A.D. MDLXII

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI

Dipartimento di Chimica e Farmacia

Scuola di Dottorato in Scienze e Tecnologie Chimiche
Corso di Dottorato in Scienze Farmaceutiche

XXV ciclo

Sintesi e caratterizzazione biologica di nuovi 3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptani quali potenti e selettivi ligandi per i recettori neuronali nicotinici $\alpha_4\beta_2$ e α_7.

Candidato
Dott. Francesco Deligia

Tutor
Dott. Gabriele Murineddu

Direttore
Prof. Stefano Enzo

INDICE

Introduzione ***3***

Interesse e implicazioni patologiche per i recettori neuronali nicotinici (nAChR)

Struttura del recettore nicotinico

Ligandi nicotinici e razionale per la progettazione di nuovi ligandi

Chimica ***28***

Biologia ***35***

Parte sperimentale chimica ***37***

Procedure generali

Reazione di Buckwald-Hartwig

Reazione di Suzuki

Metodo generale per la sintesi dei nuclei anilinici

Metodo generale per la sintesi degli esteri

Sintesi dell'acido

Metodo generale per la sintesi delle ammidi

Metodo generale di deprotezione dei composti finali

Parte sperimentale biologica ***231***

Materiali

Metodi sperimenti di binding e di farmacologia

Curve di saturazione

Preparazione delle membrane da tessuti neuronali

Affinità dei composti saggiati per i nAChR e curve di competizione

Risultati e discussione ***234***

Bibliografia ***245***

INTRODUZIONE

Francesco Deligia, *Sintesi e caratterizzazione biologica di nuovi 3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptani quali potenti e selettivi ligandi per i recettori neuronali nicotinici* $\alpha_4\beta_2$ e α_7. Tesi di dottorato in Scienze e Tecnologie Chimiche, indirizzo Scienze Farmaceutiche (XXV ciclo), Università degli studi di Sassari.

Interesse e implicazioni patologiche per i recettori neuronali nicotinici (nAChR).

L'acetilcolina (Ach) è stato il primo neurotrasmettitore ad essere scoperto ed è uno dei più importanti sia a livello del sistema nervoso centrale (SNC) che periferico (SNP).[1] Le sue azioni sono mediate dai due differenti tipi di recettori colinergici: quelli muscarinici (mAChR), appartenenti alla superfamiglia dei recettori transmembrana accoppiati alle proteine G e la cui attivazione innesca una cascata di reazioni intracellulari mediate dal rilascio di un secondo messaggero; e quelli nicotinici (nAChR), che invece appartengono alla superfamiglia dei canali ionici, e che mediano la risposta sinaptica rapida in seguito ad interazione con ACh.

Il nome di questi recettori origina dall'elevata affinità di legame per la (*S*)-nicotina, agonista esogeno, i cui effetti antinocicettivi sono noti da tempo (Figura 1).[2]

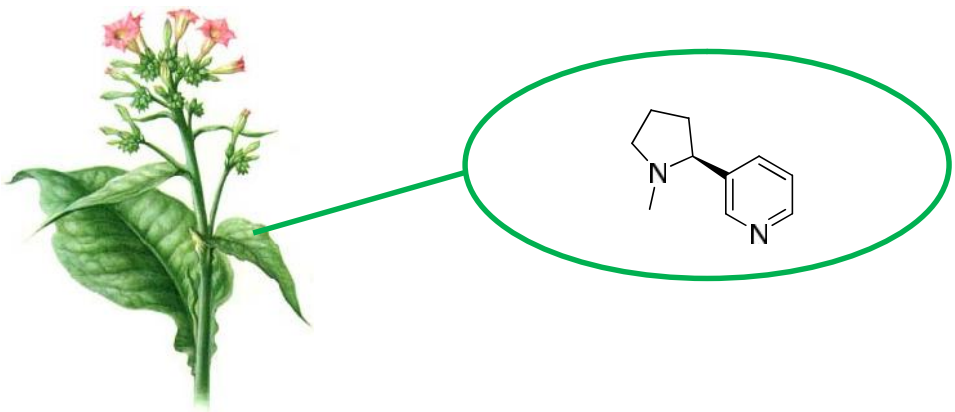


Figura1: *Struttura della (S)-nicotina, alcaloide naturalmente presente nella pianta del tabacco (Nicotiana tabacum).*

Poiché le conoscenze relative alla struttura atomica e organizzazione funzionale dei nAChR sono sempre in continuo progresso, ad oggi, sono i recettori meglio caratterizzati:[3] ciò li rende un eccezionale modello di studio per indagare i meccanismi molecolari delle interazioni farmaco-recettore di importanza fondamentale per la progettazione di nuovi farmaci.[4]

I numerosi sottotipi neuronali sono situati a livello presinaptico e postsinaptico nei gangli autonomi e nei neuroni colinergici di tutto il SNC ed ormai è stato accertato il loro coinvolgimento in numerosi processi correlati con le funzioni cognitive, l'apprendimento, la memoria, l'eccitazione, la ricompensa, il controllo del movimento e l'analgesia.[5] Altrettanto importante per il contributo della trasmissione colinergica è il ruolo svolto da autorecettori ed eterorecettori presinaptici e preterminali che modulano sia il rilascio sinaptico di Ach che

quello di altri importanti neurotrasmettitori quali dopamina, noradrenalina, serotonina, glutammato e GABA (acido γ-amminobutirrico).[6]

La modulazione della liberazione dei diversi neurotrasmettitori è alla base dei numerosi effetti fisiologici prima citati e per tale motivo i nAChR sono stati proposti quale potenziale bersaglio terapeutico nella terapia del dolore,[7] dell'epilessia[8] e di una vasta gamma di disordini neurodegenerativi o psichiatrici come la malattia di Alzheimer,[9] il morbo di Parkinson[10], la sindrome di Tourette[11], la schizofrenia[12], l'ansia e la depressione[13] oltre che nel trattamento della dipendenza da nicotina.[14] Recentemente è stato anche ipotizzato un loro potenziale impiego nella terapia antitumorale.[15]

L'eterogeneità delle popolazioni dei nAChR nel SNC rappresenta interessanti possibilità terapeutiche mirate alla farmacomodulazione di questi recettori.[16] L'ipotesi che diversi importanti processi fisiologici sembrino essere regolati da un singolo o pochi sottotipi di nAChR rende possibile l'intervento su specifiche funzioni della neurotrasmissione colinergica senza influenzarne altri aspetti. A supporto di ciò, poiché pare che gli effetti collaterali a livello cardiovascolare e gastrointestinale della nicotina e di altri agonisti selettivi dei nAChR sembrino essere mediati da tali ligandi su specifici sottotipi di nAChR, il poter disporre di farmaci che agiscono su distinti sottotipi recettoriali consentirebbe di avere a disposizione agenti terapeutici privi di tali reazioni avverse. In tabella 1 sono riportate le principali caratteristiche dei diversi sottotipi dei recettori nicotinici .

Tabella 1: Localizzazione, effetto e ligandi dei diversi recettori nicotinici.

Recettore	Localizzazione	Effetto	Agonista	Antagonista
Muscolare $(\alpha_1)_2\beta_1\gamma\delta$	Giunzione neuromuscolare	Potenziale postsinaptico eccitatorio, principalmente causato da influsso di Na^+ e K^+	acetilcolina carbacolo succinilcolina	α-bungarottossina tubocurarina
Gangliare $(\alpha_3)_2(\beta_4)_3$	Ganglio	Potenziale postsinaptico eccitatorio, principalmente causato da influsso di Na^+ e K^+	acetilcolina carbacolo nicotina epibatidina	α-bungarottossina mecamilamina
Neuronale $(\alpha_4)_2(\beta_2)_3$	Cervello	Potenziale postsinaptico eccitatorio, principalmente causato da influsso di Na^+ e K^+	nicotina epibatidina acetilcolina	mecamilamina β-eritroidina curaro
Neuronale $(\alpha_7)_5$	Cervello	Potenziale post- e presinaptico eccitatorio, principalmente causato da influsso di Ca^{2+}	epibatidina	α-bungarottossina

Struttura del recettore.

I recettori canale nAChR sono costituiti da cinque subunità arrangiate simmetricamente in modo da circoscrivere un canale attraverso il quale avviene il flusso cationico (Na^+, K^+, Ca^{2+}). Ad oggi sono state identificate varie isoforme delle subunità (α, β, γ, δ, ε) a seconda della diversa localizzazione anatomica dei recettori, presenti in un rapporto stechiometrico di 2,1,1,1. Attualmente si conoscono 9 diversi tipi di subunità α e 4 di quella β, mentre non sono note isoforme per le γ, δ ed ε.[17] Le diverse subunità possono combinarsi tra loro formando potenzialmente un numero elevatissimo di configurazioni recettoriali, caratterizzate da profonde differenze in termini di ligando-interazione, farmacologia, cinetica di attivazione, desensibilizzazione e permeabilità cationica (Figura 2).[18]

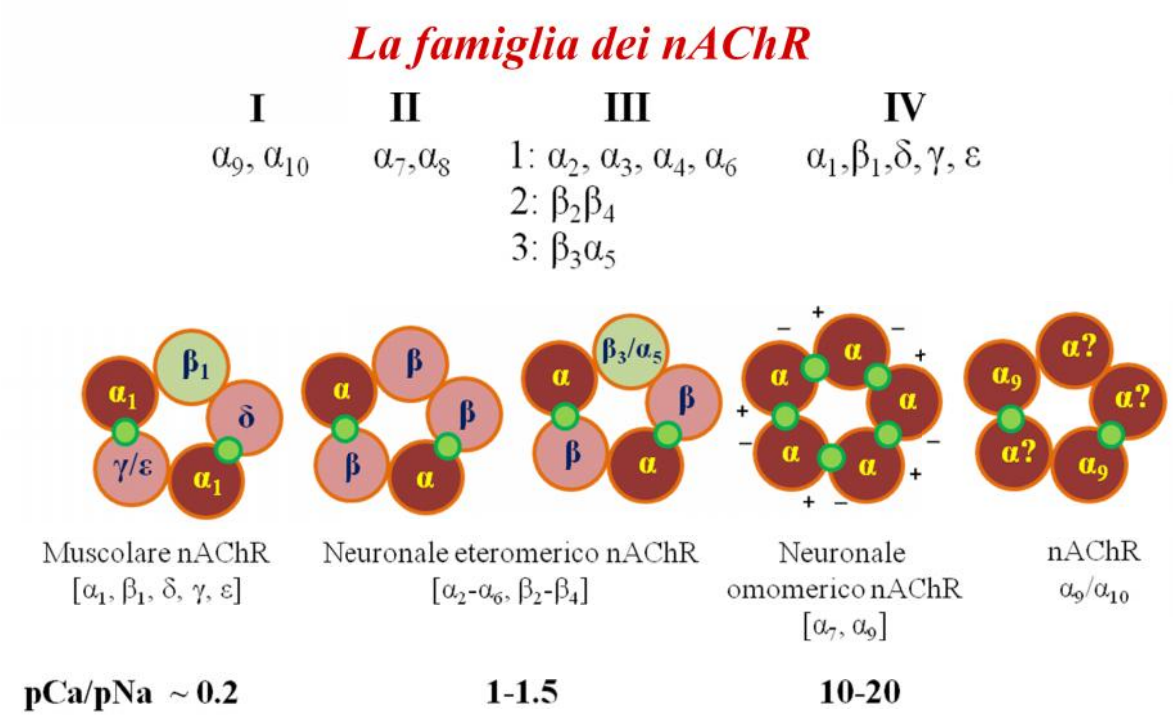


Figura 2: *La famiglia dei nAChR umani con le sue quattro sottofamiglie di subunità, con i vari sottotipi nAChR eteromerici e omomerici e i loro rispettivi rapporti pCa/pNa.*

I recettori neuronali nicotinici sono una famiglia eterogenea ampiamente distribuita nel SNC, in cui si possono individuare due sottofamiglie (Figura 3):

- quella dei *recettori eteromerici*, con classica struttura pentamerica derivante dalla combinazione delle subunità α (α_2, α_3, α_4, α_6) con le subunità β (β_2, β_4), talvolta con la partecipazione delle subunità α_5 e β_3, e con elevata affinità per la (*S*)-nicotina.

- quella dei *recettori omooligomerici*, costituiti da 5 subunità α_7 o α_8, α_9, α_{10} ed elevata affinità per la (α)-bungarottosina, una tossina estratta dal veleno dei serpenti del genere *Bungarus*.

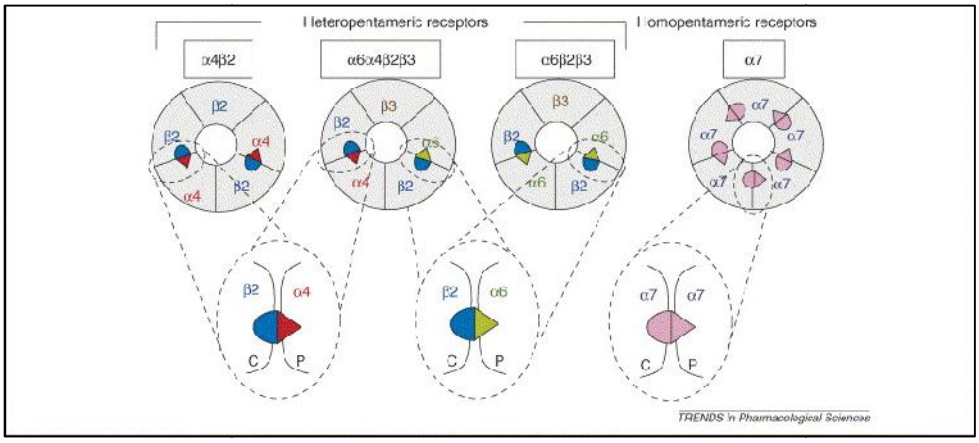


Figura 3: *Associazione delle subunità dei nAChR neuronali e variabilità del sito di legame nicotinico. I triangoli rappresentano il lato principale (P) del sito di legame, e i semi-cerchi rappresentano il lato complementare (C). (TRENDS in Pharmacological Sciences).*

Le risposte farmacologiche ai diversi farmaci nicotinici e le altre caratteristiche funzionali dipendono strettamente dalla composizione in subunità del sottotipo recettoriale.[19] I sottotipi recettoriali dei nAChR più espressi nel SNC includono l'$\alpha_4\beta_2$ e l'omooligomero α_7, distribuiti in diverse regioni del cervello (Figura 4).[20]

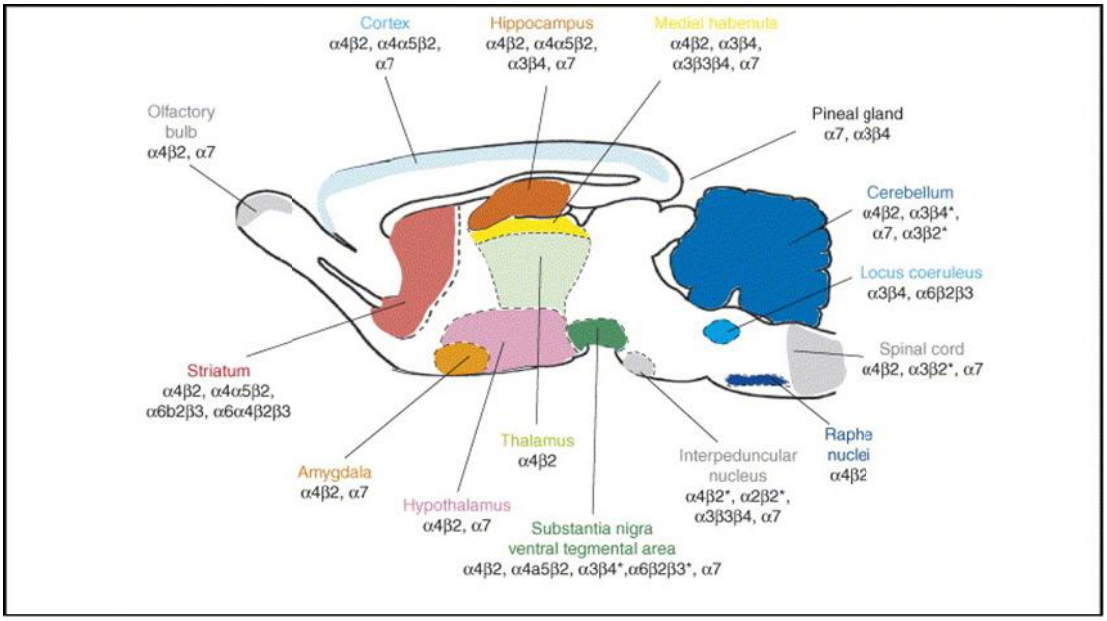


Figura 4: *Distribuzione dei nAChR nelle diverse regioni del SNC. (TRENDS in Pharmacological Sciences).*

Ogni subunità è costituita da un'unica catena polipeptidica lunga ~ 500-600 residui amminoacidici che, ripiegandosi su se stessa, attraversa la membrana plasmatica quattro volte (M_1-M_4). Su di essa si identifica un dominio extracellulare (ECD) costituito dal residuo ammino-terminale e carbossi-terminale; in particolare, il residuo ammino-terminale è costituito da un numero maggiore di amminoacidi e racchiude la tasca necessaria per il legame con l'Ach.

La catena amminica-terminale, ripiegandosi su se stessa, crea un ponte disolfuro tra due residui di cisteina, fondamentale per mantenere l'adeguata conformazione della catena. L'altro dominio è quello trans membrana (TMD), formato dai quattro segmenti M_1-M_4 uniti tra loro da tre anse, due delle quali intracellulari e l'altra extracellulare. La seconda ansa intracellulare che unisce M_3 con M_4 è costituita da una catena amminoacidica più lunga rispetto alle altre (Figura 5).

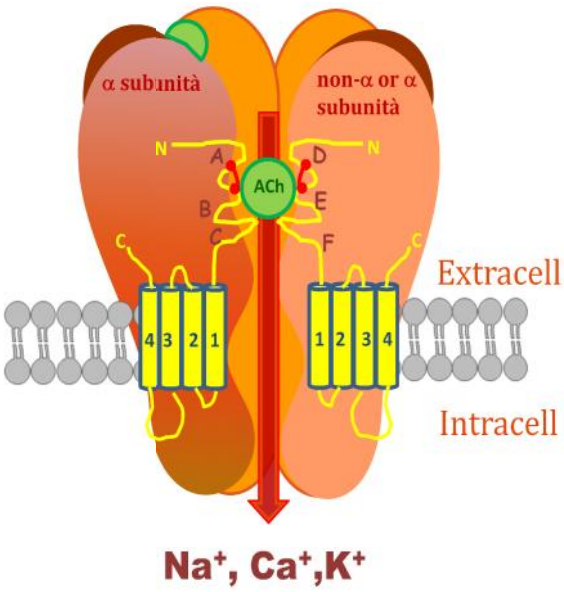


Figura 5: *Topografia del recettore nAChR con identificazione dei due domini ECD e TMD.*

Le anse M_2 di ogni subunità sono quelle che circoscrivono il poro del recettore a livello della sezione transmembrana, le dieci α-eliche M_1e M_3 formano un cerchio esterno, mentre le cinque α-eliche M_4 sono posizionate alla periferia del canale ionico (Figura 6).

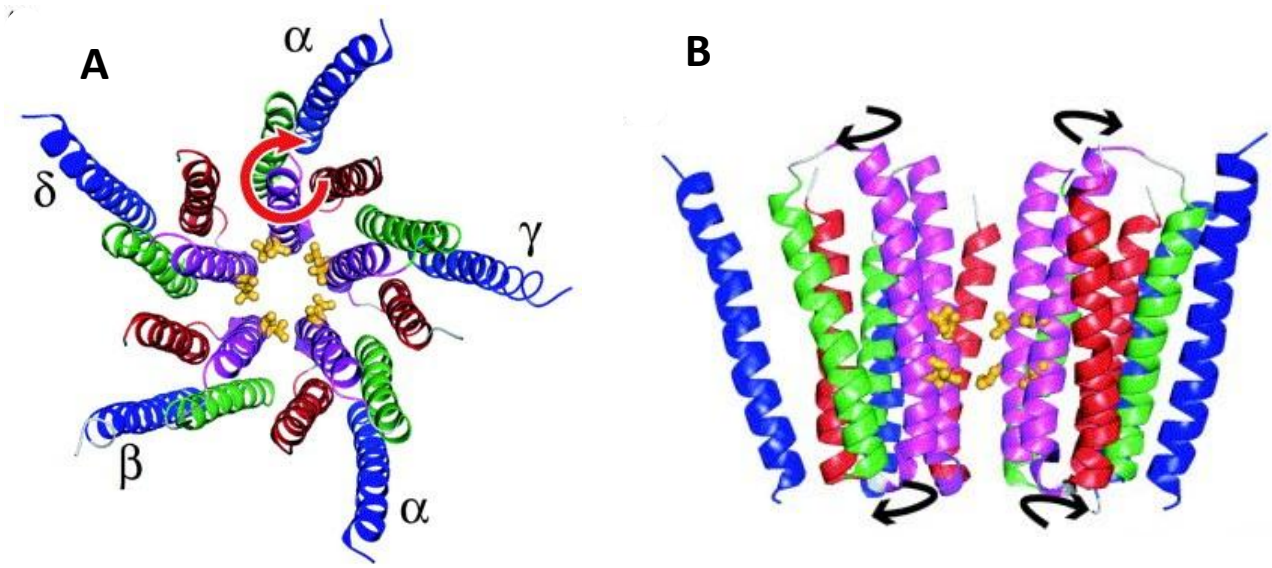


Figura 6: *Orientamento delle anse M1-M4 in un modello del dominio TMD visto dall'alto sul versante extracellulare e lateralmente.*

La parte extracellulare delle α-eliche M_2 si inclina verso l'interno, radialmente verso il punto medio dove è piegato in due posizioni (a Pro 265 e Leu 251). Le altre tre α-eliche sono invece inclinate radialmente verso e tangenzialmente all'asse centrale. Tra le M_2 e le altre (M_1, M_3, M_4) vi sono delle cavità piene d'acqua essenziali per il blocco del segnale del recettore poiché forniscono lo spazio necessario per i cambiamenti conformazionali del canale ionico indotti dall'agonista.[21]

I cationi entrano nel poro ionico del nAChR attraverso il vestibolo extracellulare formato dall'ECD o attraverso aperture laterali sulle interfacce delle subunità. In sezione il canale ionico appare costituito da anelli apolari di residui alifatici rappresentati nel lume dalle cinque α-eliche M_2. Considerando la non polarità del canale, il rivestimento del poro ionico non rappresenta un ambiente particolarmente favorevole per l'ingresso dei cationi, tuttavia residui carichi negativamente sono localizzati sia all'estremità intra- che extracellulare. I nAChR sono permeabili a determinati cationi mono- e bivalenti; la permeabilità aumenta col diametro del catione nei monovalenti e diminuisce nei bivalenti, pertanto il dominio TMD discrimina tra ioni in base alla loro carica e dimensione.[22] Numerosi studi hanno identificato una piccola sequenza peptidica situata sul bordo intracellulare di M_2 come "filtro carica selettività", che determina caratteristica e grandezza degli ioni (Figura 7).[23]

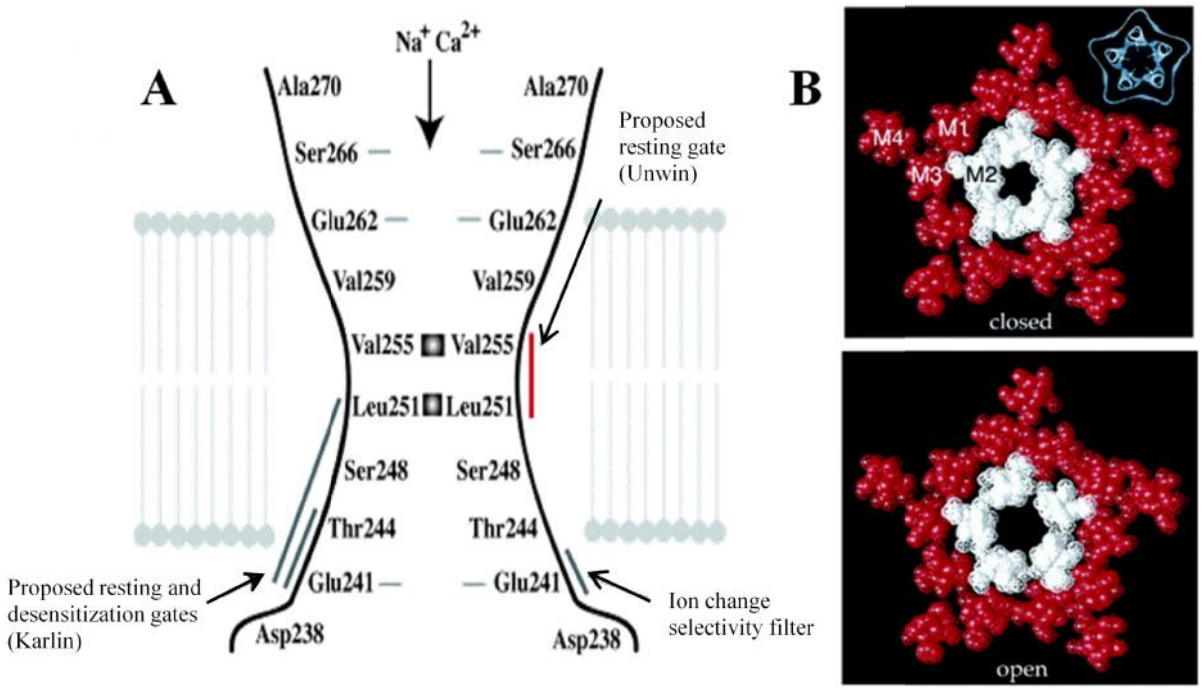


Figura 7: *Canale ionico in nAChR. (**A**) Localizzazione dei residui carichi negativamente in prossimità del poro e filtro di selettività di carica. (**B**) Sezione del canale ionico nello stato chiuso e aperto al centro della membrana. Copyright 2003 Federation of the European Biochemical Societies.*

Nello stato attivo il legame dell'agonista all'NTD suscita una piccola rotazione assiale (~15°) che interrompe o indebolisce le interazioni idrofobe delle intersubunità. Il rilassamento delle strutture permette alle cinque α-eliche M_2 di modificare l'orientamento verso le α-eliche esterne formando interazioni idrofobiche con altri residui. Questo movimento determina un allargamento del poro di 3Å consentendo così il passaggio dei cationi. [24,25]

La composizione molecolare del sito ortosterico è stata definita in maniera dettagliata da numerosi studi compiuti nel corso degli ultimi 40 anni sulla base del prototipo muscolare nAChR.[26] Il sito di legame dell'ACh è situato all'interfaccia tra una subunità di tipo α e una subunità non α, ad eccezione dei recettori omomerici α_7. Pertanto nei recettori neuronali il numero di siti di legame differisce a seconda della sua composizione, da due in $\alpha_4\beta_2$ fino a cinque in α_7 nei sottotipi recettoriali più espressi. I molti residui di amminoacidi che contribuiscono a formare il sito ortosterico sono raggruppati in tratti di sequenze denominate anse A, B e C, che rappresentano la componente principale, mentre le anse D, E ed F rappresentano quella complementare.[27] Studi ai raggi X hanno confermato il coinvolgimento delle anse A-F nel legame con il ligando.

Tutti gli agonisti e le piccole molecole che agiscono da antagonisti competitivi dei nAChR possiedono un gruppo amminico carico positivamente in forma di gruppo amminico quaternario, o terziario o secondario protonato. Nel sito ortosterico, questa banchina amminica alloggia dentro un "box aromatico" formato da cinque residui aromatici (Tyr89, Trp143, Tyr185, Tyr192 e Trp 53) in prossimità del ponte disolfuro formato da due cisteine vicinali (Cys187 e Cys 188).[28] I residui aromatici e il ponte disolfuro hanno un carattere elettronegativo ed è stato proposto che la carica positiva, presente nella maggior parte dei ligandi nicotinici, sarebbe neutralizzata da questi residui.

Da recenti studi di risonanza magnetica nucleare (NMR) sull'orientazione spaziale assunta dalla nicotina nel sito allosterico, è emerso che il gruppo amminico protonato della nicotina forma estese interazioni catione-π con la catena laterale di Trp143 e quella di Trp192,[29] mentre il carbonile del Trp143 forma legami a idrogeno con l'*N* dell'anello pirrolidinico della nicotina (Figura 8).[30]

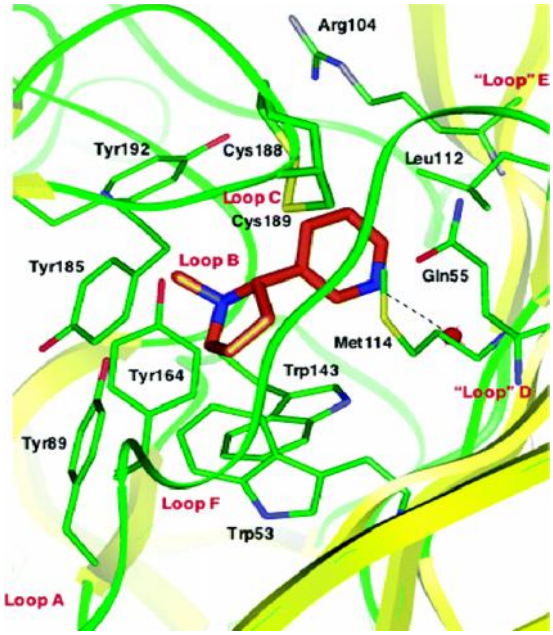


Figura 8: *Legame della (S)-nicotina al sito ortosterico con la partecipazione dei residui amminoacidici delle anse A-F.*

Il gruppo ossidrilico della Tyr89 crea contatti con l'anello pirrolidinico, inoltre il ligando crea interazioni con la Trp53 e la Cys188. La nicotina forma interazioni idrofobiche con residui di Arg104, Leu112, e Met114; infine, l'*N* piridinico coordina lo scheletro peptidico di Leu102 e Met114 attraverso una molecola di H_2O

Tuttavia oltre al "box aromatico" contribuiscono al sito di legame residui amminoacidici variabili che contraddistinguono i vari sottotipi neuronali (es. α_7 da $\alpha_4\beta_2$) e l'approfondimento di queste interazioni rappresenta un passo fondamentale nella ricerca di ligandi che siano in grado di discriminare tra i vari sottotipi neuronali.[31]

A tal proposito giocano un ruolo fondamentale nell'attivazione recettoriale anche i siti allosterici dei nAChR. La presenza di siti allosterici multipli, attraverso cui la funzione può essere modulata, aveva consentito di formulare il modello recettoriale detto "Monod-Wyman-Changeux" (MWC)[32] utile a descrivere la natura allosterica della segnalazione dei nAChR.

Secondo tale modello il recettore nicotinico oscilla tra almeno tre stati funzionali anche in assenza di agonisti: uno stato di riposo, uno attivo ed uno stato desensitizzato (spesso diviso in uno stato di rapida insorgenza e uno di lenta insorgenza) (Figura 9). L'equilibrio tra i due stati è determinato dalle loro differenze di energia libera. La velocità dei processi di attivazione e desensitizzazione variano notevolmente tra differenti nAChR e questo contribuisce alle diversità farmacologiche di questi recettori.

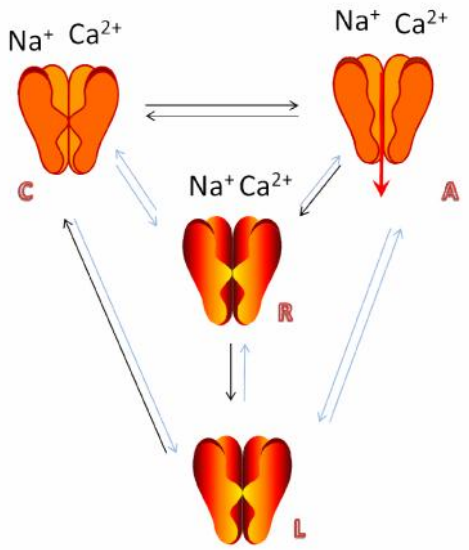


***Figura 9**: Modello MWC: transizioni allosteriche tra lo stato di riposo (C), attivo (A)e gli stati desensibilizzati di rapida insorgenza (R) e lenta insorgenza (L).*

Sono stati individuati diversi agenti farmacologici, chiamati modulatori allosterici, che si legano ad altre regioni della proteina diverse dal sito attivo e dal lume del canale.[33] Tali composti possono esercitare una modulazione positiva o negativa determinando rispettivamente effetti attivatori o inibitori sull'attività fisiologica senza influenzare direttamente il processo di segnalazione. Tali siti allosterici possono trovarsi all'interfaccia tra

altre subunità differenti dalla α o ancora in prossimità del dominio transmembrana o sullo stesso TMD o ancora nel dominio citoplasmatico.[34] Il legame di un agonista o antagonista competitivo con i siti ortosterici stabilizza rispettivamente il recettore nello stato attivo o di riposo. Gli agonisti sono caratterizzati da una maggiore affinità per lo stato attivo piuttosto che per quello di riposo, viceversa per gli antagonisti. Infine alta affinità di legame e altissima affinità di legame si traducono rispettivamente in una rapida insorgenza e lenta insorgenza dello stato desensibilizzato del recettore (Figura 10).

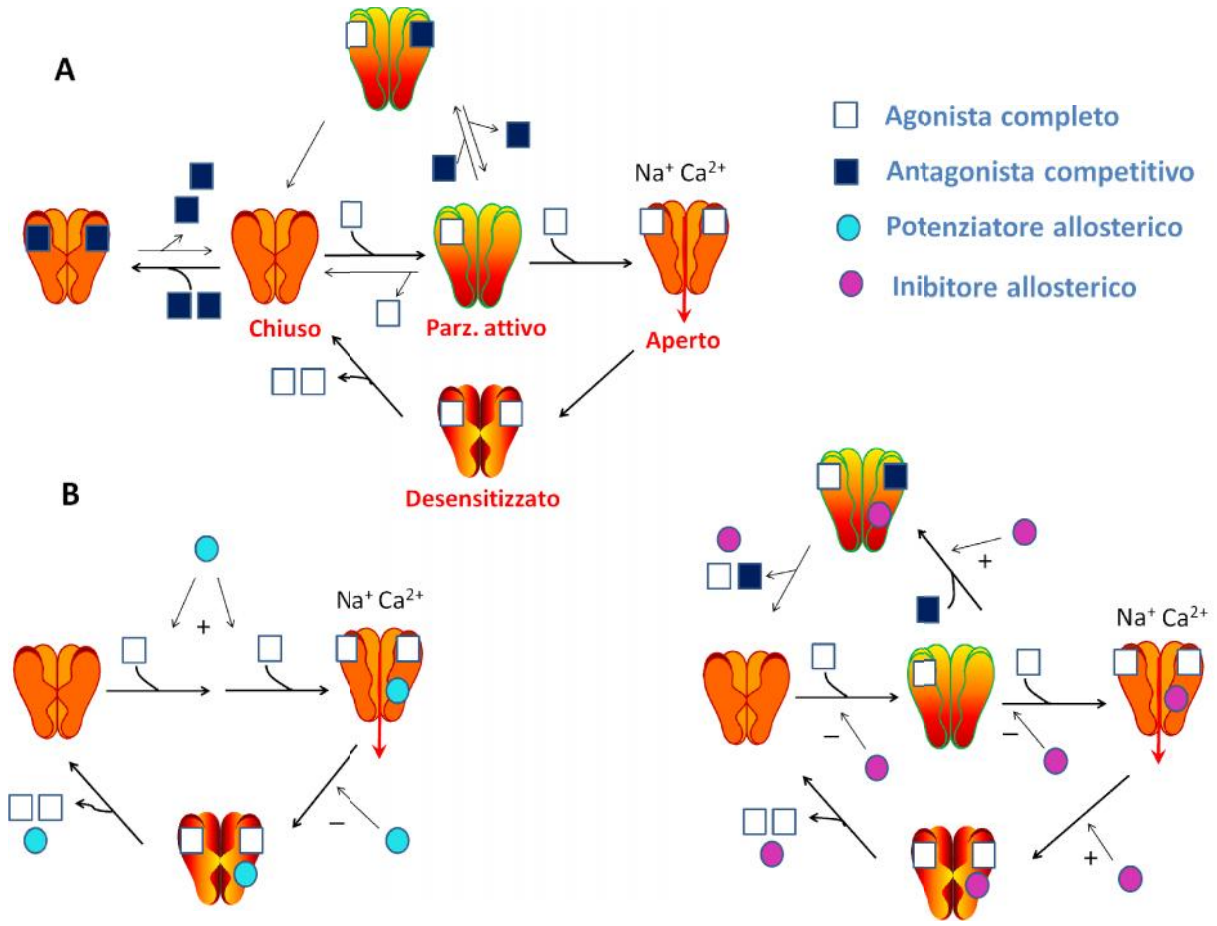


Figura 10: *Transizioni allosteriche dei nAChR eteromerici in presenza di ligandi ortosterici. Le azioni di un potenziatore allosterico e un inibitore allosterico sulle transizioni allosteriche dei nAChR eteromerici.*

Ligandi per i nAChR neuronali e razionale per la progettazione delle nuove molecole.

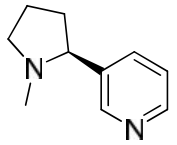
Lo sviluppo di sistemi di espressione con varie combinazioni di subunità clonate si è rivelato un utile standard farmacologico ai fini dell'identificazione e caratterizzazione dei recettori nel tessuto nativo, nonché per la valutazione della selettività di un numero limitato di ligandi per i vari sottotipi recettoriali. Nell'ultimo ventennio in ambito farmaceutico sono stati compiuti numerosi sforzi nel campo dei nAChR volti alla progettazione, sintesi ed individuazione di nuovi ligandi che agiscano selettivamente su sottotipi specifici.[35]

L'agonista dei sottotipi recettoriali $\alpha_4\beta_2$ dei nAChR più valutato in studi clinici è la nicotina. L'isomero più attivo è quello presente in natura, la (*S*)-nicotina **1-(S)**, il cui uso clinico è però limitato poiché non in grado di discriminare tra i vari sottotipi recettoriali e come conseguenza determina numerosi effetti, legati anche al suo dosaggio. Ciò nonostante, tutt'oggi la (*S*)-nicotina è assunta come molecola di riferimento, alla quale è stata attribuita per convenzione una K_i = 1nM.

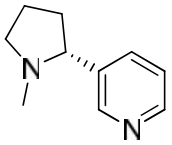
Accurate considerazioni sulla struttura di ACh e (*S*)-nicotina hanno suggerito una minima struttura farmacoforica necessaria per i ligandi dei nAChR, che consiste in un *N* quaternario o protonato e un accettore di legami a idrogeno (il carbonile dell'ACh o l'anello piridinico della nicotina).[36] Questi due parametri strutturali vengono mantenuti nei modelli farmacoforici più sofisticati.

Modificazioni del link nicotinico hanno portato all'identificazione di numerosi composti con elevata affinità e potenza.[37]

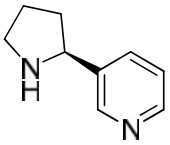
Il gruppo metilico legato all'*N* pirrolidinico della (*S*)-nicotina è un fattore determinante ai fini del legame con il recettore, infatti isomero demetilato **2** risulta essere meno affine, mentre la sua sostituzione con diversi gruppi alchilici, ne riduce l'affinità.



1-(S)
(S)-nicotina
K_i $\alpha_4\beta_2$ = 1 nM

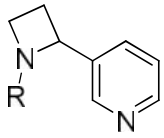


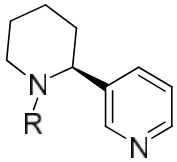
1-(R)
(R)-nicotina
K_i $\alpha_4\beta_2$ = 25 nM



2
K_i $\alpha_4\beta_2$ = 10 nM

Sono state esplorate anche variazioni anulari del sistema pentaciclico alifatico dell'anello pirrolidinico dalle quali è emerso che composti recanti un anello azetidinico (**3**), mostravano un'affinità simile alla (*S*)-nicotina, se non aumentata per contemporanea *N*-demetilazione (**4**), mentre l'omologazione ad anello a sei termini di tipo piperidinico, come per la (*S*)-anabasina **6**, riduceva la affinità per i recettori $\alpha_4\beta_2$, aumentandola nei confronti degli α_7.[38]

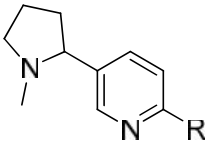


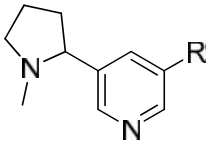


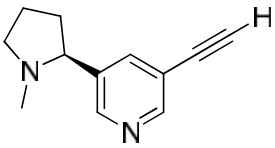
3 R=CH_3 $K_i\ \alpha_4\beta_2$ = 0.9 nM
4 R=H $K_i\ \alpha_4\beta_2$ = 0.2 nM

5 R=CH_3 $K_i\ \alpha_4\beta_2$ = 20 nM
6 R=H $K_i\ \alpha_4\beta_2$ = 50 nM

In generale, sostituzioni sull'anello pirrolidinico determinano una diminuzione dell'affinità per i recettori $\alpha_4\beta_2$, mentre variazioni sulla porzione aromatica sono meglio sopportate. Inoltre, sostituenti in posizione 2 e 4 dell'anello piridinico sono scarsamente tollerate, al contrario in posizione 5 e 6 vengono mantenute buone affinità per $\alpha_4\beta_2$[39] come nell'alogeno derivato **7**.







7 R=Br $K_i\ \alpha_4\beta_2$ = 0.3 nM
8 R=Me $K_i\ \alpha_4\beta_2$ = 1.4 nM
9 R=Et $K_i\ \alpha_4\beta_2$ = 4.4 nM

10 R=Br $K_i\ \alpha_4\beta_2$ = 3 nM
11 R=Et $K_i\ \alpha_4\beta_2$ = 3 nM
12 R=OMe $K_i\ \alpha_4\beta_2$ = 6 nM

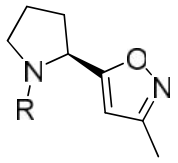
13 $K_i\ \alpha_4\beta_2$ = 1 nM
SIB-1508Y

Un gruppo di ricercatori della SIBIA ha evidenziato come l'affinità di un ligando agonista sia fortemente influenzata dalla natura del sostituente in posizione 5 della piridina. L'introduzione di un 5-etinile ha consentito di ottenere l'agonista parziale SIB-1508Y (**13**). L'enantiomero (*S*), noto anche come altiniclina, è il più efficace e presenta una preferenza funzionale per $\alpha_4\beta_2$, risultando scarsamente affine per i α_7. Tale composto è stato selezionato per la fase preclinica nel trattamento del Parkinson, tuttavia tali studi non sono stati portati avanti.[40]

Alcuni studi di relazioni struttura-attività (SAR) hanno portato ad una sostituzione dell'intero anello piridinico senza però ottenere composti significativamente importanti in termini di affinità e potenza: infatti anche i migliori composti sono risultati essere ~40 volte meno affini rispetto alla nicotina. Tale risultato ha suggerito che tanto la presenza quanto la posizione dell'*N* piridinico sono requisiti essenziali ai fini di un'alta affinità di legame.

Un gruppo di ricercatori della Abbott ha introdotto nel derivato ABT-418 (**14**) un anello isossazolico quale bioisostero della piridina. Tale composto è un agonista parziale su $\alpha_2\beta_2$ e $\alpha_4\beta_2$ con una potenza ~30 volte inferiore per i sottotipi $\alpha_3\beta_2$, $\alpha_3\beta_4$ e α_7. L'ABT-418 ha mostrato un effetto ansiolitico, un miglioramento degli effetti cognitivi e un significativo miglioramento della finestra terapeutica rispetto alla nicotina. Per tali motivi era stato inserito in studi per protocolli clinici per l'Alzheimer che recentemente sono stati interrotti a causa di alcune reazioni avverse.[41]

Ulteriori modifiche dell'anello isossazolico, come l'introduzione di un anello isotiazolico o inversione dell'atomo di N con O, hanno determinato una drastica perdita di potenza.

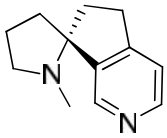


ABT-418 **14** R=Me $K_i\,\alpha_4\beta_2$ = 4 nM
15 R=H $K_i\,\alpha_4\beta_2$ = 300 nM

Una particolarità strutturale della nicotina è quella di possedere flessibilità conformazionale tra i due anelli, pirrolidinico e piridinico. Sono stati pertanto creati degli analoghi nicotinici triciclici, che tuttavia non hanno comportato un miglioramento di affinità.

