 - 9 Rinaldi-Carmona M. et al. *SR141716A, a potent and selective antagonist of the brain cannabinoid receptor* FEBS Lett. **1994**, 350, 240–244
 - 10 Mechoulam R. et al. *Identification of an endogenous 2-monoglyceride, present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors.* Biochem. Pharmacol. **1995** 50, 83–90
 - 11 Cravatt B.F. et al. *Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides.* Nature **1996**, 384, 83–87
 - 12 Melck D., Bisogno T., De Petrocellis L., Chuang H.H., Julius D, Bifulco M., Di Marzo V. *Unsaturated long-Chain N-acyl-vanillyl-amides (N-AVAMs): vanilloid receptor ligands that inhibit anandamide-facilitated transport and bind to CB1 cannabinoid receptor* Biochem and Biophys Res. Comm. **1999**, 262, 275-284
 - 13 Zygmunt P.M. et al. *Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide.* Nature **1999**, 400, 452–457

-
- 14a** Pertwee R.G. *GPR55: a new member of the cannabinoid receptor clan?* Br J Pharmacol. **2007**, 152(7), 984–986. **b)** Appendino G., Ligresti A., Minassi A., Cascio M.G., Allarà M., Tagliatela-Scafati O., Pertwee R.G., De Petrocellis L., Di Marzo V. *Conformationally constrained fatty acid ethanolamides as cannabinoid and vanilloid receptor probes* J Med Chem. **2009**, 52(9), 3001-3009.
- 15** Akopian A.N., Ruparel N.B., Jeske N.A., Patwardhan A., Hargreaves K.M. *Role of ionotropic cannabinoid receptors in peripheral antinociception and antihyperalgesia* TRENDS **2008**, 30, 79-84
- 16** Rodriguez de Fonseca F., Delarco I., Bermudez-Silva F. J., Bilbao A., Cippitelli A., Navarro M. *The endocannabinoid system: physiology and pharmacology.* Alcohol & Alcoholism **2005**, 40, 2-14
- 17** Sugiura T., Kobayashi Y., Oka S., Waku K., *Biosynthesis and degradation of anandamide and 2-arachidonoylglycerol and their possible physiological significance* Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acid **2002**, 66, 173-192
- 18** Sugiura T., Kondo S., Sukagawa A., Tonegawa T., Nakane S., Yamashita A., Ishima Y., Waku K. *Transacylase-mediated and phosphodiesterase-mediated synthesis of N-arachidonylethanolamine, an endogenous cannabinoid-receptor ligand, in rat brain microsomes. Comparison with synthesis from free arachidonic acid and ethanolamine* Eur. J. Biochem. **1996**, 240, 53–62
- 19** Natarajan V., Schmid P.C. Schmid H.H.O. *N-acyl-ethanolamine phospholipid metabolism in normal and ischemic rat brain* Biochimica et Biophysica **1986**, 402, 51-58
- 20** Di Marzo V., De Petrocellis L., Sugiura T., Waku K. *Potential biosynthetic connections between the two cannabimimetic eicosanoids, anandamide and 2-arachidonoyl-glycerol, in mouse neuroblastoma cells* Biochem. Biophys. Res. Commun., **1996**, 227, 281
- 21** Sugiura T., Kondo S., Sukagawa A., Nakane S., Shinoda A., Itoh K., Yamashita A., Waku K. *2-Arachidonoylglycerol: a possible endogenous cannabinoid receptor ligand in brain* Biochem Biophys Res Commun. **1995**, 215(1), 89-97
- 22** Tsutsumi T., Kobayashi T., Miyashita M., Watanabe S., Homma Y., Okuyama H. A. *Lysophosphoinositide-specific phospholipase C distinct from other phospholipase C families in rat brain* Arch Biochem Biophys. **1995**, 317(2), 331-336
- 23** Sugiura T., Nakane S., Kishimoto S., Waku K., Yoshioka Y., Tokumura A., Hanahan D.J. *Occurrence of lysophosphatidic acid and its alkyl ether-linked analog in rat brain and*

comparison of their biological activities toward cultured neural cells Biochim. Biophys. Acta. **1999**, 1440 (2-3),194-204

9 Benito C., Nuñez E., Tolon R.M, Carrier E.J, Rabano A., Hillard C.J., Romero J. *Cannabinoid CB2 receptors and fatty acid amide hydrolase are selectively overexpressed in neuritic plaque-associated glia in Alzheimer's disease brains.* J. Neurosci. **2003**, 23, 11136–11141

25 Shire D., Calandra B., Bouaboula M., Barth F., Rinaldi-Carmona M., Casellas P., Ferrara P. *Cannabinoid receptor interactions with the antagonists SR 141716A and SR 144528* Life Sci **1999**, 65, 627-635

26 Francis SH, Poteet-Smith C, Busch JL, Richie-Jannetta R, Corbin JD. *Mechanisms of autoinhibition in cyclic nucleotide-dependent protein kinases* **Front Biosci.** 2002, 1(7), 580-592

27 Glass M., Felder C.C. *Concurrent Stimulation of Cannabinoid CB1 and Dopamine D2 Receptors Augments cAMP Accumulation in Striatal Neurons: Evidence for a Gs Linkage to the CB1 Receptor* J. Neurosci 1997, 17, 5323-5333

28 Montminy M.R., Bilezikjian L.M. *Binding of a nuclear protein to the cyclic-AMP response element of the somatostatin gene* Nature. **1987**, 328(6126), 175-178.

29 Zhuang S.Y., Bridges D., Grigorenko E., McCloud S., Boon A., Hampson R.E., Deadwyler S.A. *Cannabinoids produce neuroprotection by reducing intracellular calcium release from ryanodine-sensitive store* Neuropharmacology **2005**, 48(8), 1086-1096

30 Di Marzo V., Fontana A., Cadas H., Schinelli S., Cimino G., Schwartz J.C., Piomelli D. *Formation and inactivation of endogenous cannabinoid anandamide in central neurons* Nature 1994, 15(372), 686-691

31 Ohno-Shosaku T., Maejima T., Kano M. *Endogenous cannabinoids mediate retrograde signals from depolarized postsynaptic neurons to presynaptic terminals* Neuron. **2001**, 29(3), 729-738

32 H Daniel, A Rancillac, and F Crepel *Mechanisms underlying cannabinoid inhibition of presynaptic Ca²⁺ influx at parallel fibre synapses of the rat cerebellum* J Physiol. **2004**, 15(557), 159–174.

