



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELLA CALABRIA

DOTTORATO IN : AMBIENTE, SALUTE E PROCESSI ECO-SOSTENIBILI

XXI CICLO

Cotutela di tesi

tra

l'Università della Calabria (Italia)

e

l'Université de Caen Basse-Normandie (France)



TESI

presentata da

Anna CARUSO

e sostenuta

il 17 Dicembre 2008

Area Farmaceutica (CHIM/08)

Titolo:

**SINTESI DI NUOVI DIMETILCARBAZOLI, (DIMETIL)PIRIMIDOCARBAZOLI,
BENZOFUROCHINAZOLINONI E BENZOTIENOCHINAZOLINONI AD ATTIVITÀ
ANTITUMORALE**

**SYNTHÈSE DE NOUVEAUX DIMETHYLCARBAZOLES,
(DIMETHYL)PYRIMIDOCARBAZOLES, BENZOFUROQUINAZOLINONES ET
BENZOTHIENOQUINAZOLINONES À VISÉE ANTICANCEREUSE**



Supervisore

Pof.ssa M. Stefania SINICROPI

Candidato

Anna CARUSO

Coordinatore

Prof. Bruno DE CINDIO

Anno Accademico

2007/2008

A Pr S. RAULT,
Professeur à l'Université de Caen (France).
Directeur du Centre d'Etudes et de Recherche sur le Médicament de Normandie.

A Pr M. Stefania SINICROPI,
Professore dell'Università degli Studi della Calabria (Italia).

A Dr Thierry CRESTEIL,
Directeur de Recherche, ICSN-CNRS UPR 2301 Gif sur Yvette (France).

A Pr Carmela SATURNINO,
Professore dell'Università degli Studi di Salerno (Italia).

A Dr Jean-Charles LANCELOT,
Ingénieur de Recherche, Université de Caen (France).

A Pr Bruno DE CINDIO,
Professore dell'Università degli Studi della Calabria (Italia).
Coordinatore della Scuola di Dottorato di Ricerca:
“Ambiente, salute e processi eco-sostenibili” dell'UNICAL.

*Qui me font l'honneur de juger ce travail.
Che mi danno l'onore di valutare questo lavoro.*

Que Monsieur le Professeur Sylvain Rault qui m'a accueilli dans son laboratoire et m'a confié ce travail soit assuré de ma profonde reconnaissance pour sa confiance, sa présence et son dynamisme ainsi que pour ses compétences qui ont permis de réaliser ce travail.

Que Monsieur Jean-Charles Lancelot soit assuré de mon immense reconnaissance pour ses conseils avisés, indispensables à la bonne réalisation de ce travail.

Je remercie également Monsieur Thierry Cresteil pour la réalisation des travaux de pharmacologie.

Que Madame Anne Sophie Chiret-Voisin soit assurée de ma plus profonde gratitude pour son soutien, sa disponibilité de chaque instant, son amitié depuis le début de ce travail.

Que Madame Jana Sopkova-de Oliveira Santos soit assurée de toute ma gratitude pour la réalisation des travaux de cristallographie.

Que Monsieur Rémi Legay soit assuré de ma gratitude pour son aide en Résonance Magnétique nucléaire et en Spectroscopie de Masse en particulier.

Je tiens également à remercier Monsieur Aurélien Lesnard pour sa gentillesse et sa disponibilité.

Je tiens à remercier tout particulièrement, Marc-Antoine Bazin, Nicolas Primas, Grégory Burziki, Stéphane Lemaitre, Michèle Goueslard et Henriette Landelle qui ont contribué à la réalisation de ce travail dans une excellente ambiance par leur gentillesse et leur amitié.

Mes remerciements s'adressent également à tous mes collègues du Centre d'Etudes et de Recherche sur le Médicament de Normandie

Je remercie les Laboratoires Servier pour son soutien financier ainsi que l'Institut de Recherches en Chimie Organique Fine de Rouen pour la détermination des compositions.

Un ringraziamento particolare va alla Prof.ssa M. S. Sinicropi, per avermi dato questa grande opportunità e per i suoi preziosi consigli.

Ringrazio di cuore il Prof. Garofalo ed il Prof De Cindio per il loro sostegno, indispensabile per la realizzazione di questo lavoro.

Un ringraziamento va anche alla Prof.ssa Carmela Saturnino per la sua disponibilità e la sua gentilezza.

Ringrazio inoltre, tutto il Dipartimento di Scienze Farmaceutiche in particolare, la Dott.ssa Fedora Grande per aver condiviso, anche se a distanza, questa esperienza, la Dott.ssa Giuseppina Ioele per il suo incoraggiamento giornaliero " via messenger", il Dott. Michele De Luca per i suoi consigli informatici, la Dott.ssa Filomena Oliverio, la Dott.ssa Antonella Panno, la Dott.ssa Francesca Aiello ed il Prof. Gaetano Ragno.

*Alla mia famiglia in particolare,
a Mimmo, mio marito,
per avermi sostenuto ed
incoraggiato anche nei
momenti più difficili di
questa mia “avventura”.*

Anna

| |
|---------------|
| INDICE |
|---------------|

| | |
|--|-----------|
| INTRODUZIONE | II |
| CAPITOLO I – CHEMIOTERAPIA E FARMACI CHEMIOTERAPICI | 2 |
| 1.1 CHEMIOTERAPIA: CARATTERISTICHE GENERALI | 2 |
| <i>1.1.1 Chemioterapia palliativa.....</i> | <i>3</i> |
| <i>1.1.2 Chemioterapia adiuvante o post-chirurgica</i> | <i>3</i> |
| <i>1.1.3 Chemioterapia neoadiuvante o primaria</i> | <i>3</i> |
| <i>1.1.4 Chemioterapia d'induzione</i> | <i>4</i> |
| <i>1.1.5 Chemioterapia di combinazione e modi di somministrazione</i> | <i>4</i> |
| 1.2 CHEMIOTERAPIA: EFFETTI COLLATERALI..... | 5 |
| 1.3 CHEMIOTERAPIA: PRINCIPI FARMACOLOGICI..... | 7 |
| 1.4 ANTINEOPLASTICI: CLASSIFICAZIONE | 10 |
| <i>1.4.1 Agenti alchilanti</i> | <i>11</i> |
| <i>1.4.2 Farmaci antimetaboliti.....</i> | <i>16</i> |
| 1.4.2.1 Antagonisti dell'acido folico..... | 16 |
| 1.4.2.2 Analoghi delle purine | 18 |
| 1.4.2.3 Analoghi pirimidinici | 19 |
| <i>1.4.3 Farmaci antimitotici.....</i> | <i>21</i> |
| 1.4.3.1 Composti stabilizzanti i microtubuli | 22 |
| 1.4.3.2 Composti che si legano al sito di legame degli alcaloidi della Vinca | 23 |
| 1.4.3.3 Composti che si legano al sito di legame della Colchicina | 25 |
| <i>1.4.4 Ormonoterapia</i> | <i>26</i> |
| <i>1.4.5 Enzimi.....</i> | <i>28</i> |
| CAPITOLO II – FARMACI INTERCALANTI IL DNA ED INIBITORI DELLE | |
| TOPOISOMERASI..... | 30 |
| 2.1 INTRODUZIONE..... | 30 |
| 2.2 LE ANTRACICLINE | 32 |
| <i>2.2.1 Doxorubicina e Daunorubicina: impieghi terapeutici.....</i> | <i>36</i> |

| | | |
|---|---|-----------|
| 2.2.2 | <i>Altri derivati antraciclinici</i> | 37 |
| 2.2.3 | <i>Analoghi strutturali della Doxorubicina</i> | 37 |
| 2.3 | LE ACTINOMICINE | 39 |
| 2.4 | LE AMSACRINE | 40 |
| 2.5 | LE BLEOMICINE | 41 |
| 2.6 | LA PLICAMICINA..... | 42 |
| 2.7 | NUOVI FARMACI INIBITORI DELLE TOPOISOMERASI I E II | 44 |
| 2.8 | ALCUNI INNOVATIVI INTERCALANTI DEL DNA | 46 |
| CAPITOLO III – FARMACI ANTINEOPLASTICI DI NUOVA GENERAZIONE..... | | 50 |
| 3.1 | INTRODUZIONE..... | 50 |
| 3.2 | LE CHINASI: UN NUOVO BERSAGLIO NELLA LOTTA AL CANCRO..... | 51 |
| 3.2.1 | <i>Le Tirosine Chinasi</i> | 51 |
| 3.2.2 | <i>Le Chinasi ciclica-dipendenti</i> | 53 |
| 3.2.3 | <i>La glicogeno sintasi chinasi</i> | 55 |
| 3.3 | FARMACI ANTI-EGFR | 56 |
| 3.4 | FARMACI ANTI-VEGF | 57 |
| 3.5 | GLI INIBITORI DELL'ENZIMA CHINASI AURORA | 58 |
| 3.6 | INIBITORI DELLE METALLOPROTEASI | 59 |
| 3.7 | OLIGONUCLEOTIDI ANTISENSO | 60 |
| CAPITOLO IV – ELLIPTICINA | | 62 |
| 4.1 | ORIGINE E CARATTERISTICHE GENERALI DELL'ELLIPTICINA | 62 |
| 4.2 | MECCANISMI DELL'AZIONE CITOTOSSICA DELL'ELLIPTICINA | 64 |
| 4.2.1 | <i>Intercalazione nel DNA ed inibizione della Topoisomerasi II</i> | 65 |
| 4.2.2 | <i>Induzione di apoptosi (attraverso differenti meccanismi)</i> | 67 |
| 4.2.3 | <i>Disaccoppiamento della fosforilazione ossidativa mitocondriale</i> | 68 |
| 4.2.4 | <i>Formazione di addotti covalenti (Ellipticina e DNA)</i> | 68 |
| 4.3 | DERIVATI DELL'ELLIPTICINA | 70 |

| | | |
|---|--|------------|
| 4.3.1 | Derivati dell'Ellipticina: classificazione | 71 |
| 4.3.2 | Celiptium [®] | 72 |
| CAPITOLO V – SCOPO DELLA RICERCA | | 76 |
| 5.1 | NUOVA ED EFFICIENTE SINTESI DI 5,8-DIMETIL-9 <i>H</i> -CARBAZOL-3-OLO VIA IDROSSI- DEBORONAZIONE | 79 |
| 5.2 | SINTESI DI 6-ARIL-1,4-DIMETIL-9 <i>H</i> -CARBAZOLI (I) | 81 |
| 5.3 | SINTESI DI 6-ACIL (E AROIL)-1,4-DIMETIL-9 <i>H</i> -CARBAZOLI DIVERSAMENTE SOSTITUITI (II) | 84 |
| 5.4 | SINTESI DI: <i>N</i> -(1,4-DIMETIL-9 <i>H</i> -CARBAZOL-3-IL)-GUANIDINE (III), 5,11-DIMETIL (E 7,10-DIMETIL)-3,6-DIIDRO-PIRIMIDO-[5,4- <i>b</i>]-CARBAZOLI (IV-V) E 7-ETIL (E 7 H)-2,7- DIIDRO-PIRIMIDO-[4,5- <i>c</i>]-CARBAZOLI DIVERSAMENTE SOSTITUITI (VI) | 88 |
| 5.5 | PREPARAZIONE DI: 2 <i>H</i> -BENZOFURO-[2,3- <i>c</i>]-CHINAZOLIN-1-ONI E DI 2 <i>H</i> - BENZOTIENO- [2,3- <i>c</i>]-CHINAZOLIN-1-ONI DIVERSAMENTE SOSTITUITI (VII) | 95 |
| 5.6 | CONCLUSIONI | 98 |
| CAPITOLO VI – PARTE SPERIMENTALE | | 101 |
| 6.1 | PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI: dimetil-9 <i>H</i> -carbazoli diversamente sostituiti (1a, 1b, 1h, 1i) | 102 |
| 6.2 | PROCEDURA PER LA SINTESI DI: 5,8-dimetil-3-etossicarbonilossi-9 <i>H</i> -carbazolo (11) | 104 |
| 6.3 | PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI: 9- <i>N</i> -alchil-1,4-dimetil-carbazoli diversamente sostituiti (2b-d, 20-23 a, 20c-g, 20i) | 105 |
| 6.4 | PROCEDURA PER LA SINTESI DI: [6-bromo-1,4-dimetil-3-(3',4',5'- trimetossibenzoil)-9 <i>H</i> -carbazol-9-il]-acetato di litio (24); acido [6-bromo-1,4-dimetil- 3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9 <i>H</i> -carbazol-9-il]-acetico (25) | 114 |
| 6.5 | PROCEDURA PER LA SINTESI DI: 6- bromo-9- <i>ter</i> -butossicarbonil-1,4-dimetil-9 <i>H</i> - carbazolo (2a) | 116 |

| | | |
|------|---|-----|
| 6.6 | PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI: acidi boronici di 5,8-dimetil-9 <i>H</i> -carbazoli diversamente <i>N</i> sostituiti (3a-b, 3f) | 117 |
| 6.7 | PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI: esteri boronici di 1,4-dimetil-9 <i>H</i> -carbazoli diversamente <i>N</i> sostituiti (3c-e)..... | 119 |
| 6.8 | PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI:9-Boc-6-idrossi-1,4-dimetil-9 <i>H</i> -carbazolo (4a); di (e tri) metil-9 <i>H</i> -carbazol-3-oli (4b, 5)..... | 122 |
| 6.9 | PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI: 6-aril-1,4-dimetil-9 <i>H</i> -carbazoli (10a-b, 7a-f)..... | 124 |
| 6.10 | PROCEDURA GENERALE PER LA DEPROTEZIONE DI: 6-aril-1,4-dimetil-9- <i>ter</i> -butossicarbonil-9 <i>H</i> -carbazoli (8a-d, 8f) | 129 |
| 6.11 | PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI: 1,4-dimetil-9 <i>H</i> - carbazoli acil (e aroil) sostituiti (11-17 a, 11-12 b, 14b, 16c-1, 19a-b)..... | 132 |
| 6.12 | PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI: 1,4-dimetil-nitro (e dinitro)-9 <i>H</i> -carbazoli diversamente sostituiti (9a-b, 9i-l); 3-nitro-dibenzofurano (47a); 3-nitro-dibenzotiofene (47b) | 145 |
| 6.13 | PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI: 3-ammino-(e 6-ammino)-1,4-dimetil-9 <i>H</i> -carbazoli diversamente sostituiti (27a-b) | 148 |
| 6.14 | PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI: ammino-(e diammino)-dimetil-9 <i>H</i> -carbazoli diversamente sostituiti (27c-g) | 150 |
| 6.15 | PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI: 3-ammino- dibenzofurano (48a); 3-ammino-dibenzotiofene (48b)..... | 153 |
| 6.16 | PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI: 5,11-dimetil (e di 7,10-dimetil)-3,6-diidro-pirimido-[5,4-b]-carbazoli diversamente sostituiti (34a-e, 35a-e, 36a-b, 37a-h, 38, 39a-b, 40); <i>N</i> -(1,4-dimetil-9 <i>H</i> -carbazol-3-il)-guanidine diversamente sostituite (29f-1, 30f-g, 32i-1); 7-etil (e 7 H)-2,7-diidro-pirimido-[4,5-c]- carbazoli diversamente sostituiti (44, 45a-q); 2 <i>H</i> -benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-oni diversamente sostituiti (51a-q, 53a-h); <i>N</i> -(2-metossi-dibenzofuro-3-il)- <i>N</i> '-ciclopentil-guanidina (53i); 2 <i>H</i> -benzotieno-[2,3-c]-chinazolin-1-oni diversamente sostituiti (52a-m) | 154 |

| | |
|---|------------|
| 6.17 PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI: 3,6-diidro- 5,11-dimetil-9-idrossi- pirimido-[5,4-b]-carbazoli diversamente sostituiti (41c-h); <i>N</i> -(6-idrossi-1,4-dimetil- 9 <i>H</i> -carbazol-3-il)-guanidina (41l) | 207 |
| 6.18 PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI: 5,8-dimetil-9 <i>H</i> -carbazol-3-olo (5); 5-idrossi-2 <i>H</i> -benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-oni 3 sostituiti (54a-b)..... | 211 |
| RISULTATI | 215 |
| BIBLIOGRAFIA | 236 |

INTRODUZIONE

INTRODUZIONE

Attualmente, dopo le malattie cardiovascolari, il cancro rappresenta la causa principale di morte, esso infatti può considerarsi come la malattia del ventesimo secolo.

Il cancro è sostanzialmente una malattia delle cellule, caratterizzata da una deviazione nei meccanismi di controllo che presiedono alla proliferazione e differenziazione cellulare. Essendo una malattia complessa l'unico modo per comprenderla meglio è quello di approfondire i meccanismi del funzionamento cellulare.⁽¹⁾

Le cellule, che rappresentano la struttura base di tutti gli organi e tessuti dell'organismo, si dividono originando altre due cellule figlie che poi crescono fino a raggiungere le dimensioni della cellula d'origine per poi dividersi di nuovo e così via. Questo processo di divisione cellulare è necessario per rimpiazzare le cellule danneggiate o quelle che sono andate distrutte a causa di traumi o malattie.⁽²⁾

L'organismo tiene sotto controllo la divisione cellulare grazie all'esistenza di "geni controllori": in particolare i cosiddetti geni acceleratori spingono le cellule a moltiplicarsi, e i geni inibitori arrestano la moltiplicazione cellulare quando non è più necessaria.

Quando un errore di scrittura sul DNA si verifica proprio in corrispondenza d'uno di questi geni, la cellula e le sue discendenti possono andare incontro ad una serie infinita di divisioni formando una massa cellulare che viene detta tumore (Fig. 1).⁽³⁾

Se le cellule crescono lentamente restando confinate nel sito di partenza il tumore si dice benigno; quando invece la loro crescita è continua e le cellule diffondono attraverso i vasi sanguigni o linfatici in altre parti del corpo si parla di tumore maligno o cancro (tumore primario).

Nei casi in cui le cellule diffuse nella nuova area del corpo si dividono e formano un nuovo tumore, questo viene detto tumore secondario o metastasi e può ridurre o abolire le funzioni degli organi colpiti alterando gli equilibri dell'intero organismo. Le cellule neoplastiche, infatti, proliferando disordinatamente, finiscono per respingere o distruggere le cellule normali dell'organo colpito.⁽¹⁾

Sovente, inoltre, esse consumano la maggior parte delle sostanze nutritive e ossigeno destinati ai tessuti, causandone conseguentemente atrofizzazione e necrosi.

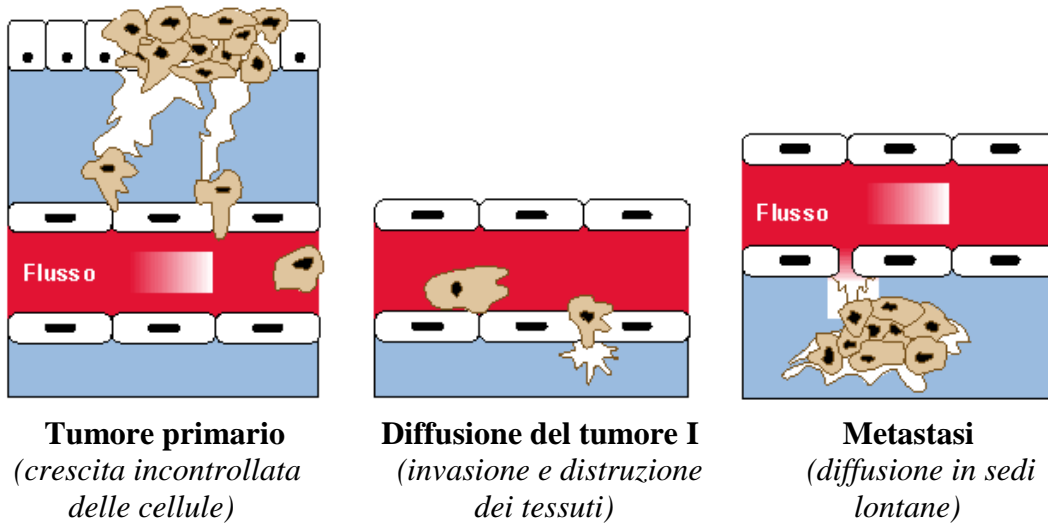


Fig. 1

La rapidità con cui cresce il tumore dipende in parte dalla velocità di divisione delle sue cellule. Alcuni tumori sono composti da cellule che si dividono con grande rapidità mentre altri crescono più lentamente.

Per crescere, i tumori necessitano dell'afflusso di sangue, dato che le cellule neoplastiche hanno bisogno di sostanze nutritive e ossigeno proprio come le cellule sane.

Pertanto, nei pazienti anemici alcuni tumori maligni sono in grado di far crescere nuovi vasi sanguigni nelle zone circostanti, aumentando in questo modo il rifornimento di sostanze nutritive e ossigeno che consentono loro una crescita più rapida (Fig. 2).⁽²⁾

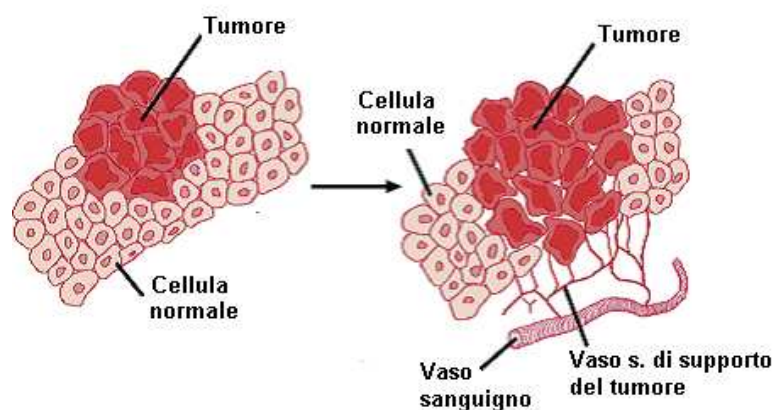


Fig. 2

I tumori possono colpire qualsiasi organo del corpo e, a seconda della loro localizzazione, assumono nomi e terapie differenti.

Circa l'85% dei tumori sono detti "carcinomi" e si originano nell'epitelio; il 6% sono detti "sarcomi" e hanno origine nel tessuto connettivo di muscoli, ossa e tessuti adiposi. Il 5% è invece costituito da leucemie e linfomi, che si sviluppano nel midollo osseo e nel sistema linfatico. Il restante 4% è costituito da tumori cerebrali e da forme più rare.⁽¹⁾

❖ **Le cause**

Il tumore è una malattia complessa dovuta a cause interne ed esterne alla persona. Per molti tumori le cause sono ignote ma ci sono fattori, detti fattori di rischio, che possono aumentare la probabilità di svilupparla.

Alcuni fattori incidono solo ad una certa età o su un solo sesso, altri a qualsiasi età e sesso: quelli più cancerogeni possono agire da soli, mentre gli altri devono sommarsi tra loro per esercitare l'effetto.

Nei paesi sviluppati il tumore è spesso una malattia legata all' invecchiamento ed alle abitudini di vita: fumo, alimentazione e fattori ormonali sono in prima linea, seguiti da infezioni, fattori fisici ed ereditari.

Tra i fattori legati allo stile di vita ci sono il fumo di sigaretta (il principale responsabile del tumore al polmone) e l'alimentazione, chiamata in causa soprattutto per i tumori dell'apparato digerente.

Le fibre alimentari, per esempio, sembra proteggano in parte dal rischio di cancro al colon; una dieta ricca in grassi d'origine animale (quelli che provengono dalla lavorazione di latte e carne), invece, giocherebbe un ruolo sfavorevole per lo sviluppo del cancro del colon-retto e del seno.

Per quanto riguarda gli ormoni il caso più evidente è quello degli ormoni sessuali femminili, i principali responsabili del tumore al seno. Più è prolungato il tempo d'esposizione del seno della donna agli estrogeni, siano essi naturali o artificiali, tanto maggiore è il rischio di sviluppare il cancro.

Tra i fattori fisici spiccano l'esposizione prolungata ai raggi ultravioletti emessi dal sole o da lampade abbronzanti mal regolate (i più suscettibili sono i bambini piccoli e l'impatto è maggiore per gli uomini di razza bianca).

I casi di tumore d'origine infettiva sono rari nei paesi sviluppati, mentre sono molto frequenti nei paesi in via di sviluppo. Gli esempi più noti sono quelli del virus dell'epatite per il tumore del fegato, del papilloma virus per il tumore del collo dell'utero ed il virus di

Epstein-Barr per i linfomi. Sono virus molto diffusi che spesso non originano tumori ma che possono scatenarli in presenza di certi fattori o provocare malattie benigne che possono evolvere se non curate.

Un altro fattore di rischio riconosciuto è l'età avanzata, basti pensare che nel 70% dei casi (in Europa) esso si manifesta in persone con più di sessanta anni.⁽¹⁾

Diversamente che in passato, fortunatamente, l'età avanzata non viene più considerata come una barriera al trattamento chirurgico ed alla radioterapia, mentre per la somministrazione della chemioterapia l'atteggiamento terapeutico tiene conto di altre eventuali malattie presenti e dello stato generale e funzionale del paziente.

Quindi, l'approccio seguito nella somministrazione dei farmaci antitumorali per il paziente adulto non può essere automaticamente applicato all'anziano, specie di età superiore ai 70 anni.

Dopo questa età, la tolleranza alla chemioterapia è minore, per cui la caduta dei globuli bianchi con conseguenti infezioni febbrili, stomatiti ed una possibile cardiotossicità indotta da alcuni farmaci (antracicline), sono più frequenti e gravi. Inoltre la maggior parte delle persone anziane è affetta da svariate malattie croniche (affezioni cardiovascolari, ipertensione, diabete, bronchite cronica, artrosi, ipertrofia prostatica) che possono incidere dando gravi conseguenze.

Tra le cause che originano il cancro ci sono i fattori genici. Normalmente sono necessarie numerose imperfezioni genetiche di tipo diverso, accumulate nel corso d'una vita, perché si arrivi alla nascita di una cellula capace di crescita incontrollata ed, infine, a tumore maligno. A volte possono trascorrere 10 o 20 anni prima che un tumore raggiunga dimensioni sufficienti per essere individuato.⁽⁴⁾

Ci sono due tipi d'anomalie genetiche: quelle che si trasmettono da una generazione all'altra (dette germinali) e quelle che invece si sviluppano nel corso della vita e che non sono trasmissibili (dette somatiche). La differenza è che le mutazioni germinali sono presenti in tutte le cellule dell'organismo, mentre le somatiche colpiscono solo alcune cellule, quelle tumorali.

I casi di tumori causati da geni ereditati da uno dei genitori sono però meno di uno su dieci; è importante precisare che chi eredita un gene tumorale avrà solo un rischio aumentato (tenendo conto anche della predisposizione) di sviluppare il tumore rispetto alla popolazione generale, cioè non è detto che lo sviluppi, così com'è possibile che chi si ammala di tumore non possieda alcuna mutazione genetica.

Il rischio di sviluppare lo stesso tipo di tumore dei propri familiari è reale se si hanno almeno due parenti dello stesso ramo familiare e con lo stesso tipo di tumore (fatta eccezione per pochi casi come il tumore dell'intestino, di seno ed ovaio).

In questi casi è consigliabile per le persone che hanno una storia familiare accertata d'alcuni tumori (per esempio seno ed intestino), sottoporsi a controlli più regolari rispetto a chi non possiede questo rischio.⁽¹⁾

E' accertato, inoltre, che l'accumulo progressivo di mutazioni, anomalie a livello dei geni proto-oncogeni, è all'origine della trasformazione d'una cellula normale, prima in cellula pretumorale e poi in cellula neoplastica.

Come proto-oncogeni vengono identificati anche tutti quei geni che partecipano alla crescita ed alla differenziazione della cellula e che in seguito alla loro attivazione ad oncogeni contribuiscono con i loro prodotti genici modificati alla trasformazione d'una cellula normale in una cancerosa.

L'attivazione ed il cambiamento di funzione dei proto-oncogeni dipende da differenti meccanismi:

- Mutazione genica o puntiforme (scambio di basi nel DNA);
- Amplificazione (moltiplicazione di tratti identici di DNA);
- Traslocazione (trasferimento d'un gene su un altro sito del genoma);
- Delezione (perdita d'una base o d'una coppia di basi).⁽⁵⁾

❖ **Incidenza**

Come già detto, nei Paesi industrializzati i tumori costituiscono la seconda causa di morte dopo le malattie cardiovascolari.

Secondo dati dell' Organizzazione Mondiale della Sanità, il numero dei nuovi casi diagnosticati ogni anno supera oggi i 10 milioni, mentre nel mondo muoiono di tumore circa sei milioni di persone ogni anno.

Sulla base dei dati registrati nel periodo 1998-2002 dall' AIRT (Associazione Italiana Registri Tumori) i cinque tumori più frequentemente diagnosticati fra gli uomini sono risultati: i tumori della cute diversi dal melanoma, della prostata, del polmone, della vescica e quello del colon. Nelle donne sono particolarmente incidenti: il tumore della mammella, quelli cutanei diversi dal melanoma, il tumore del colon, al polmone e allo stomaco (Tab. 1).⁽⁶⁾

| MASCHI | DONNE |
|-------------------|-------------------|
| 1998-2002 | 1998-2002 |
| N° CASI 178.262 | N° CASI 149.235 |
| CUTE (15.2 %) | MAMMELLA (24.9 %) |
| PROSTATA (14.4 %) | CUTE (14.8 %) |
| POLMONE (14.2 %) | COLON (8.2 %) |
| VESCICA (9.0 %) | POLMONE (4.6 %) |
| COLON (7.7 %) | STOMACO (4.5 %) |

Tab. 1: AIRT. Primi cinque tumori in termini di frequenza, e percentuale rispetto al totale dei tumori, fra quelli diagnosticati nel periodo 1998-2002, per maschi e femmine.

Sono dati che colpiscono e che sembrano lasciare poco spazio alla speranza. In realtà, almeno per quanto riguarda i Paesi sviluppati, negli ultimi anni, la mortalità per la maggior parte delle forme di cancro è aumentata molto meno in fretta rispetto al numero di nuovi casi.

Sicuramente ci si ammala di più ma la conoscenza dei fattori di rischio, la capacità di fornire diagnosi più precoci e la disponibilità, in certi casi, di terapie appropriate ha aumentato la probabilità di sopravvivenza e di guarigione.⁽¹⁾

CAPITOLO I

CHEMIOTERAPIA E FARMACI CHEMIOTERAPICI

1.1 Chemioterapia: Caratteristiche generali

La nostra è un'epoca di grandi scoperte e di innovazioni tecnologiche: nell'ambito della ricerca sulle cause del cancro ogni giorno emergono nuove ricerche ed intuizioni.

Le moderne conoscenze hanno generato pertanto un grande senso di ottimismo fra gli scienziati ed i ricercatori che si dedicano allo studio di nuove terapie in campo neoplastico.⁽⁴⁾

Attualmente, le neoplasie possono essere trattate mediante:

- *Terapie loco-regionali* (chirurgia e radioterapia) che hanno lo svantaggio di poter essere utilizzate esclusivamente per neoplasie in sedi specifiche. La radioterapia non è, inoltre, in grado di fornire una riduzione ottimale del quadro patologico;
- *Terapie sistemiche* (ormonoterapia, immunoterapia, chemioterapia).

Sebbene il trattamento chirurgico e radiante può essere efficace nell'estirpazione di tumori localizzati, tuttavia i migliori risultati per il trattamento della patologia, una volta divenuta sistemica e largamente disseminata, si hanno con il trattamento chemioterapico.

La chemioterapia, infatti, ha avuto un rapido sviluppo con risultati soddisfacenti.

Il termine chemioterapia è stato coniato da Herlich all'inizio del 1900 per indicare una terapia basata sull'impiego di farmaci ad ampio spettro d'azione e basso indice terapeutico.

I primi chemioterapici furono scoperti nel corso della Seconda Guerra Mondiale quando, in seguito alla diffusione in mare del gas iprite, nei marinai contaminati venne diagnosticata un'aplasia midollare e linfatica associata a distruzione dell'epitelio bronco alveolare.

Negli anni successivi due studiosi Goodman e Gilman, effettuarono uno studio somministrando un derivato dell'iprite, la mostarda azotata, in sei pazienti affetti da linfoma maligno. In seguito a tale somministrazione essi notarono un miglioramento delle condizioni cliniche ed una riduzione delle lesioni neoplastiche in questi pazienti.

Tale scoperta suscitò grande entusiasmo, seguito però presto da grande delusione per la ricomparsa delle masse neoplastiche.

Negli anni successivi vennero introdotti in terapia farmaci chemioterapici somministrati quasi sempre in forma di monochemioterapia, seguendo una posologia giornaliera o settimanale.

La vera rivoluzione si ebbe nel 1970 quando per la prima volta fu usata con successo la polichemioterapia nel linfoma di Hodgkin.⁽⁷⁾

In ogni caso, oltre che come monochemioterapia (oggi riservata soltanto ai pazienti di età superiore ai 70-75 anni) e polichemioterapia (ciclica, sequenziale o alternante) la chemioterapia può essere di tipo: *palliativo, adiuvante o post-chirurgica, neoadiuvante o primaria o chemiopreventiva.*

1.1.1 Chemioterapia palliativa

Negli stadi più avanzati della malattia e/o dove non è possibile intervenire chirurgicamente, la chemioterapia è palliativa, con l'obiettivo di dare sollievo ai sintomi della malattia e al dolore, ma non in grado di guarire definitivamente la malattia.

1.1.2 Chemioterapia adiuvante o post-chirurgica

Essa si effettua dopo che il tumore primitivo è stato controllato dalla chirurgia o radioterapia. Viene, pertanto, eseguita in pazienti senza evidenza clinica di neoplasia, ma a rischio significativo di ricaduta e di disseminazione a distanza.

La scelta di un regime chemioterapico adiuvante da usare in una determinata neoplasia, usualmente si basa sulle percentuali risposte oggettive osservate in pazienti con la stessa malattia in fase avanzata.⁽⁸⁾ Il suo scopo è quello di distruggere eventuali micrometastasi presenti dopo un intervento loco-regionale favorendo così la guarigione.

I farmaci devono essere somministrati in uno stadio precoce della neoplasia, in quanto esso rappresenta la fase più chemiosensibile.⁽⁷⁾

1.1.3 Chemioterapia neoadiuvante o primaria

Come la terapia adiuvante, la chemioterapia neoadiuvante o primaria è rivolta contro le eventuali micrometastasi in presenza di una neoplasia apparentemente localizzata. Essa viene effettuata prima dell'intervento chirurgico e ha lo scopo di ridurre le dimensioni della neoplasia, al fine di poter effettuare un successivo intervento loco-regionale il più possibile conservativo.

Tale chemioterapia, pre-operatoria, ha numerosi vantaggi rispetto a quella post-operatoria. L'esposizione precoce delle cellule tumorali all'azione dei farmaci antitumorali può prevenire l'espansione di fenotipi farmacosensibili insorti per mutazione spontanea delle cellule neoplastiche.

Un trattamento chemioterapico primario, inoltre, consente di somministrare gli agenti antiproliferativi in assenza di fenomeni di sclerosi locale, correlati alla chirurgia e/o alla radioterapia, che possono impedire il raggiungimento di concentrazioni adeguate di farmaco, proteggendo in tal modo eventuali cellule neoplastiche residue.

In questo trattamento esistono anche potenziali svantaggi ritenuti complessivamente di minore importanza rispetto ai potenziali vantaggi:

- a) La malattia può progredire durante il trattamento chemioterapico sebbene in meno del 2% dei pazienti;
- b) Lo stadio patologico della neoplasia può risultare modificato dalla regressione della lesione primitiva e dalla conversione di linfonodi positivi in linfonodi negativi, alterando la valutazione prognostica del paziente.

1.1.4 Chemioterapia d'induzione

Essa è denominata anche chemioterapia delle neoplasie avanzate o metastatiche per le quali non esiste una valida alternativa terapeutica.

Il beneficio del trattamento viene valutato in base al grado di regressione della malattia misurabile o valutabile.

Il criterio più importante di valutazione dell'efficacia della terapia è l'ottenimento di una risposta completa e persistente anche dopo la sospensione del trattamento.

Questa modalità terapeutica isolata è risolutiva nei confronti di vari tumori in fase avanzata quali leucemie linfatiche acute, leucemia mieloide acuta, malattia di Hodgkin, ecc.

1.1.5 Chemioterapia di combinazione e modi di somministrazione

E' noto da tempo che l'associazione di più farmaci antitumorali è più efficace degli agenti singoli i quali, con qualche rara eccezione, non sono in grado di guarire il cancro. Infatti la combinazione di diversi farmaci antineoplastici che abbiano diversi effetti curativi ma anche diversi effetti collaterali consente di ottenere il massimo effetto sul tumore con effetti collaterali minimi grazie proprio al sinergismo terapeutico.

La superiorità della polichemioterapia può essere spiegata in vario modo:

- a) Ogni agente singolo determina la massima distruzione cellulare nell'ambito della dose tollerata dall'organismo;
- b) La copertura nei confronti delle cellule resistenti è più vasta;

- c) Lo sviluppo di cloni resistenti da cellule inizialmente sensibili può essere prevenuto o rallentato.

A tale proposito è opportuno scegliere solo farmaci singolarmente attivi che non abbiano tossicità sovrapponibile.

Essi devono essere somministrati in dosi ottimali: la riduzione della dose di un farmaco efficace per compensare la tossicità relativa all'aggiunta di un altro farmaco meno efficace, potrebbe, infatti, comportare una diminuzione significativa dell'efficacia del trattamento, compromettendone il potenziale eradicativo in un tumore chemiosensibile.

In questi casi può essere utile, pertanto, ricorrere all'uso dei fattori di crescita emopoietici per mantenere l'intensità della dose e per evitare di alterare il regime chemioterapico.⁽⁸⁾

Questo tipo di chemioterapia viene suddivisa in fasi o cicli successivi di cura. Ogni fase prevede la somministrazione settimanale di una o più dosi di farmaco, per 2-6 settimane di seguito.

Solitamente, i farmaci vengono iniettati in vena con una siringa o per fleboclisi; in questo secondo caso, (il più frequente), la terapia può durare da pochi minuti a diverse ore a seconda dello schema impiegato, del meccanismo d'azione del farmaco che si vuole sfruttare e della patologia da trattare. In casi rari, durante la flebo, il paziente può provare senso di spossatezza, malessere ed a volte nausea.

Alcuni tipi di chemioterapia possono essere somministrati anche per via sottocutanea; direttamente nel tumore (somministrazione intralesionale); o nella cavità dell'organismo (addome, cavo pleurico); per quanto riguarda invece la via orale essa viene utilizzata raramente.⁽⁹⁾

Oltre che somministrare cicli ripetuti della stessa associazione farmacologica, è possibile effettuare una polichemioterapia alternante o una polichemioterapia sequenziale. La chemioterapia può poi anche essere utilizzata in combinazione con altre terapie come la radioterapia, la chirurgia, l'ormonoterapia, l'immunoterapia. In tal modo si hanno maggiori possibilità di controllo del tumore e quindi di guarigione.⁽⁸⁾

1.2 Chemioterapia: effetti collaterali

Gli effetti tossici della chemioterapia sono legati soprattutto al fatto che, i farmaci chemioterapici colpiscono tutte le cellule che si riproducono, siano esse normali che tumorali.

Bisogna, inoltre, dire che gli effetti collaterali dipendono da molti fattori: il tipo di farmaco, la dose, la via e la durata di somministrazione e le condizioni individuali del paziente.⁽¹⁰⁾

La tossicità dei chemioterapici è di tipo arigenerativo e si manifesta soprattutto a livello dei tessuti ad alto indice proliferativo: midollo osseo, mucosa gastrointestinale, cute ed annessi cutanei, gonadi.⁽⁷⁾

Le alterazioni del sangue non vengono avvertite direttamente dal paziente, ma sono un effetto collaterale frequente, riconoscibili dagli esami periodici di laboratorio. I farmaci antitumorali causano in particolare, la diminuzione dei globuli bianchi, la diminuzione delle piastrine (indispensabili nei processi di coagulazione) e la diminuzione dei globuli rossi (trasportatori d'ossigeno).

Alla fine di ogni ciclo di terapia, tali valori alterati tornano più o meno rapidamente nella norma.⁽⁹⁾

La chemioterapia favorisce il rilascio di sostanze che stimolano un centro cerebrale responsabile della nausea e del vomito. Sono disponibili molti farmaci in grado di contrastare e di ridurre l'entità di questo disturbo; questi farmaci vengono abitualmente somministrati per via endovenosa prima della chemioterapia.

La nausea ed il vomito possono però presentarsi anche nei giorni immediatamente successivi alla terapia, a causa del riassorbimento delle sostanze tossiche dalla mucosa intestinale e dalla ridotta motilità dello stomaco.

Uno degli effetti collaterali più comuni e fastidiosi è l'alopecia (la caduta parziale o totale dei capelli); è importante sapere che vi sono trattamenti che non provocano la perdita dei capelli, o che la provocano in misura limitata.

In ogni caso anche questo è un effetto transitorio della chemioterapia, infatti, finito il ciclo di cura, i capelli ricrescono spontaneamente nell'arco di qualche settimana.⁽¹⁰⁾

Alcuni farmaci antiproliferativi possono causare transitori arrossamenti e bruciori in bocca. Un'igiene orale accurata e l'attenzione nell'evitare il fumo ed i cibi che possono irritare possono limitare il fastidio.

Infine, alcuni farmaci antitumorali possono danneggiare le cellule base del sistema riproduttivo, contenute nei testicoli e nell'ovaio, e compromettere la normalità dell'embrione, per questo motivo è opportuno evitare gravidanze durante la chemioterapia.

1.3 Chemioterapia: Principi Farmacologici

Le sostanze farmacologiche usate nella chemioterapia sono molte ed hanno meccanismi d'azione analoghi ma non identici.

Come precedentemente detto, dal punto di vista clinico il cancro è una malattia delle cellule. A differenza di quanto avviene nelle cellule normali quelle neoplastiche si moltiplicano molto più rapidamente e senza rispettare alcun meccanismo di controllo.

Ebbene, i farmaci antitumorali (e antiproliferativi) intervengono nel momento preciso in cui le cellule neoplastiche si suddividono impedendone o ritardandone la moltiplicazione.⁽⁹⁾

I farmaci attualmente in uso non consentono però di esercitare un'azione specificatamente diretta contro le cellule tumorali: colpiscono genericamente tutte le popolazioni cellulari in fase di attiva replicazione, quindi anche le cellule sane (seppure in misura minore rispetto a quelle neoplastiche) ed in particolare quelle di tessuti ad alto ritmo proliferativo come⁽¹¹⁾: il midollo osseo, la mucosa orale e gastrointestinale, gli epiteli dei bulbi piliferi, l'ovaio ed il testicolo (Fig. 3).⁽¹²⁾

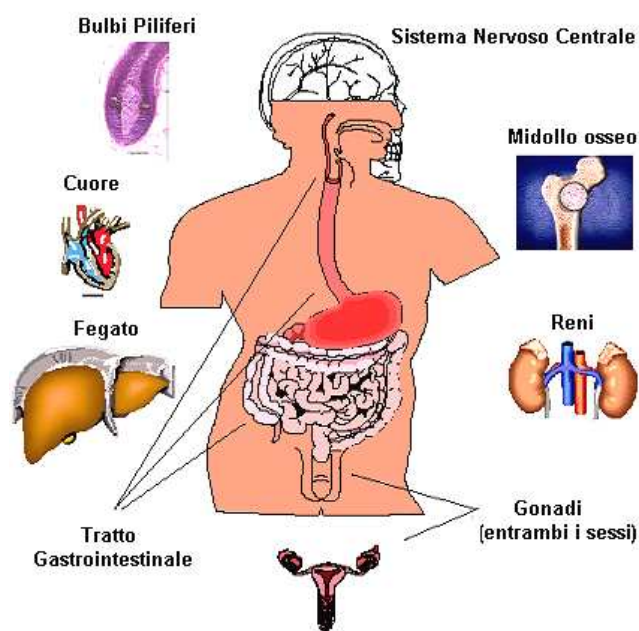


Fig. 3: Tossicità dei chemioterapici antiproliferativi: i principali organi colpiti.

La maggior parte dei farmaci antitumorali convenzionali esercita la loro attività inducendo direttamente la morte delle cellule e per tale motivo essi vengono detti “citotossici”.

Essi provocano un danno cellulare interferendo con la sintesi del DNA o interagendo chimicamente con esso, così da alterare il processo di divisione cellulare.

A tale proposito bisogna dire che il ciclo cellulare si articola in quattro fasi: G_1 , S , G_2 , M (Fig. 4).

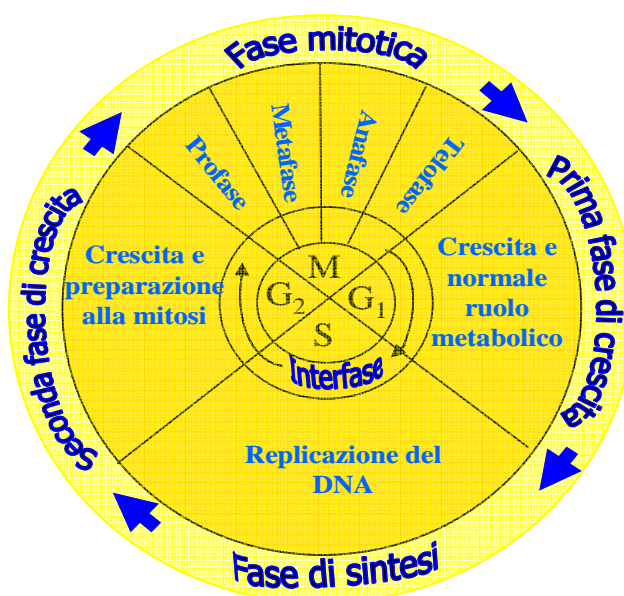


Fig. 4: Fasi del ciclo cellulare.