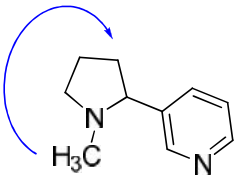
Questo potrebbe essere legato al fatto che nei derivati nicotinici fusi i due sistemi anulari sono vincolati in un orientamento approssimativamente coplanare, mentre nella conformazione energeticamente favorita gli anelli si trovano su piani perpendicolari.[42]

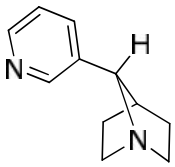
Tale conformazione e stata raggiunta da Ullrich e collaboratori che hanno riportato il derivato **16** come il primo analogo rigido con affinità e SAR dell'alcaloide naturale.[43]

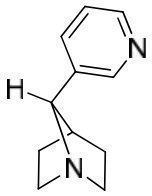


16 R=Me $K_i\ \alpha_4\beta_2 = 5.1$ nM
17 R=H $K_i\ \alpha_4\beta_2 = 56$ nM

Un'altra interessante modifica ha previsto un virtuale inserimento del CH_3 della (*S*)-nicotina nel ponte endoetilenico tra l'atomo di *N* e la posizione 3 del suo nucleo pirrolidinico, per dare i derivati **18-(+)** e **18-(-)**, nei quali è conservata sempre la posizione pseudo-assiale dell'anello aromatico rispetto alla pirrolidina.[44]

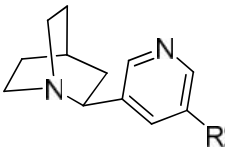






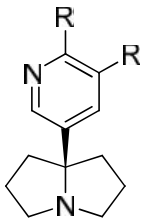
(+)-18 $K_i\ \alpha_4\beta_2 = 2.5$ nM **(-)-18** $K_i\ \alpha_4\beta_2 = 5.1$ nM

Un gruppo di ricercatori della Targacept ha esplorato strutture omologhe (**19**, **20**) che si legano con alta affinità al sottotipo $\alpha_4\beta_2$, ma sembrano agire da antagonisti.[45]



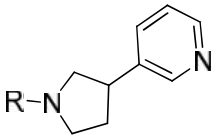
19 R=H $K_i\ \alpha_4\beta_2 = 1$ nM
20 R=OEt Ki $\alpha 4\beta 2$ =0.5 nM

Un'interessante variante strutturale è rappresentata dalla pirrolizina **21** nella quale il piano di simmetria rende la molecola achirale. In tale struttura l'*N* alifatico subirebbe una protonazione in *cis* rispetto alla piridina determinando un'affinità superiore rispetto alla (*S*)-nicotina, risultando l'analogo dicloro-sostituito (**22**) con una Ki $\alpha_4\beta_2$ pari a 50 pM.[46]



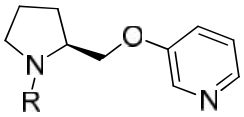
21 R=H $K_i\ \alpha_4\beta_2$ = 0.3 nM
22 R=Cl_2 Ki $\alpha4\beta2$ =0.05 nM

Ulteriori modifiche apportate sul nucleo nicotinico hanno evidenziato come la sostituzione in posizione 3 dell'anello piridinico sia necessaria ai fini di una buona attività $\alpha_4\beta_2$, mentre il sostituente sull'anello pirrolidinico può essere spostato senza significante perdita di potenza, come nei derivati **23** e **24**.

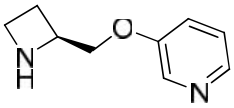


23 R=H $K_i\ \alpha_4\beta_2$ = 4.9 nM
24 R=CH_3 Ki $\alpha4\beta2$ =8.3 nM

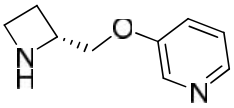
Mentre l'inserimento di un gruppo carbonilico tra i due anelli azotati ha portato all'ottenimento di derivati dotati di minore potenza, l'introduzione di un ponte etereo ha generato ligandi con un profilo di binding $\alpha_4\beta_2$ molto interessante, come nel caso del (*S*)-pirrolidinetere (**25**). La sostituzione dell'anello pirrolidinico con uno azetidinico ha consentito l'ottenimento di derivati ancora più interessanti: infatti, sebbene l'enantioselettività sia in genere favorita per gli isomeri (*S*), nel caso dei due enantiomeri **27-(S)** e **27-(R)** non è stata osservata grande differenza in termini di affinità.



25 R=H $K_i\ \alpha_4\beta_2$ = 0.16 nM
26 R=CH_3 Ki $\alpha4\beta2$ =0.15 nM

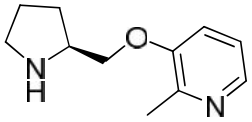


(S)-27 $K_i\ \alpha_4\beta_2$ = 0.05 nM



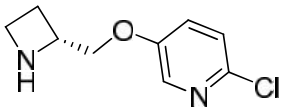
(R)-27 $K_i\ \alpha_4\beta_2$ = 0.05 nM

L'esplorazione di sostituenti su queste strutture ha generato il composto ABT-089 (**28**) recante un metile in posizione 2 dell'anello piridinico. Benché presenti un'affinità minore rispetto all'omologo demetilato, mantiene la stessa efficacia della nicotina nello stimolare il rilascio di ACh dai sinaptosomi ippocampali, oltre a provocare una debole attivazione dei recettori α_7.[47]



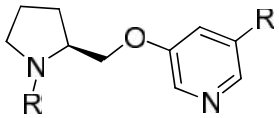
28 ABT-089
K_i $\alpha_4\beta_2$ = 17 nM

L'introduzione di un Cl sull'azetidina **(R)-27** ha consentito di ottenere la tebaniciclina **29** (ABT-594), potente analgesico i cui effetti sono mediati da nAChR centrali. Tuttavia il suo sviluppo clinico è stato interrotto in fase II a causa di reazioni avverse gastrointestinali, probabilmente causate da un interazione con sottotipi $\alpha_3\beta_4$.[48]



29 ABT-594
K_i $\alpha_4\beta_2$ = 0.04 nM

E' stata inoltre valutata l'influenza di differenti sostituenti in posizione 5 dell'anello piridinico che hanno consentito di mantenere una buona affinità e selettività $\alpha_4\beta_2$ rispetto a $\alpha_3\beta_4$ e α_7 (**30-33**). In tale posizione sono tollerati sia sostituenti elettron-attrattori che elettron-donatori, tuttavia, in base al sostituente supportato, il ligando si comporta da agonista o da antagonista.



30 R=Et Ki $\alpha_4\beta_2$ = 0.3 nM
31 R=I Ki $\alpha_4\beta_2$ = 0.01 nM
32 R=NH_2 Ki $\alpha_4\beta_2$ = 0.6 nM
33 R=Ac Ki $\alpha_4\beta_2$ – 4.6 nM

Alla luce di tali risultati pare che questa regione del ligando sia importante per modulare l'attività funzionale e la selettività sui diversi sottotipi recettoriali, ed inoltre per differenziare lo stato attivo o inattivo del recettore.[49]

L'interesse per i nAChR neuronali quali target per lo sviluppo di nuovi composti analgesici è stato in gran parte alimentato dalla scoperta dell'epibatidina (**34**), una tossina estratta dalla pelle di una rana ecuadoriana (*Epipedobates tricolor*) (Figura 11).[50] Questo alcaloide è il più potente agonista nicotinico naturale isolato fino ad oggi e ha destato particolare interesse per la sua alta affinità di legame al recettore $\alpha_4\beta_2$ (300 volte superiore alla nicotina) e per il potente effetto analgesico. L'epibatidina infatti è risultata 200 volte più potente della morfina, ma privo degli effetti secondari tipici degli oppioidi quali, tolleranza e dipendenza, rappresentando pertanto una potenziale valida alternativa agli oppioidi nel trattamento degli stati dolorosi gravi.[51]

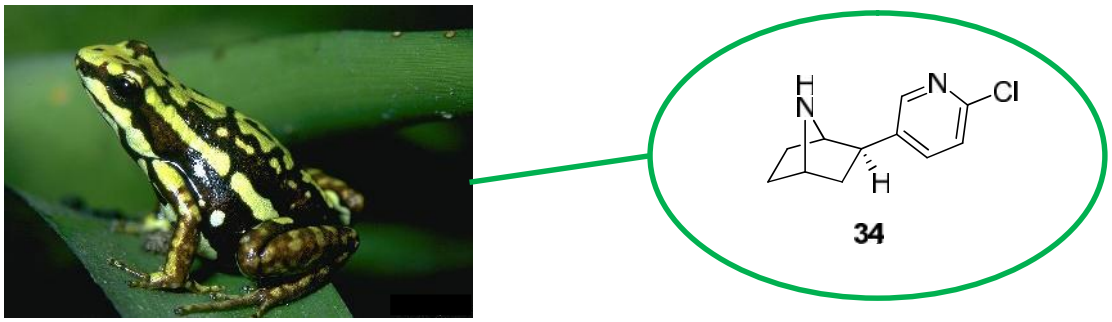


Figura 11: *Molecola dell'epibatidina, alcaloide estratto dalla rana Epipedobates tricolor.*

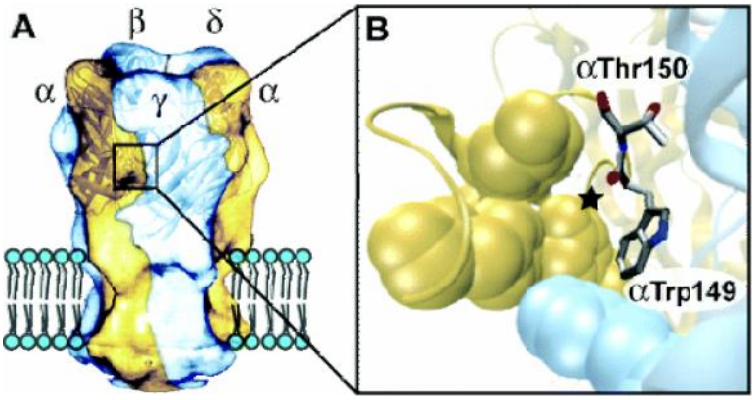
Tuttavia, la mancanza di selettività nei confronti dei sottotipi recettoriali si manifesta con un indice terapeutico estremamente basso (effetti negativi sul SNC e sugli apparati respiratorio, gastrointestinale e cardiovascolare) e pertanto il suo sviluppo, quale potenziale candidato clinico, non è stato portato avanti.

Nonostante la sua intrinseca mancanza di selettività, l'epibatidina si è rivelata un utile modello strutturale nella progettazione di nuovi legandi nicotinici. Al fine di definire i requisiti strutturali necessari per un efficace binding, un recente modello di interazione fra epibatidina e recettore nAChR è stato proposto da D.A. Dougherty e collaboratori sulla base di modelli precedentemente descritti e prevede, come indicato nella figura 12, tre fondamentali punti di interazione:[52]

a) un'interazione catione-π che coinvolge l'azoto protonato dell'epibatidina ed il centroide π dell'anello benzenico del Trp α 149 della macromolecola proteica,

b) un ponte a idrogeno tra l'ossigeno carbonilico del Trp α 149 e l'atomo di idrogeno dell'azoto protonato del ligando, e infine

c) un'inconsueta interazione tra l'idrogeno del C6-aromatico del carbonio adiacente all'azoto piridinico del ligando e il carbonile del Trp α 149.



.**Figura 12:** (**A**) *Immagine del recettore nAChR, (**B**) sito di legame attivo per l'agonista*

Gli enantiomeri dell'epibatidina mostrano sostanzialmente un'equivalente attività biologica, tuttavia l'orientamento del sostituente Cl piridinico è di importanza critica per l'attività biologica. In particolare è stato notato come la disposizione *sin* dell'anello piridinico rispetto al ponte amminico sia il fattore che determina l'alta potenza della forma *exo* dell'epibatidina rispetto alla *endo*-epibatidina, la cui affinità di binding col recettore $\alpha_4\beta_2$ è ~200 volte inferiore (Figura 13).[53]

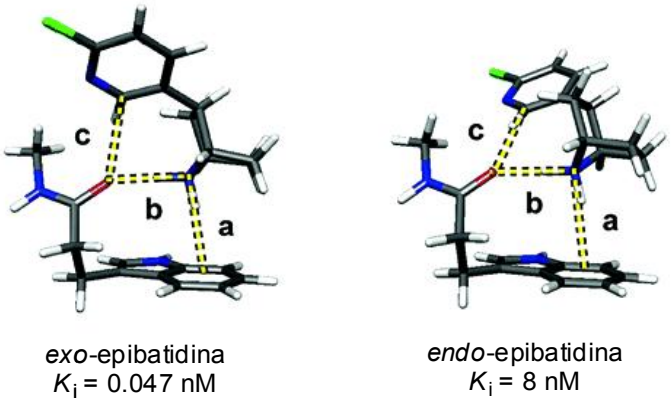
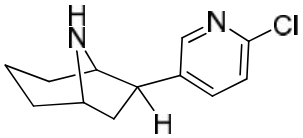
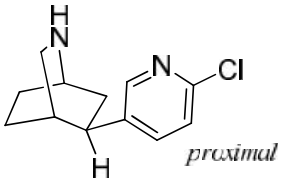


Figura 13: *Modello di interazione tra epibatidina e recettore nAChR*

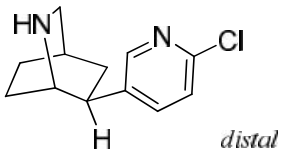
Modifiche dello scaffold epibatidinico sono state ampiamente indagate e numerosi analoghi sono stati preparati nei quali è stato modificato il rigido nucleo 7-azabiciclo[2.2.1]eptanico. Nel derivato tropanico omoepibatidinico **35** è stato inserito un metilene tra i due C a ponte. Il nuovo derivato presenta un'affinità di legame subnanomolare e mostra azione analgesica a dosi solo quattro volte superiori all'epibatidina, tuttavia non è in grado di discriminare tra i sottotipi $\alpha_4\beta_2$ e $\alpha_3\beta_4$ e pertanto il suo avanzamento terapeutico è stato interrotto.[54]



(±)–**35** K_i $\alpha_4\beta_2$ = 0.23 nM



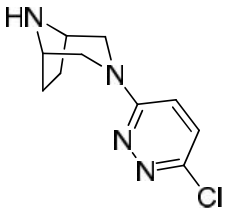
36 K_i $\alpha_4\beta_2$ = 0.21 nM



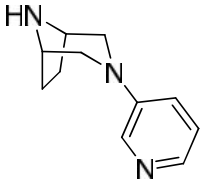
37 K_i $\alpha_4\beta_2$ = 0.15 nM

L'espansione dell'aza-ponte per inserimento di un gruppo etilenico ha portato agli analoghi omoepibatidinici **36** e **37**, nei quali il sostituente è rappresentato sempre da una Cl-piridina prossimale o distale rispetto all'atomo di *N*. Le isochinuclidine **36** e **37** possiedono affinità subnanomolari per gli $\alpha_4\beta_2$, ma, nonostante in grado di produrre un'azione analgesica, il loro sviluppo non è stato portato avanti a causa dei significativi effetti collaterali osservati in concomitanza con l'attività analgesica.[55]

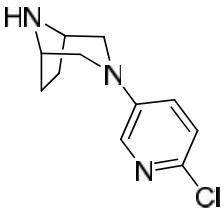
Un inusuale farmacoforo è rappresentato dalle diammine. Anelli diamminici sono stati studiati in sostituzione dell'anello pirrolidinico. I risultati migliori sono stati ottenuti da Cignarella e collaboratori con le diamine pontate.[56] L'introduzione del nucleo 3,8-diazabiciclo[3.2.1]ottanico ha fornito gli agonisti puri **38**-**40**. I nuovi congeneri piperazinici rigidi possedevano un alta affinità $\alpha_4\beta_2$ e una potente attività analgesica legata all'attivazione dei nAChR centrali.



38 K_i $\alpha_4\beta_2$ = 4.1 nM

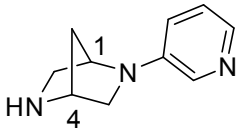


39 K_i $\alpha_4\beta_2$ = 0.4 nM

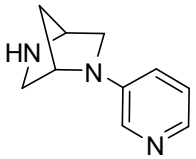


40 K_i $\alpha_4\beta_2$ = 0.95 nM

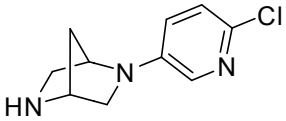
L'esplorazione di strutture di tipo 2,5-diazabiciclo[2.2.1]eptanico, da parte di ricercatori Abbott, ha portato agli enantiomeri **(R,R)-41** e **(S,S)-41**, tra i quali l'isomero (*R,R*) è più potente sui recettori $\alpha_4\beta_2$ rispetto a quello (*S,S*). Con l'introduzione di un Cl in posizione 6 dell'anello piridinico è stato isolato il derivato **42**, che è eccezionalmente potente e possiede un ampio spettro di proprietà analgesiche in diversi modelli animali per la nocicezione acuta termica, nel dolore persistente e in quello neuropatico. Sfortunatamente, inadeguate proprietà farmacocinetiche (scarsa penetrazione nel SNC) hanno precluso la valutazione clinica per il composto **42**.[57]



(R,R)-41 $K_i\ \alpha_4\beta_2$ = 0.02 nM



(S,S)-41 $K_i\ \alpha_4\beta_2$ = 0.15 nM



(R,R)-**42** $K_i\ \alpha_4\beta_2$ = 0.018 nM

Alla luce di tali risultati e dei precedenti studi volti all'individuazione di un nuovo modello farmacoforico ligango-nAChR,[30] è stato possibile ipotizzare un nuovo modello farmacoforico caratterizzato da:

- Un atomo di N protonato che forma un ponte idrogeno col Trp-149.
- Un interazione del CH adiacente all'N piridinico e un residuo del "binding site" del recettore.
- Interazione catione π tra un residuo aromatico (Trp-149) del "binding site" del recettore e l'atomo di N protonato del ligando.
- Legame a idrogeno tra l'N piridinico e una molecola di H_2O, tenuta in quella posizione da legami a idrogeno con Leu-119 e Asn-107.

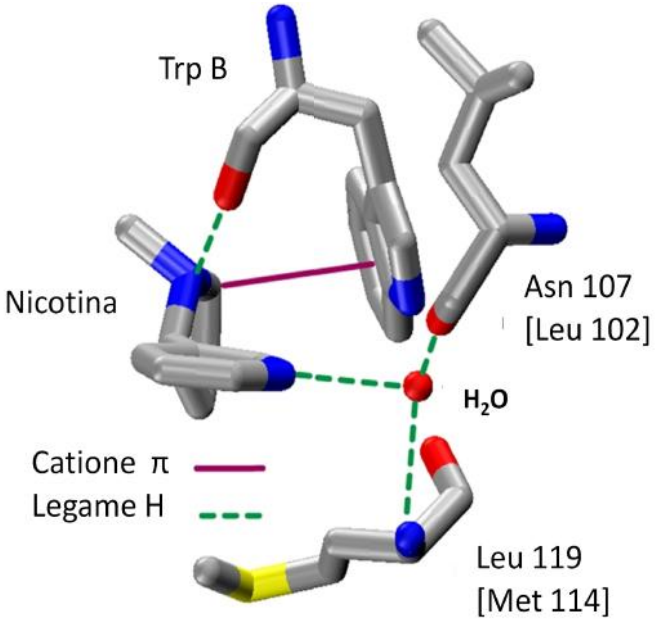
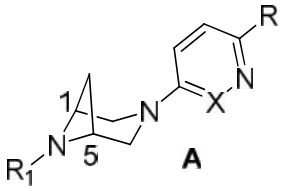


Figura 14: *Interazioni chiave tra l'agonista nicotina e il sito di legame del nAChR*

L'interessante variante strutturale rappresentata dal nucleo 2,5-diazabiciclo[2.2.1]eptanico[58] e l'ipotesi del nuovo modello farmacoforico per i potenziali ligandi dei nAChR di tipo $\alpha_4\beta_2$ e α_7 ha spinto un gruppo di ricerca del Dipartimento Farmaco Chimico Tossicologico (ora Dipartimento di Chimica e Farmacia) dell'Università di Sassari a progettare e sintetizzare una serie di composti a struttura 3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptanica **A**, alcuni dei quali dotati di alta affinità per il sottotipo $\alpha_4\beta_2$ (Tabella 2).[59]

Tabella 2: 3-Eteroaril-3,6-diazabicicloeptani.



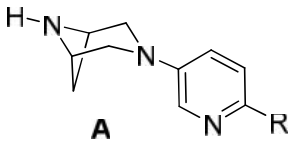
(1*R*,5*S*)-3-Eteroaril-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano

A	X	R	R_1	$\alpha_4\beta_2$ [^{3}H-Epibatidina] (K_i, nM)	α_7 [^{125}Iα-BgTx] (K_i, nM)	Selettività $\alpha7/\alpha4\beta2$
43	CH	Cl	H	0.023	4.1	178
44	CH	H	H	0.056	1.36	24.3
45	CH	Br	H	0.039	50.5	1295
46	CH	NO_2	H	1.2	28000	23300
47	N	Cl	H	0.168	25	149
48	CH	Cl	Me	0.43	20	46.5
42				0.018	-	-
[^{3}H]-epibatidina				0.083	-	-
^{125}I-α-BgTx					0.9	-

Tra i nuovi derivati, il composto **A43**, recante un anello 2-cloropiridinico sul sistema 3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptanico, mostrava un'affinità di binding paragonabile a quella dell'epibatidina e del suo omologo **42**. Pertanto il derivato **A43** è stato assunto come lead compound per la progettazione, sintesi e valutazione biologica di nuovi ligandi selettivi per i recettori neuronali nicotinici a struttura diazabicicloalcanica, oggetto di questo lavoro di dottorato.

Il progetto, articolato in più fasi, ha previsto la sintesi di differenti serie di 3,6-diazabiciclo[3.1.1] eptani con l'obbiettivo di modularne l'affinità e la selettività sui nAChR più espressi.
Le modifiche sono state apportate essenzialmente sull'anello piridinico del lead attraverso differenti funzionalizzazioni e mantenendo invariata la porzione biciclica.
Una prima modulazione del lead ha previsto la sintesi delle 2-aril piridine **A49-52** e dei due lead **A43** e **A45**, impiegati come intermedi per l'ottenimento dei nuovi derivati (Tabella 3).

Tabella 3: Derivati 2-alo piridinici e 2-aril piridinici (**A**).

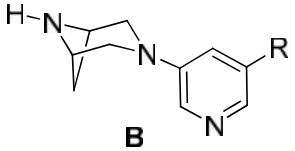


A

Composto A	R
43	Cl
45	Br
49	C_6H_5
50	4-CH_3-C_6H_4
51	4-OCH_3-C_6H_4
52	4-(4'-Cl-C_6H_4)-C_6H_5

Per meglio valutare ai fini della selettività l'effetto della posizione del sostituente in questo tipo di strutture, è stato realizzato uno shift *orto-meta* dei sostituenti sull'anello piridinico. Sono state pertanto sintetizzate le 3-alo piridine **B53-54**, isomeri di **A43** e **A45**, e le 3-aril piridine **B55-64** riportate in Tabella 4.

Tabella 4: Derivati 3-aril piridinici (**B**).

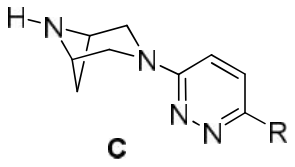


B

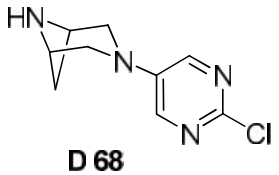
Composto B	R	Composto B	R
53	Cl	**59**	4-F-C_6H_4
54	Br	**60**	4-Br-C_6H_4
55	C_6H_5	**61**	4-NO_2-C_6H_4
56	4-CH_3-C_6H_4	**62**	3,4-Cl_2-C_6H_3
57	4-OCH_3-C_6H_4	**63**	2,5-Cl_2-C_6H_3
58	4-Cl-C_6H_4	**64**	2,4-Cl_2-C_6H_3

Un'ulteriore funzionalizzazione della porzione piridinica ha comportato l'introduzione di un secondo atomo di *N*, nelle posizioni *orto* e *meta* rispetto a quello piridinico, per ottenere rispettivamente i derivati piridazinici **C65-67** e quello pirimidinico **D68** (Tabella 5).

Tabella 5: Derivati 6-aril piridazinici (**C**) e 5-cloro pirimidinico (**D**).



C

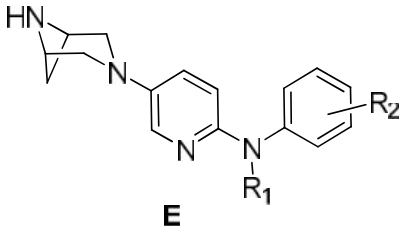


D 68

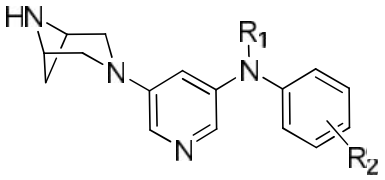
Composto C	R
65	C_6H_5
66	4-CH_3-C_6H_4
67	4-OCH_3-C_6H_4

In una successiva fase progettuale si è voluto studiare anche l'effetto dell'introduzione di un linker amminico tra i due anelli aromatici, piridinico e fenilico. A tal fine sono state sintetizzate le 2-anilin piridine **E69-83**, gli isomeri 3-anilin piridinici **F69-83** e gli omologhi 6-anilin piridazinici **G 69-83** (Tabella 6).

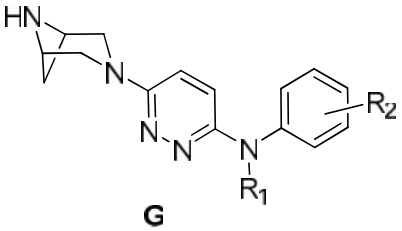
Tabella 6: Derivati 2-anilin piridinici (**E**), 3-anilin piridinici (**F**) e 6-anilin piridazinici (**G**).



E



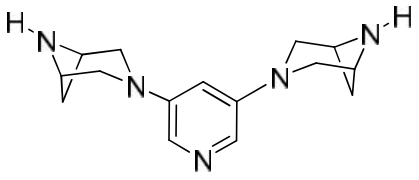
F



G

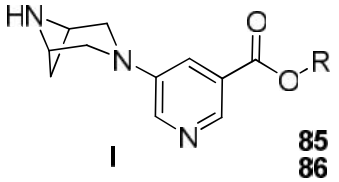
Composto E,F,G	R1	R2	Composto E,F,G	R1	R2
69	H	H	**77**	H	4-OH
70	H	4-CH_3	**78**	H	4-CF_3
71	H	4-OMe	**79**	H	3-Cl
72	H	4-OEt	**80**	H	2,4-Cl_2
73	H	4-Cl	**81**	H	3,4-Cl_2
74	H	2-Cl	**82**	CH_3	H
75	H	4-NO_2	**83**	H	3,4-OCH_2O
76	H	4-F			

E' parso interessante anche investigare l'affinità recettoriale del derivato **H84**, ottenuto per introduzione di un secondo gruppo diazabiciclicoeptanico in *meta* alla piridina.

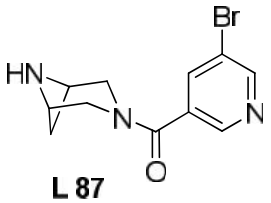


H 84

Alla luce dei primi risultati sperimentali ottenuti, e sempre con l'obiettivo di migliorare l'affinità e selettività sui sottotipi recettoriali, è stato ritenuto interessante introdurre una funzione carbossilica di tipo estereo, come per i composti **I85,86**, e una funzione ammidica, quest'ultima sia tra il nucleo biciclico e l'anello aromatico (**L87**), che in posizione 5 dell'anello piridinico (**M88-103**). I derivati ottenuti sono riportati in Tabella 7.

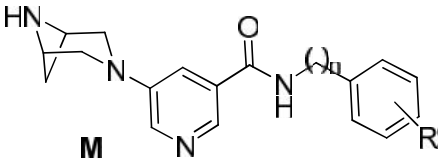


I **85** R=Me **86** R=Et



L 87

Tabella 7: Derivati ammidici (**M**).



M

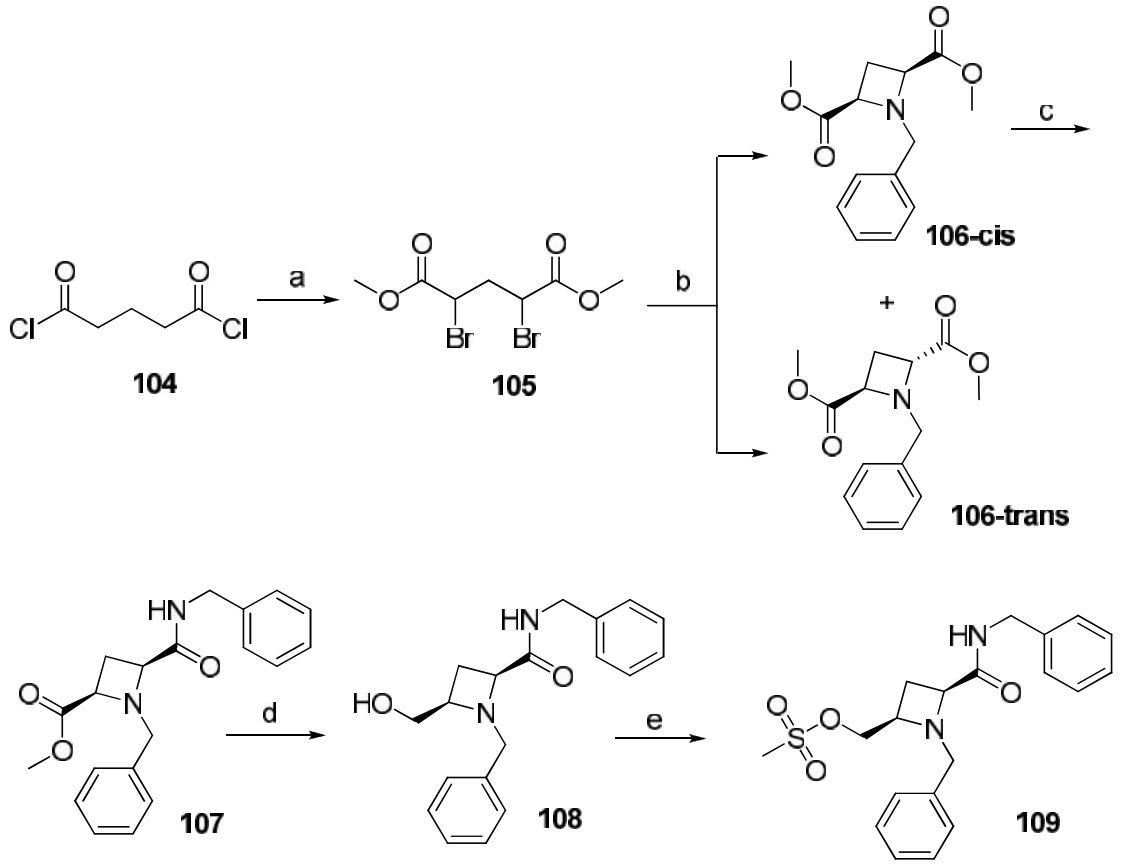
Composto M	n	R	Composto M	n	R
88	0	H	**96**	0	4-Cl
89	1	H	**97**	0	2-F
90	0	3-Et	**98**	0	3-F
91	0	3-OMe	**99**	0	4-F
92	0	3,5-$(OMe)_2$	**100**	0	2,4-F_2
93	0	3,4-$(OMe)_2$	**101**	0	4-I
94	0	3,4-OCH_2O	**102**		
95	0	3-Cl	**103**		

CHIMICA

Francesco Deligia, *Sintesi e caratterizzazione biologica di nuovi 3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptani quali potenti e selettivi ligandi per i recettori neuronali nicotinici* $\alpha_4\beta_2$ e α_7. Tesi di dottorato in Scienze e Tecnologie Chimiche, indirizzo Scienze Farmaceutiche (XXV ciclo), Università degli studi di Sassari.

Negli **Schemi 1** e **2** è descritta la via sintetica per l'ottenimento del *tert*-butil 3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-6-carbossilato (**114**), intermedio chiave per la preparazione dei composti oggetto di questo lavoro di Dottorato. La sintesi del composto **114** partiva dalla bromurazione del cloruro acilico **104** per ottenere il dimetil-2,4-dibromoglutarato **105** che, per reazione con benzilammina, consentiva di isolare i composti **106-*cis*** e **106-*trans***. L'isomero **106-*cis***, per *N*-benzilazione, è stato convertito nella monoammide **107**, la quale, sottoposta a riduzione con $NaBH_4$, ha fornito l'alcol **108**, il cui trattamento con cloruro di mesile e trietilammina forniva l'intermedio mesilato **109** (**Schema 1**).

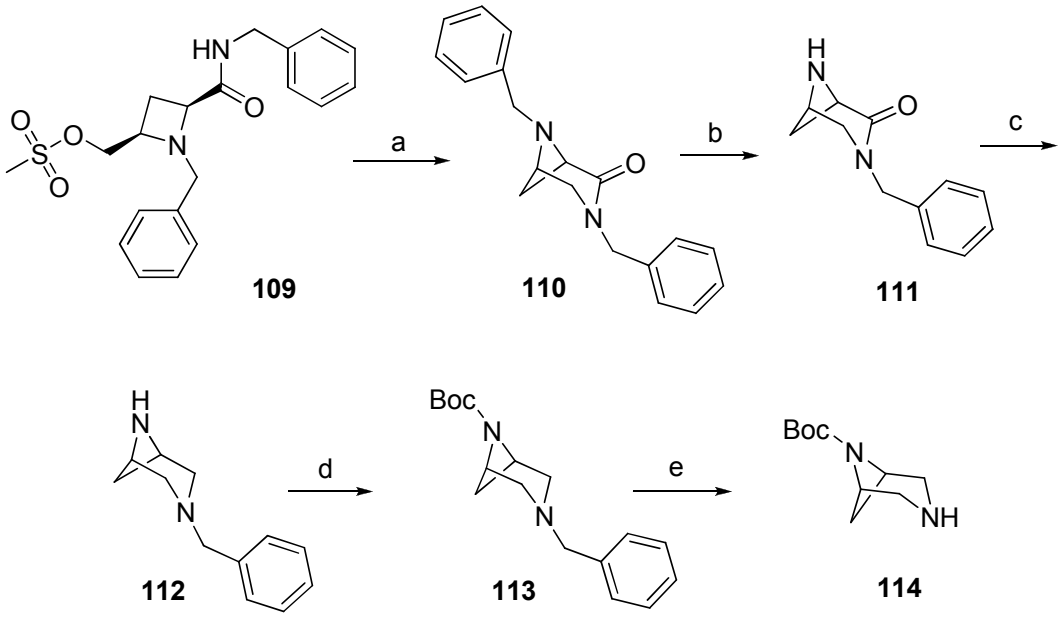
Schema 1



Reagenti e condizioni: *a) Br_2, MeOH, DCM, hv, 4-5 ore, 95 °C - 0 °C; b) H_2NCH_2-Ph, DMF, 4 ore, 80 °C; c) H_2NCH_2-Ph, toluene, 60 ore, 110 °C; d) $NaBH_4$, MeOH, 2 ore, temperatura ambiente; e) $ClSO_2CH_3$, Et_3N, DMAP, DCM, 3 ore, temperatura ambiente.*

L'azetidina **109** è stata sottoposta a ciclizzazione per dare il derivato biciclico **110**, che, convertito a **111**, ridotto con $LiAlH_4$ ad ammina **112**, e finale protezione con Boc, ha portato alla formazione dell'ammina **113**, la cui idrogenazione catalitica su Pd/C ha fornito il composto **114**. (**Schema 2**).

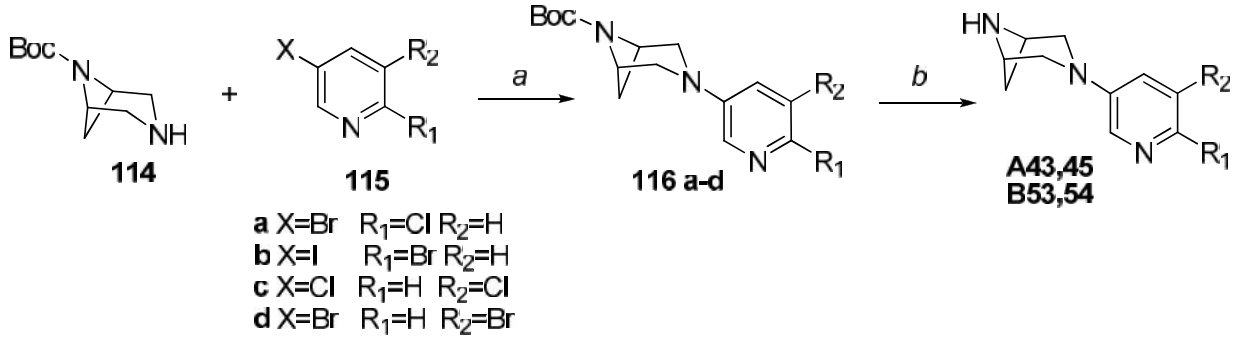
Schema 2



Reagenti e condizioni: *; a) KOH, K_2CO_3, TBAHS, toluene, 4 ore, 110 °C; b) Pd/C 10%, EtOH, 4 ore, H_2 80 psi, 50 °C; c) $LiAlH_4$ 95%, THF, 12 ore, temperatura ambiente, atmosfera inerte; d) Boc, THF, 12 ore, temperatura ambiente; e) Pd/C 10%, EtOH, H_2, 80 psi, 4 ore, 40 °C.*

I composti **A43,45** e **B53,54** sono stati preparati attraverso un processo sintetico a due stadi che ha previsto una prima reazione di coupling tra il diazabicicloeptano N_6-sostituito **114** con le appropriate 2,5-, 3,5-dicloro- o dibromopiridine **115a-d** per dare i derivati **116a-d**, e la loro successiva deprotezione (**Schema 3**). A loro volta, le dialo-piridine **115a,b** sono state a loro volta preparate a partire dalla 2-ammino piridina mediante alogenazione e successiva reazione di Sandmeyer secondo quanto riportato in letteratura.[60]

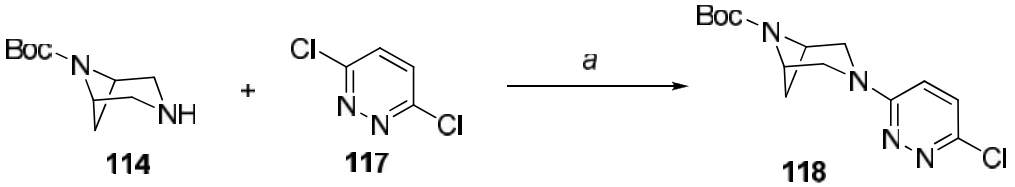
Schema 3



Reagenti e condizioni: *Reagenti e condizioni: a) BINAP or 1,3-Bis(2,6-diisopropilfenil)imidazolio cloruro (per **13c**) , $Pd_2(dba)_3$, Cs_2CO_3, 22 ore, 110 °C; b) HCOOH, 12 ore, temperatura ambiente.*

L'introduzione dell'anello piridazinico presente nel composto **118**, è stata realizzata mediante reazione di coupling tra il derivato **114** e la 3,6-dicloropiridazina (**117**), disponibile in commercio, in presenza dei catalizzatori $Pd_2(dba)_3$ e 1,3-*bis*(2,6-diisopropilfenil)imidazolo cloruro **(Schema 4**). L'uso di tali catalizzatori si è reso necessario per via della diversa reattività dell'anello piridazinico rispetto a quello piridinico: l'impiego dei due catalizzatori ha consentito un'ottimizzazione della resa di reazione per l'ottenimento del derivato **118** con una resa finale del 64% rispetto al 24% riportato in letteratura.[59]

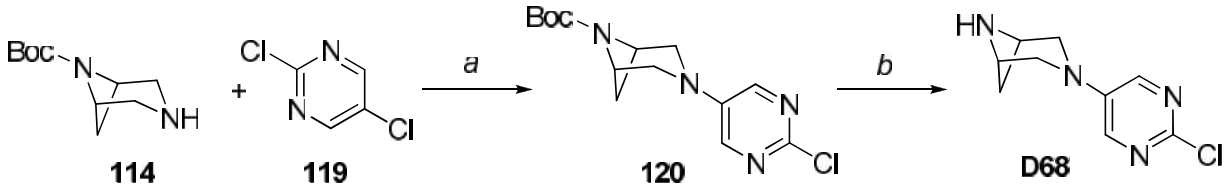
Schema 4



Reagenti e condizioni*: a) $Pd_2(dba)_3$, 1,3-Bis(2,6-diisopropilfenil)imidazolo cloruro, Cs_2CO_3*

Per la sintesi del composto **D68** è stata utilizzata la 2,5-dicloropirimidina **119** in presenza di BINAP e $Pd_2(dba)_3$ come catalizzatori, impiegando come base il Cs_2CO_3 in toluene. Il derivato **120** ottenuto è stato successivamente deprotetto a **D68** (**Schema 5**).

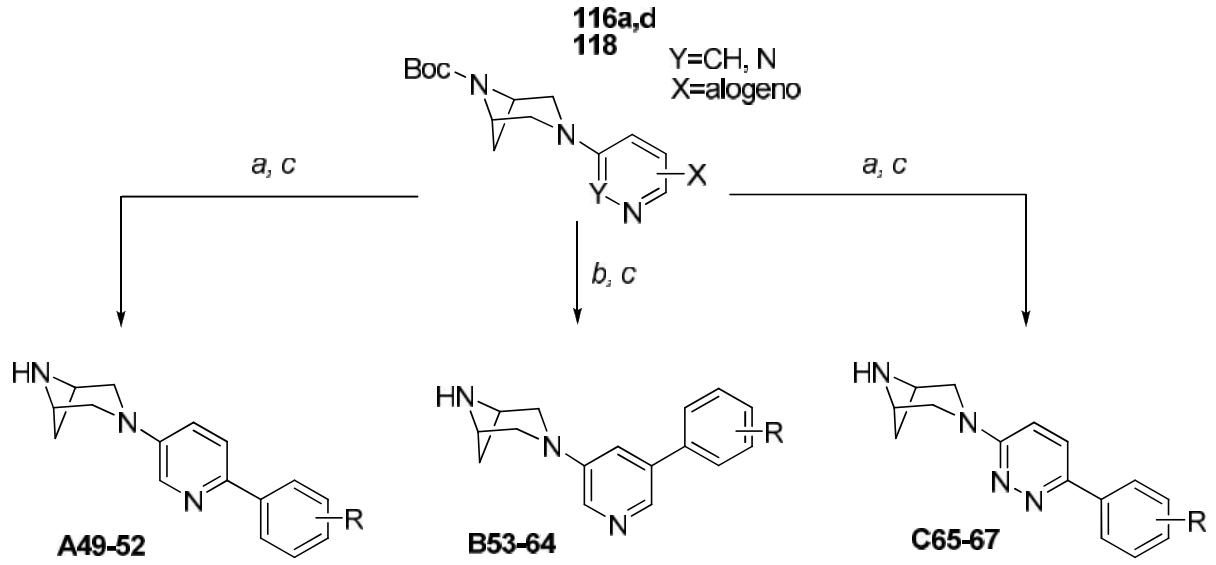
Schema 5



Reagenti e condizioni*: a) $Pd_2(dba)_3$, BINAP, Cs_2CO_3, toluene, 22 h, 110 °C; b) HCOOH, 12 h, temperature ambiente.*

I composti **116a,d** e **118** sono serviti da precursori per i derivati 2-aril e 3-aril piridinici e per quelli 6-aril piridazinici. A tal fine, sono stati inizialmente sottoposti ad una reazione di coupling con gli appropriati acidi arilboronici e successivamente deprotetti con HCOOH per ottenere rispettivamente le tre serie di derivati **A49-52, B53-64, C65-67** (**Schema 6**).

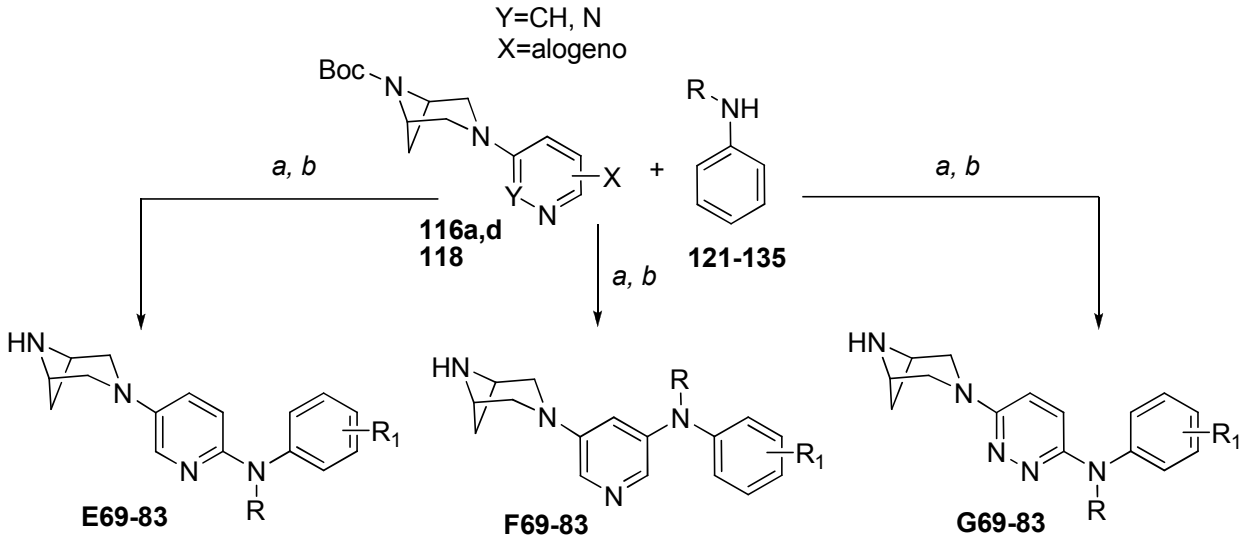
Schema 6



Reagenti e condizioni: *a) $ArB(OH)_2$, $Pd_2(dba)_3$, 1,3-Bis(2,6-diisopropilfenil)imidazolo cloruro, Cs_2CO_3, diossano, 20 h, 90 °C b) $ArB(OH)_2$ $Pd(OAc)_2$, $P(o\text{-}tolyl)_3$, Na_2CO_3, H_2O, DME, 2-5 h, 80 °C; c) HCOOH, 12 h, temperatura ambiente.*

I derivati **116a,d** e **118** sono stati sottoposti anche a sostituzione nucleofila aromatica con le appropriate aniline **121-135**, quindi deprotetti con HCOOH, per ottenere tre distinte serie di derivati **E69-83**, **F69-83**, **G69-83**, come riportato nello **Schema 7**.