33 Deadwyler S.A., Hampson R.E., Mu J., Whyte A., Childers S.R. *Cannabinoids modulate voltage-sensitive potassium A-current in hippocampal neurons via a cAMP-dependent process.* J Pharmacol Exp Ther **1995**, 273, 734–743

-
- 34** Galve-Roperh I., Sánchez C., Cortés M.L., Gómez del Pulgar T., Izquierdo M., Manuel Guzmán M. *Anti-tumoral action of cannabinoids: Involvement of sustained ceramide accumulation and extracellular signal-regulated kinase activation* Nat Med **2000**, *6*, 313-319
- 35** Sánchez C., Galve-Roperh I., Rueda D., Guzmán M. *Involvement of sphingomyelin hydrolysis and the mitogen-activated protein kinase cascade in the Delta9-tetrahydrocannabinol-induced stimulation of glucose metabolism in primary astrocytes* Mol Pharmacol. **1998**, *54*(5), 834-843
- 36** Hermann A., Kaczocha M., Deutsch D.G., *2-Arachidonoylglycerol (2-AG) Membrane Transport: History and Outlook* AAPS Journal. **2006**, *8*(2), 409-412
- 37.** Cravatt B.F., Giang D.K., Mayfield S.P., Boger D.L., Lerner R.A., Gilula N.B. *Molecular characterization of an enzyme that degrades neuromodulatory fatty-acid amides* Nature **1996**, *384*(6604), 83-87
- 38** Schmid P.C., Schwindenhammer D., Krebsbach R.J., Schmid H.H.O. *Alternative pathways of anandamide biosynthesis in rat testes* Chem Phys Lipids **1998**, *92*(1), 27-35.
- 39** Ueda N., Yamanaka K., Terasawa Y., Yamamoto S. *An acid amidase hydrolyzing anandamide as an endogenous ligand for cannabinoid receptors* FEBS Lett. **1999**, *454*(3), 267-70.
- 40** Di Marzo V., Bisogno T., De Petrocellis L., Melck D., Orlando P., Wagner J.A., Kunos G. *Biosynthesis and inactivation of the endocannabinoid 2-arachidonoylglycerol in circulating and tumoral macrophages* Eur J Biochem. **1999**, *264*(1), 258-267.
- 41** Kozak K.R., Prusakiewicz J.J., Rowlinson S.W., Prudhomme D.R., Marnett L.J. *Amino acid determinants in cyclooxygenase-2 oxygenation of the endocannabinoid anandamide.* Biochemistry. **2003**, *42*(30), 9041-9049
- 42** Caterina M.J., Schumacher M.A., Tominaga M., Rosen T.A., Levine J.D., Julius D. *The capsaicin receptor: a heat-activated ion channel in the pain pathway* Nature **1997**, *389*(6653), 816-824
- 43** Melck D., Bisogno T., De Petrocellis L., Chuang H., Julius D., Bifulco M., Di Marzo V. *Unsaturated long-chain N-acyl-vanillyl-amides (N-AVAMs): vanilloid receptor ligands that inhibit anandamide-facilitated transport and bind to CB1 cannabinoid receptors.* Biochem Biophys Res Commun. **1999**, *262*(1), 275-284
- 44** Bisogno T., Hanus L., De Petrocellis L., Tchilibon S., Ponde D.E., Brandi I., Moriello A.S., Davis J.B., Mechoulam R., Di Marzo V. *Molecular targets for cannabidiol and its synthetic*

analogues: effect on vanilloid VR1 receptors and on the cellular uptake and enzymatic hydrolysis of anandamide Br J Pharmacol **2001**, 134(4), 845-852.

45 Akopian A.N., Ruparel N.B, Patwardhan A., Hargreaves K.M. Cannabinoids desensitize capsaicin and mustard oil responses in sensory neurons via TRPA1 activation J. Neurosci. **2008**, 28, 1064–1075

46 Price TJ, Patwardhan A, Akopian AN, Hargreaves KM, Flores CM *Sensory neuron activity by the dual cannabinoid-vanilloid agonists anandamide, N-arachidonoyl-dopamine and arachidonoyl-2-chloroethylamide* Br. J.Pharmacol. **2004**, 141, 1118–1130

47 Jordt S.V, Bautista D.M., Chuang H., McKemy D.D., Zygmunt P.M., Högestätt E.D, Meng I.D., Julius D. *Mustard oils and cannabinoids excite sensory nerve fibres through the TRP channel ANKTM1* Nature **2004**, 427, 260–265

48 Liu L., Lo Y.C., Chen I.J., Simon S.A. *The responses of rat trigeminal ganglion neurons to capsaicin and two nonpungent vanilloid receptor agonists, olvanil and glyceryl nonamide* J. Neurosci. **1997**, 17, 4101–4111

49 Patwardhan A.M., Jeske N.A., Price T.J., Gamper N., Akopian A.N., Hargreaves K.M. The cannabinoid WIN 55,212-2 inhibits transient receptor potential vanilloid 1 (TRPV1) and evokes peripheral antihyperalgesia via calcineurin Proc. Natl. Acad. Sci. **2006**, 103, 11393–11398

51 Abel E.L. Cannabis: effects on hunger and thirst Behav Biol **1975**, 15, 255–281.

52 Kirkham T.C., Williams C.M., Fezza M., and Di Marzo V. Endocannabinoid levels in rat limbic forebrain and hypothalamus in relation to fasting, feeding and satiation: stimulation of eating by 2-arachidonoyl glycerol Br J Pharmacol **2002**, 136, 550–557.

53 Gomez R., Navarro M., Ferrer B., Trigo J.M., Bilbao A., Del Arco I., Cippitelli A., Nava F., Piomelli D., Rodriguez de Fonseca F. A peripheral mechanism for CB1cannabinoid receptor-dependent modulation of feeding J Neurosci **2002**, 22, 9612–9617.

54 wikipedia

55 Malcher-Lopes R., Di S, Marcheselli V.S., Weng F-J., Stuart C.T., Bazan N.G., and Tasker J.G. *Opposing crosstalk between leptin and glucocorticoids rapidly modulates synaptic excitation via endocannabinoid release* J Neurosci **2006**, 26, 6643–6650.

56 Fadel J., Deutch A.Y. *Anatomical substrates of orexin-dopamine interactions: lateral hypothalamic projections to the ventral tegmental area* Neuroscience **2002**, 111, 379–387.