L'inizio si fa coincidere con la fase G_1 , durante la quale avviene la sintesi del corredo enzimatico (sintesi delle proteine e dell'RNA) necessario alla duplicazione del DNA che avviene in fase S . Quest'ultima è seguita dalla fase G_2 altrettanto importante in quanto assicura alla cellula tutte le strutture necessarie per il corretto svolgimento della mitosi (fase M) (Fig. 5).

Durante la fase M la cellula va incontro a divisione e si ha la formazione di due cellule figlie con corredo cromosomico diploide. In questa fase quindi, si realizza la condensazione dei cromosomi già duplicati e la loro migrazione ai poli opposti della cellula, dove si ha la formazione di due nuovi nuclei mentre il resto del corpo cellulare si divide.⁽¹³⁾

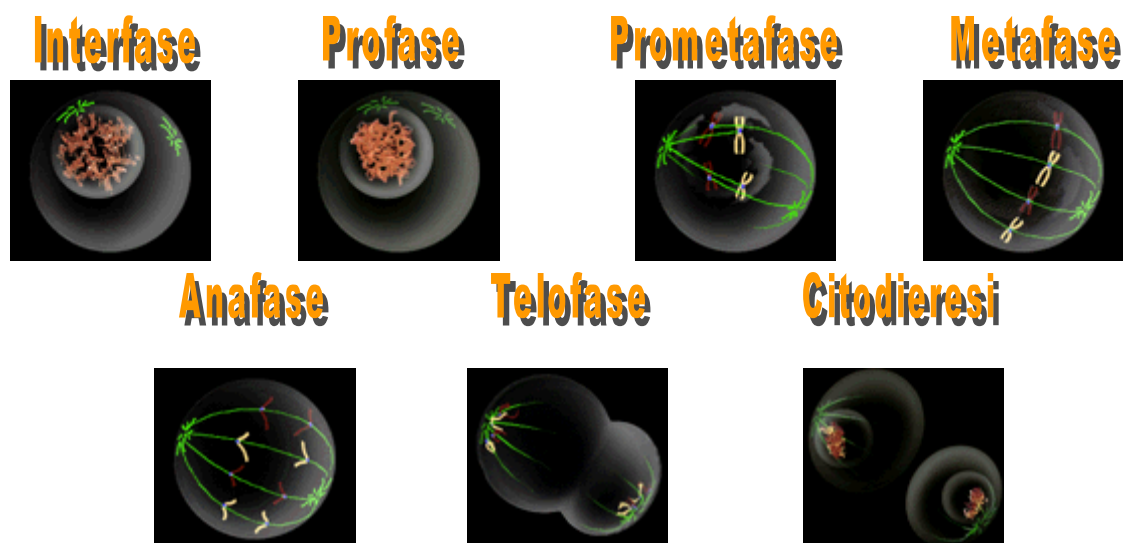


Fig. 5: Le fasi della mitosi e la citodieresi.

Non tutte le cellule sono in ciclo: alcune sono in fase G_0 , sono cioè quiescenti perché non si replicano per un periodo di tempo indeterminato, ma possono in qualsiasi momento rientrare in ciclo mentre altre si sono differenziate ed hanno definitivamente perso la capacità proliferativa (Fig. 6).

Queste ultime sono escluse dal target terapeutico dei farmaci citotossici ma ciò non significa che lo siano anche per quanto riguarda gli effetti tossici (es. le antracicline possono danneggiare irreversibilmente i miocardiociti).

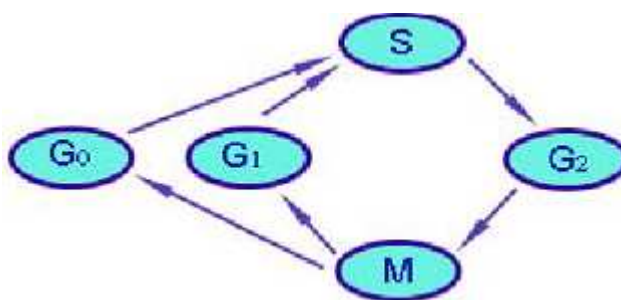


Fig. 6: Ciclo cellulare.

In base al rapporto tra attività citotossica e ciclo cellulare i farmaci antitumorali sono classificati in tre classi:

- CICLO-NON-SPECIFICI (classe I), che agiscono indipendentemente dal ciclo e hanno azione letale anche sulle cellule G_0 ;
- CICLO-SPECIFICI a loro volta distinguibili in:
 - Fase-specifici (classe II): possono colpire la cellula tumorale soltanto in una determinata fase del ciclo cellulare (es. fase S antimetaboliti; fase M alcaloidi della vinca e taxani);
 - Fase-aspecifici (classe III): uccidono le cellule indipendentemente dalla fase del ciclo purchè siano in replicazione (es. agenti alchilanti, complessi di coordinazione del platino, antibiotici).⁽⁷⁾

1.4 Antineoplastici: classificazione

Attualmente si dispone di svariate molecole che possono essere usate vantaggiosamente nei vari tipi di malattia. Tali farmaci sono raggruppati in funzione del loro meccanismo d'azione in sette classi:

- Farmaci ad alta reattività chimica (agenti alchilanti);
- Antimetaboliti;
- Antimitotici;
- Ormoni;
- Enzimi;
- Farmaci intercalanti il DNA ed inibitori delle topoisomerasi;
- Farmaci di nuova generazione.

Nella figura che segue (Fig. 7) sono riportati, in maniera schematica, i principali farmaci antineoplastici utilizzati ed i loro rispettivi meccanismi d'azione.

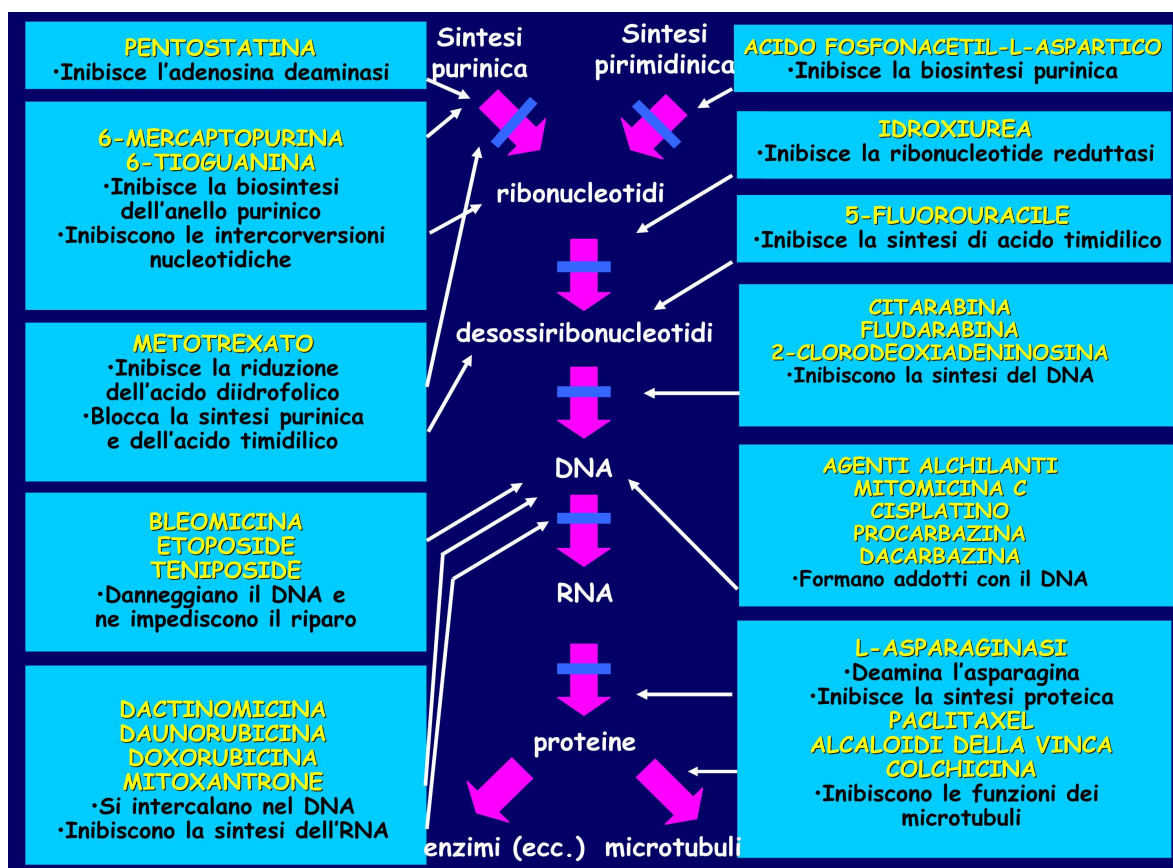


Fig. 7: Principali farmaci antineoplastici.

1.4.1 Agenti alchilanti

Al gruppo degli agenti alchilanti appartengono composti chimicamente reattivi che si combinano mediante formazione di legami covalenti con i centri nucleofili (gruppi amminici, tiolici, ossidrilici, fosforici, ecc.) presenti nei composti biologici (proteine, acidi nucleici, ecc.) che vengono in tal modo danneggiati.⁽¹⁴⁾

Esistono otto classi principali di agenti alchilanti: mostarde azotate, oxazafosforine, aziridine, nitrosouree, sulfonati d'alchile, triazeni, mitomicina C e composti del platino (cisplatino ed organoplatini) (Fig. 8).⁽¹⁵⁾

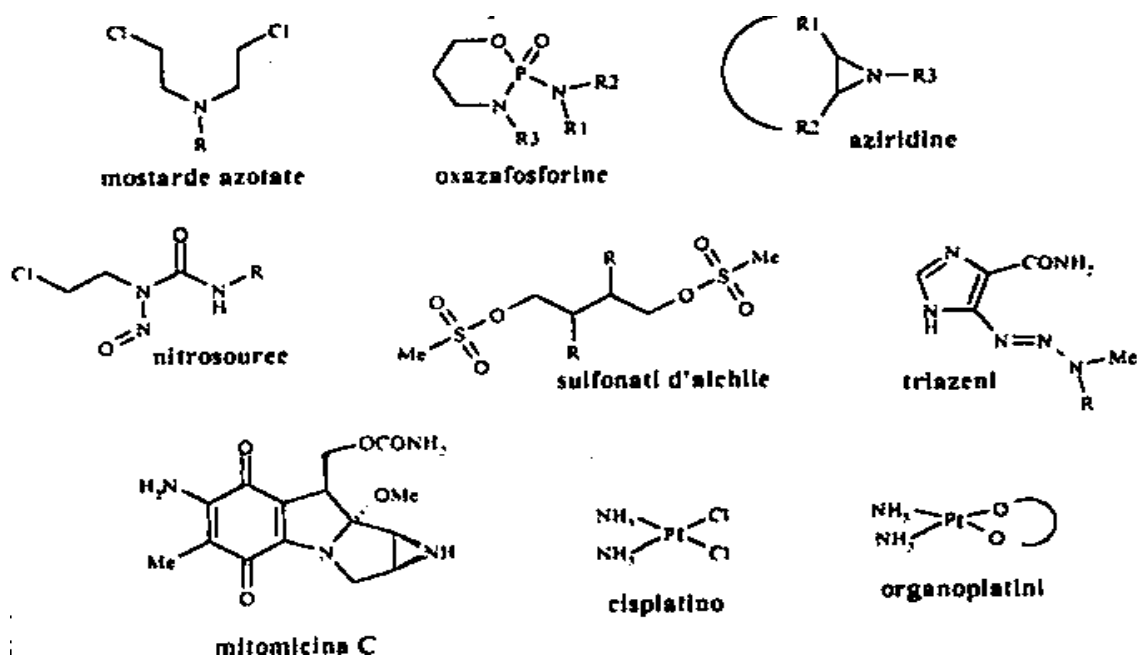


Fig. 8: Agenti alchilanti.

In particolare, l'azione principale di un alchilante consiste nel legarsi all'altezza della posizione N-7 della guanina formando un legame trasversale tra due eliche complementari. Pertanto loro principale bersaglio è il DNA.

Questo legame (detto anche legame a ponte o cross-link) porta alla rottura della catena polinucleotidica di DNA che viene quindi danneggiata e non è più in grado di duplicarsi e completare la sintesi proteica.⁽¹⁶⁾

Nella figura 9, come esempio, è riportato il meccanismo d'azione relativo alle mostarde azotate.

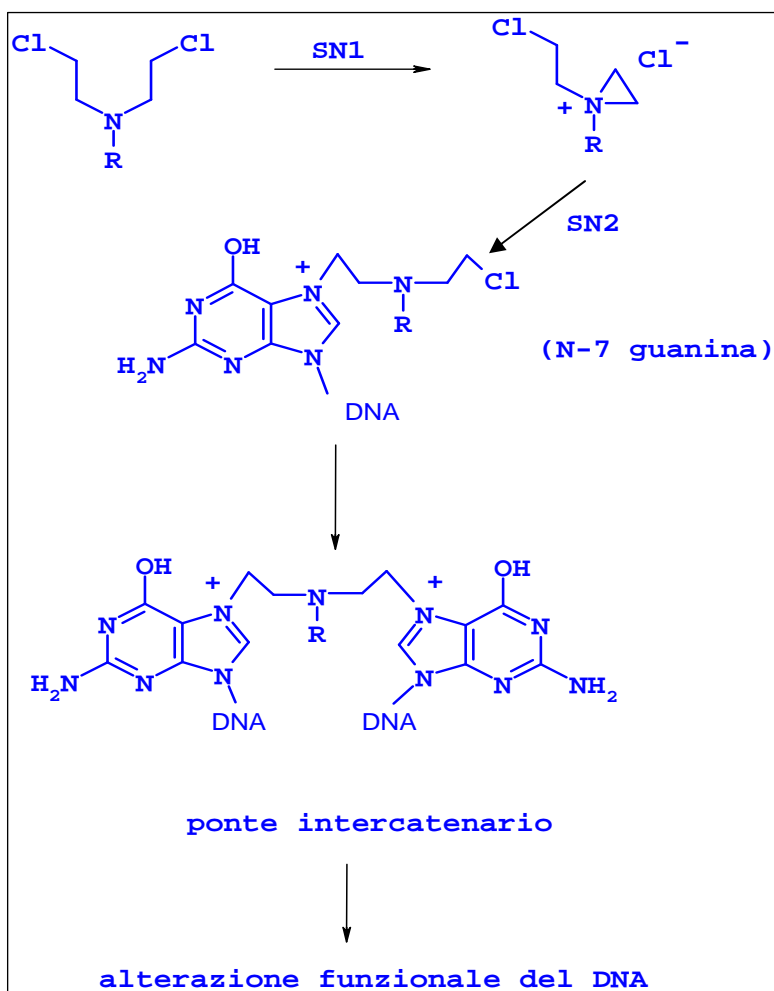


Fig. 9: Meccanismo d'azione delle mostarde azotate.

Gli alchilanti appartengono al gruppo dei farmaci ciclo aspecifici, quindi danneggiano la cellula in qualsiasi fase essa si trovi. La fase più suscettibile rimane comunque la fase S del ciclo cellulare, quando il DNA è parzialmente svolto e quindi più accessibile.⁽⁷⁾ Essi possono essere usati per il trattamento delle leucemie croniche, della malattia di Hodgkin, dei linfomi, dei carcinomi del polmone, della mammella, della prostata e delle ovaie.⁽¹⁷⁾

Gli effetti collaterali associati a tali farmaci sono mielodepressione, disturbi gastrointestinali e, per trattamenti prolungati, inibizione della gametogenesi fino alla sterilità permanente e leucemia acuta non linfoblastica.⁽⁷⁾ In particolare, tra le mostarde azotate la prima sostanza ad ottenere l'approvazione per il trattamento in sede clinica di talune forme di cancro è stata la mecloretamina (Fig. 10), considerata tuttora l'agente alchilante di elezione nella cura del morbo di Hodgkin, sia da sola che in associazione con altri chemioterapici antitumorali.

Dopo la mecloretamina, alcune migliaia di mostarde azotate (caratterizzate dalla presenza del gruppo β -cloroetilaminico) sono state sintetizzate, ma solo poche di esse sono usate attualmente in terapia. Tra queste si ricordano il nitromin, il melfalan, la ciclofosfamide ed i suoi analoghi (Fig. 10).

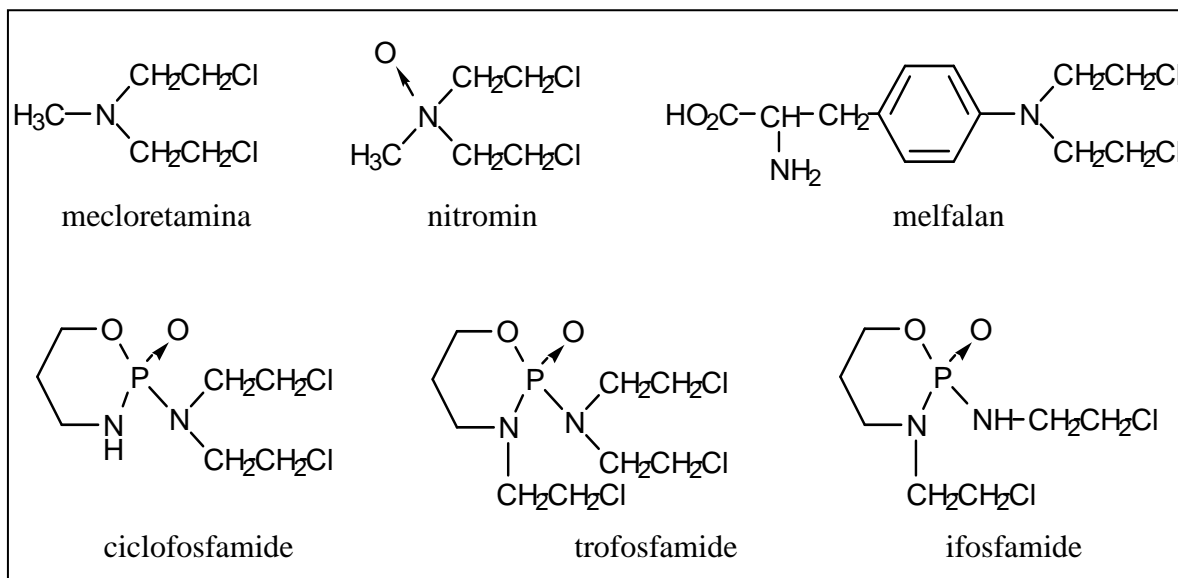


Fig. 10: Mostarde azotate.

Dal punto di vista clinico la ciclofosfamide è la migliore mostarda di cui si disponga per curare carcinomi e sarcomi, leucemie e linfomi. Essa è anche largamente impiegata nelle associazioni polichemioterapiche.⁽¹⁴⁾

Le aziridine, invece, sono state sintetizzate allo scopo di ottenere l'anello aziridinico delle mostarde azotate. Il loro impiego clinico è tuttavia limitato. L'unica eccezione è rappresentata dal tiotepa (Fig. 11) che viene utilizzato per instillazione nelle neoplasie vescicali transizionali, nei versamenti pleurici su base neoplastica e nell'ascite in corso di carcinoma ovarico.⁽⁷⁾

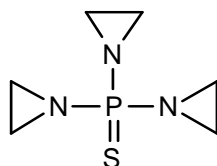


Fig. 11: Tiotepa.

Un composto naturale molto interessante risulta essere inoltre, la mitomicina C (Fig. 8), antibiotico antitumorale nella cui struttura compaiono i raggruppamenti benzochinonico, aziridinico ed uretanico.

Nell'organismo la mitomicina C viene ridotta nella forma diidrochinonica, che per successiva protonazione all'azoto aziridinico si trasforma in un agente bialchilante capace di legarsi, a livello del DNA, ai gruppi aminici dell'adenina e della citosina ed all'ossigeno della guanina.⁽¹⁴⁾

Le nitrosouree agiscono similmente agli agenti alchilanti già citati ed inoltre, inibiscono la riparazione del DNA (che spesso è danneggiato durante la duplicazione della divisione cellulare) favorendo in tal modo la morte delle cellule tumorali. Questi farmaci, essendo lipofili, sono in grado di raggiungere il cervello e sono perciò utilizzati per trattare tumori cerebrali, linfomi, melanomi multipli e melanomi maligni.⁽¹⁷⁾

Tra le nitrosouree si ricordano la carmustina, la streptozocina (di origine batterica) e la lomustina (Fig. 12). La tossicità di queste molecole è di tipo polmonare, renale ed epatica.

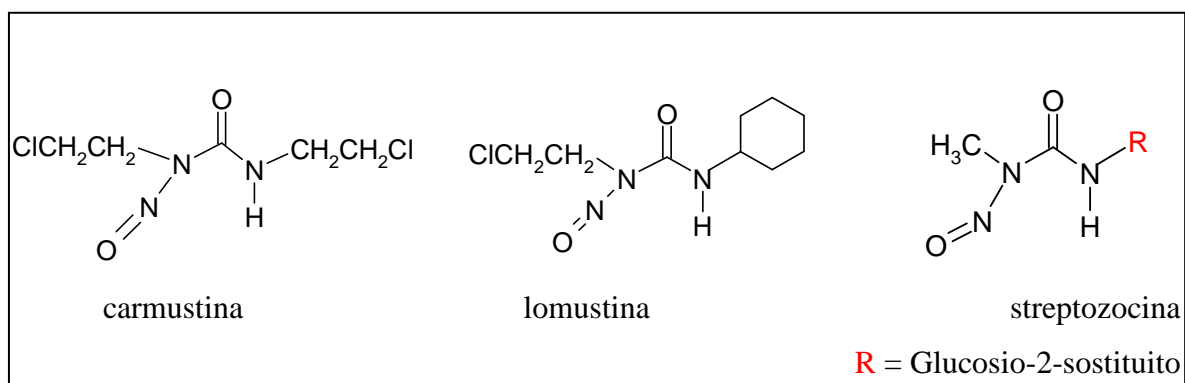


Fig. 12: Nitrosouree.

Tra gli alcansulfonati, l'unico farmaco utilizzato in clinica è il busulfan (Fig. 13). A differenza delle altre molecole presentate, tale farmaco non richiede una trasformazione in un intermedio attivo per la reazione di alchilazione. La sua maggiore tossicità è la mielotossicità, in particolare verso la linea mieloide, che giustifica, del resto, la sua principale azione terapeutica: la leucemia mieloide cronica.

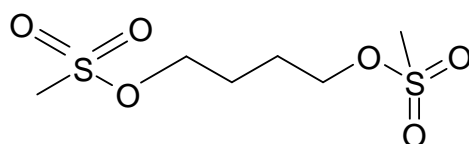


Fig. 13: Busulfan.

Infine, tra i composti del platino, si ricorda il *cis*-platino, composto solubile in acqua costituito da un atomo centrale di platino legato a due atomi di cloro ed a due gruppi

ammonici (Fig. 8). Il suo effetto citotossico dipende dalla sua attivazione all'interno della cellula in diammino-platino, per dissociazione dei due atomi di cloro e formazione di ponti inter- ed intra-filamento nel DNA. Le principali indicazioni sono il carcinoma del testicolo ed il carcinoma ovarico; tra gli effetti collaterali si ricordano nausea, vomito, nefro e mielotossicità.⁽⁷⁾

1.4.2 Farmaci antimetaboliti

Gli antimetaboliti sono farmaci capaci di interferire con il meccanismo di formazione o di utilizzazione di un normale metabolita cellulare. Un antimetabolita, quindi, può agire inibendo uno o più enzimi oppure sostituendosi al metabolita fisiologico a livello delle macromolecole dell'organismo (acidi nucleici, proteine), fornendo quindi prodotti "spuri", cioè non fisiologici.

Bastano, infatti, piccoli cambiamenti nella struttura di un metabolita, per esempio la sostituzione di un ossidrile con un gruppo aminico o l'introduzione di un gruppo metilico, per trasformarlo in un composto con attività antagonista o antimetabolita. In realtà, in tale cambiamento, influiscono non solo la natura del sostituito ma anche le sue dimensioni legate alla capacità del nuovo composto di legarsi o meno alla superficie recettoriale dell'enzima da inibire o alla capacità di inserirsi come unità strutturale fraudolenta (cioè estranea) a livello degli acidi nucleici.⁽¹⁴⁾

Ricordiamo tre principali categorie di antimetaboliti:

1. Antagonisti dell'acido folico;
2. Analoghi delle purine;
3. Analoghi delle pirimidine.

1.4.2.1 Antagonisti dell'acido folico

I folati sono essenziali per la sintesi dei nucleotidi purinici e quindi del DNA. La loro struttura è data da tre elementi: un anello pteridinico, l'acido para-aminobenzoico e l'acido glutammico (Fig. 14). La forma attiva dell'acido folico è il tetraidrofolato, che si ottiene dal folato con due successive reazioni catalizzate dalla diidrofolato-reduttasi: in questa forma esso funziona da cofattore nel trasferimento delle unità monocarboniose. In particolare è essenziale per l'aggiunta di un gruppo metilico al 2-deossi-uridilato per formare il timidilato necessario alla sintesi del DNA.⁽⁷⁾

Varie piccole modifiche sono state apportate alla molecola dell'acido folico per

ottenere sostanze ad attività antifolica ma, dei vari derivati sintetizzati solo due hanno mostrato elevata attività anticancro: l'aminopterina e l'ametopterina, meglio nota come metotressato (Fig. 14).

Ambedue questi antifolici presentano elevata tossicità (minore comunque nel metotressato, che ha difatti soppiantato nell'uso clinico l'aminopterina), sia perché colpiscono tutte le cellule che si dividono rapidamente, come quelle della mucosa intestinale, sia perché impedendo in tutti i tessuti la formazione di acido tetraidrofolico a partire dall'acido diidrofolico (attraverso un legame quasi irreversibile con l'enzima diidrofolato reduttasi) riducono in essi il livello della forma coenzimatica (CoF).⁽¹⁴⁾ Essi inoltre, causano deplezione dei livelli di timidilato.⁽⁷⁾

Il metotressato trova impiego nel coriocarcinoma femminile ed in modo particolare nella leucemia infantile acuta.⁽¹⁴⁾ Tra gli effetti collaterali esso presenta mielotossicità, epatotossicità e nefrotossicità.⁽⁷⁾

L'individuazione e lo sviluppo di nuovi analoghi più selettivi del metotressato è uno dei campi di maggiore interesse della ricerca farmaceutica.

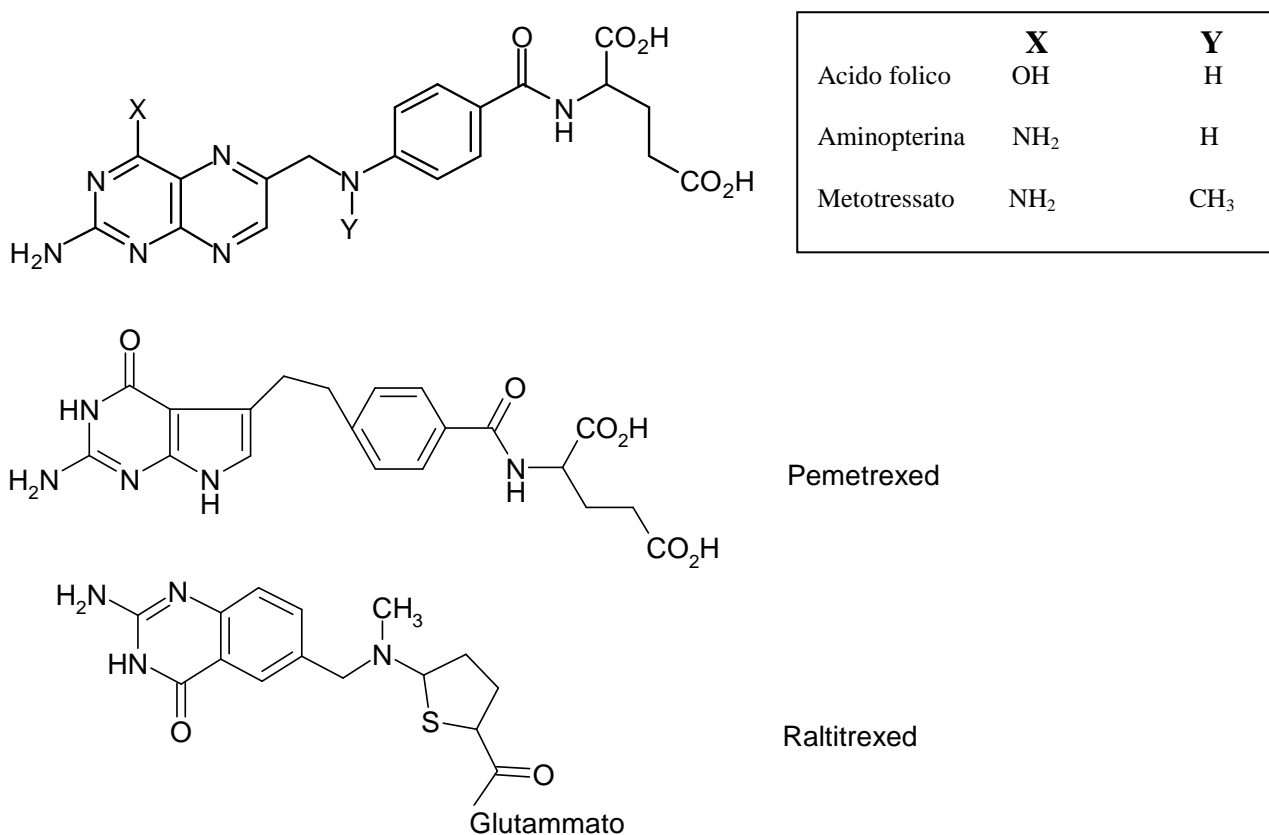


Fig. 14: Antagonisti dell'acido folico.

Attualmente sono anche in commercio altri due analoghi del metotressato; il pemetrexed (Alimta) (Fig. 14) usato soprattutto in caso di cancro al polmone ed il raltitrexed (Tomudex) (Fig. 14) che agisce inibendo l'enzima timidilato-sintetasi (TS), enzima chiave nella sintesi *ex-novo* della timidina trifosfato (TTP), un nucleotide richiesto per la sintesi del DNA. Contrariamente all'attività indiretta del 5FU e del metotressato, il raltitrexed agisce mediante inibizione diretta e specifica sulla TS e viene usato soprattutto per il cancro del retto.⁽¹⁸⁾

1.4.2.2 Analoghi delle purine

Delle numerose e varie purine non naturali che sono state sintetizzate ed esaminate come antitumorali le più attive sono risultate la 6-mercaptapurina (MP) e la 6-tioguanina (TG) (Fig. 15).⁽¹⁴⁾

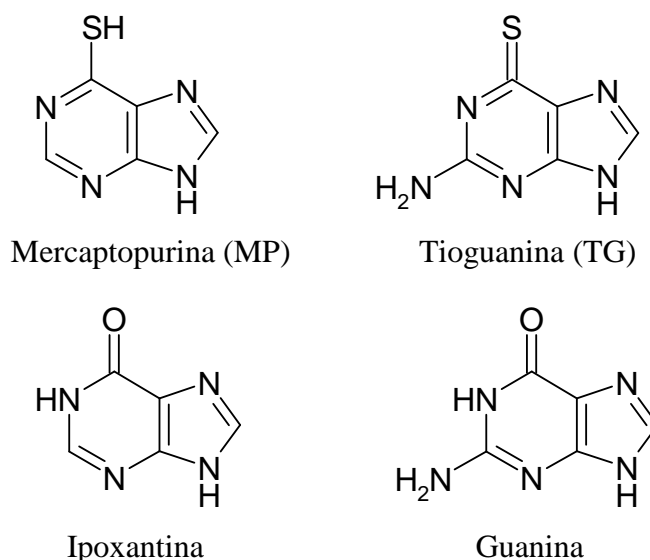


Fig. 15: Purine e analoghi delle purine.

Questi due farmaci, molto utilizzati in clinica nel trattamento delle leucemie, sono analoghi delle purine naturali ipoxantina e guanina (Fig. 15).

La MP viene trasformata per via enzimatica nel corrispondente nucleoside monofosfato e quindi trifosfato ed in tale forma viene incorporata negli acidi nucleici, impedendo così la sintesi proteica.⁽¹⁴⁾

Essa è impiegata nelle leucemie acute (linfoblastiche e mieloblastiche) e nella leucemia mieloide cronica, mentre la 6-tioguanina è usata nella leucemia mieloblastica. Tra le

tossicità associate a tali farmaci si ricorda la mielotossicità, la tossicità gastrointestinale e la tossicità cutanea.

Tra gli altri composti analoghi delle purine impiegati in chemioterapia si ritrovano inoltre, la fludarabina e la pentostatina (Fig. 16).

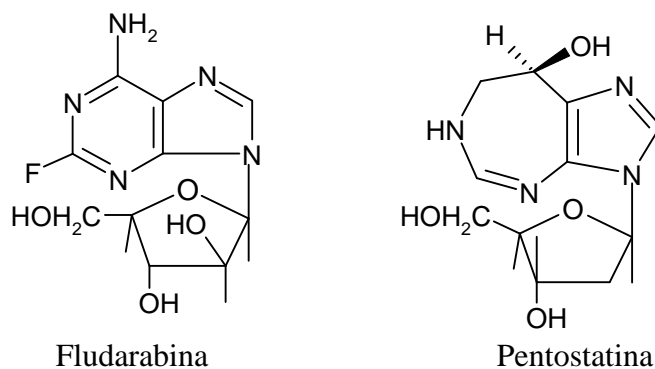


Fig. 16: Altri analoghi delle purine.

La fludarabina, analogo dell'adenosina arabinoside, è indicata nella terapia della leucemia linfoblastica cronica nei pazienti già sottoposti ad almeno un regime di terapia standard con agenti alchilanti. La principale tossicità, dose-dipendente, è a carico del midollo.

La pentostatina, invece, agisce inibendo l'adenosina deaminasi, enzima che catalizza la deaminazione dell'adenosina in inosina. Tale processo interferisce con la sintesi delle purine, con conseguente effetto di blocco sulla proliferazione.⁽⁷⁾

1.4.2.3 Analoghi pirimidinici

Si sono rivelati utili alcuni analoghi pirimidinici quali le fluoropirimidine, come il 5-fluorouracile (FU) (Fig. 17) ed il suo 2'-desossiribonucleoside o floxuridina (FUdR) (Fig. 18).

La floxuridina non presenta vantaggi dal punto di vista terapeutico. Il 5-fluorouracile è il solo derivato veramente utile in sede clinica, principalmente contro i tumori solidi del tratto gastrointestinale, della mammella e dell'apparato genitale femminile, ma non risulta attivo contro la leucemia ed i linfomi.⁽¹⁴⁾

Il 5-fluorouracile è un analogo dell'uracile (Fig. 17), con un atomo di fluoro in posizione C5 al posto dell'idrogeno; in questa forma non può essere convertito in timidilato (la sostituzione del fluoro impedisce infatti l'attacco del gruppo metilico) ma, interagisce comunque con la timidilato-sintasi bloccandone l'attività.⁽⁷⁾

Recentemente ha destato interesse il fluorofuran (Ftorafur, Tegafur) (Fig. 18), un analogo della floxuridina. Esso è al momento in fase di valutazione clinica come formulazione orale in associazione con l'uracile: l'associazione serve ad impedire la degradazione enzimatica del FU ed aumenta la biodisponibilità del farmaco dopo somministrazione orale. Infine, un altro antimetabolita pirimidinico di grande interesse clinico è l'Ara-C (1- β -D-arabinofuranosilcitosina) (Fig. 18) detto anche citosin-arabinoside o citarabina, un nucleoside ad attività antivirale derivante dal legame di una base fisiologica, la citosina, con uno zucchero non fisiologico, l'arabinosio.

Esso inibisce la conversione della citidinadifosfato in 2'-desossicitidinadifosfato ed anche l'incorporazione della 2'-desossicitidinatrifosfato nel DNA, sostituendosi ad essa e fornendo un Ara-RNA "spurio". Caratteristica peculiare dell'Ara-C rispetto agli altri antitumorali antileucemici è quella di essere attivo più contro la leucemia mielocitica e monocitica acuta e meno contro la leucemia linfocitica acuta.⁽¹⁴⁾ Gli effetti collaterali associati a tale farmaco sono: mielotossicità, neurotossicità, nausea, vomito e anoressia.⁽⁷⁾

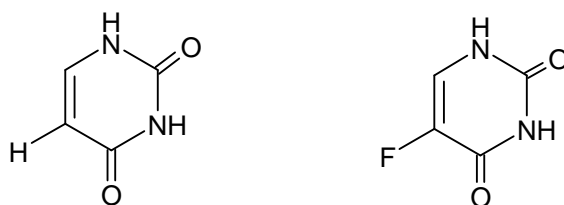


Fig. 17: Uracile e 5-fluorouracile.

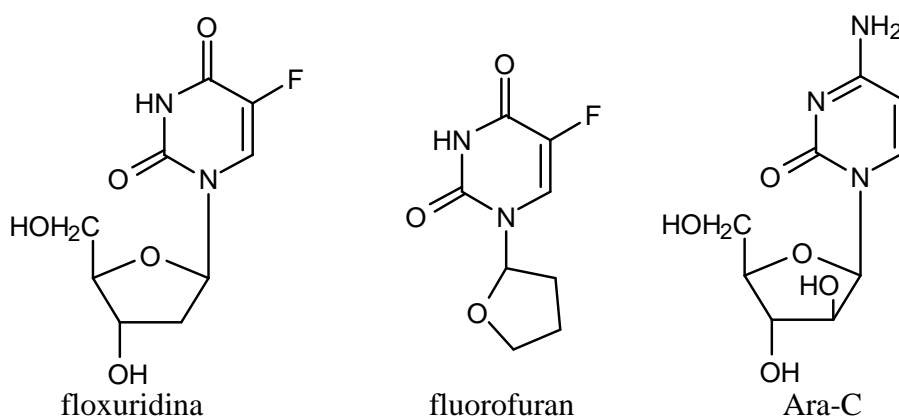


Fig. 18: Altri antimetaboliti pirimidinici.

1.4.3 Farmaci antimitotici

Un gruppo molto importante di farmaci antitumorali è quello costituito dagli inibitori della mitosi cellulare. Questi composti sono capaci di arrestare il processo mitotico allo stadio della metafase, con alterazione del fuso mitotico.⁽¹⁴⁾

Il fuso mitotico è una struttura del citoscheletro degli eucarioti la cui funzione è quella di separare i cromosomi durante la divisione cellulare, per dare origine alle due cellule figlie.⁽¹⁹⁾ Consiste in un fascio di microtubuli, i quali a loro volta possiedono una parte centrale vuota circondata da una parte di filamenti lineari chiamati protofilamenti (generalmente 13 per microtubulo).

I protofilamenti sono costituiti da catene lineari di una proteina chiamata tubulina, che è a sua volta composta da due catene polipeptidiche diverse (α -tubulina e β -tubulina). Attraverso analisi ai raggi X e mediante diffrazione ottica si è riscontrato che ciascun protofilamento è costituito da sequenze di eterodimeri di tubulina (dimeri composti da una molecola di α -tubulina ed una di β -tubulina), assemblati in modo che catene di tubulina omologhe formino una geometria elicoidale destrorsa che stabilizza fortemente la struttura.

Durante la mitosi la dinamicità dei microtubuli aumenta. Tale evento avviene principalmente per due motivi:

1. La formazione del fuso mitotico durante la mitosi richiede la raccolta di tutte le subunità di tubulina disponibili nella cellula;

2. I microtubuli che formano il fuso devono subire un processo dinamico di polimerizzazione e depolimerizzazione, per potersi legare ai cromosomi correttamente e per separarli in modo sincrono ed efficiente.⁽²⁰⁾

I farmaci antimitotici agiscono quindi sul processo di polimerizzazione/depolimerizzazione dei microtubuli ed in base all'esatto meccanismo d'azione vengono suddivisi in tre gruppi principali:

1. Composti che stabilizzano i microtubuli;
2. Composti che si legano al sito di legame degli alcaloidi della Vinca;
3. Composti che agiscono sul sito di *binding* della colchicina.

I composti che fanno parte del primo gruppo inibiscono la depolimerizzazione dei microtubuli a tubulina legandosi ad essi e stabilizzandoli mentre, i composti degli altri due gruppi inibiscono la polimerizzazione della tubulina a microtubuli. Nonostante queste differenze, la perturbazione dell'equilibrio dinamico tubulina-microtubuli conduce allo

stesso risultato finale: arresto della divisione cellulare a livello della metafase ed induzione d'apoptosi.

1.4.3.1 Composti stabilizzanti i microtubuli

Il paclitaxel (taxol) ed il docetaxel (Fig. 19), introdotti di recente in terapia, sono i capostipiti dei taxani antimitotici.⁽¹⁴⁾

Il primo è un composto diterpenico contenente un anello taxanico complesso; la catena laterale legata a tale anello in posizione 13 è indispensabile per l'attività antitumorale. La modificazione della catena laterale ha condotto all'identificazione di un analogo più potente, il docetaxel, che presenta attività clinica contro i carcinomi di mammella e ovaie.

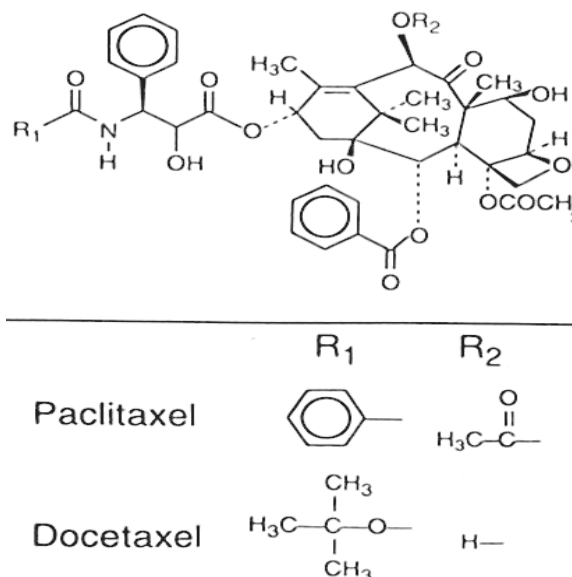


Fig. 19: Paclitaxel e Docetaxel.

Il paclitaxel si lega specificamente alle subunità di β -tubulina (Fig. 20) e sembra antagonizzare il disassemblaggio di questa proteina chiave nel citoscheletro, con la comparsa di gomitoli di microtubuli e strutture aberranti derivanti dai microtubuli nelle cellule trattate.⁽²¹⁾ Esso viene spesso usato in associazione con il cisplatino per la cura del cancro alle ovaie.⁽¹⁸⁾

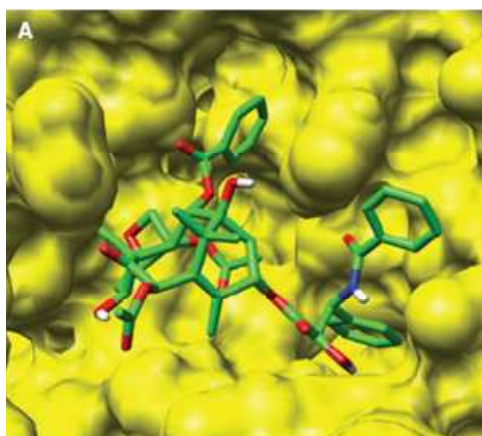


Fig. 20: Interazione del Paclitaxel con le subunità di β -tubulina.

1.4.3.2 Composti che si legano al sito di legame degli alcaloidi della Vinca

Dalla Vinca rosea sono stati estratti numerosi alcaloidi che posseggono un'elevata attività antitumorale. Tra questi composti vi sono la vincristina e la vinblastina (Fig. 21), utilizzati da oltre 20 anni in molti protocolli terapeutici per tumori ematologici e solidi.⁽²²⁾

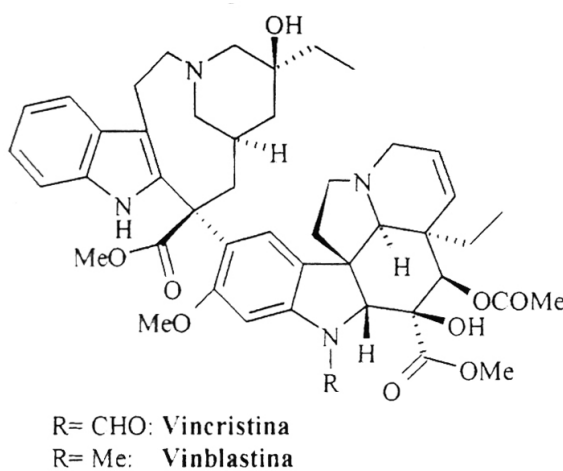


Fig. 21: Alcaloidi della Vinca.

L'attività biologica di questi farmaci può essere spiegata dalla loro capacità di legare la tubulina e di bloccare la capacità della proteina di polimerizzare a dare microtubuli.

Quando le cellule vengono incubate con vinblastina, si osserva, infatti, la dissoluzione dei microtubuli e la formazione di cristalli molto regolari che contengono una mole di vinblastina legata per ogni mole di tubulina (Fig. 22).