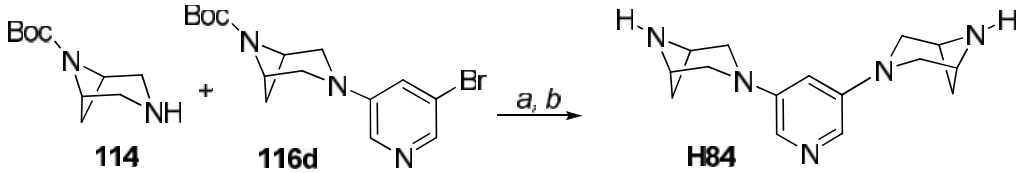
Schema 7



Reagenti e condizioni: *Reagenti e condizioni: (a) aniline, $Pd_2(dba)_3$, xantphos, t-BuOK, toluene, 0.5-2 h, 130 °C, irradiazione MW; (b) HCOOH, 12 h, temperatura ambiente.*

Il composto **H84** è stato preparato per reazione tra il composto **114** e il **116d** e finale doppia deprotezione nelle solite condizioni (**Schema 8**).

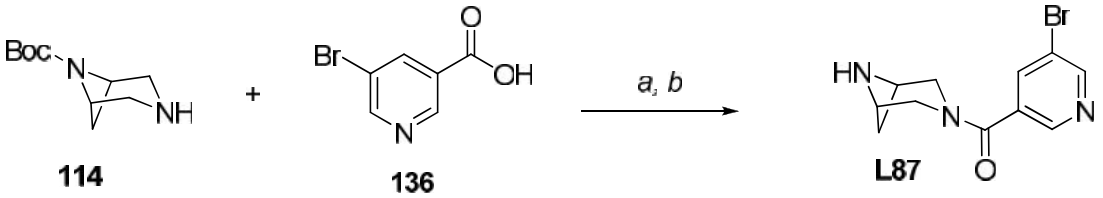
Schema 8



Reagenti e condizioni*: a) $Pd_2(dba)_3$, BINAP, Cs_2CO_3, toluene, 22 h, 110 °C; b) HCOOH, 12 h, temperature ambiente.*

La sintesi del derivato **L87** è stato ottenuta per reazione tra il composto **114** e l'acido 5-bromonicotinico **121** previa attivazione con EDC e HOBt in DCM. La successiva deprotezione ha permesso di isolare il prodotto desiderato (**Schema 9**). L'acido 5-bromonicotinico **136** è stato preparato a partire dall'acido nicotinico.[61]

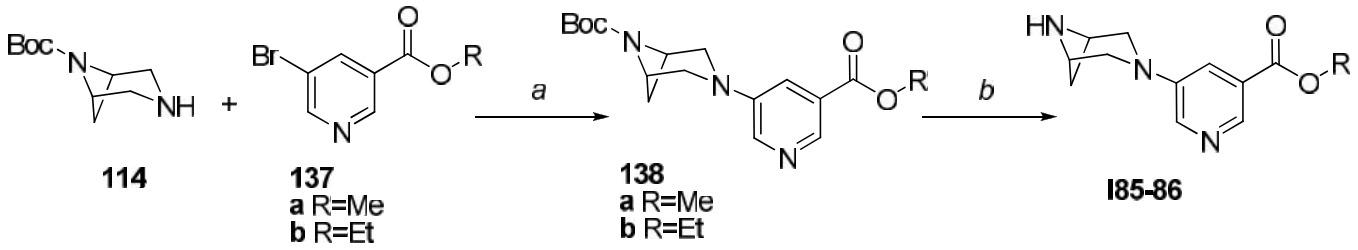
Schema 9



Reagenti e condizioni: *a) EDC, HOBt, DCM, 12 h, temperatura ambiente; b) HCOOH, 12 h, temperature ambiente.*

La reazione dell'intermedio chiave **114** con l'appropriato estere dell'acido 5-bromo nicotinico (**137a,b**) in presenza dei catalizzatori $Pd_2(dba)_3$, Xantphos e della base Cs_2CO_3 in diossano, ha consentito di ottenere i composti **138a,b**, la cui finale reazione con HCOOH ha portato all'isolamento degli **I85-86** (**Schema 10**).

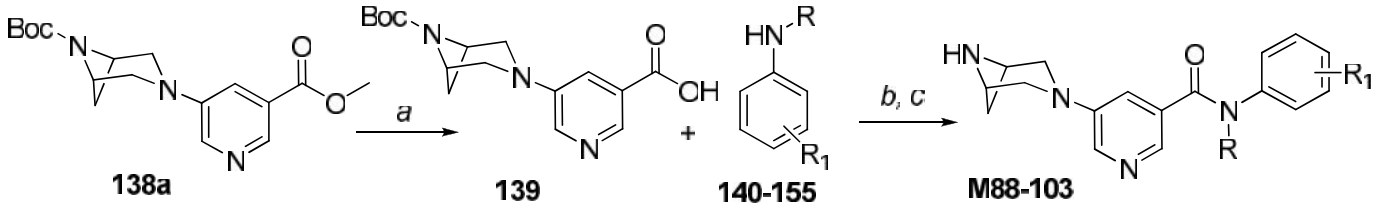
Schema 10



Reagenti e condizioni: *a) Cs_2CO_3, $Pd_2(dba)_3$, Xantphos, diossano, MW 130 °C, 1-3 h.*

Infine, le ammidi **M88-103** sono state ottenute a partire dall'intermedio **138a**, che idrolizzato al corrispondente acido **139**, previa attivazione con EDC e HOBt in DCM, è stato fatto reagire con le appropriate ammine **140-155** consentendo di isolare le corrispondenti ammidi previa deprotezione (**Schema 11**).

Schema 11



Reagenti e condizioni: *a) NaOH, H_2O, CH_3OH, 5 h, 60 °C; b) EDC, HOBt, DCM, 12 h, temperatura ambiente; c) HCOOH, 12 h, temperature ambiente.*

BIOLOGIA

I saggi di binding dei prodotti finali sono stati eseguiti presso il CNR, Istituto di Neuroscienze, Farmacologia Cellulare e Molecolare e Dipartimento di Farmacologia, Chemioterapia e Tossicologia Medica, Università degli Studi di Milano.

I dati sperimentali ottenuti dagli esperimenti di legame (sia da curve di saturazione che da curve di competizioni) sono stati analizzati con il programma LIGAND.[62] La scelta del modello migliore di adattamento (*fitting*) e del calcolo statistico è basato sul F-test.[63]

I parametri che definiscono l'affinità del legame (K_D) della ^{3}H-Epi o dell'affinità dei peptidi e dei ligandi colinergici (K_i) sono stati ottenuti dal *fitting* di almeno tre esperimenti indipendenti entrambi costituiti da una curva di saturazione e da una curva di inibizione. Il valore di legame è espresso come parte del recettore legato sul totale del ligando (B/T) contro il logaritmo della concentrazione totale. La concentrazione totale è data dalla somma del ligando "freddo" e quello radioattivo. Tutte le curve sono state generate dal computer.

I parametri che definiscono l'affinità del legame (K_D) della ^{3}H-Epibatidina al sottotipo $\alpha\ \beta$ e della ^{125}I-αBungarotosssina al sottotipo α_7 e dei farmaci da testare (K_i) per la loro affinità verso i diversi sottotipi sono stati ottenuti dagli esperimenti di legame (sia da curve di saturazione che da curve di competizioni, almeno tre curve di saturazione e tre di competizione per ogni farmaco) che sono stati analizzati per mezzo di un programma LIGAND. La scelta del modello migliore di *fitting* e del calcolo statistico è basato sul F-test.

PARTE SPERIMENTALE CHIMICA

Procedure generali.

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

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

I composti sono stati purificati sgranandoli con opportuni solventi o per flash cromatografia (FC) su gel di silice (SiO_2) Merck® 60 (230-400 mesh ASTM) o mediante Flash Master Personal (Biotage) utilizzando cartucce preimpaccate sottovuoto (SNAP cartridges, KP-SIL, 10-100 g, 20/cs), eluendo con appropriate miscele di solventi.

Gli spettri infrarossi (IR) degli oli sono stati 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 v (cm-1).

I punti di ebollizione sono stati determinati mediante apparecchio Kugelrohr® (Aldrich).

Nelle reazioni con microonde è stato utilizzato il sintetizzatore Microwave Initiator Eight (Biotage) versione software 2,5.

Per l'elettroforesi capillare (CE) è stato utilizzato l'apparecchio Hewlett Packard ^{3D}CE; DAD:200-600 nm; capillare: silica, 50µm ID, 50/60 cm; Buffer: tampone fosfato pH 2.5; voltage: 20 kV; injection: 50 mbar, 20 sec.

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

I chimical shifts sono stati espressi in unità δ o ppm e le costanti di accoppiamento J in Hz.

Le molteplicità sono state indicate come s (singoletto), bs (singoletto allargato), d (doppietto), t (tripletto), dd (doppio doppietto), q (quadrupletto), m (multipletto). I dati spettroscopici concordavano con le strutture attribuite.

Per le idrogenazioni sono stati utilizzati l'apparecchio Parr (Serie 4560 Mini Reactor 300 ml) e come fonte di H_2 l' Hydrogen Generation (Parkel Balston).

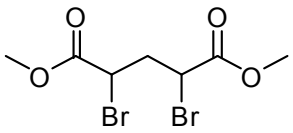
Le analisi elementari fornivano valori compresi nell'intervallo del ± 0.4% rispetto ai valori teorici.

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 e i reagenti necessarie per la preparazione dei composti finali venivano acquistati da fornitori specializzati.

2,4-Dibromoglutarato di metile

(105)



Al cloruro di glutarile[$] (11.30 ml, 88.07 mmol), sono stati addizionati 10 ml (195.20 mmol) di Br_2 alla temperatura di 95 °C irradiando la soluzione con una lampada a 300W per 5 ore. Quindi, dopo avere raffreddato a 0 °C, si diluiva con CH_2Cl_2 (30 ml), e si aggiungeva metanolo anidro (23 ml) lasciando in agitazione per 12 ore a temperatura ambiente.

La soluzione veniva concentrata e addizionata di 53 ml di H_2O. La fase acquosa è stata estratta con Et_2O. Le fasi organiche sono state lavate nell'ordine con $NaHSO_3$ al 2%, $NaHCO_3$ al 5% e H_2O salata, seccate con Na_2SO_4 e concentrate per dare 27.10 g di un olio color arancio.

Resa : 95%

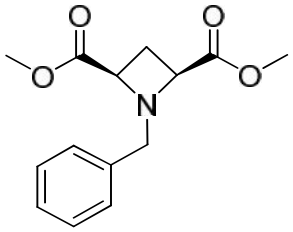
Rf : 0.56 (etere di petrolio/acetato di etile 85/15).

P.eb : 145 °C/0.1 mmHg.

IR : 1730.

^{1}**H-NMR**($CDCl_3$): 2.49-3.00 (m, 2H); 3.82 (s, 6H); 4.36-4.50 (m, 2H).

Estere dimetilico dell'acido c*is*-1-benzil-azetidin-2,4-dicarbossilico (106-cis)



Una soluzione di **21** (28.57 g, 89.85 mmol) e $BnNH_2$ (29.44 ml, 269.55 mmol) in DMF (200 ml) è stata agitata a 80 °C per 4 ore. Dopo avere evaporato il solvente, il residuo è stato ripreso in CH_2Cl_2, lavato con $NaHCO_{3aq}$ saturo, seccato con Na_2SO_4 e concentrato. L'olio residuo è statoa purificato per cromatografia flash (etere di petrolio/acetato di etile 8/2), si recuperavano 13.54 g (57%) dell'isomero cis.

Resa : 57%

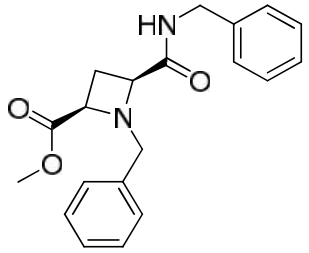
Rf : 0.26 (etere di petrolio/acetato di etile 8:2).

P.eb : 140°C / 0.1 mmHg.

IR : 1600, 1720.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 2.27-2.60 (m, 2H); 3,63 (t, 2H, J=8.0 Hz); 3.64 (s, 6H); 3.88 (s, 2H); 7.23-7.40 (m, 5H).

Estere metilico dell'acido 1-benzil-4-benzilcarbamoil-azetidin-2-carbossilico (107)



Una soluzione di cis-azetidina **22** (13.54 g, 51.43 mmol) e $BnNH_2$ (5.60 ml, 51.43 mmol) in toluene (70 ml), è stata scaldata a riflusso per 60 ore. Il solvente veniva evaporato ed il residuo purificato per cromatografia flash (etere di petrolio-acetato di etile 1:1).

Resa : 55 %

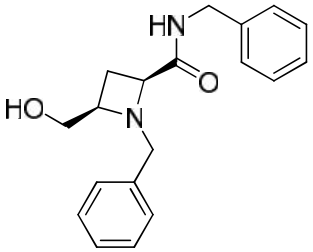
Rf : 0.20 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. : 87-89 °C.

IR : 1600, 1670, 1730, 3340.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 2.13-2.30 (m, 1H), 2.65-2.82 (m, 1H); 3.60-3.92 (m, 4H), 3.68 (s, 3H); 4.15-4.38 (m, 2H); 7.03-7.44 (m, 10H).

Benzilammide dell'acido 1-benzil-4-idrossimetil-azetidin-2-carbossilico (108)



Ad una soluzione dell'estere **23** (8.02g, 23.70 mmol) in CH_3OH (86 ml) veniva addizionato, sotto agitazione e alla temperatura di 0 °C, il $NaBH_4$ (2.69 g, 71.1 mmol) continuando l'agitazione a temperatura ambiente per una 12 ore, al termine della quale venivano aggiunti 90 ml di H_2O. Il CH_3OH veniva evaporato e la fase acquosa estratta con CH_2Cl_2. La fase organica veniva anidrificata su Na_2SO_4 e concentrata per ottenere 7.30 g di un solido bianco.

Resa : 99 %

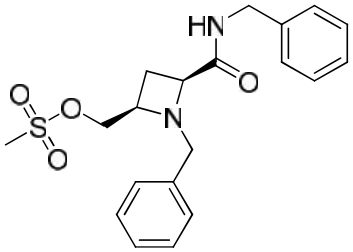
Rf : 0.12 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1)

P.f : 92-94 °C.

IR : 1600, 1640, 3340, 3400.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.69 (bs, 1H), 1.95-2.15 (m, 1H); 2.41-2.58 (m, 1H); 3.30-3.48 (m, 3H), 3.60-3.76 (m, 3H); 4.15-4.39 (m, 2H); 7.08-7.32 (m, 10 H).

Benzilammide dell'acido 1-benzil-4-metansolfonilmetil-azetidin-2-carbossilico (109)



Ad una soluzione dell'alcol **24** (6.82 g, 21.97 mmol) in diclorometano (77 ml) veniva aggiunta Et_3N (8.38 ml, 65.91 mmol). La miscela veniva raffreddata a 0 °C e quindi addizionato cloruro di mesile (2.21 ml, 28.56 mmol); si agitava a 0 °C per 2.5 ore e poi si lavava con acqua. La fase organica veniva separata e la fase acquosa riestratta con diclorometano. Gli estratti organici riuniti sono stati anidrificati su Na_2SO_4 e concentrati. Il residuo veniva purificato per cromatografia flash (acetato di etile/ etere di petrolio 8:2) per ottenere 7.68 g di un olio giallo.

Resa : 90%

Rf : 0.38 (etere di petrolio/acetato di etile 2:8).

P.eb : 155 °C/0.1 mmHg.

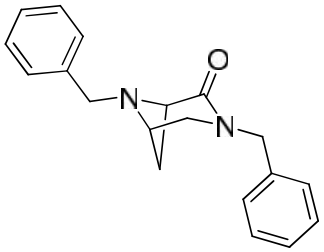
IR : 1170, 1360, 1600, 1680, 3340.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$): 1.95-2.07 (m, 1H), 2.53-2.68 (m, 1H), 2.80 (s, 3H); 3.48-4.40 (m, 8H); 7.08-7.44 (m, 10H).

^{13}C-NMR ($CDCl_3$**)** : 24.49, 37.12, 42.35, 59.23, 60.81, 62.25, 70.16, 126.91, 127.20, 127.56, 128.30, 128.37, 129.07, 136.18, 137.99, 171.89.

3,6-Dibenzil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-2-one

(110)



Ad una soluzione di **25** (7.67 g, 19.74 mmol) in toluene venivano aggiunti NaOH finemente polverizzato (2.76 g, 69.10 mmol), K_2CO_3 (5.46 g, 39.49 mmol) e TBAHS (0.67 g, 1.97 mmol), si scaldava a riflusso per 4 ore. Si riportava a temperatura ambiente, si diluiva con Et_2O, si lavava con H_2O, si anidrificava su Na_2SO_4 e si evaporava. Il residuo veniva purificato per cromatografia flash (acetato di etile/etere di petrolio 3:1) da cui si recuperavano 4.85 g di un'olio giallo chiaro.

Resa : 84%

Rf : 0.45 (etere di petrolio/acetato di etile 1:3).

P.eb : 163 °C/ 0.1 mmHg

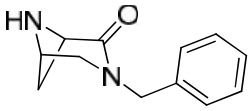
IR : 1600, 1670.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.72 (d, 1H, J=8.4 Hz); 2.63-2.74 (m, 1H); 3.13 (d, 1H, J=12.4 Hz), 3.29-3.45 (m, 2H), 3.55 (d, 1H, J=13.2 Hz), 3.67-3.78 (m, 2H); 4.58 (d, 1H, J=14.2 Hz); 4.78 (d, 1H, J=14.4 Hz); 7.12-7.43 (m, 10H).

^{13}C-NMR ($CDCl_3$): 29.20, 44.21, 47.88, 51.71, 57.98, 64.41, 126.94, 127.64, 128.20, 128.24, 128.53, 128.69, 136.89, 137.06, 171.30.

3-Benzil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-2-one

(111)



Una soluzione di **26** (3.40 g, 11.63 mmol) in etanolo (35 ml) veniva idrogenata a 45 psi e 60 °C per 7 ore in presenza di Pd/C 10% (1.24 g, 1.16 mmol). Il catalizzatore veniva filtrato su celite e l'olio residuo purificato per cromatografia flash (cloroformio/metanolo 9:1), per ottenere 2.16 g di un solido bianco chiaro.

Resa : 92%

Rf : 0.44 (cloroformio/metanolo 9:1).

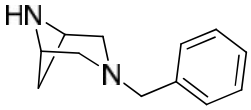
P.f : 61-62 °C.

IR : 1600, 1670, 3250.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$): 1.74 (d, 1H, J=9.0 Hz), 1.94 (bs, 1H); 2.80-2.95 (m, 1H); 3.27-3.48 (m, 2H), 3.80-3.85 (m, 1H), 3.90-4.00 (m, 1H); 4.52 (d, 1H, J=14.6 Hz), 4.72 (d, 1H, J=14.6 Hz); 7.23-7.42 (m, 5H).

3-Benzil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano

(112)



Ad una sospensione di $LiAlH_4$ (0.71 g, 18.79 mmol) in THF anidro, in atmosfera inerte, veniva gocciolata una soluzione di **27** (0.95 g, 4.7 mmol) in THF anidro alla temperatura di 0 °C. La miscela veniva fatta rinvenire a temperatura ambiente e agitata per una 12 ore. Raffreddando a 0 °C si diluiva con Et_2O e si aggiungeva H_2O (0.7 ml), NaOH 2N (0.7 ml) e quindi di nuovo H_2O (2.1 ml). La miscela veniva filtrata su celite ed evaporata per ottenere 0.83 g di un olio chiaro.

Resa : 94 %

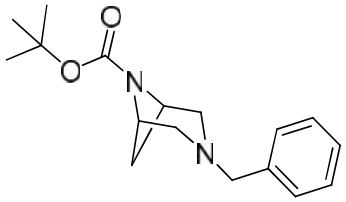
Rf : 0.18 (cloroformio/metanolo 9:1).

P.eb : 155 °C/0.1 mmHg

IR : 1600, 3250.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$**)**: 1.80 (bs, 1H), 1.94 (d, 1H, J=8.0 Hz); 2.40-2.53 (m, 1H), 2.65 (d, 2H, J=11.0 Hz); 3.07 (d, 2H, J=11.0 Hz), 3.50-3.65 (m, 2H), 3.72 (s, 2H); 7.25-7.40 (m, 5H).

tert-Butil 3-benzil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-6-carbossilato (113)



Si preparava una soluzione di $(Boc)_2O$ (1.74 g, 7.97 mmol) in THF (8 ml) quindi raffreddando a 0 °C si gocciolava una soluzione di ammina **28** (1.00 g, 5.31 mmol) in THF (12 ml). Si lasciava agitare per 10 minuti, si riportava a temperatura ambiente e si lasciava agitare per 12 ore. Si diluiva con $NaHCO_3$ aq. al 10% e si estraeva con Et_2O. L'estratto veniva lavato con brine, si anidrificava su solfato di sodio e si concentrava. Il grezzo veniva purificato per flash cromatografia (etere di petrolio/acetato di etile 8:2) ottenendo 1.32 g di prodotto come olio giallino.

Resa : 86%

Rf : 0.52 (etere di petrolio/acetato di etile 8:2).

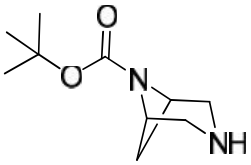
P.eb : 170 °C/0.1 mmHg.

IR : 1600, 1670.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.46 (s, 9H), 1.73 (d, 1H, J=7.8 Hz); 2.32-2.43 (m, 1H), 2.76 (d, 2H, J=10.2 Hz); 2.90-3.25 (m, 2H), 3.69 (s, 2H); 4.00-4.10 (m, 2H); 7.25-7.35 (m, 5H).

tert-Butil 3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-6-carbossilato

(114)



L'ammina **29** (1.00 g, 3.46 mmoli) veniva sciolta in EtOH (20 ml), quindi si aggiungeva il Pd/C 10% (0.36 g, 0.34 mmoli) e si idrogenava a 45 p.s.i.di H_2 a temperatura ambiente per 22 ore. Si filtrava il catalizzatore e si concentrava la soluzione. Il residuo veniva purificato per flash cromatografia (cloroformio/metanolo 9:1) ottenendo 0.61 g di un'olio giallo.

Resa : 90%

Rf : 0.43 (cloroformio/metanolo 9:1).

P.f : 54-55 °C.

IR : 1710.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.47 (s, 9H), 1.57 (d, 1H, J=8.6 Hz); 2.20 (bs, 1H), 2.51-2.64 (m, 1H), 2.92 (d, 2H, J=12.6 Hz); 3.37-3.58 (m, 2H); 4.00-4.08 (m, 2H).

Anal. Elem.: per $C_{10}H_{18}N_2O_2$

Calc. (Trov): C, 60.58 (60.68); H, 9.15 (9.17); N, 14.13 (14.18); O, 16.17 (16.21).

Reazione di Buckwald-Hartwig

Metodo A:

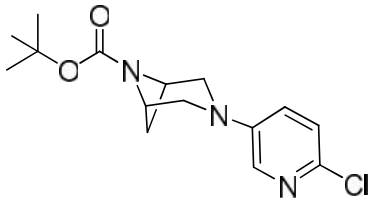
A una soluzione toluenica (8 ml) del derivato diazabicicloeptanico (0.756 mmol) sono stati addizionati BINAP (0.030 mmol), $Pd_2(dba)_3$ (0.030 mmol), Cs_2CO_3 (3.024 mmol) e l'appropriata dialogeno piridina (0.983 mmol). La miscela di reazione è stata agitata in atmosfera inerte per 15 minuti quindi scaldata a riflusso per 22-24 ore. Dopo raffreddamento a temperatura ambiente, la sospensione è stata filtrata su celite. La soluzione organica è stata lavata con H_2O quindi seccata su Na_2SO_4, filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il residuo ottenuto è stato purificato mediante flash cromatografia su gel di silice con l'appropriata miscela di eluenti.

Metodo B:

A una soluzione del derivato diazabicicloeptanico (0.504 mmol) in p-diossano (4 ml) sono stati addizionati 1,3-Bis(2,6-diisopropilfenil)imidazolo cloruro (0.075 mmol), $Pd_2(dba)_3$ (0.030 mmol), Cs_2CO_3 (1.5 mmol) e l'appropriata dicloro-diazina (0.655 mmol). La miscela di reazione è stata agitata in atmosfera inerte per 15 minuti quindi scaldata a riflusso per 20-22 ore. Dopo raffreddamento a temperatura ambiente, la sospensione è stata filtrata su celice. La soluzione organica è stata lavata con H_2O quindi seccata su Na_2SO_4, filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il residuo ottenuto è stato purificato mediante flash cromatografia su gel di silice con l'appropriata miscela di eluenti.

3-(6-Cloropiridin-3-il)-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(116a)



Solido giallo. Sintetizzato secondo la metodica A. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

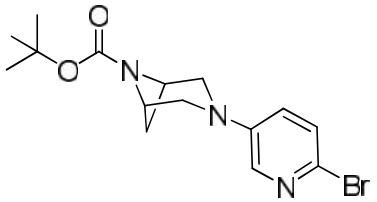
Resa : 75 %

Rf : 0.39 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. : 115-120 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.51 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.62-2.80 (m,1H), 3.26 (d, 2H, J=10.2 Hz), 3.82-4.06 (m, 2H), 4.30 (d, 2H, J=9.0 Hz), 6.97 (dd, 1H, J_o=3.2 Hz, J_m=8.8 Hz), 7.17 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.86 (d, 1H, J=3.2 Hz).

3-(6-Bromopiridin-3-il)-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato. (116b)



Solido marroncino. Sintetizzato secondo la metodica A. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

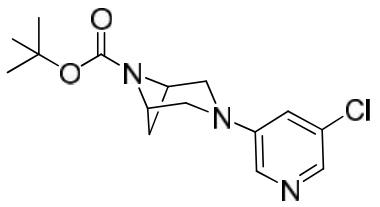
Resa : 45 %

Rf : 0.40 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. : 127-129 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.50 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.62-2.77 (m,1H), 3.25 (d, 2H, J=10.2 Hz), 3.83-4.09 (m, 2H), 4.30 (d, 2H, J=5.4 Hz), 6.88 (dd, 1H, J_o=3.4 Hz, J_m=8.8 Hz), 7.26-7.36 (m, 1H), 7.86 (d, 1H, J=3.2 Hz).

3-(5-Cloropiridin-3-il)-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato. (116c)



Solido giallo. Sintetizzato secondo la metodica A. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

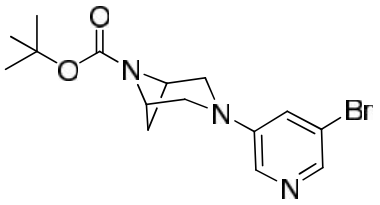
Resa : 72 %

Rf : 0.36 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. : 128-130 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.50 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.62-2.78 (m,1H), 3.28 (d, 2H, J=10.4 Hz), 3.87-4.06 (m, 2H), 4.31 (d, 2H, J=5.2 Hz), 6.95 (s, 1H), 7.98 (d, 1H, J=2.0 Hz), 8.03 (d, 1H, J=2.6 Hz).

3-(5-Bromopiridin-3-il)-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato. (116d)



Solido giallo. Sintetizzato secondo la metodica A. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

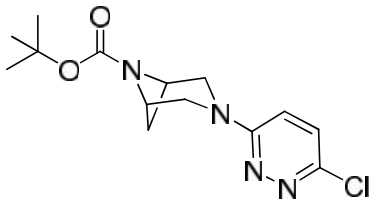
Resa : 85 %

Rf : 0.55 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. : 125-126 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.50 (d, 1H, J=9.0 Hz), 2.60-2.78 (m,1H), 3.27 (d, 2H, J=10.4 Hz), 3.85-4.06 (m, 2H), 4.30 (d, 2H, J=6.0 Hz), 7.12 (s, 1H), 8.07 (s, 2H).

3-(6-Cloropiridazin-3-il)-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato. (118)



Solido marroncino. Sintetizzato secondo la metodica B. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

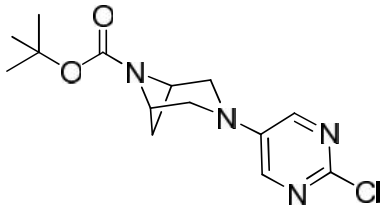
Resa : 65 %

Rf : 0.36 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. : 127-129 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.51 (d, 1H, J=9.2 Hz), 2.65-2.84 (m,1H), 3.42-3.69 (m, 2H), 4.16 (d, 2H, J=12.2 Hz), 4.20-4.30 (m, 2H), 6.80 (d, 1H, J=9.4 Hz), 7.24 (d, 1H, J=11.4 Hz).

3-(2-Cloropirimidin-5-il)-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato. (120)



Solido panna. Sintetizzato secondo la metodica B. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 8/2).

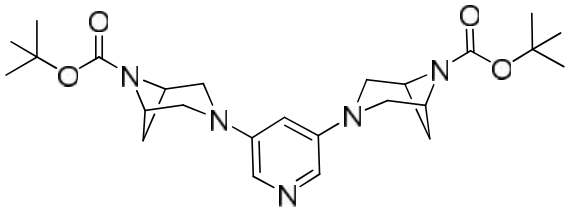
Resa : 60 %

Rf : 0.54 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. : 65-66 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.47 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.60-2.75 (m,1H), 3.56 (d, 2H, J=12.4 Hz), 4.10-4.36 (m, 4H), 8.29 (s, 2H).

3,3'-(Piridin-3,5-il)*bis*(6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato). (Boc-H84)



Solido bianco. Sintetizzato secondo la metodica A. Purificato per FC (AcOEt).

Resa : 80 %

Rf : 0.14 (AcOEt).

P.f. : 187-189 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 18H), 1.51 (d, 2H, J=5.6 Hz), 2.60-2.80 (m,2H), 3.30 (d, 4H, J=6.4Hz), 3.80-4.10 (m, 4H), 4.20-4.40 (m, 4H), 6.21 (s, 1H), 7.64 (s, 2H).

Reazione di Suzuki per la sintesi dei derivati arilici.

Metodo A:

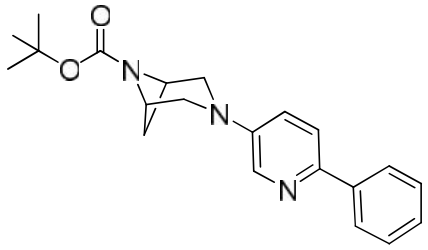
A una soluzione dell'alogeno derivato (0.170 mmol) in DME (2 ml) sono stati addizionati P(o-tolyl)$_3$ (0.031 mmol), Pd(OAc)$_2$ (0.018 mmol), Na_2CO_3 (0.036 mmol), H_2O (0.14 ml) e l'appropriato acido boronico (0.270 mmol). La miscela di reazione è stata agitata in atmosfera inerte per 15 minuti quindi scaldata a 80 °C per 2-6 ore. Dopo raffreddamento a temperatura ambiente, la sospensione è stata filtrata su celice e concentrata a pressione ridotta. Il residuo, ripreso con AcOEt, è stato lavato con H_2O, seccato su Na_2SO_4, filtrato e concentrato a pressione ridotta. Il solido ottenuto è stato purificato mediante flash cromatografia su gel di silice con l'appropriata miscela di eluenti.

Metodo B:

A una soluzione dell'alogeno derivato (0.320 mmol) in p-diossano (4 ml) sono stati addizionati 1,3-Bis(2,6-diisopropilfenil)imidazolo cloruro (0.032 mmol), $Pd_2(dba)_3$ (0.020 mmol), Cs_2CO_3 (0.960 mmol) e l'appropriato acido boronico (0.384 mmol). La miscela di reazione è stata agitata in atmosfera inerte per 15 minuti quindi scaldata a 95 °C per 24-48 ore. Dopo raffreddamento a temperatura ambiente, la sospensione è stata filtrata su celice e concentrata a pressione ridotta. Il residuo, ripreso con AcOEt è stato lavato con H_2O, seccato su Na_2SO_4, filtrato e concentrato a pressione ridotta. Il solido ottenuto è stato purificato mediante flash cromatografia su gel di silice con l'appropriata miscela di eluenti.

3-(6-Fenil-piridin-3-il)-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-A49)



Solido bianco. Sintetizzato secondo la metodica B. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

Resa : 88 %

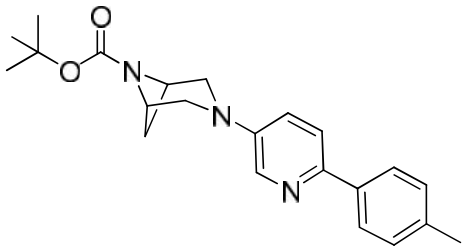
Rf : 0.37 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. : 180-182 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=8.4 Hz), 2.60-2.72 (m,1H), 3.35 (d, 2H, J=10.4 Hz), 3.90-4.18 (m, 2H), 4.32 (d, 2H, J= 5.2 Hz), 7.07 (dd, 1H, J_o=3.2 Hz, J_m=8.8 Hz), 7.27-7.55 (m, 3H), 7.64 (d, 1H, J=8.8 Hz), 7.93 (d, 2H, J=8.4 Hz), 8.24 (d, 1H, J=3.0 Hz).

3-[6-(4-Metil-fenil)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-A50)



Solido bianco. Sintetizzato secondo la metodica B. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

Resa : 93 %

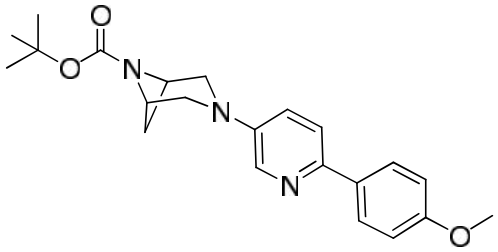
Rf : 0.40 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. : 218-221 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.35 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.38 (s, 3H), 2.58-2.79 (m,1H), 3.34 (d, 2H, J=10.4 Hz), 3.80-4.18 (m, 2H), 4.32 (d, 2H, J=5.0 Hz), 7.05 (dd, 1H, J_o=2.8 Hz, J_m=8.8 Hz), 7.24 (d, 2H, J=8.2 Hz), 7.61 (d, 1H, J= 8.8 Hz), 7.82 (d, 2H, J=8.2 Hz), 8.22 (d, 1H, J=2.6 Hz).

3-[6-(4-Metossi-fenil)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-A51)



Solido bianco. Sintetizzato secondo la metodica B. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

Resa : 53 %

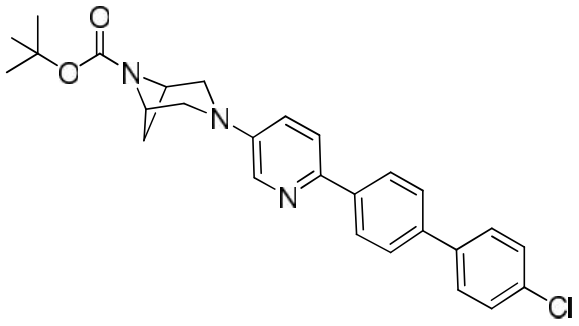
Rf : 0.29 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. :

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.35 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.34 (d, 2H, J=9.64 Hz), 3.72-4.08 (m, 5H), 4.10-4.40 (m, 2H), 6.97 (d, 2H, J=9.0 Hz), 7.00-7.10 (m, 1H), 7.46-7.62 (m, 1H), 7.64-7.75 (m, 1H), 7.86 (d, 2H, J=9.0 Hz).

3-[6-(4'-Cloro-bifenil-4-il)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-A52)



Solido giallo. Sintetizzato secondo la metodica B. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

Resa : 26 %

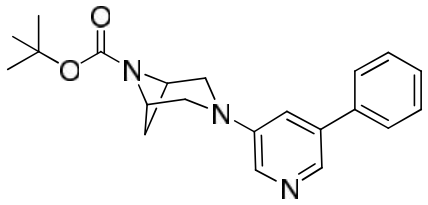
Rf : 0.37 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. :

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.35 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.34 (d, 2H, J=9.64 Hz), 3.72-4.08 (m, 5H), 4.10-4.40 (m, 2H), 7.20 (m, 2H), 7.27-7.50 (m, 2H), 7.52-7.80 (m, 4H), 8.02 (d, 2H, J=9.0 Hz), 8.27 (s, 1H).

3-(5-Fenilpiridin-3-il)-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-B55)



Solido grigio. Sintetizzato secondo la metodica A. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 6/4).

Resa : 55 %

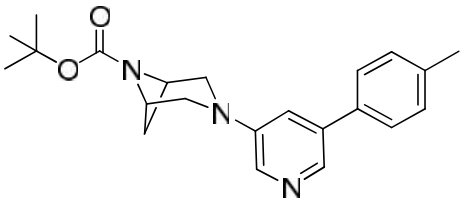
Rf : 0.35 (etere di petrolio/acetato di etile 6:4).

P.f. : 128-130 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=9.4 Hz), 2.60-2.78 (m,1H), 3.35 (d, 2H, J=10.2 Hz), 3.85-4.16 (m, 2H), 4.33 (d, 2H, J= 6.2 Hz), 7.13 (s, 1H), 7.40-7.55 (m, 3H), 7.59 (d, 2H, J= 7.8 Hz), 8.14 (s, 1H), 8.26 (s, 1H).

3-[5(4-Metilfenil)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-B56)



Olio giallo. Sintetizzato secondo la metodica A. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 97 %

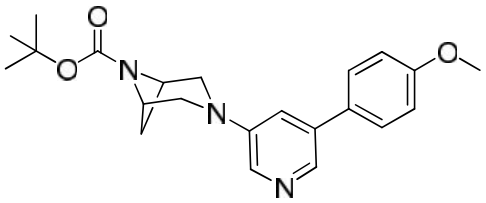
Rf : 0.12 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. : -

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.41 (s, 3H), 2.60-2.78 (m,1H), 3.35 (d, 2H, J=10.6 Hz), 3.90-4.10 (m, 2H), 4.21 (d, 1H, J= 6.2 Hz),4.26-4.40 (m, 1H), 7.10 (s, 1H), 7.27 (d, 2H, J=6.8 Hz), 7.49 (d, 2H, J= 6.8 Hz), 8.11 (s, 1H), 8.24 (s, 1H).

3-[5-(4-Metossifenil)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-B57)



Olio trasparente. Sintetizzato secondo la metodica A. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 75 %

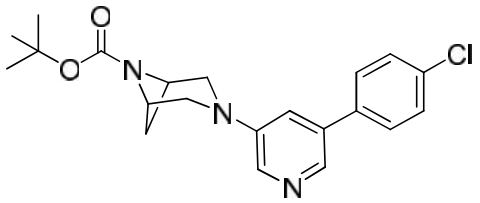
Rf : 0.26 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. : -

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.35 (d, 2H, J=10.4 Hz), 3.86 (s, 3H), 3.88-4.16 (m, 2H), 4.33 (d, 2H, J= 5.2 Hz),7.00 (d, 2H, J=9.0 Hz), 7.03-7.12 (m, 1H), 7.53 (d, 2H, J=8.8 Hz), 8.10 (d, 1H, J= 3.0 Hz), 8.22 (s, 1H).

3-[5-(4-Clorofenil)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-B58)



Olio giallo. Sintetizzato secondo la metodica A. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

Resa : 98 %

Rf : 0.17 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. : -

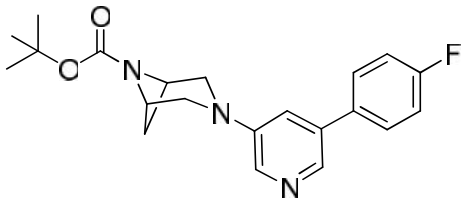
^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.65-2.78 (m,1H), 3.36 (d, 2H, J=10.4 Hz), 3.90-4.10 (m, 2H), 4.33 (d, 2H, J= 6.0 Hz),7.07 (s, 1H), 7.38-7.58 (m, 4H), 8.10-8.18 (m, 1H), 8.22 (s, 1H).

Anal. : per $C_{21}H_{24}ClN_3O_2$

Calc. (Trov): C, 65.36 (65.20); H, 6.27 (6.40); Cl, 9.19 (9.47); N, 10.89 (10.60); O, 8.29 (8.33).

3-[5-(4-Fluorofenil)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-B59)



Solido giallo. Sintetizzato secondo la metodica A. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 84 %

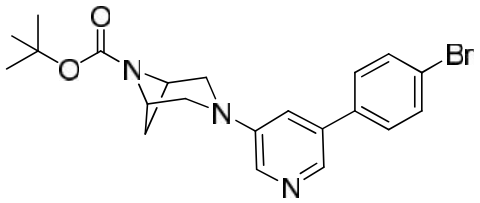
Rf : 0.36 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. : 137-140 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.35 (d, 2H, J=10.4 Hz), 3.90-4.10 (m, 2H), 4.33 (d, 2H, J= 6.2 Hz),7.07 (s, 1H), 7.10-7.27 (m, 2H), 7.50-7.68 (m, 2H), 8.15 (s, 1H), 8.22 (s, 1H).

3-[5-(4-Bromofenil)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-B60)



Olio giallo. Sintetizzato secondo la metodica A. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 59 %

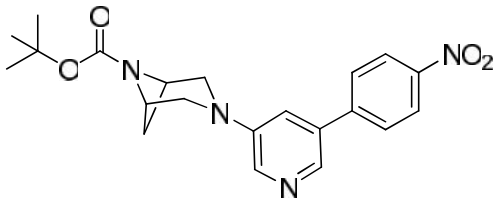
Rf : 0.32 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. : -

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 10H), 2.60-2.80 (m,1H), 3.30-3.40 (m, 2H), 4.20-4.28 (m, 2H), 4.30-4.40 (m, 2H), 7.07 (s, 1H), 7.40-7.80 (m, 5H), 8.16 (s, 1H).

3-[5-(4-Nitrofenil)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-B61)



Solido giallo. Sintetizzato secondo la metodica A. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 94 %

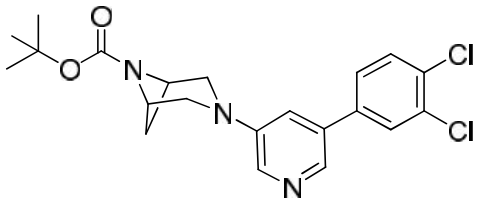
Rf : 0.21 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. : 129-132 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.38 (bs, 9H), 1.55 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.65-2.80 (m,1H), 3.38 (d, 2H, J=10.8 Hz), 3.90-4.10 (m, 2H), 4.20-4.40 (m, 2H),7.12 (s, 1H), 7.65-7.80 (m, 2H), 8.20-8.40 (m, 4H).

3-[5-(3,4-Diclorofenil)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-B62)



Solido giallo. Sintetizzato secondo la metodica A. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 64 %

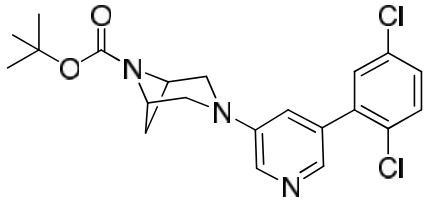
Rf : 0.43 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. : 130-133 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.54 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.66-2.77 (m,1H), 3.36 (d, 2H, J=10.0 Hz), 3.92-4.08 (m, 2H), 4.29-4.39 (m, 2H), 7.05 (s, 1H), 7.38-7.46 (m, 1H), 7.49-7.60 (m, 1H), 7.67 (s, 1H), 8.16-8.27 (m, 2H).

3-[5-(2,5-Diclorofenil)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-B63)



Solido giallino. Sintetizzato secondo la metodica A. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 87 %

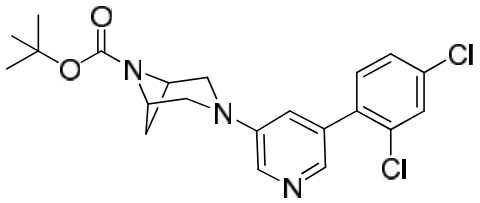
Rf : 0.38 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. : 144-146 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=9.2 Hz), 2.60-2.75 (m,1H), 3.34 (d, 2H, J=10.4 Hz), 3.91-4.03 (m, 2H), 4.19-4.37 (m, 2H), 7.01 (s, 1H), 7.30-7.46 (m, 3H), 8.05 (s, 1H), 8.18 (s, 1H).

3-[5-(2,4-Diclorofenil)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-B64)



Solido giallino. Sintetizzato secondo la metodica A. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 43 %

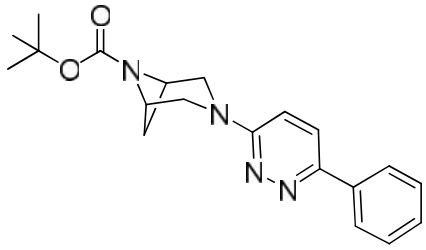
Rf : 0.41 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. : 136-138 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.65-2.78 (m,1H), 3.35 (d, 2H, J=10.6 Hz), 3.92-4.06 (m, 2H), 4.28-4.37 (m, 2H), 7.02 (s, 1H), 7.28-7.36 (m, 2H), 7.51 (s, 1H), 8.03 (s, 1H), 8.17 (s, 1H).