-
- 57** Despres J-P., Golay A., and Sjostrom L., for the Rimonabant in Obesity-Lipids Study Group *Effects of rimonabant on metabolic risk factors in overweight patients with dyslipidemia* N Engl J Med **2005**, 353, 2121–2134.
- 58 a)** Calignano A., La Rana G., Giuffrida A., and Piomelli D. *Control of pain initiation by endogenous cannabinoids* Nature **1998**, 394, 277–281; **b)** Malan T.P. Jr, Ibrahim M.M., Deng H., Liu Q., Mata H.P., Vanderah T., Porreca F., Makriyannis A. *CB2 cannabinoid receptor-mediated peripheral antinociception* Pain **2001**, 93, 239–245; **c)** Ibrahim M.M., Rude M.L., Stagg N.J., Mata H.P., Lai J., Vanderah T.W., Porreca F., Buckley N.E., Makriyannis A., Malan T.P. Jr *CB2 cannabinoid receptor mediation of antinociception* Pain **2006**, 122, 36–42.
- 59** Whiteside G.T., Gottshall S.L., Boulet J.M., Chaffer S.M., Harrison J.E., Pearson M.S., Turchin P.I., Mark L., Garrison A.E., Valenzano K.J. *A role for cannabinoid receptors, but not endogenous opioids, in the antinociceptive activity of the CB2-selective agonist, GW405833* Eur J Pharmacol **2005**, 528, 65–72.
- 60** Fox A., Kesingland A., Gentry C., McNair K., Patel S., Urban L., James I. *The role of central and peripheral cannabinoid1 receptors in the antihyperalgesic activity of cannabinoids in a model of neuropathic pain* Pain **2001**, 92, 91–100.
- 61** Suplita R.L. 2nd, Gutierrez T., Fegley D., Piomelli D., Hohmann A.G. *Inhibition of fatty-acid amide hydrolase enhances cannabinoid stress-induced analgesia: sites of action in the dorsolateral periaqueductal gray and rostral ventromedial medulla*. Neuropharmacology **2006**, 50, 372–379.
- 62** Amaya F., Shimosato G., Kawasaki Y., Hashimoto S., Tanaka Y., Ji R.R. *Induction of CB(1) cannabinoid receptor by inflammation in primary afferent neurons facilitates antihyperalgesic effect of peripheral CB(1) agonist* Pain, in press **2006**
- 63** Williams I.J., Edwards S., Rubo A., Haller V.L., Stevens D.L., Welch S.P. *Time course of the enhancement and restoration of the analgesic efficacy of codeine and morphine by delta(9)-tetrahydrocannabinol* Eur J Pharmacol **2006**, 539, 57–63.
- 65** Carrier E.J., Auchampach J.A., Hillard C.J. *Inhibition of an equilibrative nucleoside transporter by cannabidiol: a mechanism of cannabinoid immunosuppression*. Proc Natl Acad Sci USA **2006**, 103, 7895–7900.
- 66** Sospedra M. Martin R *Immunology of multiple sclerosis* Annu Rev Immunol **2005**, 23, 683–747.

-
- 67 a)** Jackson S.J., Diemel L.T., Pryce G., Baker D. *Cannabinoids and neuroprotection in CNS inflammatory disease* J Neurol Sci **2005**, 233, 21–25; **b)** Jackson S.J., Pryce G., Diemel L.T., Cuzner M.L., Baker D *Cannabinoidreceptor 1 null mice are susceptible to neurofilament damage and caspase 3 activation* Neuroscience **2005**, 134, 261–266.
- 68** Croxford J.L. Miller S.D. *Immunoregulation of a viral model of multiple sclerosis using the synthetic cannabinoid R_WIN55,212* J Clin Investig **2003**, 111, 1231–1240.
- 69** Arevalo-Martin A., Vela J.M., Molina-Holgado E., Borrell J., Guaza C. *Therapeutic action of cannabinoids in a murine model of multiple sclerosis* J Neurosci **2003**, 23, 2511–2516.
- 70** Gonzalez S., Scorticati C., Garcia-Arencibia M., de Miguel R., Ramos J.A., Fernandez- Ruiz J. *Effects of rimonabant, a selective cannabinoid CB1 receptor antagonist, in a rat model of Parkinson's disease* Brain Res **2006**, 1073–1074, 209–219.
- 71** Brotchie J.M. *CB1 cannabinoid receptor signalling in Parkinson's disease* Curr Opin Pharmacol **2003**, 3, 54–61.
- 72** McCaw E.A., Hu H., Gomez G.T., Hebb A.L., Kelly M.E., Denovan-Wright E.M. *Structure, expression and regulation of the cannabinoid receptor gene (CB1) in Huntington's disease transgenic mice* Eur J Biochem **2004**, 271, 4909–4920.
- 73** Lastres-Becker I., Fezza F., Cebeira M., Bisogno T., Ramos J.A., Milone A., Fernandez- Ruiz J., Di Marzo V. *Changes in endocannabinoid transmission in the basal ganglia in a rat model of Huntington's disease* Neuroreport **2001**, 12, 2125–2129.
- 74** Lastres-Becker I., De Miguel R., Fernandez-Ruiz J.J. *The endocannabinoid system and Huntington's disease* Curr Drug Targets CNS Neurol Disord **2003**, 2, 335–347.
- 75** Ramírez B.G., Blázquez C., Gómez del Pulgar T., Guzmán M., de Ceballos M.L. *Prevention of Alzheimer's disease pathology by cannabinoids: neuroprotection mediated by blockade of microglial activation* J Neurosci. **2005**, 25(8),1904-1913.
- 76** Ramirez B.G., Blazquez C., Gomez del Pulgar T., Guzman M., de Ceballos M.L. *Prevention of Alzheimer's disease pathology by cannabinoids: neuroprotection mediated by blockade of microglial activation* J Neurosci **2005**, 25, 1904–1913.
- 77** D'Souza DC, Perry E, MacDougall L, Ammerman Y, Cooper T, Wu YT, Braley G, Gueorguieva R,, Krystal J.H. *The psychotomimetic effects of intravenous Δ-9-tetrahydrocannabinol in healthy individuals: implications for psychosis* Neuropsychopharmacology **2004**, 29, 1558–1572.