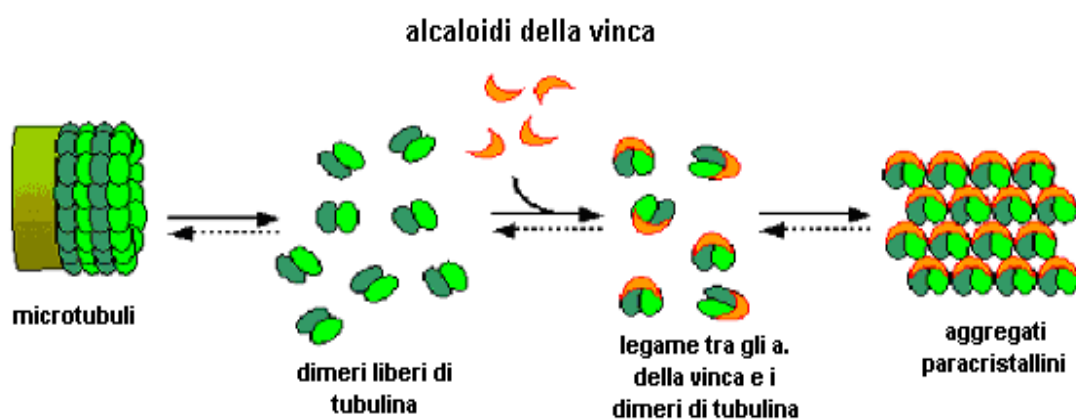


Fig. 22: Meccanismo d'azione degli alcaloidi della Vinca.

A causa dell'alterata funzione dei microtubuli dell'apparato mitotico, la divisione cellulare viene bloccata in metafase. In assenza di fuso mitotico integro, infatti, i cromosomi si possono disperdere nel citoplasma (esplosione mitotica) o possono associarsi in raggruppamenti anomali a forma di palla o di stella. Sia le cellule normali che quelle tumorali, quando esposte agli alcaloidi della vinca, vanno quindi incontro ad alterazioni tipiche dell'apoptosi.⁽²¹⁾

Tra gli altri alcaloidi di origine naturale che si legano allo stesso sito degli alcaloidi della vinca ricordiamo la halichondrina,⁽²³⁾ che funge da inibitore non competitivo, la spongistatina⁽²⁴⁾ e la pironetina (Fig. 23).⁽²⁵⁾ Quest'ultima, oltre a legarsi al sito degli alcaloidi della vinca, si lega anche a quello della colchicina, inibendo la formazione dei microtubuli in modo dose-dipendente.⁽²⁶⁾

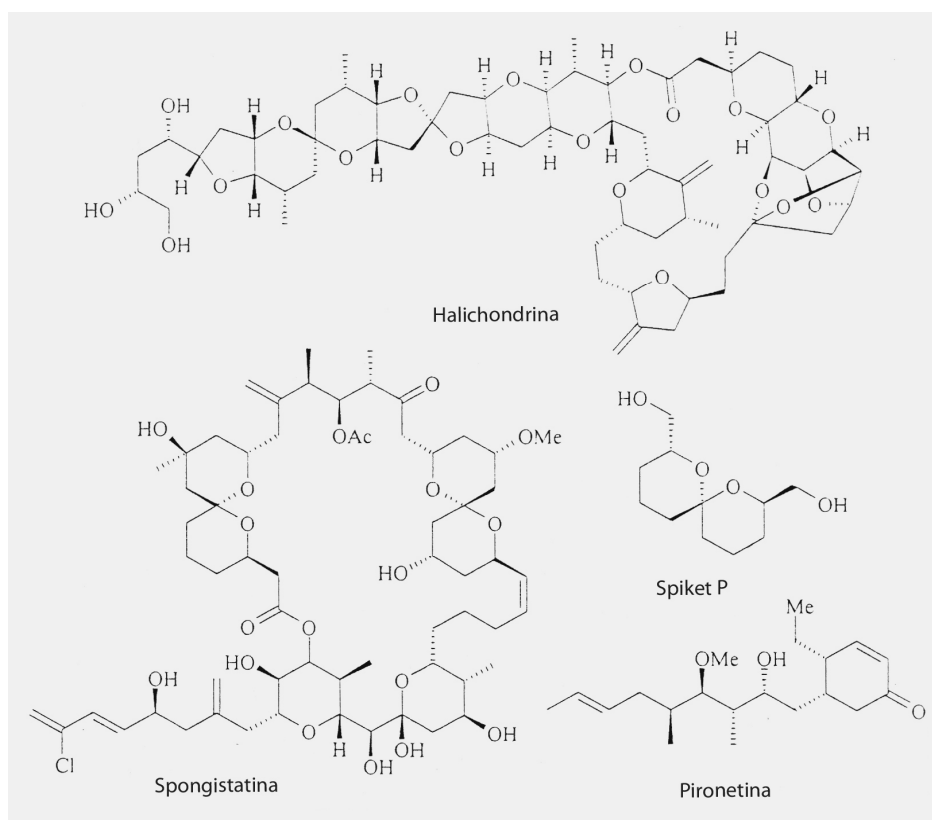


Fig. 23: Derivati naturali che si legano al sito degli alcaloidi della Vinca.

1.4.3.3 Composti che si legano al sito di legame della Colchicina

La colchicina è un composto naturale che viene estratto dal *Colchicum autumnale*, che ha trovato un largo impiego anche in epoca pre-moderna per la terapia della gotta.

Anche se non viene utilizzata oggi clinicamente (per la sua elevata tossicità), riveste tuttavia un importante significato storico perché è lo strumento farmacologico che ha consentito di identificare la tubulina e di analizzare i primi dettagli della regolazione della funzione dei microtubuli.⁽²²⁾

Tra i tanti composti che si legano su questo stesso sito ricordiamo le statine ed in particolare il composto naturale combrestatina A-4⁽²⁷⁾ da cui deriva, per ossidazione di Jacobsen, la fenstatina (Fig. 24).⁽²⁸⁾

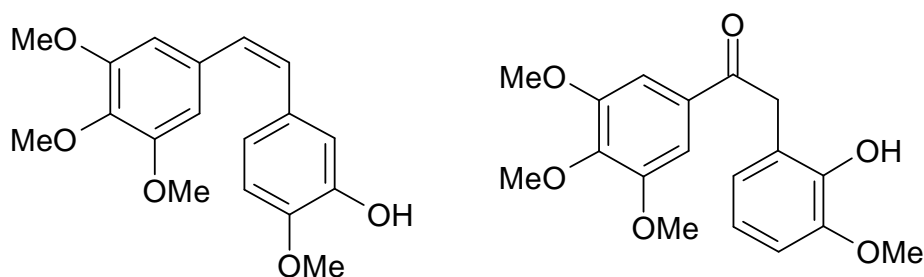


Fig. 24: Combrestatina e Fenstatina.

1.4.4 Ormonoterapia

L'impiego clinico dell'ormonoterapia riguarda principalmente il trattamento di neoplasie epiteliali derivate da organi la cui crescita e funzione è già fisiologicamente sotto il controllo ormonale (quali la mammella, la prostata e l'endometrio). Tali tumori rappresentano per incidenza circa il 20-25 % di tutte le neoplasie dell'adulto.⁽²⁹⁾ Tra le categorie di farmaci utilizzati in ormonoterapia si ricordano:

Adrenocorticosteroidi: a causa dei loro effetti linfolitici e della loro capacità d'inibire la mitosi nei linfociti, la principale utilità di questi steroidi è nel trattamento della leucemia acuta dei bambini e del linfoma maligno. Questi ormoni sono inoltre particolarmente efficaci nel trattamento dell'anemia emolitica franca e nelle complicanze emorragiche della trombocitopenia che frequentemente accompagnano i linfomi maligni e la leucemia linfocitica cronica. Tra i corticosteroidi utilizzati in clinica ricordiamo il desametasone (Fig. 25);

Antiestrogeni: agiscono da inibitori competitivi del legame dell'estradiolo sui suoi recettori, inducendone un cambio conformazionale.⁽²¹⁾ Il tamoxifene (Fig. 25) rappresenta la terapia ormonale più comune per il trattamento del cancro alla mammella; può essere somministrato in combinazione con altre terapie ormonali note come inibitori dell'aromatasi;

Progestinici: il progesterone è un ormone femminile secreto naturalmente dall'organismo. I progestinici quali megestrolo acetato (*Megace*[®]) e medrossiprogesterone acetato (*Farlutal*[®], *Provera*[®]) (Fig. 25), si utilizzano nel trattamento del carcinoma mammario quando il tamoxifene non ha più effetto.⁽³⁰⁾ Il ciproterone acetato (Fig. 25) è anch'esso un derivato progestinico ma la sua maggiore utilizzazione riguarda il cancro alla prostata;

Estrogeni e androgeni: alte dosi di estrogeno, in genere, sono risultate più attive degli androgeni nella terapia ormonale del cancro alla mammella nelle donne in periodo di post-menopausa. A questo scopo vengono utilizzati indifferentemente il diestilbestrolo e

l'etinilestradiolo (Fig. 25). È da sottolineare che solo alte dosi di estrogeni inibiscono il tumore mammario, mentre piccole dosi di tali ormoni addirittura favoriscono la sua crescita.

Gli estrogeni sono anche utilizzati nel trattamento del tumore alla prostata. Come è noto la crescita ed il funzionamento della prostata sono regolati dall'azione degli ormoni androgeni, di conseguenza il fine della terapia anticancro ormonale in questo caso è quello di antagonizzare gli stimoli prodotti dagli ormoni androgeni.

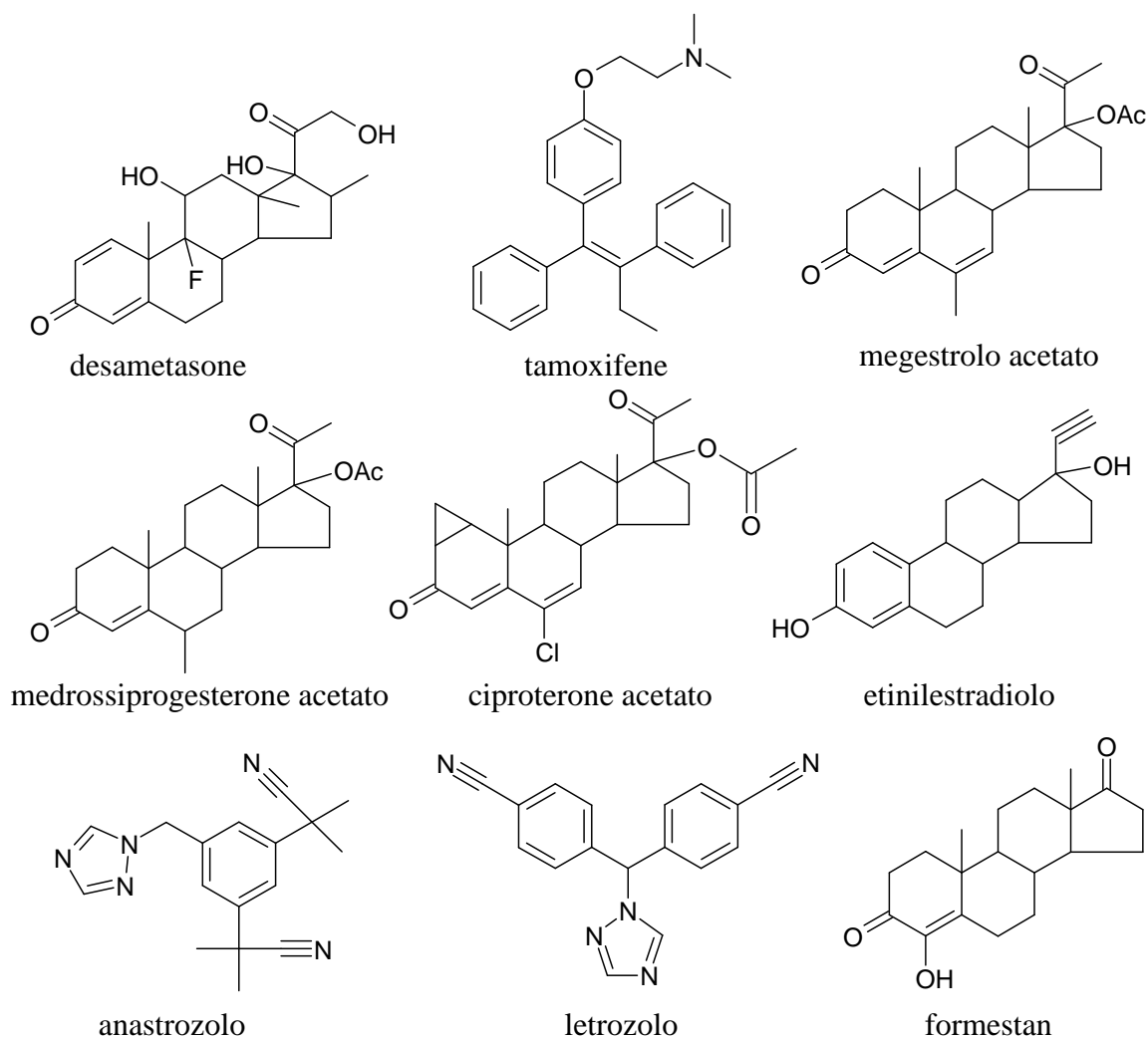


Fig. 25

Recenti scoperte nella terapia endocrina del tumore della mammella hanno dimostrato i benefici effetti dell'inibizione dell'enzima aromatasi, un enzima citocromo P₄₅₀ dipendente che catalizza lo stadio finale della biosintesi degli estrogeni.⁽¹⁴⁾ Tra i farmaci più comunemente utilizzati come inibitori dell'aromatasi si ricordano l'anastrozolo (*Arinidex*[®]), il letrozolo (*Femara*[®]) ed il formestan (*Lentaron*[®]).

Tali farmaci, in genere, non causano molti effetti collaterali, sebbene la loro assunzione sia accompagnata dalla comparsa di vampate di calore, nausea e dolori articolari. Oggi vengono utilizzati a volte al posto del tamoxifene come terapia ormonale di prima linea per il carcinoma mammario secondario in donne in post-menopausa.⁽³⁰⁾

1.4.5 Enzimi

La *L-asparaginasi* costituisce il primo esempio di farmaco antitumorale il cui meccanismo d'azione non comporta l'inibizione dell'accrescimento e della moltiplicazione cellulare. Questo enzima catalizza la scissione della L-asparagina in acido aspartico ed ammoniaca e priva quindi le cellule asparagino-dipendenti di un aminoacido indispensabile alla loro vita.

Come è noto, per le cellule sane questo non è un aminoacido essenziale, al contrario per la maggior parte delle cellule leucemiche e per un numero molto limitato di tumori solidi, la carenza di asparagina provocherebbe l'estinzione di diversi ed importanti processi metabolici, con conseguente distruzione delle cellule tumorali stesse.

La *L-asparaginasi*, prodotta su larga scala in Germania e negli USA usando come fonte l'*Escherichia coli*, presenta per ovvie ragioni uno spettro d'azione limitato e trova applicazione quasi esclusiva nel trattamento delle leucemie acute linfoblastica e mieloblastica.

1.4.6 Farmaci intercalanti il DNA ed inibitori delle Topoisomerasi

Essendo il presente lavoro rivolto principalmente allo studio ed alla sintesi di molecole analoghe all'Ellipticina (vedi capitolo IV) quali potenziali intercalanti del DNA ed inibitori della Topoisomerasi II, tali farmaci saranno trattati più esaurientemente nel capitolo successivo.

CAPITOLO II

FARMACI INTERCALANTI IL DNA ED INIBITORI DELLE TOPOISOMERASI

2.1 Introduzione

Tra i farmaci impiegati per la terapia antitumorale rivestono un importante ruolo quelli che agiscono con un meccanismo che coinvolge gli acidi nucleici, in particolare il DNA.

Negli ultimi anni, numerosi sforzi sono stati rivolti alla progettazione ed alla sintesi di ligandi d'origine sintetica capaci di riconoscere specifiche sequenze del DNA. In particolare, i ligandi del solco minore del DNA rappresentano un'importante classe di composti dotati di numerose attività biologiche; alcuni di questi derivati possiedono interessanti proprietà antitumorali di potenziale interesse terapeutico.

Grazie all'ausilio di tecniche sperimentali per la determinazione della selettività di binding al DNA, quali l' NMR, la diffrattometria ai raggi X, il footprinting, è stato possibile determinare la natura dei processi chimici coinvolti durante l'interazione di queste sostanze con il DNA.

Queste conoscenze, hanno permesso sicuramente di sintetizzare "target" selezionati con buone proprietà sia in modelli sperimentali *in vitro* che *in vivo* rendendo tuttavia necessario l'approfondimento dello studio del meccanismo d'azione di tali molecole al fine di renderle selettive nei confronti delle cellule tumorali.⁽³¹⁾

Negli ultimi quindici anni si è assistito ad un'amplificazione di conoscenze che riguardano la biologia dei tumori, con l'identificazione d'oncogeni, di geni oncosoppressori, di geni che codificano per proteine coinvolte nella riparazione del DNA, nella regolazione del ciclo cellulare, nel differenziamento e morte cellulare.⁽²²⁾ Mutazioni del codice genetico a livello di tali geni, causate da fattori chimici o fisici, possono causare uno sbilanciamento nell'espressione di tali geni rendendoli oncogeni.

Molte ricerche condotte finora hanno dimostrato che il primo evento per l'azione di molti farmaci antitumorali è il legame, reversibile o irreversibile, al DNA. Tale legame può essere di tipo intercalativo:

la molecola di farmaco s'inserisce tra le coppie di basi della doppia elica;

il farmaco può legare un solco, maggiore o minore (del DNA);

il composto può alchilare una o più basi azotate.

Tra i diversi farmaci che interagiscono con il DNA una particolare importanza riveste la classe degli intercalanti: composti con strutture chimiche varie aventi la capacità di legarsi

strettamente ma reversibilmente al DNA, causando danni allo stesso ed impedendo la replicazione delle cellule tumorali.

Tali farmaci sono anche inibitori delle Topoisomerasi e, anche capaci di produrre radicali liberi (come ad esempio il bromuro d'etidio (Fig. 26)) che in seguito ad interazioni ad idrogeno con le basi del DNA danno luogo a mutazioni come: delezioni e inserzioni (Fig. 27).⁽³¹⁾

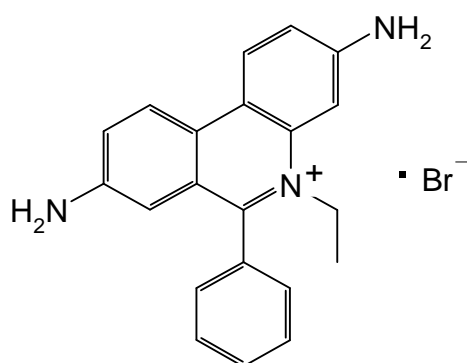
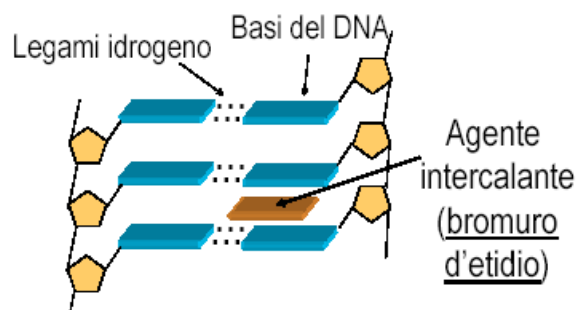


Fig. 26: Bromuro d'etidio.

Agenti intercalanti

Si inseriscono tra le basi del DNA.



Agenti intercalanti portano a piccole delezioni e inserzioni durante la replicazione del DNA .

Fig. 27: Meccanismo d'azione del bromuro d'etidio.

Gli intercalanti più utilizzati sono: le antracicline, il mitoxantrone, le actinomicine, le amsacrine, la bleomicina, la plicamicina, l'ellipticina, ecc.

2.2 Le antracicline

Le antracicline sono farmaci antitumorali appartenenti alla categoria degli antibiotici citotossici, ovvero un gruppo di farmaci, isolati da colture di *Streptomyces peucetius* var. *caesius*, la cui azione antineoplastica è dovuta principalmente all'intercalazione nel DNA dando conseguenti danni ed avvio dell'apoptosi.⁽³²⁾

I primi derivati antraciclinici ad essere scoperti ed utilizzati in terapia, sono stati la doxorubicina (o adriamicina) e la daunorubicina (o daunomicina) (Fig. 28).

Dal punto di vista strutturale, gli antibiotici antraciclinici sono caratterizzati da una porzione agliconica, derivato tetraidrotetracenchinonico planare, legata attraverso un legame glicosidico all' atomo C7, ad un ammino-zucchero "daunosamina".

Tutti i composti citotossici di questa classe presentano gruppi chinonici ed idrochinonici, che consentono loro di funzionare come accettori e donatori d'elettroni.

Le strutture molecolari delle due prime antracicline impiegate (la doxorubicina e la daunorubicina) differiscono in uno dei sostituenti terminali (Fig. 28).

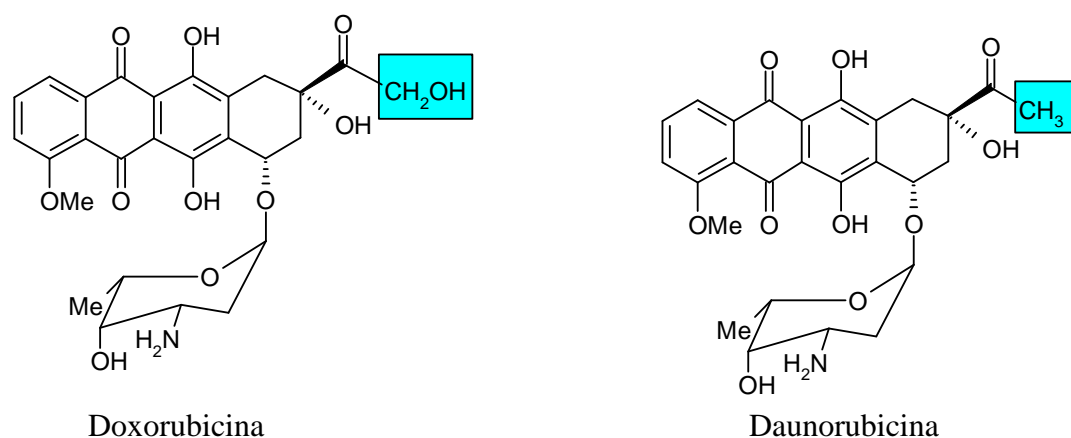


Fig. 28

Tale differenza strutturale ha importanti conseguenze sullo spettro d'azione dei due antibiotici citotossici.

L'effetto citotossico delle antracicline sulle cellule tumorali è dovuto a meccanismi d'azione diversi, tra i quali:

- Capacità di legame con il DNA per intercalazione;
- Interazione con gli enzimi Topoisomerasi;
- Formazione di radicali liberi, che danneggiano le membrane cellulari, attraverso un processo enzimatico di riduzione;

- Capacità di legame ai lipidi della membrana cellulare con alterazione della fluidità e del trasporto degli ioni;
- Capacità di legame alle proteine plasmatiche.

Il principale meccanismo d'azione con cui le antracicline esplicano la loro azione citotossica è comunque da ricondurre alla loro attività d'intercalanti.

Durante l'intercalazione, la molecola con il suo nucleo planare si inserisce in maniera parallela alle coppie adiacenti di basi determinando così un parziale srotolamento della doppia elica del DNA.

La presenza d'un agente intercalante nel DNA va a perturbare anche l'azione delle Topoisomerasi impedendo così l'avvolgimento delle due catene.

Le Topoisomerasi sono infatti enzimi nucleari responsabili del rilassamento della sequenza di DNA, rilassamento necessario per la sua lettura durante la replicazione e la trascrizione.

Essi agiscono spezzando uno (Topoisomerasi I) (Fig. 29) o due (Topoisomerasi II) (Fig. 30)⁽¹⁸⁾ filamenti del DNA rompendo il legame 3' o 5' fosfoestereo. Tale reazione viene catalizzata dall'enzima mediante una transesterificazione con una tirosina. Più dettagliatamente, la molecola di DNA si lega all'interno della cavità della Topoisomerasi contenente un residuo di tirosina. Attraverso il gruppo ossidrilico della tirosina stessa si ha la formazione di un legame fosfodiesterico con un gruppo fosforico di uno dei due filamenti di DNA.

Il successivo riarrangiamento della struttura enzimatica permette il disavvolgimento/riavvolgimento della doppia elica mediante il passaggio d'uno (Topoisomerasi I) o due (Topoisomerasi II) filamenti attraverso il taglio.⁽³¹⁾

Il ripristino del legame fosfoestereo rotto, infine, riunisce i due tronconi del DNA lasciando una sezione di DNA rilassato pronto per il processamento.

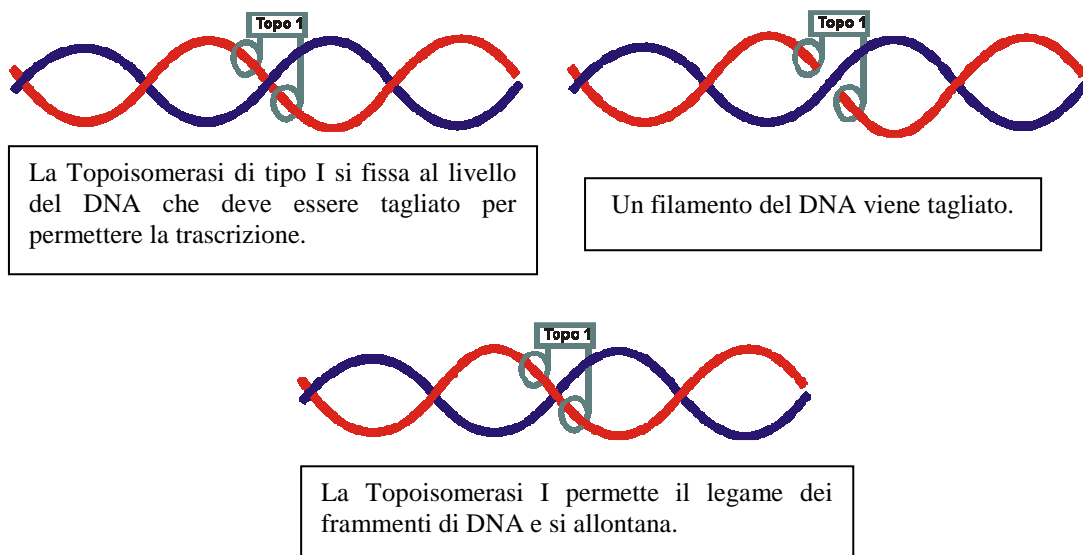


Fig. 29: Meccanismo d'azione della Topoisomerasi I.

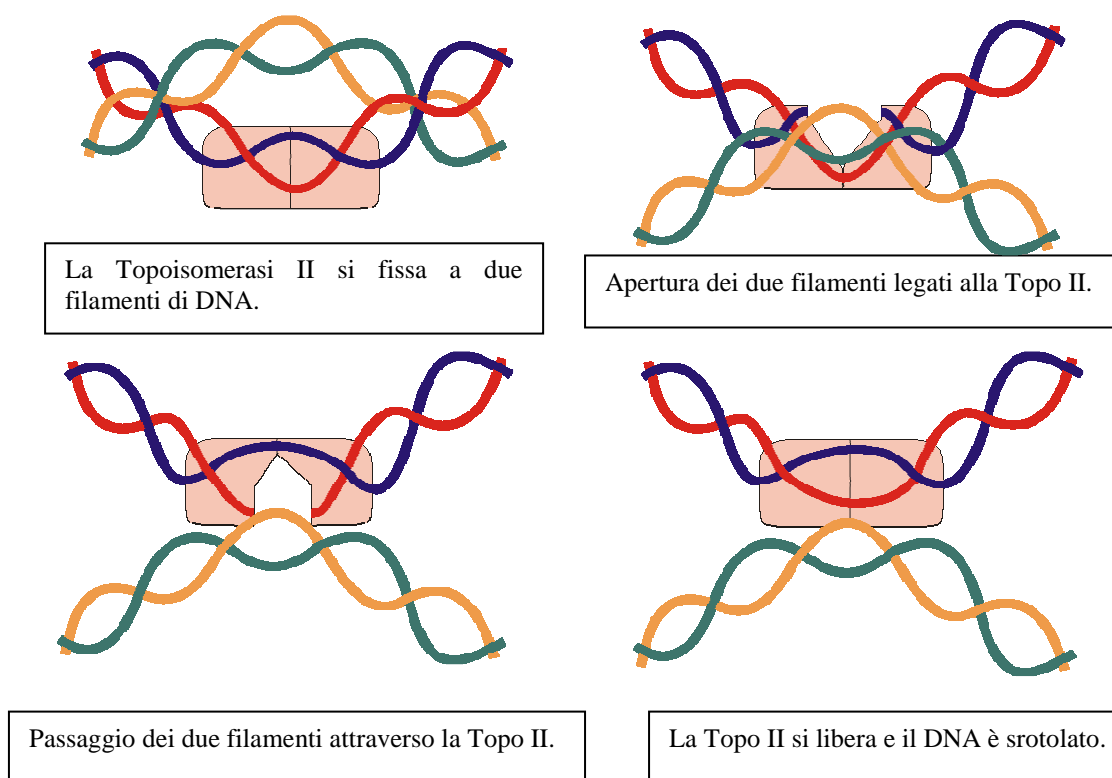


Fig. 30: Meccanismo d'azione della Topoisomerasi II.

Le antracicline, dopo essersi intercalate nella doppia elica, vanno a localizzarsi all'interfaccia tra il sito attivo della Topoisomerasi II ed il sito "cleavage" del DNA, interagendo sia con l'uno che con l'altro. La doxorubicina ad esempio, interagisce con la Topoisomerasi II che viene intrappolata nel DNA mediante legame covalente, formando

così un complesso ternario stabile: farmaco-enzima-DNA, detto “*cleavable complex*”, che rende più difficile la riunificazione dei filamenti (Fig. 31 e Fig. 32).

Di conseguenza, vengono inibiti la sintesi del DNA, dell’RNA e delle proteine e viene indotta in tal modo la morte programmata delle cellule tumorali.

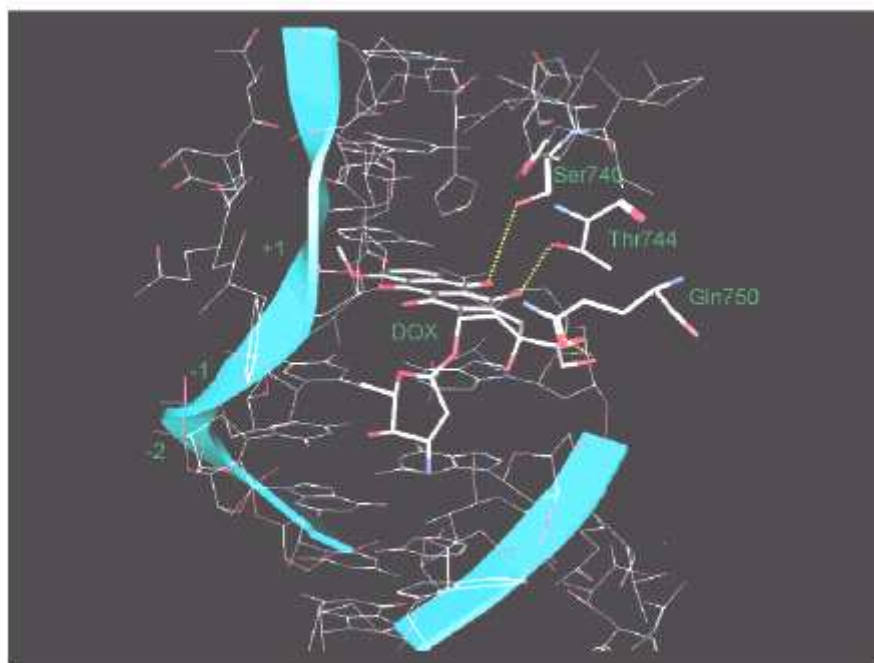


Fig. 31: Interazione della doxorubicina con la Topoisomerasi II.

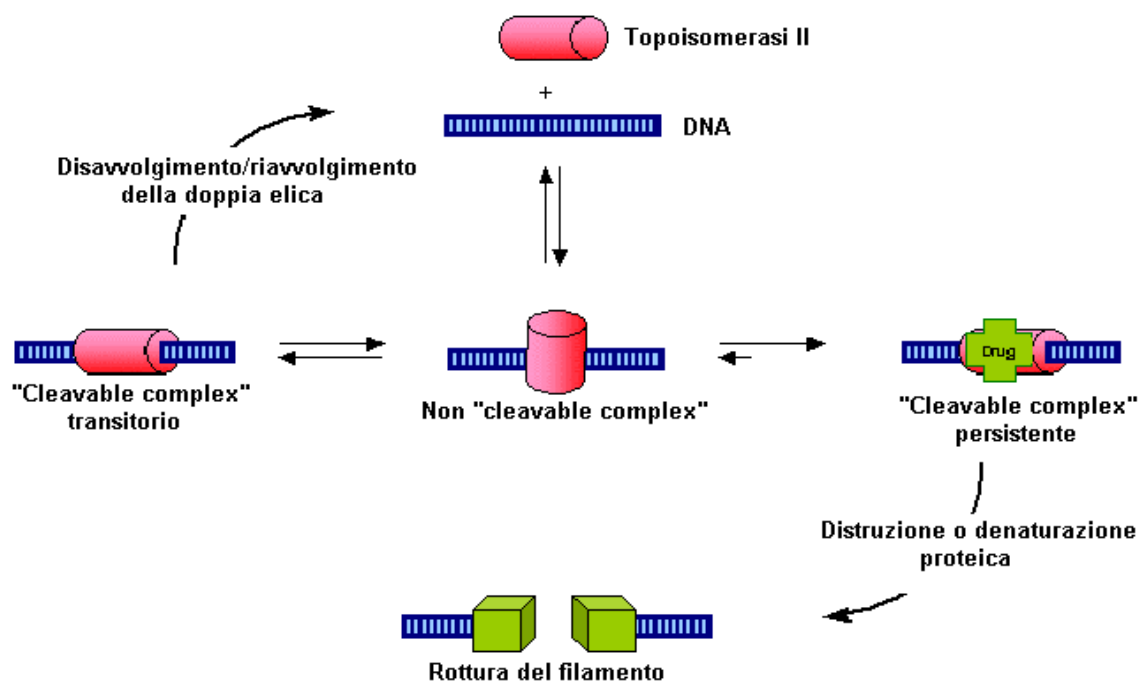


Fig. 32: Legame farmaco-enzima-DNA.

La rottura del DNA oltre che dall'azione dell'enzima Topoisomerasi II può essere mediata dalla generazione dei radicali liberi.

Le antracicline, infatti, reagiscono con la citocromo P₄₅₀ riduttasi in presenza di NADPH generando radicali intermedi semichinonici che, a loro volta, possono reagire con l'ossigeno per produrre radicali anionici superossidi. Questi, possono generare sia perossido di idrogeno sia radicali ossidrilici estremamente lesivi per la cellula.

La produzione di radicali è favorita dall'interazione della doxorubicina con il ferro.

2.2.1 Doxorubicina e Daunorubicina: impieghi terapeutici

La doxorubicina cloridrato viene somministrata ad una dose di 60-75 mg/m² mediante infusione singola e rapida ripetuta dopo 21 giorni. Il farmaco deve essere somministrato con attenzione per prevenire il travaso, poiché si può avere azione vescicante locale e necrosi tissutale.

Essa è efficace nel trattamento delle leucemie acute e del linfoma maligno; al contrario della daunorubicina, che è efficace anche contro numerosi tumori solidi, (in particolare il tumore della mammella).

La doxorubicina rappresenta, probabilmente, il miglior farmaco disponibile per il trattamento del carcinoma metastatico della tiroide; il farmaco ha mostrato attività anche nei carcinomi di endometrio, testicoli, prostata, cervice, testa e collo, e nei mielomi.

La daunorubicina cloridrato invece, viene somministrato ad una dose di 30-60 mg/m² al giorno per 3 giorni mediante iniezione endovenosa.

Tale farmaco è molto utile nel trattamento della leucemia linfocitica acuta e granulocita acuta. E' tra i farmaci più attivi nel trattamento della leucemia mieloblastica acuta negli adulti; ha mostrato una certa attività contro i tumori solidi dei bambini e contro i linfomi, mentre la sua attività contro i tumori solidi degli adulti sembra essere minima.

Le manifestazioni tossiche della doxorubicina e della daunorubicina sono simili, infatti, entrambe provocano: mielodepressione, stomatite, alopecia, disturbi gastrointestinali e manifestazioni dermatologiche.

Un effetto collaterale caratteristico degli antibiotici antraciclinici è la tossicità cardiaca caratterizzata da: tachicardia, aritmie, dispnea, ipotensione ed insufficienza cardiaca.⁽²¹⁾

2.2.2 Altri derivati antraciclinici

Altri derivati antraciclinici utilizzati in terapia sono: l'epirubicina e l'idarubicina (Fig. 33).

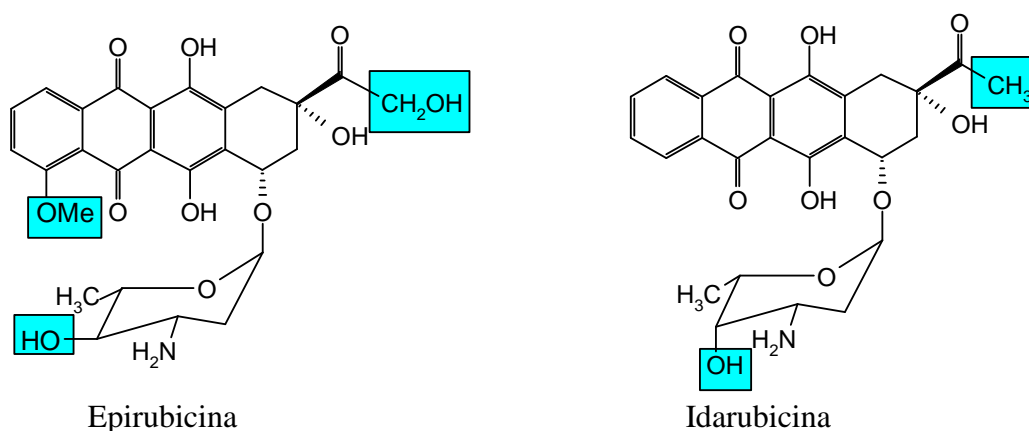


Fig. 33: Altri derivati antraciclinici.

L'epirubicina è un derivato strutturale della doxorubicina. Studi clinici suggeriscono che è altrettanto efficace nel trattamento del tumore della mammella. Come la doxorubicina, è somministrata anche per instillazione endovesicale. La dose massima cumulativa raccomandata è di 0,9-1 g/m² per evitare la cardi tossicità.⁽³³⁾

Gli effetti collaterali sono: riduzione della funzionalità del midollo osseo (anemia, tendenza a sviluppare ecchimosi, emorragie ed infezioni); caduta dei capelli; nausea e vomito; ulcere del cavo orale; ecc.

L'idarubicina o 4-demetossidaunorubicina, derivato sintetico della daunorubicina, è ottenuta mediante eliminazione del gruppo metossilico al C4 dell'anello agliconico; ha uno spettro d'attività più ampio rispetto alla daunorubicina e ciò potrebbe essere attribuito alla sua maggiore lipofilità. Tale antraciclina può essere somministrata per via endovenosa e per via orale.

In particolare, l'idarubicina cloridrato viene somministrata per infusione endovena in associazione con la citarabina (la dose raccomandata è di 12 mg/m² al giorno per 3 giorni). Essa, viene prima metabolizzata a idarubicinolo, che si accumula nel plasma ed ha attività simile al composto di partenza.⁽²¹⁾

2.2.3 Analoghi strutturali della Doxorubicina

Oltre alle antracicine sono in fase sperimentale per la cura dei tumori alcuni farmaci intercalanti il DNA come il mitoxantrone ed il bisantrene, derivati dell'antracene.

- Il mitoxantrone (Fig. 34) è un agente intercalante che esercita la sua azione antitumorale stimolando la formazione di rotture dei filamenti di DNA; questo processo è mediato dalla Topoisomerasi II.

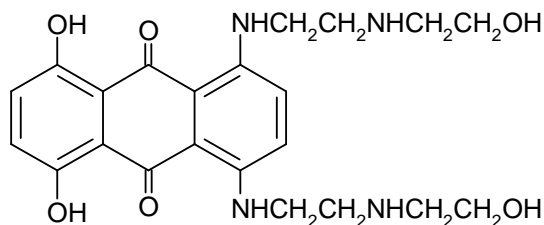


Fig. 34: Mitoxantrone.

Inoltre, è un potente agente immunosoppressore, come tale agisce inibendo la moltiplicazione cellulare, sopprimendo la risposta delle cellule B e dei linfociti T helper e modulando altre cellule e sostanze del sistema immunitario.

Il suo spettro d'attività antitumorale è limitato alle leucemie acute non-linfocitarie, al tumore della prostata ormone resistente ed al tumore della mammella metastatico, in quest'ultimo caso, produce percentuali di risposta inferiori rispetto alla doxorubicina quando impiegato da solo.⁽²¹⁾

Il mitoxantrone è autorizzato (in Gran Bretagna ed in Italia) anche per il trattamento del linfoma non Hodgkin e della leucemia non linfocitica degli adulti.⁽³³⁾

Viene somministrato per via endovenosa attraverso una cannula (un tubicino sottile che viene introdotto nella vena) ma può essere somministrato anche attraverso il catetere venoso centrale che viene inserito sotto cute in una vena vicino alla clavicola.⁽³⁴⁾ La dose giornaliera raccomandata è di 12 mg/m² per 3 giorni spesso in associazione alla citosina arabinoside.

Gli effetti collaterali sono: mielodepressione acuta, mucosite, temporanea riduzione della funzionalità del midollo osseo, dolore o ulcere del cavo orale, alopecia (effetto raro riscontrabile in meno del 3% dei pazienti trattati con tale farmaco); nausea, vomito e cardiotossicità (dose dipendente) in misura minore rispetto a quelli causati dalla doxorubicina. Bisogna dire, inoltre, che dopo somministrazione cumulativa ad alte dosi il mitoxantrone è riconosciuto come causa di scompenso cardiaco congestizio e di morte cellulare.⁽²¹⁾

- Il bisantrene: è un intercalante utilizzato principalmente nel trattamento delle leucemie acute mieloblastiche. Fortemente legato alle proteine, viene eliminato

principalmente per via biliare. Viene somministrato per via venosa, in particolare mediante un catetere venoso centrale che consente di ridurre la tossicità locale.⁽³⁵⁾

2.3 Le actinomicine

Le actinomicine sono cromo-peptidi: la maggior parte di esse contiene lo stesso cromoforo, il fenossazone planare “actinocina”, che è responsabile del colore giallo-rosso di questi composti.

Le differenze con le actinomicine naturali si limitano alle catene laterali peptidiche ed in particolare alla struttura degli amminoacidi che le costituiscono.

Variando il contenuto in amminoacidi del mezzo di coltura è possibile ottenere actinomicine differenti e con diversa attività biologica.

La prima actinomicina isolata dal brodo di coltura di ceppi di *Streptomyces* è stata l’actinomicina A; successivamente sono stati identificati molti altri antibiotici tra cui la dactinomicina (actinomicina D) (Fig. 35).

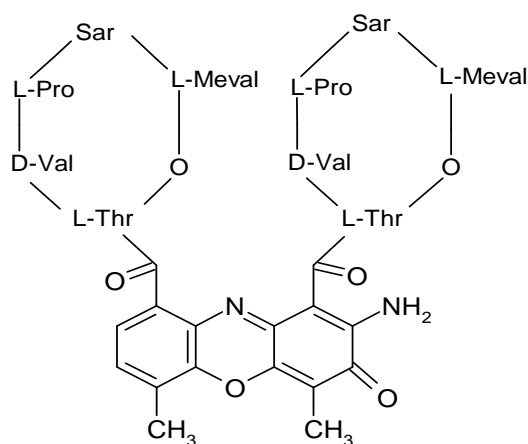


Fig. 35: Dactinomicina (actinomicina D).

L’attività biologica e la citotossicità delle actinomicine si basa sulla loro capacità di legarsi alla doppia elica del DNA.

L’anello fenossazonico planare s’intercala tra coppie adiacenti di guanina-citosina nel DNA.

A causa del legame della dactinomicina alla doppia elica del DNA la trascrizione di quest’ultimo ad opera della RNA-polimerasi si blocca. Inoltre, la dactinomicina causa

frammentazioni dei singoli filamenti di DNA, probabilmente attraverso un radicale libero intermedio o a causa della Topoisomerasi II.

Tale farmaco, presenta anche un'azione citotossica: inibisce le cellule in rapida proliferazione d'origine normale o neoplastica, per queste ragioni è tra le più potenti sostanze ad attività antitumorale oggi note.

Il principale utilizzo clinico della dactinomicina è rappresentato dal trattamento delle neoplasie pediatriche, in particolare, del rhabdomyosarcoma e del tumore di Wilms, in cui è curativa in associazione con la chirurgia primaria, radioterapia ed altri farmaci come la vincristina e la ciclofosfamide.

Un'attività neoplastica è stata osservata nel tumore d'Ewing, nei sarcomi dei tessuti molli; può essere efficace in donne con coriocarcinomi in stadio avanzato, in pazienti con carcinoma metastatico del testicolo in associazione con la clorambucile ed il metotrexato; risulta scarsamente efficace in altre neoplasie dell'adulto.