3-(6-Fenil-piridazin-3-il)-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-C65)



Solido bianco. Sintetizzato secondo la metodica B. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 58 %

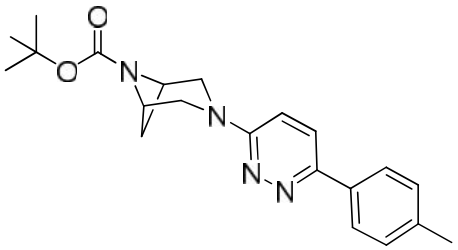
Rf : 0.36 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. : 175-179 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.55 (d, 1H, J=9.4 Hz), 2.66-2.83 (m,1H), 3.53-3.77 (m, 2H), 4.20-4.55 (m, 4H), 6.89 (d, 2H, J=9.6 Hz), 7.36-7.57 (m, 3H), 6.70 (d, 1H, J=9.4Hz), 8.02 (d, 2H, J=6.2 Hz).

3-[6-(4-Metil-fenil)piridazin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-C66)



Solido bianco. Sintetizzato secondo la metodica B. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

Resa : 93 %

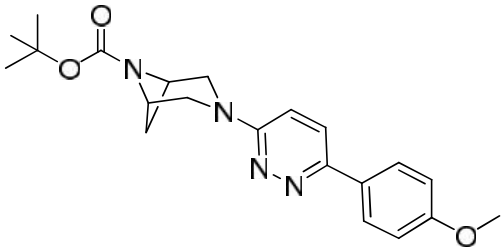
Rf : 0.36 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. : 177-178 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.54 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.40 (s, 3H), 2.65-2.78 (m,1H), 3.56-3.78 (m, 2H), 4.25 (d, 2H, J=11.2 Hz), 4.34 (d, 2H, J=5.6 Hz), 6.86 (d, 1H, J=9.8 Hz), 7.28 (d, 2H, J=7.8 Hz), 7.67 (d, 1H, J=9.6Hz), 7.92 (d, 2H, J=7.8 Hz).

3-[6-(4-Metossi-fenil)piridazin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-67)



Solido bianco. Sintetizzato secondo la metodica B. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 34 %

Rf : 0.39 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. :

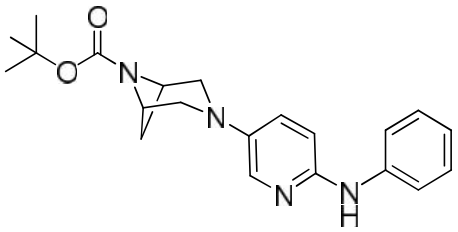
^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.54 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.40-3.76 (m, 2H), 3.87 (s, 3H), 4.25 (d, 2H, J=11.2 Hz), 4.34 (d, 2H, J=5.6 Hz), 6.86 (d, 1H, J=9.6 Hz), 7.00 (d, 2H, J=9.0 Hz), 7.65 (d, 1H, J=9.6Hz), 7.97 (d, 2H, J=9.0 Hz).

Metodo generale per la sintesi dei nuclei anilinici

A una soluzione dell'alogeno derivato (0.231 mmol) in toluene (3 ml) sono stati addizionati t-BuOK (0.347 mmol), $Pd_2(dba)_3$ (0.005 mmol), Xantphos (0.014 mmol) e l'appropriata anilina (0.347 mmol). La miscela di reazione è stata fatta reagire al Microonde per 30-60 minuti a 130°C con assorbimento basso. La sospensione è stata ripresa con AcOEt e lavata con H_2O salata, seccata su Na_2SO_4, filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il solido ottenuto è stato purificato mediante flash cromatografia su gel di silice con l'appropriata miscela di eluenti.

3-[6-(Ammino-fenil)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-E69)



Solido giallino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

Resa : 48 %

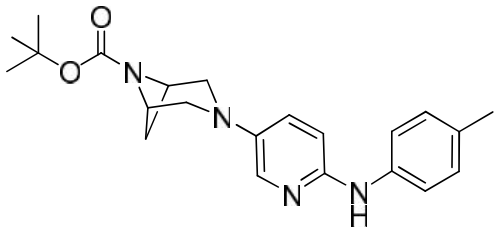
Rf : 0.23 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. :158-160 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.2 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.25 (d, 2H, J=10.2 Hz), 3.78-4.07 (m, 2H), 4.29 (d, 2H, J=5.4 Hz), 6.19 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.85-7.07 (m, 3H), 7.16-7.40 (m, 4H), 7.70-7.88 (m, 1H).

3-[6-(4-Metilanilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-E70)



Solido giallino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 71 %

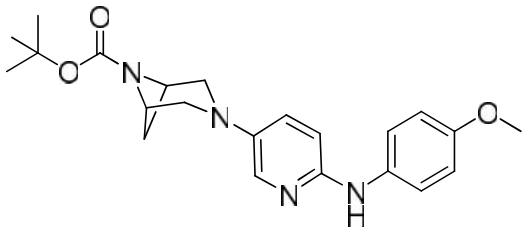
Rf : 0.47 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. :155-158 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.2 Hz), 2.30 (s, 3H), 2.58-2.68 (m,1H), 3.25 (d, 2H, J=9.6 Hz), 3.77-4.05 (m, 2H), 4.20-4.37 (m, 2H), 6.12 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.89 (d, 2H, J=9.0 Hz), 6.93-7.18 (m, 5H), 7.70-7.87 (m, 1H).

3-[6-(4-Metossianilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-E71)



Solido arancio. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

Resa : 61 %

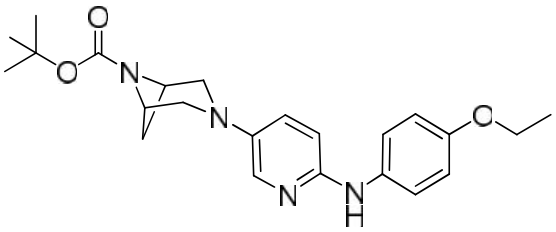
Rf : 0.15 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. :144-146 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.4 Hz), 2.50-2.70 (m,1H), 3.24 (d, 2H, J=10.0), 3.79 (s, 3H), 3.80-4.00 (m, 2H), 4.20-4.40 (m, 2H), 6.03 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.76 (d, 1H, J=8.8 Hz), 6.86 (d, 2H, J=9.2 Hz), 6.99 (dd, 1H, J_o=2.8 Hz, J_m=9.2Hz), 7.17 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.65-7.80 (m, 1H).

3-[6-(4-Etossianilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-E72)



Solido arancio. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

Resa : 70 %

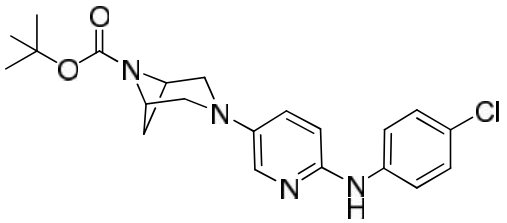
Rf : 0.17 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. :133-135 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.41 (t, 3H, J=7.0 Hz), 1.52 (d, 1H, J=8.4 Hz), 2.55-2.80 (m,1H), 3.24 (d, 2H, J=9.78), 3.75-3.90 (m, 2H), 4.01 (q, 2H, J=7.2 Hz), 4.20-4.26 (m, 2H), 6.00 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.76 (d, 1H, J=8.8 Hz), 6.86 (d, 2H, J=9.0 Hz), 6.98 (dd, 1H, J_0=3.2 Hz, J_m=9.0Hz), 7.16 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.73 (d, 1H, J=3.0 Hz).

3-[6-(4-Cloroanilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-E73)



Solido rosso. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 8/2).

Resa : 82 %

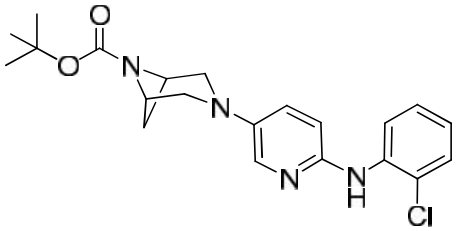
Rf : 0.12 (etere di petrolio/acetato di etile 8:2).

P.f. :176-179 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.2 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.25 (d, 2H, J=10.4 Hz), 3.80-4.00 (m, 2H), 4.29 (d, 2H, J=5.2 Hz), 6.19 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.86 (d, 1H, J=9.6 Hz), 7.02 (d, 1H, J=5.8 Hz), 7.16-7.23 (m, 4H), 7.70-7.85 (m, 1H).

3-[6-(2-Cloroanilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-E74)



Solido giallino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 8/2).

Resa : 65 %

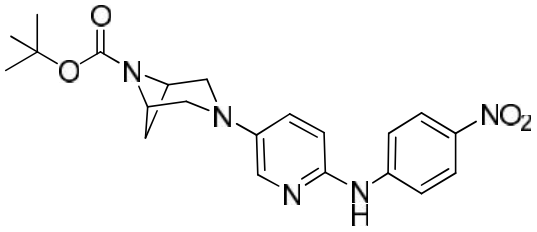
Rf : 0.22 (etere di petrolio/acetato di etile 8:2).

P.f. :170-172 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=8.2 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.27 (d, 2H, J=10.0 Hz), 3.80-4.10 (m, 2H), 4.20-4.40 (m, 2H), 6.60 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.28 (t, 1H, J=6.6 Hz), 6.94 (d, 1H, J=8.8 Hz), 7.05 (dd, 1H, J_o=2.6 Hz, J_m=9.2Hz), 7.18 (t, 2H, J=7.4 Hz), 7.34 (d, 1H, J=7.8 Hz), 7.75-7.95 (m, 2H).

3-[6-(4-Nitroanilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-E75)



Solido rosso. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

Resa : 84 %

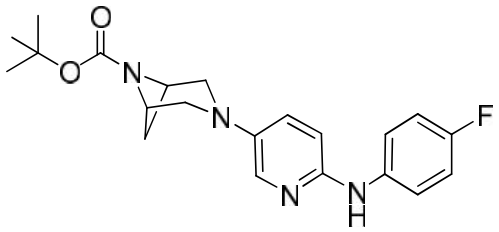
Rf : 0.14 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. :218-220 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.45-1.60 (m, 1H), 2.60-2.80 (m,1H), 3.30 (d, 2H, J=10.0 Hz), 3.80-4.10 (m, 2H), 4.20-4.40 (m, 2H), 6.73 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.95 (d, 1H, J=9.4 Hz), 7.00-7.20 (m, 1H), 7.32 (d, 2H, J=9.0 Hz), 7.80-8.00 (m, 1H), 8.15 (d, 2H, J=9.2 Hz).

3-[6-(4-Fluoroanilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-E76)



Solido giallo. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

Resa : 88 %

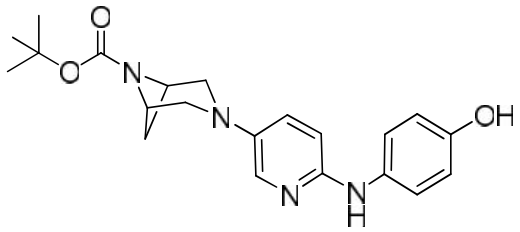
Rf : 0.28 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. :163-166 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.58-2.75 (m,1H), 3.24 (d, 2H, J=10.6 Hz), 3.70-4.10 (m, 2H), 4.28 (d, 2H, J=5.2 Hz), 6.10 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.81 (d, 1H, J=9.0 Hz), 6.90-7.08 (m, 3H), 7.10-7.28 (m, 2H), 7.70-7.85 (m, 1H).

3-[6-(4-Idrossianilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-E77)



Solido rosso. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 4/6).

Resa : 64 %

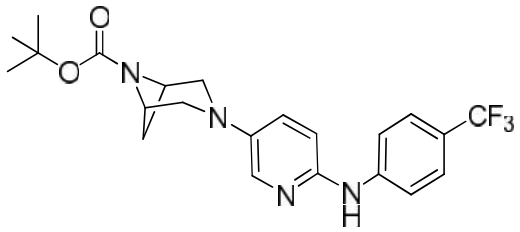
Rf : 0.26 (etere di petrolio/acetato di etile 4:6).

P.f. :94-96 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.2 Hz), 2.50-2.80 (m, 2H, OH scambia con D_2O), 3.23 (d, 2H, J=10.2 Hz), 3.75-4.00 (m, 2H), 4.15-4.35 (m, 2H), 6.07 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.75 (d, 2H, J=8.0 Hz), 6.78-6.85 (m, 1H), 6.90-7.03 (m, 1H), 7.07 (d, 2H, J=9.0 Hz), 7.60-7.20 (m, 1H).

3-[6-(4-Trifluorometilanilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-E78)



Solido giallo. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

Resa : 40 %

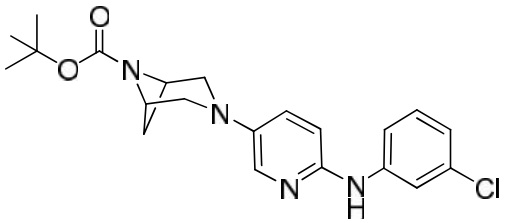
Rf : 0.24 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. :156-160 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.0 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.27 (d, 2H, J=10.2 Hz), 3.78-4.10 (m, 2H), 4.20-4.45 (m, 2H), 6.41 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.93 (d, 1H, J=8.8 Hz), 7.00-7.12 (m, 1H), 7.28 (d, 2H, J=10.2 Hz), 7.48 (d, 2H, J=8.2 Hz), 7.75-7.95 (m, 1H).

3-[6-(3-Cloroanilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-E79)



Solido giallino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

Resa : 74 %

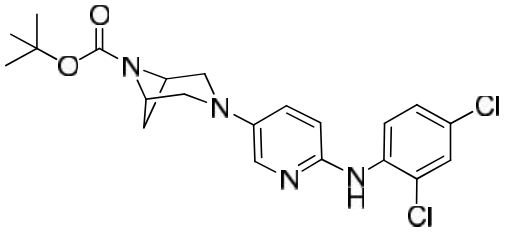
Rf : 0.27 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. :175-178 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.55-2.80 (m,1H), 3.26 (d, 2H, J=10.0 Hz), 3.80-4.10 (m, 2H), 4.20-4.40 (m, 2H), 6.22 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.80-6.97 (m, 2H), 7.00-7.10 (m, 2H), 7.11-7.20 (m, 1H), 7.27-7.38 (m, 1H), 7.75-7.88 (m, 1H).

3-[6-(2,4-Dicloroanilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-E80)



Solido giallino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

Resa : 64 %

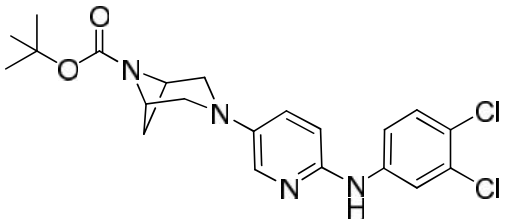
Rf : 0.50 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. :142-146 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=8.2 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.27 (d, 2H, J=10.4 Hz), 3.80-4.10 (m, 2H), 4.30 (d, 2H, J=4.4 Hz), 6.55 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.87 (d, 1H, J=9.2 Hz), 7.00-7.22 (m, 2H), 7.28-7.40 (m, 1H), 7.75-7.85 (m, 1H), 7.88 (d, 1H, J=8.8 Hz).

3-[6-(3,4-Dicloroanilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-E81)



Solido bianco. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

Resa : 72 %

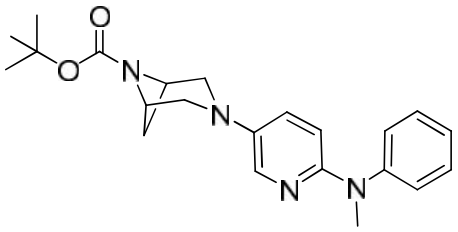
Rf : 0.21 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. :210-213 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.26 (d, 2H, J=10.2 Hz), 3.80-4.05 (m, 2H), 4.29 (d, 2H, J=5.6 Hz), 6.22 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.84 (d, 1H, J=9.2 Hz), 7.00-7.15 (m, 2H), 7.28 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.49 (d, 1H, J=2.8 Hz), 7.81 (d, 1H, J=2.4 Hz).

3-[6-(N-metilanilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-E82)



Solido bianco. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 7/3).

Resa : 91 %

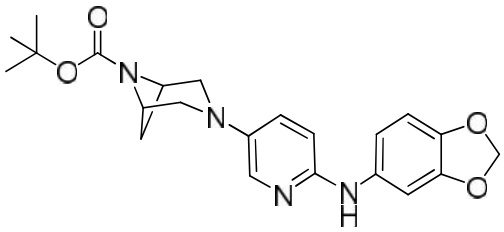
Rf : 0.29 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. :122-124 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.51 (d, 1H, J=8.4 Hz), 2.60-2.80 (m, 1H), 3.25 (d, 2H, J=9.4 Hz), 3.43 (s, 3H), 3.80-4.00 (m, 2H), 4.20-4.35 (m, 2H), 6.80 (d, 1H, J=9.0 Hz), 6.85-7.05 (m, 2H), 7.12 (d, 2H, J=8.2 Hz), 7.32 (d, 2H, J=8.4 Hz), 7.80-7.90 (m, 1H).

3-[6-(3,4-Metilendiossi-anilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-E83)



Solido marroncino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 90%

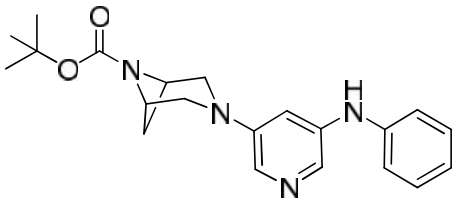
Rf : 0.49 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. :130-132 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.58-2.70 (m,1H), 3.24 (d, 2H, J=10.0 Hz), 3.80-3.90 (m, 2H), 4.20-4.36 (m, 2H), 5.93 (s, 2H), 6.02 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.62 (dd, 1H, J_0=2.2 Hz, J_m=8.4 Hz), 6.70-6.83 (m, 3H), 6.99 (dd, 1H, J_0=2.6 Hz, J_m=8.8 Hz), 7.70-7.74 (m, 1H).

3-[5-(Ammino-fenil)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-F69)



Solido bianco. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 4/6).

Resa : 75 %

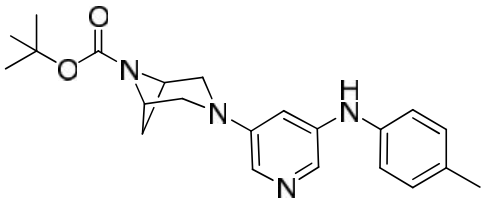
Rf : 0.13 (etere di petrolio/acetato di etile 4:6).

P.f. :181-185 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.50 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.58-2.77 (m,1H), 3.26 (d, 2H, J=10.2), 3.78-4.07 (m, 2H), 4.38 (d, 2H, J=5.8 Hz), 5.68 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.73 (t, 1H, J=2.6 Hz), 6.97 (t, 1H, J=7.2 Hz), 7.10 (d, 2H, J=7.6Hz), 7.32 (d, 2H, J=7.2 Hz), 7.70-7.90 (m, 2H).

3-[5-(4-Metilanilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-F70)



Solido bianco. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 2/8).

Resa : 80 %

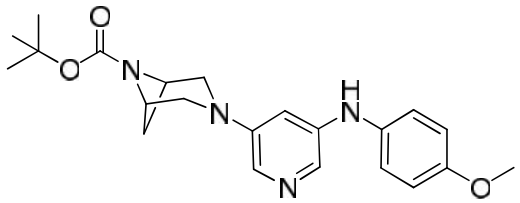
Rf : 0.29 (etere di petrolio/acetato di etile 2:8).

P.f. :172-175 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.49 (d, 1H, J=8.0 Hz), 2.32 (s, 3H), 2.78-2.94 (m,1H), 3.25 (d, 2H, J=10.2 Hz), 3.80-3.98 (m, 2H), 4.20-4.36 (m, 2H), 5.58 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.66 (s, 1H), 7.02 (d, 1H, J=8.6 Hz), 7.11 (d, 2H, J=8.2Hz), 7.70 (s, 1H), 7.78 (s, 1H).

3-[5-(4-Metossianilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-F71)



Solido rosato. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 4/6).

Resa : 77 %

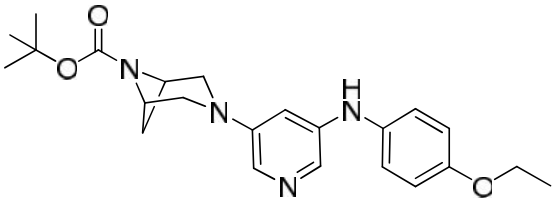
Rf : 0.22 (etere di petrolio/acetato di etile 4:6).

P.f. :185-187 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.48 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.52-2.78 (m,1H), 3.24 (d, 2H, J=11.0 Hz), 3.81 (s, 3H), 3.82-4.00 (m, 2H), 4.27 (d, 2H, J=5.6 Hz), 5.47 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.52 (s, 1H), 6.88 (d, 2H, J=9.0 Hz), 7.10 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.60-7.80 (m, 2H).

3-[5-(4-Etossianilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-F72)



Solido rosato. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 4/6).

Resa : 97 %

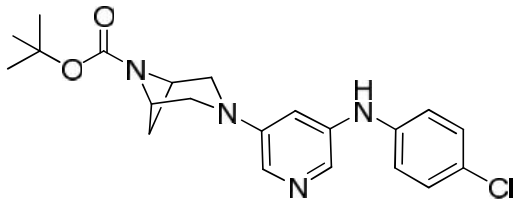
Rf : 0.23 (etere di petrolio/acetato di etile 4:6).

P.f. :179-180 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.42 (s, 3H), 1.48 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.55-2.78 (m,1H), 3.23 (d, 2H, J=10.2 Hz), 3.77-3.90 (m, 2H), 4.03 (q, 2H, J=7.4 Hz), 4.26 (d, 2H, J=5.2 Hz), 5.47 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.51 (s, 1H), 6.87 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.08 (d, 2H, J=8.8Hz), 7.68 (d, 2H, J=8.8 Hz).

3-[5-(4-Cloroanilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-F73)



Solido beige. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 4/6).

Resa : 91 %

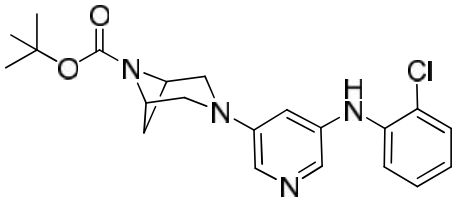
Rf : 0.26 (etere di petrolio/acetato di etile 4:6).

P.f. :165-170 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.50 (d, 1H, J=8.4 Hz), 2.60-2.75 (m,1H), 3.25 (d, 2H, J=10.2 Hz), 3.80-4.00 (m, 2H), 4.29 (d, 2H, J=5.6 Hz), 5.68 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.67 (s, 1H), 7.02 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.24 (d, 2H, J=9.2 Hz), 7.70-7.85 (m, 2H).

3-[5-(2-Cloroanilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-F74)



Solido marroncino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 4/6).

Resa : 70 %

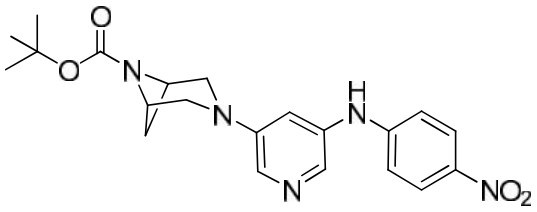
Rf : 0.10 (etere di petrolio/acetato di etile 7:3).

P.f. :71-72 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.38 (bs, 9H), 1.51 (d, 1H, J=6.0 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.29 (d, 2H, J=10.6 Hz), 3.80-4.10 (m, 2H), 4.29 (d, 2H, J=4.6 Hz), 6.03 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.70-6.79 (m, 1H), 6.85 (t, 1H, J=7.4 Hz), 7.15 (t, 1H, J=8.4Hz), 7.18-7.45 (m, 2H), 7.80-7.87 (m1H), 7.88-7.96 (m, 1H).

3-[5-(4-Nitroanilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-F75)



Solido giallo. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 4/6).

Resa : 82 %

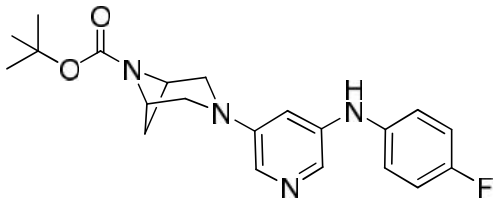
Rf : 0.12 (etere di petrolio/acetato di etile 4:6).

P.f. :227-230 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=9.0 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.30 (d, 2H, J=10.6 Hz), 3.80-4.02 (m, 2H), 4.31 (d, 2H, J=5.0 Hz), 6.28 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.81 (s, 1H), 6.98 (d, 2H, J=9.0 Hz), 7.97 (s, 2H), 8.15 (d, 2H, J=9.2 Hz).

3-[5-(4-Fluoroanilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-F76)



Solido bianco. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 4/6).

Resa : 88 %

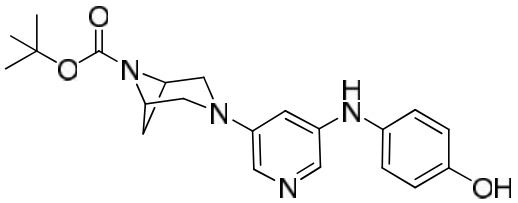
Rf : 0.14 (etere di petrolio/acetato di etile 4:6).

P.f. :199-202 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.49 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.56-2.77 (m,1H), 3.25 (d, 2H, J=10.2 Hz), 3.73-4.02 (m, 2H), 4.27 (d, 2H, J=5.4 Hz), 5.57 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.58 (s, 1H), 6.87-7.18 (m, 4H), 7.70-7.83 (m, 2H).

3-[5-(4-Idrossianilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-F77)



Solido rosso. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 4/6).

Resa : 46 %

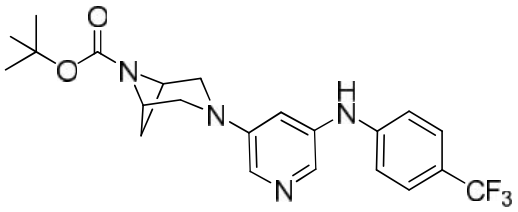
Rf : 0.09 (etere di petrolio/acetato di etile 4:6).

P.f. :68-70 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.38 (bs, 9H), 1.48 (d, 1H, J=8.0 Hz), 2.57-2.78 (m,2H, OH scambia con D_2O), 3.25 (d, 2H, J=10.0 Hz), 3.75-4.00 (m, 2H), 4.15-4.37 (m, 2H), 5.50 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.46 (s, 1H), 6.85 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.03 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.58-7.78 (m, 2H).

3-[5-(4-Trifluorometilanilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-F78)



Solido giallo. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 4/6).

Resa : 55 %

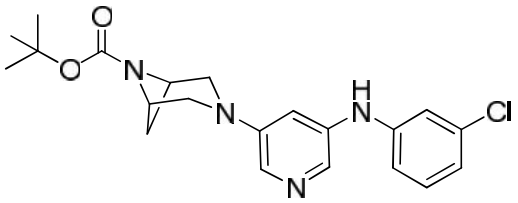
Rf : 0.12 (etere di petrolio/acetato di etile 4:6).

P.f. :95-97 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.51 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.60-2.78 (m,1H), 3.28 (d, 2H, J=10.6 Hz), 3.77-4.05 (m, 2H), 4.30 (d, 2H, J=6.2 Hz), 5.89 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.77 (s, 1H), 7.08 (d, 2H, J=8.4 Hz), 7.50 (d, 2H, J=7.4 Hz), 7.89 (d, 2H, J=7.0 Hz).

3-[5-(3-Cloroanilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-F79)



Solido marroncino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 4/6).

Resa : 98 %

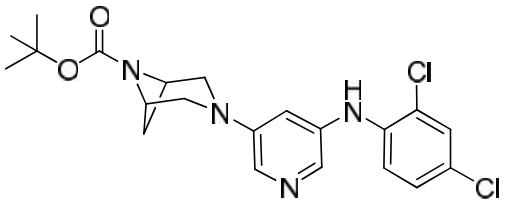
Rf : 0.22 (etere di petrolio/acetato di etile 4:6).

P.f. :170-174 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.50 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.58-2.75 (m,1H), 3.27 (d, 2H, J=10.4 Hz), 3.75-4.08 (m, 2H), 4.30 (d, 2H, J=6.8 Hz), 5.78 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.72 (s, 1H), 6.87-7.00 (m, 2H), 7.06 (s, 1H), 7.10-7.24 (m, 1H), 7.83 (d, 2H, J=4.8 Hz).

3-[5-(2,4-Dicloroanilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-F80)



Solido scuro. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 4/6).

Resa : 82 %

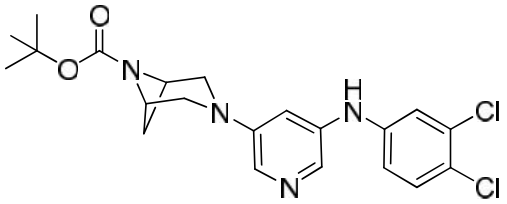
Rf : 0.33 (etere di petrolio/acetato di etile 4:6).

P.f. :85-89 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.26-1.55 (m, 10H), 2.60-2.70 (m,1H), 3.27 (d, 2H, J=10.6 Hz), 3.75-4.10 (m, 2H), 4.20 (d, 2H, J=5.6 Hz), 5.97 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.72 (s, 1H), 7.05-7-23 (m, 2H), 7.30-7.45 (m, 1H), 7.80-7.98 (m, 2H).

3-[5-(3,4-Dicloroanilin)piridin-3-il]-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-6-carbossilato.

(Boc-F81)



Solido beige. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 4/6).

Resa : 68 %

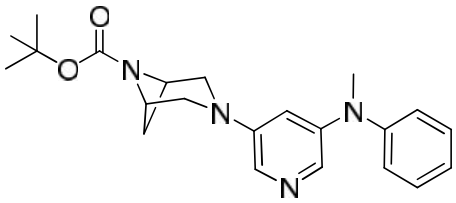
Rf : 0.13 (etere di petrolio/acetato di etile 4:6).

P.f. :147-150 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.51 (d, 1H, J=9.0 Hz), 2.60-2.75 (m,1H), 3.27 (d, 2H, J=10.4 Hz), 3.78-4.07 (m, 2H), 4.29 (d, 2H, J=5.6 Hz), 5.78 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.68 (s, 1H), 6.82-6.97 (m, 1H), 7.15 (s, 1H), 7.33 (s, 1H), 7.84 (s, 2H).

3-[5-(N-metilanilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-F82)



Solido bianco. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 4/6).

Resa : 83 %

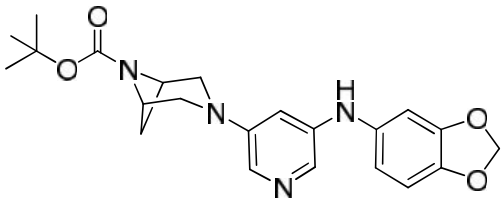
Rf : 0.42 (etere di petrolio/acetato di etile 4:6).

P.f. :92-94 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.48 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.58-2.75 (m,1H), 3.23 (d, 2H, J=10.2 Hz), 3.33 (s, 3H), 3.75-4.02 (m, 2H), 4.27 (d, 2H, J=5.8 Hz), 6.56 (s, 1H), 6.85-7.18 (m, 3H), 7.32 (d, 2H, J=8.4 Hz), 7.77 (s, 2H).

3-[5-(3,4-Metilendiossi-anilin)piridin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-F83)



Solido rosso. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 4/6).

Resa : 95%

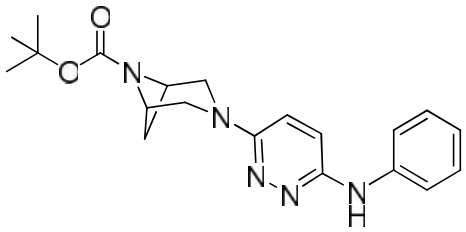
Rf : 0.10 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. :178-180 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.48 (d, 1H, J=8.4 Hz), 2.58-2.75 (m,1H), 3.24 (d, 2H, J=10.0 Hz), 3.80-4.00 (m, 2H), 4.20-4.38 (m, 2H), 5.50 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 5.96 (s, 2H), 6.50-6.64 (m, 2H), 6.66-6.80 (m, 2H), 7.60-7.76 (m, 2H).

3-[6-(Ammino-fenil)piridazin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-G69)



Solido beige. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 98 %

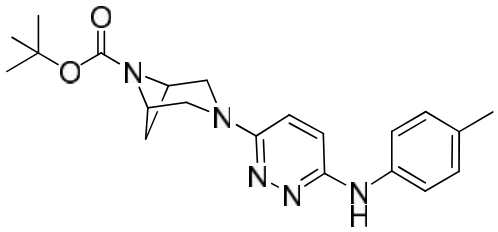
Rf : 0.21 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. :122-125 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.38-3.57 (m, 2H), 4.15 (d, 2H, J=12.0 Hz), 4.31 (d, 2H, J=4.6 Hz), 6.44 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.82 (d, 1H, J=9.4 Hz), 6.90-7.00 (m, 1H), 7.08 (d, 1H, J=9.6 Hz), 7.20-7.40 (m, 4H).

3-[6-(4-Metilanilin)piridazin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-G70)



Solido bianco. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 54 %

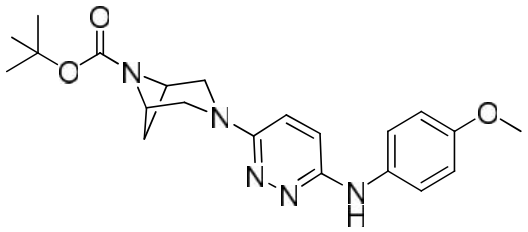
Rf : 0.15 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. :204-209 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.31 (s, 3H), 2.60-2.78 (m,1H), 3.49-3.66 (m, 2H), 4.16 (d, 2H, J=12.6 Hz), 4.20-4.37 (m, 2H), 6.34 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.81 (d, 1H, J=9.6 Hz), 7.03 (d, 1H, J=9.6 Hz), 7.10 (d, 2H, J=8.0 Hz), 7.20 (d, 2H, J=8.0 Hz).

3-[6-(4-Metossianilin)piridazin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-G71)



Solido beige. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 47 %

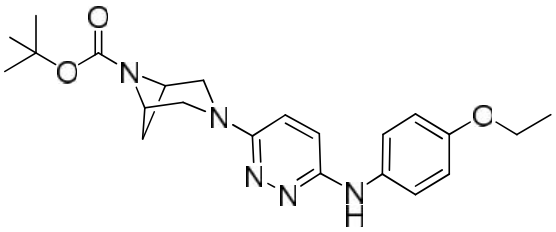
Rf : 0.18 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. :164-165 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.51 (d, 1H, J=8.2 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.40-3.76 (m, 2H), 3.80 (s, 3H), 4.14 (d, 2H, J=10.2 Hz), 4.20-4.37 (m, 2H), 6.28 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.78 (d, 1H, J=10.0 Hz), 6.87 (d, 2H, J=9.0 Hz), 6.94 (d, 1H, J=10.0 Hz), 7.24 (d, 2H, J=9.0 Hz).

3-[6-(4-Etossianilin)piridazin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-G72)



Solido marroncino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 53 %

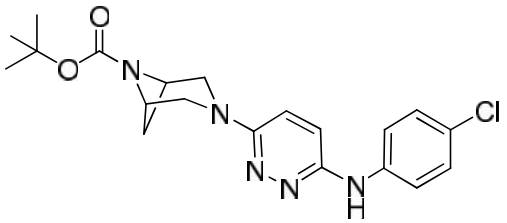
Rf : 0.12 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. :168-171 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.20-1.60 (m, 13H), 2.60-2.80 (m,1H), 3.40-3.76 (m, 2H), 4.01 (q, 2H, J=6.8 Hz), 4.13 (d, 2H, J=11.2 Hz), 4.25-4.37 (m, 2H), 6.28 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.68-7.10 (m, 4H), 7.23 (d, 2H, J=8.8 Hz).

3-[6-(4-Cloroanilin)piridazin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-G73)



Solido beige. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 60 %

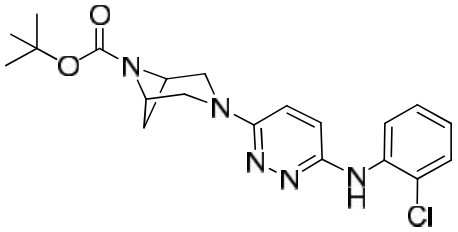
Rf : 0.16 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. :203-206 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.40-3.76 (m, 2H), 4.16 (d, 2H, J=11.4 Hz), 4.25-4.37 (m, 2H), 6.38 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.83 (d, 1H, J=9.4 Hz), 7.98 (d, 1H, J=9.6 Hz), 7.18-7.45 (m, 4H).

3-[6-(2-Cloroanilin)piridazin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-G74)



Solido giallino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 4/6).

Resa : 58 %

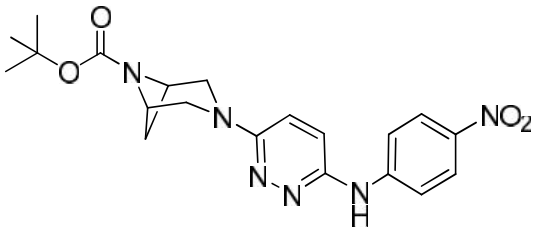
Rf : 0.55 (etere di petrolio/acetato di etile 4:6).

P.f. :134-135 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.57 (d, 1H, J=6.6 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.42-3.68 (m, 2H), 4.18 (d, 2H, J=11.6 Hz), 4.32 (d, 2H, J=5.4 Hz), 6.73 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.87 (d, 1H, J=9.4 Hz), 6.93 (s, 1H), 7.03 (d, 1H, J=9.8 Hz), 7.15-7.23 (m, 1H), 7.38 (d, 1H, J=8.0 Hz), 8.21 (d, 1H, J=8.4 Hz).

3-[6-(4-Nitroanilin)piridazin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-G75)



Solido giallo. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 65 %

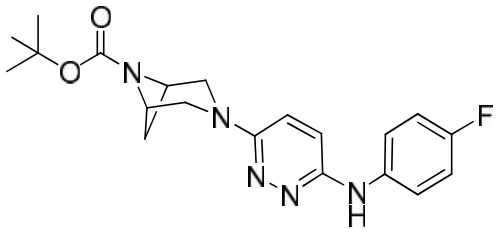
Rf : 0.10 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. :201-203 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=8.4 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.36-3.60 (m, 2H), 4.17 (d, 2H, J=11.8 Hz), 4.25-4.40 (m, 2H), 6.38 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.84 (d, 1H, J=9.8 Hz), 7.08 (d, 1H, J=10.0 Hz), 7.63 (d, 2H, J=9.0 Hz), 8.14 (d, 2H, J=8.8 Hz).

3-[6-(4-Fluoroanilin)piridazin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-G76)



Solido giallino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 46 %

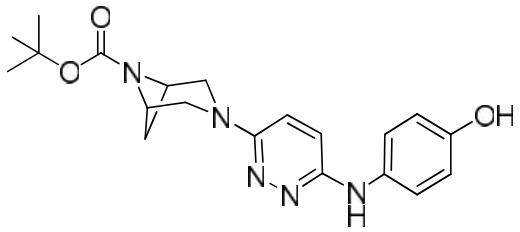
Rf : 0.08 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. :197-198 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.36-3.70 (m, 2H), 4.14 (d, 2H, J=11.0 Hz), 4.30 (d, 2H, J=6.0 Hz), 6.36 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.80 (d, 1H, J=9.6 Hz), 6.90-7.15 (m, 3H), 7.27-7.45 (m, 2H).

3-[6-(4-Idrossianilin)piridazin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-G77)



Solido beige. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 3/7).

Resa : 54 %

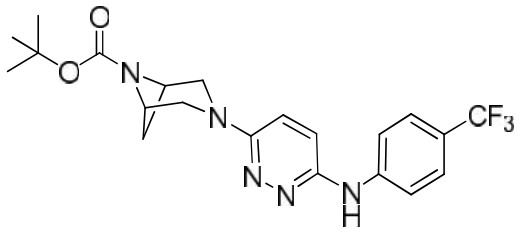
Rf : 0.21 (etere di petrolio/acetato di etile 3:7).

P.f. :163-166 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.30-1.47 (m, 10H), 2.60-2.80 (m, 1H), 3.40-3.75 (m, 2H), 3.13 (d, 2H, J=9.8 Hz), 4.27-4.42 (m, 2H), 6.60 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.75-7.10 (m, 2H, OH scambia con D_2O), 7.11-7.45 (m, 4H), 7.57-7.70 (m, 1H).

3-[6-(4-Trifluorometilanilin)piridazin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-G78)



Solido giallino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 33 %

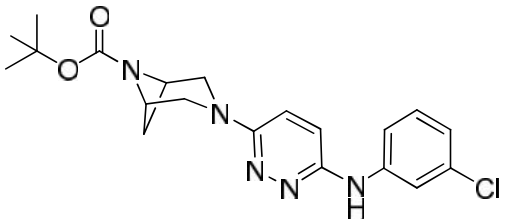
Rf : 0.21 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. :147-150 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=9.0 Hz), 2.58-2.80 (m,1H), 3.40-3.78 (m, 2H), 4.18 (d, 2H, J=11.6 Hz), 4.25-4.40 (m, 2H), 6.78 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.87 (d, 1H, J=9.6 Hz), 7.00-7.20 (m, 2H), 7.45-7.65 (m, 3H).

3-[6-(3-Cloroanilin)piridazin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-G79)



Solido giallino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 46 %

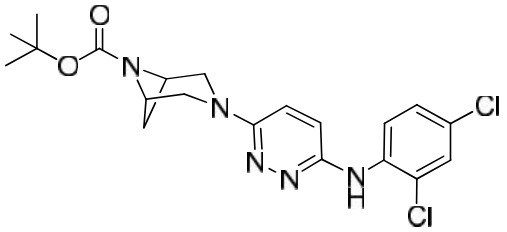
Rf : 0.16 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. :218-220 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.2 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.38-3.65 (m, 2H), 4.17 (d, 2H, J=11.6 Hz), 4.25-4.40 (m, 2H), 6.70-6.88 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 6.90-7.00 (m, 1H), 7.02-7.16 (m, 1H), 7.20-7.46 (m, 3H).

3-[6-(2,4-Dicloroanilin)piridazin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-G80)



Solido giallino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 41 %

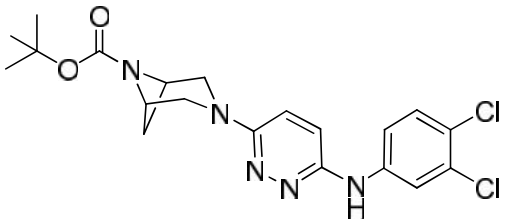
Rf : 0.45 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. :196-200 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=11.0 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.38-3.70 (m, 2H), 4.18 (d, 2H, J=11.6 Hz), 4.31 (d, 2H, J=6.2 Hz), 6.65 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.88 (d, 1H, J=9.6 Hz), 6.98 (d, 1H, J=9.4 Hz), 7.18 (d, 1H, J=9.2 Hz), 7.30-7.46 (m, 1H), 8.36 (d, 1H, J=8.8 Hz).

3-[6-(3,4-Dicloroanilin)piridazin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-G81)



Solido bianco. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 44 %

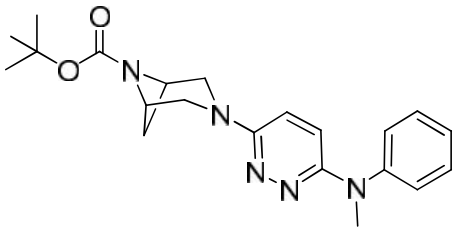
Rf : 0.33 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. :168-172 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.4 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.40-3.70 (m, 2H), 4.17 (d, 2H, J=11.2 Hz), 4.31 (d, 2H, J=5.6 Hz), 6.84 (d, 1H, J=9.6 Hz), 7.00 (d, 1H, J=9.0 Hz), 7.20-7.46 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 7.55-7.80 (m, 2H).

3-[6-(N-metilanilin)piridazin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-G82)



Solido bianco. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 60 %

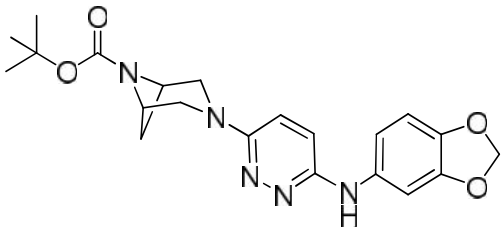
Rf : 0.34 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. :129-132 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.30-1.58 (m, 10H), 2.60-2.80 (m, 1H), 3.40-3.80 (m, 5H), 4.14 (d, 2H, J=11.5 Hz), 4.29 (d, 2H, J=8.8 Hz), 6.67 (d, 1H, J=9.8 Hz), 6.89 (d, 1H, J=10.0 Hz), 7.16 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.20-7.43 (m, 3H).