-
- 78** D'Souza D.C., Abi-Saab W.M., Madonick S., Forselius-Bielen K., Doersch A., Braley G., Gueorguieva R., Cooper T.B., Krystal J.H. *Δ-9-Tetrahydrocannabinol effects in schizophrenia: implications for cognition, psychosis, and addiction* Biol Psychiatry **2005**, *57*, 594–608.
- 79** Miller P., Lawrie S.M., Hodges A., Clafferty R., Cosway R., Johnstone E.C. *Genetic liability, illicit drug use, life stress and psychotic symptoms: preliminary findings from the Edinburgh study of people at high risk for schizophrenia* Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol **2001**, *36*, 338–342.
- 80** Newell K.A., Deng C., and Huang X.F. *Increased cannabinoid receptor density in the posterior cingulate cortex in schizophrenia* Exp Brain Res **2006**, *172*, 556–560.
- 81** Giuffrida A., Leweke F.M., Gerth C.W., Schreiber D., Koethe D., Faulhaber J., Klosterkötter J., Piomelli D. *Cerebrospinal anandamide levels are elevated in acute schizophrenia and are inversely correlated with psychotic symptoms*. Neuropsychopharmacology **2004**, *29*, 2108–2114.
- 82** De Marchi N., De Petrocellis L., Orlando P., Daniele F., Fezza F., Di Marzo V. *Endocannabinoid signalling in the blood of patients with schizophrenia* Lipids **2003**, *Health Dis* *2*, 5.
- 83** Ujike H., Takaki M., Nakata K., Tanaka Y., Takeda T., Kodama M., Fujiwara Y., Sakai A., Kuroda S. *CNR1, central cannabinoid receptor gene, associated with susceptibility to hebephrenic schizophrenia* Mol Psychiatry **2002**, *7*, 515–518.
- 84** Viveros M.P., Marco E.M., File S.E. *Endocannabinoid system and stress and anxiety responses* Pharmacol Biochem Behav **2005**, *81*, 331–342.
- 85** Genn R.F., Tucci S., Marco E.M., Viveros M.P., File S.E. *Unconditioned and conditioned anxiogenic effects of the cannabinoid receptor agonist CP 55,940 in the social interaction test* Pharmacol Biochem Behav **2004**, *77*, 567–573.
- 86** Gobbi G., Bambico F.R., Mangieri R., Bortolato M., Campolongo P., Solinas M., Cassano T., Morgese M.G., Debonnel G., Duranti A., *Antidepressant-like activity and modulation of brain monoaminergic transmission by blockade of anandamide hydrolysis* Proc Natl Acad Sci USA **2005**, *102*, 18620–18625.
- 87** Gardner E.L. *Endocannabinoid signaling system and brain reward: emphasis on dopamine* Pharmacol Biochem Behav **2005**, *81*, 263–284.
- 88** Tanda G., Loddo P., Di Chiara G. *Dependence of mesolimbic dopamine transmission on delta9-tetrahydrocannabinol* Eur J Pharmacol **1999**, *376*, 23–26.

-
- 89** Johnson S.W., North R.A. *Opioids excite dopamine neurons by hyperpolarization of local interneurons.* J Neurosci **1992**, *12*, 483–488.
- 90** Melis M., Pistis M., Perra S., Muntoni A.L., Pillolla G., Gessa G.L. *Endocannabinoids mediate presynaptic inhibition of glutamatergic transmission in ventral tegmental area dopamine neurons through activation of CB1 receptors* J Neurosci **2004**, *24*, 53–62.
- 91** Cohen C., Perrault G., Voltz C., Steinberg R., Soubrie P. *SR141716, a central cannabinoid (CB1) receptor antagonist, blocks the motivational and dopaminergic effects of nicotine in rats* Behav Pharmacol **2002**, *13*, 451–463.
- 92** Giros B., Jaber M., Jones S.R., Wightman R.M., Caron M.G. *Hyperlocomotion and indifference to cocaine and amphetamine in mice lacking the dopamine transporter* Nature **1996**, *379*, 606–612.
- 93** Deroche-Gamonet V., Le Moal M., Piazza P.V., Soubrie P. *SR141716, a CB1 receptor antagonist, decreases the sensitivity to the reinforcing effects of electrical brain stimulation in rats* Psychopharmacology **2001**, *157*, 254–259.
- 94** Wang L., Liu J., Harvey-White J., Zimmer A., Kunos G. *Endocannabinoid signaling via cannabinoid receptor 1 is involved in ethanol preference and its age-dependent decline in mice* Proc Natl Acad Sci USA **2003**, *100*, 1393–1398.
- 95** Gorelick D.A., Heishman S.J., Preston K.L., Nelson R.A., Moolchan E.T., Huestis M.A. *The cannabinoid CB1 receptor antagonist rimonabant attenuates the hypotensive effect of smoked marijuana in male smokers* Am Heart J **2006**, *151*, 754.e1–754.e5.
- 96** Adams M.D., Chait L.D., Earnhardt J.T. *Tolerance to the cardiovascular effects of Δ^9 -tetrahydrocannabinol in the rat* Br J Pharmacol **1976**, *56*, 43–48.
- 97** Batkai S., Pacher P., Osei-Hyiaman D., Radaeva S., Liu J., Harvey-White J., Offertaler L., Mackie K., Rudd A., Bukoski R.D., *Endocannabinoids acting at CB1 receptors regulate cardiovascular function in hypertension* Circulation **2004**, *110*, 1996–2002.
- 98** Lagneux C., Lamontagne D. *Involvement of cannabinoids in the cardioprotection induced by lipopolysaccharide* Br J Pharmacol **2001**, *132*, 793–796.
- 99** Lepicier P., Bouchard J.F., Lagneux C., Lamontagne D. *Endocannabinoids protect the rat isolated heart against ischaemia* Br J Pharmacol **2003**, *139*, 805–815.
- 100** Steffens S., Veillard N.R., Arnaud C., Pelli G., Burger F., Staub C., Karsak M., Zimmer A., Frossard J.L., Mach F. *Low dose oral cannabinoid therapy reduces progression of atherosclerosis in mice* Nature **2005**, *434*, 782–786.

-
- 101** Vachon L., FitzGerald M.X., Solliday N.H., Gould I.A., and Gaensler E.A. *Singledose effects of marihuana smoke: bronchial dynamics and respiratory-center sensitivity in normal subjects* N Engl J Med **1973**, *288*, 985–989.
- 102** Tashkin D.P., Reiss S., Shapiro B.J., Calvarese B., Olsen J.L., Lodge J.W. *Bronchial effects of aerosolized Δ 9-tetrahydrocannabinol in healthy and asthmatic subjects* Am Rev Respir Dis **1977**, *115*, 57–65.
- 103** Calignano A., Katona I., Desarnaud F., Giuffrida A., La Rana G., Mackie K., Freund T.F., Piomelli D. *Bidirectional control of airway responsiveness by endogenous cannabinoids* Nature **2000**, *408*, 96–101.
- 104** Berdyshev E., Boichot E., Corbel M., Germain N., Lagente V. *Effects of cannabinoid receptor ligands on LPS-induced pulmonary inflammation in mice* Life Sci **1998**, *63*, 125–129.
- 105** Hepler R.S. Frank I.R. *Marihuana smoking and intraocular pressure* J Am Med Assoc **1971**, *217*, 1392.
- 106 a)** Merritt J.C., Olsen J.L., Armstrong J.R., McKinnon S.M. *Topical Δ 9-tetrahydrocannabinol in hypertensive glaucomas* J Pharm Pharmacol **1981**, *33*, 40–41; **b)** Merritt J.C., Perry D.D., Russell D.N., Jones B.F. *Topical Δ 9-tetrahydrocannabinol and aqueous dynamics in glaucoma* J Clin Pharmacol **1981**, *21* 467S–471S.
- 107** Chen J., Matias I., Dinh T., Lu T., Venezia S., Nieves A., Woodward D.F., Di Marzo V. *Finding of endocannabinoids in human eye tissues: implications for glaucoma*. Biochem Biophys Res Commun **2005**, *330*, 1062–1067.
- 108** Lograno M.D. Romano M.R. *Cannabinoid agonists induce contractile responses through Gi/o-dependent activation of phospholipase C in the bovine ciliary muscle* Eur J Pharmacol **2004**, *494*, 55–62.
- 109** El-Remessy A.B., Al-Shabrawey M., Khalifa Y., Tsai N.T., Caldwell R.B., Liou G.I. *Neuroprotective and blood-retinal barrier-preserving effects of cannabidiol in experimental diabetes*. Am J Pathol **2006**, *168*, 235–244.
- 110 a)** Gomez Del Pulgar T., De Ceballos M.L., Guzman M., Velasco G. *Cannabinoids protect astrocytes from ceramide-induced apoptosis through the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B pathway* J Biol Chem **2002**, *277*, 36527–36533; **b)** Gomez Del Pulgar T., Velasco G., Sanchez C., Haro A., Guzman M. *Denovo-synthesized ceramide is involved in cannabinoid-induced apoptosis* J Biochem **2002**, *363*, 183–188.