La dactinomicina è molto meno efficace se somministrata per via orale, per tale motivo si preferisce somministrarla per via parenterale mediante il catetere d'una fleboclisi oppure, per iniezione endovenosa diretta.

Dal punto di vista farmacocinetico il farmaco presenta una distribuzione rapida ed un metabolismo lento essenzialmente per via biliare.⁽²¹⁾

Gli effetti collaterali più comuni sono: diarrea, ulcerazioni della mucosa orale, manifestazioni dermatologiche come eritema, desquamazione, aumento della pigmentazione nelle aree sottoposte in precedenza o contemporaneamente a radiazioni; anoressia, nausea e vomito, che compaiono di solito poche ore dopo la somministrazione.

2.4 Le amsacrine

L'amsacrina è un derivato acridino; agisce intercalandosi con il DNA mediante interazione con la Topoisomerasi II e formazione di legami esterni di tipo elettrostatico.

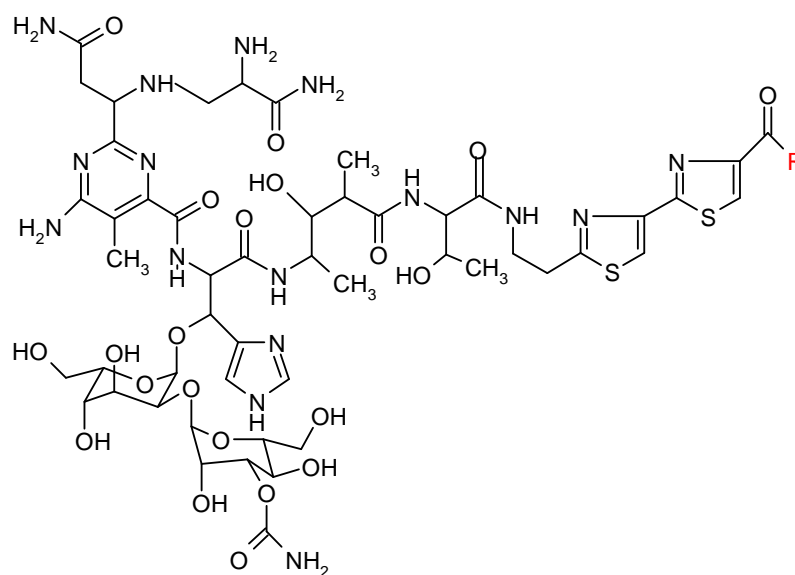
Tale farmaco, somministrato per via endovenosa, ha attività ed effetti tossici simili a quelli della doxorubicina. Viene impiegata principalmente nella leucemia mieloide acuta.

Gli effetti tossici includono: mielodepressione e mucosite; si sono verificati anche casi di aritmie mortali per ipopotassemia.⁽³⁴⁾

2.5 Le bleomicine

Le bleomicine rappresentano un importante gruppo di antitumorali. Il farmaco attualmente impiegato in clinica è una miscela di due peptidi chelanti del rame, bleomicina A₂ e B₂ (Fig. 36).

Esse sono glicopeptidi basici solubili in acqua, che differiscono solo nel loro terminale amminico, che può essere modificato per aggiunta di ammine diverse al brodo di fermentazione.



| R | |
|-----------------------------|---|
| Bleomicina acido: | —OH |
| Bleomicina A ₂ : | $\text{—NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{—S}^+\begin{matrix} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{matrix}$ |
| Bleomicina B ₂ : | $\text{—NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NHC} \begin{matrix} \text{=NH} \\ \text{NH}_2 \end{matrix}$ |

Fig. 36: Bleomicine.

L'azione citotossica delle bleomicine deriva dalla loro abilità di causare frammentazioni del DNA. Tali composti provocano la rottura del DNA per interazione con O₂ e Fe²⁺. In presenza d'O₂ e di un agente riducente come il ditiotreitolo, il complesso

metallo-farmaco diventa attivato e funziona come un'ossidasi ferrosa, trasferendo elettroni dallo ione ferroso alle molecole di ossigeno e producendo specie di ossigeno attivate.

E' stato anche dimostrato che i complessi metallo-bleomicina possono essere attivati da una reazione con l'enzima flavinico, la NADPH-citocromo P₄₅₀ riduttasi.

La bleomicina si lega al DNA attraverso il suo peptide amino-terminale ed il complesso attivato genera radicali liberi che sono responsabili della rottura della catena del DNA.

La bleomicina è somministrata per via endovenosa o intramuscolare nel trattamento dei linfomi e d'alcuni tumori solidi; è usata per via intracavitaria per i versamenti neoplastici. Essa, è molto efficace nei confronti dei tumori delle cellule germinali del testicolo e dell'ovaio. Nel tumore del testicolo è curativa se utilizzata in associazione con il *cisplatino* e la *vinblastina*.

L'associazione con il *cisplatino* risulta essere estremamente efficace nella terapia del carcinoma a cellule squamose della testa e del collo, dell'esofago e dell'apparato genitourinario. Viene spesso utilizzata anche nella terapia combinata dei linfomi di Hodgkin e non Hodgkin.

La bleomicina causa una lieve depressione midollare, nausea, vomito ed ipertermia; possiede una significativa tossicità cutanea che include iperpigmentazione, ipercheratosi, eritema ed ulcerazione.

L'effetto indesiderato maggiore, legato all'uso della bleomicina, è la fibrosi polmonare progressiva. Tale evento dose-dipendente si verifica in particolare nei pazienti anziani sottoposti ad alte dosi di bleomicina; circa l'1% di tali pazienti muore a causa di questa complicanza.

2.6 La plicamicina

La plicamicina (Fig. 37) (inizialmente denominata mitramicina) è un antibiotico citotossico isolato da colture di *Strep. Plicatus* nel 1960.

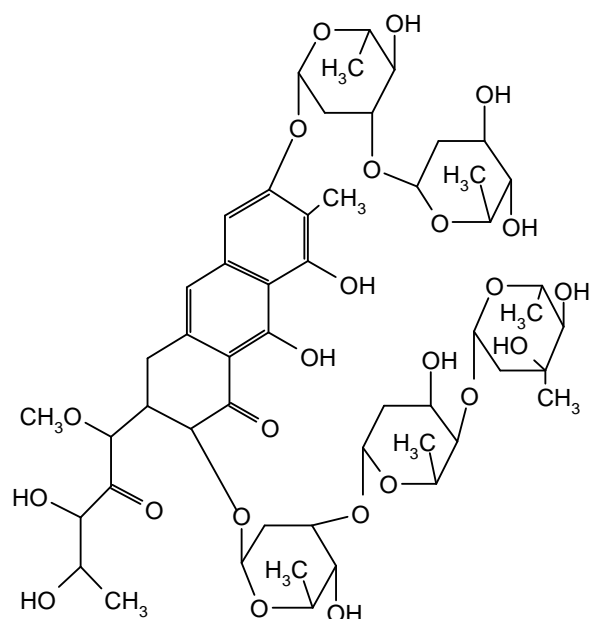


Fig. 37: Plicamicina.

Essa s'intercala nel DNA in modo analogo alla dactinomicina, con legame preferenziale con le coppie guanina-citosina. Questi due farmaci competono infatti per il medesimo sito di legame sul DNA.

La principale azione della plicamicina sembra consistere nell'inibizione della sintesi del RNA.

Somministrata a basse dosi, essa è in grado di ridurre le concentrazioni plasmatiche di Ca^{2+} in pazienti ipercalcemici; tale effetto specifico suggerisce che il farmaco possa esercitare un'azione diretta sul tessuto osseo, dove inibisce la liberazione di Ca^{2+} indotta dall'ormone paratiroideo.

Somministrata per via endovenosa è particolarmente utile nel trattamento di pazienti con ipercalcemia o ipercalciuria gravi associate a carcinomi avanzati o metastatici del tessuto osseo o che producono sostanze simili all'ormone paratiroideo.

Il suo impiego in pazienti con carcinoma testicolare disseminato, specialmente di tipo embrionale, è stato superato dall'avvento d'altri farmaci, quali vinblastina, cisplatino, ecc. A causa della sua grave tossicità, si può dire che, tale farmaco è di scarsa utilità nel trattamento delle neoplasie.

Gli effetti collaterali sono: danni a livello del tessuto osseo, nefrotossicità, tossicità epatica, manifestazioni cutanee e neurologiche, disturbi gastrointestinali, ecc.⁽²¹⁾

2.7 Nuovi farmaci inibitori delle Topoisomerasi I e II

Come già detto, la Topoisomerasi I è un enzima che risolve l'avvolgimento del DNA producendo e riparando delle interruzioni all'interno delle sue catene. La sua azione è importante nei processi di ricombinazione del DNA.

I farmaci inibitori della Topoisomerasi I (Fig. 38) causano, quindi, l'accumulo di rotture all'interno del DNA, con conseguente arresto del ciclo cellulare nella fase G2 (cioè la mitosi non ha luogo) e morte cellulare.

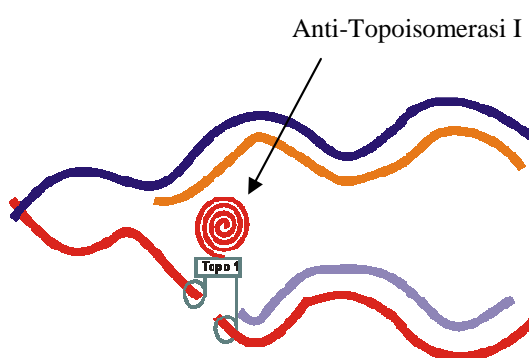


Fig.38: Azione degli anti-Topoisomerasi I: Impediscono la ricostruzione del filamento di DNA dopo il taglio inibendo così la sintesi corretta del DNA.

Tra i più recenti inibitori delle Topoisomerasi I, si ricordano l'irinotecan ed il topotecan (Fig. 39).⁽¹⁸⁾

Irinotecan cloridrato (Campto®) è un agente chemioterapico usato per il trattamento di alcune forme tumorali, soprattutto per i tumori del colon-retto. Esso è un farmaco semisintetico della campotecina (Fig.), derivato dalla pianta cinese *Camptotheca acuminata*, presenta come effetti collaterali principali diarrea (88%), nausea/vomito (85%), astenia (75%), mielosoppressione (65%) ed alopecia (60%).

Topotecan (Hycamtin®) anche'esso derivato semisintetico della campotecina, è indicato, in particolare, in caso di cancro ovarico e di microcitoma polmonare. Come effetti collaterali principali presenta neutropenia e trombocitopenia.

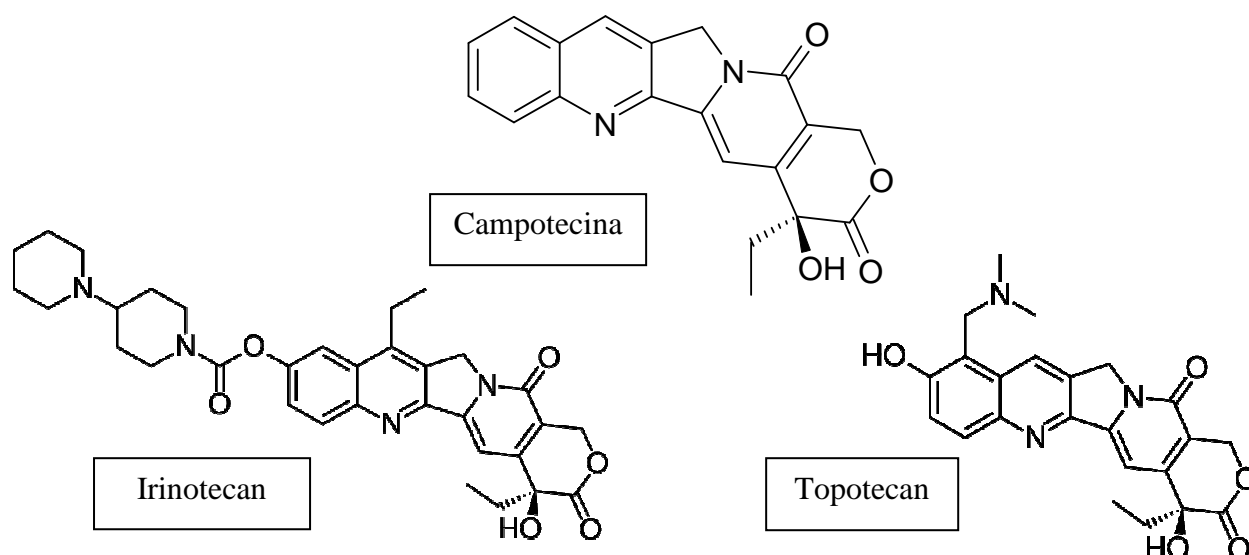


Fig. 39: Inibitori delle Topoisomerasi I.

Per quanto concerne invece, gli inibitori delle Topoisomerasi II (Fig. 40), oltre ai farmaci già menzionati, quali antracicline: doxorubicina, daunorubicina, epirubicina, idarubicina, mitoxantrone ecc, che causano l'accumulo di rotture all'interno del DNA a catena doppia, con conseguente inibizione della mitosi, è importante ricordare le epipodofillotossine: etoposide, teniposide (Fig. 41).

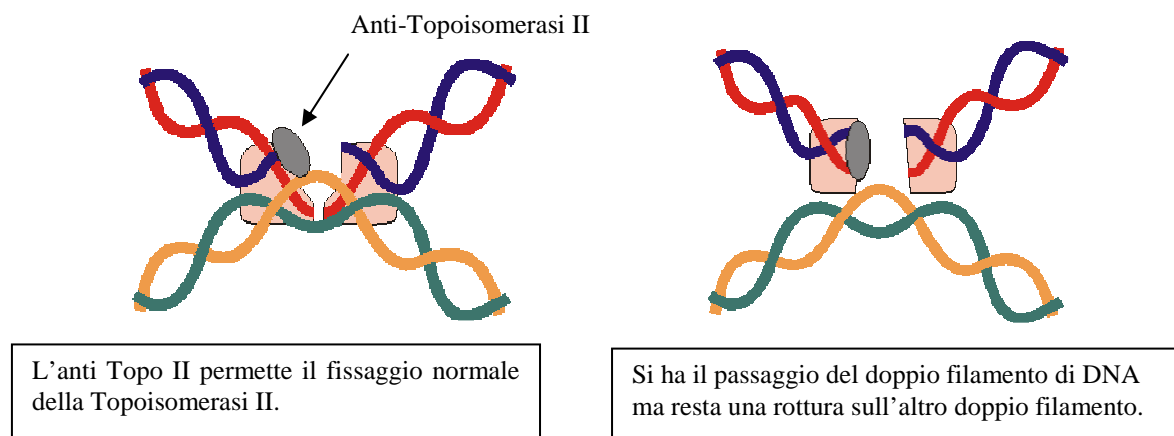


Fig. 40: Azione degli anti-Topoisomerasi II.

L'etoposide (Teva®, Lastex®, Vepesid®) ed il teniposide sono derivati semisintetici della podofillotossina, un composto estratto dalla pianta *Podophyllum peltatum*. L'etoposide è un agente chemioterapico appartenente alla categoria dei farmaci generici ed

è usato soprattutto per il trattamento del cancro della trachea (dei bronchi), dei linfomi e del testicolo. Esso deve essere somministrato lentamente (almeno in 30 minuti) se infuso per via endovenosa, altrimenti può determinare ipotensione. Presenta come effetti collaterali principali: mielosoppressione (specialmente neutropenia), nausea/vomito, diarrea, disfunzione epatica, reazioni da ipersensibilità, parotite. Il teniposide viene impiegato nella terapia della leucemia linfoblastica acuta, ed i suoi effetti tossici sono sovrapponibili a quelli dell'etoposide.⁽¹⁸⁾

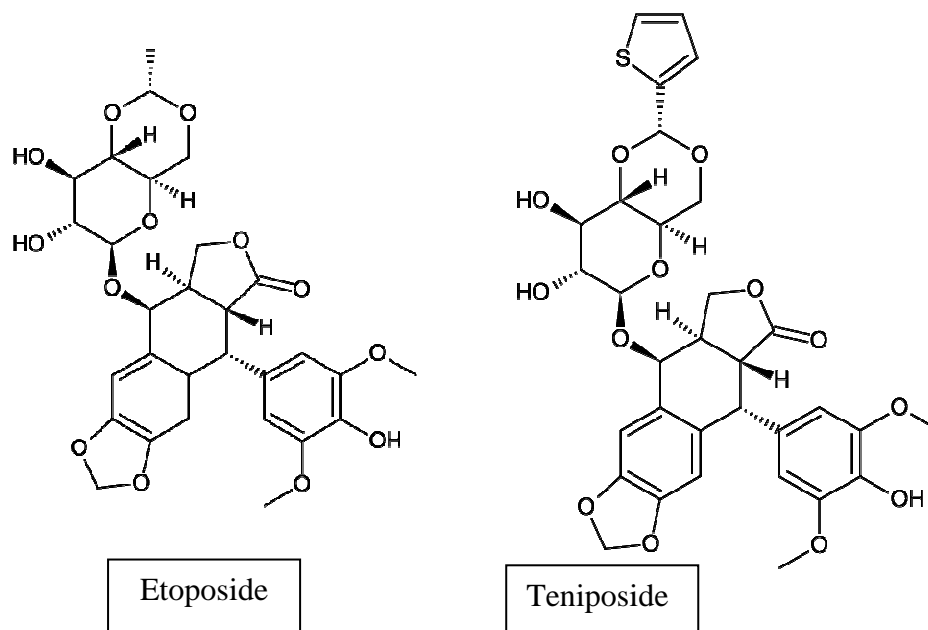


Fig. 41: Inibitori delle Topoisomerasi II.

2.8 Alcuni innovativi intercalanti del DNA

Gli intercalanti del DNA sono tra gli agenti chemioterapici più largamente utilizzati, ma presentano il grave inconveniente di danneggiare il cuore in modo irreversibile. Per tale motivo, recenti studi hanno consentito la modificazione strutturale e la progettazione di nuovi intercalanti del DNA più efficaci, e meglio tollerati soprattutto per quel che riguarda la tossicità cardiaca.⁽³¹⁾

Appartengono a questa piattaforma tre intercalanti innovativi:

1. *BBR* 2778;
2. *BBR* 3576;
3. *BBR* 3438.

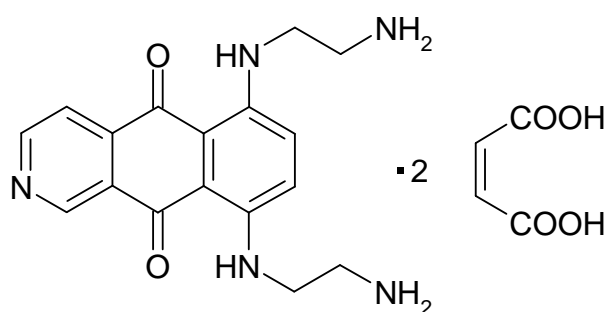
1. **BBR 2778** (Fig. 42):

Fig. 42

Presenta:

- Notevole attività in modelli preclinici di leucemie e linfomi, in particolare il linfoma non- Hodgkin (NHL);
- Efficacia nel trattamento di tumori solidi;
- Notevole attività in ematologia, in un ampio range di dosi;
- Notevole attività in combinazione con altri chemioterapici;
- Ridotto rischio di tossicità cardiaca (assenza di tossicità cardiaca cumulativa);
- Assenza di tossicità locale.

Nella tabella seguente (Tab. 2) sono riportate le differenze farmacocinetiche e farmacodinamiche tra la doxorubicina, il mitoxantrone ed il BBR 2778:

| <u>Efficacia:</u> | Doxorubicina | Mitoxantrone | BBR 2778 |
|--------------------------------|--------------|--------------|-----------------|
| Efficacia in ematologia | +++ | ++ | ++++ |
| Efficacia nei tumori solidi | ++/+++ | ++ | ++ |
| Tollerabilità (spec. cardiaca) | + | ++ | ++++ |

Tab. 2

Sperimentazioni cliniche effettuate sottoponendo più di 100 pazienti al trattamento con il BBR 2778 hanno consentito di evidenziare che tale farmaco presenta un buon indice terapeutico ed efficacia in ematologia e nei tumori solidi. Altre sperimentazioni internazionali, effettuate su 80 pazienti, hanno evidenziato che il BBR 2778 presenta inoltre:

- Buona tollerabilità (tossicità accettabile; depressione midollare dose-limitante);
- Attività a dosi adeguate (2 risposte complete e 2 parziali in 9 pazienti con linfoma avanzato e precedentemente pretrattati; 4 risposte minori in pazienti con tumori solidi).

2. **BBR 3576** (Fig. 43):

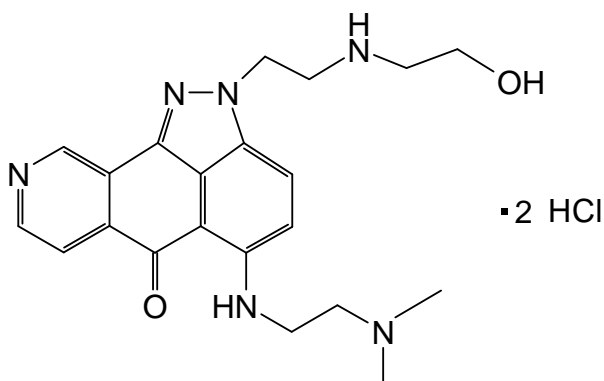


Fig. 43

Il BBR 3576 è stato ideato e sviluppato con lo scopo di migliorare l'efficacia e la sicurezza degli analoghi composti intercalanti d'uso corrente, ed ha fornito risultati preclinici e clinici incoraggianti, dimostrando anche esso un profilo favorevole d'attività nei tumori solidi.

3. **BBR 3438** (Fig. 44):

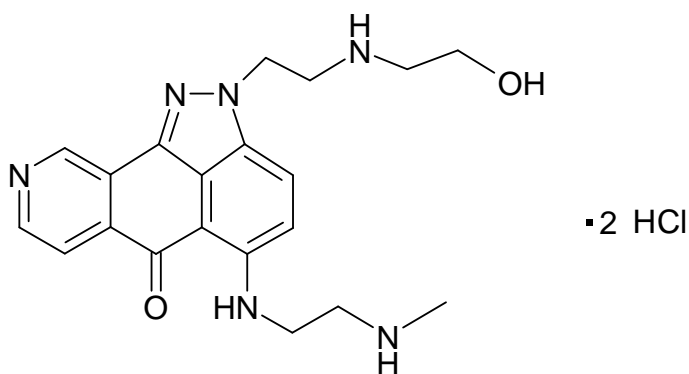


Fig. 44

Il BBR 3438 come il BBR 3576 presenta:

- Largo impiego ed ampia attività nei tumori solidi;
- Notevole efficacia in due patologie ad elevato "medical need" (tumore della prostata e dello stomaco);
- Minori effetti negativi sul cuore rispetto ad altri intercalanti.⁽³⁾

CAPITOLO III

FARMACI ANTINEOPLASTICI DI NUOVA GENERAZIONE

3.1 Introduzione

Negli ultimi anni la ricerca sui nuovi farmaci antineoplastici ha suscitato grandi aspettative per lo sviluppo di terapie più specifiche e meno tossiche. In particolare, i recenti progressi della biologia molecolare hanno consentito di studiare la differente espressione dei geni coinvolti nelle neoplasie (*genomica*) e delle proteine da essi prodotte (*proteomica*) al fine di determinare un dettagliato profilo molecolare delle neoplasie. La conseguente applicazione clinico-terapeutica di questi studi ha consentito (e consentirà in maniera ancora più rilevante in un futuro molto vicino) di personalizzare le terapie in base alla caratterizzazione biomolecolare del tumore, utilizzando farmaci selettivi che agiscono sui differenti bersagli espressi dallo stesso. Tali molecole colpiscono cioè le singole molecole alterate (fattori di crescita, recettori, enzimi, ecc.) responsabili della crescita e della diffusione incontrollata delle cellule tumorali, della loro resistenza alle terapie tradizionali e della produzione di nuovi vasi sanguigni. Esse, comunemente dette “*a bersaglio*” (*target*) o “*biologici*” o ancora “*intelligenti*”, da sole o in combinazione con le terapie tradizionali (chemio-, radio-, ormonoterapia), combattono direttamente le cellule tumorali, risparmiando le cellule sane, e quindi risultano conseguentemente meno tossiche.

Caratteristiche peculiari e vantaggiose di questi nuovi farmaci sono:

1. Azione selettiva su particolari substrati delle cellule tumorali;
2. Modesta insorgenza di effetti indesiderati anche nel caso di impiego prolungato nel tempo;
3. Possibilità di somministrazione, in alcuni casi, per via orale mantenendo il paziente in ambito ambulatoriale;
4. Possibilità di utilizzo in associazione con terapie tradizionali.

Per contro, questi nuovi farmaci “*a bersaglio*” presentano importanti restrizioni al loro impiego determinate dal loro limitato spettro d’azione.⁽³⁶⁾

3.2 Le Chinasi: un nuovo bersaglio nella lotta al cancro

Il 2-3 % del genoma degli eucarioti codifica per protein-chinasi, che costituiscono quindi una tra le famiglie proteiche più numerose. Tali enzimi catalizzano la fosforilazione proteica,⁽³⁷⁾ ossia il trasferimento di un gruppo fosfato da un donatore (nella grande maggioranza dei casi l'ATP) ad un accettore, costituito generalmente dal gruppo idrossilico di un amminoacido quale serina, treonina, tirosina.⁽²²⁾ Strutturalmente, le chinasi sono costituite da un dominio catalitico conservato spesso associato a subunità regolatrici o che controllano il loro "targeting". La determinazione della struttura dei domini catalitici ha dimostrato l'esistenza di un'architettura comune: esistono tuttavia delle differenze cruciali nel dominio catalitico che danno ragione della loro distinta specificità di substrato. Le proteinchinasi giocano un ruolo fondamentale nella trasduzione del segnale essendo connesse, tramite una reciproca rete di controllo, con le proteinfosfatasi, enzimi deputati all'idrolisi del fosfato trasferito dalle chinasi alle proteine. Date tali premesse, non è sorprendente che molte malattie siano causate da un'aberrante espressione e/o attività delle proteinchinasi. Attualmente oltre la metà dei proto-oncogeni identificati codifica protein chinasi e molti altri sono substrati e/o effettori di protein chinasi.⁽³⁷⁾ In particolare, tra le numerose chinasi note, quelle d'interesse nell'ambito di nuovi trattamenti antitumorali risultano essere:

1. Le tirosine chinasi;
2. Le chinasi ciclina dipendenti (CDK);
3. La glicogeno sintasi chinasi 3 (GSK 3).

Numerosi polipeptidi, come i fattori di crescita, i fattori di differenziamento e gli ormoni, si sono dimostrati componenti cruciali nella proliferazione e nel differenziamento cellulare. Va osservato che, molti di questi fattori mediano la loro azione legandosi ed attivando specifici recettori di membrana associati ad attività tirosin-chinasica. Il recettore trasferisce il messaggio chimico extracellulare all'apparato metabolico intracellulare innescando, attraverso una cascata di reazioni culminanti nella divisione cellulare, la risposta della cellula bersaglio.⁽³⁸⁾

3.2.1 Le Tirosine Chinasi

La trasmissione dei segnali mitogeni fino al nucleo necessita l'attivazione, per fosforilazione, di residui di tirosina sulle proteine di membrana, la maggior parte delle

quali appartengono alla famiglia delle tirosine chinasi. Se queste ultime sono regolate in maniera anomala, il risultato può essere una iperproliferazione cellulare (se l'enzima è eccessivamente stimolato) o il blocco della proliferazione cellulare (se l'enzima è inibito e quindi è incapace di fosforilare i vari substrati).⁽³⁹⁾ L'Imatinib (*Glivec, Novartis*) (Fig. 45) è stato uno dei primi farmaci inibitore delle chinasi ad essere stato immesso in commercio. Si tratta di un farmaco somministrato per via orale che ha dato risultati eclatanti nella cura di due diversi tumori:

- Nella leucemia mieloide cronica (LMC), per la quale fino ad oggi le cure tradizionali consistevano nella somministrazione di interferone nella fase iniziale della malattia e nel trapianto di midollo allogenico successivamente;
- In alcuni rarissimi tumori, i cosiddetti "GIST" (Gastro Intestinal Stromal Tumors, sarcomi del tratto gastroenterico), per la cura dei quali in fase metastatica finora non vi era nessun trattamento a disposizione⁽⁴⁰⁾ (più in particolare, i GIST sono tumori dell'apparato digerente, localizzati più spesso nello stomaco, più raramente nell'intestino tenue e, ancora meno frequentemente, in altre sedi quali intestino crasso ed esofago).⁽³⁶⁾

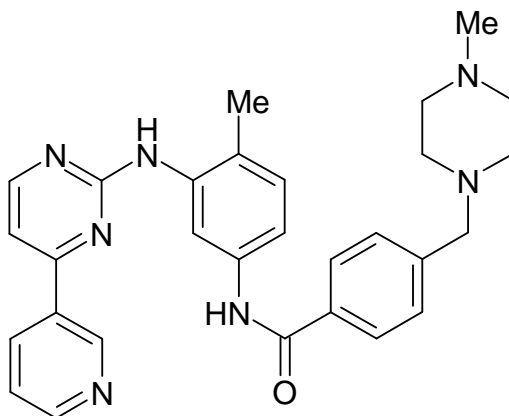


Fig. 45: Imatinib.

La LMC è caratterizzata nel 95% dei casi dalla presenza del cosiddetto cromosoma Philadelphia, una traslocazione reciproca tra i bracci lunghi dei cromosomi 9 e 22.

Tale mutazione somatica determina la fusione tra un segmento del gene Bcr dal cromosoma 9 ed una regione a monte del secondo esone del gene c-Abl dal cromosoma 22⁽⁴¹⁾ (c-Abl codifica per una tirosin-chinasi non recettoriale, la quale presenta un'attività fortemente controllata nelle cellule normali).⁽⁴²⁾

È stata identificata una serie di inibitori i quali presentano alta affinità e specificità per Abl; il più potente tra questi è appunto l'Imatinib.⁽⁴¹⁾ Tale farmaco compete con l'ATP,

ligando fisiologico della Bcr-Abl, per lo stesso sito all'interno della proteina. In presenza dell'inibitore, la tirosin chinasi non è più in grado di trasmettere alle cellule del midollo i segnali difettosi, che causano l'iperproduzione di globuli bianchi (Fig. 46).⁽⁴³⁾

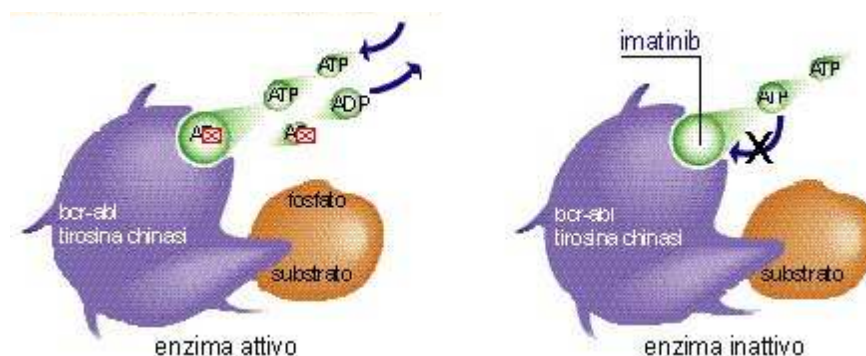


Fig. 46: Meccanismo d'azione Imatinib.

Per quel che riguarda invece l'utilizzo dell'Imatinib nel GIST, tale farmaco esplica la sua azione inibendo l'attività della tirosin chinasi associata al recettore c-kit.

Gli eventi avversi associati a tale farmaco segnalati più comunemente sono stati nausea, vomito, mialgia, crampi muscolari, neutropenia e trombocitopenia.⁽³⁶⁾

3.2.2 Le Chinasi ciclica-dipendenti

Tra le chinasi a serina-treonina, le chinasi ciclica dipendenti rappresentano delle molecole molto utili in chemioterapia antineoplastica. La loro peculiarità è la necessità di associarsi ad una ciclina per essere attive.

Le CDK giocano un ruolo chiave a livello del ciclo cellulare, ma svolgono anche altre importanti funzioni biologiche.⁽⁴⁴⁾ Questi enzimi, infatti, intervengono anche direttamente a livello della trascrizione, della funzione neuronale, della differenziazione e dell'apoptosi, e proprio per queste loro molteplici funzioni sono considerate molecole biologiche ubiquitarie, d'interesse potenziale nel trattamento di numerose patologie ed in particolare nel trattamento del cancro.⁽⁴⁵⁾

La traduzione del segnale, a livello del ciclo cellulare, inizia a partire dalle cicline D1, D2, D3, le quali si associano a CDK4 e CDK6.⁽⁴⁴⁾ I complessi che si formano fosforilano ed inattivano la proteina pRb, la quale determina la liberazione di fattori di trascrizione come E2F e DP1. Questi ultimi controllano l'espressione di geni che codificano per le proteine necessarie alla transizione G1/S della cellula durante il ciclo cellulare (complesso ciclina E-CDK2),⁽⁴⁶⁾ ed alla progressione nella fase S (complesso

ciclina A-CDK2). Quest'ultimo complesso, durante la fase S, fosforila differenti substrati permettendo la replicazione del DNA e l'inattivazione dei fattori di trascrizione liberati durante la fase G1. Durante la transizione S/G2 la ciclina A si associa, questa volta, alla Cdc2, poi quest'ultima alla ciclina B per attivare la transizione G2/M mediante fosforilazione di numerosi substrati e dare così inizio alla mitosi (Fig. 47).⁽⁴⁷⁾

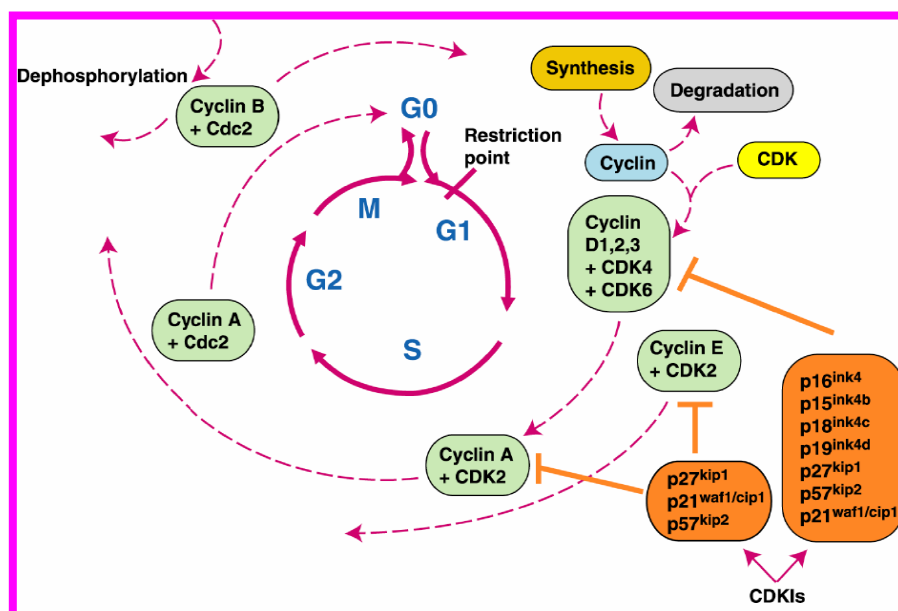


Fig. 47: Complessi ciclina-CDK e ciclo cellulare.

Tutti gli inibitori delle CDK ad azione antineoplastica esplicano la loro azione antiproliferativa bloccando il ciclo cellulare nella fase G1 o G2/M e inducendo l'apoptosi nelle cellule. L'interesse terapeutico nell'ambito della cancerologia verso gli inibitori delle CDK nasce dall'osservazione che questi ultimi inducono l'apoptosi solo nelle cellule a divisione cellulare intensa e proteggono dall'apoptosi le cellule sane in normale divisione cellulare.⁽⁴⁸⁾

Ad oggi sono stati descritti più di 50 inibitori più o meno selettivi delle CDK⁽⁴⁹⁾ che agiscono inibendo in modo competitivo, a livello del sito catalitico dell'enzima, il fissaggio dell'ATP.⁽⁵⁰⁾

Tutti gli inibitori hanno delle caratteristiche comuni:

- Peso molecolare limitato;
- Struttura eterociclica idrofobica e piana;
- Danno formazione di legami (idrofobici o a idrogeno) con l'ATP.⁽⁵¹⁾

Tra gli inibitori delle CDK ritroviamo i flavoni⁽⁵²⁾ ed i derivati di tipo ossindolico.⁽⁵³⁾

Le molecole citate sono inibitori non selettivi delle CDK (Fig. 48).

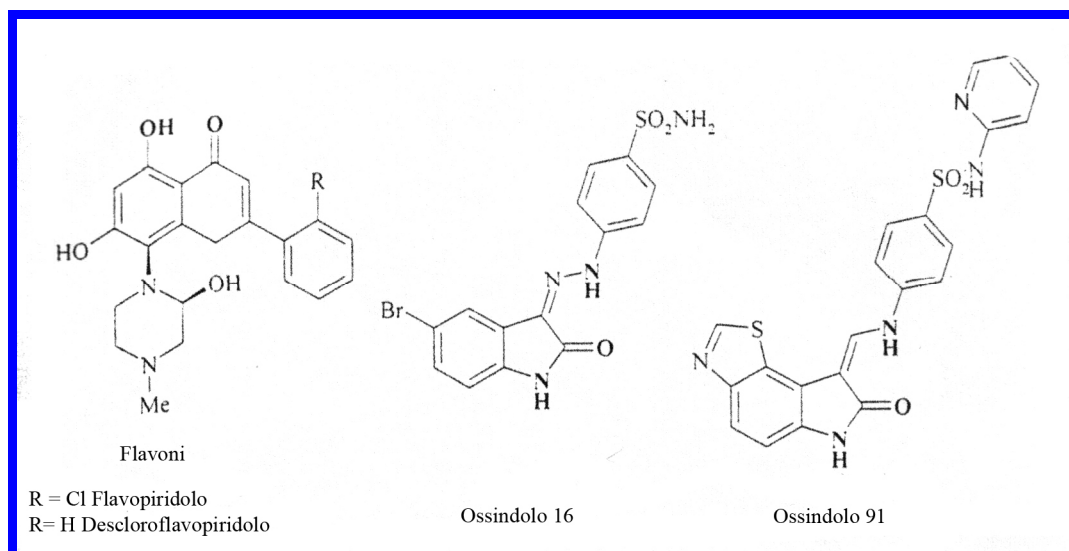


Fig. 48: Inibitori non selettivi delle CDK.

Il flavopiridolo, in particolare, è un inibitore delle CDK1, CDK2, CDK4, CDK6. Risulta attivo già a concentrazioni nanomolari determinando l'arresto del ciclo cellulare sia al primo (G1-S) che al secondo (G2-M) checkpoint (Fig. 49).

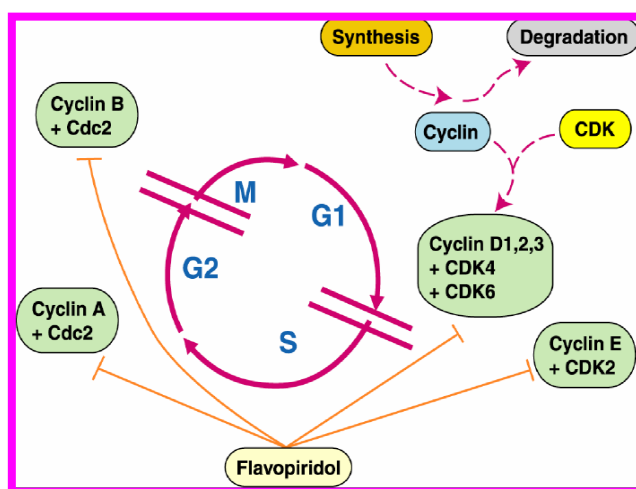


Fig. 49: Meccanismo d'azione Flavopiridolo.

3.2.3 La glicogeno sintasi chinasi

La glicogeno sintasi chinasi-3 (GSK-3) è una serina-treonina chinasi. Essa è stata una delle prime chinasi identificate, inizialmente in ragione della sua azione regolatrice nel metabolismo del glicogeno: in tale processo essa agisce fosforilando e inattivando la glicogeno sintasi, enzima finale della biosintesi del glicogeno.⁽⁵⁴⁾ La GSK-3 è un enzima costitutivamente attivo, essenzialmente regolato per inattivazione. Oltre alla funzione

metabolica già citata, tale chinasi interviene nello svolgimento e nella regolazione del ciclo cellulare.

Esistono tre isoforme della GSK-3: GSK-3 α , GSK-3 β , e una seconda forma di quest'ultima, la GSK-3 $\beta 2$. Sono stati identificati due domini distinti comuni a queste isoforme: un primo dominio essenzialmente costituito da foglietti β ed un secondo dominio ad α elica.⁽⁵⁵⁾ Il sito di legame del substrato è situato all'interfaccia di contatto tra i due domini, mentre il sito di legame per il co-substrato, l'ATP, è situato sulla superficie di contatto dei due domini.⁽⁵⁶⁾

Sono stati identificati più di 30 inibitori delle GSK-3.⁽⁵⁷⁾ Tutti hanno in comune alcuni requisiti strutturali:

- Peso molecolare limitato;
- Struttura eterociclica planare;
- Danno luogo alla formazione, nel sito attivo, di interazioni idrofobiche;
- Danno luogo alla formazione di due o tre legami a idrogeno con le chinasi.⁽⁵⁸⁾

Tra gli inibitori della GSK-3 si ritrovano le pirazolopiridine⁽⁵⁹⁾ e le pirazolopirimidine⁽⁶⁰⁾ (Fig. 50).

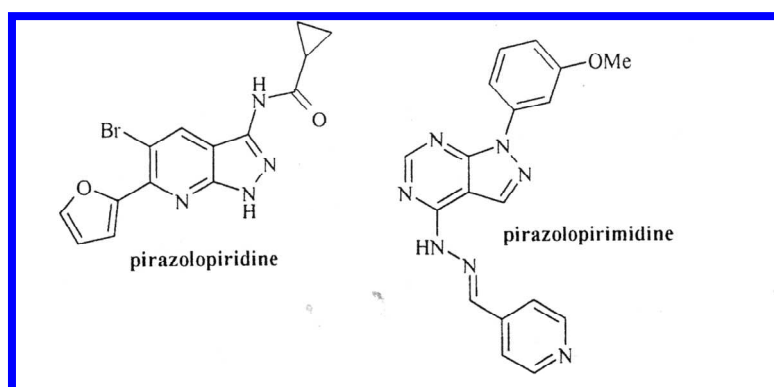


Fig. 50: Inibitori delle GSK-3.

3.3 Farmaci anti-EGFR

Sono farmaci che agiscono bloccando la funzione del recettore del fattore di crescita epidermoidale (Epidermal Growth Factor Receptor o *EGFR* o *HER-1*). Questo recettore, legandosi a specifici fattori di crescita (es. il Fattore di Crescita Epidermoidale, detto anche EGF, o il Transforming Growth Factor- α o TGF- α), innesca un meccanismo di trasduzione intracellulare “a cascata” che influenza la sintesi del DNA, la crescita e la sopravvivenza delle cellule. EGFR è espresso in molti tumori solidi (es. colon retto, pancreas, polmone, mammella, tratto genito-unitario, glioblastomi).

Negli ultimi anni numerosi studi sono stati condotti per evidenziare, in diversi tumori, le alterazioni dell'EGFR. Ciò ha consentito di individuare, nella suddetta cascata di segnali molecolari, potenziali bersagli terapeutici per i nuovi farmaci.

Sulla base della struttura e della funzione dell'EGFR, recentemente sono state sviluppate due differenti strategie terapeutiche:

- a) Anticorpi monoclonali che colpiscono il dominio extracellulare del recettore. Essi bloccano il sito di legame con EGF e conseguentemente inibiscono i processi di crescita e progressione delle cellule tumorali;
- b) Blocco dell'attivazione dell'EGFR.

In vari tipi di neoplasie attualmente vengono studiate ed utilizzate, tra le altre, tre molecole che bloccano l'attività dell'EGFR: cetuximab (*Erbitux*), gefitinib (*Iressa*), erlotinib (*Tarceva*) (Fig. 51). Il primo è un anticorpo monoclonale che colpisce il dominio extracellulare dell'EGFR, il secondo ed il terzo agiscono invece mediante legame alla tirosin chinasi dell'EGFR, con conseguente blocco della funzione di quest'ultimo.

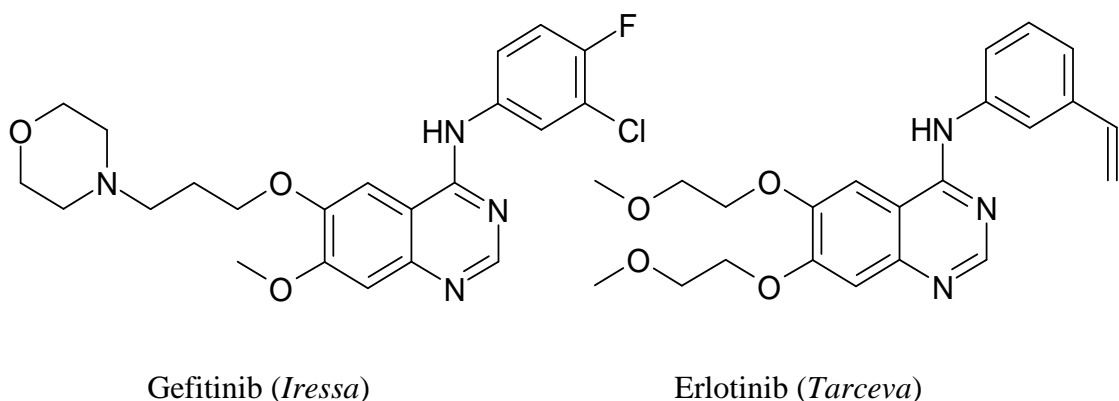


Fig. 51: Farmaci anti-EGFR.