3-[6-(3,4-Metilendiossi-anilin)piridazin-3-il]-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-G83)



Solido giallo. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 4/6).

Resa : 42%

Rf : 0.17 (etere di petrolio/acetato di etile 4:6).

P.f. :165-166 °C.

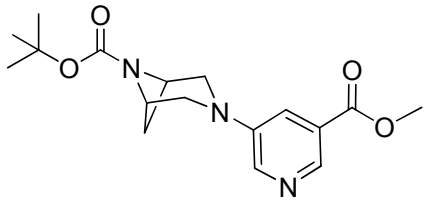
^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=9.4 Hz), 2.60-2.76 (m,1H), 3.40-3.60 (m, 2H), 4.14 (d, 2H, J=12.0 Hz), 4.30 (d, 2H, J=4.8 Hz), 5.95 (s, 2H), 6.27 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.68-6.78 (m, 2H), 6.82 (s, 1H), 6.89-7.00 (m, 2H).

Metodo generale per la sintesi degli esteri

A una soluzione dell'ammina (1.008 mmol) in *p*-diossano (5 ml) è stato addizionato l' appropriato estere bromo nicotinico (1.311 mmol) quindi $Pd_2(dba)_3$ (0.030 mmol), xantphos (0.1 mmol) e il Cs_2CO_3 (2.01 mmol). La miscela di reazione è stata fatta reagire al microonde per 12 ore a 110 °C con assorbimento basso. La sospensione è stata filtrata su celice e concentrata a pressione ridotta. Il residuo, ripreso con AcOEt è stato lavato con H_2O, seccato su Na_2SO_4, filtrato e concentrato a pressione ridotta. Il solido ottenuto è stato purificato mediante flash cromatografia su gel di silice con l'appropriata miscela di eluenti.

3-(5-Carbossimetil-piridin-3-il)-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(138a)



Olio arancione. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 86%

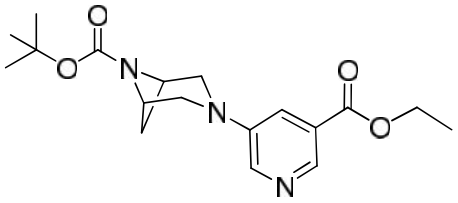
Rf : 0.23 (etere di petrolio/acetato di etile 1:1).

P.f. :

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.35 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.35 (d, 2H, J=10.0 Hz), 3.80-4.05 (m, 5H), 4.33 (d, 2H, J=5.4 Hz), 7.57 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.62 (s, 1H).

3-(5-Carbossietil-piridin-3-il)-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(138b)



Solido giallino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 68%

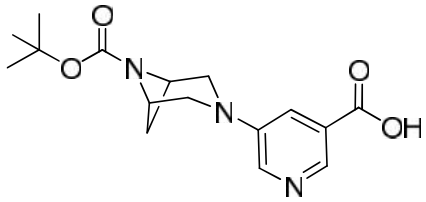
Rf : 0.65 (etere di petrolio/acetato di etile 3:7).

P.f. : 53-55 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.30-1.47 (m, 12H), 1.52 (d, 1H, J=8.4 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.35 (d, 2H, J=10.6 Hz), 3.90-4.10 (m, 2H), 4.30-4.48 (m, 4H), 7.50-7.60 (m, 1H), 8.28 (d, 1H, J=2.8 Hz), 8.62 (d, 1H, J=1.8 Hz).

Sintesi dell'acido.

3-(5-Carbossi-piridin-3-il)-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato. (139)



A una soluzione dell'estere (2.28 mmol) in metanolo (5 ml) è stata addizionata una soluzione di NaOH (0.250 g) in H_2O (4 ml). La miscela di reazione è stata agitata a temperatura ambiente per 2 ore, quindi diluita in AcOEt. La fase acquosa è stata acidificata fino a pH 4 ed estratta con DCM che seccato su Na_2SO_4, filtrato e concentrato a pressione ridotta, ha permesso di ottenere un solido giallo.

Resa : 99%

Rf : 0.16 ($CHCl_3/CH_3OH$ 9/1).

P.f. : 225-226 °C.

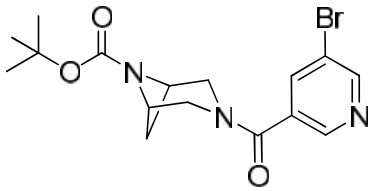
^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.37 (bs, 9H), 1.54 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.62 (bs,2H, OH scambia con D_2O), 3.38 (d, 2H, J=10.2 Hz), 3.86-4.15 (m, 2H), 4.35 (d, 2H, J=5.8 Hz), 7.73 (s, 1H), 8.36 (s, 1H), 8.75 (s, 1H).

Metodo generale per la sintesi delle ammidi

A una soluzione del derivato carbossilico (0.235 mmol) in DCM (4 ml) è stato addizionato EDC (0.329 mmol), idrossi-benzotriazolo (0.282 mmol), DMAP(0.08 mmol). La soluzione è stata agitata per 1-2 ore a temperatura ambiente, quindi addizionata dell'appropriata ammina (0.282 mmol) e lasciata in agitazione alla stessa temperatura per 4-8 ore. La soluzione organica è stata lavata con H_2O quindi seccata su Na_2SO_4, filtrata e concentrata a pressione ridotta. Il residuo ottenuto è stato purificato mediante flash cromatografia su gel di silice con l'appropriata miscela di eluenti.

3-(5-Bromonicotin-3-il)-6-*tert*-butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-carbossilato.

(Boc-L87)



Solido bianco. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 1/1).

Resa : 78%

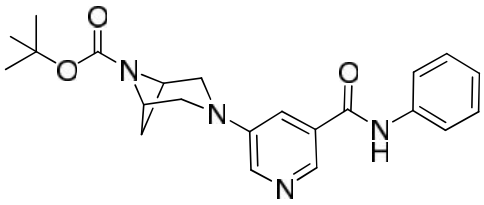
Rf : 0.21 (EtPet/AcOEt 1/1).

P.f. : 149-150 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.40-1.60 (m, 10H), 2.60-2.80 (m,1H), 3.38 (d, 1H, J=10.4 Hz) 3.60-3.77 (m, 1H), 4.00-4.20 (m, 2H), 4.20-4.38 (m, 2H), 7.87 (s, 1H), 8.58 (s, 1H), 8.74 (s, 1H).

5-(*tert*-Butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il-6-carbossilato)-fenilnicotinammide.

(Boc-M88)



Olio chiaro. Purificato per FC ($CHCl_3/CH_3OH$ 9/1).

Resa : 94 %

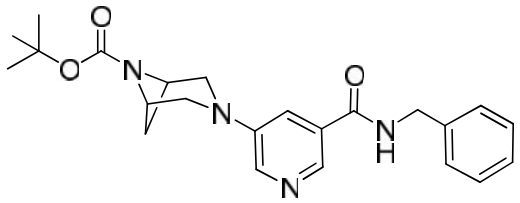
Rf : 0.53 ($CHCl_3/CH_3OH$ 9/1).

P.f. :-

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.35 (bs, 9H), 1.51 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.60-2.75 (m,1H), 3.35 (d, 2H, J=10.8 Hz), 3.83-3.96 (m, 2H), 4.26-4.39 (m, 2H),6.62-6.82 (m, 1H), 7.10-7.18 (m, 1H), 7.30-7.45 (m, 3H), 7.50-7.73 (m, 2H), 8.20-8.30 (m, 1H), 8.44 (bs, 1H, NH scambia con D_2O).

5-(*tert*-Butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il-6-carbossilato)-benzilnicotinammide.

(Boc-M89)



Solido bianco. Purificato per FC (AcOEt).

Resa : 94 %

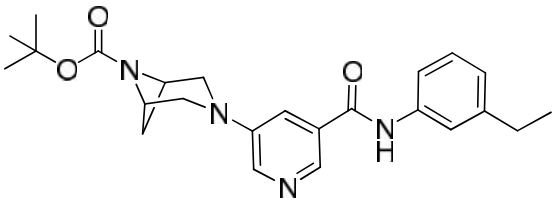
Rf : 0.24 (acetato di etile).

P.f. :65-67 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.38 (bs, 9H), 1.51 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.60-2.80 (m,1H), 3.35 (d, 2H, J=11.0 Hz), 3.80-4.10 (m, 2H), 4.31 (d, 2H, J=6.0 Hz), 4.67 (d, 2H, J=5.4 Hz), 6.49 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 7.27-7.42 (m, 5H), 7.48 (s, 1H), 8.20-8.25 (m, 1H), 8.29 (s, 1H).

5-(*tert*-Butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il-6-carbossilato)-3-etilfenilnicotinammide.

(Boc-M90)



Solido bianco. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 3/7).

Resa : 94 %

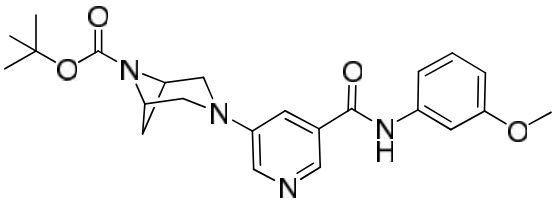
Rf : 0.36 (etere di petrolio/acetato di etile 3:7).

P.f. :91-92 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.26 (t, 3H, J=7.4 Hz), 1.35 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.4 Hz), 2.60-2.80 (m, 3H), 3.36 (d, 2H, J=11.0 Hz), 3.85-4.15 (m, 2H), 4.32 (d, 2H, J=6.4 Hz),7.02 (d, 1H, J=8.2 Hz), 7.32 (d, 1H, J=7.6 Hz), 7.38-7.58 (m, 3H), 7.94 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.27 (d, 1H, J=3.0 Hz), 8.40-8.50 (m, 1H).

5-(*tert*-Butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il-6-carbossilato)-3-metossifenilnicotinammide.

(Boc-M91)



Solido bianco. Purificato per FC ($CHCl_3/CH_3OH$ 98/2).

Resa : 97 %

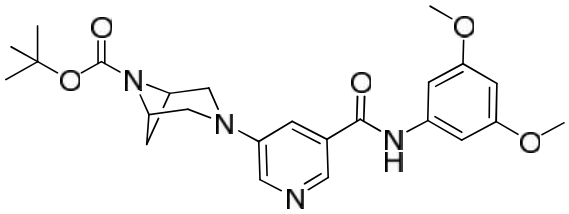
Rf : 0.21 ($CHCl_3/CH_3OH$ 98/2).

P.f. :77-80 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.35 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.60-2.80 (m, 1H), 3.35 (d, 2H, J=10.8 Hz), 3.84 (s, 3H), 3.86-4.18 (m, 2H), 4.32 (d, 2H, J=6.0 Hz), 6.73 (dd, 1H, J_o=2.8 Hz, J_m=8.4 Hz), 7.12 (d, 1H, J=7.2 Hz), 7.20-7.35 (m, 1H), 7.40-7.56 (m, 2H), 8.04 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 7.25-7.35 (m, 1H), 7.38-7.50 (m, 1H).

5-(*tert*-Butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il-6-carbossilato)-3,5-dimetossifenilnicotinammide.

(Boc-M92)



Solido bianco. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 4/6).

Resa : 90 %

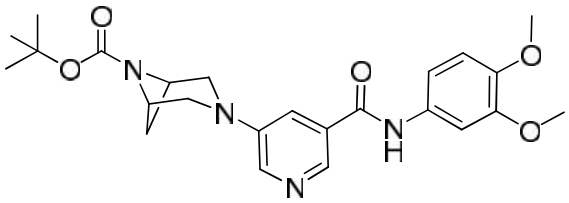
Rf : 0.36 (etere di petrolio/acetato di etile 3:7).

P.f. :189-191 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.35 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.60-2.80 (m, 1H), 3.35 (d, 2H, J=10.2 Hz), 3.80 (s, 6H), 3.85-4.10 (m, 2H), 4.32 (d, 2H, J=5.8 Hz), 6.25-6.32 (m, 1H), 6.90-7.00 (m, 2H), 7.56 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.18-8.30 (m, 2H), 8.43 (s, 1H).

5-(*tert*-Butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il-6-carbossilato)-3,4-dimetossifenilnicotinammide.

(Boc-M93)



Solido rosato. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 3/7).

Resa : 90 %

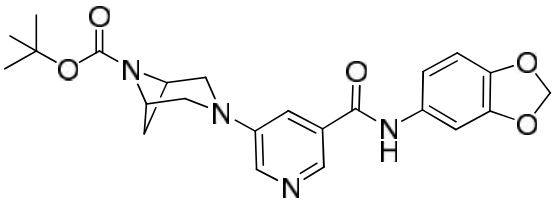
Rf : 0.19 (etere di petrolio/acetato di etile 3:7).

P.f. :83-84 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=9.0 Hz), 2.60-2.80 (m, 1H), 3.37 (d, 2H, J=10.8 Hz), 3.90 (s, 3H), 3.93 (s, 3H), 3.95-4.20 (m, 2H), 4.33 (d, 2H, J=5.8 Hz), 6.87 (d, 1H, J=8.6 Hz), 7.00-7.10 (m, 1H), 7.51 (s, 2H), 7.91 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.20-8.35 (m, 1H), 8.43 (s, 1H).

5-(*tert*-Butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il-6-carbossilato)-3,4-metilendiossifenilnicotinammide.

(Boc-M94)



Solido marroncino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 3/7).

Resa : 93 %

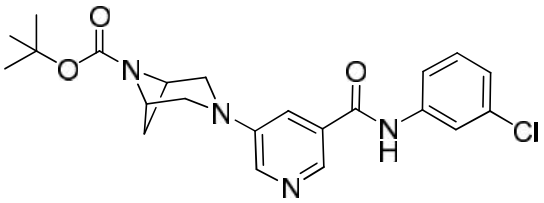
Rf : 0.32 (etere di petrolio/acetato di etile 3:7).

P.f. :78-80 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.35 (bs, 9H), 1.51 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.60-2.80 (m, 1H), 3.35 (d, 2H, J=10.6 Hz), 3.85-4.10 (m, 2H), 4.32 (d, 2H, J=5.6 Hz), 5.99 (s, 2H), 6.79 (d, 1H, J=8.6 Hz), 6.90-7.00 (m, 1H), 7.37 (s, 1H), 7.52 (s, 1H), 8.11 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.18-8.28 (m, 1H), 8.41 (s, 1H).

5-(*tert*-Butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il-6-carbossilato)-3-clorofenilnicotinammide.

(Boc-M95)



Solido bianco. Purificato per FC ($CHCl_3/CH_3OH$ 98/2).

Resa : 85 %

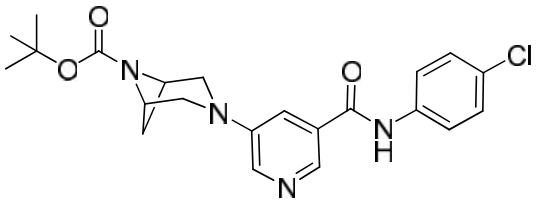
Rf : 0.19 ($CHCl_3/CH_3OH$ 98/2).

P.f. :114 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.38 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=9.0 Hz), 2.60-2.80 (m, 1H), 3.30-3.50 (m, 2H), 3.85-4.18 (m, 2H), 4.27-4.48 (m, 2H), 7.16 (d, 1H, J=7.8 Hz), 7.33 (d, 1H, J=8.4 Hz), 7.45-7.60 (m, 2H), 7.75-7.88 (m, 1H), 7.93 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.25-8.35 (m, 1H), 8.38-8.50 (m, 1H).

5-(*tert*-Butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il-6-carbossilato)-4-clorofenilnicotinammide.

(Boc-M96)



Solido giallo. Purificato per FC ($CHCl_3/CH_3OH$ 98/2).

Resa : 89 %

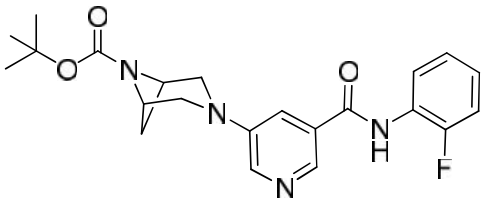
Rf : 0.19 ($CHCl_3/CH_3OH$ 98/2).

P.f. :130-132 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.35 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.65-2.80 (m, 1H), 3.36 (d, 2H, J=10.4 Hz), 3.85-4.18 (m, 2H), 4.33 (d, 2H, J=6.4 Hz), 7.36 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.40-7.56 (m, 1H), 7.63 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.96 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.20-8.33 (m, 1H), 8.35-8.48 (m, 1H).

5-(*tert*-Butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il-6-carbossilato)-2-fluorofenilnicotinammide.

(Boc-M97)



Solido giallino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 4/6).

Resa : 93 %

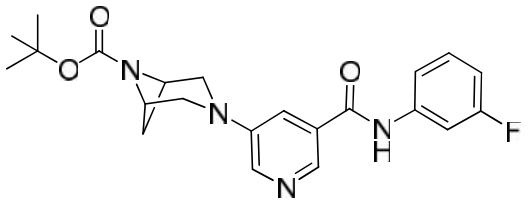
Rf : 0.26 (etere di petrolio/acetato di etile 4:6).

P.f. :111-113 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.53 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.60-2.80 (m, 1H), 3.37 (d, 2H, J=10.6 Hz), 3.90-4.10 (m, 2H), 4.33 (d, 2H, J=5.6 Hz), 7.05-7.28 (m, 3H), 7.48-7.58 (m, 1H), 8.14 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.20-8.35 (m, 1H), 8.38-8.50 (m, 2H).

5-(*tert*-Butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il-6-carbossilato)-3-fluorofenilnicotinammide.

(Boc-M98)



Solido giallino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 3/7).

Resa : 94 %

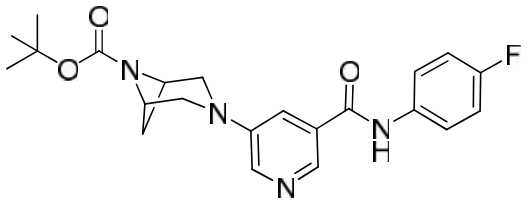
Rf : 0.22 (etere di petrolio/acetato di etile 3:7).

P.f. :188-189 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.35 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.60-2.80 (m, 1H), 3.34 (d, 2H, J=10.8 Hz), 3.85-4.10 (m, 2H), 4.32 (d, 2H, J=6.4 Hz), 6.80-7.00 (m, 1H), 7.20-7.40 (m, 2H), 7.42-7.55 (m, 1H), 7.60-7.75 (m, 1H), 8.19 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.27 (s, 1H), 8.43 (s, 1H).

5-(*tert*-Butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il-6-carbossilato)-4-fluorofenilnicotinammide.

(Boc-M99)



Solido giallino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 3/7).

Resa : 96 %

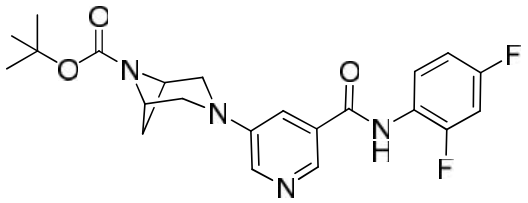
Rf : 0.20 (etere di petrolio/acetato di etile 3:7).

P.f. :193-195 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.35 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=9.0 Hz), 2.60-2.80 (m, 1H), 3.34 (d, 2H, J=10.4 Hz), 3.85-4.15 (m, 2H), 4.33 (d, 2H, J=6.4 Hz), 7.08 (t, 2H, J=8.8 Hz), 7.45-7.55 (m, 1H), 7.57-7.70 (m, 2H), 8.11 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.20-8.35 (m, 1H), 8.43 (s, 1H).

5-(*tert*-Butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il-6-carbossilato)-2,4-difluorofenilnicotinammide.

(Boc-M100)



Solido beige. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 3/7).

Resa : 95 %

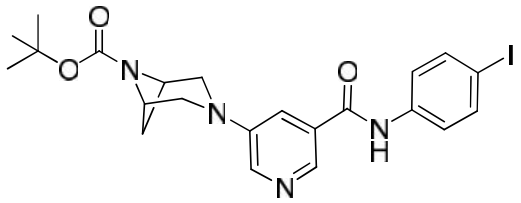
Rf : 0.39 (etere di petrolio/acetato di etile 3:7).

P.f. :157-158 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.36 (bs, 9H), 1.52 (d, 1H, J=9.0 Hz), 2.60-2.80 (m, 1H), 3.37 (d, 2H, J=10.6 Hz), 3.90-4.15 (m, 2H), 4.34 (d, 2H, J=6.6 Hz), 6.85-7.10 (m, 2H), 7.52 (s, 1H), 8.00 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.25-8.45 (m, 3H).

5-(*tert*-Butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il-6-carbossilato)-4-iodofenilnicotinammide.

(Boc-M101)



Solido marroncino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 3/7).

Resa : 89 %

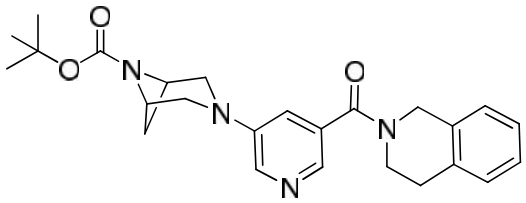
Rf : 0.41 (etere di petrolio/acetato di etile 3:7).

P.f. :218-219 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.34 (bs, 9H), 1.50 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.60-2.80 (m, 1H), 3.34 (d, 2H, J=10.6 Hz), 3.85-4.10 (m, 2H), 4.32 (d, 2H, J=6.0 Hz), 7.47 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.53 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 7.68 (d, 2H, J=8.8 Hz), 8.22 (d, 1H, J=3.2 Hz), 8.44 (s, 2H).

5-(*tert*-Butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il-6-carbossilato)-1,2,3,4-tetraidroisochinolinnicotinammide.

(Boc-M102)



Solido marroncino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 3/7).

Resa : 90 %

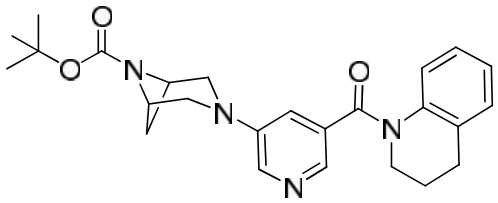
Rf : 0.11 (etere di petrolio/acetato di etile 3:7).

P.f. :73-74 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.35-1.55 (m, 10H), 2.60-2.80 (m, 1H), 2.81-3.00(m, 2H), 3.33 (d, 2H, J=10.6 Hz), 3.60-3.80 (m, 1H), 3.90-4.10 (m, 3H), 4.31 (d, 2H, J=3.8 Hz), 4.55-4.68 (m, 1H), 4.80-5.00 (m, 1H), 7.00-7.10 (m, 1H), 7.15-7.32 (m, 4H), 8.09 (s, 1H), 8.18-8.25 (m, 1H).

5-(*tert*-Butil-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il-6-carbossilato)-1,2,3,4-tetraidrochinolinnicotinammide.

(Boc-M103)



Solido marroncino. Purificato per FC (EtPet/AcOEt 3/7).

Resa : 55 %

Rf : 0.43 (etere di petrolio/acetato di etile 3:7).

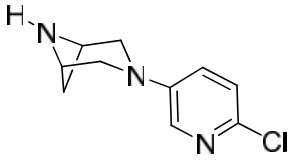
P.f. :85-87 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.35 (bs, 9H), 1.48 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.06 (q, 2H, J=6.6 Hz), 2.60-2.80 (m, 1H), 2.83 (t, 2H, J=6.6 Hz), 3.20 (d, 2H, J=10.6 Hz), 3.40-3.50 (m, 1H), 3.80-4.00 (m, 3H), 4.28 (d, 2H, J=5.8 Hz), 6.80-7.45 (m, 5H), 7.73 (s, 1H), 8.02 (d, 1H, J=3.2 Hz).

Metodo generale di deprotezione dei composti finali

Al derivato protetto (0.323 mmol) è stato addizionato HCOOH (2 ml). La soluzione è stata lasciata in agitazione a temperatura ambiente per 20 ore. Diluita con H_2O, la soluzione acida è stata estratta con $CHCl_3$. La fase acquosa è stata basificata con una soluzione di K_2CO_3 e nuovamente estratta con $CHCl_3$ che seccato su Na_2SO_4, filtrato e concentrato a pressione ridotta, ha consentito di ottenere un solido puro.

3-(6-Cloropiridin-3-il)-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano.
(A43)



Solido giallino.

Resa : 95 %

Rf : 0.12 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 130-131 °C.

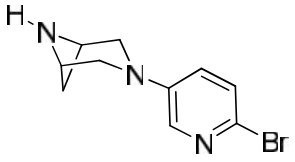
^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.53 (bs, 1H, NH che scambia con D_2O), 1.62 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.70-2.85 (m, 1H), 3.53 (bs, 4H), 3.91 (d, 2H, J=5.8 Hz), 6.97 (dd, 1H, J=2.8 e 8.8 Hz), 7.18 (d, 1H, J=8.2 Hz), 7.87 (d, 1H, J=3.2 Hz).

IR: 3433 (NH).

Anal. Elem. : per $C_{10}H_{12}ClN_3$
Calc. (Trov): C, 57.28 (57.35); H, 5.77 (5.79); Cl, 16.91 (16.84); N, 20.04 (19.95).

3-(6-Bromopiridin-3-il)-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano.

(A45)



Solido marroncino.

Resa : 97 %

Rf : 0.12 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

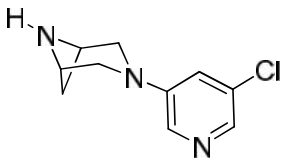
P.f.: 144-145 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$): 1.41 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.62 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.70-2.87 (m, 1H), 3.52 (bs, 4H), 3.92 (d, 2H, J=5.8 Hz), 6.88 (dd, 1H, J=3.2 e 7.6 Hz), 7.31 (d, 1H, J=9.2 Hz), 7.86 (d, 1H, J=1.4 Hz).

IR: 3389 (NH).

Anal. Elem. : per $C_{10}H_{12}BrN_3$
Calc. (Trov): C, 47.26 (47.18); H, 4.76 (4.74); Br, 31.44 (31.40); N, 16.54 (16.49).

3-(5-Cloropiridin-3-il)-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano.
(B53)



Solido panna.

Resa : 95 %

Rf : 0.17 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 106-110 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.52 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.61 (d, 1H, J=8.8 Hz); 2.70-2.87 (m, 1H), 3.54 (bs, 4H), 3.90 (d, 2H, J=5.8 Hz), 7.12 (d, 1H, J = 1.8 Hz), 7.90-8.10 (m, 2H).

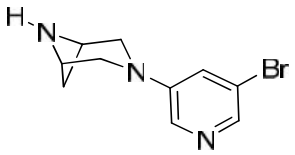
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.22 (CH_2), 51.16 (CH x2), 55.60 (CH_2 x2), 116.04 (C), 118.03 (CH), 130.77 (CH), 132.24 (C), 136.26 (CH).

IR: 3421 (NH).

CE: 5.572 min; DAD 292.20 nm.

Anal. Elem. : per $C_{10}H_{12}ClN_3$
Calc. (Trov): C, 57.28 (57.32); H, 5.77 (5.79); Cl, 16.91 (1699); N, 20.04 (19.95).

3-(5-Bromopiridin-3-il)-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano.
(B54)



Solido giallino.

Resa : 90 %

Rf : 0.14 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 123-126 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.53 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.61 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.70-2.87 (m, 1H), 3.54 (bs, 4H), 3.92 (d, 2H, J=5.8 Hz), 7.12 (s, 1H), 8.00-8.10 (m, 2H).

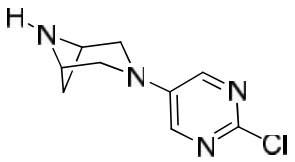
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.22 (CH_2), 51.13 (CH x2), 55.62 (CH_2 x2), 118.81 (CH), 121.12 (C), 131.06 (CH), 138.39 (CH), 145.66 (C).

IR: 3427 (NH).

CE: 5.153 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem. : per $C_{10}H_{12}BrN_3$
Calc. (Trov): C, 47.26 (47.35); H, 4.76 (4.79); Br, 31.44 (31.49); N, 16.54 (16.57).

3-(2-Cloropirimidin-5-il)-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano.
(D68)



Solido panna.

Resa : 94 %

Rf : 0.32 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 103-106 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.40-1.80 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.65-4.10 (m, 6H), 8.20-8.40 (m, 2H).

^{13}C-NMR (δ ppm): 30.32 (CH_2), 49.62 (CH x2), 55.14 (CH_2 x2), 117.91 ©, 155.13 (CH x2), 159.47 (C)

.

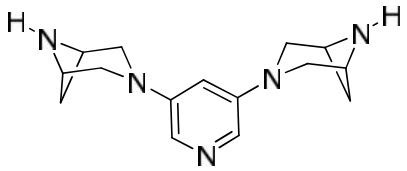
IR: 3378 (NH).

CE: 9.015 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem. : per $C_9H_{11}ClN_4$

Calc. (Trov): C, 51.31 (51.20); H, 5.26 (5.30); Cl, 16.83 (16.86); N, 26.60 (26.67).

3,3'-(Piridin-3,5-il)*bis*(3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano).
(H84)



Solido beige.

Resa : 82 %

Rf : 0.02 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : igroscopico.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.62 (d, 2H, J=8.7 Hz), 2.73 (q, 2H, J=7.5 Hz), 3.07 (bs, 2NH scambiano con D_2O), 3.57 (s, 8H), 3.89 (d, 4H, J=5.7 Hz), 6.24 (s, 1H), 7.59 (s, 2H).

^{13}C-NMR (δ ppm): 39.65 (CH_2 x2), 48.46 (CH x4), 57.53 (CH_2 x4), 79.46 (C), 99.20 (C), 122.73 (CH), 144.99 (CH x2).

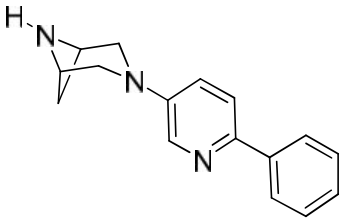
IR: 3433 (NH x2).

CE: 5.646 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem. : per $C_{15}H_{21}N_5$
Calc. (Trov): C, 66.39 (66.47); H, 7.80 (7.88); N, 25.81 (25.76).

3-(6-Fenilpiridin-3-il)-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano.

(A49)



Solido bianco.

Resa : 90 %

Rf : 0.16 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 174-177 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.56-1.80 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.68-2.96 (m, 1H), 3.62 (bs, 4H), 3.94 (d, 2H, J=5.8 Hz), 7.07 (dd, 1H, J_o= 2.8 Hz, J_m=8.8 Hz), 7.28-7.46 (m, 3H), 7.65 (d, 1H, J=9.0 Hz), 7.93 (d, 2H, J=7.2 Hz), 8.25 (d, 1H, J=2.2 Hz).

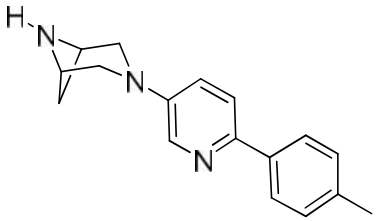
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.14 (CH_2), 51.03 (CH x2), 55.72 (CH_2 x2), 117.10 (CH), 120.42 (CH), 125.63 (CH x2), 127.30 (CH), 128.55 (CH x2), 132.26 (CH), 139.47 (C), 143.54 (C), 145.61 (C).

IR: 3429 (NH).

CE: 5.424 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{17}N_3$
Calc. (Trov): C, 76.46 (76.20); H, 6.82 (6.85); N, 16.72 (16.60).

3-[6-(4-Metilfenil)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (A50)



Solido panna.

Resa : 98 %

Rf : 0.16 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 187-189 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.52-1.80 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.39 (s, 3H), 2.68-2.96 (m, 1H), 3.61 (bs, 4H), 3.93 (d, 2H, J=6.0 Hz), 7.05 (dd, 1H, J_o= 2.8 Hz, J_m=8.8 Hz), 7.25 (d, 2H, J=7.4 Hz), 7.63 (d, 1H, J=9.0 Hz), 7.83 (d, 2H, J=8.0 Hz), 8.23 (d, 1H, J=2.6 Hz).

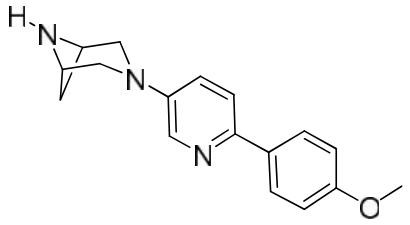
^{13}C-NMR (δ ppm): 21.07 (CH3), 31.09 (CH_2), 50.96 (CH x2), 55.68 (CH_2 x2), 117.11 (CH), 120.08 (CH), 125.47 (CH x2), 129.25 (CH x2), 132.10 (CH), 136.66 (C), 137.02 (C), 143.33 (C), 145.64 (C).

IR: 3429 (NH).

CE: 5.594 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{17}H_{19}N_3$
Calc. (Trov): C, 76.95 (77.10); H, 7.22 (7.19); N, 15.84 (15.80).

3-[6-(4-Metossifenil)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (A51)



Solido giallino.

Resa : 54 %

Rf : 0.13 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 198-203 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.44 (d, 1H, J=9.4 Hz), 1.67 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 2.55-2.92 (m, 1H), 3.62 (bs, 4H), 3.86 (s,3H), 3.96 (d, 2H, J = 6.0 Hz), 6.98 (d, 2H J = 8.4 Hz), 7.01-7.13 (m, 1H), 7.50-7.65 (m, 1H), 7.87 (d, 2H, J=8.8 Hz), 8.21 (d, 1H, J=3.0 Hz).

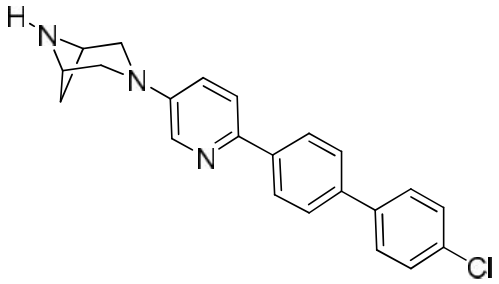
^{13}C-NMR (δ ppm): 29.68 CH_2), 51.06 (CH x2), 55.23 (O-CH_3), 55.90 (CH_2 x2), 114.01 (CH x2), 117.39 (CH), 118.05 (C), 119.90 (CH), 126.94 (CH x2), 132.21 (CH), 132.51 (C), 145.84 (C), 159.27 (C).

IR: 3431 (NH).

CE: 5.649 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{17}H_{19}N_3O$
Calc. (Trov): C, 72.57 (72.65); H, 6.81 (6.87); N, 14.94 (15.01); O, 5.69 (5.73).

3-[6-(4'-Clorobifenil-4-il)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (A52)



Solido giallo.

Resa : 86 %

Rf : 0.16 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 203-205 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$): 1.63 (bs, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.64 (bs, 4H), 3.96 (d, 2H, J = 5.4 Hz), 7.00-7.20 (m, 2H), 7.27-7.50 (m, 2H), 7.52-7.80 (m, 4H), 8.02 (d, 2H, J=9.0 Hz), 8.27 (s, 1H).

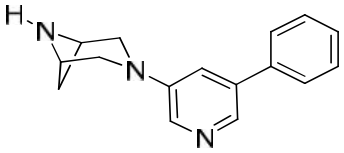
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.71 (CH_2), 51.14 (CH x2), 55.81 (CH_2 x2), 118.05 (CH x4), 120.52 (CH), 126.16 (CH x2), 127.16 (CH x2), 128.17 (CH), 128.88 (CH), 132.01 (C), 132.47 (C), 132.72 (C), 138.78 (C x2), 139.26 (C).

IR: 3433 (NH).

CE: 7.572 min; DAD 290.16 nm.

Anal. : per $C_{22}H_{20}ClN_3$
Calc. (Trov): C, 73.02 (73.20); H, 5.57 (5.63); Cl, 9.90 (9.96); N, 11.61 (11.68).

3-(5-Fenilpiridin-3-il)-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano.
(B55)



Solido panna.

Resa : 74 %

Rf : 0.16 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :125-130 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.51 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.64 (d, 1H, J=9.2 Hz); 2.70-2.90 (m, 1H), 3.63 (bs, 4H), 3.93 (d, 2H, J=5.6 Hz), 7.13 (s, 1H), 7.30-7.59 (m, 4H), 7.60-7.68 (m, 1H), 8.10-8.18 (m, 1H), 8.20-8.30 (m, 1H).

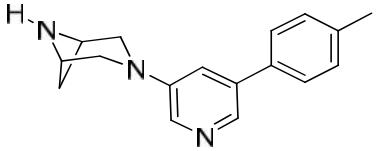
^{13}C-NMR (δ ppm): 29.67 (CH_2), 51.00 (CH x2), 55.93 (CH_2 x2), 114.98 (CH), 127.28 (CH x2), 128.88 (CH x2), 130.85 (CH), 132.48 (C), 133.00 (C), 135.25 (CH), 137.26 (C), 144.40 (CH).

IR: 3427 (NH).

CE: 6.799 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem. : per $C_{16}H_{17}N_3$
Calc. (Trov): C, 76.46 (76.39); H, 6.82 (6.84); N, 16.72 (16.60).

3-[5(4-Metilfenil)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (B56)



Solido bianco.

Resa : 80 %

Rf : 0.16 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 120-122 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.63 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.70-1.85 (m, 1H), 2.41 (s, 3H), 2.70-2.90 (m, 2H), 3.62 (bs, 4H), 3.93 (d, 2H, J = 5.6 Hz), 7.05-7.15 (m,1H), 7.27 (d, 2H, J = 7.0 Hz), 7.50 (d, 2H, J = 7.0 Hz), 8.12 (d, 1H, J = 2.4 Hz), 8.24 (d, 1H, J = 2.4 Hz).

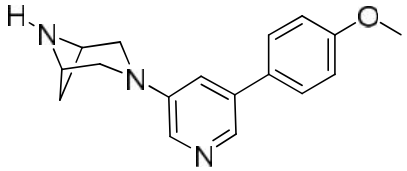
^{13}C-NMR (δ ppm): 20.86 (CH_3), 30.97 (CH_2), 50.87 (CH x2), 55.47 (CH_2 x2), 117.86 (CH), 126.78 (CH x2), 129.32 (CH x2), 131.09 (CH), 135.48 (C), 136.19 (C), 136.20 (CH), 137.44 (C), 144.40 (C).

IR: 3427 (NH).

CE: 5.708 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem. : per $C_{17}H_{19}N_3$
Calc. (Trov): C, 76.95 (76.40); H, 7.22 (7.30); N, 15.84 (15.68).

3-[5-(4-Metossifenil)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (B57)



Solido panna.

Resa : 84 %

Rf : 0.13 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 95-97 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.55-1.80 (m,2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m,1H), 3.63 (bs, 4H), 3.86 (s,3H), 3.93 (d, 2H, J = 6.0 Hz), 6.99 (d, 2H J = 8.6 Hz), 7.05-7.15 (m, 1H), 7.53 (d, 2H, J = 8.6 Hz), 8.05-8.13 (m, 1H), 8.20-8.26 (m, 1H).

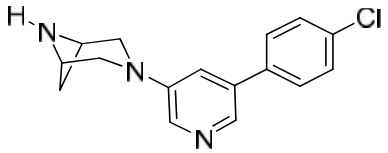
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.22 CH_2), 51.20 (CH x2), 55.36 (O-CH_3), 55.81 (CH_2 x2), 114.34 (CH x2), 114.36 (CH), 118.05 (CH), 128.33(CH x 2), 131.15 (CH, C), 136.51 (C), 144.64 (C), 159.55 (C).

IR: 3434 (NH).

CE: 6.576 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem. : per $C_{17}H_{19}N_3O$
Calc. (Trov): C, 72.57 (72.20); H, 6.81 (6.76); N, 14.94 (14.60); O, 5.69 (5.72).

3-[5-(4-Clorofenil)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (B58)



Solido bianco.

Resa : 67 %

Rf : 0.13 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 139-141 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.57 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.64 (d, 1H, J 0 9.4 Hz), 2.70-2.90 (m,1H), 3.63 (bs,4H), 3.95 (d,2H, J = 6.0 Hz), 7.00-7.15 (m, 1H), 7.44 (d, 2H, J = 8.4 Hz), 7.54 (d, 2H, J = 8.4 Hz), 8.12-8.18 (m,1H), 8.20-8.25 (m, 1H).

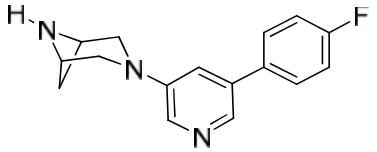
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.18 (CH_2), 51.07 (CH x2), 55.82 (CH_2 x2), 114.62 (CH), 118.03 (CH), 128.50 (CH x2), 129.05 (CH x2), 131.94 (CH), 134.04 (C), 136.43 (C x2), 137.15 (C).

IR: 3433 (NH).

CE: 6.587 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem. : per $C_{16}H_{16}ClN_3$
Calc. (Trov): C, 67.25 (67.32); H, 5.64 (5.56); Cl, 12.41 (12.27); N, 14.70 (14.60).

3-[5-(4-Fluorofenil)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (B59)



Solido panna.

Resa : 83 %

Rf : 0.13 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 130-133 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.67 (bs, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m,1H), 3.63 (bs, 4H), 3.93 (d, 2H, J = 5.6 Hz), 7.05-7.35 (m,3H), 7.50-7.70 (m, 2H), 8.00-8.30- (m, 2H).

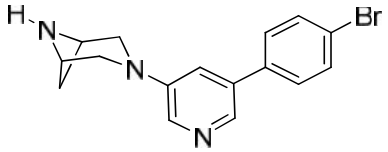
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.21 (CH_2), 51.14 (CH x2), 55.78 (CH_2 x2), 114.67 (CH), 115.57 (CH), 116.00 (CH), 128.77 (CH), 128.93 (CH), 131.65 (CH), 134.76 (C), 134.83 (C), 135.83 (C), 136.48 (CH), 144.61 (C).

IR: 3427 (NH).

CE: 6.579 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem. : per $C_{16}H_{16}FN_3$
Calc. (Trov): C, 71.36 (71.20); H, 5.99 (5.91); F, 7.05 (7.07); N, 15.60 (15.62).

3-[5-(4-Bromofenil)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (B60)



Solido giallino.

Resa : 66 %

Rf : 0.12 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 158-160 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.57 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.64 (d, 1H, J 0 9.4 Hz), 2.70-2.90 (m,1H), 3.63 (bs,4H), 3.95 (d,2H, J = 6.0 Hz), 7.00-7.15 (m, 1H), , 7.40-7.80 (m, 5H), 8.12-8.20 (m, 1H).

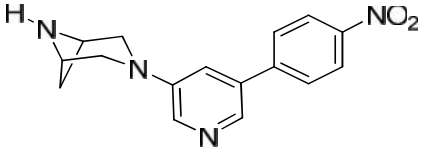
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.36 (CH_2), 51.07 (CH x2), 56.02 (CH_2 x2), 114.92 (CH), 118.63 (CH), 129.50 (CH x2), 129.85 (CH x2), 132.54 (CH), 133.04 (C), 135.43 (C x2), 138.15 (C).

IR: 3435 (NH).

CE: 5.389 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem. : per $C_{16}H_{16}BrN_3$
Calc. (Trov): C, 58.19 (58.30); H, 4.88 (4.90); Br, 24.20 (24.17); N, 12.72 (12.65).

3-[5-(4-Nitrofenil)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (B61)



Solido giallo.

Resa : 90 %

Rf : 0.12 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 145-150 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.57 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.66 (d, 1H, J 0 9.4 Hz), 2.70-2.90 (m,1H), 3.65 (bs,4H), 3.95 (d,2H, J = 6.0 Hz), 7.00-7.15 (m, 1H), 7.65-7.85 (m, 2H), 8.19-8.45 (m, 4H).

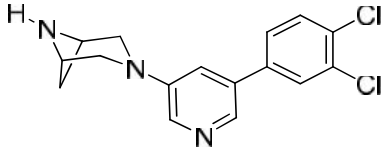
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.81 (CH_2), 50.54 (CH x2), 54.97 (Ch_2 x2), 114.21 (CH), 123.64 (CH x2), 127.68 (CH x2), 132.56 (CH), 133.76 (C), 136.12 (C), 143.10 (C), 144.82 (C), 146.81 (CH).

IR: 3439 (NH); 1654,1340 (NO_2).

CE: 7.284 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem. : per $C_{16}H_{16}N_4O_2$
Calc. (Trov): C, 64.85 (64.20); H, 5.44 (5.40); N, 18.91 (18.76); O, 10.80 (10.83).

3-[5-(3,4-Diclorofenil)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (B62)



Solido beige.

Resa : 83 %

Rf : 0.15 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 142-145 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.65 (bs, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.63 (bs, 4H), 3.92 (d, 2H, J = 6.0 Hz), 7.00-7.15 (m, 1H), 7.39-7.49 (m, 1H), 7.50-7.60 (m, 1H), 7.65-7.75 (m, 1H), 8.10-8.25 (m, 2H).

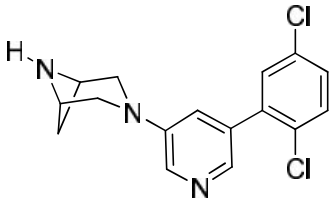
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.26 (CH_2), 51.21 (CH x2), 55.71 (CH_2 x2), 114.39 (CH), 126.48 (CH), 129.03 (CH), 130.81 (CH), 132.45 (CH), 132.98 (CH), 134.47 (C), 136.18 (C x2), 138.80 (C), 144.67 (C).