-
- 111** McKallip R.J., Nagarkatti M., Nagarkatti P.S. *Δ -9-Tetrahydrocannabinol enhances breast cancer growth and metastasis by suppression of the antitumor immune response* J Immunol **2005**, *174*, 3281–3289.
- 112** Storr M., Sibaev A., Marsicano G., Lutz B., Schusdziarra V., Timmermans J.P., Allescher H.D. *Cannabinoid receptor type 1 modulates excitatory and inhibitory neurotransmission in mouse colon*. Am J Physiol **2004**, *286*, G110–G111.
- 113** Wright K., Rooney N., Feeney M., Tate J., Robertson D., Welham M., Ward S. *Differential expression of cannabinoid receptors in the human colon: cannabinoids promote epithelial wound healing* Gastroenterology **2005**, *129*, 437–453.
- 114** Coutts A.A. Izzo A.A. *The gastrointestinal pharmacology of cannabinoids: an update* Curr Opin Pharmacol **2004**, *4*, 572–579.
- 115** Rivas-V. J.F. Garcia R. *Inhibition of histamine-stimulated gastric acid secretion by Δ 9-tetrahydrocannabinol in rat isolated stomach* Eur J Pharmacol **1980**, *65*, 317–318.
- 116** Whan L.B., West M.C., McClure N., Lewis S.E. *Effects of Δ -9-tetrahydrocannabinol, the primary psychoactive cannabinoid in marijuana, on human sperm function in vitro* Fertil Steril **2006**, *85*, 653–660.
- 117** Guo Y., Wang H., Okamoto Y., Ueda N., Kingsley P.J., Marnett L.J., Schmid H.H., Das S.K., Dey S.K. *N-Acylphosphatidylethanolamine-hydrolyzing phospholipase D is an important determinant of uterine anandamide levels during implantation*. J Biol Chem **2005**, *280*, 23429–23432.
- 118** Park B., McPartland J.M., Glass M. *Cannabis, cannabinoids and reproduction* Prostaglandins Leukotrienes Essent Fatty Acids **2004**, *70*, 189–197.
- 119** Maccarrone M., Valensise H., Bari M., Lazzarin N., Romanini C., Finazzi-Agro A. *Relation between decreased anandamide hydrolase concentrations in human lymphocytes and miscarriage* Lancet **2000**, *355*, 1326–1329.
- 120** Wang H., Guo Y., Wang D., Kingsley P.J., Marnett L.J., Das S.K., DuBois R.N., Dey S.K. *Aberrant cannabinoid signaling impairs oviductal transport of embryos* Nat Med **2004**, *10*, 1074–1079.
- 121 a)** Huffman J.W., Miller J.R., Liddle J., Yu S., Thomas B.F., Wiley J.L., Martin B.R. *Structure-activity relationships for 1',1'-dimethylalkyl-Delta8-tetrahydrocannabinols* Bioorg Med Chem. **2003**, *7*, 1397-1410; **b)** Huffman J.W., Duncan S.G., Wiley J.L., Martin B.R. *Synthesis and pharmacology of the 1',2'-dimethylheptil- Δ 8-THC isomers: exceptionally potent*

cannabinoid Biorg Med Chem Lett. **1997**, *7*, 2799-2804; **c**) John W. Huffman, Julia A. H. Lainton, W. Kenneth Banner, Sammy G. Duncan Jr., Robert D. Jordan, Shu Yu, Dong Dai, Billy R. Martin, Jenny L. Wiley, David R. Compton *Side chain methyl analogues of Δ^8 -THC* *Tetrahedron* **1997**, *53*, 1557-1576

122 Singer M, Ryan WJ, Saha B, Martin BR, Razdan RK. *Potent cyano and carboxamido side-chain analogues of 1', 1'-dimethyl-delta8-tetrahydrocannabinol* J Med Chem. **1998**, *41*(22), 4400-4407

123 Huffman J.W., Yu S., Showalter V., Abood M.E., Wiley J.L., Compton D.R., Martin B.R., Bramblett R.D., Reggio P.H. *Synthesis and pharmacology of a very potent cannabinoid lacking a phenolic hydroxyl with high affinity for the CB2 receptor* J Med Chem. **1996**, *39*(20), 3875-3877

124 Barnett-Norris J., Hurst D.P., Lynch D.L., Guarnieri F., Makriyannis A., Reggio P.H. *Conformational memories and the endocannabinoid binding site at the cannabinoid CB1 receptor* J Med Chem. **2002**, *45*(17), 3649-3659

125 a) Lin S., Khanolkar A.D., Fan P., Goutopoulos A., Qin C., Papahadjis D., Makriyannis A. *Novel Analogues of Arachidonylethanolamide (Anandamide): Affinities for the CB1 and CB2 Cannabinoid Receptors and Metabolic Stability* J Med Chem. **1998**, *41*(27), 5353-5361; **b**) Pinto J.C., Potié F., Rice K.C., Boring D., Johnson M.R., Evans D.M., Wilken G.H., Cantrell C.H., Howlett A.C. *Cannabinoid receptor binding and agonist activity of amides and esters of arachidonic acid* Mol Pharmacol. **1994**, *46*(3), 516-522 **c**) Hillard C.J., Manna S., Greenberg M.J., DiCamelli R., Ross R.A., Stevenson L.A., Murphy V., Pertwee R.G., Campbell W.B. *Synthesis and characterization of potent and selective agonists of the neuronal cannabinoid receptor (CB1)* J Pharmacol Exp Ther. **1999**, *289*(3), 1427-1433

126 Appendino G., Ligresti A., Minassi A., Cascio M.G., Allarà M., Tagliatela-Scafati O., Pertwee R.G., De Petrocellis L., Di Marzo V. *Conformationally constrained fatty acid ethanolamides as cannabinoid and vanilloid receptor probes* J Med Chem. **2009**, *52*(9), 3001-3009.