3.4 Farmaci anti-VEGF

Tali farmaci agiscono inibendo l'angiogenesi, cioè ostacolando lo sviluppo dei vasi sanguigni che irrorano i tumori e determinando un arresto della crescita e la regressione delle neoplasie. Il principale meccanismo d'azione di questa classe di farmaci coinvolge il fattore di crescita angiogenetico (Vascular Endothelial Growth Factor o VEGF) ed il suo recettore (VEGFR). Anche in questo caso, così come abbiamo visto per i farmaci anti-

EGFR, esistono fundamentalmente due tipi di farmaci: gli anticorpi monoclonali che bloccano il recettore o il fattore di crescita (somministrati per via endovenosa) e le piccole molecole, che legandosi alla tirosin-chinasi del recettore ne determinano il blocco. Tra i farmaci anti-VEGF si ricordano:

Bevacizunab (*Avastin*), un anticorpo monoclonale umanizzato che si lega al VEGF, impedendo a quest'ultimo di legarsi ai suoi recettori sulla superficie delle cellule endoteliali. Il blocco dell'attività biologica del VEGF interferisce con la formazione dei nuovi vasi sanguigni del tumore impedendo quindi la crescita tumorale.

Valatanib (ancora in fase di studio, casa farmaceutica *Novartis*), una piccola molecola che si lega alle tirosin-chinasi dei recettori di VEGF e del fattore di crescita delle piastrine, bloccandone la funzione ed inibendo quindi la formazione di nuovi vasi sanguigni del tumore.⁽³⁶⁾

3.5 Gli inibitori dell'enzima chinasi Aurora

La famiglia delle chinasi Aurora comprende, nell'uomo, tre membri: Aurora A, B e C, le cui sequenze contengono dai 309 ai 403 aminoacidi e presentano un grado di omologia del 67-76% nel dominio catalitico. Le estremità N-terminali hanno invece una scarsa somiglianza, che potrebbe rendere conto delle diverse localizzazioni subcellulari e delle specifiche interazioni con differenti effettori proteici. L'Aurora A risulta associata con il centrosoma e svolge un ruolo nel reclutamento di varie componenti del fuso mitotico in formazione; l'Aurora B è, invece, localizzata sui cromosomi in interfase, in prossimità del centromero. Le Aurora A e B sono risultate espresse in molti tipi cellulari caratterizzati da un elevato indice mitotico, l'espressione dell'Aurora C è stata invece finora riportata solo nel testicolo e la sua funzione fisiologica deve essere ancora stabilita. L'abbondanza e l'attività delle chinasi Aurora è regolata nel corso del ciclo cellulare: il loro livello è basso nella fase G1/S ed aumenta nella fase G2/M, per essere nuovamente ridotto dopo la mitosi attraverso una degradazione ubiquitina-mediata.

Risulta che tali chinasi svolgono un ruolo importante nella maturazione dei centrosomi, nell'assemblaggio del fuso, nella segregazione dei cromosomi e nella divisione delle cellule figlie. Numerose evidenze sperimentali mostrano come alterazioni dell'espressione delle chinasi Aurora siano associate alla progressione tumorale.

I geni codificanti le tre chinasi Aurora mappano in regioni che risultano affette da anomalie cromosomiche in diversi tipi di cancro e la iperespressione di ciascuno di essi è stata individuata in linee cellulari tumorali. AURKA, il gene codificante Aurora A, è localizzato sul cromosoma 20q13.2-13.3, una regione che risulta spesso amplificata nei tumori umani. È stato dimostrato che la sua iperespressione in alcuni tipi cellulari induce trasformazione cellulare, e nelle cellule di epitelio mammario umano determina replicazioni centrosomiche aberranti.⁽⁶¹⁾

3.6 Inibitori delle metalloproteinasi

Le metalloproteinasi rappresentano una famiglia di enzimi la cui funzione principale è la degradazione delle proteine della matrice extracellulare, come il collagene, la laminina, la fibronectina, l'elastina e la parte proteica dei proteoglicani.

Questi sono iperespressi in numerose neoplasie maligne e la loro iperespressione è correlata con l'aggressività tumorale ed il potenziale metastatico.

Dato che le metalloproteinasi giocano un ruolo fondamentale nel processo di progressione della malattia neoplastica, come confermato dai dati preclinici e clinici, l'inibizione farmacologica dell'attività delle metalloproteinasi può determinare conseguentemente una marcata riduzione dell'invasività dei tumori primitivi e delle metastasi.

La famiglia degli inibitori delle metalloproteinasi comprende vari farmaci tra cui marimastat, batimastat, BAY 12-9566, BMS-275291 ed i bisfosfonati. Tutti, ad eccezione di questi ultimi, sono ancora in fase sperimentale sia in Italia che all'estero.

I *bisfosfonati* sono già in commercio e rappresentano una classe di farmaci inizialmente utilizzati per la cura dei disturbi dell'omeostasi del calcio e, più recentemente, come farmaci palliativi e preventivi delle metastasi ossee nei pazienti oncologici. Oltre ad avere un effetto nel prevenire le complicazioni scheletriche nei pazienti oncologici con metastasi ossee, essi sembrano avere anche un'attività antitumorale diretta. I meccanismi d'azione responsabili dell'attività antitumorale dei *bisfosfonati* non sono ancora del tutto chiari. In ogni caso essi sono capaci di indurre l'apoptosi, d'inibire l'adesione delle cellule tumorali e l'invasività della matrice extracellulare dell'osso ed hanno attività antiangiogenetica.

3.7 Oligonucleotidi antisenso

Per oligonucleotide antisenso s'intende un breve frammento di DNA, che contiene la sequenza nucleotidica complementare del filamento di DNA codificante (senso) o dell'RNA messaggero (mRNA). Perciò l'antisenso, grazie a questa sua "specularità" rispetto al DNA senso, si appaia ad esso o all'mRNA, annullandone l'attività biologica. L'oligonucleotide antisenso si lega all'RNA messaggero, o a sequenze di controllo dell'espressione genica presenti sul filamento complementare di DNA e ne impedisce così la decodificazione ed il successivo processo di sintesi proteica. L'impiego clinico di queste molecole è ancora in fase di studio. Gli oligonucleotidi di impiego in terapia sono sintetici, ma nelle cellule sono stati individuati anche oligonucleotidi endogeni, di cui è ancora ignota la funzione.⁽³⁶⁾

CAPITOLO IV

ELLIPTICINA

Le sostanze fitochimiche sono composti presenti nelle piante che, pur non svolgendo funzioni nutritive, sono responsabili di molteplici effetti benefici.

Esse sono molto numerose ed agiscono in modo differente e sinergico, esercitando nel loro complesso effetti protettivi nei confronti di infezioni, tumori, diabete, ipertensione e malattie cardio e cerebrovascolari.

Inoltre, sono capaci, per esempio, di potenziare la sintesi e l'attività di enzimi coinvolti nell'inattivazione di carcinogeni, di sopprimere la crescita delle cellule tumorali maligne e d'interferire con i processi alla base delle malattie legate all'arteriosclerosi. I loro effetti sono da ricondurre a differenti e molteplici azioni:

- Antiossidante: proteggono l'organismo nei confronti dello stress ossidativo;
- Ormonale: danno effetti simili a quelli degli estrogeni naturali;
- Antimicrobica: potenziano il sistema immunitario;
- Di interferenza: interferiscono con attività enzimatiche, sulla replicazione e sulla modificazione del DNA, inattivando sostanze tossiche, proteggendo il DNA dall'azione dei carcinogeni ed inibendo la moltiplicazione delle cellule tumorali.⁽⁶²⁾

Nel seguente capitolo l'attenzione sarà rivolta principalmente ai derivati della pianta *Ochrosia Elliptica Labill* quali potenziali agenti antitumorali. Si farà particolare riferimento all'Ellipticina, molecola di origine vegetale ed analogo strutturale dei composti di sintesi studiati nel presente lavoro di tesi.

Va, tuttavia, ricordato che da tale pianta, oltre all'alcaloide d'interesse, vengono isolati altri tre importanti alcaloidi: l'Elliptina (o isoreserpina), la Metossiellipticina e l'Elliptinina, facilmente distinguibili in base al loro colore ed alla solubilità.⁽⁶³⁾

4.1 Origine e caratteristiche generali dell'Ellipticina

L'Ellipticina (5,11-dimetil-6H-pirido[4,3-b]-carbazolo) Fig. 52, è un alcaloide naturale a struttura semplice e planare.

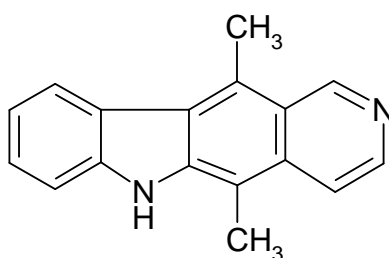


Fig. 52: Ellipticina.

Essa è stata isolata per la prima volta nel 1959 dalle foglie dell'albero sempre verde *Ochrosia Elliptica Labill* (appartenente alla famiglia delle *Apocynaceae*), che cresce selvatico in Oceania anche se le sue attività biologiche non sono state riconosciute in quella occasione.

La sintesi e l'attività anticancro dell'Ellipticina e di altri suoi derivati è stata riportata solo nel 1967. Da allora un'attenzione sempre crescente è stata rivolta alla sintesi ed alle relazioni struttura-attività di questo composto e delle molecole appartenenti a questa classe.⁽⁶⁴⁾

L'*Ochrosia Elliptica Labill* è un albero che, se coltivato, raggiunge un'altezza di 6-8 metri (Fig. 53); il termine *Ochrosia* deriva dal greco ochros = amarillo pallido, con riferimento al colore del suo frutto, mentre *Elliptica* deriva dal latino ellipticus-a-um = ellittico, con riferimento alla forma delle sue foglie.

Come già detto, le foglie di tale albero sono di forma ellittica; a margine intero e con apice acuto o ottuso, di colore verde scuro in estate e più pallido in inverno; l'infiorescenza in cima è invece caratterizzata da fiori bianchi dotati di un calice a cinque petali di forma ovale, e una corolla ipocrateriforme con un tubo di 5-6 mm di longitudine. Il suo frutto risulta essere di colore rosso dopo la maturazione (Fig. 54).⁽⁶⁵⁾



Fig. 53: Albero di *Ochrosia Elliptica Labill*.



Fig. 54: Fiori e frutti di *Och.Ell.Lab.*

La principale ragione di interesse nei confronti dell'Ellipticina e dei suoi derivati, per scopi clinici, è legata alla loro alta efficienza contro diversi tipi di cancro, ai limitati effetti tossici ed in particolare alla completa assenza di ematotossicità.

Infatti, l'Ellipticina ed i suoi derivati più solubili manifestano promettenti risultati per il trattamento delle metastasi del cancro alla mammella, del cancro ai reni, dei tumori al cervello e della leucemia mieloblastica acuta.⁽⁶⁶⁾ Recentemente inoltre, un'associazione

tra un derivato dell'Ellipticina con la *Zidovudina* (Fig. 55) e l'*Aciclovir* ha superato gli studi clinici di fase I e di fase II per il trattamento dell' AIDS.⁽⁶⁷⁾

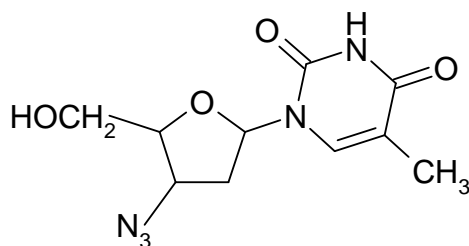


Fig. 55: *Zidovudina*.

Tuttavia, la mutagenicità di questi composti deve essere valutata come un potenziale fattore di rischio; molte ellipticine sono mutagene verso i ceppi *Salmonella typhimurium*, verso il batteriofago *T4*, verso *Neurospora crassa* e possono indurre il profago *lambda* in *Escherichia coli*.

4.2 Meccanismi dell'azione citotossica dell'Ellipticina

L'Ellipticina è un agente citostatico il cui preciso meccanismo d'azione non è stato ancora completamente spiegato. L'azione antineoplastica di tale composto sembrerebbe, infatti, risultare da differenti alternativi eventi citotossici.

È stato, comunque, dimostrato che i prevalenti meccanismi responsabili dell'attività antitumorale e citotossica dell'Ellipticina sono:

- Intercalazione nel DNA;
- Inibizione dell'attività della DNA -Topoisomerasi II.

Numerosi studi hanno, inoltre, riportato il coinvolgimento della proteina p53 nell'azione citotossica dell'Ellipticina. Essa ed il suo derivato 9-idrossiellipticina causano, infatti, l'inibizione selettiva della fosforilazione della proteina p53 in diverse linee cellulari di cancro umano e l'accumulo di p53 defosforilata mutante induce apoptosi.

In altre linee cellulari (cellule MCF-7 dell'adenocarcinoma della mammella), l'Ellipticina agisce invece determinando un aumento dell'espressione di p53 ed inibendo la crescita cellulare attraverso l'amplificazione del processo apoptotico. Inoltre, essa agisce inducendo stress a livello del reticolo endoplasmatico e disaccoppiando la fosforilazione ossidativa mitocondriale.

Le spiegazioni dell'attività anticancro appena menzionate sono però basate su meccanismi d'azione del farmaco non specifici (il trasporto delle molecole d'Ellipticina,

altamente idrofobiche, attraverso le membrane cellulari delle cellule tumorali e sane è anch'esso non specifico), contrastando bruscamente con la sua specificità dell'azione antineoplastica (contro solo alcuni tipi di cancro). Pertanto, tale specificità potrebbe essere una conseguenza di altri meccanismi d'azione ancora non spiegati.

Recentemente, è stato proposto un nuovo meccanismo d'azione della molecola in base al quale essa lega covalentemente il DNA dopo essere stata attivata enzimaticamente. Tale attivazione avverrebbe nei tessuti "target" ad opera del citocromo P₄₅₀ (CYP) e/o delle perossidasi, e quindi permetterebbe di spiegare in parte la selettività d'azione di tale composto.

4.2.1 Intercalazione nel DNA ed inibizione della Topoisomerasi II

Come già menzionato, i principali meccanismi responsabili dell'attività antitumorale dell'Ellipticina sono associati alla sua capacità d'intercalarsi nel DNA e di inibire l'azione della Topoisomerasi II.

La dimensione e la forma del cromoforo dell'Ellipticina ricordano, infatti, strettamente quella dei complessi purine-pirimidine nell'appaiamento tra basi complementari, fornendo quindi condizioni favorevoli per la sua intercalazione nella doppia elica del DNA.

Il carattere policiclico aromatico della molecola potrebbe, inoltre, determinare strette interazioni con appropriate regioni idrofobiche del DNA.

Le interazioni tra i gruppi metilici del farmaco e le timine al sito d'intercalazione sembrerebbero, inoltre, importanti nel determinare l'orientamento preferenziale del composto.

Anche il meccanismo d'azione come inibitore delle Topoisomerasi II è stato studiato in maniera approfondita.⁽⁶⁶⁾

Gli inibitori delle DNA Topoisomerasi II usati in chemioterapia anticancro costituiscono un gruppo di composti strutturalmente non correlati che tuttavia mostrano una proprietà comune: la capacità cioè di indurre un significativo aumento nel numero di complessi covalenti enzima-DNA (complessi "cleavage"). Tuttavia, a causa della loro diversità strutturale, tali composti mostrano *in vitro* meccanismi di inibizione differenti.

In ogni caso, la formazione del complesso ternario Topoisomerasi II-Farmaco-DNA è un evento determinante: alcuni farmaci formano il complesso attraverso interazioni predominanti con la proteina oppure con il DNA; altri legano sia il DNA (attraverso

intercalazioni del cromoforo all'interfaccia enzima-DNA) sia l'enzima (attraverso le catene laterali, che sono generalmente essenziali per la loro attività farmacologica).

Inoltre, mentre alcuni farmaci inibiscono il riavvolgimento del DNA tagliato, altri presumibilmente accelerano la velocità di formazione del complesso.⁽⁶⁸⁾

Per quanto riguarda l'Ellipticina, è stato dimostrato che essa mostra debole capacità d'inibire il riavvolgimento del DNA tagliato dalla topoisomerasi II e che agisce quindi favorendo la rottura del DNA, aumentando la velocità con cui il taglio avviene.

È stato, inoltre, postulato che tale composto formi il complesso ternario attraverso la sua precedente associazione al DNA o all'enzima, e che non sia pertanto richiesta la presenza del complesso Topoisomerasi II-DNA preformato.

A pH neutro, due specie dell'Ellipticina, una forma protonata ed una deprotonata, esistono in equilibrio tra loro. La forma protonata s'intercala nel DNA mentre, la forma deprotonata lega la Topoisomerasi II. Questi risultati suggeriscono che l'enzima imponga all'Ellipticina differente stato ionico.

Nel modello proposto (Fig. 56), il complesso ternario Topoisomerasi II-Ellipticina-DNA (complesso 3), è formato attraverso la precedente associazione del farmaco con il DNA (complesso 1) o con l'enzima (complesso 2).⁽⁶⁹⁾

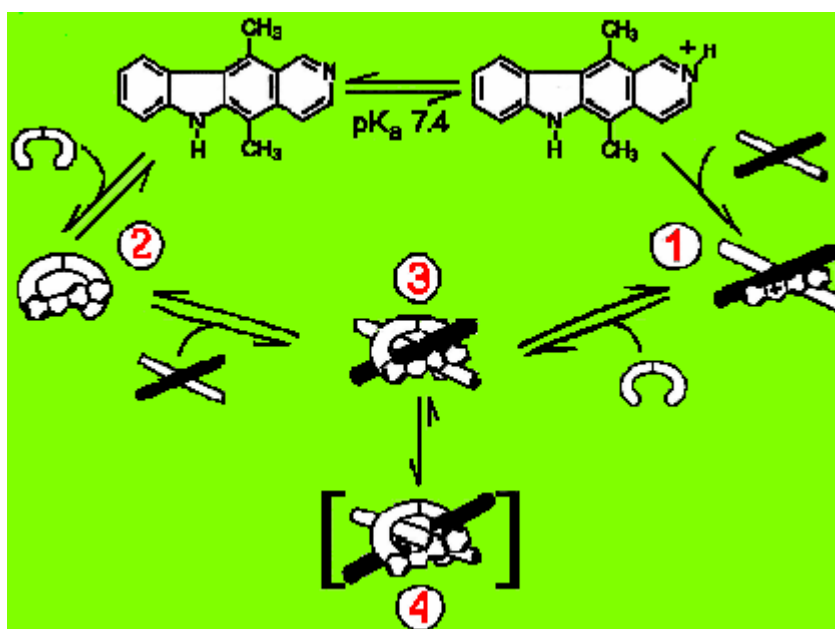


Fig. 56: Formazione del complesso ternario Topoisomerasi II-Ellipticina-DNA.

4.2.2 Induzione di apoptosi (attraverso differenti meccanismi)

Sono stati identificati due meccanismi principali per l'induzione dell'apoptosi: il processo mediato dai cosiddetti "recettori della morte" ed il processo mitocondriale.⁽⁷⁰⁾

Il primo di questi processi è innescato per attivazione da parte dei rispettivi ligandi dei "recettori della morte", come ad esempio il Fas/APO-1. Il legame Fas/APO-1 con l'anticorpo agonista o con il suo ligando maturo (Fas ligando), induce l'oligomerizzazione del recettore e la formazione di complessi segnale di "morte-inducente", seguita dall'attivazione delle caspasi 8.

Il processo apoptotico mitocondriale è invece controllato dalla famiglia delle proteine Bcl-2, che comprendono Bax (fattore proapoptotico), Bcl-2 e Bcl-XL (fattori antiapoptotici). I segnali "di morte" inducono il rilascio del citocromo c, della procaspase 9 e di altri fattori proapoptotici dai mitocondri al citoplasma, portando quindi all'attivazione delle caspasi effettrici (come la caspasi 3).

I segnali di apoptosi convergono, quindi, nell'attivazione di caspasi iniziatrici (es. caspasi 8, 9) che portano all'attivazione proteolitica delle caspasi effettrici (es. caspasi 3) e che quindi tagliano il substrato cellulare, con conseguente morte cellulare.

Il trattamento di cellule cancerose (es. tumore alla mammella) con Ellipticina induce inibizione della crescita (in modo dose-dipendente), arrestando il ciclo cellulare alla fase G2/M. Questo effetto è associato ad un aumento marcato dell'espressione della proteina p53 ed ad un aumento dell'espressione di Fas/APO1 e dei suoi ligandi e alla conseguente attivazione della caspasi 8.

La via apoptotica mitocondriale risulta, inoltre, amplificata e ciò è confermato dall'aumento del livello della proteina Bax e dalla diminuzione dei livelli dell'espressione di Bcl-2 e di Bcl-XL.⁽⁷¹⁾

Recentemente, è stata anche riportata la capacità dell'Ellipticina di arrestare la progressione del ciclo cellulare attraverso la regolazione dell'espressione della ciclina B1 e della cdc2 e della fosforilazione di cdc2.⁽⁷⁰⁾

Altri studi dimostrano che l'attività citotossica dell'Ellipticina può essere anche legata all'induzione di stress a livello del reticolo endoplasmatico. Più in dettaglio, tale evento sembrerebbe dipendente dalla sua capacità di indurre un aumento dell'espressione del caperone GRP78, con conseguente induzione del processo apoptotico.⁽⁷²⁾

Va, infine, ricordato, come precedentemente detto, che l'induzione di apoptosi indotta dall'Ellipticina può essere associata anche, all'inibizione della fosforilazione della proteina p53. Tale meccanismo riguarda sia l'Ellipticina sia il suo derivato 9-idrossiellipticina.⁽⁶⁶⁾

4.2.3 Disaccoppiamento della fosforilazione ossidativa mitocondriale

L'Ellipticina si comporta da base debole con un pK pari a circa 7.40; di conseguenza, come già detto, essa esiste nelle cellule in due diversi stati, definiti forma protonata cationica e forma neutra. L'equilibrio di protonazione può essere modulato in funzione delle interazioni con le macromolecole biologiche, o in funzione dell'accumulo negli organelli, quali ad es. mitocondri e lisosomi, nei quali esiste uno specifico e locale pH.

Lo studio della distribuzione intracellulare dell'Ellipticina, realizzata attraverso studi di fluorescenza, ha portato a stabilire che essa si localizza principalmente nel citoplasma ed è invece presente in misura minore nel nucleo. È stato, inoltre, stabilito che:

- Nel nucleo cellulare è presente solo la forma protonata, come conseguenza dell'aumento del suo pK apparente, dovuto al legame con il DNA;
- Nel citoplasma acquoso, dove invece il pH è approssimativamente uguale al suo pK, sono invece presenti entrambe le forme.

In particolare, nel citoplasma, l'Ellipticina è legata principalmente ai mitocondri; in questo organulo il suo equilibrio di protonazione è spostato verso la forma neutra. Nei mitocondri, infatti, l'Ellipticina risulta localizzata nello spazio compreso tra la matrice mitocondriale e la membrana mitocondriale interna, ed è questo l'unico compartimento subcellulare ad ambiente alcalino (se essa fosse, invece, accumulata nella matrice acquosa legherebbe il DNA mitocondriale, quindi il suo equilibrio di protonazione risulterebbe spostato in favore della forma protonata).

Si ipotizza che i mitocondri potrebbero essere un possibile bersaglio dell'azione citotossica dell'Ellipticina: in tali organuli gli effetti biologici di tale composto potrebbero essere attribuibili alle sue interazioni biochimiche con la membrana mitocondriale interna piuttosto che con il DNA mitocondriale. In particolare, studi condotti su mitocondri isolati mostrano che l'interazione dell'Ellipticina con la membrana mitocondriale interna disaccoppia la fosforilazione ossidativa mitocondriale ed inibisce il trasporto di elettroni a livello della citocromo c ossidasi.⁽⁷³⁾

4.2.4 Formazione di addotti covalenti (Ellipticina e DNA)

Come già evidenziato, è stato recentemente dimostrato che l'Ellipticina forma addotti covalenti con il DNA dopo essere stata attivata enzimaticamente: tale composto può pertanto essere considerato una sorta di pro-farmaco, la cui efficienza farmacologica è dipendente dalla sua attivazione nei tessuti "target".⁽⁷⁴⁾

È stato, inoltre, dimostrato che le isoforme P_{450} (CYP), fortemente espresse in tumori sensibili all'Ellipticina, sono efficaci nell'attivare tale molecola con formazione di specie capaci di formare *in vitro* addotti covalenti con il DNA. I metaboliti derivanti dal metabolismo dell'Ellipticina sono cinque, quattro dei quali sono i derivati idrossilati: 7-idrossi, 9-idrossi, 12-idrossi e 13-idrossi-ellipticina ed il composto N^2 -ossido d'Ellipticina (Fig. 57).

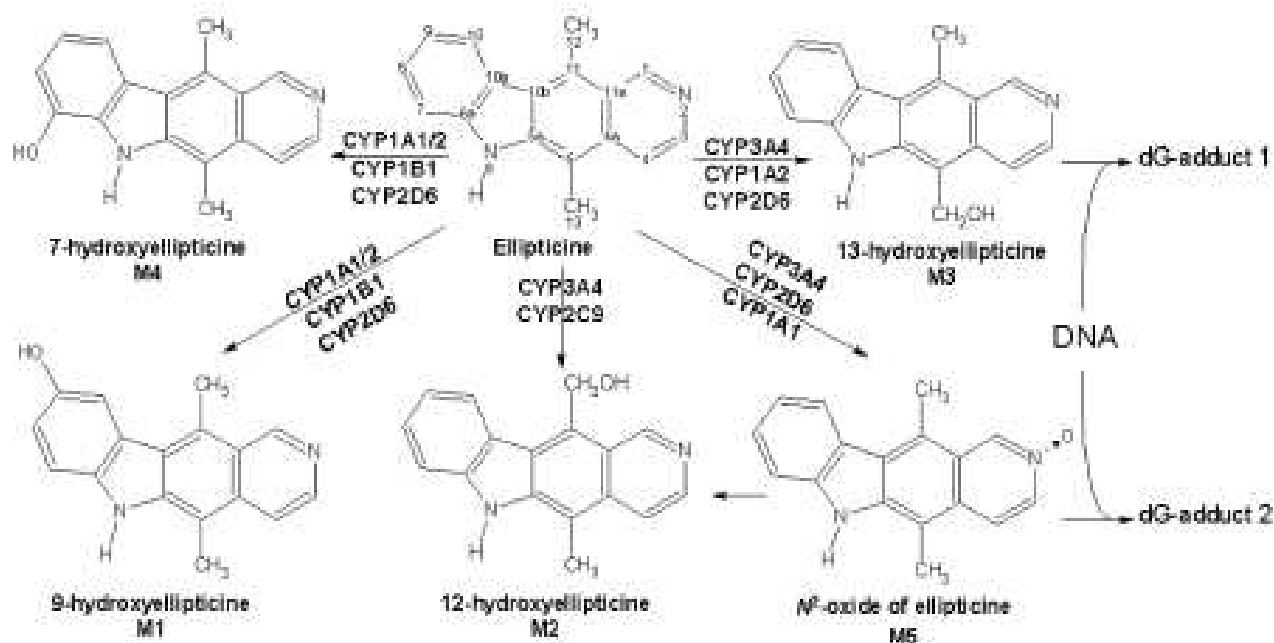


Fig. 57: Attivazione metabolica dell'Ellipticina da parte dei citocromi P_{450} .

Come evidenziato in figura 57, la formazione della 9- e della 7-idrossiellipticina è attribuibile all'attività di CYP1A1/2; tuttavia anche CYP1B1 e 2D6 sono capaci di catalizzare queste reazioni, ma con una minore attività catalitica.

La 12-idrossiellipticina è un prodotto minore dell'ossidazione dell'Ellipticina; bassi livelli di questo metabolita sono comunque generati in presenza di CYP3A4 e CYP2C9.

Poiché il CYP3A4 è il citocromo più abbondante nel fegato umano, i principali metaboliti formati risultano essere la 13-idrossiellipticina e l' N^2 -ossido d'Ellipticina. La deossiguanosina è stata identificata come la base "target" a cui tali metaboliti vanno a legarsi, formando i due maggiori addotti Ellipticina-DNA.

La 9-idrossiellipticina e la 7-idrossiellipticina, rappresentano, invece, i prodotti di detossificazione dell'Ellipticina: in ratti trattati con Ellipticina, la loro formazione non si accompagna infatti alla generazione di addotti con il DNA.⁽⁶⁶⁾

Nelle cellule tumorali sensibili all'Ellipticina ma in cui il livello di tali enzimi è più basso, si è riscontrato che il farmaco è comunque capace di generare addotti con il DNA. In tali tessuti altri enzimi quali le perossidasi (lactoperossidasi, mieloperossidasi, ciclossigenasi) sono capaci di indurre l'attivazione metabolica. Anche in questo caso la 13-idrossi e la 12-idrossiellipticina sono i principali metaboliti responsabili della formazione dei due addotti del DNA deossiguanosinici.

Il metabolita di detossificazione è invece un dimero in cui sono legate due molecole d'Ellipticina. Il legame si viene a formare tra l'N6 dell'anello pirrolico di una molecola ed il C9 della seconda molecola (Fig. 58) ma il meccanismo attraverso il quale esso si forma non è ancora chiaro.⁽⁶⁶⁾

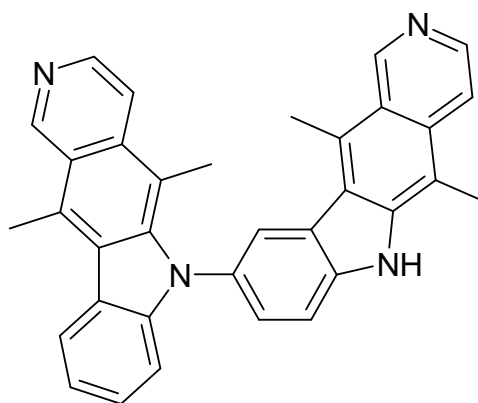


Fig. 58: Dimero dell'Ellipticina.

4.3 Derivati dell'Ellipticina

L'interesse dell'Ellipticina come agente chemioterapico ha promosso lo sviluppo di numerose ricerche volte all'individuazione di nuovi analoghi con un migliore profilo farmacologico.⁽⁷⁵⁾ Poiché il principale meccanismo d'azione di tali composti è relativo alla loro capacità d'intercalarsi con il DNA, sono stati realizzati numerosi studi allo scopo di stabilire una correlazione tra le proprietà fisico-chimiche di questi derivati e la loro capacità intercalante, e ciò ha consentito di sintetizzare nuovi composti con maggiore affinità di legame.

L'entità del legame farmaco-DNA è risultato essere dipendente dal rapporto forma protonata/forma neutra del farmaco. Il valore del pK_a è quindi stato considerato uno dei principali fattori capaci di controllare l'affinità di queste molecole per il DNA, sia in soluzione che a pH fisiologico. È stato dimostrato, ad esempio, che la rimozione di un gruppo metilico dalla posizione 11 dell'Ellipticina (nor-11-metilellipticina), causa una

diminuizione di tre unità del valore del pK_a e di conseguenza una diminuizione della capacità di legame verso il DNA, e anche gli effetti della sostituzione su N-6 e sull'OH in 9 sono stati oggetto di studio.⁽⁷⁶⁾

Una molecola ad elevata affinità verso il DNA è risultata essere la 9-idrossiellipticina. Questo composto mostra un'elevata attività anticancro (su cellule leucemiche L1210) a basse dosi. Il 99% delle cellule cancerose vengono uccise con una dose 10 volte più bassa della dose subletale. A concentrazioni maggiori, questo composto risulta però meno attivo poiché la relazione dose-attività non risulta essere lineare, sollevando quindi importanti quesiti circa un suo possibile utilizzo terapeutico.⁽⁷⁶⁾

Studi semiempirici della struttura elettronica dell'Ellipticina hanno, inoltre, consentito di individuare una semplice correlazione tra il suo valore del momento dipolare e l'attività antitumorale. È stato, in particolare, dimostrato un aumento dell'attività antitumorale addizionando alla struttura basica dell'Ellipticina idonei gruppi funzionali capaci di determinare una diminuizione del valore del momento dipolare. Sulla base di tali evidenze sono stati selezionati derivati più attivi semplicemente confrontando i valori dei momenti dipolari.⁽⁷⁷⁾

4.3.1 Derivati dell'Ellipticina: classificazione

Gli analoghi dell'Ellipticina si possono classificare in tre principali sottotipi (in accordo con la loro struttura chimica). Le ellipticine di tipo E includono le normali ellipticine, in cui l'anello D è un anello piridinico non carico; le ellipticine di tipo H sono quelle in cui l'anello D è 1,2-deidrogenato; quelle di tipo Q contengono un anello piridinico N²-sostituito con una permanente carica positiva (Fig. 59).⁽⁶⁴⁾

In particolare, in quest'ultima categoria rientrano una serie di sali quaternari (Datelliptinium, Pazellipticina ed altri) che hanno dimostrato possedere un'elevata attività citotossica ed una aumentata solubilità in acqua, legata alla presenza di sostituenti idrofilici sull'anello piridinico.⁽⁷⁸⁾

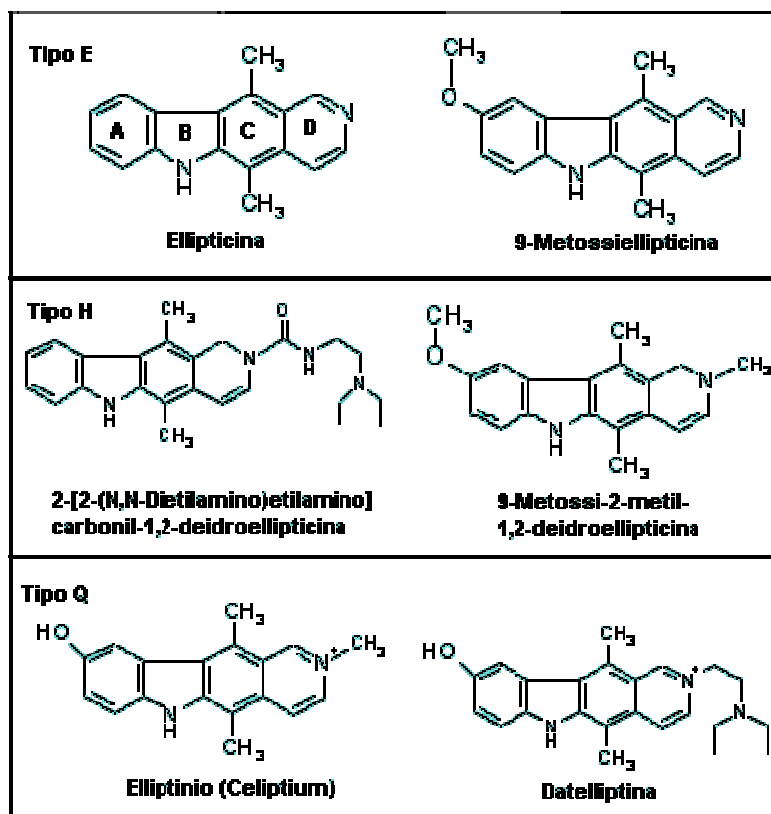


Fig. 59: Classificazione dei derivati dell'Ellipticina.

4.3.2 Celiptium®

Il Celiptium® (2-metil-9-idrossiellipticina acetato o 9-OH-NME) (Fig. 60), sviluppato nel 1973, è l'unico prodotto commercializzato. Tale composto è un derivato dell'Ellipticina che ha dimostrato possedere una significativa attività antitumorale e, durante gli studi di fase II si è rivelato utile per il trattamento di pazienti con cancro alla mammella nello stato avanzato.

Il farmaco presenta anche una selettiva citotossicità nei confronti di tumori a carico del sistema nervoso centrale a basse concentrazioni, ma la selettività è invece assente a concentrazioni maggiori; non è mielotossico ma tuttavia presenta una significativa tossicità renale associata ai prodotti di metabolizzazione generati.⁽⁷⁵⁾ Esso è facilmente ossidato *in vitro* dalla perossidasi di rafano, in presenza di perossido di idrogeno come accettore elettronico (sistema HRP/H₂O₂) con formazione di un chinone-imide derivato (9-oxo-NME) capace di formare addotti covalenti con differenti nucleofili. In presenza di molecole contenenti centri nucleofili, si generano quindi addotti regioselettivi alchilati in

posizione 10. Tale processo di “alchilazione bio-ossidativa” (Fig. 60) è stato proposto come possibile meccanismo d’azione dei derivati dell’Ellipticina.⁽⁷⁹⁾

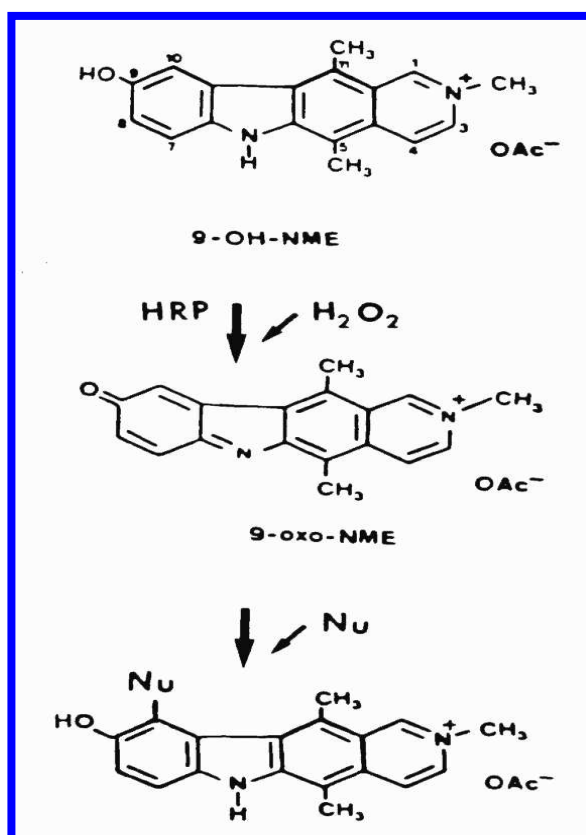


Fig. 60: Meccanismo di alchilazione bioossidativa.

Più in dettaglio, studi recenti hanno permesso di stabilire che l’alchilazione della guanosina e dell’adenosina ad opera del chinone-imide (3), formato per ossidazione del 9-OH-NME (2), avviene a livello della posizione 2’-O del ribosio in entrambi i nucleosidi (nel caso dei derivati dell’Ellipticina i legami covalenti si formano principalmente in questa posizione). Inoltre, si ha parallelamente una reazione competitiva di arilazione con formazione dell’ortochinone 9-10-dioxoNME (4). Tale composto, isolato e caratterizzato, è risultato essere un prodotto secondario comune in molte reazioni di tali derivati (Fig. 61).⁽⁸⁰⁾

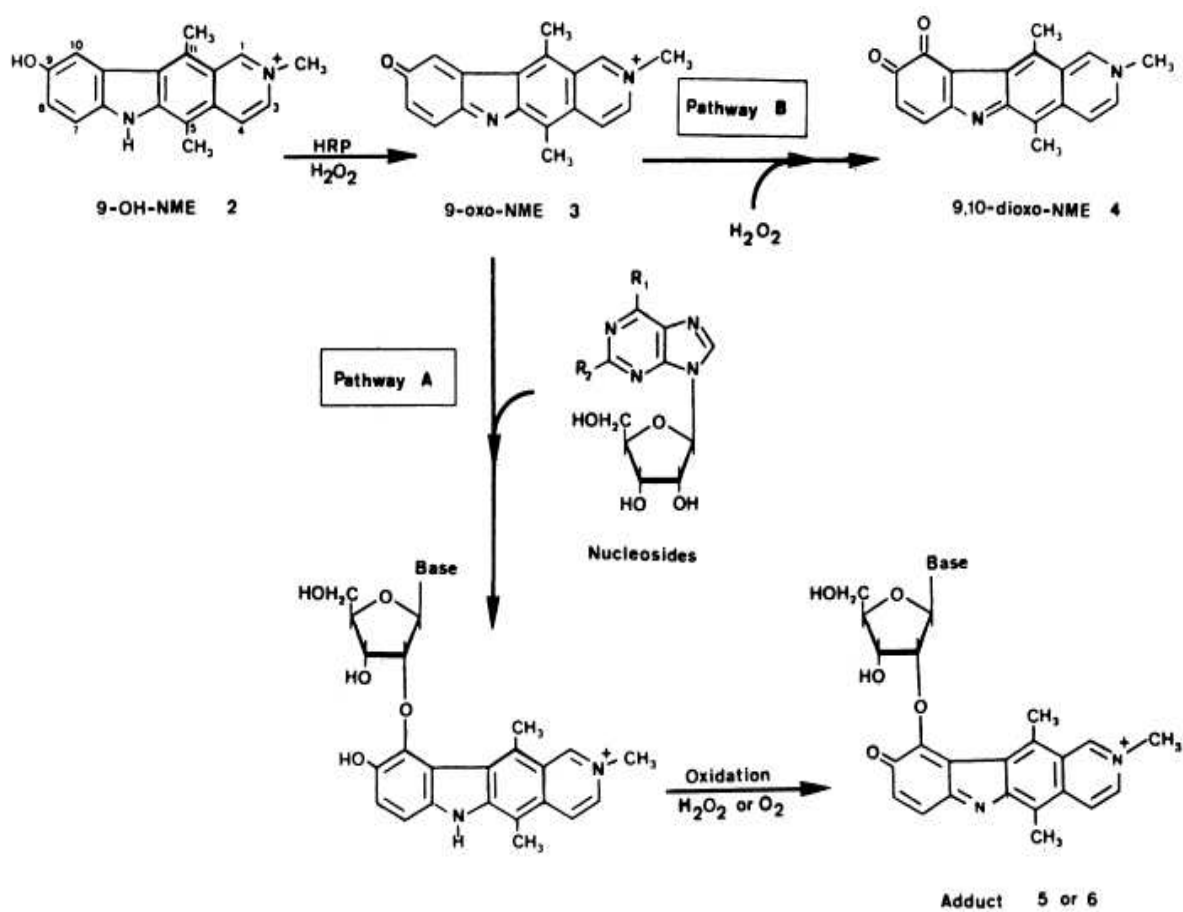


Fig. 61: Legame del Celiptium[®] con gli acidi nucleici.

CAPITOLO V

SCOPO DELLA RICERCA

Il lavoro della presente tesi s'inquadra in un progetto a più ampio respiro che riguarda lo studio chimico-farmaceutico di più famiglie di composti eterociclici analoghi dell'Ellipticina (Fig. 62) e la realizzazione di nuove modificazioni strutturali in ciascuna serie.

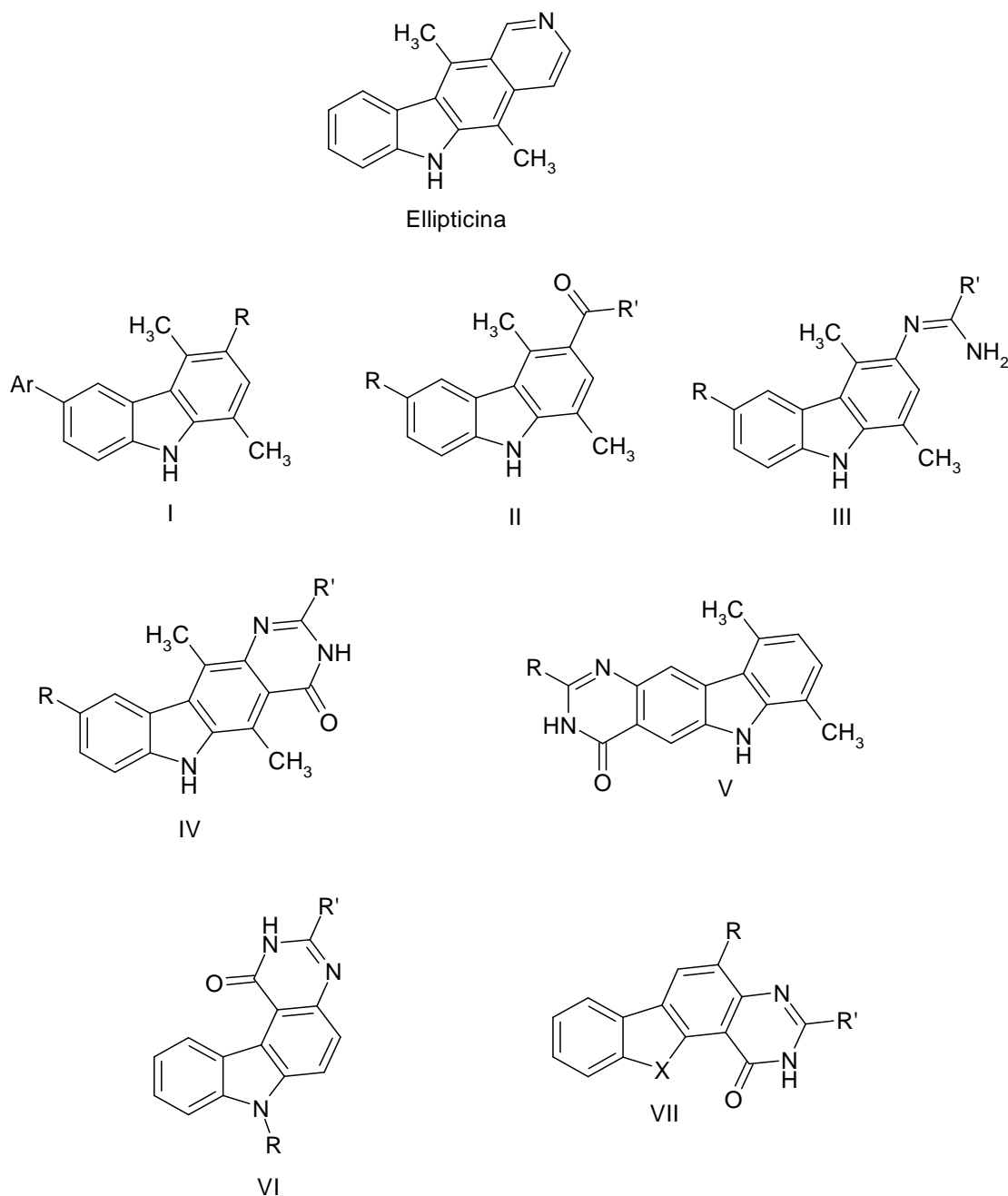


Fig. 62: Ellipticina ed analoghi strutturali sintetizzati nel presente lavoro.