IR: 3428 (NH).

CE: 7.663 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem. : per $C_{16}H_{15}Cl_2N_3$
Calc. (Trov): C, 60.01 (60.20); H, 4.72 (4.75); Cl, 22.14 (22.47); N, 13.12 (13.20).

3-[5-(2,5-Diclorofenil)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (B63)



Solido beige.

Resa : 65 %

Rf : 0.18 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 86-89 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.35 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.80 (d, 1H, J = 9.6 Hz), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.60-3.75 (m, 4H), 4.25 (d, 2H, J = 6.0 Hz), 7.00-7.15 (m, 1H), 7.30-7.39 (m, 2H), 7.43 (d, 1H, J = 9.2 Hz), 8.10 (s, 1H), 8.19-8.28 (m, 1H).

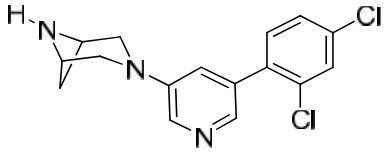
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.222 (CH_2), 51.24 (CH x2), 55.71 (CH_2 x2), 114.39 (CH), 126.451(CH), 129.03 (CH), 130.78 (CH), 132.45 (CH), 132.96 (CH), 134.47 (C), 136.18 (C x2), 138.80 (C), 144.77 (C).

IR: 3428 (NH).

CE: 6.926 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem. : per $C_{16}H_{15}Cl_2N_3$
Calc. (Trov): C, 60.01 (60.20); H, 4.72 (4.69); Cl, 22.14 (22.17); N, 13.12 (13.19).

3-[5-(2,4-Diclorofenil)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (B64)



Solido panna.

Resa : 59 %

Rf : 0.16 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 102-105 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.60-1.70 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.60 (bs, 4H), 3.93 (d, 2H, J = 6.0 Hz), 7.00-7.15 (m, 1H), 7.27-7.39 (m, 2H), 7.52 (s, 1H), 8.06 (d, 1H, J = 2.8 Hz), 8.18 (d, 1H, J = 2.8 Hz).

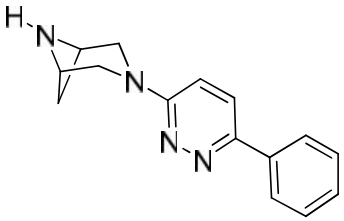
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.58 (CH_2), 51.71 (CH x2), 56.01 (CH_2 x2), 114.89 (CH), 127.41(CH), 128.63 (CH), 131.28 (CH), 132.95 (CH), 133.12 (CH), 134.52 (C), 136.84 (C x2), 139.32 (C), 144.18 (C).

IR: 3428 (NH).

CE: 7.726 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem. : per $C_{16}H_{15}Cl_2N_3$
Calc. (Trov): C, 60.01 (60.20); H, 4.72 (4.76); Cl, 22.14 (22.18); N, 13.12 (13.21).

3-(6-Fenilpiridazin-3-il)-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano.
(C65)



Solido bianco.

Resa : 97 %

Rf : 0.15 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 172-173 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.53 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.65 (d, 1H, J=9.0 Hz), 2.70-2.95 (m,1H), 3.86 (bs, 4H), 3.97 (d, 2H, J = 5.6 Hz), 6.88 (d, 1H, J = 9.4 Hz), 7.30-7.60 (m, 3H), 7.72 (d, 1H, J=9.6 Hz), 8.02 (dd, 2H, J_o=1.8 Hz, J_m=8.4 Hz).

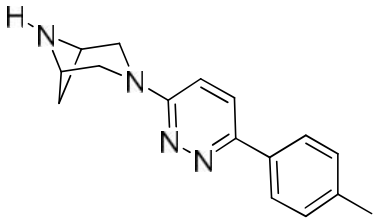
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.16 CH_2), 50.56 (CH x2), 55.60 (CH_2 x2), 110.76 (CH), 124.97 (CH), 125.69 (CH x2), 128.47(CH), 128.72 (CH x2), 136.80 (C), 150.59 (C), 158.07 (C).

IR: 3427 (NH).

CE: 7.547 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{15}H_{16}N_4$
Calc. (Trov): C, 71.40 (71.60); H, 6.39 (6.41); N, 22.21 (22.30).

3-[6-(4-Metilfenil)piridazin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (C66)



Solido beige.

Resa : 80 %

Rf : 0.12 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 187-189 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.59 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.65 (d, 1H, J=9.0 Hz); 2.70-2.95 (m, 1H), 3.86 (bs, 4H), 3.97 (d, 2H, J=5.6 Hz), 6.88 (d, 1H, J=9.4 Hz), 7.30-7.60 (m, 3H), 7.72 (d, 1H, J=9.6 Hz), 8.02 (dd, 2H, J_o= 1.8 Hz, J_m= 8.4 Hz).

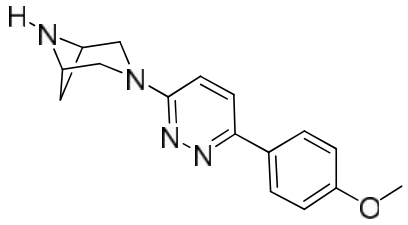
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.16 (CH_2), 50.56 (CH x2), 55.60 (CH_2 x2), 110.76 (CH), 124.97 (CH), 125.69 (CH x2), 128.47 (CH), 128.72 (CH x2), 136.80 (C), 150.59 (C), 158.07 (C).

IR: 3427 (NH).

CE: 7.775 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{18}N_4$
Calc. (Trov): C, 72.15 (72.30); H, 6.81 (6.86); N, 21.04 (21.12).

3-[6-(4-Metossifenil)piridazin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (C67)



Solido bianco.

Resa : 88 %

Rf : 0.12 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 197-198 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.58 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.65 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.70-2.90 (m,1H), 3.87 (bs, 7H), 3.96 (d, 2H, J=5.6 Hz), 6.86 (d, 1H J =9.6 Hz), 7.00 (d, 2H, J=9.0 Hz), 7.65 (d, 1H, J=9.6 Hz), 7.97 (d, 2H, J=9.0 Hz).

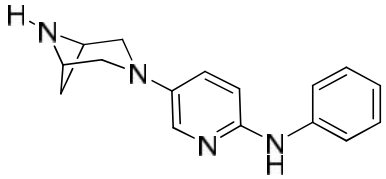
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.22 CH_2), 50.64 (CH x2), 55.30 (O-CH_3), 55.69 (CH_2 x2), 110.86 (CH), 114.14 (CH x2), 124.53 (CH), 126.96(CH x 2), 129.52 (C), 150.42 (C), 157.86 (C), 160.06 (C).

IR: 3430 (NH).

CE: 6.925 min; DAD 290.30 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{18}N_4O$
Calc. (Trov): C, 68.06 (68.20); H, 6.43 (6.45); N, 19.84 (19.93); O, 5.67 (5.70).

3-[6-(Amminofenil)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (E69)



Solido beige.

Resa : 95 %

Rf : 0.10 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :165-167 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.40-1.88 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.65-2.85 (m, 1H), 3.40-3.80 (m, 4H), 3.80-4.10 (m, 2H), 6.23 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.84-7.18 (m, 3H), 7.20-7.48 (m, 4H), 7.76-7.85 (m, 1H).

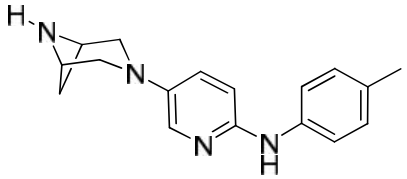
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.01 (CH_2), 50.05 (CH x2), 54.68 (CH_2 x2), 110.52 (CH), 115.53 (CH x2), 117.27 (CH), 118.25 (C), 119.00 (CH), 127.64 (CH x2), 138.17 (C), 141.92 (CH), 146.03 (C).

IR: 3422 (NH x2).

CE: 5.929 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{18}N_4$
Calc. (Trov): C, 72.15 (72.20); H, 6.81 (6.85); N, 21.04 (21.11).

3-[6-(4-Metilanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (E70)



Solido bianco.

Resa : 95 %

Rf : 0.11 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :175-177 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.63 (bs, 2H, NH scambia con D_2O), 2.30 (s, 3H), 2.65-2.85 (m, 1H), 3.51 (q, 4H, J=10.4 Hz), 3.89 (d, 2H, J= 5.8 Hz), 6.13 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.80-7.20 (m, 5H), 7.77 (d, 2H, J=2.8 HZ).

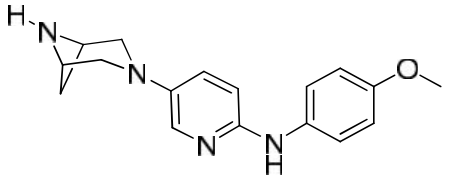
^{13}C-NMR (δ ppm): 20.66 (CH3), 31.08 (CH_2), 51.40 (CH x2), 55.93 (CH_2 x2), 110.07 (CH), 118.03 (CH), 118.44 (CH x2), 120.01 (CH), 129.68 (CH x2), 130.58 (C), 139.51 (C), 139.69 (C), 147.43 (C).

IR: 3422 (NH x2).

CE: 4.552 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{17}H_{20}N_4$
Calc. (Trov): C, 72.83 (72.92); H, 7.19 (7.15); N, 19.98 (20.02).

3-[6-(4-Metossianilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (E71)



Solido giallino.

Resa : 93 %

Rf : 0.11 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :141-143 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.66 (d, 1H, J=8.8 Hz), 1.94 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 2.65-2.85 (m, 1H), 3.50 (q, 4H, J=6.8 Hz), 3.80 (s, 3H), 3.87-4.05 (m, 2H), 6.18 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.80 (d, 1H, J=9.0 Hz), 6.86 (d, 2H, J= 9.0 Hz), 7.00 (dd, 1H, J_o=3.2 Hz, J_m=9.0 Hz), 7.17 (d, 1H, J= 8.8 Hz), 7.65-7.80 (m, 1H).

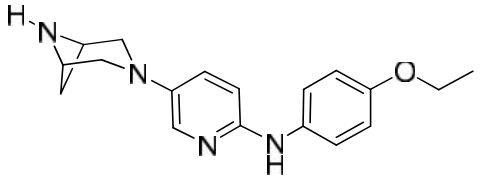
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.52 (CH_2), 50.50 (CH x2), 54.91 (CH_3), 55.33 (CH_2 x2), 110.36 (CH), 113.57 (CH x2), 118.14 (CH x2), 120.03 (CH), 128.08 (C), 136.23 (CH), 138.25 (C), 147.71 (C), 152.52 (C).

IR: 3427 (NH x2).

CE: 8.016 min; DAD 290.30 nm.

Anal. Elem.: per $C_{17}H_{20}N_4O$
Calc. (Trov): C, 68.89 (69.00); H, 6.80 (6.85); N, 18.90 (18.98); O, 5.40 (5.45).

3-[6-(4-Etossianilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano.
(E72)



Solido beige.

Resa : 95 %

Rf : 0.12 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :126-128 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.41 (t, 3H, J=7.0 Hz), 1.65 (d, 1H, J=8.4 Hz), 1.89 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 2.60-2.80 (m, 1H), 3.50 (q, 4H, J=7.4 Hz), 3.80-3.97 (m, 2H), 4.01 (q, 2H, J=7.0 Hz), 6.12 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.70-6.90 (m, 3H), 6.99 (dd, 1H, J_o=2.8 Hz, J_m=8.8 Hz), 7.15 (d, 2H, J= 9.0 Hz), 7.68-7.80 (m, 1H).

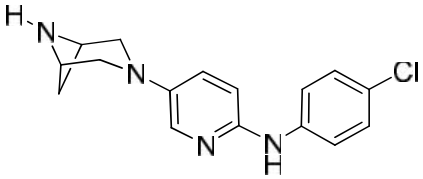
^{13}C-NMR (δ ppm): 14.89 (CH_3), 31.00 (CH_2), 51.30 (CH x2), 55.94 (CH_2 x2), 63.74 (O-CH_2), 109.24 (CH), 115.19 (CH x2), 120.29 (CH), 121.41 (CH x2), 129.57 (CH), 135.22 (C), 139.13 (C), 148.50 (C), 154.24 (C).

IR: 3427 (NH x2).

CE: 6.937 min; DAD 290.30 nm.

Anal. Elem.: per $C_{18}H_{22}N_4O$
Calc. (Trov): C, 69.65 (69.79); H, 7.14 (7.21); N, 18.05 (18.13); O, 5.15 (5.20).

3-[6-(4-Cloroanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (E73)



Solido beige.

Resa : 89 %

Rf : 0.12 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :156-157 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.58 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.65 (d, 1H, J=8.4 Hz), 2.65-2.85 (m, 1H), 3.52 (q, 4H, J=5.4 Hz), 3.80-3.95 (m, 2H), 6.18 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.89 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.03 (dd, 1H, J1=2.8 Hz, J2= 9.2 Hz), 7.10-7.40 (m, 3H), 7.70-7.85(m, 1H).

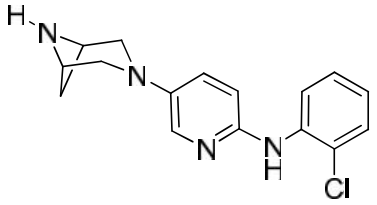
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.79 (CH_2), 50.99 (CH x2), 55.58 (CH_2 x2), 111.32 (CH), 117.83 (CH x2), 119.78 (CH), 123.93 (C), 128.46 (CH x2), 128.95 (CH), 139.42 (C), 141.10 (C), 146.20 (C).

IR: 3425 (NH x2).

CE: 6.801 min; DAD 290.30 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{17}ClN_4$
Calc. (Trov): C, 63.89 (63.97); H, 5.70 (5.76); Cl, 11.79 (11.84); N, 18.63 (18.60).

3-[6-(2-Cloroanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (E74)



Solido giallino.

Resa : 89 %

Rf : 0.25 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :153-155 °C.

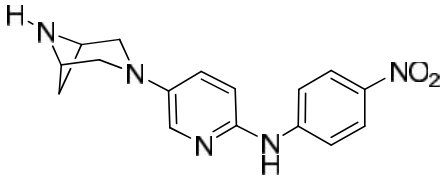
^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.66 (d, 1H, J=6.6 Hz), 1.76 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 2.65-2.85 (m, 1H), 3.55 (q, 4H, J=6.8 Hz), 3.92 (d, 2H, J= 3.0 Hz), 6.60 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.82 (t, 1H, J=5.2 Hz), 6.96 (d, 1H, J=6.0 Hz), 7.05 (dd, 1H, J_o=2.0 Hz, J_m=5.8 Hz), 7.17 (t, 1H, J=6.0 Hz), 7.35 (dd, 1H, J_o=1.2 Hz, J_m=5.8 Hz), 7.70-7.95 (m, 2H).

^{13}C-NMR (δ ppm): 24.85 (CH_2), 43.97 (CH x2), 52.07 (CH_2 x2), 107.93 (CH), 112.90 (CH x2), 115.66 (CH), 116.56 (CH), 122.29 (CH), 124.29 (CH), 125.15 (C), 133.55 (C), 134.27 (C), 140.92 (C).
IR: 3424 (NH x2).

CE: 6.654 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{17}ClN_4$
Calc. (Trov): C, 63.89 (63.96); H, 5.70 (5.75); Cl, 11.79 (11.84); N, 18.63 (18.69).

3-[6-(4-Nitroanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (E75)



Solido rosso.

Resa : 96 %

Rf : 0.10 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :205-206 °C.

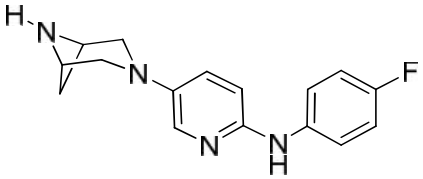
^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.55-1.78 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.50-3.70 (m, 4H), 3.93 (d, 2H, J=5.6 Hz), 6.83 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.98 (d, 1H, J=9.9 Hz), 7.08 (dd, 1H, J1= 3.2 Hz, J2= 9.0 Hz), 7.29 (d, 2H, J=9.6 Hz), 7.80-7.95 (m, 1H), 8.15 (d, 2H, J=9.2 Hz).

^{13}C-NMR (δ ppm): 29.76 (CH_2), 49.68 (CH x2), 54.20 (CH_2 x2), 112.39 (CH), 113.22 (CH x2), 118.47 (CH), 124.07 (CH x2), 127.32 (C), 136.85 (C), 139.31 (C), 143.48 (C), 148.15 (CH).
IR: 3434 (NH x2); 1655,1342 (NO_2).

CE: 8.664 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{17}N_5O_2$
Calc. (Trov): C, 61.72 (61.81); H, 5.50 (5.55); N, 22.49 (22.52); O, 10.28 (10.29).

3-[6-(4-Fluoroanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (E76)



Solido beige.

Resa : 93 %

Rf : 0.11 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :162-163 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.40-1.58 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.64 (d, 1H, J=8.6 Hz), 2.60-2.88 (m, 1H), 3.50 (q, 4H, J=10.8 Hz), 3.88 (d, 2H, J=5.4 Hz), 6.30 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.83 (d, 1H, J=8.8 Hz), 6.87-7.12 (m, 2H), 7.13-7.30 (m, 2H), 7.70-7.90 (m, 2H).

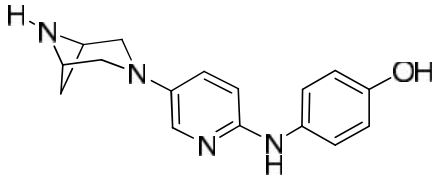
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.07 (CH_2), 51.34 (CH x2), 55.89 (CH_2 x2), 110.26 (CH), 115.43 (CH), 115.87 (CH), 119.68 (CH), 119.83 (CH), 120.11 (CH), 129.62 (CH), 138.20 (C), 138.39 (C), 139.66 (C), 147.24 (C).

IR: 3429 (NH x2).

CE: 6.545 min; DAD 290.30 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{17}FN_4$
Calc. (Trov): C, 67.59 (67.93); H, 6.03 (6.11); F, 6.68 (6.74); N, 19.70 (19.78).

3-[6-(4-Idrossianilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (E77)



Solido scuro.

Resa : 78 %

Rf : 0.03 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :218-220 °C.

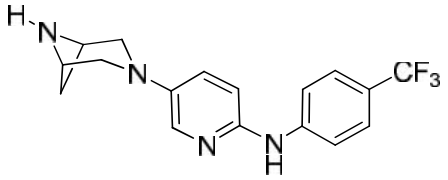
^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.30 (bs, 2H, NH e OH scambiano con D_2O),1.70-1.80 (m, 1H), 2.70-2.85 (m, 1H), 3.32 (bs, 4H), 3.37-3.62 (m, 2H), 6.70-6.85 (m, 3H, NH scambia con D_2O), 7.00-7.18 (m, 3H), 7.70-7.92 (m, 2H).

IR: 3445 (NH x2).

CE: 7.347 min; DAD 290.30 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{18}N_4O$
Calc. (Trov): C, 68.06 (68.20); H, 6.43 (6.46); N, 19.84 (19.80); O, 5.67 (5.69).

3-[6-(4-Trifluorometilanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (E78)



Solido marroncino.

Resa : 81 %

Rf : 0.10 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :156-157 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.49 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.65 (d, 1H, J=9.0Hz), 2.65-2.85 (m, 1H), 3.40-3.80 (m, 4H), 3.91 (d, 2H, J= 5.6 Hz), 6.42 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.96 (d, 1H, J=8.6 Hz), 7.00-7.15 (m, 1H), 7.28 (d, 2H, J=8.4 Hz), 7.48 (d, 2H, J= 8.6 Hz), 7.80-7.95 (m, 1H).

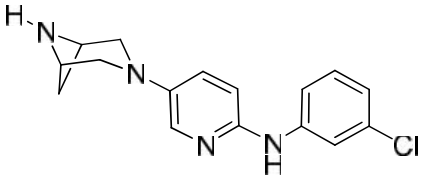
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.61 (CH_2), 50.68 (CH x2), 55.38 (CH_2 x2), 112.36 (CH), 114.97 (CH x2), 117.75 (CH x2), 119.53 (CH), 125.64 (CH), 128.64 (C), 139.62 (C), 145.00 (C), 145.67 (C),150.23 (C).

IR: 3428 (NH x2).

CE: 7.676 min; DAD 290.30 nm.

Anal. Elem.: per $C_{17}H_{17}F_3N_4$
Calc. (Trov): C, 61.07 (61.19); H, 5.13 (5.20); F, 17.07 (17.18); N, 16.76 (16.66).

3-[6-(3-Cloroanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (E79)



Solido giallino.

Resa : 92 %

Rf : 0.12 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :156-158 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.45 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.64 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.65-2.85 (m, 1H), 3.38-3.60 (m, 4H), 3.90 (d, 2H, J= 4.8 Hz), 6.48 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.86 (dd, 1H, Jo=1.2 Hz, Jm=7.6 Hz), 6.89-7.08 (m, 2H), 7.10-7.22 (m, 2H), 7.25-7.32 (m, 1H), 7.82 (d, 1H, J=2.4 Hz).

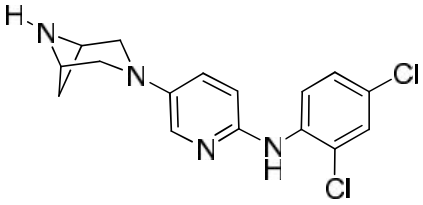
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.11 (CH_2), 51.30 (CH x2), 55.86 (CH_2 x2), 111.78 (CH), 114.99 (CH), 116.45 (CH), 119.86 (CH), 120.17 (CH), 129.75 (CH), 130.06 (CH), 134.70 (C), 140.23 (C), 143.87 (C), 145.65 (C).

IR: 3424 (NH x2).

CE: 6.835 min; DAD 290.30 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{17}ClN_4$
Calc. (Trov): C, 63.89 (64.00); H, 5.70 (5.73); Cl, 11.79 (11.84); N, 18.63 (18.68).

3-[6-(2,4-Dicloroanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (E80)



Solido beige.

Resa : 64 %

Rf : 0.15 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :105-106 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.53 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.65 (d, 1H, J=8.4 Hz), 2.70-2.90(m, 1H), 3.40-3.80 (m, 4H), 3.85-4.05 (m, 2H), 6.55 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.90 (d, 1H, J=8.6 Hz), 7.00-7.25 (m, 2H), 7.34 (d, 1H, J=2.4 Hz), 7.78-8.10 (m, 2H).

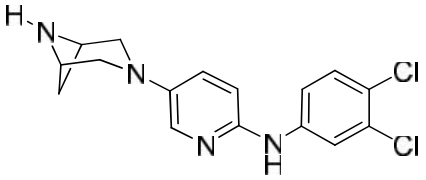
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.99 (CH_2), 51.05 (CH x2), 55.95 (CH_2 x2), 112.91 (CH), 116.96 (CH), 119.90 (CH), 121.22 (C), 123.97 (C), 127.40 (CH), 128.75 (CH), 129.55 (CH), 137.77 (C), 140.44 (C), 144.97 (C).

IR: 3422 (NH x2).

CE: 10.257 min; DAD 290.30 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{16}Cl_2N_4$
Calc. (Trov): C, 57.33 (57.40); H, 4.81 (4.88); Cl, 21.15 (21.18); N, 16.71 (16.69).

3-[6-(3,4-Dicloroanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (E81)



Solido grigio.

Resa : 83 %

Rf : 0.17 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :186-187 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.53 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.65 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.70-2.890(m, 1H), 3.40-3.70 (m, 4H), 3.91 (d, 2H, J= 4.6 Hz), 6.20 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.87 (d, 1H, J=9.0 Hz), 7.00-7.18 (m, 2H), 7.28 (d, 1H, J=8.6 Hz), 7.46 (d, 1H, J=2.8 Hz), 7.82 (d, 1H, J=2.8 Hz).

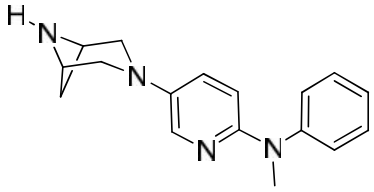
^{13}C-NMR (δ ppm): 29.86 (CH_2), 49.45 (CH x2), 55.94 (CH_2 x2), 112.31 (CH), 116.30 (CH), 116.39 (CH), 119.04 (C), 120.90 (CH), 128.34 (C), 130.17 (CH), 130.78 (CH), 139.18 (C), 143.11 (C), 146.32 (C).

IR: 3422 (NH x2).

CE: 6.641 min; DAD 290.30 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{16}Cl_2N_4$
Calc. (Trov): C, 57.33 (57.41); H, 4.81 (4.86); Cl, 21.15 (21.18); N, 16.71 (16.75).

3-[6-(N-metilanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano.
(E82)



Solido bianco.

Resa : 96 %

Rf : 0.27 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :94-95 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.55-1.78(m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.43 (s, 3H), 3.47-3.68 (m, 4H), 3.91 (d, 2H, J= 6.6 Hz), 6.84 (d, 1H, J=8.8 Hz), 6.87-7.04 (m, 2H), 7.11 (d, 2H, J=7.6 Hz), 7.31 (d, 2H, J=8.6 Hz), 7.80-7.95 (m, 1H).

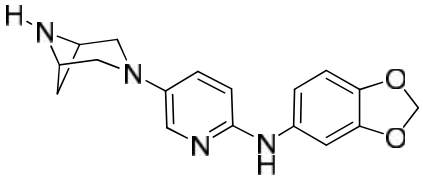
^{13}C-NMR (δ ppm): 29.56 (CH_2), 41.60 (CH_3), 48.97 (CH x2), 56.54 (CH_2 x2), 113.74 (CH), 119.87 (C), 120.42 (CH x2), 121.32 (CH), 129.10 (CH x2), 129.91 (CH), 139.32 (C), 147.97 (CH), 150.08 (C).

IR: 3421 (NH).

CE: 6.793 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{17}H_{20}N_4$
Calc. (Trov): C, 72.83 (72.90); H, 7.19 (7.24); N, 19.98 (19.92).

3-[6-(3,4-Metilendiossianilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (E83)



Solido beige.

Resa : 93%

Rf : 0.21 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :172-173 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.60-1.80 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.85 (m, 1H), 3.50 (q, 4H, J= 10.4 Hz), 3.89 (d, 2H, J= 5.8 Hz), 5.93 (s, 2H), 6.06 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.62 (dd, 1H, J1=2.2 Hz, J2=8.4 Hz), 6.72 (s, 1H), 6.76 (s, 1H), 6.79 (s, 1H), 6.81-6.92 (m, 1H), 7.00 (dd, 1H, J1=3.0 Hz, J2=8.8 Hz), 7.74 (d, 1H, J=2.4 Hz).

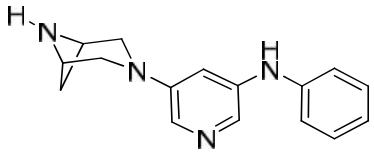
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.04 (CH_2), 51.16 (CH x2), 55.71 (CH_2 x2), 99.47 (CH), 100.82 (CH), 109.06 (CH), 111.73 (C), 113.40 (CH_2, C), 121.14 (CH), 138.60 (C), 139.38 (C), 140.29 (C), 147.57 (CH), 147.91 (C).

IR: 3430 (NH x2).

CE: 6.335 min; DAD 290.30 nm.

Anal. Elem.: per $C_{17}H_{18}N_4O_2$
Calc. (Trov): C, 65.79 (65.87); H, 5.85 (5.90); N, 18.05 (18.09); O, 10.31 (10.30).

3-[5-(Amminofenil)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (F69)



Solido giallino.

Resa : 97 %

Rf : 0.07 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :179-182 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.45-1.80 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.65-2.87 (m, 1H), 3.53 (bs, 4H), 3.89 (d, 2H, J= 5.2 Hz), 5.69 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.74 (s, 1H), 6.97 (t, 1H, J= 7.0 Hz), 7.11 (d, 2H, J=8.0 Hz), 7.31 (d, 2H, J=8.0 Hz), 7.70-7.90 (m, 2H).

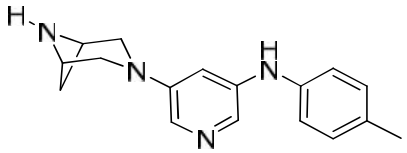
^{13}C-NMR (δ ppm): 29.74 (CH_2), 49.52 (CH x2), 54.11 (CH_2 x2), 102.57 (CH), 115.97 (CH x2), 118.92 (CH), 123.40 (C), 126.88 (CH), 127.78 (CH x2), 138.96 (C), 141.72 (CH), 143.96 (C).

IR: 3431 (NH x2).

CE: 4.671 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{18}N_4$
Calc. (Trov): C, 72.15 (72.20); H, 6.81 (6.85); N, 21.04 (21.10).

3-[5-(4-Metilanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (F70)



Solido rosato.

Resa : 98 %

Rf : 0.14 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 218-221 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.45-1.80 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.32 (s, 3H), 2.68-2.90 (m, 1H), 3.52 (bs, 4H), 3.88 (d, 2H, J= 4.8 Hz), 5.59 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.66 (s, 1H), 6.90-7.24 (m, 4H), 7.72 (s, 1H), 7.79 (s, 1H).

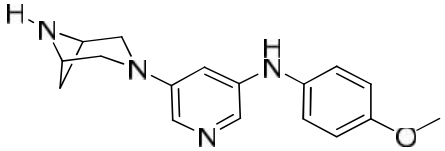
^{13}C-NMR (δ ppm): 20.71 (CH3), 21.34 (CH_2), 51.19 (CH x2), 55.79 (CH_2 x2), 103.61 (CH), 118.05 (C), 119.13 (CH x2), 125.33 (CH), 128.47 (CH), 129.96 (CH x2), 131.87 (C), 139.98 (C), 145.32 (C).

IR: 3431 (NH x2).

CE: 7.605 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{17}H_{20}N_4$
Calc. (Trov): C, 72.83 (73.00); H, 7.19 (7.25); N, 19.98 (20.06).

3-[5-(4-Metossianilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (F71)



Solido bianco.

Resa : 88 %

Rf : 0.09 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :189-191 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.46-1.78 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.68-2.84 (m, 1H), 4.50 (bs, 4H), 3.81 (s, 3H), 3.87 (d, 2H, J= 5.8 Hz), 5.47 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.53 (s, 1H), 6.88 (d, 2H, J= 8.8 Hz), 7.11 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.68 (d, 1H, J= 2.2 Hz), 7.72 (d, 1H, J= 2.2 Hz).

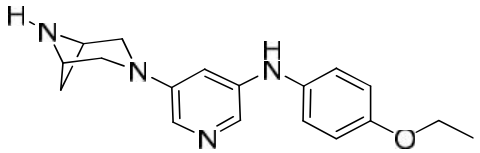
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.34 (CH_2), 54.62 (CH x2), 55.71 (CH_3), 56.42 (CH_2 x2), 107.31 (CH), 115.15 (CH x2), 121.73 (CH x2), 125.41 (CH), 126.75 (CH), 134.12 (C), 138.27 (C), 147.92 (C), 153.32 (C).

IR: 3433 (NH x2).

CE: 7.869 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{17}H_{20}N_4O$
Calc. (Trov): C, 68.89 (69.00); H, 6.80 (6.95); N, 18.90 (18.82); O, 5.40 (5.330).

3-[5-(4-Etossianilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (F72)



Solido panna.

Resa : 97 %

Rf : 0.07 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :199-203 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.30-1.52 (m, 4H, NH scambia con D_2O), 1.58 (d, 1H, J=8.0 Hz), 2.65-2.95 (m,1H), 3.49 (bs, 4H), 3.87 (d, 2H, J=6.0 Hz), 4.02 (q, 2H, J=6.6 Hz), 5.46 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.52 (s, 1H), 6.87 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.09 (d, 2H, J = 8.8 Hz), 7.69 (d, 2H, J=6.2 Hz).

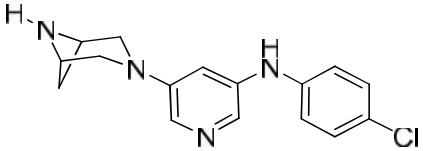
^{13}C-NMR (δ ppm): 15.03 (CH3), 36.05 CH_2), 51.16 (CH x2), 55.79 (CH_2 x2), 63.79 (O-CH_2), 102.32 (CH), 115.33 (CH x2), 118.07 (CH), 122.57 (CH x 2), 124.61 (CH), 127.50 (C), 138.29 (C), 141.19 (C), 154.96 (C).

IR: 3433 (NH x2).

CE: 8.298 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{18}H_{22}N_4O$
Calc. (Trov): C, 69.65 (69.75); H, 7.14 (7.17); N, 18.05 (18.15); O, 5.15 (5.20).

3-[5-(4-Cloroanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (F73)



Solido giallino.

Resa : 93 %

Rf : 0.08 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :194-197 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$): 1.63 (bs, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.88 (m, 1H), 3.53 (bs, 4H), 3.89 (d, 2H, J= 5.8 Hz), 5.69 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.68 (s, 1H), 7.03 (d, 2H, J= 8.6 Hz), 7.24 (d, 2H, J=8.6 Hz), 7.80 (d, 2H, J= 4.6 Hz).

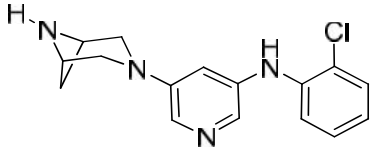
^{13}C-NMR (δ ppm): 29.81 (CH_2), 49.98 (CH x2), 54.53 (CH_2 x2), 112.22 (CH), 117.43 (CH x2), 123.27 (C), 124.38 (C), 127.96 (CH x2), 135.71 (CH), 138.71 (C), 141.04 (CH), 144.31 (C).

IR: 3438 (NH x2).

CE: 4.729 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{17}ClN_4$
Calc. (Trov): C, 63.89 (64.02); H, 5.70 (5.76); Cl, 11.79 (11.85); N, 18.63 (18.67).

3-[5-(2-Cloroanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (F74)



Solido giallino

Resa : 86 %

Rf : 0.15 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :205-207 °C.

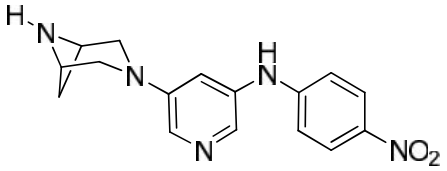
^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.62 (d, 1H, J=8.8 Hz), 1.68 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 2.65-2.90 (m, 1H), 3.55 (bs, 4H), 3.91 (d, 2H, J=5.6 Hz), 6.03 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.70-6.90 (m, 2H), 7.15 (t, 1H, J=8.0 Hz), 7.20-7.45 (m, 2H), 7.80-7.90 (m, 1H), 7.91-8.05 (m, 1H).

^{13}C-NMR (δ ppm): 27.51 (CH_2), 4.69 (CH x2), 53.73 (CH_2 x2), 104.29 (CH), 119.84 (CH), 121.98 (CH), 125.78 (CH x2), 127.35 (CH), 128.20 (CH), 129.98 (C), 131.24 (C), 138.28 (C), 143.36 (C).
IR: 3438 (NH x2).

CE: 7.191 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{17}ClN_4$
Calc. (Trov): C, 63.89 (64.01); H, 5.70 (5.75); Cl, 11.79 (11.91); N, 18.63 (18.69).

3-[5-(4-Nitroanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (F75)



Solido giallo.

Resa : 82 %

Rf : 0.08 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :255-260 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.57 (bs, 2H, NH scambia con D_2O), 2.75-2.88 (m, 1H), 3.57 (bs, 4H), 3.85-4.05 (m, 2H), 6.20 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.82 (s, 1H), 6.99 (d, 2H, J= 9.0 Hz), 7.99 (d, 2H, J=9.0 Hz), 8.15 (d, 2H, J= 9.0 Hz).

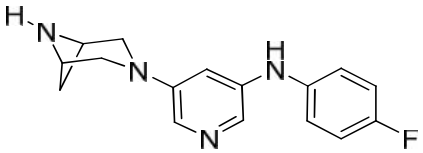
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.83 (CH_2), 59.59 (CH x2), 54.82 (CH_2 x2), 107.98 (CH), 113.64 (CH x2), 126.18 (CH x2), 128.09 (CH), 130.29 (C), 136.86 (CH), 138.12 (C), 145.48 (C), 150.79 (C).

IR: 3441 (NH x2); 1652, 1339 (NO_2).

CE: 4.586 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{17}N_5O_2$
Calc. (Trov): C, 61.72 (61.82); H, 5.50 (5.56); N, 22.49 (22.60); O, 10.28 (10.33).

3-[5-(4-Fluoroanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (F76)



Solido beige.

Resa : 94 %

Rf : 0.09 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :118-121 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.50-1.70 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.51 (bs, 4H), 3.89 (d, 2H, J=5.8 Hz), 5.58 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.59 (s, 1H), 6.80-7.20 (m, 4H), 7.70-7.95 (m, 2H).

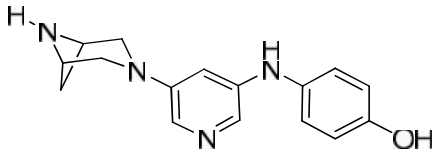
^{13}C-NMR (δ ppm): 29.27 (CH_2), 49.02 (CH x2), 53.58 (CH_2 x2), 101.25 (CH), 113.65 (CH), 114.10 (CH), 117.51 (CH), 117.66 (CH), 122.78 (CH), 125.68 (CH), 137.58 (C), 139.00 (C), 143.62 (C), 152.74 (C).

IR: 3435 (NH x2).

CE: 7.670 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{17}FN_4$
Calc. (Trov): C, 67.59 (67.63); H, 6.03 (6.09); F, 6.68 (6.74); N, 19.70 (19.77).

3-[5-(4-Idrossianilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (F77)



Solido rosso.

Resa : 67 %

Rf : 0.02 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : -.

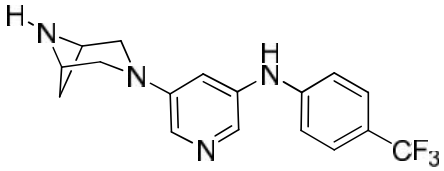
^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.60-2.20 (m, 3H, NH e OH scambiano con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.45-3.63 (m, 4H), 3.92 (d, 2H, J=5.8 Hz), 5.56 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.49 (s, 1H), 6.81 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.03 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.60-7.78 (m, 2H).

IR: 3441 (NH x2).

CE: 4.964 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{18}N_4O$
Calc. (Trov): C, 68.06 (68.16); H, 6.43 (6.50); N, 19.84 (19.91); O, 5.67 (5.69).

3-[5-(4-Trifluorometilanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (F78)



Solido giallino.

Resa : 49 %

Rf : 0.04 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :176-180 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.63 (d, 1H, J=8.4Hz), 1.66-1.98 (m, 1H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.55 (bs, 4H), 3.93 (d, 2H, J= 5.8 Hz), 5.98 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.79 (s, 1H), 7.09 (d, 2H, J= 8.0 Hz), 7.50 (d, 2H, J=7.4 Hz), 7.88 (d, 2H, J= 6.2 Hz).

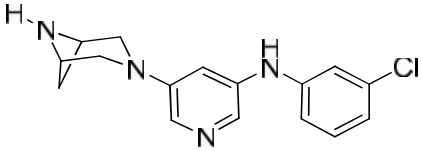
^{13}C-NMR (δ ppm): 29.98 (CH_2), 48.98 (CH x2), 53.93 (CH_2 x2), 111.53 (CH x4), 113.46 (CH x2), 124.78 (CH), 128.27 (C), 143.66 (C), 146.23 (C), 147.55 (C).

IR: 3432 (NH x2).

CE: 5.137 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{17}H_{17}F_3N_4$
Calc. (Trov): C, 61.07 (61.20); H, 5.13 (5.19); F, 17.05 (17.12); N, 16.76 (16.60).

3-[5-(3-Cloroanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (F79)



Solido beige.

Resa : 92 %

Rf : 0.10 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :195-198 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.50-1.70 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.88 (m, 1H), 3.53 (bs, 4H), 3.90 (d, 2H, J= 5.8 Hz), 5.75 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.75 (s, 1H), 6.92 (t, 2H, J= 6.2 Hz), 7.07 (s, 1H), 7.17 (d, 2H, J= 8.2 Hz), 7.70-7.95 (m, 2H).

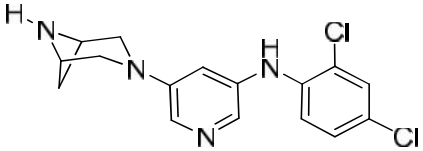
^{13}C-NMR (δ ppm): 29.78 (CH_2), 49.53 (CH x2), 54.09 (CH_2 x2), 104.03 (CH), 113.29 (CH), 114.75 (CH), 118.03 (CH), 124.47 (C), 127.62 (C), 128.93 (CH), 132.96 (CH), 137.94 (C), 143.76 (CH), 144.00 (C).

IR: 3438 (NH x2).

CE: 8.370 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{17}ClN_4$
Calc. (Trov): C, 63.89 (63.20); H, 5.70 (5.05); Cl, 11.79 (11.54); N, 18.63 (18.60).

3-[5-(2,4-Dicloroanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (F80)



Solido beige.

Resa : 84 %

Rf : 0.09 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :176-179 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.64 (bs, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.55 (bs, 4H), 3.92 (d, 2H, J= 5.6 Hz), 5.98 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.73 (s, 1H), 7.00-7.24 (m, 2H), 7.38 (d, 1H, J=2.2 Hz), 7.90 (s, 2H).

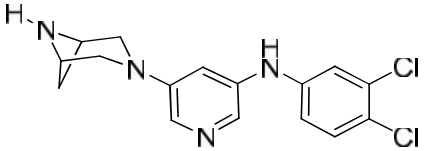
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.64 (CH_2), 50.51 (CH x2), 55.16 (CH_2 x2), 106.92 (CH), 116.78 (CH), 122.30 (CH), 124.27 (C), 127.00 (C), 127.02 (CH), 128.86 (CH), 129.83 (C), 139.90 (C), 138.43 (C), 144.88 (C).

IR: 3428 (NH x2).

CE: 4.408 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem. : per $C_{16}H_{16}Cl_2N_4$
Calc. (Trov): C, 57.33 (57.41); H, 4.81 (4.83); Cl, 21.15 (21.20); N, 16.71 (16.80).

3-[5-(3,4-Dicloroanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (F81)



Solido beige.

Resa : 82 %

Rf : 0.07 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :217-220 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.59 (bs, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.88 (m, 1H), 3.54 (bs, 4H), 3.92 (d, 2H, J= 6.2 Hz), 5.68 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.69 (s, 1H), 6.80-6.95 (m, 1H), 7.10-7.20 (m, 1H), 7.21-7.34 (m, 1H), 7.70-7.95 (m, 2H).

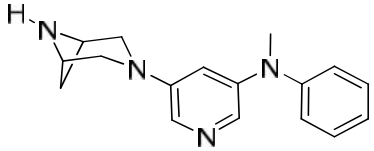
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.29 (CH_2), 50.11 (CH x2), 54.77 (CH_2 x2), 104.86 (CH), 115.30 (C), 116.91 (CH), 120.89 (CH), 125.47 (C), 128.56 (C), 129.72 (CH), 131.50 (CH), 138.20 (C), 141.72 (CH), 142.78 (C).

IR: 3428 (NH x2).

CE: 4.938 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem. : per $C_{16}H_{16}Cl_2N_4$
Calc. (Trov): C, 57.33 (57.40); H, 4.81 (4.87); Cl, 21.15 (21.17); N, 16.71 (16.73).

3-[5-(N-metilanilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (F82)



Solido panna.

Resa : 93 %

Rf : 0.20 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :110-112 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.62 (bs, 2H, NH scambia con D_2O), 2.68-2.88 (m, 1H), 3.35 (s, 3H), 3.50 (bs, 4H), 3.87 (d, 2H, J= 6.4 Hz), 6.58 (s, 1H), 6.96-7.06 (m, 1H), 7.07 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.33 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.9 (s, 2H).

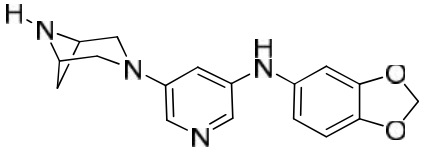
^{13}C-NMR (δ ppm): 29.96 (CH_2), 42.60 (CH_3), 49.07 (CH x2), 55.54 (CH_2 x2), 114.74 (CH), 117.57 (C), 121.82 (CH x2), 121.96 (CH), 130.10 (CH x2), 131.11 (CH), 137.32 (C), 148.97 (CH), 150.15 (C).

IR: 3421 (NH).

CE: 4.433 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem. : per $C_{17}H_{20}N_4$
Calc. (Trov): C, 72.83 (72.94); H, 7.19 (7.22); N, 19.98 (20.00).

3-[5-(3,4-Metilendiossianilin)piridin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (F83)



Solido marroncino.

Resa : 90%

Rf : 0.09 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :174-175 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.60 (d, 1H, J=8.8 Hz), 1.77 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.51 (bs, 4H), 3.90 (d, 2H, J= 5.8 Hz), 5.54 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 5.96 (s, 2H), 6.50-6.63 (m, 2H), 6.77-6.81 (m, 2H), 7.65-7.78 (m, 2H).