127 Lang W., Qin C., Lin S., Khanolkar A.D., Goutopoulos A., Fan P., Abouzid K., Meng Z., Biegel D., Makriyannis A. *Substrate specificity and stereoselectivity of rat brain microsomal anandamide amidohydrolase* J Med Chem. **1999**, *42*(5), 896-902

-
- 128** Goutopoulos A., Fan P., Khanolkar A.D., Xie X.Q., Lin S., Makriyannis A. *Stereochemical selectivity of methanandamides for the CB1 and CB2 cannabinoid receptors and their metabolic stability* Bioorg Med Chem. **2001**, *9*(7), 1673-1684
- 129 a)** Ryan W.J., Banner W.K., Wiley J.L., Martin B.R., Razdan R.K. *Potent anandamide analogs: the effect of changing the length and branching of the end pentyl chain* J Med Chem. **1997**, *40*(22), 3617-3625; **b)** Seltzman H.H., Fleming D.N., Thomas B.F., Gilliam A.F., McCallion D.S., Pertwee R.G., Compton D.R., Martin B.R. *Synthesis and pharmacological comparison of dimethylheptyl and pentyl analogs of anandamide* J Med Chem. **1997**, *40*(22), 3626-3634; **c)** Di Marzo V., Bisogno T., De Petrocellis L., Brandi I., Jefferson R.G., Winckler R.L., Davis J.B., Dasse O., Mahadevan A., Razdan R.K., Martin B.R. *Highly selective CB(1) cannabinoid receptor ligands and novel CB(1)/VR(1) vanilloid receptor "hybrid" ligands* Biochem Biophys Res Commun. **2001**, *281*(2), 444-451
- 130** Ghafouri N., Tiger G., Razdan R.K., Mahadevan A., Pertwee R.G., Martin B.R., Fowler C.J. *Inhibition of monoacylglycerol lipase and fatty acid amide hydrolase by analogues of 2-arachidonoylglycerol* Br J Pharmacol. **2004**, *143*(6), 774-784
- 131** Koutek B., Prestwich G.D., Howlett A.C., Chin S.A., Salehani D., Akhavan N., Deutsch D.G. *Inhibitors of arachidonoyl ethanolamide hydrolysis* J Biol Chem. **1994**, *269*(37), 22937-22940
- 132 a)** Boger D.L., Sato H., Lerner A.E., Hedrick M.P., Fecik R.A., Miyauchi H., Wilkie G.D., Austin B.J., Patricelli M.P., Cravatt B.F. *Exceptionally potent inhibitors of fatty acid amide hydrolase: the enzyme responsible for degradation of endogenous oleamide and anandamide* Proc Natl Acad Sci U S A. **2000**, *97*(10), 5044-5049; **b)** Boger D.L., Miyauchi H., Hedrick M.P. *alpha-Keto heterocycle inhibitors of fatty acid amide hydrolase: carbonyl group modification and alpha-substitution* Bioorg Med Chem Lett. **2001**, *11*(12), 1517-1520; **c)** Boger D.L., Miyauchi H., Du W., Hardouin C., Fecik R.A., Cheng H., Hwang I., Hedrick M.P., Leung D., Acevedo O., Guimarães C.R., Jorgensen W.L., Cravatt B.F. *Discovery of a potent, selective, and efficacious class of reversible alpha-ketoheterocycle inhibitors of fatty acid amide hydrolase effective as analgesics* J Med Chem. **2005**, *48*(6), 1849-1856
- 133** Deutsch D.G., Lin S., Hill W.A., Morse K.L., Salehani D., Arreaza G., Omeir R.L., Makriyannis A. *Fatty acid sulfonyl fluorides inhibit anandamide metabolism and bind to the cannabinoid receptor* Biochem Biophys Res Commun. **1997**, *231*(1), 217-221

-
- 134** Piomelli D., Beltramo M., Glasnapp S., Lin S.Y., Goutopoulos A., Xie X.Q., Makriyannis A. *Structural determinants for recognition and translocation by the anandamide transporter* Proc Natl Acad Sci U S A. **1999**, 96(10), 5802-5807
- 135** Fegley D., Kathuria S., Mercier R., Li C., Goutopoulos A., Makriyannis A., Piomelli D. *Anandamide transport is independent of fatty-acid amide hydrolase activity and is blocked by the hydrolysis-resistant inhibitor AM1172* Proc Natl Acad Sci U S A. **2004**, 101(23), 8756-8761
- 136** Bell M.R., D'Ambra T.E., Kumar V., Eissenstat M.A., Herrmann J.L. Jr, Wetzel J.R., Rosi D., Pillion R.E., Daum S.J., Hlasta D.J. *Antinociceptive (aminoalkyl)indoles* J Med Chem. **1991**, 34(3), 1099-1110
- 137** D'Ambra T.E., Estep K.G., Bell M.R., Eissenstat M.A., Josef K.A., Ward S.J., Haycock D.A., Baizman E.R., Casiano F.M., Beglin N.C. *Conformationally restrained analogues of pravadoline: nanomolar potent, enantioselective, (aminoalkyl)indole agonists of the cannabinoid receptor* J Med Chem. **1992**, 35(1), 124-135
- 138 a)** Wiley J.L., Compton D.R., Dai D., Lainton J.A., Phillips M., Huffman J.W., Martin B.R. *Structure-activity relationships of indole- and pyrrole-derived cannabinoids* J Pharmacol Exp Ther. **1998**, 285(3), 995-1004; **b)** Lainton J.A.H., Huffman J.W., Martin B.R., Compton D.R. *1-Alkyl-3-(1-naphthoyl)pyrroles: a new class of cannabinoid* Tetrahedron Lett. **1995**, 36, 1401-1404
- 139** Eissenstat M.A., Bell M.R., D'Ambra T.E., Alexander E.J., Daum S.J., Ackerman J.H., Gruett M.D., Kumar V., Estep K.G., Olefirowicz E.M., *Aminoalkylindoles: structure-activity relationships of novel cannabinoid mimetics* J Med Chem. **1995**, 38(16), 3094-3105
- 140** Huffman J.W., Dai D., Martin B.R., Compton D.R. *Design, Synthesis and Pharmacology of Cannabimimetic Indoles* **1994**, 563-566
- 141** Wiley J.L., Compton D.R., Dai D., Lainton J.A., Phillips M., Huffman J.W., Martin B.R. *Structure-activity relationships of indole and pyrrole-derived cannabinoids* J Pharmacol Exp Ther. **1998**, 285(3), 995-1004
- 142** Aung M.M., Griffin G., Huffman J.W., Wu M., Keel C., Yang B., Showalter V.M., Abood M.E., Martin B.R. *Influence of the N-1 alkyl chain length of cannabimimetic indoles upon CB(1) and CB(2) receptor binding* Drug Alcohol Depend. **2000**, 60(2), 133-140
- 143 a)** Huffman J.W., Zengin G., Wu M.J., Lu J., Hynd G., Bushell K., Thompson A.L., Bushell S., Tartal C., Hurst D.P., Reggio P.H., Selley D.E., Cassidy M.P., Wiley J.L., Martin B.R. *Structure-activity relationships for 1-alkyl-3-(1-naphthoyl)indoles at the cannabinoid CB(1)*