In una prima fase lo studio ha previsto la messa a punto di nuovi metodi di sintesi per l'ottenimento di precursori dell'Ellipticina, con potenziale attività antineoplastica. Sono stati progettati e sintetizzati, infatti, acidi ed esteri boronici opportunamente *N*-protetti a struttura 5,8-dimetil-9*H*-carbazolica (Fig. 63),⁽⁸¹⁾ quali nuove molecole dotate di notevole reattività chimica.

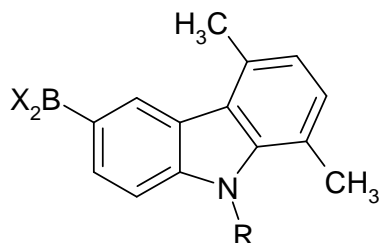


Fig. 63: Acidi ed esteri boronici.

Esse sono state ottenute grazie ad una reazione di scambio alogeno-metallo. Da esse per idrossideboronazione è stato possibile sintetizzare molto semplicemente ed a basso costo, il 5,8-dimetil-9*H*-carbazol-3-olo,⁽⁸¹⁾ quale importante precursore dell'Ellipticina (Fig. 64).

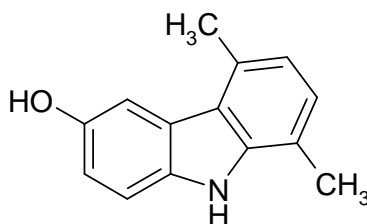


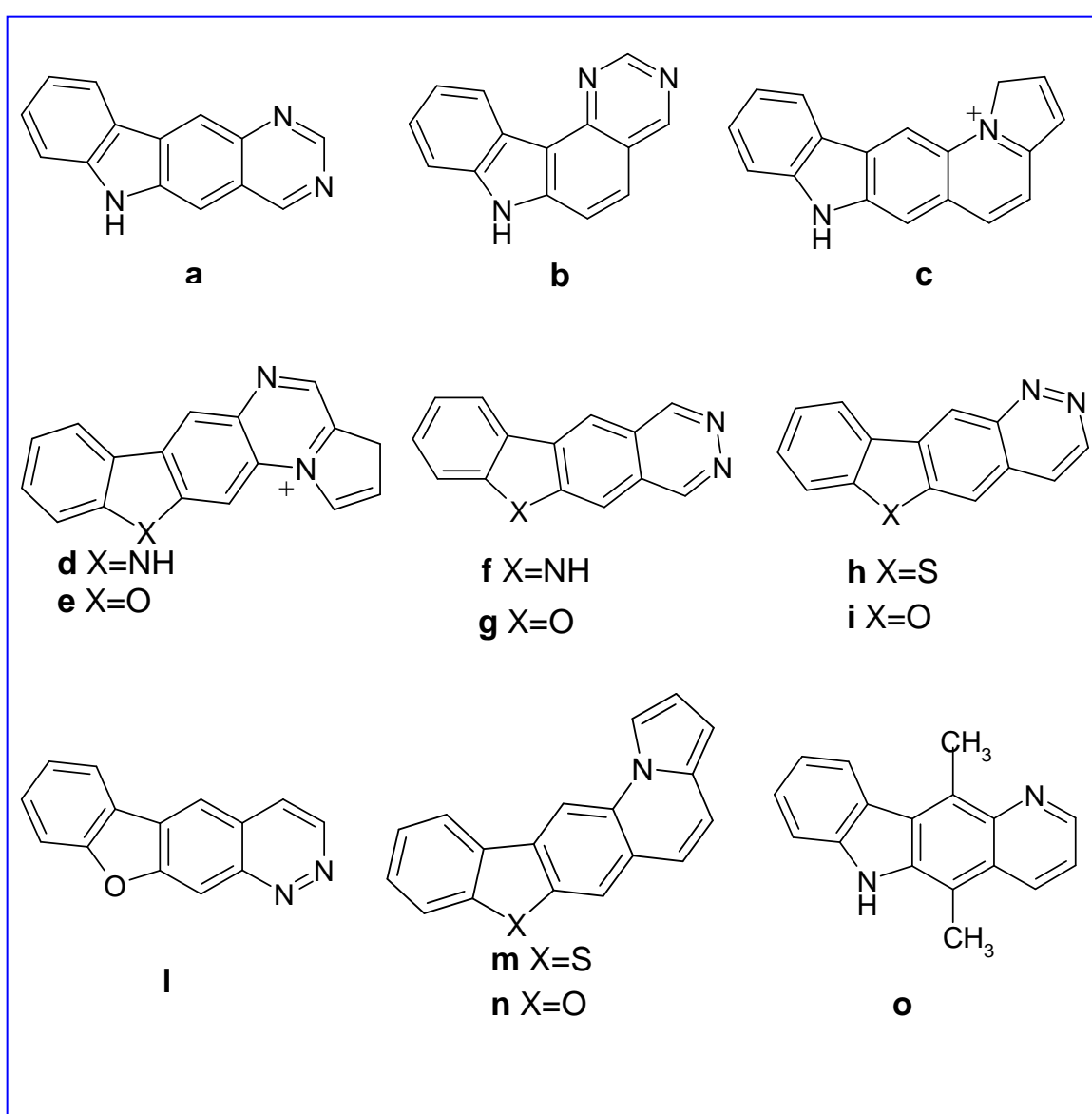
Fig. 64: 5,8-Dimetil-9*H*-carbazol-3-olo (precursore dell'Ellipticina).

L'alta reattività degli acidi boronici ha consentito inoltre, di ottenere i composti con struttura generale del tipo I (Fig. 62), analoghi dell'Ellipticina⁽⁸²⁾, grazie a reazioni di coupling metallo catalizzate "tipo Suzuki".⁽⁸³⁾

In un secondo tempo, l'interesse è stato rivolto alla sintesi di nuovi derivati del 1,4-dimetil-9*H*-carbazolo, molecole che presentano le caratteristiche strutturali idonee per un'attività antitumorale, antibatterica, antiinfiammatoria e antistaminica.⁽⁸⁴⁾ Pertanto, sono stati preparati, mediante semplici reazioni di Friedel-Crafts,^(85, 86) i 3-acil-(e 3-aroil) del 1,4-dimetil-9*H*-carbazolo diversamente sostituiti (II Fig. 62). Alcuni di questi composti hanno mostrato ottima attività citotossica.

Il terzo obiettivo raggiunto è stato la sintesi di analoghi strutturali quadriciclici dell'Ellipticina e dei corrispondenti isosteri (IV-VII Fig. 62).

Precedenti studi effettuati nelle serie del carbazolo, delle chinoline, delle pirrolopirazine, ecc, avevano condotto alla sintesi ed alla valutazione farmacologica di numerosi derivati eterociclici (Tab. 3). In particolare, erano stati preparati pirimido-carbazoli (**a-b**),^(87, 88) pirrolopirazino-carbazoli (**c-d**),^(89, 90) benzofuopirrolochinossaline (**e**),⁽⁹¹⁾ piridazino-carbazoli (**f**), benzofuroftalazine (**g**), benzotienochinoline (**h**), benzofurochinoline (**i-l**), benzotieno^(92, 93) e benzofuopirrolopirazine (**m-n**)⁽⁹⁴⁾ e pirido-[3,2-b]-carbazoli (**o**)^(95, 96) (Tab. 3), ottenendo nuovi composti con buona attività antineoplastica.



Tab. 3

Da recenti studi era inoltre, risultato che derivati 5,11-dimetil-6*H*-piridocarbazoli-9-alogeni sostituiti (Fig. 65) erano dotati *in vitro* di una buona attività citotossica su colture cellulari di cellule leucemiche L 1210.⁽⁹⁷⁾

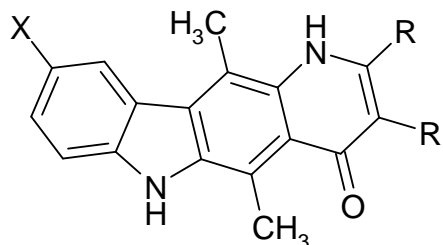


Fig. 65

Le interessanti proprietà farmacologiche riscontrate per i composti mostrati in Tab.3 ed in Fig. 65 ci hanno indirizzato alla progettazione di nuove modificazioni strutturali. Abbiamo ottenuto nuove library di composti con strutture generali (III-VII Fig. 62):

- *N*-(1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-guanidine diversamente sostituite (III);
- 5,11-Dimetil (e 7,10-dimetil)-3,6-diidro-pirimido-[5,4-*b*]-carbazoli diversamente sostituiti (IV-V);
- 7-Etil (e 7 *H*)-2,7-diidro-pirimido-[4,5-*c*]-carbazoli diversamente sostituiti (VI);
- 2*H*-Benzofuro- (e benzotieno) [2,3-*c*]-chinazolin-1-oni diversamente sostituiti (VII).

Tutte le molecole preparate sono state saggiate farmacologicamente.

5.1 Nuova ed efficiente sintesi di 5,8-dimetil-9*H*-carbazol-3-olo via idrossiborazione

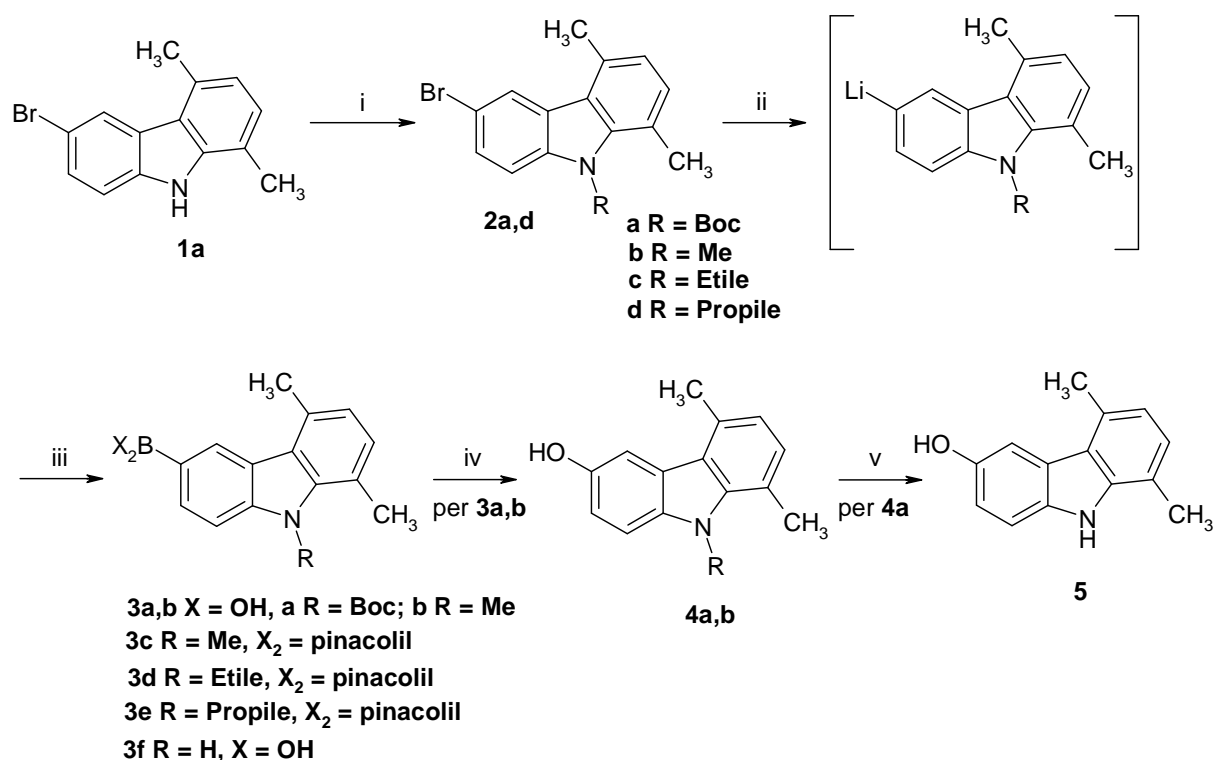
La sintesi di 5,8-dimetil-9*H*-carbazol-3-olo (Fig. 64) è stata realizzata come mostrato nello Schema 1. Inizialmente, si è provveduto a sintetizzare il derivato (**1a**), grazie alla reazione di Cronwell e Saxton⁽⁹⁸⁾ che ha previsto l'utilizzo del 5-bromoindolo (**6a**), dell'acetilacetone (**26**) e dell'acido *p*-toluensolfonico, in etanolo come dettagliato nel paragrafo 5.4.

Il 6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**1a**) ottenuto, è stato *N*-protetto mediante l'utilizzo di (Boc)₂O (di-*ter*-butil-dicarbonato) in presenza di DMAP (dimetilaminopiridina), TEA (trietilammina) (in acetonitrile a 0-25 °C),⁽⁹⁹⁾ per ottenere il composto **2a** ed in alternativa, *N*-alchilato⁽¹⁰⁰⁾ con l'utilizzo di opportuni alogenuri alchilici ed idruro di sodio in DMF (dimetilformammide), a 25 °C, per ottenere i composti **2b-d**.

I composti **2a** e **2b** sono stati prima sottoposti a reazione di litiazione-boronazione a bassa temperatura ($-90\text{ }^{\circ}\text{C}$) usando *n*-BuLi e trimetil borato in THF e poi idrolizzati con HCl 1N, a pH = 4, ottenendo gli acidi boronici derivati **3a** e **3b** rispettivamente.⁽¹⁰¹⁻¹⁰⁵⁾ Essi trattati con una soluzione acquosa basica di NaOH e NaHCO₃ (a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ ed in seguito, a temperatura ambiente) e con perossido d'idrogeno hanno dato il composto **4a** per acidificazione moderata (HCl 1 N, pH = 4, resa dell'82%) ed il composto **4b** (resa del 70%).

Anche per gli esteri pinacolici **3c-e**, è stata adottata la stessa metodologia sintetica. In questi casi la litiazione-boronazione si è effettuata con tri-*i*-propil borato e pinacolo in acido acetico a pH = 4.

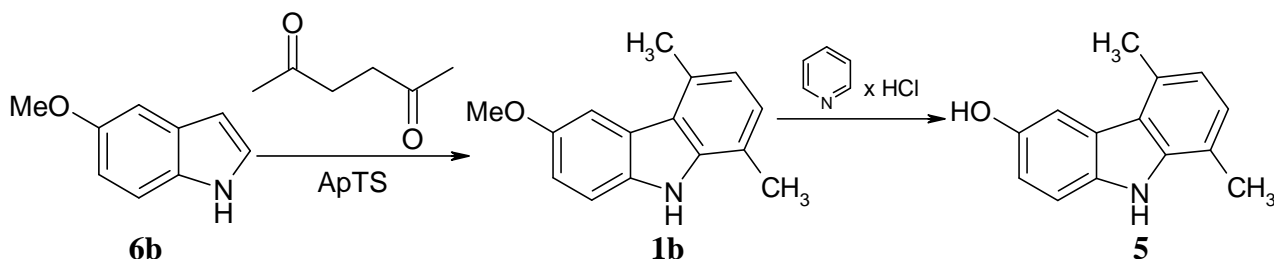
Infine, il composto **4a** è stato deproteetto per trattamento idrolitico con HCl 6N a pH = 1 ottenendo il 5,8-dimetil-9*H*-carbazol-3-olo (**5**) (resa del 75%) desiderato. Il composto **5** è stato anche ottenuto direttamente dall'acido boronico **3f** a seguito di una simultanea idrossideboronazione e *N*-deprotezione ma con resa inferiore al 75%.



Reagenti: (i) (Boc)₂O, DMAP, TEA, MeCN, 0-25°C per **2a**; NaH, Alogenuri alchilici, DMF, 25 °C, per **2b-d**; (ii) *n*-BuLi, THF, $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$; (iii) B(OCH₃)₃, HCl 1N, pH 4 per **3a,b**; B(OiPr)₃, pinacolo in MeCO₂H, pH 4 per **3c-e**; B(OCH₃)₃, HCl 6N, pH 1 per **3f**; (iv) NaOH, NaHCO₃, H₂O₂, t.a., 24 h in HCl 1N, pH 4; (v) HCl 6N, pH 1.

Schema 1

La metodologia descritta risulta essere, sia per la semplicità del processo che per i bassi costi, di notevole rilevanza sintetica. Essa potrebbe essere quindi una valida via alternativa a quella classicamente utilizzata per la preparazione dei derivati dell'Ellipticina. Quest'ultima prevede, infatti, l'utilizzo del 5-metossi-indolo (**6b**), "starting material" molto costoso⁽¹⁰⁶⁾ (Schema 2).

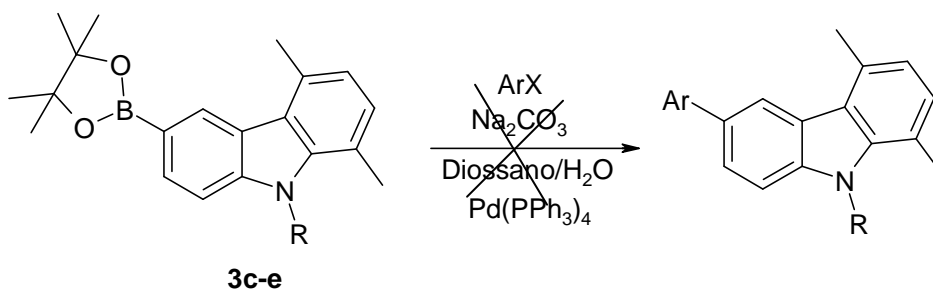


Schema 2

Dei composti cristallini (cristalli ottenuti da acetonitrile) **2c** e **3d** è stata effettuata l'analisi ai Raggi X (vedi parte sperimentale). Dallo studio dei dati ottenuti, risulta che in entrambe le strutture i gruppi metilici sono coplanari con il sistema carbazolico ed il gruppo etilico si trova fuori dal piano. Il ciclo diossaborolano del derivato **3d** adotta una conformazione "quasi a sedia" ma si trova approssimativamente in una orientazione planare rispetto al sistema carbazolico mentre, l'atomo di bromo del derivato **2c** risulta essere coplanare al piano del nucleo carbazolico.⁽¹⁰⁷⁾

5.2 Sintesi di 6-aryl-1,4-dimetil-9H-carbazoli (I)

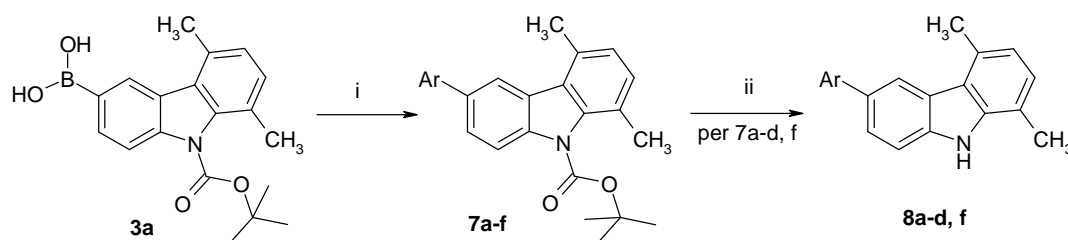
Passaggio successivo è stato lo studio della reattività degli acidi e degli esteri boronici sintetizzati. In un primo momento, si è pensato di effettuare delle reazioni di coupling metallo catalizzate "tipo Suzuki" sui derivati esterei. Tale sintesi è stata, infatti, effettuata a partire dai derivati **3c-e** (Schema 3) in presenza di differenti alogenuri d'arile, Na_2CO_3 e $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ in diossano e H_2O , a 80°C . La reazione non ha dato i risultati attesi. Si sono riottenuti i prodotti di partenza (**3c-e**).




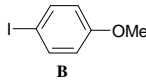
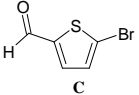

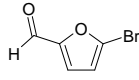
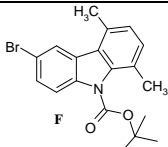
Schema 3

La stessa reazione è stata allora realizzata utilizzando come “starting material” l’acido boronico **3a** in presenza degli stessi alogenuri d’arile (**A-F**), Na_2CO_3 e $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ in diossano e H_2O , a 80°C . In questo caso la sintesi è andata a buon fine: infatti, sono stati ottenuti, con buone rese i composti attesi **7a-f** (Schema 4).

L’utilizzo di HCl gassoso in 1,4-diossano ha consentito di deproteggere i derivati **7a-f** e si sono ottenuti così i composti **8a**, **8b**, **8c**, **8d** e **8f** in rese quantitative mentre non è stato possibile applicare lo stesso metodo al derivato furanico **7e** probabilmente per la bassa stabilità in ambiente acido del nucleo ossigenato (Schema 4).

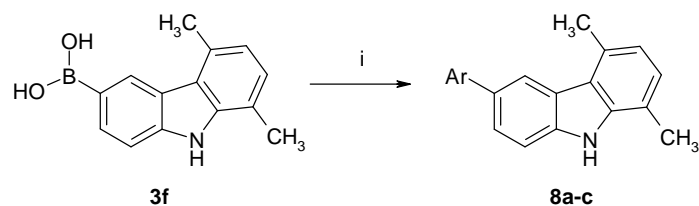


Reagenti: (i) ArX (**A-F**), 1,4-diossano / H_2O , Na_2CO_3 , $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$, 80°C , 24-48 h;
(ii) $\text{HCl}_{(g)}$ / 1,4-diossano.


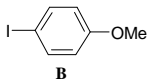
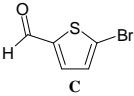
| ArX | Composti / Rese | Composti / Rese |
|--|-----------------|-----------------|
|  A | 7a / 50% | 8a / 95% |
|  B | 7b / 70% | 8b / 95% |
|  C | 7c / 90% | 8c / 90% |
|  D | 7d / 45% | 8d / 92% |
|  E | 7e / 60% | 8e / -- |
|  F | 7f / 40% | 8f / 94% |

Schema 4

I composti **8a-c** sono stati ottenuti anche a partire dall’acido boronico *N*-deproteetto **3f** ma con bassissime rese facendoci concludere che l’ottimizzazione del processo si ha utilizzando acidi boronici di partenza protetti all’azoto carbazolico (Schema 5).

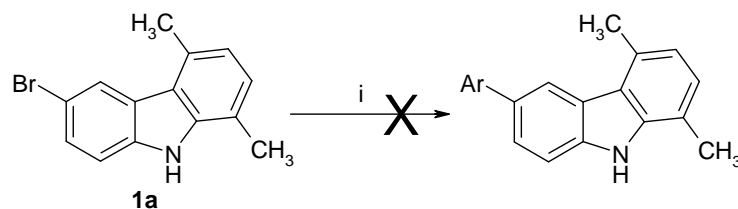


Reagenti: (i) ArX (A-C), 1,4-diossano / H_2O , Na_2CO_3 , $Pd(PPh_3)_4$, $80^\circ C$, 24-48 h.

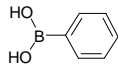
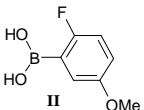
| ArX | Composti / Rese |
|--|------------------|
|  A | 8a / <10% |
|  B | 8b / <10% |
|  C | 8c / 28% |

Schema 5

Il cross-coupling, nelle stesse condizioni di reazione già descritte, si è realizzato utilizzando anche come starting material l'1,4-dimetil-6-bromo-9H-carbazolo **1a** in presenza di diversi acidi boronici (**I-II**); in questo caso non sono stati ottenuti i risultati attesi (Schema 6).

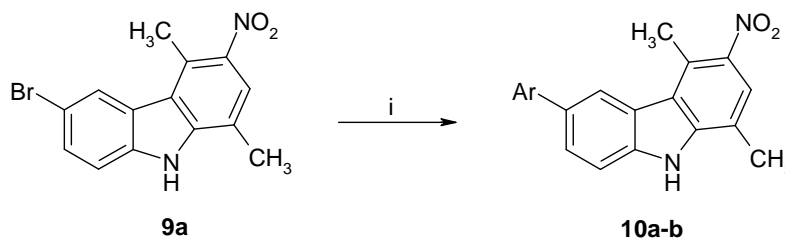


Reagenti: (i) $ArB(OH)_2$ (**I e II**), 1,4-diossano / H_2O , Na_2CO_3 , $Pd(PPh_3)_4$, $80^\circ C$, 48 h.

| $ArB(OH)_2$ |
|---|
|  I |
|  II |

Schema 6

Gli aril carbazoli desiderati **10a-10b** sono stati invece ottenuti a partire dal 6-bromo-1,4-dimetil-3-nitro-9*H*-carbazolo **9a** nelle stesse condizioni di cross-coupling descritte precedentemente (Schema 7) confermando che il nitro gruppo, quale buon elettrone-attrattore, favorisce le reazioni metallo catalizzate.⁽¹⁰⁸⁾



Reagenti: (i) $ArB(OH)_2$ (**I e II**), 1,4-diossano / H_2O , Na_2CO_3 , $Pd(PPh_3)_4$, 80 °C, 48 h.

| $ArB(OH)_2$ | Composti / Rese |
|------------------|------------------|
| <p>I</p> | 10a / 67% |
| <p>II</p> | 10b / 45% |

Schema 7

5.3 Sintesi di 6-acil (e aroil)-1,4-dimetil-9*H*-carbazoli diversamente sostituiti (**II**)

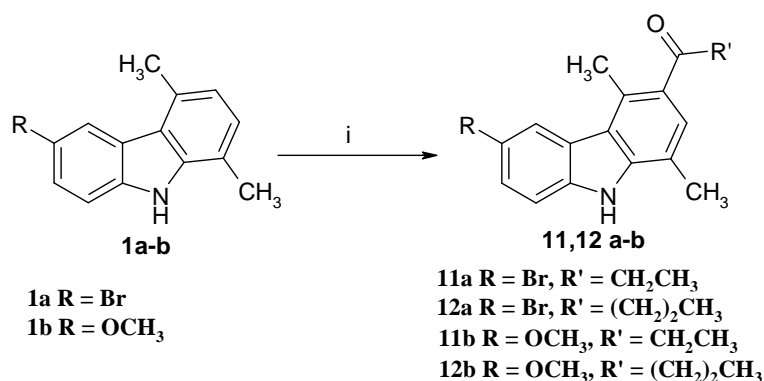
Allo scopo di preparare nuovi analoghi strutturalmente modificati (**II** Fig. 62), è stata messa a punto una strategia sintetica molto semplice (Schemi 8-9).

Come già detto, alcuni di questi nuovi composti hanno mostrato ottima attività citotossica (vedi capitolo risultati) su cellule KB (cellule di carcinoma epidermoidi).

In particolare, i composti più attivi (**16a**, **16c**, **16d**, **16g**, **16l**) presentano la porzione carbazolica, importante per l'attività antitumorale ed anche il sistema fenilico opportunamente trimetossilato responsabile dell'attività antitubulinica ed antimitotica.⁽¹⁰⁹⁾

Inizialmente, sono stati preparati i derivati acilici (**11,12 a-b**) mediante una via sintetica che ha richiesto solo due steps di reazione. Nel primo step sono stati preparati i carbazoli (**1a-b**) grazie alla reazione di Cronwell e Saxton.⁽⁹⁸⁾ Il secondo step sintetico invece, ha previsto una reazione di acilazione di Friedel-Crafts^(85, 86) (Schema 8). Quindi, i derivati **1a-b** solubilizzati in cloroformio dry, sono stati acilati con opportune anidridi in

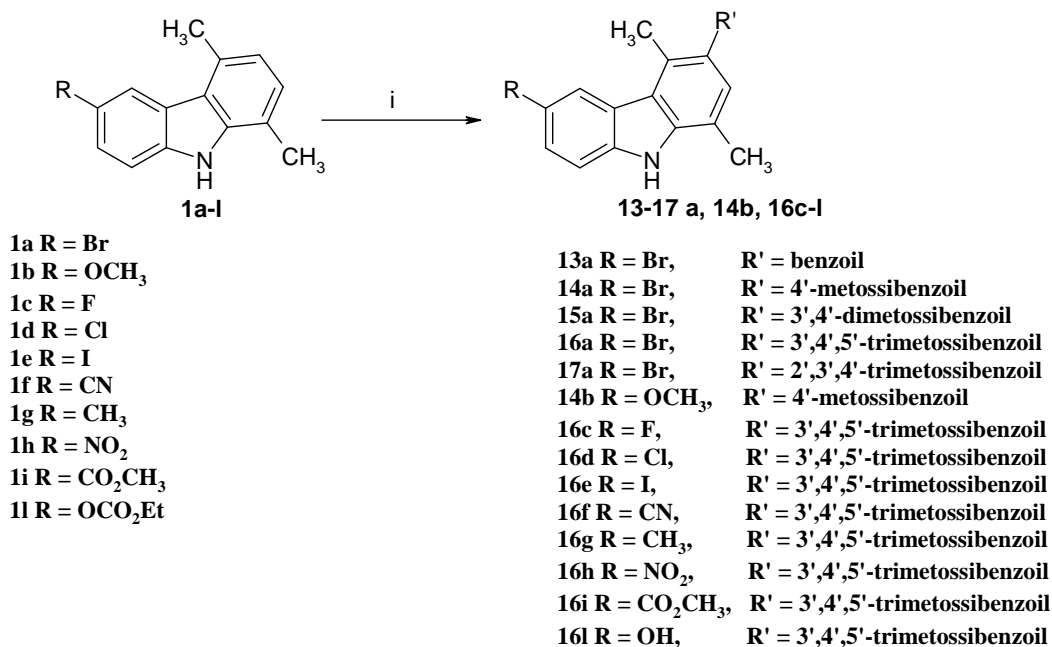
presenza di tricloruro di alluminio, negli opportuni rapporti molari, ottenendo così i composti 1,4-dimetil-9*H*-carbazoli acil sostituiti (**11,12 a-b**) attesi.



Reagenti: (i) AlCl₃, anidride propionica o butirrica, CHCl₃ refluxo, 3 h.

Schema 8

Grazie alla stessa via sintetica, a partire dai corrispondenti carbazoli (**1a-l**),⁽¹¹⁰⁻¹¹²⁾ sono stati sintetizzati i derivati (**13-17 a**, **14b**, **16c-l**). In questo caso, le acilazioni sono state effettuate con benzoil cloruri opportunamente sostituiti (Schema 9).

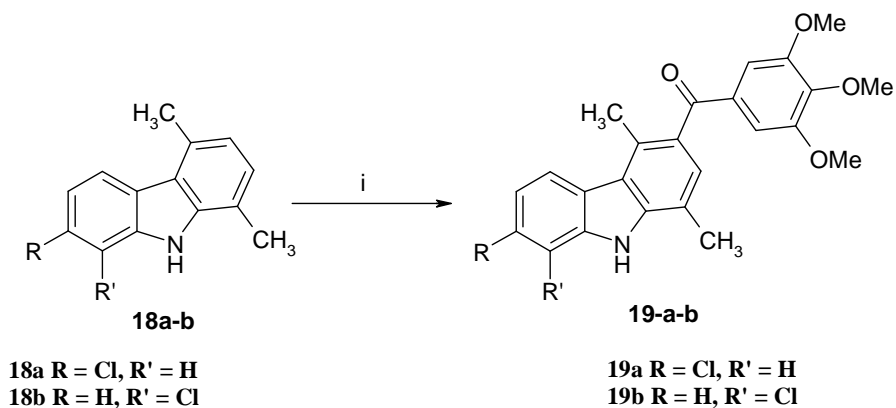


Reagenti: (i) AlCl₃, benzoil cloruri diversamente sostituiti, CHCl₃ refluxo, 3-24 h.

Schema 9

Come si evince dallo Schema 9, il derivato **16i** è stato ottenuto direttamente dal derivato **11**. L'ambiente di reazione acido favorisce, infatti, la deprotezione dell'ossigeno.

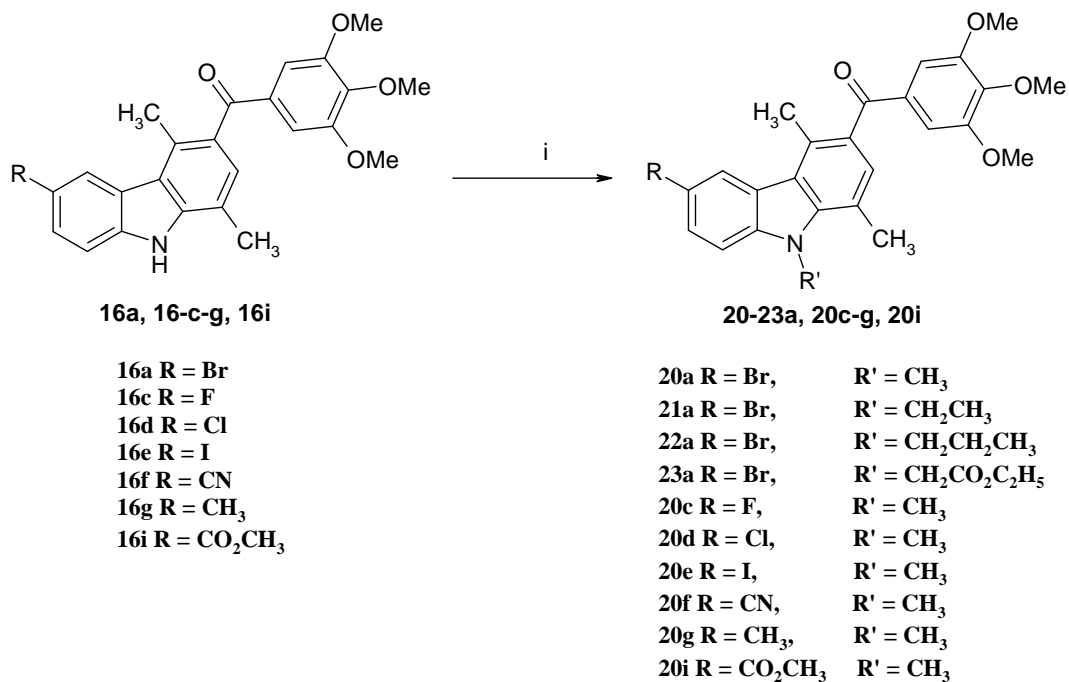
Di particolare rilevanza è stato l'ottenimento dei derivati **19a-b**, ottenuti per benzoilazione di Friedel-Crafts, a partire dal derivato 7-cloro-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**18a**) e dal derivato 8-cloro-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**18b**) (Schema 10).



Reagenti: (i) $AlCl_3$, 3',4',5'-trimetossibenzoil-cloruro, $CHCl_3$ refluxo, 24 h.

Schema 10

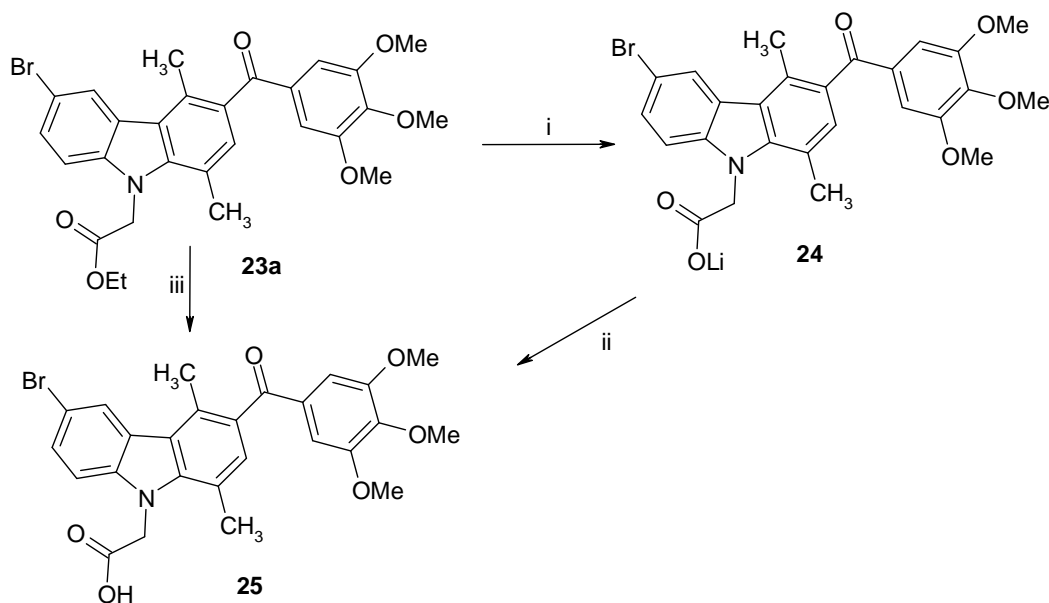
Al fine poi di ottenere i composti **20-23 a**, **20c-g**, **20i** opportunamente sostituiti all'atomo di azoto, i derivati **16a**, **16c-g**, **16i** sono stati *N*-alchilati con l'utilizzo di opportuni alogenuri alchilici ed idruo di sodio in DMF a 25 °C (Schema 11).



Reagenti: (i) NaH, Alogenuri alchilici, DMF, 25 °C.

Schema 11

Infine, per aumentarne la solubilità, il derivato **23a** è stato sottoposto a reazione di saponificazione con LiOH (in una miscela di THF / H₂O a 60 °C). È stato così possibile ottenere il sale di litio (**24**) che per successiva acidificazione (HCl al 37 % fino a pH = 1) ha dato l'acido (**25**) corrispondente (Schema 12).

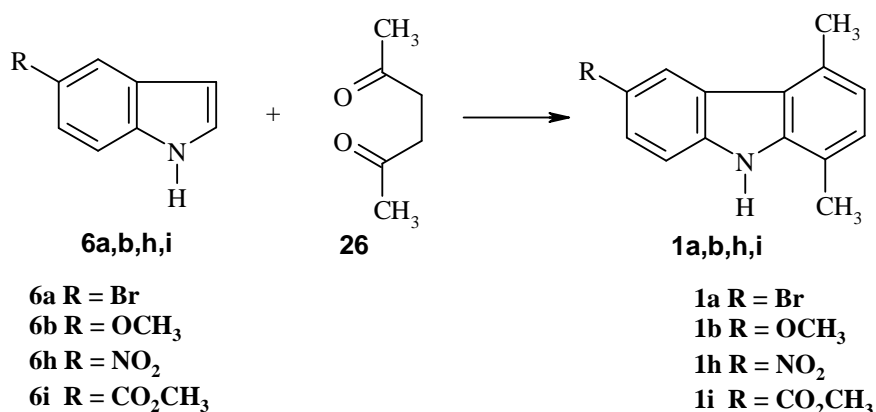


Reagenti: (i) LiOH, THF/H₂O, 60 °C per 5 h; (ii) HCl 37 %, pH = 1; (iii) LiOH, THF/H₂O, HCl 37 %, pH = 1.

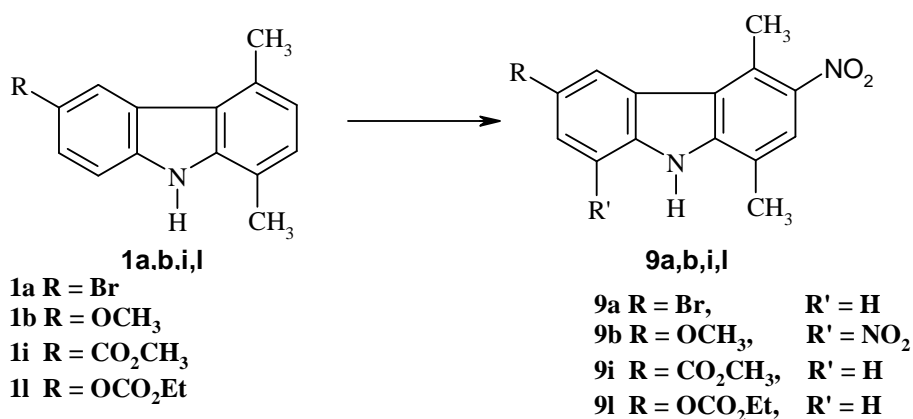
Schema 12

5.4 Sintesi di: *N*-(1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-guanidine (III), 5,11-dimetil (e 7,10-dimetil)-3,6-diidro-pirimido-[5,4-*b*]-carbazoli (IV-V) e 7-etil (e 7 *H*)-2,7-diidro-pirimido-[4,5-*c*]-carbazoli diversamente sostituiti (VI)

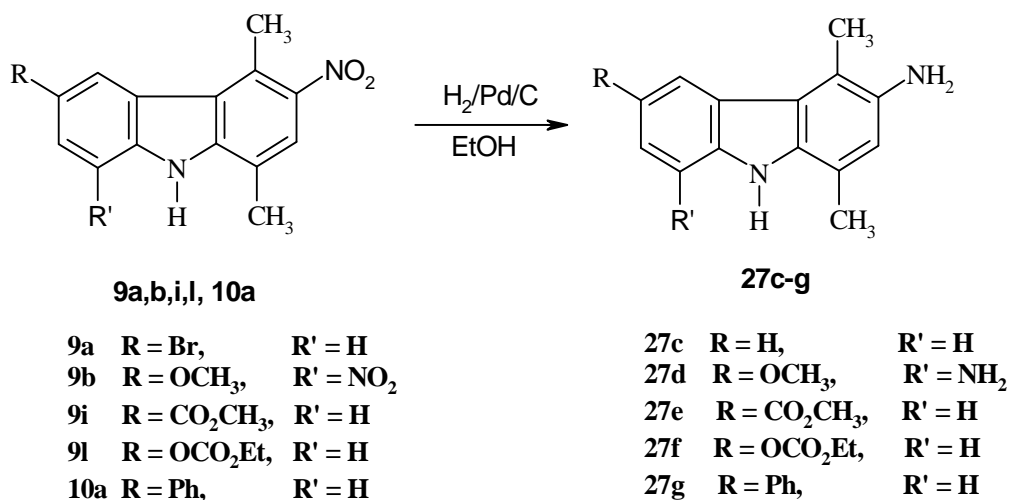
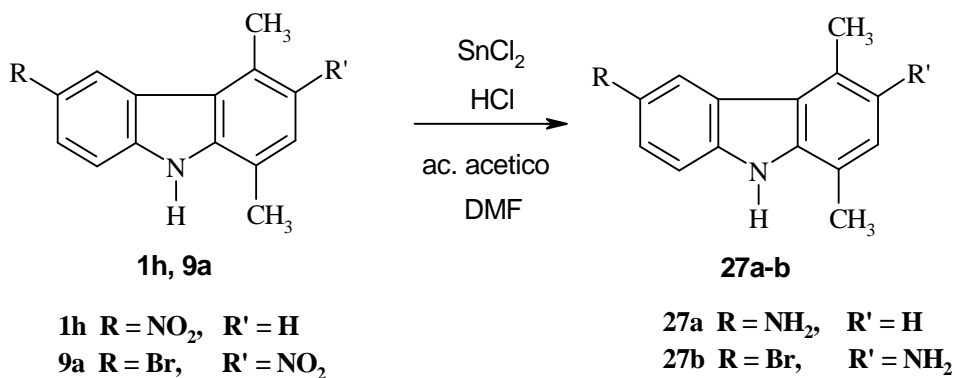
La preparazione dei carbazoli (**1a,b,h,i**) ha previsto la messa a punto della reazione di Cronwell e Saxton.⁽⁵⁸⁾ In particolare essi sono stati ottenuti a partire dai corrispondenti indoli (**6a,b,h,i**) ad opera dell'acetoniacetone (**26**) e dell'acido *p*-toluensolfonico, in etanolo.



Dagli 1,4-dimetil-9*H*-carbazoli (**1a,b,i,l**) con acido nitrico fumante (quantità equimolari) in anidride acetica si sono ottenuti gli 1,4-dimetil-3-nitro-9*H*-carbazoli (**9a,b,i,l**).^(106b, 110) In particolare il derivato **9b** è stato ottenuto utilizzando un eccesso di acido nitrico fumante.