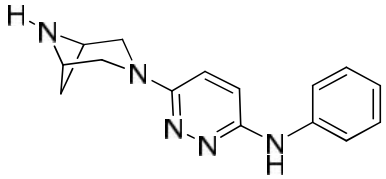
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.66 (CH_2), 50.35 (CH x2), 55.04 (CH_2 x2), 110.82 (CH_2), 102.16 (C), 108.63 (CH), 110.99 (CH), 112.92 (C), 124.00 (C), 126.65 (C), 137.37 (CH), 141.18 (CH), 141.50 (CH), 145.33 (C), 147.78 (CH).

IR: 3434 (NH x2).

CE: 6.165 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem. : per $C_{17}H_{18}N_4O_2$
Calc. (Trov): C, 65.79 (65.82); H, 5.85 (5.90); N, 18.05 (18.14); O, 10.31 (10.33).

3-[6-(Amminofenil)piridazin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (G69)



Solido giallino.

Resa : 94 %

Rf : 0.12 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :154-157 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.40-1.80 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.60-3.90 (m, 4H), 3.92 (d, 2H, J=5.8 Hz), 6.47 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.83 (d, 1H, J=9.2 Hz), 6.90-7.05 (m, 1H), 7.10 (d, 1H, J=9.4 Hz), 7.25-7.45 (m, 4H).

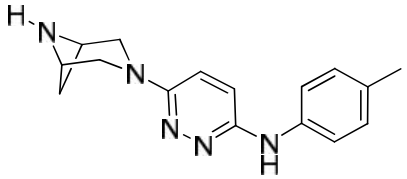
^{13}C-NMR (δ ppm): 32.19 (CH_2), 49.95 (CH x2), 54.97 (CH_2 x2), 114.24 (C), 116.86 (CH x2), 119.42 (C), 119.70 (CH), 128.51 (CH x2), 142.16 (CH), 151.22 (CH), 154.94 (CH).

IR: 3388 (NH x2).

CE: 8.854 min; DAD 290.30 nm.

Anal. Elem.: per $C_{15}H_{17}N_5$
Calc. (Trov): C, 67.39 (67.45); H, 6.41 (6.49); N, 26.20 (26.16).

3-[6-(4-Metilanilin)piridazin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (G70)



Solido giallino.

Resa : 98 %

Rf : 0.13 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 114-116 °C.

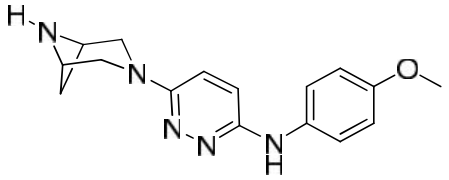
^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.40-180 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.32 (s, 3H), 2.68-2.90 (m, 1H), 3.76 (bs, 4H), 3.92 (d, 2H, J= 7.6 Hz), 6.41 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.81 (d, 1H, J=9.8 Hz), 7.00-7.25 (m, 5H).

^{13}C-NMR (δ ppm): 20.68 (CH3), 31.09 (CH_2), 50.58 (CH x2), 55.79 (CH_2 x2), 113.62 (CH), 118.32 (CH), 119.08 (CH x2), 129.71 (CH x2), 131.41 (C), 138.65 (C), 151.81 (C), 155.44 (C).
IR: 3388 (NH x2).

CE: 4.496 min; DAD 290.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{19}N_5$
Calc. (Trov): C, 68.30 (68.41); H, 6.81 (6.83); N, 24.89 (24.85).

3-[6-(4-Metossianilin)piridazin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (G71)



Solido giallino.

Resa : 87 %

Rf : 0.11 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :145-146 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.45-1.78 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.60-2.80 (m, 1H), 3.70-3.88 (m, 4H), 3.80 (s, 3H), 3.92 (d, 2H, J=9.4 Hz), 6.28 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.78 (d, 1H, J=9.6 Hz), 6.87 (d, 2H, J= 9.0 Hz), 6.96 (d, 1H, J=9.6 Hz), 7.24 (d, 2H, J= 9.0 Hz).

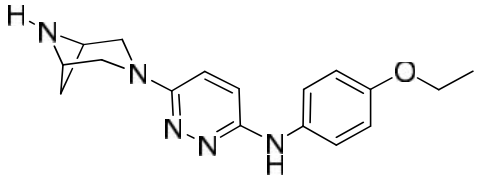
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.16 (CH_2), 49.45 (CH x2), 54.59 (CH_3), 54.90 (CH_2 x2), 113.14 (CH x2), 117.45 (C), 118.67 (CH), 119.01 (CH x2), 134.36 (CH), 151.21 (C), 152.98 (C), 153.90 (C).

IR: 3383 (NH x2).

CE: 8.804 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{19}N_5O$
Calc. (Trov): C, 64.63 (64.70); H, 6.44 (6.50); N, 23.55 (23.60); O, 5.38 (5.30).

3-[6-(4-Etossianilin)piridazin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (G72)



Solido giallino.

Resa : 89 %

Rf : 0.11 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :145-147 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.41 (t, 3H, J=7.0 Hz), 1.50-1.80 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.60-2.80 (m, 1H), 3.60-3.88 (m, 4H), 3.91 (d, 2H, J=8.4 Hz), 4.02 (q, 2H, J=6.8 Hz), 6.30 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.78 (d, 1H, J=9.8 Hz), 6.86 (d, 2H, J= 8.6 Hz), 6.96 (d, 1H, J=9.8 Hz), 7.23 (d, 2H, J= 8.8 Hz).

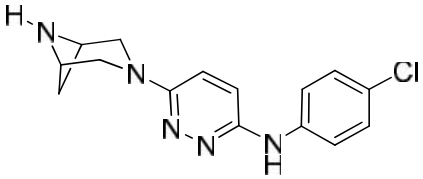
^{13}C-NMR (δ ppm): 14.85 (CH3), 31.04 (CH_2), 50.53 (CH x2), 55.78 (CH_2 x2), 63.71 (O-CH_2), 113.81 (CH), 115.11 (CH x2), 118.02 (CH), 121.85 (CH x2), 134.16 (C), 152.46 (C), 154.62 (C), 155.27 (C).

IR: 3383 (NH x2).

CE: 9.399 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{17}H_{21}N_5O$
Calc. (Trov): C, 65.57 (65.63); H, 6.80 (6.85); N, 22.49 (22.56); O, 5.14 (5.19).

3-[6-(4-Cloroanilin)piridazin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (G73)



Solido beige.

Resa : 85 %

Rf : 0.10 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :214-215 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.64 (bs, 2H, NH scambia con D_2O), 2.60-2.80 (m, 1H), 3.70-3.85 (m, 4H), 3.92 (d, 2H, J=11.0 Hz), 6.44 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.85 (d, 1H, J=9.8 Hz), 7.02 (d, 1H, J=9.8 Hz), 7.18-7.45 (m, 4H).

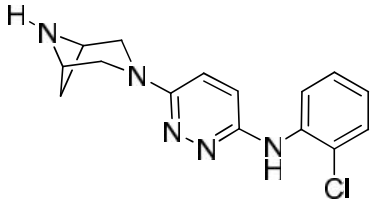
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.45 (CH_2), 49.81 (CH x2), 55.02 (CH_2 x2), 113.42 (CH), 118.14 (CH x2), 119.53 (CH), 123.58 (C), 127.76 (CH x2), 139.97 (C), 150.69 (C), 154.38 (C).

IR: 3392 (NH x2).

CE: 8.654 min; DAD 290.30 nm.

Anal. Elem.: per $C_{15}H_{16}ClN_5$
Calc. (Trov): C, 59.70 (59.83); H, 5.34 (5.36); Cl, 11.75 (11.71); N, 23.21 (23.18).

3-[6-(2-Cloroanilin)piridazin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (G74)



Solido bianco.

Resa : 82 %

Rf : 0.20 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :149-150 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.63 (d, 1H, J=8.8 Hz), 1.86 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 2.65-2.90 (m, 1H), 3.65-3.87 (m, 4H), 3.93 (d, 2H, J=5.6 Hz), 6.76 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.80-6.95 (m, 2H), 7.05 (d, 1H, J=9.6 Hz), 7.09-7.29 (m, 1H), 7.37 (dd, 1H, J_o=1.8 Hz, J_m=8.0 Hz), 8.18 (dd, 1H, J_o=1.4 Hz, J_m=8.4 Hz).

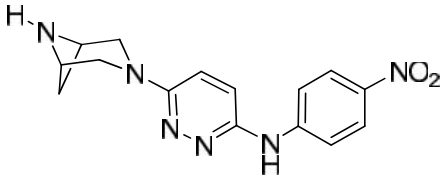
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.33 (CH_2), 49.35 (CH x2), 55.48 (CH_2 x2), 114.21 (CH), 119.91 (CH), 120.65 (CH), 121.77 (C), 127.27 (C), 129.22 (CH), 136.34 (C), 138.29 (CH), 150.93 (C), 155.42 (C).

IR: 3391 (NH x2).

CE: 6.577 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{15}H_{16}ClN_5$
Calc. (Trov): C, 59.70 (59.82); H, 5.34 (5.36); Cl, 11.75 (11.73); N, 23.21 (23.21).

3-[6-(4-Nitroanilin)piridazin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (G75)



Solido arancio.

Resa : 92 %

Rf : 0.10 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :127-128 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.40-1.80 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.60-3.90 (m, 4H), 3.92 (d, 2H, J=5.8 Hz), 6.47 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.83 (d, 1H, J=9.2 Hz), 6.90-7.05 (m, 1H), 7.10 (d, 1H, J=9.4 Hz), 7.25-7.45 (m, 4H).

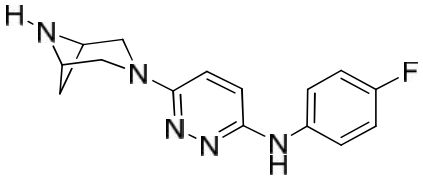
^{13}C-NMR (δ ppm): 32.19 (CH_2), 49.95 (CH x2), 54.97 (CH_2 x2), 114.24 (C), 116.86 (CH x2), 119.42 (C), 119.70 (CH), 128.51 (CH x2), 142.16 (CH), 151.22 (CH), 154.94 (C).

IR: 3436 (NH x2); 1656,1341 (NO_2).

CE: 9.555 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{15}H_{16}N_6O_2$
Calc. (Trov): C, 57.68 (57.74); H, 5.16 (5.20); N, 26.91 (26.96); O, 10.25 (10.27).

3-[6-(4-Fluoroanilin)piridazin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (G76)



Solido giallino.

Resa : 85 %

Rf : 0.11 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :204-205 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.50-1.90 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.60-3.87 (m, 4H), 3.92 (d, 2H, J=5.2 Hz), 6.44 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.82 (d, 1H, J=9.4 Hz), 7.00-7.22 (m, 3H), 7.26-7.40 (m, 2H).

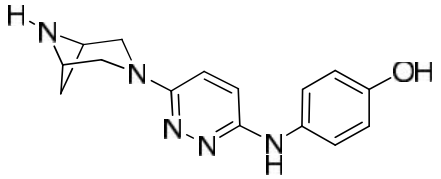
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.71 (CH_2), 49.97 (CH x2), 54.89 (CH_2 x2), 112.83 (CH), 114.27 (CH), 114.54 (CH), 114.98 (CH), 118.15 (CH), 118.28 (CH), 119.51 (C), 138.51 (C), 151.05 (C), 154.87 (C).

IR: 3387 (NH x2).

CE: 8.563 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{15}H_{16}FN_5$
Calc. (Trov): C, 63.14 (63.20); H, 5.65 (5.60); F, 6.66 (6.62); N, 24.55 (24.60).

3-[6-(4-Idrossianilin)piridazin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (G77)



Solido scuro.

Resa : 68 %

Rf : 0.05 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :157-158 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.40-2.10 (m, 3H, NH e OH scambiano con D_2O), 2.60-2.90 (m, 1H), 3.65-3.80 (m, 4H), 3.82-4.10 (m, 2H), 6.63 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.70-7.15 (m, 2H), 7.23-7.60 (m, 4H).

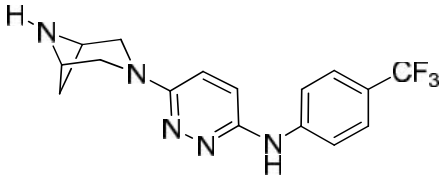
^{13}C-NMR (δ ppm):

IR: 3395 (NH x2).

CE: 11.809 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{15}H_{17}N_5O$
Calc. (Trov): C, 63.59 (63.64); H, 6.05 (6.09); N, 24.72 (24.79); O, 5.65 (5.50).

3-[6-(4-Trifluorometilanilin)piridazin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (G78)



Solido giallo.

Resa : 75 %

Rf : 0.10 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :206-207 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.63 (bs, 2H, NH scambia con D_2O), 2.65-2.90 (m, 1H), 3.70-3.88 (m, 4H), 3.93 (d, 2H, J= 5.6 Hz), 6.80 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.88 (d, 2H, J=9.8 Hz), 7.09 (d, 2H, J=9.6 Hz), 7.40-7.56 (m, 2H).

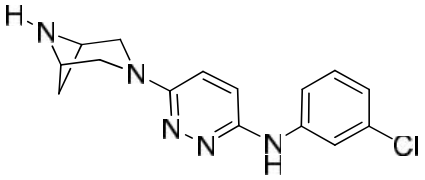
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.61 (CH_2), 50.02 (CH x2), 55.12 (CH_2 x2), 113.50 (CH), 116.17 (CH x3), 119.98 (CH x2), 125.37 (C x2), 144.54 (C), 150.52 (C), 154.85 (C).

IR: 3389 (NH x2).

CE: 7.977 min; DAD 290.30 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{16}F_3N_5$
Calc. (Trov): C, 57.31 (57.40); H, 4.81 (4.85); F, 17.00 (17.11); N, 20.89 (20.86).

3-[6-(3-Cloroanilin)piridazin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (G79)



Solido giallino.

Resa : 86 %

Rf : 0.14 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :188-190 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.64 (d, 1H, J=8.6 Hz), 1.75 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.78 (bs, 4H), 3.94 (d, 2H, J=5.6 Hz), 6.83 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.90-7.03 (m, 2H), 7.11 (d, 1H, J=9.2 Hz), 7.14-7.30 (m, 2H), 7.35-7.45 (m, 1H).

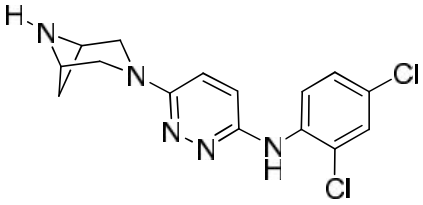
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.12 (CH_2), 49.99 (CH x2), 55.66 (CH_2 x2), 112.79 (CH), 114.21 (C), 115.21 (CH), 116.03 (CH), 118.80 (C), 119.95 (CH), 129.54 (C), 133.20 (CH), 143.25 (CH), 150.97 (C).

IR: 3392 (NH x2).

CE: 8.754 min; DAD 290.30 nm.

Anal. Elem.: per $C_{15}H_{16}ClN_5$
Calc. (Trov): C, 59.70 (59.840); H, 5.34 (5.38); Cl, 11.75 (11.81); N, 23.21 (23.19).

3-[6-(2,4-Dicloroanilin)piridazin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (G80)



Solido giallino.

Resa : 87 %

Rf : 0.15 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :93-94 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.55-1.80 (bs, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90(m, 1H), 3.79 (bs, 4H), 3.94 (d, 2H, J= 5.4 Hz), 6.67 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.89 (d, 1H, J=9.2 Hz), 7.00 (d, 1H, J=9.6 Hz), 7.19 (dd, 1H, J_o=2.0 Hz, J_m=8.8 Hz), 7.30-7.40 (m, 1H), 8.36 (d, 1H, J=9.0 Hz).

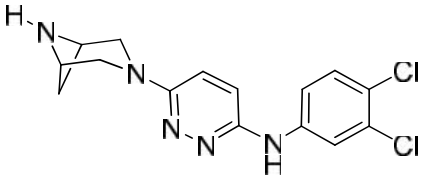
^{13}C-NMR (δ ppm): 29.67 (CH_2), 50.64 (CH x2), 55.73 (CH_2 x2), 113.94 (CH), 118.96 (C), 120.07 (C), 121.73 (C), 125.31 (CH), 127.68 (CH), 128.67 (CH), 136.37 (CH), 155.36 (C), 155.84 (C).

IR: 3385 (NH x2).

CE: 7.751 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{15}H_{15}Cl_2N_5$
Calc. (Trov): C, 63.58 (63.68); H, 4.50 (4.54); Cl, 21.09 (21.14); N, 20.83 (20.80).

3-[6-(3,4-Dicloroanilin)piridazin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (G81)



Solido giallino.

Resa : 82 %

Rf : 0.10 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :143-145 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.50-1.80 (bs, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90(m, 1H), 3.78 (bs, 4H), 3.93 (d, 2H, J= 5.4 Hz), 6.80-6.92 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 7.04 (d, 1H, J=9.2 Hz), 7.20-7.35 (m, 2H), 7.46-7.68 (m, 1H).

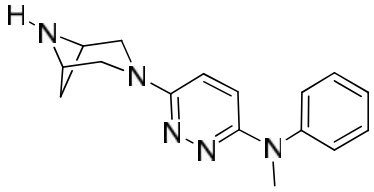
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.22 (CH_2), 49.50 (CH x2), 54.79 (CH_2 x2), 113.30 (C), 116.22 (CH), 119.56 (CH), 120.76 (C), 127.28 (C), 128.99 (CH), 130.85 (CH), 140.90 (CH), 150.19 (C), 154.23 (C).

IR: 3385 (NH x2).

CE: 7.980 min; DAD 290.30 nm.

Anal. Elem.: per $C_{15}H_{15}Cl_2N_5$
Calc. (Trov): C, 63.58 (63.66); H, 4.50 (4.56); Cl, 21.09 (21.13); N, 20.83 (20.79).

3-[6-(N-metilanilin)piridazin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (G82)



Solido beige.

Resa : 93 %

Rf : 0.25 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :83-84 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.63 (d, 1H, J=9.0 Hz), 1.72 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.54 (s, 3H), 3.76 (bs, 4H), 3.86-4.05 (m, 2H), 6.68 (d, 1H, J=9,8 Hz), 6.91 (d, 1H, J=10.0 Hz), 7.05-7.22 (m, 3H), 7.28-7.45 (m, 2H).

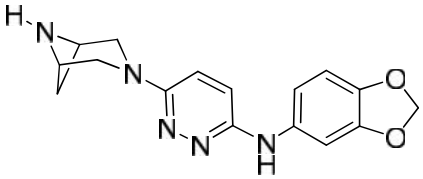
^{13}C-NMR (δ ppm): 29.45 (CH_2), 36.64 (CH_3), 45.77 (CH x2), 55.38 (CH_2 x2), 116.74 (CH), 120.87 (C), 121.42 (CH x2), 130.15 (CH x2), 132.10 (CH), 144.32 (C), 148.97 (CH), 155.08 (C).

IR: 3422 (NH).

CE: 7.891 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{19}N_5$
Calc. (Trov): C, 68.30 (68.41); H, 6.81 (6.85); N, 24.89 (24.85).

3-[6-(3,4-Metilendiossianilin)piridazin-3-il]-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano. (G83)



Solido marroncino.

Resa : 82%

Rf : 0.15 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :199-200 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.65 (d, 1H, J=7.0 Hz), 1.71 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.75 (bs, 4H), 3.90-4.00 (m, 2H), 5.95 (s, 2H), 6.42 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 6.68-6.78 (m, 2H), 6.80 (d, 1H, J=9.8 Hz), 6.91 (s, 1H), 6.99 (d, 1H, J=9.8 Hz).

IR: 3396 (NH x2).

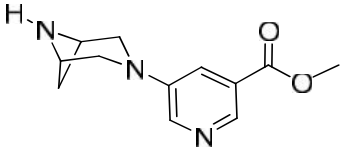
^{13}C-NMR (δ ppm):

CE: 6.565 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{16}H_{17}N_5O_2$
Calc. (Trov): C, 61.72 (61.82); H, 5.50 (5.55); N, 22.49 (22.54); O, 10.28 (10.26).

3-(5-Carbossimetilpiridin-3-il)-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano.

(I85)



Solido giallino.

Resa : 95%

Rf : 0.21 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 112-116 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.58-1.75 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.61 (bs, 4H), 3.95 (bs, 5H), 7.56 (s, 1H), 8.29 (s, 1H), 8.62 (s, 1H).

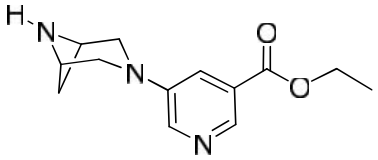
^{13}C-NMR (δ ppm): 14.20 (CH_3), 50.78 (CH_2), 56.68 (CH x2), 62.31 (CH_2 x 2), 117.15 (CH), 126.88 (C), 135.87 (CH), 139.02 (CH), 143.12 (C), 169.09 (C=O).

IR: 3425 (NH); 1751 (C=O).

CE: 7.347 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{12}H_{15}N_3O_2$
Calc. (Trov): C, 62.79 (62.89); H, 6.48 (6.50); N, 18.01 (18.16); O, 13.72 (13.68).

3-(5-Carbossietilpiridin-3-il)-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano.
(I86)



Solido bianco.

Resa : 85 %

Rf : 0.23 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 45-46 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.42 (t, 3H, J=7.0 Hz), 1.64 (d, 1H, J=9.0 Hz), 1.78 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.40-3.80 (m, 4H), 3.95 (d, 2H, J=4.8 Hz), 4.41 (q, 2H, J=7.2 Hz), 7.57 (s, 1H), 8.28 (s, 1H), 8.62 (s, 1H).

^{13}C-NMR (δ ppm): 14.26 (CH_3), 31.00 (CH_2), 50.72 (CH_2), 56.01 (CH x2), 61.30 (CH_2 x 2), 117.08 (CH), 126.12 (C), 136.16 (CH),138.89 (CH), 144.22 (C), 166.09 (C=O).

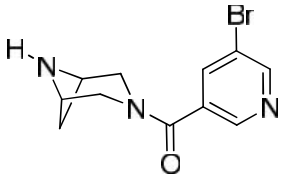
IR: 3425 (NH); 1751 (C=O).

CE: 7.360 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{13}H_{17}N_3O_2$
Calc. (Trov): C, 63.14 (63.20); H, 6.93 (6.98); N, 16.99 (16.87); O, 12.94 (12.90).

3-(5-Bromonicotinoil)-3,6-diazabiciclo[3.1.1]eptano.

(L87)



Solido giallino.

Resa : 63%

Rf : 0.30 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 80-83 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.57 (d, 1H, J=9.2 Hz), 1.68 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.60-3.98 (m, 4H), 4.05 (d, 2H, J=12.4 Hz), 7.95 (s, 1H), 8.64 (s, 1H), 8.74 (s, 1H).

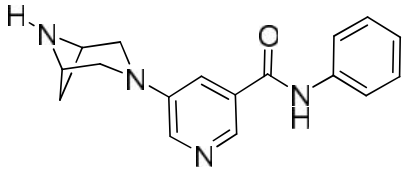
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.43 (CH_2), 49.22 (CH), 53.19 (CH), 55.00 (CH_2), 55.47 (CH_2), 120.77 (C), 133.44 (C), 137.10 (CH), 145.50 (CH), 151.64 (CH), 168.42 (C=O).

IR: 3421 (NH); 1615 (C=O).

CE: 10.965 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{11}H_{12}BrN_3O$
Calc. (Trov): C, 46.83 (46.95); H, 4.29 (4.31); Br, 28.32 (28.40); N, 14.89 (14.90); O, 5.67 (5.62).

5-(3,6-Diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il)-fenilnicotinammide.
(M88)



Solido giallino.

Resa : 75 %

Rf : 0.11 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. : 126-128 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.58-1.80 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.55-3.70 (m, 4H), 3.93 (d, 2H, J=6.0 Hz), 7.12-7.22 (m, 1H), 7.30-7.47 (m, 2H), 7.50-7.55 (m, 1H), 7.66 (d, 2H, J=8.6 Hz), 8.04 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.20-8.30 (m, 1H), 8.38-8.50 (m, 1H).

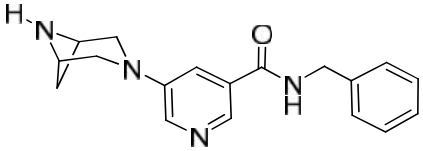
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.23 (CH_2), 50.99 (CH x2), 55.78 (CH_2 x2), 115.79 (C), 116.06 (C), 120.45 (CH x2), 124.70 (CH), 129.04 (CH x2), 134.89 (CH), 134.90 (CH), 137.93 (C), 164.58 (C=O).

IR: 3502 (NH x2); 1651 (C=O).

CE: 8.119 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{17}H_{18}N_4O$
Calc. (Trov): C, 69.37 (69.46); H, 6.16 (6.20); N, 19.03 (19.05); O, 5.44 (5.41).

5-(3,6-Diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il)-benzilnicotinammide.
(M89)



Solido giallino.

Resa : 90 %

Rf : 0.12 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :104-105 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.61 (d, 1H, J=8.6 Hz), 1.72 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.50-3.70 (bs, 4H), 3.93 (d, 2H, J=5.4 Hz), 4.67 (d, 2H, J=5.4 Hz), 6.61 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 7.36 (s, 5H), 7.49 (s, 1H), 8.21 (s, 1H), 8.28 (s, 1H).

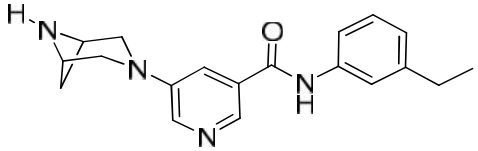
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.20 (CH_2), 44.05 (CH_2), 51.06 (CH x2), 55.60 (CH_2 x2), 115.79 (CH), 118.01 (CH), 127.55 (CH), 127.85 (CH x2), 128.70 (CH x2), 130.24 (C), 134.91 (CH), 137.99 (C), 144.66 (C), 166.31 (C=O).

IR: 3489 (NH x2); 1654 (C=O).

CE: 8.330 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{18}H_{20}N_4O$
Calc. (Trov): C, 70.11 (70.20); H, 6.57 (6.52); N, 18.17 (18.20); O, 5.19 (5.21).

5-(3,6-Diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il)-3-etilfenilnicotinammide. (M90)



Solido bianco.

Resa : 92 %

Rf : 0.12 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :186-187 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.26 (t, 3H, J=7.6 Hz), 1.55 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.63 (d, 1H, J=9.0 Hz), 2.68 (q, 2H, J=7.3 Hz), 2.70-2.88 (m, 1H), 3.55-3.78 (m, 4H), 3.93 (d, 2H, J=6.0 Hz), 7.02 (d, 1H, J=7.2 Hz), 7.32 (d, 1H, J=7.6 Hz), 7.45 (s, 1H), 7.47-7.65 (m, 2H), 7.99 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.23-8.36 (m, 1H), 8.42 (s, 1H).

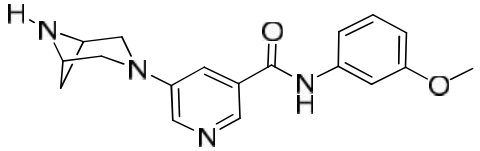
^{13}C-NMR (δ ppm): 14.54 (CH_2), 27.69 (CH_3), 30.17 (CH_2), 49.93 (CH x2), 54.36 (CH_2 x2), 112.11 (C), 114.50 (CH), 117.05 (CH), 119.14 (CH), 122.53 (CH), 127.37 (C), 129.75 (C), 133.66 (CH), 135.29 (CH), 137.68 (C), 143.43 (CH), 163.99 (C=O).

IR: 3502 (NH x2); 1651 (C=O).

CE: 9.060 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{19}H_{22}N_4O$
Calc. (Trov): C, 70.78 (70.86); H, 6.88 (6.90); N, 17.38 (17.35); O, 4.96 (4.93).

5-(3,6-Diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il)-3-metossifenilnicotinammide. (M91)



Solido bianco.

Resa : 87 %

Rf : 0.11 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :153-155 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.57 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.63 (d, 1H, J=8.8 Hz), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.60-3.80 (m, 4H), 3.85 (s, 3H), 3.95 (d, 2H, J=5.4 Hz), 6.73 (dd, 1H, J_0=1.4 Hz, J_m=7.8 Hz), 7.12 (d, 1H, J=7.8 Hz), 7.20-7.38 (m, 1H), 7.40-7.47 (m, 1H), 7.48-7.56 (m, 1H), 7.92 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.22-8.35 (m, 1H), 8.38-8.48 (m, 1H).

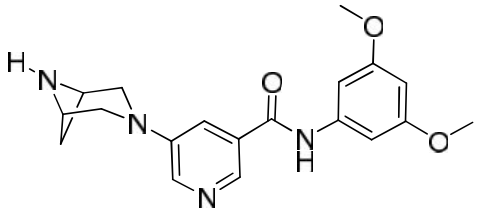
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.21 (CH_2), 50.83 (CH x2), 55.24 (O-CH_3), 55.48 (CH_2 x2), 106.25 (CH), 110.26 (C), 112.65 (CH), 116.23 (C), 129.63 (CH), 130.63 (C), 134.61 (CH x2), 139.35 (CH), 144.83 (C), 159.95 (CH), 164.52 (C=O).

IR: 3505 (NH x2); 1721 (C=O).

CE: 8.735 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{18}H_{20}N_4O_2$
Calc. (Trov): C, 66.65 (66.77); H, 6.21 (6.27); N, 17.27 (17.30); O, 9.86 (9.87).

5-(3,6-Diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il)-3,5-dimetossifenilnicotinammide. (M92)



Solido bianco.

Resa : 93 %

Rf : 0.12 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :216-219 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.65 (bs, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.55-3.75 (bs, 4H), 3.85 (s, 6H), 3.94 (d, 2H, J=7.0 Hz), 6.30 (s, 1H), 6.91 (s, 2H), 7.45-7.55 (m, 1H), 7.98 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.27 (s, 1H), 8.40 (s, 1H).

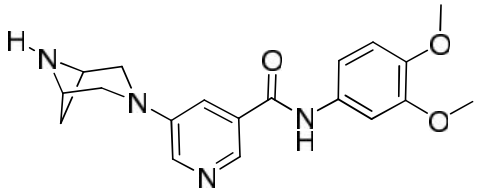
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.64 (CH_2), 50.39 (CH x2), 54.65 (O-CH_3 x2), 54.98 (CH_2 x2), 95.93 (C), 98.23 (CH x2), 115.16 (C), 117.58 (CH), 130.28 (C), 134.27 (CH), 135.74 (C), 139.88 (CH), 143.89 (C), 160.06 (CH), 164.66 (C=O).

IR: 3495 (NH x2); 1721 (C=O).

CE: 9.437 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{19}H_{22}N_4O_3$
Calc. (Trov): C, 64.39 (64.45); H, 6.26 (6.29); N, 15.81 (15.83); O, 13.57 (13.63).

-(3,6-Diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il)-3,4-dimetossifenilnicotinammide. (M93)



Solido beige.

Resa : 84 %

Rf : 0.12 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :204-205 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.55 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.63 (d, 1H, J=9.6 Hz), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.50-3.70 (bs, 4H), 3.80-4.10 (m, 8H), 6.86 (d, 1H, J=8.4 Hz), 6.95-7.15 (m, 1H), 7.51 (s, 2H), 8.08 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.20-8.30 (m, 1H), 8.42 (s, 1H).

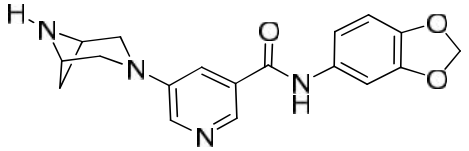
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.22 (CH_2), 50.93 (CH x2), 55.49 (CH_2 x2), 55.98 (O-CH_3 x2), 105.20 (CH), 111.11 (CH), 112.37 (CH), 116.10 (CH), 117.97 (C), 131.64 (CH), 134.51 (CH, C), 144.83 (C), 145.91 (C), 148.84 (C), 164.27 (C=O).

IR: 3495 (NH x2); 1721 (C=O).

CE: 9.458 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{19}H_{22}N_4O_3$
Calc. (Trov): C, 64.39 (64.45); H, 6.26 (6.30); N, 15.81 (15.86); O, 13.57 (13.50).

5-(3,6-Diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il)-3,4-metilendiossifenilnicotinammide. (M94)



Solido marroncino.

Resa : 88 %

Rf : 0.11 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :201-202 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.58-1.80 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.55-3.75 (bs, 4H), 3.94 (d, 2H, J=6.4 Hz), 5.99 (s, 2H), 6.80 (d, 1H, J=8.4 Hz), 6.95 (dd, 1H, J_o=2.2 Hz, J_m=8.6 Hz), 7.30-7.45 (m, 1H), 7.45-7.58 (m, 1H), 7.98 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.26 (d, 1H, 3.0 Hz), 8.30-8.50 (m, 1H).

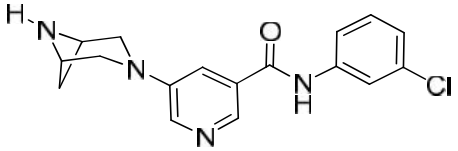
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.22 (CH_2), 50.91 (CH x2), 55.95 (CH_2 x2), 101.28 (CH_2), 103.20 (CH), 108.05 (CH), 113.76 (CH), 116.09 (C), 130.76 (C), 132.25 (C), 135.73 (CH x2), 144.42 (C), 144.82 (C), 147.71 (CH), 164.49 (C=O).

IR: 3500 (NH x2); 1723 (C=O).

CE: 8.848 min; DAD 290.30 nm.

Anal. Elem.: per $C_{18}H_{18}N_4O_3$
Calc. (Trov): C, 63.89 (64.01); H, 5.36 (5.40); N, 16.56 (16.60); O, 14.19 (14.15).

5-(3,6-Diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il)-3-clorofenilnicotinammide. (M95)



Solido bianco.

Resa : 97 %

Rf : 0.12 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :147-149 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.60-1.90 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.50-3.80 (bs, 4H), 3.87-4.10 (m, 2H), 7.15 (d, 1H, J=7.8 Hz), 7.33 (d, 1H, J=7.8 Hz), 7.38-7.58 (m, 2H), 7.81 (s, 1H), 8.11 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.20-8.30 (m, 1H), 8.35-8.48 (m, 1H).

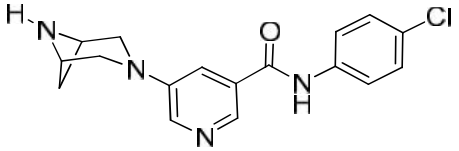
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.58 (CH_2), 50.33 (CH x2), 54.97 (CH_2 x2), 115.23 (CH), 118.10 (CH), 119.95 (CH), 123.28 (CH), 129.13 (CH), 130.02 (C), 133.32 (CH), 134.38 (C), 135.75 (C), 139.49 (CH), 143.90 (C), 164.79 (C=O).

IR: 3503 (NH x2); 1654 (C=O).

CE: 8.662 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{17}H_{17}ClN_4O$
Calc. (Trov): C, 62.10 (62.23); H, 5.21 (5.29); Cl, 10.78 (10.75); N, 17.04 (17.11); O, 4.87 (4.82).

5-(3,6-Diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il)-4-clorofenilnicotinammide. (M96)



Solido bianco.

Resa : 86 %

Rf : 0.09 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :188-190 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.60-1.85 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.78-2.90 (m, 1H), 3.64 (bs, 4H), 3.90-4.10 (m, 2H), 7.36 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.45-7.55 (m, 1H), 7.63 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.93 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.20-8.32 (m, 1H), 8.36-8.48 (m, 1H).

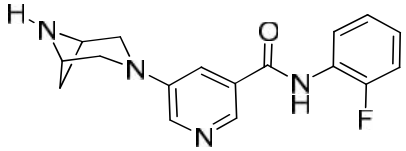
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.23 (CH_2), 49.93 (CH x2), 54.68 (CH_2 x2), 121.02 (CH x2), 127.52 (CH x3), 129.97 (C), 134.06 (C), 135.48 (CH), 136.74 (CH), 141.23 (C), 143.56 (C), 164.29 (C=O).

IR: 3503 (NH x2); 1654 (C=O).

CE: 8.610 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{17}H_{17}ClN_4O$
Calc. (Trov): C, 62.10 (62.23); H, 5.21 (5.24); Cl, 10.78 (10.82); N, 17.04 (17.12); O, 4.87 (4.84).

5-(-3,6-Diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il)-2-fluorofenilnicotinammide. (M97)



Solido bianco.

Resa : 85 %

Rf : 0.14 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :86-87 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.55-1.78 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.60-3.80 (m, 4H), 3.96 (d, 2H, J=5.6 Hz), 7.10-7.35 (m, 3H), 8.09 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.25-8.35 (m, 1H), 8.38-8.55 (m, 2H).

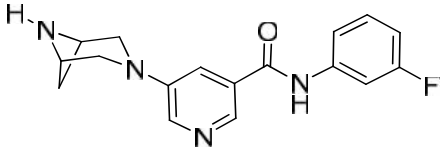
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.15 (CH_2), 49.27 (CH x2), 56.95 (CH_2 x2), 115.61 (CH), 116.38 (CH), 124.31 (CH), 125.03 (C), 125.26 (CH), 130.22 (C), 135.22 (C), 135.57 (CH), 136.23 (C), 137.23 (CH), 143.90 (CH), 165.01 (C=O).

IR: 3506 (NH x2); 1684 (C=O).

CE: 8.553 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{17}H_{17}FN_4O$
Calc. (Trov): C, 65.37 (65.43); H, 5.49 (5.51); F, 6.08 (6.14); N, 17.94 (17.90); O, 5.12 (5.10).

5-(3,6-Diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il)-3-fluorofenilnicotinammide. (M98)



Solido giallino.

Resa : 87 %

Rf : 0.13 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :208-210 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.55-1.80 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.55-3.70 (bs, 4H), 3.95 (d, 2H, J=5.6 Hz), 6.85-6.98 (m, 1H), 7.25-7.38 (m, 2H), 7.45-7.56 (m, 1H), 7.60-7.75 (m, 1H), 8.03 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.25-8.33 (m, 1H), 8.41 (s, 1H).

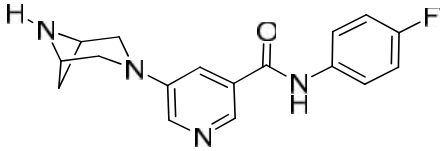
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.09 (CH_2), 49.79 (CH x2), 54.33 (CH_2 x2), 106.23 (C), 106.74 (CH), 112.06 (CH), 114.47 (CH), 114.86 (CH), 128.49 (C), 129.43 (CH), 133.83 (CH), 135.18 (CH), 139.60 (C), 143.36 (C), 164.20 (C=O).

IR: 3505 (NH x2); 1684 (C=O).

CE: 9.136 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{17}H_{17}FN_4O$
Calc. (Trov): C, 65.37 (65.45); H, 5.49 (5.54); F, 6.08 (6.12); N, 17.94 (17.89); O, 5.12 (5.16).

5-(3,6-Diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il)-4-fluorofenilnicotinammide. (M99)



Solido bianco.

Resa : 87 %

Rf : 0.11 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :250-252 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.50-1.80 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.64 (bs, 4H), 3.90-4.00 (m, 2H), 7.09 (d, 2H, J=8.4 Hz), 7.50-7.56 (m, 1H), 7.58-7.70 (m, 2H), 7.86 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.29 (s, 1H), 8.41 (s, 1H).

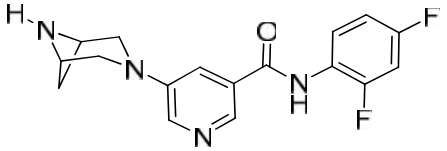
^{13}C-NMR (δ ppm): 30.64 (CH_2), 50.22 (CH x2), 54.97 (CH_2 x2), 115.15 (CH x2), 115.55 (CH), 122.44 (CH), 122.46 (CH), 130.33 (CH), 135.08 (CH), 135.12 (C x2), 136.18 (C), 144.50 (C), 164.68 (C=O).

IR: 3505 (NH x2); 1684 (C=O).

CE: 8.904 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{17}H_{17}FN_4O$
Calc. (Trov): C, 65.37 (65.49); H, 5.49 (5.52); F, 6.08 (6.02); N, 17.94 (17.89); O, 5.12 (5.09).

5-(3,6-Diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il)-2,4-difluorofenilnicotinammide. (M100)



Solido beige.

Resa : 86 %

Rf : 0.12 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :193-194 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.50 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 1.64 (d, 1H, J=9.0 Hz), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.60-3.80 (m, 4H), 3.95 (d, 2H, J=6.0 Hz), 6.80-7.05 (m, 2H), 7.40-7.60 (m, 1H), 7.99 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.25-8.45 (m, 3H).

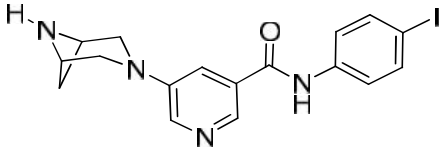
^{13}C-NMR (δ ppm): 31.35 (CH_2), 51.24 (CH x2), 55.72 (CH_2 x2), 115.53 (CH), 122.43 (C), 123.29 (CH), 130.30 (CH), 134.85 (CH), 135.90 (CH), 144.90 (CH), 151.73 (C), 154.19 (C), 157.67 (C), 160.12 (C), 164.62 (C=O).

IR: 3502 (NH x2); 1662 (C=O).

CE: 8.877 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{17}H_{16}F_2N_4O$
Calc. (Trov): C,61.81 (61.95); H, 4.88 (4.91); F, 11.50 (11.47); N, 16.96 (16.90); O, 4.84 (4.79).

5-(3,6-Diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il)-4-iodofenilnicotinammide. (M101)



Solido giallino.

Resa : 86 %

Rf : 0.13 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :238-240 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.55-1.80 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-2.90 (m, 1H), 3.50-3.70 (m, 4H), 3.93 (d, 2H, J=6.0 Hz), 7.46 (d, 2H, J=8.8 Hz), 7.69 (d, 2H, J=8.8 Hz), 8.10 (bs, 1H, NH scambia con D_2O), 8.27 (d, 1H, J=3.0 Hz), 8.40 (s, 1H).

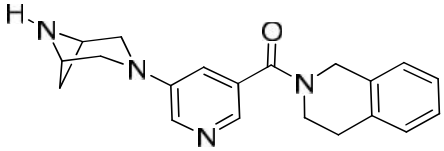
^{13}C-NMR (δ ppm): 32.28 (CH_2), 50.23 (CH x2), 54.72 (CH_2 x2), 86.41 (C), 114.89 (CH), 117.44 (CH), 121.82 (CH x2), 134.14 (CH), 134.15 (C), 136.56 (CH x2), 137.97 (C), 143.70 (C), 164.48 (C=O).

IR: 3507 (NH x2); 1693 (C=O).

CE: 9.165 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{17}H_{17}IN_4O$
Calc. (Trov): C, 48.59 (48.69); H, 4.08 (4.15); I, 30.20 (30.22);N, 13.33 (13.38); O, 3.81 (3.83).

5-(3,6-Diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il)-1,2,3,4-tetraidroisochinolinnicotinammide. (M102)



Solido giallino.

Resa : 73 %

Rf : 0.22 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :157-160 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.62 (bs, 2H, NH scambia con D_2O), 2.70-3.10 (m, 3H), 3.45-3.80 (m, 5H), 3.85-4.15 (m, 3H), 4.60-4.75 (m, 1H), 4.91 (s, 1H), 7.07 (s, 1H), 7.10-7.45 (m, 4H), 8.10 (s, 1H), 8.22 (d, 1H, J=3.2 Hz).

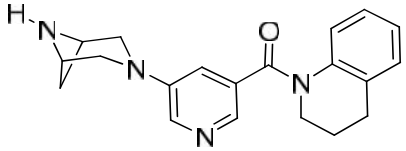
^{13}C-NMR (δ ppm): 29.68 (CH_2), 44.82 (CH_2), 45.43 (CH2), 48.01 (CH_2), 57.54 (CH x2), 58.16 (CH_2 x2), 115.41 (C), 126.73 (CH x2), 127.06 (C), 132.07 (C), 132.47 (CH), 132.61 (CH), 133.92 (CH), 134.49 (C), 143.68 (CH), 143.91 (CH), 168.79 (C=O).

IR: 3421 (NH); 1719 (C=O).

CE: 8.669 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem. per $C_{20}H_{22}N_4O$
Calc. (Trov): C, 71.83 (71.92); H, 6.63 (6.70); N, 16.75 (16.80); O, 4.78 (4.75).

5-(3,6-Diazabiciclo[3.1.1]eptan-3-il)-1,2,3,4-tetraidrochinolinnicotinammide. (M103)



Solido bianco.

Resa : 81 %

Rf : 0.26 ($CHCl_3/CH_3OH$ 8/2).

P.f. :57-58 °C.

^{1}H-NMR ($CDCl_3$) : 1.50-1.80 (m, 2H, NH scambia con D_2O), 2.07 (q, 2H, J=6.4 Hz), 2.70-3.00 (m, 3H), 3.40-3.70 (m, 4H), 3.80-4.00 (m, 4H), 6.70-6.85 (m, 1H), 6.87-7.20 (m, 4H), 7.79 (s, 1H), 8.08 (s, 1H).

^{13}C-NMR (δ ppm): 24.68 (CH_2), 44.86 (CH_2), 46.43 (CH2), 49.15 (CH_2), 55.57 (CH x2), 57.16 (CH_2 x2), 115.41 (C), 125.73 (CH x2), 127.06 (C), 131.87 (C), 133.47 (CH), 133.69 (CH), 134.02 (CH), 137.49 (C), 145.68 (CH), 146.61 (CH), 168.50 (C=O).