and CB(2) receptors: steric and electronic effects of naphthoyl substituents. *New highly selective CB(2) receptor agonists* Bioorg Med Chem. **2005**, *13*(1), 89-112; **b)** Aung M.M., Griffin G., Huffman J.W., Wu M., Keel C., Yang B., Showalter V.M., Abood M.E., Martin B.R. *Influence of the N-1 alkyl chain length of cannabimimetic indoles upon CB(1) and CB(2) receptor binding* Drug Alcohol Depend. **2000**, *60*(2), 133-140

144 Kumar V., Alexander M.D., Bell M.R., Eissenstat M.A., Casiano F.M., Chippari S.M., Haycock D.A., Luttinger D.A., Kuster J.E., Miller M.S., Stevenson J.I., Ward S.J. *Morpholinoalkylindenes as antinociceptive agents: Novel cannabinoid receptor agonists* **1995**, *5*, 381-386

145 Reggio P.H., Basu-Dutt S., Barnett-Norris J., Castro M.T., Hurst D.P., Seltzman H.H., Roche M.J., Gilliam A.F., Thomas B.F., Stevenson L.A., Pertwee R.G., Abood M.E. *The Bioactive Conformation of Aminoalkylindoles at the Cannabinoid CB1 and CB2 Receptors: Insights Gained from (E)- and (Z)-Naphthylidene Indenes* **1998**, *41*, 5177-5187

146 a) Knight L.W., Huffman J.W., Isherwood M.L. *Synthesis and pharmacology of pyrrole based cannabinoids* 2004 Symposium on the Cannabinoids, International Cannabinoid Research Society Burlington VT **2005**, 97; **b)** Padgett L.W. *Pyrrole based Cannabinoids* Doctoral Dissertation Clemson University 2005

147 Wiley, J.L., Jefferson R.G., Grier M.C., Mahadevan A., Razdan R.J., Martin B.R., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 2001, *296*, 1013

148 Lan, R.; Liu, Q.; Fan, P.; Lin, S.; Fernando, S.R.; McCallion, D.; WO0164633.

149 Muccioli G.G., Lambert D.M. *Current knowledge on the antagonists and inverse agonists of cannabinoid receptors* Current Medicinal Chemistry, **2005**, *12*, 1361-1394.

150 Shim J.Y., Welsh W.J., Cartier E., Edwards J.L., Howlett A.C. *Molecular interaction of the antagonist N-(piperidin-1-yl)-5-(4-chlorophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl)-4-methyl-1H-pyrazole-3-carboxamide with the CB1 cannabinoid receptor.* J Med Chem. **2002**, *45*(7), 1447-1459

151 Rinaldi-Carmona M., Barth F., Millan J., Derocq J.M., Casellas P., Congy C., Oustric D., Sarran M., Bouaboula M., Calandra B., Portier M., Shire D., Brelière J.C., Le Fur G.L. *SR 144528, the first potent and selective antagonist of the CB2 cannabinoid receptor.* J Pharmacol Exp Ther. **1998**, *284*(2), 644-50.

152 Xiang J.N., Elliott J.D., Atkinson S.T., Christensen S.B. Jagerovic N., Hernandez Folgado L., Alkorta I., Goya P. *World Patent Application*, **1998**, WO9831227

153 a) Lange J.H., Kruse C.G., *Keynote review: Mecinalchemistry strategies to CB1 cannabinoid receptor antagonist* Drug Discov Today 2005, 10, 693-702; **b)** Jagerovic N., Hernandez-Folgado L., Alkorta I., Goya P., Navarro M., Serrano A., Rodriguez de Fonseca F., Dannert M.T., Alasua A., Suardiaz M., Pascual D., Martín M.I. *Discovery of 5-(4-chlorophenyl)-1-(2,4-dichlorophenyl)-3-hexyl-1h-1,2,4-triazole, a novel in vivo cannabinoid antagonist containing a 1,2,4-triazole motif* J Med Chem. **2004**, 47(11), 2939-2942; **c)** Lange J.H., Coolen H.K., van Stuivenberg H.H., Dijksman J.A., Herremans A.H., Ronken E., Keizer H.G., Tipker K., McCreary A.C., Veerman W., Wals H.C., Stork B., Verveer P.C., den Hartog A.P., de Jong N.M., Adolfs T.J., Hoogendoorn J., Kruse C.G. *Synthesis, biological properties, and molecular modeling investigations of novel 3,4-diarylpyrazolines as potent and selective CB(1) cannabinoid receptor antagonists* J. Med Chem. **2004**, 47(3), 627-643; **d)** Dyck B., Goodfellow V.S., Phillips T., Grey J., Haddach M., Rowbottom M., Naeve G.S., Brown B., Saunders J. *Potent imidazole and triazole CB1 receptor antagonists related to SR141716* Bioorg Med Chem Lett. **2004**, 14(5), 1151-1154 ; **e)** Plummer C.W., Finke P.E., Mills S.G., Wang J., Tong X., Doss G.A., Fong T.M., Lao J.Z., Schaeffer M.T., Chen J., Shen C.P., Stribling D.S., Shearman L.P., Strack A.M., Van der Ploeg L.H. *Synthesis and activity of 4,5-diarylimidazoles as human CB1 receptor inverse agonists* Bioorg Med Chem Lett. **2005**, 15(5), 1441-1446; **f)** Kanyonyo M., Govaerts S.J., Hermans. E., Poupaert J.H., Lambert D.M. *3-Alkyl-(5,5'-diphenyl)imidazolidineiones as new cannabinoid receptor ligands* Bioorg Med Chem Lett. **1999**, 9(15), 2233-2266; **g)** Meurer L.C., Finke P.E., Mills S.G., Walsh T.F., Toupençe R.B., Debenham J.S., Goulet M.T., Wang J., Tong X., Fong T.M., Lao J., Schaeffer M.T., Chen J., Shen C.P., Sloan Stribling D. *Synthesis and SAR of 5,6-diarylpyridines as human CB1 inverse agonists* Bioorg Med Chem Lett. **2005**, 15(3), 645-651.