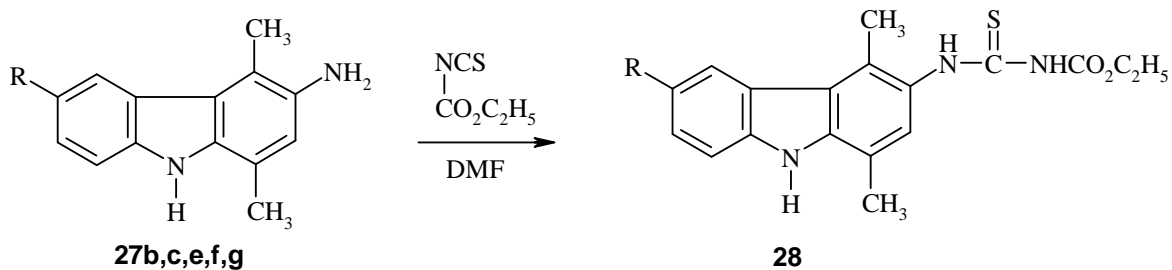
I nitro-carbazoli (**1h**, **9a,b,i,l**, **10a**) ottenuti sono stati ridotti in alcuni casi con cloruro stannoso ed in altri per idrogenazione sotto pressione in presenza di palladio su carbone ottenendo le ammine corrispondenti (**27a-g**).



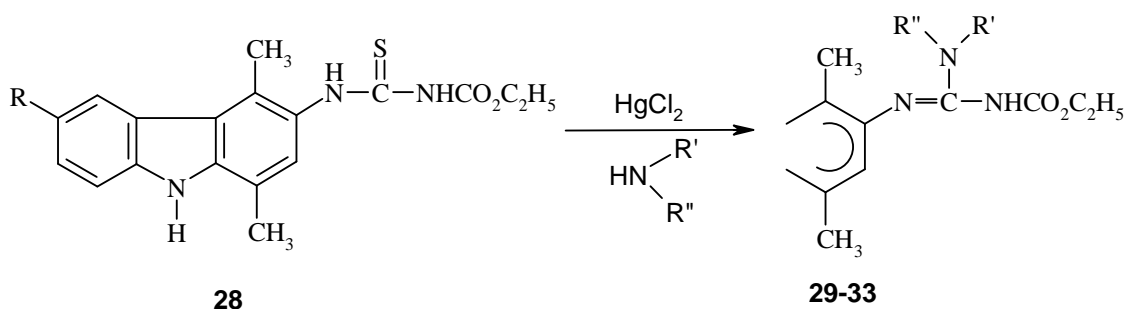
Come riportato nel capitolo “parte sperimentale”, dalla reazione del derivato **9a** con H_2 e Pd/C in autoclave, oltre alla riduzione del gruppo nitro si ha la perdita del bromo ottenendo il derivato amminico **27c**.

Lo step successivo ha previsto una reazione, multicomponente, di ciclizzazione realizzata in tre stadi:

a) L’etossicarbonil-isotiocianato reagisce, in DMF, con i 3-amminocarbazoli **27b**, **27c**, **27e**, **27f**, **27g** per condurre alle tiuree attese corrispondenti (**28**);



b) Le tiouree (**28**) reagiscono con diverse ammine in presenza di cloruro mercurico, dando i derivati guanidinici diversamente sostituiti (**29-33**);



29 R = Br

- 29a** R' = R'' = CH₂CH₃
- 29b** R' = R'' = (CH₂)₃CH₃
- 29c** R' = R'' = CH₂CH=CH₂
- 29d** R', R'' = esametenimmino
- 29e** R' = R'' = (CH₂)₄CH₃
- 29f** R', R'' = morfolin
- 29g** R' = H, R'' = C(CH₃)₃
- 29h** R' = H, R'' = HC(CH₂CH₃)₂
- 29i** R' = H, R'' = (CH₂)₃N(CH₂CH₃)₂
- 29l** R' = H, R'' = (CH₂)₃CH₃

30 R = H

- 30a** R' = R'' = (CH₂)₄CH₃
- 30b** R' = R'' = CH₂CH₃
- 30c** R' = R'' = CH₃
- 30d** R' = R'' = CH₂CH=CH₂
- 30e** R' = H, R'' = CH₂CH=CH₂
- 30f** R' = H, R'' = (CH₂)₂CH₃
- 30g** R' = H, R'' = (CH₂)₃CH₃

31 R = CO₂CH₃

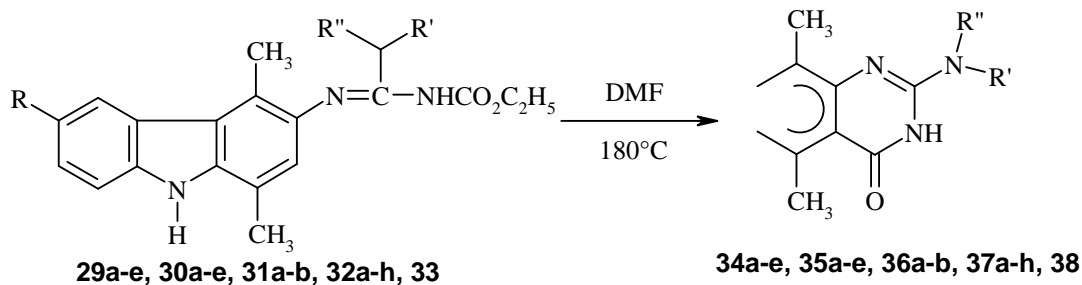
- 31a** R' = R'' = CH₂CH₃
- 31b** R' = R'' = CH₂CH=CH₂

32 R = OCO₂CH₂CH₃

- 32a** R' = H, R'' = (CH₂)₃N(CH₂CH₃)₂
- 32b** R', R'' = pirrolidin
- 32c** R', R'' = morfolin
- 32d** R' = R'' = (CH₂)₄CH₃
- 32e** R' = CH₂CH₃, R'' = (CH₂)₃CH₃
- 32f** R' = R'' = CH₂CH=CH₂
- 32g** R', R'' = piperidin
- 32h** R', R'' = esametenimmino
- 32i** R' = R'' = H
- 32l** R' = H, R'' = (CH₂)₃CH₃

33 R = Ph, R', R'' = pirrolidin

c) Le guanidine **29a-e**, **30a-e**, **31a-b**, **32a-h**, **33** ciclizzano per riscaldamento a 180 °C in dimetilformammide. In questo modo si ottengono i 5,11-dimetil-3,6-diidro-pirimido-[5,4-b] carbazoli desiderati (**34a-e**, **35a-e**, **36a-b**, **37a-h**, **38**).



34 R = Br

34a R' = R'' = CH₂CH₃

34b R' = R'' = (CH₂)₃CH₃

34c R' = R'' = CH₂CH=CH₂

34d R', R'' = esametenimmino

34e R' = R'' = (CH₂)₄CH₃

35 R = H

35a R' = R'' = (CH₂)₄CH₃

35b R' = R'' = CH₂CH₃

35c R' = R'' = CH₃

35d R' = R'' = CH₂CH=CH₂

35e R' = H, R'' = CH₂CH=CH₂

36 R = CO₂CH₃

36a R' = R'' = CH₂CH₃

36b R' = R'' = CH₂CH=CH₂

37 R = OCO₂CH₂CH₃

37a R' = H, R'' = (CH₂)₃N(CH₂CH₃)₂

37b R', R'' = pirrolidin

37c R', R'' = morfolin

37d R' = R'' = (CH₂)₄CH₃

37e R' = CH₂CH₃, R'' = (CH₂)₃CH₃

37f R' = R'' = CH₂CH=CH₂

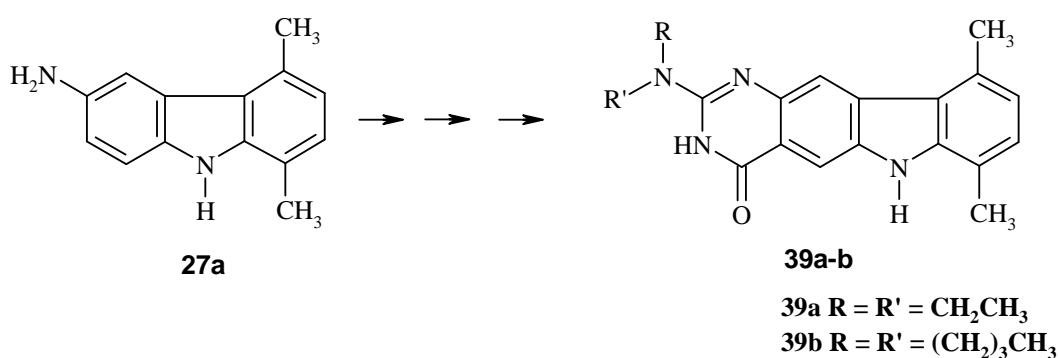
37g R', R'' = piperidin

37h R', R'' = esametenimmino

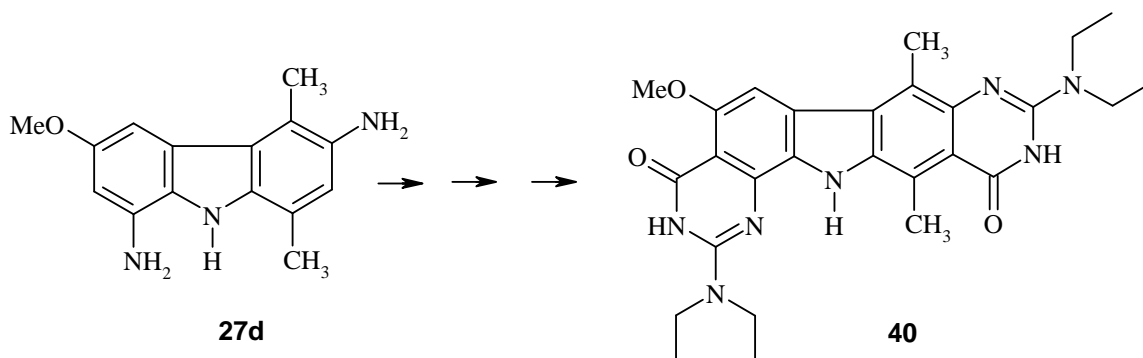
38 R = Ph, R', R'' = pirrolidin

Le guanidine **29f-l**, **30f-g**, **32i-l** non ciclizzano nelle condizioni descritte probabilmente per una loro notevole stabilità. Esse, sono state isolate e completamente caratterizzate spettroscopicamente.

La stessa reazione one-pot, come descritta precedentemente, è stata applicata sul derivato amminico **27a** ottenendo i derivati pirimido corrispondenti (**39a-b**).

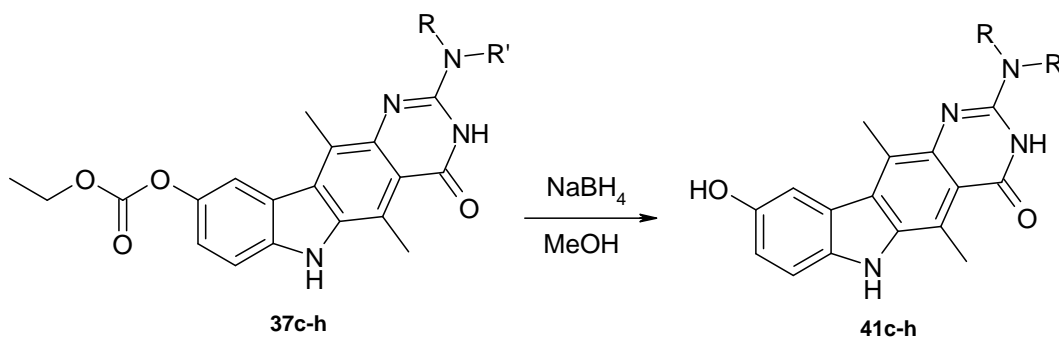


Seguendo la stessa procedura di sintesi, è stato anche preparato il derivato pentaciclico (**40**), di notevole interesse chimico. In questo caso la ciclizzazione si è realizzata a partire dal derivato **27d** ottenuto a sua volta per riduzione dal nitro derivato corrispondente **9b**.⁽¹¹¹⁾



Intento successivo è stata la sintesi dei derivati pirimido-carbazolici 9-idrossi sostituiti analoghi strutturali dell'Elliptinio (Celiptium, Fig. 54), antitumorale dotato di notevole citossicità.⁽⁷⁵⁾

A tale scopo, semplicemente per deprotezione (NaBH_4 in metanolo e per 5 h a riflusso) dei derivati 3,6-diidro-5,11-dimetil-9-etossicarbonilossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-oni diversamente sostituiti (**37c-h**) si sono ottenuti i derivati 3,6-diidro-5,11-dimetil-9-idrossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-oni corrispondenti (**41c-h**) con ottime rese.



c R, R' = morfolin

d R = R' = $(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$

e R = CH_2CH_3 , R' = $(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$

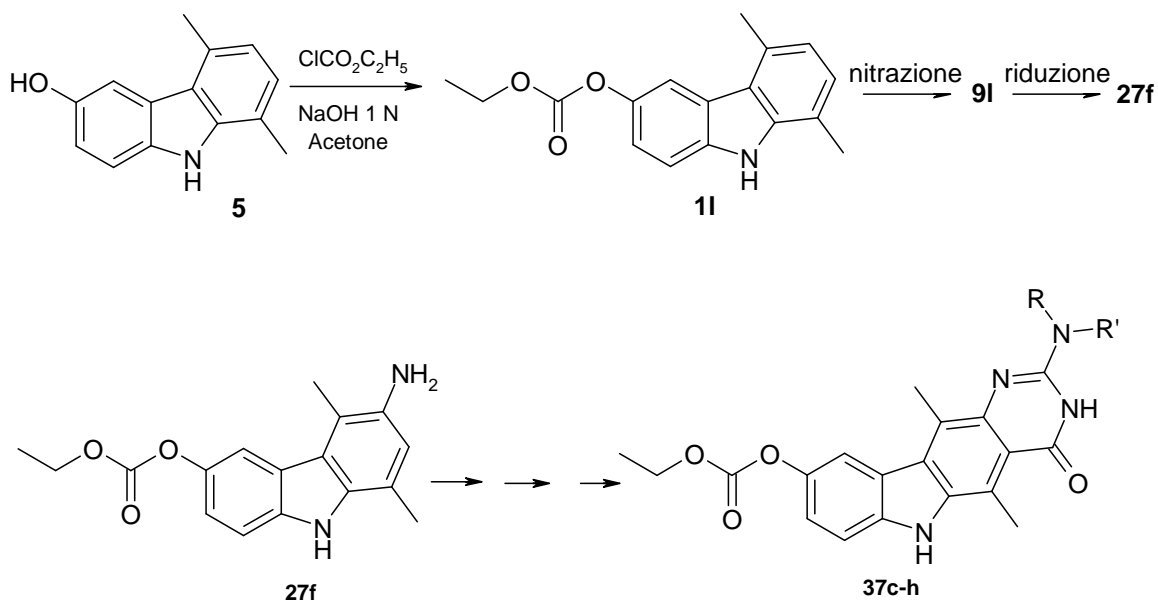
f R = R' = $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$

g R, R' = piperidin

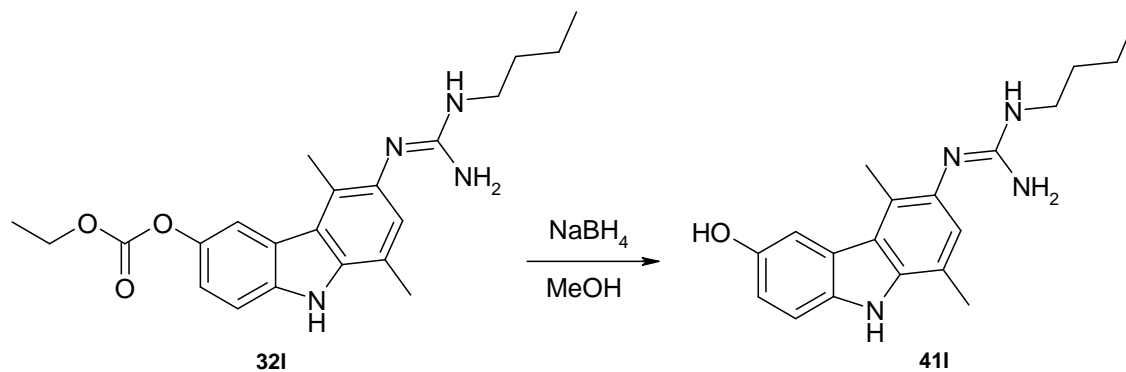
h R, R' = esametilenimmino

I 3,6-diidro-5,11-dimetil-9-etossicarbonilossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-oni diversamente sostituiti (**37c-h**) sono stati ottenuti, come già riportato, per ciclizzazione multicomponente del 6-ammino-5,8-dimetil-3-etossicarbonilossi-9*H*-carbazolo (**27f**).

Il composto **27f** è stato ottenuto per riduzione di **9l** ^(106b) a sua volta ottenuto per nitratura dal 5,8-dimetil-3-idrossi-9*H*-carbazolo protetto (**11**). La protezione del gruppo idrossilico del composto **5**, effettuata grazie al cloroformiato d'etile in una miscela di NaOH 1N ed acetone a riflusso per 4 h, è necessaria altrimenti durante la reazione di nitratura si avrebbe la formazione di un derivato di-nitrato.

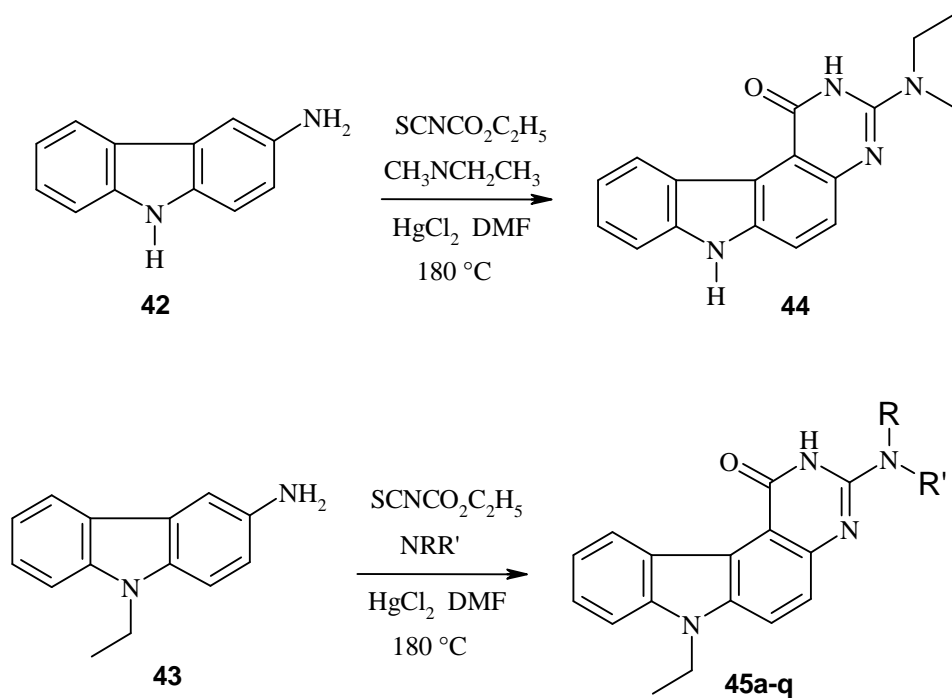


È stato anche possibile ottenere il derivato idrossilico **41l** a partire dal derivato 6-etossicarbonilossi-guanidinico (**32l**) per selettiva deprotezione con NaBH_4 in metanolo.



Infine, la reazione di ciclizzazione (one-pot) è stata anche messa a punto a partire da altri due derivati amminici a struttura carbazolica (**42**, **43**). In particolare, utilizzando il

3-ammino-9*H*-carbazolo (**42**) ed il 3-ammino-9-etil-9*H*-carbazolo (**43**) è stato possibile ottenere un'altra library (Schema 13) di pirimido carbazoli (**44**, **45a-q**).



45a R = H, R' = $(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$ -pirrolidin-2-one

45b R = R' = $\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$

45c R = H, R' = 1-metil-4-propil-piperazina

45d R, R' = pirrolidin

45e R = CH_3 , R' = $\text{C}(\text{CH}_3)_3$

45f R = CH_2CH_3 , R' = $(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$

45g R = H, R' = $\text{CH}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$

45h R = H, R' = $(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$

45i R = CH_3 , R' = $(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$

45l R = H, R' = $\text{C}(\text{CH}_3)_3$

45m R = H, R' = $(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$

45n R = R' = $(\text{CH}_2)_3\text{CH}_3$

45o R = H, R' = $(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_3)_2$

45p R = R' = CH_2CH_3

45q R, R' = esametenimmino

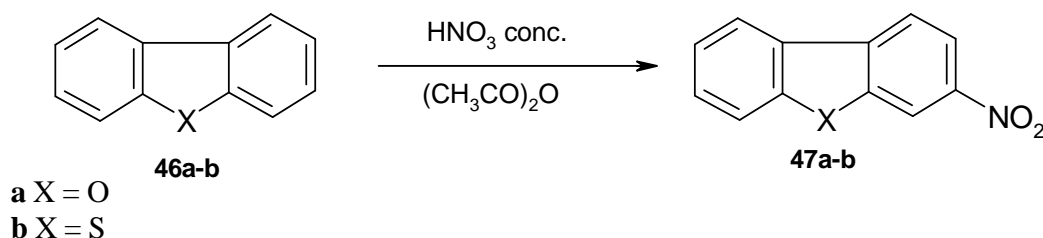
Schema 13

5.5 Preparazione di: 2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-oni e di 2H-benzotieno-[2,3-c]-chinazolin-1-oni diversamente sostituiti (VII)

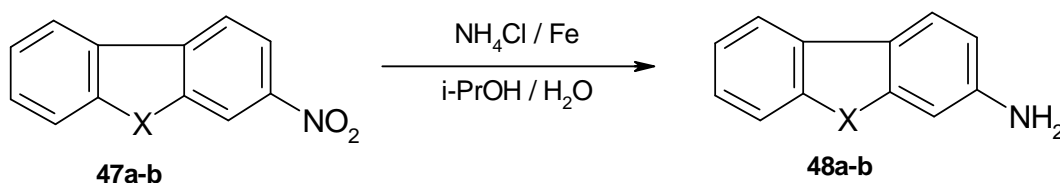
Il progetto ha riguardato lo studio e la preparazione di una nuova serie di composti strutturalmente correlati ai 5,11-dimetil-3,6-diidro-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-oni (IV).

Dall'ottimizzazione della via sintetica realizzata per la preparazione degli analoghi carbazolici sono state preparate e caratterizzate nuove molecole a struttura benzofuro- e benzotieno-chinazolinonica.

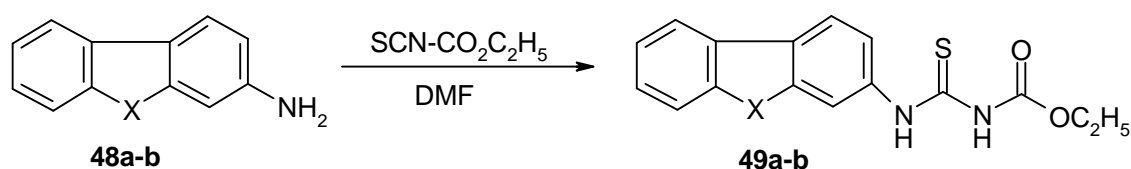
A tale scopo i composti **46a-b** sono stati sottoposti ad una reazione di nitratura. In particolare, essi sono stati solubilizzati a temperatura ambiente con anidride acetica ed alla soluzione ottenuta, alla temperatura 0-5 °C, è stato aggiunto goccia a goccia l'acido nitrico fumante al 100 % (d = 1.52 g/mL) negli opportuni rapporti molari.



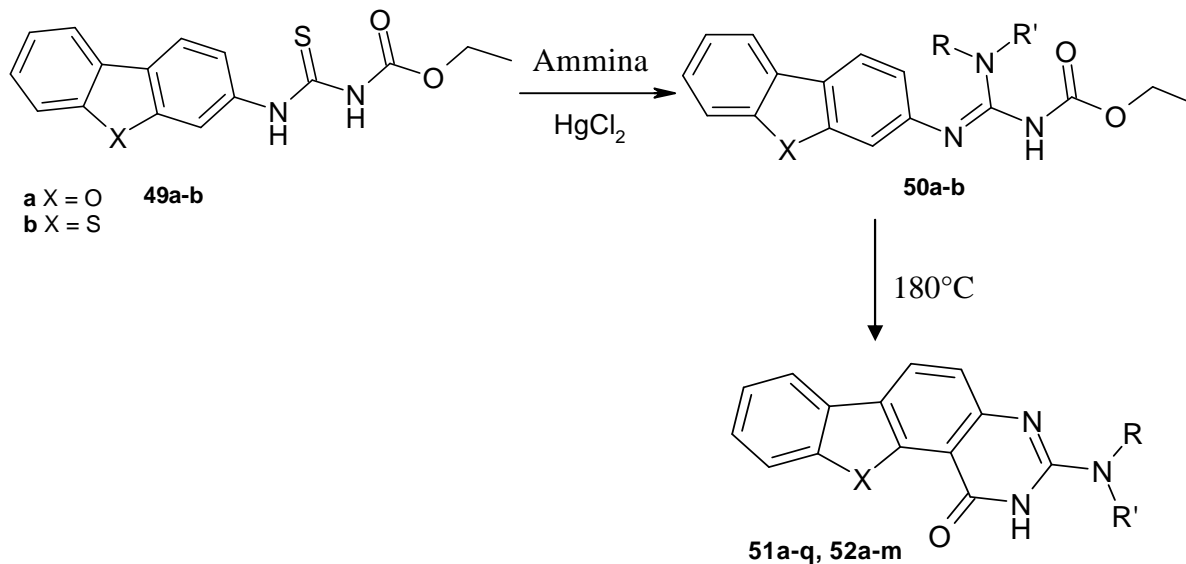
I nitroderivati ottenuti (**47a-b**) sono stati sottoposti a reazione di riduzione con NH_4Cl e limatura di ferro in presenza di *i*PrOH ed H_2O ottenendo i corrispondenti composti amminici (**48a-b**).



A questo punto, si è cercato di realizzare e di ottimizzare la reazione di ciclizzazione già utilizzata per la preparazione degli analoghi carbazolici. Pertanto gli ammino derivati (**48a-b**) sono stati solubilizzati in dimetilformammide ed alle corrispondenti soluzioni ottenute è stato aggiunto l'etossicarbonil-isotiocianato negli opportuni rapporti molari ottenendo le tiouree (**49a-b**).



Da esse si sono ottenuti i derivati guanidinici (**50a-b**) per reazione con opportune ammine e cloruro mercurico. Per ciclizzazione intramolecolare (per riscaldamento a 180 °C), si sono ottenute le molecole desiderate (**51a-q**, **52a-m**).



51 X = O

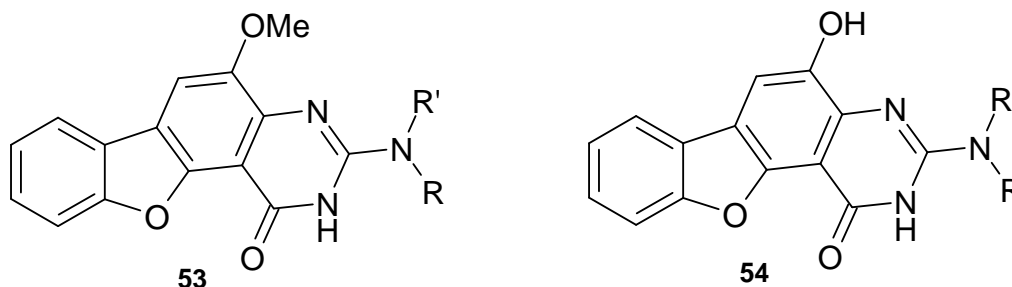
- 51a** R, R' = morfolin
- 51b** R, R' = piperidin
- 51c** R, R' = pirrolidin
- 51d** R = H, R' = ciclopentil
- 51e** R = R' = (CH₂)₄CH₃
- 51f** R = R' = (CH₂)₃CH₃
- 51g** R = H, R' = (CH₂)₃CH₃
- 51h** R = H, R' = C(CH₃)₃
- 51i** R = R' = HC(CH₃)₂
- 51l** R = H, R' = HC(CH₃)₂
- 51m** R = H, R' = CH₂CH=CH₂
- 51n** R = R' = CH₂CH₃
- 51o** R = H, R' = cicloesil
- 51p** R = H, R' = (CH₂)₂CH₃
- 51q** R = R' = (CH₂)₂CH₃

52 X = S

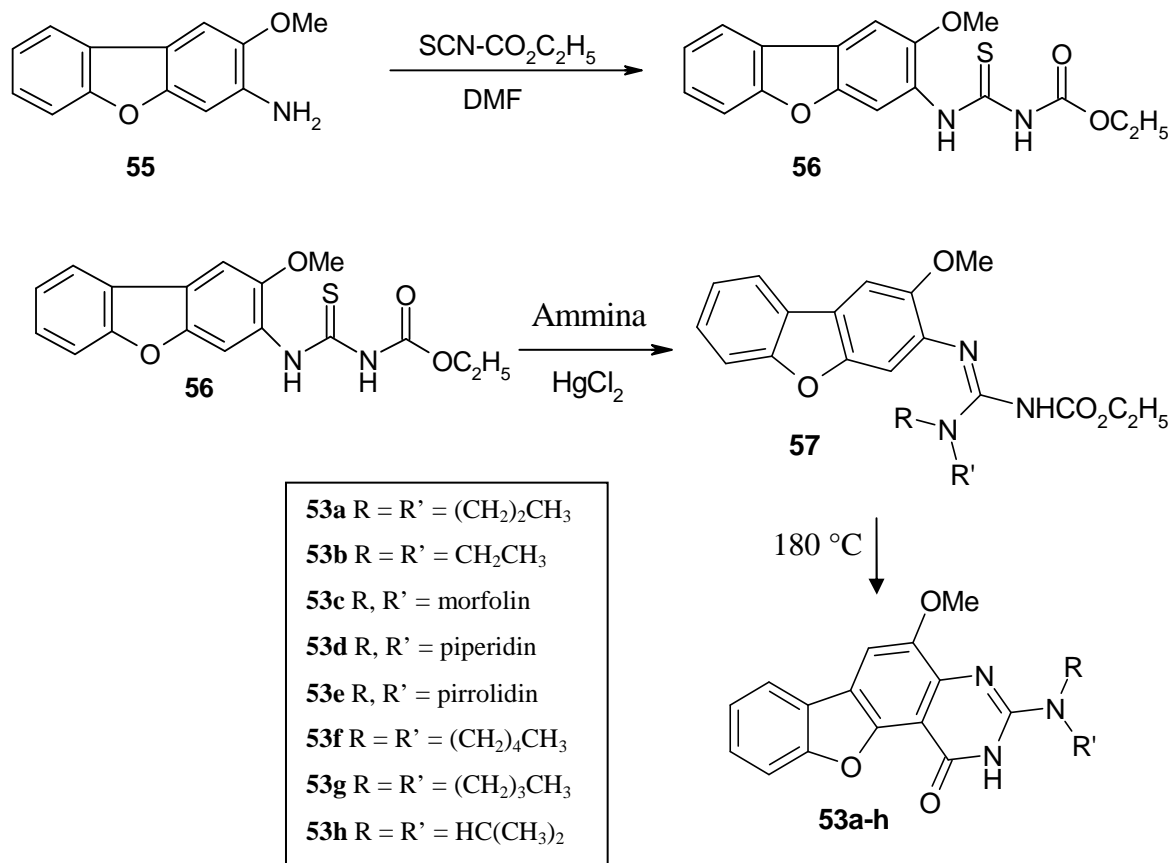
- 52a** R, R' = morfolin
- 52b** R, R' = piperidin
- 52c** R, R' = pirrolidin
- 52d** R = H, R' = cicloesil
- 52e** R = H, R' = ciclopentil
- 52f** R = H, R' = (CH₂)₇CH₃
- 52g** R = R' = (CH₂)₄CH₃
- 52h** R = R' = (CH₂)₂CH₃
- 52i** R = H, R' = (CH₂)₂CH₃
- 52l** R = R' = CH₂CH₃
- 52m** R = H, R' = (CH₂)₃CH₃

Le molecole preparate sono state sottoposte a prove di citotossicità su ceppi di cellule KB (cellule di carcinoma epidermoidi) (vedi tabella risultati tests). I promettenti risultati ottenuti ci hanno suggerito di focalizzare l'attenzione nell'individuazione di nuovi analoghi che potessero presentare attività e profili farmacologici migliorati.

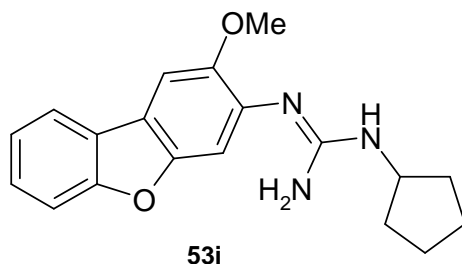
A tal fine una modifica strutturale ha riguardato l'introduzione di opportuni sostituenti in posizione 5 del nucleo benzofuro-chinazolinico (**51**). Sono stati preparati i derivati metossilico (**53**) e idrossilico (**54**) differentemente sostituiti in posizione 3.



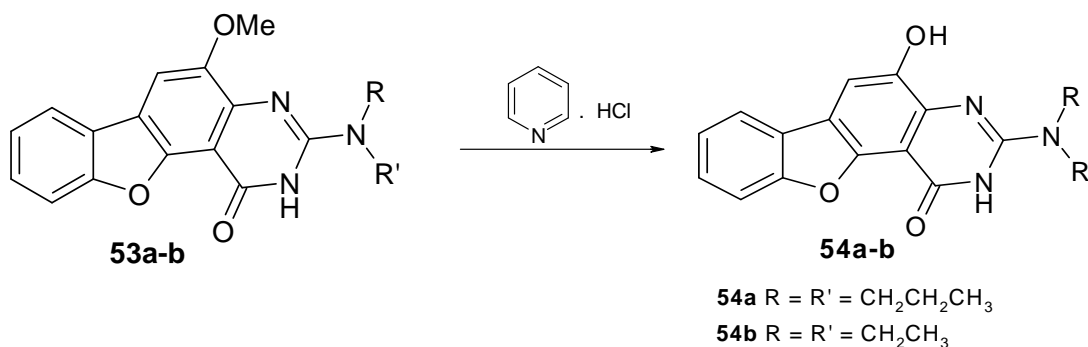
I derivati 5-metossi (**53**) sono stati preparati anch'essi grazie alla reazione "one-pot" multicomponente già descritta. Il 3-ammino-2-metossi-dibenzofurano (**55**) commerciale solubilizzato in dimetilformammide con etossicarbonil-isotiocianato, ha dato la tiourea attesa (**56**), da cui in presenza delle opportune ammine e HgCl_2 si sono ottenute le guanidine che ciclizzano per riscaldamento ($180\text{ }^\circ\text{C}$) dando i composti d'interesse (**53a-h**).



La ciclizzazione non era andata a buon fine quando si è utilizzata la ciclopentilammina: in questo caso è stato isolato il derivato guanidinico (**53i**).



Anche i derivati 5-idrossi-sostituiti (**54a-b**) sono stati ottenuti grazie alla realizzazione della reazione “one-pot”. Sono quindi state preparate due nuove molecole (3-dipropil-5-idrossi-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**54a**) e 3-diethyl-5-idrossi-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**54b**)), a partire dai 5-metossi derivati (**53a-b**) corrispondenti con piridina cloridrato anidra, a refluxo.



5.6 Conclusioni

Dal punto di vista sintetico, la conversione, nelle modalità descritte, dei derivati carbazolic, dibenzofuranici e dibenzotiofenici nei: 5,11-dimetil (e 7,10-dimetil)-3,6-diidro-pirimido-[5,4-*b*]-carbazoli (**IV-V**); 7-etil (e 7 H)-2,7-diidro-pirimido-[4,5-*c*]-carbazoli (**VI**); 2*H*-benzofuro (e benzotieno)-[2,3-*c*]-chinazolin-1-oni (**VII**) è sicuramente un risultato d' interesse.

Essa rappresenta un esempio di reazione “one-pot”, multicomponente, che attraverso una semplice procedura e a bassi costi ha consentito di ottenere, in rese accettabili, una nuova serie di derivati carbazolic, dibenzofuranici e dibenzotiofenici di interesse farmaceutico.

Vantaggiosa risulta anche la purificazione dei prodotti ottenuti che spesso ha previsto semplicemente lavaggi dei solidi con acetonitrile e con etere etilico.

Sicuramente, l'ottenimento delle molecole discusse risulta essere interessante non solo dal punto di vista sintetico ma anche farmacologico in quanto maggiori approfondimenti potranno consentire di individuare la struttura lead su cui effettuare studi per:

- precisare il meccanismo d'azione a livello dei cicli cellulari;
- effettuare indagini di farmacocinetica e di galenica;
- progettare nuove modificazioni strutturali.

La semplice procedura sintetica adottata potrebbe, inoltre, trovare applicabilità per la preparazione di numerosi altri analoghi.

CAPITOLO VI

PARTE SPERIMENTALE

Gli spettri ^1H NMR in CDCl_3 sono stati registrati con uno spettrometro Bruker 300 MHz mentre gli spettri ^1H NMR e ^{13}C NMR in DMSO deuterato sono stati registrati con uno spettrometro JEOL Lamda 400 MHz, i chemical shifts sono stati riportati in ppm (δ) con Me_4Si come standard interno.

Gli spettri IR sono stati registrati con uno spettrometro Perkin Elmer BX-FT-IR.

Le analisi MS sono state registrate con uno spettrometro JEOL JMS GCMate, potenziale di ionizzazione di 70 eV (EI) mentre le LC-MS con uno spettrometro Waters alliance 2695 (ESI^+).

I punti di fusione sono stati misurati con uno strumento Kofler Melting Point.

Per la cromatografia su strato sottile sono state adoperate lastrine Riedel-de Haen 5x10 cm di gel di silice 60 F₂₅₄, spessore 0.2 mm, le macchie sulle TLC sono state osservate con luce ultravioletta.

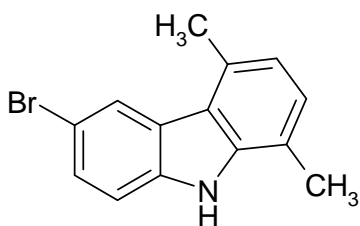
I reagenti chimici ed i solventi ad elevato grado di purezza utilizzati sono stati acquistati dall'Aldrich, dalla Alfa Aesar, dalla Lancaster e dall'Acros Organics.

6.1 PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI:

- **Dimetil-9H-carbazoli diversamente sostituiti (1a, 1b, 1h, 1i).**

La preparazione del 6-bromo-1,4-dimetil-9H-carbazolo (1a) è riportata come esempio rappresentativo.

6-Bromo-1,4-dimetil-9H-carbazolo (1a)



Solido violetto

Resa % = 69

P.f. = 118 °C

Formula Bruta: C₁₄H₁₂BrN

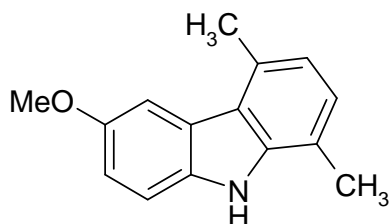
Procedimento:

In un pallone da 500 mL, munito di agitatore elettromagnetico, si dissolve il 5-bromoindolo (**6a**) (5,00 g; 25,00 mmoli) in 60 mL di etanolo assoluto.

Alla soluzione si aggiunge il 2,5-esandione (3,50 g; 31,00 mmoli) e l'acido *p*-toluensolfonico monoidrato (3,86 g; 20,00 mmoli). Si lascia reagire a riflusso per 4 ore. Dopo raffreddamento, la miscela di reazione si versa in H₂O (300 mL) e poi si estrae con etere etilico (300 mL). La fase organica ottenuta si lava con una soluzione satura di bicarbonato di sodio, si separa e successivamente si secca su MgSO₄. Si decolora su carbone ed infine si concentra a pressione ridotta. Il grezzo ottenuto si cristallizza da acetonitrile, ottenendo un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3441, 1453, 1298, 1099, 801, 789.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.54 (s, 3H, CH₃), 2.78 (s, 3H, CH₃), 6.92 (d, J = 7.32 Hz, 1H, Ar); 7.15 (d, J = 7.32 Hz, 1H, Ar), 7.55-7.58 (m, 2H, Ar), 8.24 (s, 1H, Ar), 11.40 (s, 1H, NH).

1,4-Dimetil-6-metossi-9H-carbazolo (1b)

Solido viola

Resa % = 57

P.f. = 150 °C

Formula Bruta: C₁₅H₁₅NO**Procedimento:**

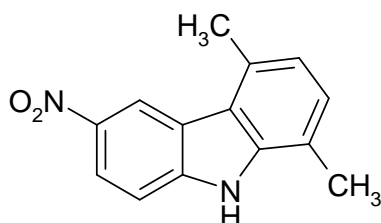
L'1,4-dimetil-6-metossi-9H-carbazolo (**1b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**1a**) ed utilizzando 5-metossi-indolo (**6b**) 10,00 g (68,00 mmoli), 2,5-esandione 8,96 g (78,50 mmoli) ed acido *p*-toluensolfonico monoidrato 9,89 g (52,00 mmoli) in etanolo assoluto (130 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3406, 2959, 1481, 1210, 1045, 812, 545.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.62 (s, 3H, CH₃), 2.69 (s, 3H, CH₃), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 6.85 (d, J = 7.08 Hz, 1H, Ar); 7.09 (d, J = 8.28 Hz, 2H, Ar), 7.48 (d, J = 8.56 Hz, 1H, Ar), 7.64 (s, 1H, Ar), 11.01 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆): 152.57, 139.52, 134.46, 129.39, 125.39, 123.43, 120.19, 119.25, 117.18, 111.14, 105.06, 55.37, 19.95, 16.52.

MS (ESI⁺): 226 (M⁺ +1), 224 (M⁺ -1).

1,4-Dimetil-6-nitro-9H-carbazolo (1h)

Solido verde

Resa % = 40

P.f. > 262 °C

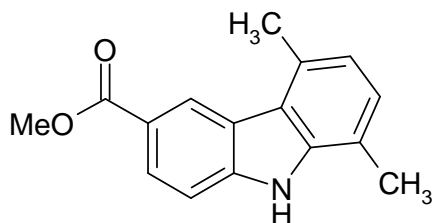
Formula Bruta: C₁₄H₁₂N₂O₂**Procedimento:**

L'1,4-dimetil-6-nitro-9H-carbazolo (**1h**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**1a**) ed utilizzando 5-nitro-indolo (**6h**) 15,00 g (92,50 mmoli), 2,5-esandione 12,18 g (106,50 mmoli) ed acido *p*-toluensolfonico monoidrato 13,53 g (71,00 mmoli) in etanolo assoluto (150 mL).

IR (KBr) (cm^{-1}): 3319, 1329, 1519, 1069, 742.

MS (EI) m/z (%): 240 (M^+ , 100).

5,8-Dimetil-3-metilcarbossi-9H-carbazolo (**1i**)



Solido bianco

Resa % = 30

P.f. = 266°C

Formula Bruta: $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{NO}_2$

Procedimento:

Il 5,8-dimetil-3-metilcarbossi-9H-carbazolo (**1i**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**1a**) ed utilizzando 5-indol-carbossilato di metile (**6i**) 12,00 g (68,00 mmoli), 2,5-esandione 9,02 g (79,00 mmoli) ed acido *p*-toluensolfonico monoidrato 9,95 g (52,00 mmoli) in etanolo assoluto (100 mL).

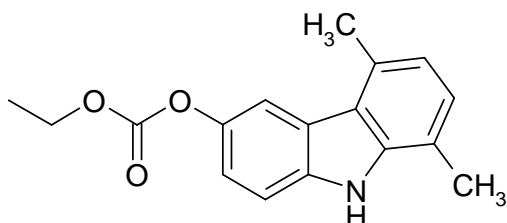
IR (KBr) (cm^{-1}): 3337, 1702, 1615, 1430, 1290, 1122, 989, 803, 764, 735, 557.

^1H NMR (DMSO- d_6): δ 2.52 (s, 3H, CH_3), 2.71 (s, 3H, CH_3), 3.84 (s, 3H, OCH_3), 6.89 (d, $J = 7.84$ Hz, 1H, *Ar*); 7.11 (d, $J = 7.32$ Hz, 1H, *Ar*), 7.55 (d, $J = 8.08$ Hz, 1H, *Ar*), 7.98 (dd, $J_1 = 1.48$ Hz, $J_2 = 8.56$ Hz, 1H, *Ar*), 8.67 (s, 1H, *Ar*), 11.62 (s, 1H, *NH*).

MS (ESI $^+$): 254 ($\text{M}^+ + 1$).

6.2 PROCEDURA PER LA SINTESI DI:

- 5,8-Dimetil-3-etossicarbonilossi-9H-carbazolo (**1l**)



Solido crema

Resa % = 91

P.f. = 130 °C

Formula Bruta: $\text{C}_{17}\text{H}_{17}\text{NO}_3$

Procedimento:

Ad una soluzione acquosa di NaOH 1N (50 mL) si aggiunge a temperatura ambiente, acetone (50 mL). La miscela si lascia sotto agitazione per 10 minuti. Successivamente, si

aggiunge il 5,8-dimetil-3-idrossi-9*H*-carbazolo (**5**) 6,60 g (31,00 mmoli) ed il cloroformiato di etile 4,00 g (37,00 mmoli). La miscela di reazione, si lascia reagire per 4 h a riflusso. In seguito, si evapora l'acetone a pressione ridotta e la soluzione ottenuta si estrae con etere etilico (100 mL) e poi si lava con una soluzione acquosa di NaOH 0.5 %. Infine, la fase organica ottenuta, si secca su MgSO₄ anidro, si filtra e si evapora a pressione ridotta. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3396, 1744, 1462, 1253, 1181, 1002, 811, 780, 552.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.32-1.40 (t, 3H, CH₂CH₃), 2.57 (s, 3H, CH₃), 2.78 (s, 3H, CH₃), 4.28-4.35 (q, 2H, CH₂CH₃), 6.91 (d, 1H, J = 7.08 Hz, *Ar*), 7.16 (d, 1H, J = 7.32 Hz, *Ar*), 7.29 (dd, 1H, J₁ = 1.72 Hz, J₂ = 8.56 Hz, *Ar*), 7.58 (d, 1H, J = 8.56 Hz, *Ar*), 7.94 (s, 1H, *Ar*), 11.36 (s, 1H, NH).