IR: 3421 (NH); 1719 (C=O).

CE: 8.459 min; DAD 250.16 nm.

Anal. Elem.: per $C_{20}H_{22}N_4O$
Calc. (Trov): C, 71.83 (71.90); H, 6.63 (6.71); N, 16.75 (16.83); O, 4.78 (4.72).

PARTE SPERIMENTALE
BIOLOGIA

MATERIALI

L'α-Bungarotossina liofilizzata, gli inibitori delle proteasi, i ligandi colinergici, il Triton X-100, di-idro-β-eritroidina, mecamilamina, nicotina, PMSF, NaCl, KCl, $MgSO_4$, CaCl2, KH_2PO_4, $NaHCO_3$, acido ascorbico, sono stati acquistati dalla ditta Sigma-Aldrich, USA; l'Epi non radioattiva dalla ditta RBI; ^{125}I-αBgTx, ^{125}I-Epi, ^{3}H-Epi, da PerkinElmer Life Sciences.
I filtri GF/C dalla ditta Whatman; il liquido scintillante Filter-count e Ultima-Gold dalla Perkin Elmer; tutti i reagenti utilizzati ultrapuri dalla Merck e Sigma.
I ratti utilizzati per gli esperimenti sono Sprague Dawley dalla Charles River.

METODI

Esperimenti di binding e di farmacologia

CURVE DI SATURAZIONE

^{3}H-Epibatidina

La determinazione della costante di dissociazione (K_D) del legame dei ligandi radioattivi alle membrane di corteccia di ratto sono stati compiuti mediante incubazione di aliquote di 100 μl di membrane diluite in tampone Citisina (50 mM Tris HCl, 120 mM NaCl, 5 mM KCl, 1 mM $MgCl_2$, 2.5 mM $CaCl_2$, pH 7) con concentrazioni comprese tra 25 pM e 5 nM di ^{3}H-epibatidina (Epi) (PerkinElmer Life Sciences) a 4 °C per tutta la notte (O/N). Per impedire che i sottotipi contenenti la subunità α_7 potessero contribuire al binding della ^{3}H-Epi, tutti gli esperimenti di binding e di immunoprecipitazione sono stati condotti su membrane preincubate per 3 ore con α-BgTx (Sigma) 1 μM. Parallelamente è stato determinato il binding aspecifico incubando, nelle stesse condizioni, le membrane con Epi non radioattiva alle concentrazioni di 0.1, 0.25, 1 e 10 μM, in presenza della stessa concentrazione di ^{3}H-Epi. Le membrane sono poi state separate con la metodica di filtrazione su filtri GF-C (Whatmann), lavate con il tampone wash buffer (50 mM Na~P, pH 7.4) e la radioattività contata al β-contatore con 5 ml di liquido di scintillazione Filter-count (PerkinElmer Life Sciences).

^{125}I-αBungarotossina

Per determinare la K_D del legame della ^{125}I-αBungarotossina (^{125}I-αBgTx) alle membrane di corteccia, gli esperimenti di binding alle membrane di ippocampo sono stati compiuti su aliquote di 85 μl di membrane, diluite in tampone Citisina, incubate O/N a 4 °C con concentrazioni comprese tra 100 pM e 10 nM di ^{125}I-αBgTx (PerkinElmer Life Sciences). Parallelamente è stato determinato il binding aspecifico incubando, nelle stesse condizioni, in presenza della stessa concentrazione di ^{125}I-αBgTx le membrane con α-BgTx non radioattiva (Sigma) alle concentrazioni di 0.1, 0.5, 1 e 2 μM. Le membrane sono state poi separate con la metodica di separazione su filtri GF-C, lavate con il tampone wash buffer e la radioattività contata al γ-contatore.

Preparazione delle membrane da tessuti neuronali.

I tessuti neuronali di corteccia e ippocampo sono prelevati dai ratti di 21-40 giorni, immediatamente congelati in azoto liquido e conservati a -80 °C per un uso successivo. Non si sono riscontrate differenze in termini di legame dei ligandi radioattivi tra il tessuto fresco e congelato.

In ogni esperimento i tessuti sono stati omogenati in una soluzione tampone B (Na_3PO_4 50 mM, 120 mM NaCl, 1 mM $MgCl_2$, 5 mM KCl, 2.5 mM $CaCl_2$, pH 7.0) usando un omogeneizzatore Potter; gli omogenati sono stati quindi diluiti e centrifugati per 60 minuti a 15000 rpm in una centrifuga Sorvall, riomogenati in tampone Citisina e centrifugati. L'omogeneizzazione di tutte le membrane e le procedure di diluizione e centrifugazione sono state effettuate due volte, quindi il pellet è stato raccolto, rapidamente sciacquato con la stessa soluzione tampone in presenza di inibitori delle proteasi (aprotinina, leupeptina, bestatina e pepstatina A, alla concentrazione di 10 μg/ml).

Affinità dei composti saggiati per i nAChR e curve di competizione.

Per calcolare la costante di inibizione (K_i) per ciascun farmaco, aliquote di membrane ottenute dalla corteccia di ratto sono state incubate con concentrazioni crescenti di farmaco (da 0.001 pM a 1mM), per 30 minuti a temperatura ambiente. In seguito i campioni sono stati incubati per una notte con una concentrazione finale di ^{3}H-Epibatidina di 0.1 nM (per il sottotipo $\alpha_4\beta_2$ presente nelle membrane di corteccia) e 1 nM di ^{125}I-αBungarotossina (per il sottotipo α_7 presente nelle membrane di ippocampo di ratto). Queste concentrazioni di ligando sono state utilizzate per gli esperimenti di binding di competizione perché rientrano nell'intervallo dei valori K_D del ligando per due differenti classi di nAChR.

RISULTATI E DISCUSSIONE

Con l'intento di individuare possibili composti che potrebbero essere utili in una grande varietà di disturbi del SNC mediati dalla modulazione dei nAChR, sono state sintetizzate diverse serie di derivati assumendo come lead compound il derivato **A43** dotato di una elevata affinità per i recettori $\alpha_4\beta_2$ (Ki = 23 x 10-3 nM).[59]

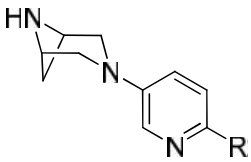
Tutte le nuove molecole saggiate hanno mostrato un'affinita per i sottotipi neuronali con valori di binding compresi tra 5.72 x 10^{-3} nM del composto **B54** e 1.54 x 10^3 nM del composto **G79** verso il sottotipo $\alpha_4\beta_2$ e valori compresi tra 5.4 nM del composto **C65** e 177 x 10^3 nM del composto **D68** verso il sottotipo α_7.

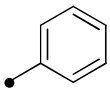
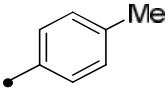
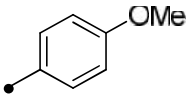
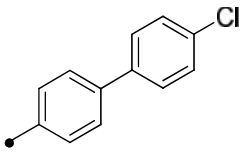
I valori di binding dei derivati **A43** e **A45**, sono risultati in linea con quelli riportati in letteratura.[59]

L'aumentata lipofilia dei composti **A49-52**, ottenuta attraverso l'introduzione sulla posizione 2 del sistema piridinico di un anello fenilico variamente sostituito, ha determinato una diminuzione dell'affinità per i recettori $\alpha_4\beta_2$ e rimane pressoché invariata quella per gli α_7.

Comportamento analogo è stato osservato anche per il derivato biarilico **A52** il quale tuttavia conserva una certa selettività nei confronti del sottotipo $\alpha_4\beta_2$ (Ki α_7/Ki $\alpha_4\beta_2$ = 734) (Tabella 8).

Tabella 8: Affinità di legame (K_i) per i recettori nAChR $\alpha_4\beta_2$ e α_7 dei composti **A43**, **A45**, **A49-52**.



Composto	R	$\alpha_4\beta_2$ [a]	%CV [b]	α_7 [c]	%CV [b]
A43	**Cl**	6,98 x 10^{-3}	25%	115	34%
A45	**Br**	9,67 x 10^{-3}	27%	132	38%
A49		587	24%	403	59%
A50		–	–	–	–
A51		–	–	–	–
A52		6.66	25%	4.89 x 10^3	78%

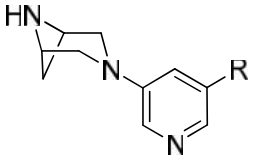
[^{3}H]-Epi	43 x 10^{-3}	-	-	-
[^{125}I]α-BgTx	-	-	0.9	-

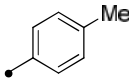
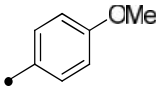
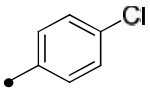
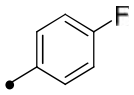
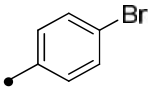
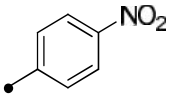
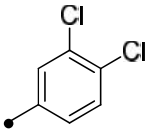
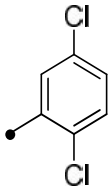
[a]K_i (nM), [^{3}H-Epibatidina]. [b]Coefficiente di variazione di tre esperimenti indipendenti.[c] K_i (nM),[^{125}Iα-BgTx].

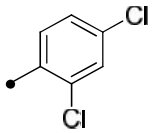
Lo spostamento dei sostituenti alogenati dalla posizione *orto* alla *meta* dell'azoto piridinico, ha portato l'ottenimento dei composti **B53**e **B54** (Tabella 9). In particolare il bromo derivato **B54** ha mostrato una K_i per i recettori $\alpha_4\beta_2$ del valore 5.72 x 10^{-3} nM, risultando 1,7 volte più affine rispetto all'isomero **A45** (K_i $\alpha_4\beta_2$ = 9.67 x 10^{-3} nM), e paragonabile a quella del al lead **A43**.

In questa serie di composti anche l'introduzione di anelli aromatici sul C3 piridinico ha generato derivati dotati di un profilo recettoriale interessante, con una marcata selettività per i recettori α β . I vari sostituenti presenti sull'anello fenilico, sia elettrondonatori che elettronattrattori, hanno in generale mostrato buone affinità di legame. In particolare il derivato **B55**, con il solo fenile (K_i $\alpha_4\beta_2$ = 11.17 x 10^{-3} nM), e i **B56** (K_i $\alpha_4\beta_2$ = 14.34 x 10^{-3} nM), **B57** (K_i $\alpha_4\beta_2$ = 12.11 x 10^{-3} nM),e **B61** (K_i $\alpha_4\beta_2$ = 10.46 x 10^{-3} nM), recanti rispettivamente in posizione *para* gruppi CH_3, OCH_3 e NO_2, possiedono un affinità di legame in linea con i derivati **B53** e **B54**. Il derivato recante come sostituente un bromo sull'anello benzenico (**B60**) e i composti con un fenile disostituito (**B62-B64**), pur mantenendo valori di binding dell'ordine picomolare, hanno mostrato valori di Ki 10 volte inferiori rispetto al lead. Inoltre, la stessa modifica strutturale ha invece determinato una drastica perdita di affinità nei confronti dei recettori α_7, soprattutto nel caso dei composti arilati, con Ki comprese tra 5 e 110 x 10^3 nM (Tabella 9). Alla luce di tali dati è evidente come in questa serie di composti, il semplice spostamento del sostituente sull'anello piridinico dalla posizione 2 alla 3 abbia determinato un aumento dell'affinità e selettività verso il sottotipo $\alpha_4\beta_2$ dei nuovi composti, sottolineando come la posizione del sostituente sia un fattore determinante ai fini del legame con il sottotipo recettoriale.

Tabella 9: Affinità di legame (K_i) per i recettori nAChR $\alpha_4\beta_2$ e α_7 dei composti **B53-64**.



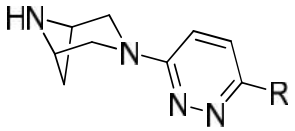
Composto	R	$\alpha_4\beta_2$ [a]	%CV [b]	α_7 [c]	%CV [b]
B53	**Cl**	$6{,}32 \times 10^{-3}$	32%	73	38%
B54	**Br**	$5{,}72 \times 10^{-3}$	34%	176	37%
B55		$11{,}17 \times 10^{-3}$	30%	17×10^{3}	36%
B56		$14{,}34 \times 10^{-3}$	36%	96×10^{3}	34%
B57		$12{,}11 \times 10^{-3}$	24%	6.5×10^{3}	33%
B58		$32{,}79 \times 10^{-3}$	25%	48×10^{3}	37%
B59		$24{,}77 \times 10^{-3}$	37%	110×10^{3}	39%
B60		$150{,}67 \times 10^{-3}$	41%	34×10^{3}	51%
B61		$10{,}46 \times 10^{-3}$	32%	5×10^{3}	42%
B62		$90{,}79 \times 10^{-3}$	31%	36×10^{3}	32%
B63		$66{,}65 \times 10^{-3}$	29%	6×10^{3}	41%

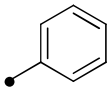
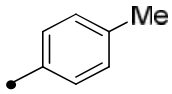
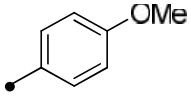
B64		82,14 x 10^{-3}	35%	13 x 10^{3}	32%
[^{3}H]-Epi		43 x 10^{-3}	-	-	-
[^{125}I]α-BgTx		-	-	0.9	-

[a]K_i (nM), [^{3}H-Epibatidina]. [b]Coefficiente di variazione di tre esperimenti indipendenti.[c] K_i (nM),[^{125}Iα-BgTx].

Anche la virtuale introduzione di un secondo atomo di azoto nell'anello piridinico, mediante sostituzione di tale sistema con uno di tipo piridazinico, ha determinato un incremento dell'affinità per entrambi i sottotipi recettoriali. Il derivato **C65**, recante un anello fenilico non sostituito**,** è risultato 85 volte più affine per i recettori $\alpha_4\beta_2$ (K_i = 6.9 nM), e 75 per gli α_7 (K_i = 5.4 nM) rispetto all'analogo piridinico **A49**, tuttavia il nuovo derivato non possiede selettività recettoriale (Tabella 10).

Tabella 10: Affinità di legame (K_i) per i recettori nAChR $\alpha_4\beta_2$ e α_7 dei composti **C65-67**.

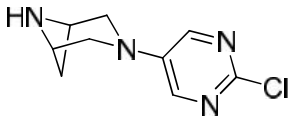


Composto	R	$\alpha_4\beta_2$[a]	%CV [b]	α_7[c]	%CV [b]
C65		6.9	39%	5.4	68%
C66		–	–	–	–
C67		–	–	–	–
[^{3}H]-Epi		43 x 10^{-3}	-	-	-
[^{125}I]α-BgTx		-	-	0.9	-

[a]K_i (nM), [^{3}H-Epibatidina]. [b]Coefficiente di variazione di tre esperimenti indipendenti.[c] K_i (nM),[^{125}Iα-BgTx].

L'introduzione di un anello pirimidinico nel derivato **D68**, ha fatto registrare una consistente perdita di affinità rispetto al lead **A43** sia sugli $\alpha_4\beta_2$ che sugli α_7, pur mostrando tale composto una selettività per i recettori $\alpha_4\beta_2$ (Ki α_7/ Ki $\alpha_4\beta_2$ = 1735) (Tabella 11).

Tabella 11: Affinità di legame (K_i) per i recettori nAChR $\alpha_4\beta_2$ e α_7 del composto **D68**.



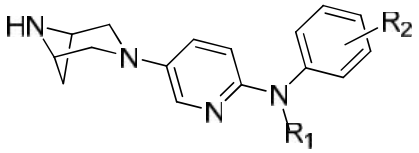
Composto	$\alpha_4\beta_2$ [a]	%CV [b]	α_7 [c]	%CV [b]
D68	102	38%	177 x 10^3	132%
[^{3}H]-Epi	43 x 10^{-3}	-	-	-
[^{125}I]α-BgTx		-	0.9	-

[a] K_i (nM), [^{3}H-Epibatidina]. [b] Coefficiente di variazione di tre esperimenti indipendenti. [c] K_i (nM),[^{125}Iα-BgTx].

Nell'ambito di tale lavoro di Dottorato, ho anche voluto valutare l'influenza dell'introduzione di una ulteriore funzione amminica tra anello piridinico ed anello aromatico su di esso supportato. Tale modifica ha permesso di ottenere derivati con affinità recettoriali paragonabili alle 3 serie precedenti, comportando un moderato aumento dei valori binding per entrambi i sottotipi nicotinici, ma incrementando notevolmente la selettività verso il sottotipo $\alpha_4\beta_2$.

Infatti nella serie delle 2-anilin piridine (**E**) i risultati migliori per i recettori $\alpha_4\beta_2$ si sono avuti con il derivato **E75**, recante un gruppo 4-NO_2, e soprattutto con il composto **E78**, 4-CF_3 sostituito, i quali posseggono rispettivamente valori di Ki di 1,76 nM e 0,569 nM. Inoltre è stato osservato come la sostituzione in *meta* con un Cl sull'anello anilinico, come per il derivato **E79**, determini una minore affinità per i recettori α_7 rispetto all'analogo *para* sostituito **E73** (Ki α_7 = 3,3 x 103 nM, Ki α_7 = 823 nM, rispettivamente), mantenendo pressochè invariata l'affinità per i recettori $\alpha_4\beta_2$. La doppia sostituzione sull'anello comporta un decremento di affinità ad eccezione del **E81**, recante un 3,4-Cl_2, con un valore intermedio agli analoghi monosostituiti. Comportamento opposto è stato osservato su α_7 dove la sostituzione *para* risulta nettamente migliore rispetto alla *meta* e alla bisostituzione (Tabella 12).

Tabella 12: Affinità di legame (K_i) per i recettori nAChR $\alpha_4\beta_2$ e α_7 dei composti **E69-83**.

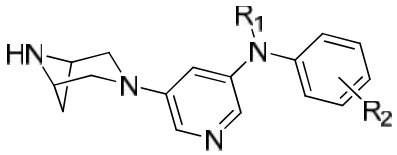


Composto	R_1	R_2	$\alpha_4\beta_2$[a]	%CV [b]	α_7[c]	%CV [b]
E69	H	H	2.66	30%	475	50%
E70	H	4-CH_3	52.1	26%	88.8 x 10^3	95%
E71	H	4-OMe	7.3	74%	3.01 x 10^3	80%
E72	H	4-OEt	-	-	-	-
E73	H	4-Cl	2.49	31%	823	58%
E74	H	2-Cl	-	-	-	-
E75	H	4-NO_2	1.76	33%	4.1 x 10^3	71%
E76	H	4-F	2.38	37%	1.3 x 10^3	83%
E77	H	4-OH	7.1	45%	2.2 x 10^3	50%
E78	H	4-CF_3	569 x 10^{-3}	27%	235 nM	45%
E79	H	3-Cl	2.2	37%	3.3 x 10^3	78%
E80	H	2,4-Cl_2	-	-	-	-
E81	H	3,4-Cl_2	2.3	40%	2.04 x 10^3	94%
E82	CH_3	H	-	-	-	-
E83	H	3,4-OCH_2O	41	72%	6.15 x 10^3	40%
[^{3}H]-Epi			43 x 10^{-3}	-	-	-
[^{125}I]α-BgTx			-	-	0.9	-

[a] K_i (nM), [^{3}H-Epibatidina]. [b] Coefficiente di variazione di tre esperimenti indipendenti. [c] K_i (nM),[^{125}Iα-BgTx].

La serie delle 3-anilin piridine (**F**) ha fornito i termini più interessanti nell'ambito dei derivati anilinici. Tra questi il derivato recante un gruppo 4-NO_2 sull'anello benzenico, **F75**, è risultato essere il più affine tra i derivati anilinici sintetizzati con un a Ki per i recettori $\alpha_4\beta_2$ di 22,5 x 10^{-3} nM. Anche il composto **F71**, recanti un 4-metossifenile, ha mostrato una ki interessante per la stessa sottoclasse recettoriale (Ki $\alpha_4\beta_2$ = 59,8 x 10^{-3} nM). Per contro, il composto **F77** è risultato essere l'$\alpha_4\beta_2$ più selettivo (Kiα_7/Ki$\alpha_4\beta_2$ = 6140). A differenza della precedente serie, la sostituzione *orto* e *meta* ha generato composti (**F73**, **F79**) con affinità equivalenti mentre, la doppia sostituzione (**F81**) ne ha ridotto di circa 10 volte l'affinità. Anche la metilazione dell'N anilinico (**F82**) ha comportato una perdita di affinità di circa 26 volte rispetto al composto demetilato **F69** ipotizzando un coinvolgimento del gruppo –NH nel legame con il recettore. Sul sottotipo α_7 il composto più interessante è risultato **F69**, recante il solo anello anilinico. (Tabella 13).

Tabella 13: Affinità di legame (K_i) per i recettori nAChR $\alpha_4\beta_2$ e α_7 dei composti **F69-83**.



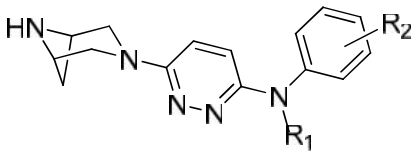
Composto	R_1	R_2	$\alpha_4\beta_2$ [a]	%CV [b]	α_7 [c]	%CV [b]
F69	H	H	80.7 x 10^{-3}	57%	26.9	53%
F70	H	4-CH_3	148 x 10^{-3}	43%	300	116%
F71	H	4-OMe	59.8 x 10^{-3}	33%	837	66%
F72	H	4-OEt	-	-	-	-
F73	H	4-Cl	118 x 10^{-3}	39%	116	72%
F74	H	2-Cl	-	-	-	-
F75	H	4-NO_2	22.5 x 10^{-3}	52%	241	51%
F76	H	4-F	91 x 10^{-3}	45%	441	90%
F77	H	4-OH	342 x 10^{-3}	54%	2.1 x 10^3	90%
F78	H	4-CF_3	373 x 10^{-3}	41%	186	69%
F79	H	3-Cl	124 x 10^{-3}	41%	1.2 x 10^3	90%

F80	H	2,4-Cl_2	-	-	-	-
F81	H	3,4-Cl_2	1.25	23%	1.9 x 10^3	88%
F82	CH_3	H	2.06	29%	317	74%
F83	H	3,4-OCH_2O	-	-	-	-
[^{3}H]-Epi			43 x 10^{-3}	-	-	-
[^{125}I]α-BgTx			-	-	0.9	-

[a]K_i (nM), [^{3}H-Epibatidina]. [b]Coefficiente di variazione di tre esperimenti indipendenti.[c] K_i (nM),[^{125}Iα-BgTx].

La serie delle 6-anilin piridazine (**G**) hanno mostrato in generale valori di affinità inferiori per entrambi i sottotipi recettoriali. Il derivato più attivo è risultato il composto **G78** con un'affinità di legame per $\alpha_4\beta_2$ 6.9 nM. Anche in questa serie la metilazione dell'azoto anilinico in **G82** ha determinato una notevole perdita di affinità (Ki $\alpha_4\beta_2$ = 1,43 x 10^3 nM, Ki α_7 = 101 x 10^3 nM) rispetto all'analogo non metilato **G69** (Ki $\alpha_4\beta_2$ = 441 nM, Ki α_7 = 10,4 x 10^3 nM) rafforzando l'ipotesi del coinvolgimento del gruppo –NH nel legame col recettore. Le affinità per il sottotipo α_7 sono risultate in linea con gli analoghi piridinici riportati in tabella 12, evidenziando come l'affinità per il sottotipo recettoriale α_7 non sia influenzata tanto dalla presenza di un anello piridinico o piridazinico ma quanto dalla posizione del sostituente sull'anello azotato (Tabella 14).

Tabella 14: Affinità di legame (K_i) per i recettori nAChR $\alpha_4\beta_2$ e α_7 dei composti **G69-83**.



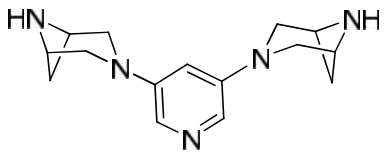
Composto	R_1	R_2	$\alpha_4\beta_2$[a]	%CV [b]	α_7[c]	%CV [b]
G69	H	H	441	27%	10.4 x 10^3	140%
G70	H	4-CH_3	44.3	26%	21.7 x 10^3	84%
G71	H	4-OMe	578	27%	50.2 x 10^3	79%
G72	H	4-OEt	-	-	-	-
G73	H	4-Cl	90.4	24%	17.3 x 10^3	79%
G74	H	2-Cl	-	-	-	-

G75	H	4-NO_2	86.2	26%	6.9 x 10^3	76%
G76	H	4-F	868	23%	111 x 10^3	84%
G77	H	4-OH	-	-	-	-
G78	H	4-CF_3	6.9	44%	2.03 x 10^3	73%
G79	H	3-Cl	1.54 x 10^3	29%	41.8 x 10^3	72%
G80	H	2,4-Cl_2	-	-	-	-
G81	H	3,4-Cl_2	516	26%	5.1 x 10^3	67%
G82	CH_3	H	1.43 x 10^3	27%	101 x 10^3	91%
G83	H	3,4-OCH_2O	-	-	-	-
[^{3}H]-Epi			43 x 10^{-3}	-	-	-
[^{125}I]α-BgTx			-	-	0.9	-

[a]K_i (nM), [^{3}H-Epibatidina]. [b]Coefficiente di variazione di tre esperimenti indipendenti.[c] K_i (nM),[^{125}Iα-BgTx].

L'introduzione di un secondo gruppo diazabicicloeptanico sull'anello piridinico ha consentito di mantenere una buona selettività per $\alpha_4\beta_2$, ma il composto **H64** ha mostrato un'affinità recettoriale paragonabile ai derivati anilinici bisostituiti (Tabella 15).

Tabella 15: Affinità di legame (K_i) per i recettori nAChR $\alpha_4\beta_2$ e α_7 del composto **H84**.



Composto	$\alpha_4\beta_2$[a]	%CV [b]	α_7[c]	%CV [b]
H84	2.72	48%	5.3 x 10^3	69%
[^{3}H]-Epi	43 x 10^{-3}	-	-	-
[^{125}I]α-BgTx	-	-	0.9	-

[a]K_i (nM), [^{3}H-Epibatidina]. [b]Coefficiente di variazione di tre esperimenti indipendenti.[c] K_i (nM),[^{125}Iα-BgTx]

In conclusione, la piccola libreria di composti sintetizzati in questo studio ha permesso di consolidare e approfondire gli studi SAR sul farmacoforo nicotinico: in particolare sono stati sintetizzate e saggiate differenti serie di derivati a struttura diazabiciclo[3.1.1]eptanica, alcuni dei quali possiedono elevata affinità per il sottotipo $\alpha_4\beta_2$ con valori superiori rispetto al lead.

Sostituenti poco ingombranti, come gli alogeni Cl e Br, nelle posizioni *orto* e *meta* all'azoto piridinico sono risultati i più interessanti in termini di affinità per la sottoclasse recettoriale $\alpha_4\beta_2$, soprattutto la *meta* sostituzione sembrerebbe utile per una selettiva per tale recettore. Per il legame con i recettori $\alpha_4\beta_2$ è tollerata anche l'introduzione di vari sostituenti arilici e anilinici, mentre il sottotipo recettoriale α_7 sembrerebbe tollerare meglio piccoli gruppi.

L'anello azotato piridinico è risultato essenziale ai fini di un'alta affinità $\alpha_4\beta_2$, sebbene anche l'anello piridazinico sia ancora ben tollerato, mentre la sostituzione di tali eterocicli azotati aromatici con un anello pirimidinico comporta una perdita di affinità di circa 15000 volte rispetto al lead.

Per entrambi i sottotipi nicotinici la doppia sostituzione non è risultata vantaggiosa in nessuna serie di derivati, determinando una notevole diminuzione di affinità, sebbene meno marcata per il sottotipo α_7.

Anche la *N*-metilazione dei derivati anilinici ha comportato una sostanziale diminuzione dell'affinità, permettendo di ipotizzare che l'NH anilinico svolga un ruolo importante nel legame col recettore.

BIBLIOGRAFIA

[1] H. H. Dale.et al. The action of certain esters and ethers of choline, and their relation to muscarine. *J. Pharmacol. Exp. Ther. November* **1914**, *6,* 147-190.

[2] Holladay, M. W.; Dart, M. J.; Linch, J. K. Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors as Targets for Drug Discovery. *J. Med. Chem.* **1997**, *40,* 4169-4194.

[3] Sine, S. M. & Engel, A. G. Recent advances in Cys‐loop receptor structure and function. *Nature* **2006**, *440,* 448–455.

[4] Gotti, C., Riganti, L., Vailati, S. & Clementi, F. Brain neuronal nicotinic receptors as new targets for drug discovery. *Curr. Pharm. Des.* **2006**, *12,* 407–428.

[5] Arneric, S. P., Brioni, J. D., Eds. Neuronal Nicotinic Receptors: Pharmacology and Therapeutic Opportunities; *Wiley-Liss, Inc.: New York*, **1999**.

[6] Sher, E.; Chen, Y.; Sharples, T. J.; Broad, L. M.; Benedetti, G.; Zwart, R.; McPhie, G. I.; Pearson, K. H.; Baldwinson, T.; De Filippi, G. Physiological roles of neuronal nicotinic receptor subtypes: new insights on the nicotinic modulation of neurotransmitter release, synaptic transmission and plasticity. *Curr. Top. Med. Chem.* **2004**, *4,* 283-297.

[7] Zhang, J., et al. Analgesic effects mediated by neuronal nicotinic acetylcholine receptor agonists: Correlation with desensitization of α4β2 receptors. *Eur. J. Pharm. Sci*. **2012**.

[8] R. C. Hogg, D. Bertrand, Neuronal nicotinic receptors and epilepsy, from genes to possible therapeutic compounds. *Bioorg. Med. Chem. Lett*. **2004**, *14,* 1859 –1861.

[9] Court, J. et al. Nicotinic receptor abnormalities in Alzheimer's disease. *Biol. Psychiatry* **2001**, *49,* 175–184.

[10] Schapira, A. H. V. et al. Novel pharmacological targets for the treatment of Parkinson's disease. *Nature Rev. Drug Discov.* **2006**, *5,* 845–854.

[11] P. Newhouse, A. Singh, A. Potter, Nicotine and nicotinic receptor involvement in neuropsychiatric disorders. *Curr. Top. Med. Chem.* **2004**, *4,* 267 –282.

[12] Levin, E. D.; Rezvani, A. H. Nicotinic interactions with antipsychotic drugs, models of schizophrenia and impacts on cognitive function. *Biochem. Pharmacol.* **2007**, *74,* 1182–1191.

[13] Shytle, R. D. et al. Nicotinic acetylcholine receptors as targets for antidepressants. *Mol. Psychiatry.* **2002**, *7,* 525–535.

[14] Fiore, M. C. et al. Integrating smoking cessation treatment into primary care: an effectiveness study. *Prev. Med.* **2004**, *38,* 412–420.

[15] Ambrosi P, Becchetti A. Targeting Neuronal Nicotinic Receptors in Cancer: New Ligands and Potential Side-Effects. *Recent Pat Anticancer Drug Discov.* **2012** Apr 27.

[16] Romanelli, M. N. *et al.* Central nicotinic receptors: structure, function, ligands, and therapeutic potential. *Chem. Med. Chem.* **2007**, *2,* 746–767.

[17] Lukas, R. J.; Changeux, J. P.; Le Novere, N.; Albuquerque, E. X.; Balfour, D. J.; Berg, D. K.; Bertrand, D.; Chiappinelli, V. A.; Clarke, P. B.; Collins, A. C.; Dani, J. A.; Grady, S. R.; Kellar, K. J.; Lindstrom, J. M.; Marks, M. J.; Quik, M.; Taylor, P. W.; Wonnacott, S. International Union of Pharmacology. XX. Current status of the nomenclature for nicotinic acetylcholine receptors and their subunits. *Pharmacol. Rev.* **1999**, *51,* 397- 401.

[18] Gotti, C. *et al.* Heterogeneity and complexity of native brain nicotinic receptors. *Biochem. Pharmacol.* **2007**, *74,* 1102–1111.

[19] Gotti, C; Zoli, M; Clementi, F. Brain nicotinic acetylcholine receptors: native subtypes and their relevance. *TIPS* **2006**, *27*, 482-491.

[20] Paterson, D.; Nordberg, A. Neuronal nicotinic receptors in the human brain. *Prog. Neurobiol.* **2000**, *61*, 75-111.
[21] Brejc, K. *et al.* Crystal structure of an ACh‐binding protein reveals the ligand‐binding domain of nicotinic receptors. *Nature* **2001**, 411, 269–276
[22] Miyazawa, A.; Fujiyoshi, Y.; Unwin, N. Structure and gatin.g mechanism of the acetylcholine receptor pore. *Nature* **2003**, *423*, 949-956.
[23] Keramidas, A.; Moorhouse, A. J.; Schofield, P. R.; Barry, P. H. Ligand-gated ion channels: mechanisms underlying ion selectivity. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* **2004**, *86*, 161-204.
[24] Karlin, A. Emerging structure of the nicotinic acetylcholine receptors. *Nat. Rev. Neurosci.* **2002**, *3*, 102-114.
[25] Unwin, N.; Miyazawa, A.; Li, J.; Fujiyoshi, Y. Activation of the nicotinic acetylcholine receptor involves a switch in conformation of the R subunits. *J. Mol. Biol.* **2002**, *319*, 1165 1176.
[26] Changeux, J. P. & Edelstein, S. J. Nicotinic Acetylcholine Receptors: From Molecular Biology To Cognition (*Odile Jacob, New York*, **2005**).
[27] Sine, S. M. The nicotinic receptor ligand binding domain. *J. Neurobiol.* **2002**, 53, 431–446.
[28] Hansen, S. B. *et al.* Structural characterization of agonist and antagonist‐bound acetylcholine‐binding protein from *Aplysia californica*. *J. Mol. Neurosci.* **2006**, 30, 101–102.
[29] Zhong, W. *et al.* From *ab initio* quantum mechanics to molecular neurobiology: a cation‐π binding site in the nicotinic receptor. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 95, **1998**, 12088–12093.
[30] Dennis A. Dougherty et al. Nicotinic pharmacophore: The pyridine N of nicotine and carbonyl of acetylcholine hydrogen bond across a subunit interface to a backbone NH. *PNAS* **2010**, 107, n30, 13206–13211.
[31] Corringer, P. J. et al. Critical elements determining diversity in agonist binding and desensitization of neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *J. Neurosci.* **1998**, *18*, 648–657.
[32] Monod, J., Wyman, J. & Changeux, J. P. On the nature of allosteric transitions: a plausible model. *J. Mol. Biol.* 12, 88–118 (**1965**).
[33] Bertrand, D. & Gopalakrishnan, M. Allosteric modulation of nicotinic acetylcholine receptors. *Biochem. Pharmacol.* 74, 1155–1163 (**2007**).
[34] Arias, H. R., Bhumireddy, P. & Bouzat, C. Molecular mechanisms and binding site locations for noncompetitive antagonists of nicotinic acetylcholine receptors. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* **2006**, *38*, 1254–1276.
[35] Hurst, R., et al., Nicotinic acetylcholine receptors: From basic science to therapeutics, Pharmacology & Therapeutics **2012.**
[36] Nicolotti, O.; Pellegrini-Calace, M.; Carrieri, A.; Altomare, C.; Centeno, N.; Sanz, F.; Carotti, A. Neuronal Nicotinic Receptor Agonists: A Multi-Approach Development of the Pharmacophore. *J. Comput. Aid. Mol. Des.* **2001***, 15*, 859-872.
[37] William H. Bunnelle Design of Ligands for the Nicotinic Acetylcholine Receptors: The Quest for Selectivity *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2004**, *4,* 299-334.
[38] Kem, W. R.; Mahnir, V.; Papke, R. L.; Lingle, C. J. Anabaseine Is a Potent Agonist on Muscle and Neuronal *Alpha*-Bungarotoxin- Sensitive Nicotinic Receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1997***, 283*, 979-992.
[39] William H. Bunnelle Octahydropyrrolo[3,4-c]pyrrole: A Diamine Scaffold for Construction of Either r4β2 or r7-Selective Nicotinic Acetylcholine Receptor (nAChR) Ligands. Substitutions that Switch Subtype Selectivity. *J. Med. Chem*. **2009**, *52,* 4126–4141.
[40] Cosford, N. D.; Bleicher, L.; Vernier, J. M.; Chavez-Noriega, L.; Rao, T. S.; Siegel, R. S.; Suto, C.; Washburn, M.; Lloyd, G. K.;
McDonald, I. A. Recombinant human receptors and functional assays in the discovery of altinicline (SIB-1508Y), a novel acetylcholine-gated ion channel (nAChR) agonist. *Pharm. Acta Helv.* **2000**, *74*, 125-130.

[41] Decker, M. W.; Brioni, J. D.; Sullivan, J. P.; Buckley, M. J.; Radek, R. J.; Raszkiewicz, J. L.; Kang, C. H.; Kim, D. J.; Giardina, W. J.; Wasicak, J. T. (*S*)-3-Methyl-5-(1-methyl-2-pyrrolidinyl)isoxazole (ABT 418): a novel cholinergic ligand with cognition-enhancing and anxiolytic activities: II. In vivo characterization. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1994**, *270*, 319-328.
[42] Elmore, D. E.; Dougherty, D. A. A Computational Study of Nicotine Conformations in the Gas Phase and in Water. *J. Org. Chem.* **2000***, 65*, 742-747.
[43] Ullrich, T.; Krich, S. B. D.; Mereiter, K. A., D. J.; Meyer, M. D. P. M. Conformationally Constrained Nicotines: Polycyclic, Bridged, and Spiro-Annulated Analogues as Novel Ligands for the Nicotinic Acetylcholine Receptor. *J. Med. Chem.* **2002***, 45*, 4047-4054.
[44] Ullrich, T.; Binder, D.; Pyerin, T. Asymmetric Synthesis of (+)- and (-)-7-(3-Pyridyl)-1 azabicyclo[2.2.1]heptane as Conformationally Restricted Analogues of Nicotine. *Tetrahedron Lett.* **2002***, 43*, 177- 179.
[45] Bencherif, M.; Schmitt, J. D.; Bhatti, B. S.; Crooks, P.; Caldwell, W. S.; Lovette, M. E.; Fowler, K.; Reeves, L.; Lippiello, P. M. The heterocyclic substituted pyridine derivative (+/-)-2-(-3-pyridinyl)-1-azabicyclo[2.2.2]octane (RJR-2429): a selective ligand at nicotinic acetylcholine receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1998**, *284*, 886-894.
[46] Wasicak, J., T.; Garvey, D. S.; Holladay, M. W.; Lin, N.-H.; Ryther, K. B. 7a-Heterocycle Substituted Hexahydro-1h-Pyrrolizine Compounds Useful in Controlling Chemical Synaptic Transmission. US Pat. **1998**, 5,733,912.
[47] Lin, N. H.; Gunn, D. E.; Ryther, K. B.; Garvey, D. S.; Donnelly- Roberts, D. L.; Decker, M. W.; Brioni, J. D.; Buckley, M. J.; Rodrigues, A. D.; Marsh, K. G.; Anderson, D. J.; Buccafusco, J. J.; Prendergast, M. A.; Sullivan, J. P.; Williams, M.; Arneric, S. P.; Holladay, M. W. Structure-activity studies on 2-methyl-3- (2(*S*)-pyrrolidinylmethoxy)pyridine (ABT-089): an orally bioavailable 3-pyridyl ether nicotinic acetylcholine receptor ligand with cognition-enhancing properties. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 385-390.
[48] Holladay, M. W.; Wasicak, J. T.; Lin, N. H.; He, Y.; Ryther, K. B.; Bannon, A. W.; Buckley, M. J.; Kim, D. J.; Decker, M. W.; Anderson, D. J.; Campbell, J. E.; Kuntzweiler, T. A.; Donnelly-Roberts, D. L.; Piattoni-Kaplan, M.; Briggs, C. A.; Williams, M.; Arneric, S. P. Identification and initial structure-activity relationships of (*R*)-5-(2-azetidinylmethoxy)-2-chloropyridine (ABT- 594), a potent, orally active, non-opiate analgesic agent acting via neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 407-412.
[49] Mukhin, A. G.; Gundisch, D.; Horti, A. G.; Koren, A. O.; Tamagnan, G.; Kimes, A. S.; Chambers, J.; Vaupel, D. B.; King, S. L.; Picciotto, M. R.; Innis, R. B.; London, E. D. 5-Iodo-A-85380, an R4*â*2 subtype-selective ligand for nicotinic acetylcholine receptors. *Mol. Pharmacol.* **2000**, *57*, 642-649.
[50] Spande, T. F.; Garraffo, H. M.; Edwards, M. W.; Yeh, H. J. C.; Pannell, L.; Daly, J. W. Epibatidine: A Novel (Chloropyridyl) azabicycloheptane with Potent Analgesic Activity from an Ecuadoran Poison Frog. *J. Am. Chem. Soc.* **1992***, 114*, 3475-3478.
[51] Badio, B.; Daly, J. W. Epibatidine, a potent analgetic and nicotinic agonist. *Mol. Pharmacol.* **1994**, *45*, 563-569.
[52] Casthin, A. L.; Petersson, E. J.; Lester, H. A. and Dougherty, D. A. Using Physical Chemistry To Differentiate Nicotinic from Cholinergic Agonists at the Nicotinic Acetylcholine Receptor. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 350-356.
[53] Li, T.; Qian, C.; Eckman, J.; Huang, D. F.; Shen, T. Y. The Analgesic Effect of Epibatidine and Isomers. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1993***, 3*, 2759-2764.
[54] Spang, J. E.; Bertrand, S.; Westera, G.; Patt, J. T.; Schubiger, P. A.; Bertrand, D. Chemical Modification of Epibatidine Causes a Switch from Agonist to Antagonist and Modifies Its Selectivity for Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptors. *Chemistry and Biology* **2000***, 7*, 545-555.

[55] Krow, G. R.; Cheung, O. H.; Hu, Z.; Huang, Q.; Hutchinson, J.; Liu, N.; Nguyen, K. T.; Ulrich, S.; Yuan, J.; Xiao, Y.; Wypij, D. M.; Zuo, F.; Carroll, P. J. Nitrogen Bridge Homoepibatidines. *Syn*-6- and *Syn*-5(6-Chloro-3-pyridyl)isoquinuclidines. *Tetrahedron* **1999***, 55*, 7747-7756.
[56] Toma, L.; Quadrelli, P.; Bunnelle, W. H.; Andrson, D. J.; Meyer, M. D.; Cignarella, G.; Gelain, A.; Barlocco, D. 6-Chloropyridazin- 3-yl Derivatives Active as Nicotinic Agents: Synthesis, Binding, and Modeling Studies. *J. Med. Chem.* **2002***, 45*, 4011-4017.
[57] Bunnelle, W. H.; Daanen, J. F.; Ryther, K. B.; Schrimpf, M. R.; Dart, M. J.; Gelain, A.; Meyer, M. D.; Frost, J. M.; Anderson, D. J.; Buckley, M.; Curzon, P.; Cao, Y-J.; Puttfarcken, P.; Searle, X.; Ji, J.; Putman, C. B.; Surowy, C.; Toma, L. and Barlocco, D. Structure−Activity Studies and Analgesic Efficacy of *N*-(3-Pyridinyl)-Bridged Bicyclic Diamines, ExceptionallyPotent Agonists at Nicotinic Acetylcholine Receptors.
J. Med. Chem. **2007**, *50*, 3627-3644.
[58] G. Murineddu, B. Asproni, G. Pinna, M.M. Curzu, A. Dore, A. Pau, F. Deligia and G.A. Pinna. Synthesis of Biologically Active Bridged Diazabicycloheptanes - *Current Medicinal Chemistry,* **2012**, *19.*
[59] Murineddu, G.; Murruzzu, C.; Curzu, M. M.; Chelucci, G.; Gotti, C.; .Gaimarri, A.; Legnani, L.; Toma, L. and Pinna, G.A. Synthesis of 3,6-diazabicyclo[3.1.1]heptanes as novel ligands for neuronal nicotinic acetylcholine receptors. *Bioorg. Med. Chem. Lett*. **2008**, *18*, 6147-6150.
[60] a) Bouillon, A., Lancelot, J.C., Collot, V., Bovy, P. R., Rault, S. Synthesis of novel halopyridinylboronic acids and esters. Part 1: 6-Halopyridinyl-3yl-boronic acids and esters. *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 2885-2890.b) Canibano, V., Rodriguez, J. F., Santos, M., Sanz-Tejedor, M. A., Carreno, C., Gonzales, G., Garcìa-Ruano, J. L. Mild regioselective halogenation of activated pyridines with *N*-Bromosuccinimide. *Synthesis*, **2001**, *14*, 2175-2179.
61 Brevetto WO 2004/35545 A2 **2004**
[62] Munson PJ, Rodbard D. LIGAND: a versatile computerized approach for characterization of ligand-binding systems. *Anal Biochem* **1980**;*107*:220–239.
63 Gotti, C., Balestra, B., Moretti, M., Rovati, G.E., Maggi, L., Rossoni, G., Berti, F., Villa, L., Pallavicini, M., Clementi, F. 4-Oxylstilbene compounds are selective ligands for neuronal nicotinic αBungarotoxin receptors. *Br. J. Pharmacol*. **1998**, *124*, 1197–1206.