154 Bass C.E., Griffin G., Grier M., Mahadevan A., Razdan R.K., Martin B.R. *SR-141716A-induced stimulation of locomotor activity. A structure-activity relationship study* Pharmacol Biochem Behav. **2002**, 74(1), 31-40.

155 Dow R.L., Carpino P.A., Hadcock J.R., Black S.C., Iredale P.A., DaSilva-Jardine P., Schneider S.R., Paight E.S., Griffith D.A., Scott D.O., O'Connor R.E., Nduaka C.I. *Discovery of 2-(2-chlorophenyl)-3-(4-chlorophenyl)-7-(2,2-difluoropropyl)-6,7-dihydro-2H-pyrazolo[3,4-f][1,4]oxazepin-8(5H)-one (PF-514273), a novel, bicyclic lactam-based cannabinoid-1 receptor antagonist for the treatment of obesity* J Med Chem. **2009**, 52(9), 2652-2655.

-
- 156** Francisco E.Y., Burgess J.P., George C., Bailey G.S., Gilliam A.F., Seltzman H.H., Thomas B.F. *Structure elucidation of a novel ring-constrained biaryl pyrazole CB1 cannabinoid receptor antagonist* Magn reson Chem **2003**, 62, 1274-1287
- 157 a)** Murineddu G., Lazzari P., Ruiu S., Sanna A., Loriga G., Manca I., Falzoi M., Dessì C., Curzu M.M., Chelucci G., Pani L., Pinna G.A. *Tricyclic pyrazoles. 4. Synthesis and biological evaluation of analogues of the robust and selective CB2 cannabinoid ligand 1-(2',4'-dichlorophenyl)-6-methyl-N-piperidin-1-yl-1,4-dihydroindeno[1,2-c]pyrazole-3-carboxamide* J Med Chem. **2006**, 49(25), 7502-7512; **b)** Murineddu G., Ruiu S., Loriga G., Manca I., Lazzari P., Reali R., Pani L., Toma L., Pinna G.A. *Tricyclic pyrazoles. 3. Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of analogues of the cannabinoid antagonist 8-chloro-1-(2',4'-dichlorophenyl)-N-piperidin-1-yl-1,4,5,6-tetrahydrobenzo[6,7]cyclohepta[1,2-c]pyrazole-3-carboxamide* J Med Chem. **2005**, 48(23), 7351-7362; **c)** Murineddu G., Ruiu S., Mussinu J.M., Loriga G., Grella G.E., Carai M.A., Lazzari P., Pani L., Pinna G.A. *Tricyclic pyrazoles. Part 2: Synthesis and biological evaluation of novel 4,5-dihydro-1H-benzo[g]indazole-based ligands for cannabinoid receptors* Bioorg Med Chem. **2005**, 13(9), 3309-3320; **d)** Mussinu J.M., Ruiu S., Mulè A.C., Pau A., Carai M.A., Loriga G., Murineddu G., Pinna G.A. *Tricyclic pyrazoles. Part 1: synthesis and biological evaluation of novel 1,4-dihydroindeno[1,2-c]pyrazol-based ligands for CB1 and CB2 cannabinoid receptors* Bioorg Med Chem. **2003**, 11(2), 251-63.
- 158** Hongwu W., Duffy R.A., Boykow G.C., Chackalamannil S., Madison V.S. *Identification of novel cannabinoid CB1 receptor antagonists by using virtual screening with pharmacophore model* J. Med. Chem. **2008**, 51, 2439-2446.
- 159** Cichero E., Menozzi G., Spallarossa A., Mosti L., Fossa P. *Exploring the binding features of rimonabant analogues and acyclic CB1 antagonists: docking studies and QSAR analysis* J Mol Model. **2008**, 14(12), 1131-1145.
- 160** Chen J.Z., Wang J., Xie X.Q. *GPCR structure-based virtual screening approach for CB2 antagonist search* J Chem Inf Model. **2007**, 47(4), 1626-1637..
- 161** Yang Z., Zhang S. *Synthesis of amino-1,2-dihydro-1-pyrrolizinones* J.Indian Chem Soc. **2002**, 79, 698-700
- 162** Adams R. Miyano S., Fles D. *1-Hydroxypirrolizidine and related compounds* JOC **1960**, 20, 1466-1468

-
- 163** Murineddu G., Lazzari P., Ruiu S., Sanna A., Loriga G., Manca I., Falzoi M., Dessì C., Curzu M.M., Chelucci G., Pani L., Pinna G.A. *Tricyclic pyrazoles. 4. Synthesis and biological evaluation of analogues of the robust and selective CB2 cannabinoid ligand 1-(2',4'-dichlorophenyl)-6-methyl-N-piperidin-1-yl-1,4-dihydroindeno[1,2-c]pyrazole-3-carboxamide*. J. Med. Chem. **2006**, *49*, 7502-7512
- 164** Pinna G.A., Pirisi M.A., Chelucci G., Mussinu J.M., Murineddu G., Loriga G., D'Aquila P.S., Serra G. *Synthesis and D(2)-like binding affinity of new derivatives of N-(1-ethyl-2-pyrrolidinylmethyl)-4,5-dihydro-1H-benzo[g]indole-3-carboxamide and related 4H-[1]benzothiopyrano[4,3-b]pyrrole and 5,6-dihydro-4H-benzo[6,7]cyclohepta[b]pyrrole-3-carboxamide analogues*. Bioorg Med Chem. **2002**, *10*(8), 2485-96
- 165** Garrido D.A.O., Buldain G., Ojea M.I., Frydman B. *Synthesis of 2-Alkylputrscines from 3-Alkylpyrroles* J Org Chem, **1988**, *53*, 403-407
- 166** Dismore A., Mandy K., Michael J.P. *total synthesis of two novel 5,6,7,8-tetrahydroindolizine alkaloid polygonatines A and B* Org Biomol Chem. **2006**, *4*, 1032-1037
- 167** Callington E.W. Jones G. *Azonia-azulene Salt. Part I. Synthesis of Some 9-Hydroxypyrrolo[1,2-a]azepinium Salt and 10-Hydroxyazepino[1,2-a]indolium Salt* J Chem Soc, **1969**, 1028-1032
- 168** Donohue S.R., Halldin C., Pike V.W. *A facile and regioselective synthesis of rimonabant through an enamine directed 1,3-dipolar cycloaddition*. Tetrahedron letters **2008**, *49*, 2789-2791