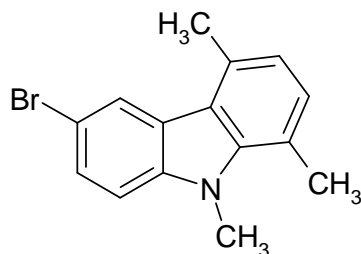
¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 153.9, 143.5, 139.8, 137.5, 129.7, 126.2, 123.1, 120.2, 120.0, 118.3, 117.6, 114.1, 111.0, 64.3, 20.0, 16.6, 14.0.

6.3 PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI:

- 9-*N*-alchil-1,4-dimetil-carbazoli diversamente sostituiti (**2b-d**, **20-23 a**, **20c-g**, **20i**).

La preparazione del 6-bromo-1,4-9-trimetil-9*H*-carbazolo (**2b**) è riportata come esempio rappresentativo.

6-Bromo-1,4-9-trimetil-9*H*-carbazolo (**2b**)



Solido bianco

Resa % = 95

P.f. = 138 °C

Formula Bruta: C₁₅H₁₄BrN

Procedimento:

In un pallone da 250 mL, munito di agitatore elettromagnetico si pone una miscela di 6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**1a**) (2,00 g; 7,30 mmoli) in DMF anidra e si lascia, sotto agitazione a temperatura ambiente e sotto atmosfera inerte (in presenza di argon), per 10

minuti. Successivamente, alla temperatura di 0-5 °C, si aggiunge una sospensione oleosa di NaH al 60 % (0,44 g; 10,90 mmoli) e poi, a temperatura ambiente, alla miscela ottenuta si aggiunge iodio metano (1,46 mL; 21,90 mmoli). Si lascia reagire per un'ora a temperatura ambiente e successivamente la miscela di reazione si versa in un'acqua (200 mL). Infine, la fase organica si estrae con acetato di etile (2 x 200 mL), le fasi organiche riunite si seccano su MgSO₄, si decolorano su carbone e si concentrano a pressione ridotta. Si ottiene un solido puro di colore bianco.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3435, 2921, 1469, 1296, 1092, 791, 533.

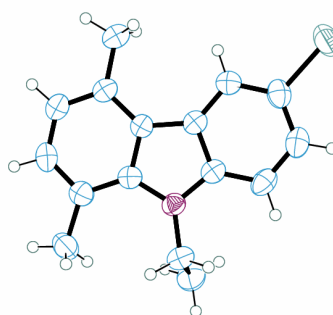
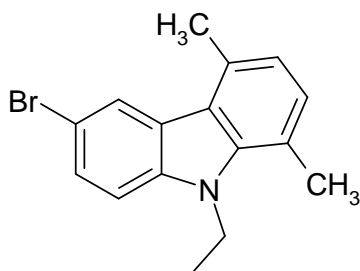
¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.72 (s, 3H, CH₃), 2.79 (s, 3H, CH₃), 4.10 (s, 3H, NCH₃), 6.88 (d, J = 7.32 Hz, 1H, Ar), 7.10 (d, J = 7.32 Hz, 1H, Ar), 7.55-7.61 (m, 2H, Ar), 8.18 (d, J = 1.48 Hz, 1H, Ar).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 140.0, 139.7, 130.8, 129.3, 127.4, 124.4, 124.1, 121.1, 120.2, 118.5, 111.2, 110.9, 32.4, 20.5, 19.8.

MS (EI) *m/z* (%): 287 (M⁺, 100), 272 (25) (M⁺- CH₃), 193 (24) (M⁺- Br, CH₃).

Analisi Calcolata per C₁₅H₁₄BrN: C, 62.52; H, 4.90; N, 4.86. **Trovata:** C, 62.67; H, 5.13; N, 4.63.

6-Bromo-1,4-dimetil-9-etil-9H-carbazolo (2c)



Solido crema

Resa % = 96

P.f. = 90 °C

Formula Bruta: C₁₆H₁₆BrN

Procedimento:

Il 6-bromo-1,4-dimetil-9-etil-9H-carbazolo (**2c**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**2b**) ed utilizzando 6-bromo-1,4-dimetil-9H-carbazolo (**1a**) 2,00 g (7,30 mmoli), NaH al 60 % 0,44 g (10,90 mmoli) ed iodio etano 1,73 mL (21,90 mmoli) in DMF (60 mL).

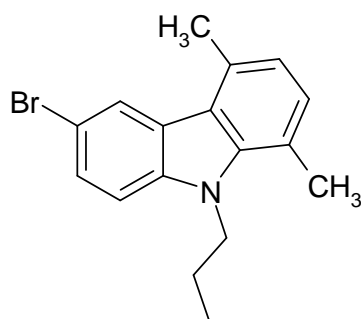
IR (KBr) (cm^{-1}): 3429, 2965, 1461, 1302, 1099, 798, 534.

^1H NMR (DMSO- d_6): δ 1.23-1.28 (t, 3H, NCH_2CH_3), 2.72 (s, 3H, CH_3), 2.75 (s, 3H, CH_3), 4.57-4.62 (q, 2H, NCH_2CH_3), 6.89 (d, $J = 7.36$ Hz, 1H, *Ar*), 7.12 (d, $J = 7.08$ Hz, 1H, *Ar*), 7.53-7.63 (m, 2H, *Ar*), 8.18 (d, $J = 1.72$ Hz, 1H, *Ar*).

MS (EI) m/z (%): 301 (M^+ , 94), 286 (100) ($\text{M}^+ - \text{CH}_3$), 206 (17) ($\text{M}^+ - \text{Br}, \text{CH}_3$), 192 (25) ($\text{M}^+ - \text{Br}, \text{CH}_2\text{CH}_3$).

Analisi Calcolata per $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{BrN}$: C, 63.59; H, 5.34; N, 4.63. **Trovata:** C, 63.69; H, 5.83; N, 4.52.

6-Bromo-1,4-dimetil-9-propil-9H-carbazolo (2d)



Solido crema

Resa % = 96

P.f. = 140 °C

Formula Bruta: $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{BrN}$

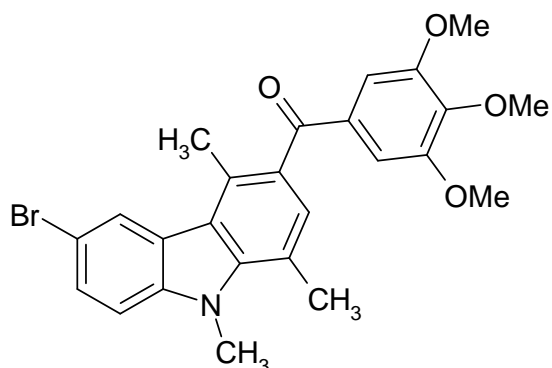
Procedimento:

Il 6-bromo-1,4-dimetil-9-propil-9H-carbazolo (**2d**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**2b**) ed utilizzando 6-bromo-1,4-dimetil-9H-carbazolo (**1a**) 2,00 g (7,30 mmoli), NaH al 60 % 0,44 g (10,90 mmoli) ed 1-bromo propano 1,99 mL (21,90 mmoli) in DMF (60 mL). Dopo estrazione con acetato di etile si ottiene un grezzo che si lava con etere di petrolio, si filtra a vuoto; si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm^{-1}): 3428, 2919, 1461, 1447, 1257, 1012, 791, 536.

^1H NMR (DMSO- d_6): δ 0.84-0.89 (t, 3H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.64-1.73 (m, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2.79 (s, 6H, CH_3), 4.43-4.51 (m, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 6.88 (d, $J = 7.32$ Hz, 1H, *Ar*), 7.11 (d, $J = 7.08$ Hz, 1H, *Ar*), 7.54-7.64 (m, 2H, *Ar*), 8.18 (s, 1H, *Ar*).

MS (EI) m/z (%): 315 (M^+ , 96), 286 (100) ($\text{M}^+ - \text{CH}_2\text{CH}_3$).

6-Bromo-1,4,9-trimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (20a)

Solido bianco

Resa % = 78

P.f. = 202 °C

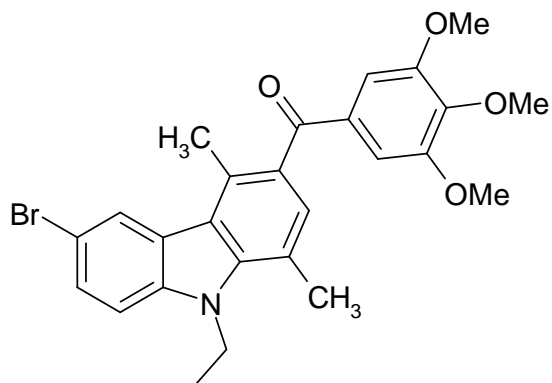
Formula Bruta: C₂₅H₂₄BrNO₄**Procedimento:**

Il 6-bromo-1,4,9-trimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**20a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**2b**) ed utilizzando 6-bromo-1,4-dimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**16a**) 0,30 g (0,74 mmoli), NaH al 60 % 0,074 g (1,85 mmoli) ed iodio metano 0,14 mL (2,22 mmoli) in DMF (15 mL). Quando si versa in H₂O il prodotto precipita quindi, si filtra a vuoto e si lava con etere etilico.

IR (KBr) (cm⁻¹): Banda principale: 1646 (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.65 (s, 3H, CH₃), 2.81 (s, 3H, CH₃), 3.73 (s, 9H, OCH₃), 3.73 (s, 3H, NCH₃), 7.03 (s, 2H, Ar), 7.20 (s, 1H, Ar), 7.64 (m, 2H, Ar), 8.26 (d, 1H, Ar).

MS (ESI⁺): 483 (M⁺ + 1).

6-Bromo-1,4-dimetil-9-etil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (21a)

Solido bianco

Resa % = 70

P.f. = 204 °C

Formula Bruta: C₂₆H₂₆BrNO₄**Procedimento:**

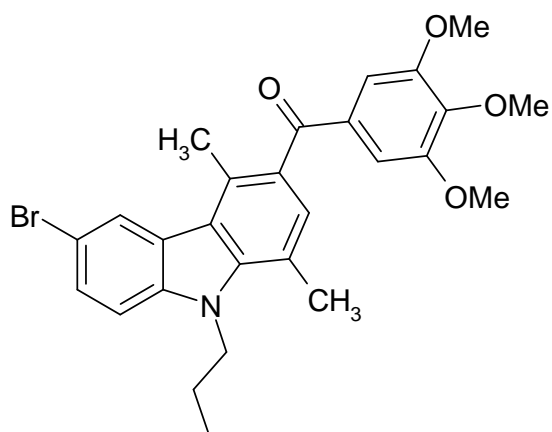
Il 6-bromo-1,4-dimetil-9-etil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**21a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**2b**) ed utilizzando 6-bromo-1,4-dimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**16a**) 0,30 g (0,74 mmoli), NaH al 60 % 0,074 g (1,85 mmoli) ed iodio etano 0,17 mL (2,22 mmoli) in DMF (15 mL). Quando si versa in H₂O il prodotto precipita quindi, si filtra a vuoto e si lava con etere etilico.

IR (KBr) (cm⁻¹): Banda principale: 1656 (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.34 (t, 3H, CH₃), 2.68 (s, 3H, CH₃), 2.79 (s, 3H, CH₃), 3.74 (s, 6H, OCH₃), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 4.67 (q, 2H, NCH₂), 7.02 (s, 2H, Ar), 7.24 (s, 1H, Ar), 7.69 (m, 2H, Ar), 8.30 (d, 1H, Ar).

MS (ESI⁺): 497 (M⁺ +1).

6-Bromo-1,4-dimetil-9-propil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (22a)



Solido bianco

Resa % = 72

P.f. = 196 °C

Formula Bruta: C₂₇H₂₈BrNO₄

Procedimento:

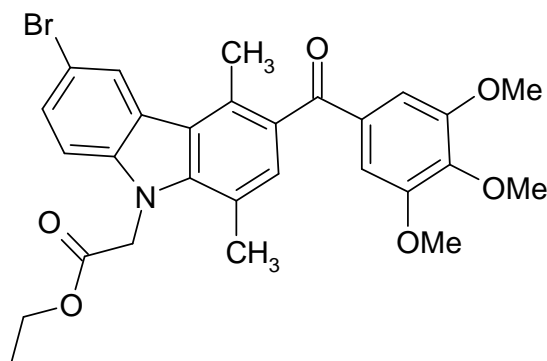
Il 6-bromo-1,4-dimetil-9-propil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**22a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**2b**) ed utilizzando 6-bromo-1,4-dimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**16a**) 0,30 g (0,74 mmoli), NaH al 60 % 0,074 g (1,85 mmoli) e 1-bromo-propano 0,20 mL (2,22 mmoli) in DMF (15 mL). Quando si versa in H₂O il prodotto precipita quindi, si filtra a vuoto e si lava con etere etilico.

IR (KBr) (cm⁻¹): Banda principale: 1645 (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.93 (t, 3H, CH₂CH₂CH₃), 1.77 (m, 2H, CH₂CH₂CH₃), 2.68 (s, 3H, CH₃), 2.77 (s, 3H, CH₃), 3.74 (s, 9H, OCH₃), 4.56 (m, 2H, NCH₂), 7.03 (s, 2H, Ar), 7.23 (s, 1H, Ar), 7.68 (m, 2H, Ar), 8.29 (d, 1H, Ar).

MS (ESI⁺): 511 (M⁺ +1).

[6-Bromo-1,4-dimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazol-9-il]-acetato d'etile
(23a)



Solido crema

Resa % = 65

P.f. = 190 °C

Formula Bruta: C₂₈H₂₈BrNO₆

Procedimento:

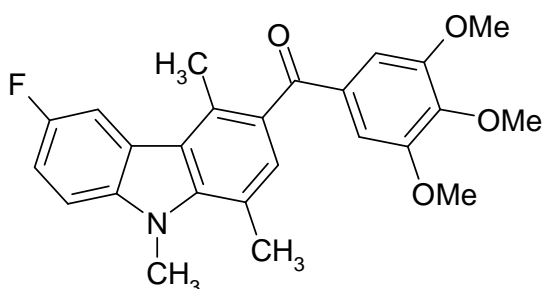
Il composto (23a) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (2b) ed utilizzando 6-bromo-1,4-dimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (16a) 0,30 g (0,74 mmoli), NaH al 60 % 0,074 g (1,85 mmoli) ed etil-bromo-acetato 0,25 mL (2,22 mmoli) in DMF (15 mL). Quando si versa in H₂O il prodotto precipita quindi, si filtra a vuoto e si lava con etere etilico.

IR (KBr) (cm⁻¹): Bande principali: 1739, 1648 (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.20 (t, 3H, CH₂CH₃), 2.66 (s, 3H, CH₃), 2.69 (s, 3H, CH₃), 3.75 (s, 6H, OCH₃), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 4.17 (q, 2H, CH₂CH₃), 5.53 (s, 2H, CH₂CO), 7.03 (s, 2H, Ar), 7.22 (s, 1H, Ar), 7.68 (m, 2H, Ar), 8.31 (d, 1H, Ar).

MS (ESI⁺): 555 (M⁺+1).

6-Fluoro-1,4,9-trimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (20c)



Solido bianco

Resa % = 70

P.f. = 264 °C

Formula Bruta: C₂₅H₂₄FNO₄

Procedimento:

Il 6-fluoro-1,4,9-trimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (20c) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (2b) ed utilizzando 6-fluoro-1,4-dimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (16c) 0,23 g (0,56 mmoli), NaH al 60 % 0,03 g

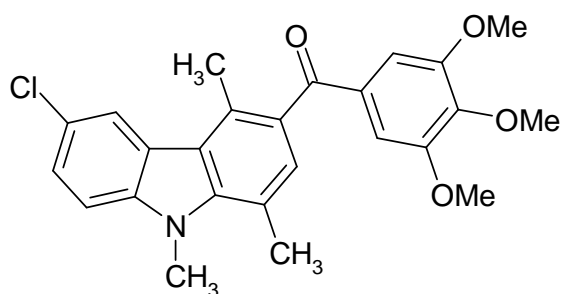
(0,75 mmoli) ed iodio metano 0,10 mL (1,68 mmoli) in DMF (15 mL). Quando si versa in H₂O il prodotto precipita quindi, si filtra a vuoto e si lava con etere etilico.

IR (KBr) (cm⁻¹): Banda principale: 1643 (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.68 (s, 3H, CH₃), 2.83 (s, 3H, CH₃), 3.74 (s, 9H, OCH₃), 4.16 (s, 3H, NCH₃), 7.02 (s, 2H, Ar), 7.20 (s, 1H, Ar), 7.38 (m, 1H, Ar), 7.71 (q, 1H, Ar), 7.94 (q, 1H, Ar).

MS (ESI⁺): 422 (M⁺ +1).

6-Cloro-1,4,9-trimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (20d)



Solido bianco

Resa % = 70

P.f. = 236 °C

Formula Bruta: C₂₅H₂₄ClNO₄

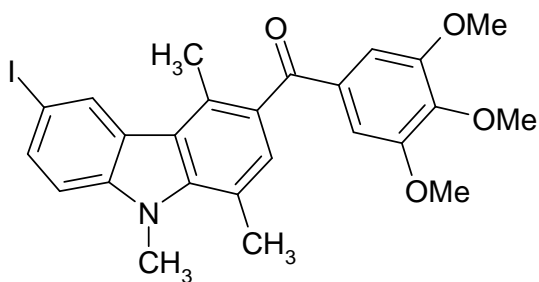
Procedimento:

Il 6-cloro-1,4,9-trimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**20d**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**2b**) ed utilizzando 6-cloro-1,4-dimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**16d**) 0,14 g (0,33 mmoli), NaH al 60 % 0,02 g (0,50 mmoli) ed iodio metano 0,06 mL (0,99 mmoli) in DMF (15 mL). Quando si versa in H₂O il prodotto precipita quindi, si filtra a vuoto e si lava con etere etilico.

IR (KBr) (cm⁻¹): Banda principale: 1645 (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.68 (s, 3H, CH₃), 2.83 (s, 3H, CH₃), 3.74 (s, 9H, OCH₃), 4.15 (s, 3H, NCH₃), 7.02 (s, 2H, Ar), 7.21 (s, 1H, Ar), 7.53 (d, 1H, Ar), 7.71 (d, 1H, Ar), 8.15 (d, 1H, Ar).

MS (ESI⁺): 439 (M⁺ +1).

6-Iodio-1,4,9-trimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (20e)

Solido crema

Resa % = 72

P.f. = 229 °C

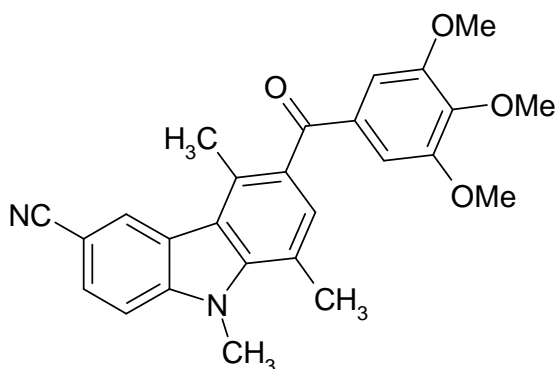
Formula Bruta: C₂₅H₂₄INO₄**Procedimento:**

Il 6-iodio-1,4,9-trimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**20e**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**2b**) ed utilizzando 6-iodio-1,4-dimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**16e**) 0,20 g (0,39 mmoli), NaH al 60 % 0,03 g (0,70 mmoli) ed iodio metano 0,07 mL (1,16 mmoli) in DMF (15 mL). Quando si versa in H₂O il prodotto precipita quindi, si filtra a vuoto e si lava con etere etilico.

IR (KBr) (cm⁻¹): Banda principale: 1648 (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.65 (s, 3H, CH₃), 2.82 (s, 3H, CH₃), 3.73 (s, 9H, OCH₃), 4.13 (s, 3H, NCH₃), 7.01 (s, 2H, Ar), 7.20 (s, 1H, Ar), 7.54 (d, 1H, Ar), 7.78 (d, 1H, Ar), 8.43 (d, 1H, Ar).

MS (ESI⁺): 530 (M⁺ +1).

6-Ciano-1,4,9-trimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (20f)

Solido crema

Resa % = 71

P.f. = 252 °C

Formula Bruta: C₂₆H₂₄N₂O₄**Procedimento:**

Il 6-ciano-1,4,9-trimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**20f**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**2b**) ed utilizzando 6-ciano-1,4-dimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**16f**) 0,17 g (0,41 mmoli), NaH al 60 % 0,03 g

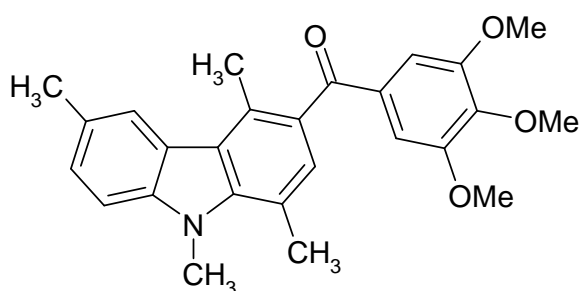
(0,70 mmoli) ed iodio metano 0,07 mL (1,22 mmoli) in DMF (15 mL). Quando si versa in H₂O il prodotto precipita quindi, si filtra a vuoto e si lava con etere etilico.

IR (KBr) (cm⁻¹): Bande principali: 2217 (CN), 1651 (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.70 (s, 3H, CH₃), 2.84 (s, 3H, CH₃), 3.77 (s, 9H, OCH₃), 4.20 (s, 3H, NCH₃), 7.03 (s, 2H, Ar), 7.27 (s, 1H, Ar), 7.84 (m, 2H, Ar), 8.56 (s, 1H, Ar).

MS (ESI⁺): 429 (M⁺ +1).

1,4,6,9-Tetrametil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (20g)



Solido bianco

Resa % = 71

P.f. = 202 °C

Formula Bruta: C₂₆H₂₇NO₄

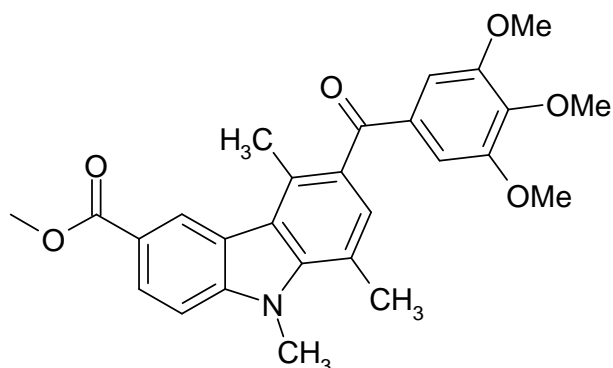
Procedimento:

L'1,4,6,9-tetrametil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**20g**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**2b**) ed utilizzando 1,4,6-trimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**16g**) 0,24 g (0,59 mmoli), NaH al 60 % 0,04 g (1,05 mmoli) ed iodio metano 0,11 mL (1,77 mmoli) in DMF (15 mL). Quando si versa in H₂O il prodotto precipita quindi, si filtra a vuoto e si lava con etere etilico.

IR (KBr) (cm⁻¹): Banda principale: 1649 (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.49 (s, 3H, CH₃), 2.70 (s, 3H, CH₃), 2.81 (s, 3H, CH₃), 3.73 (s, 9H, OCH₃), 4.12 (s, 3H, NCH₃), 7.02 (s, 2H, Ar), 7.14 (s, 1H, Ar), 7.15 (d, 1H, Ar), 7.53 (d, 1H, Ar), 8.00 (d, 1H, Ar).

MS (ESI⁺): 418 (M⁺ +1).

6-Metilcarbossi-1,4,9-trimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (20i)

Solido bianco

Resa % = 82

P.f. = 210 °C

Formula Bruta: C₂₇H₂₇NO₆**Procedimento:**

Il 6-metilcarbossi-1,4,9-trimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**20i**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**2b**) ed utilizzando 6-metilcarbossi-1,4-dimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**16i**) 0,34 g (0,76 mmoli), NaH al 60 % 0,05 g (1,35 mmoli) ed iodio metano 0,13 mL (2,24 mmoli) in DMF (15 mL). Quando si versa in H₂O il prodotto precipita quindi, si filtra a vuoto e si lava con etere etilico.

IR (KBr) (cm⁻¹): Bande principali: 1703, 1651 (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.73 (s, 3H, CH₃), 2.84 (s, 3H, CH₃), 3.75 (s, 6H, OCH₃), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 3.88 (s, 3H, CO₂CH₃), 4.19 (s, 3H, NCH₃), 7.04 (s, 2H, Ar), 7.24 (s, 1H, Ar), 7.76 (d, 1H, Ar), 8.12 (d, 1H, Ar), 8.78 (d, 1H, Ar).

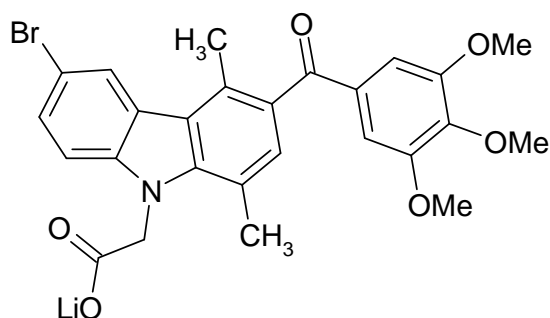
MS (ESI⁺): 462 (M⁺ +1).

6.4 PROCEDURA PER LA SINTESI DI:

- [6-Bromo-1,4-dimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazol-9-il]-acetato di litio (**24**);

- Acido [6-bromo-1,4-dimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazol-9-il]-acetico (**25**).

[6-Bromo-1,4-dimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazol-9-il]-acetato di litio (**24**)



Solido giallo

Resa % = 95

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₂₆H₂₃BrLiNO₆

Procedimento:

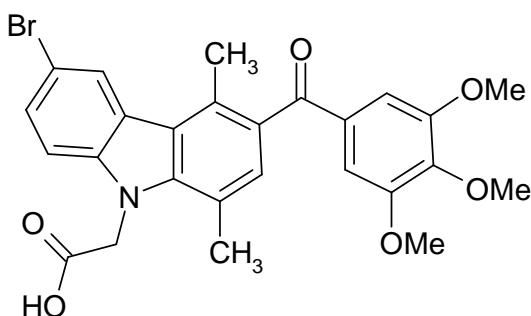
In un pallone da 250 mL, munito di agitatore elettromagnetico si pone (**23a**) (3,00 g; 5,43 mmoli) in una miscela di THF ed H₂O (1/1) (25 mL / 25 mL) e vi si aggiunge LiOH (0,23 g; 9,78 mmoli). La miscela di reazione si lascia sotto agitazione alla temperatura di 60 °C per 5 h. Dopo raffreddamento precipita il solido che si filtra e si lava con etere etilico. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): Banda principale: 1618 (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.69 (s, 6H, CH₃), 3.75 (s, 9H, OCH₃), 4.82 (s, 2H, CH₂CO), 7.03 (s, 2H, Ar), 7.15 (s, 1H, Ar), 7.45 (d, 1H, Ar), 7.56 (d, 1H, Ar), 8.26 (d, 1H, Ar).

MS (ESI⁺): 528 (M⁺ +1 (-Li)).

Acido [6-bromo-1,4-dimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9H-carbazol-9-il]-acetico (25)



Solido bianco

Resa % = 69

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₂₆H₂₄BrNO₆

Procedimento:

In un pallone da 250 mL, munito di agitatore elettromagnetico si pone (**23a**) (3,00 g; 5,43 mmoli) in una miscela di THF ed H₂O (1/1) (25 mL / 25 mL) e vi si aggiunge LiOH (0,23 g; 9,78 mmoli). La miscela di reazione si lascia sotto agitazione alla temperatura di 60 °C per 5 h. Successivamente, alla temperatura di 0-5 °C, vi si addiziona HCl al 37 % fino a pH = 1. Dopo raffreddamento precipita il solido che si filtra e si lava con etere etilico. Si ottiene un solido puro.

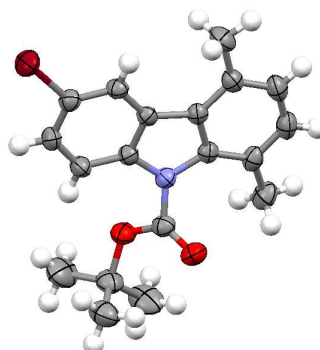
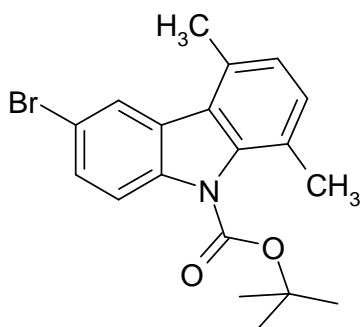
IR (KBr) (cm⁻¹): Banda principale: 1732, 1622 (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.69 (s, 6H, CH₃), 3.25 (s, 1H, OH), 3.75 (s, 6H, OCH₃), 3.77 (s, 3H, OCH₃), 5.42 (s, 2H, CH₂CO), 7.03 (s, 2H, Ar), 7.22 (s, 1H, Ar), 7.63 (m, 2H, Ar), 8.30 (d, 1H, Ar).

MS (ESI⁺): 527 (M⁺ +1).

6.5 PROCEDURA PER LA SINTESI DI:

- **6-Bromo-9-*ter*-butossicarbonil-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (2a).**



Solido giallo

Resa % = 63

P.f. = 112 °C

Formula Bruta: C₁₉H₂₀BrNO₂

Procedimento:

In un pallone da 500 mL, munito di agitatore elettromagnetico, contenente una soluzione di 6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**1a**) (5,00 g; 18,20 mmoli) in acetonitrile (70 mL) si aggiunge, alla temperatura di 0-5 °C, trietilammina (5,07 mL; 36,50 mmoli), dimetilamminopiridina (4,46 g; 36,50 mmoli) e di-*ter*-butildicarbonato (7,96 g; 36,50 mmoli). La miscela ottenuta si lascia sotto agitazione per un'ora alla temperatura di 0-5 °C e dopo 3 h a temperatura ambiente. Successivamente si concentra sotto vuoto e poi, il residuo ottenuto, si riprende con acetato di etile (100 mL) e si lava con acqua (2 x 100 mL). La fase organica si secca su MgSO₄, si distilla a pressione ridotta ottenendo un grezzo che si purifica mediante colonna cromatografia (gel di silice, eluente cicloesano/Et₂O = 7:3). Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3446, 2971, 1738, 1448, 1368, 1296, 1248, 1153, 794, 535.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.73 (s, 9H, CH₃), 2.55 (s, 3H, CH₃), 2.81 (s, 3H, CH₃), 7.20 (d, J = 7.80 Hz, 1H, *Ar*), 7.29 (d, J = 7.80 Hz, 1H, *Ar*), 7.74 (dd, J = 8.80 Hz, 1H, *Ar*), 7.99 (dd, J = 8.80 Hz, 1H, *Ar*), 8.24 (d, J = 1.86 Hz, 1H, *Ar*).

MS (EI) *m/z* (%): 373-375 (M⁺, 19), 317-319 (48) (M⁺- *t*Bu), 273-275 (100) (M⁺-CO₂*t*Bu), 193 (52) (M⁺-Br, CO₂*t*Bu), 81 (39).

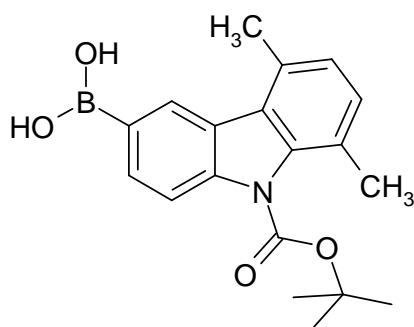
Analisi Calcolata per C₁₉H₂₀BrNO₂: C, 60.97; H, 5.39; N, 3.74. **Trovata:** C, 60.75; H, 5.08; N, 3.51.

6.6 PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI:

- Acidi boronici di 5,8-dimetil-9H-carbazoli diversamente *N* sostituiti (3a-b, 3f).

La preparazione dell'acido 3-boronico-9-ter-butossicarbonil-5,8-dimetil-9H-carbazolo (3a) è riportata come esempio rappresentativo.

Acido 3-boronico-9-ter-butossicarbonil-5,8-dimetil-9H-carbazolo (3a)



Solido bianco

Resa % = 60

P.f. = 250 °C

Formula Bruta: C₁₉H₂₂BNO₄

Procedimento:

In un pallone a tre colli da 500 mL munito di termometro e sotto atmosfera inerte (in presenza d'azoto) si dissolve, a temperatura ambiente, il 6-bromo-9-ter-butossicarbonil-1,4-dimetil-9H-carbazolo (**2a**) (3,70 g; 10,00 mmoli) in THF anidro (250 mL). Alla soluzione, alla temperatura di -90 °C (ottenuta mediante l'utilizzo di azoto liquido), si aggiunge goccia a goccia una soluzione di *n*-BuLi in esano 2,5 M (4,80 mL; 12,00 mmoli). Si lascia reagire per un'ora a -85 °C e successivamente a questa stessa temperatura si aggiunge il trimetilborato (1,20 mL; 11,00 mmoli). La miscela risultante, si lascia reagire per un'altra ora a tale temperatura e dopo, alla temperatura di 30 °C, si acidifica fino a pH = 4 addizionandovi HCl 0,5 N. Infine, a temperatura ambiente, si aggiunge acqua (300 mL) e si estrae con Et₂O (2 x 250 mL). Le fasi organiche ottenute si seccano su MgSO₄ e si evaporano a pressione ridotta. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3435, 2975, 1738, 1607, 1434, 1334, 1246, 1152, 1080, 801, 716.

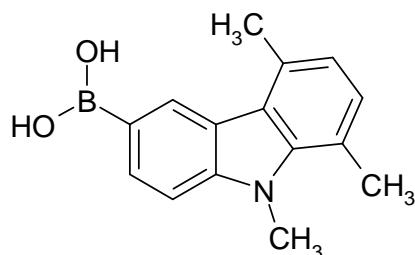
¹H NMR (CD₃OD): δ 1.74 (s, 9H, CH₃), 2.44 (s, 3H, CH₃), 2.77 (s, 3H, CH₃), 7.07 (d, J = 7.56 Hz, 1H, Ar), 7.15 (d, J = 7.56 Hz, 1H, Ar), 7.73 (d, J = 8.56 Hz, 1H, Ar), 8.03 (d, J = 8.56 Hz, 1H, Ar), 8.40 (s, 1H, Ar).

¹³C NMR (CD₃OD): δ 150.9, 139.8, 132.5, 131.1, 130.5, 128.7, 127.5, 126.2, 126.1, 124.1, 123.1, 114.8, 85.0, 28.3, 20.7.

MS (EI) m/z (%): 295 (12) ($M^+ - B(OH)_2$), 239 (21) ($M^+ - tBu$), 195 (100) ($M^+ - B(OH)_2, CO_2tBu$).

Analisi Calcolata per $C_{19}H_{22}BNO_4$: C, 67.28; H, 6.54; N, 4.13. **Trovata:** C, 67.49; H, 6.32; N, 4.29.

Acido 3-boronico-5,8,9-trimetil-9H-carbazolo (3b)



Solido bianco

Resa % = 50

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: $C_{15}H_{16}BNO_2$

Procedimento:

L'acido 3-boronico-5,8,9-trimetil-9H-carbazolo (**3b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**3a**) ed utilizzando 6-bromo-1,4,9-trimetil-9H-carbazolo (**2b**) 0,93 g (3,23 mmoli), *n*-BuLi 1,68 mL (4,20 mmoli) e $(CH_3O)_3B$ 0,40 mL (3,55 mmoli) in THF anidro (150 mL).

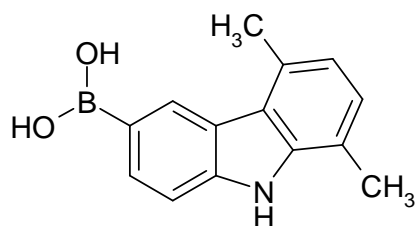
IR (KBr) (cm^{-1}): 3426, 2923, 1611, 1348, 1251, 1094, 796, 711.

1H NMR (DMSO- d_6): δ 2.79 (s, 3H, CH_3), 2.80 (s, 3H, CH_3), 4.10 (s, 3H, NCH_3), 6.85 (d, $J = 7.56$ Hz, 1H, *Ar*), 7.04 (d, $J = 7.56$ Hz, 1H, *Ar*), 7.51 (d, $J = 8.32$ Hz, 1H, *Ar*), 7.84 (s, 2H, OH), 7.89 (d, $J = 8.32$ Hz, 1H, *Ar*), 8.61 (s, 1H, *Ar*).

MS (EI) m/z (%): 209 (100) ($M^+ - B(OH)_2$), 194 (46) ($M^+ - B(OH)_2, CH_3$).

Analisi Calcolata per $C_{15}H_{16}BNO_2$: C, 71.18; H, 6.37; N, 5.53. **Trovata:** C, 70.90; H, 6.28; N, 5.43.

Acido 3-boronico-5,8-dimetil-9H-carbazolo (3f)



Solido bianco

Resa % = 90

P.f. > 260 °C

Formula Bruta: $C_{14}H_{14}BNO_2$

Procedimento:

L'acido 3-boronico-5,8-dimetil-9*H*-carbazolo (**3f**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**3a**) ed utilizzando 6-bromo-9-*ter*-butossicarbonil-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**2a**) 3,70 g (10,00 mmoli), *n*-BuLi 4,80 mL (12,00 mmoli) e (CH₃O)₃B 1,20 mL (11,00 mmoli) in THF anidro (250 mL). In questo caso si acidifica fino a pH = 1 utilizzando HCl 6 N.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3214, 1567, 1418, 1257, 867, 719, 546.

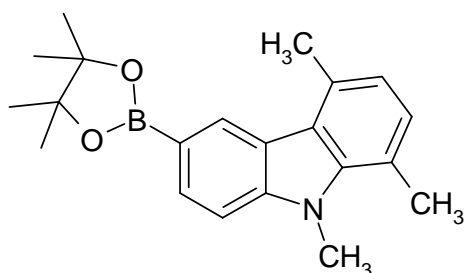
¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.40 (s, 3H, CH₃), 2.78 (s, 3H, CH₃), 7.12 (d, J = 7.56 Hz, 1H, *Ar*), 7.18 (d, J = 7.56 Hz, 1H, *Ar*), 7.93-7.94 (m, 2H, *Ar*), 8.16 (s, 3H, OH, NH), 8.57 (s, 1H, *Ar*).

Analisi Calcolata per C₁₄H₁₄BNO₂: C, 70.33; H, 5.90; N, 5.86. **Trovata:** C, 70.00; H, 5.70; N, 5.80.

6.7 PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI:

- Esteri boronici di 1,4-dimetil-9*H*-carbazoli diversamente *N* sostituiti (**3c-e**).

La preparazione del 1,4,9-trimetil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-9*H*-carbazolo (**3c**) è riportata come esempio rappresentativo.

1,4,9-Trimetil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-9*H*-carbazolo (3c**)**

Solido bianco

Resa % = 77

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₂₁H₂₆BNO₂

Procedimento:

In un pallone a tre colli da 500 mL munito di termometro e sotto atmosfera inerte (in presenza d'azoto) si dissolve, a temperatura ambiente, il 6-bromo-1,4,9-trimetil-9*H*-carbazolo (**2b**) (1,00 g; 3,50 mmoli) in THF anidro (100 mL). Alla soluzione, alla temperatura di -90 °C (ottenuta mediante l'utilizzo di azoto liquido), si aggiunge goccia a goccia una soluzione di *n*-BuLi in esano 2,5 M (1,80 mL; 4,50 mmoli). Si lascia reagire per

un'ora a $-85\text{ }^{\circ}\text{C}$ e successivamente alla stessa temperatura, si aggiunge triisopropil borato (0,90 mL; 3,90 mmoli). La miscela di reazione, si lascia reagire per un'altra ora a tale temperatura e dopo alla temperatura di $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ si addiziona una soluzione di pinacolo (0,41 g; 3,50 mmoli) in THF anidro (7 mL). La miscela risultante, portata a temperatura ambiente si acidifica fino a $\text{pH} = 4$ addizionandovi acido acetico glaciale (3 mL). Infine, vi si aggiunge acqua (100 mL) e si estrae con Et_2O (2 x 150 mL). Le fasi organiche riunite si seccano su MgSO_4 e si evaporano a pressione ridotta. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm^{-1}): 3434, 2924, 1611, 1353, 1253, 1149, 1098, 878, 801, 785, 679.

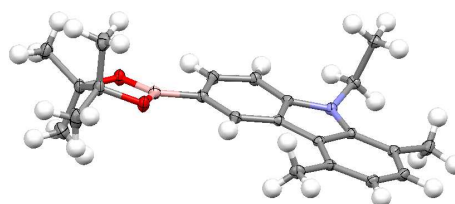
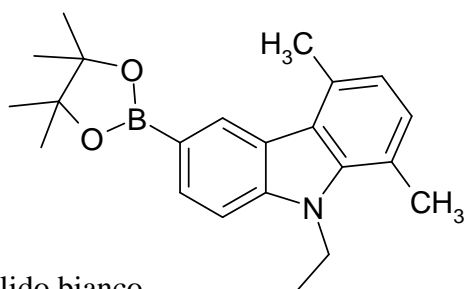
^1H NMR (DMSO- d_6): δ 1.31 (s, 12H, CH_3), 2.74 (s, 3H, CH_3), 2.80 (s, 3H, CH_3), 4.12 (s, 3H, NCH_3), 6.88 (d, $J = 7.32\text{ Hz}$, 1H, *Ar*), 7.07 (d, $J = 7.32\text{ Hz}$, 1H, *Ar*), 7.58 (d, $J = 8.32\text{ Hz}$, 1H, *Ar*), 7.75 (d, $J = 8.32\text{ Hz}$, 1H, *Ar*), 8.43 (s, 1H, *Ar*).

^{13}C NMR (DMSO- d_6): δ 143.2, 139.2, 131.1, 130.1, 128.6, 128.5, 121.2, 120.9, 118.1, 118.0, 108.4, 108.3, 83.2, 81.1, 32.1, 24.7, 24.5, 20.4, 19.6.

MS (EI) m/z (%): 335 (M^+ , 100), 209 (51).

Analisi Calcolata per $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{BNO}_2$: C, 75.24; H, 7.82; N, 4.18. **Trovata:** C, 75.08; H, 7.69; N, 4.02.

1,4-Dimetil-9-etil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-9H-carbazolo (3d)



Solido bianco

Resa % = 40

P.f. = $142\text{ }^{\circ}\text{C}$

Formula Bruta: $\text{C}_{22}\text{H}_{28}\text{BNO}_2$

Procedimento:

L'1,4-dimetil-9-etil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-9H-carbazolo (**3d**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**3c**) ed utilizzando 6-bromo-1,4-

dimetil-9-etil-9*H*-carbazolo (**2c**) 1,50 g (4,97 mmoli), *n*-BuLi 2,58 mL (6,46 mmoli), (*i*PrO)₃B 1,26 mL (5,47 mmoli) e pinacolo 0,59 g (4,97 mmoli) in THF anidro (150 mL).

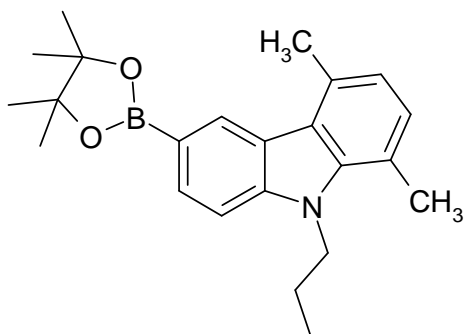
IR (KBr) (cm⁻¹): 3428, 2971, 1608, 1316, 1257, 1148, 1074, 792, 681.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.34-1.42 (m, 15H, CH₃), 2.83 (s, 6H, CH₃), 4.66-4.71 (q, 2H, NCH₂), 6.98 (d, J = 7.32 Hz, 1H, *Ar*), 7.18 (d, J = 7.32 Hz, 1H, *Ar*), 7.68 (d, J = 8.32 Hz, 1H, *Ar*), 7.84 (d, J = 8.32 Hz, 1H, *Ar*), 8.51 (s, 1H, *Ar*).

MS (EI) *m/z* (%): 349 (M⁺, 100), 334 (89) (M⁺- CH₃), 234 (50) (M⁺- CH₂CH₃, (CH₃)₂C-C(CH₃)₂).

Analisi Calcolata per C₂₂H₂₈BNO₂: C, 75.65; H, 8.08; N, 4.01. **Trovata:** C, 75.47; H, 7.96; N, 3.89.

1,4-Dimetil-9-propil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-9*H*-carbazolo (**3e**)



Solido bianco

Resa % = 42

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₂₃H₃₀BNO₂

Procedimento:

L'1,4-dimetil-9-propil-6-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-diossaborolan-2-il)-9*H*-carbazolo (**3e**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**3c**) ed utilizzando 6-bromo-1,4-dimetil-9-propil-9*H*-carbazolo (**2d**) 1,50 g (4,75 mmoli), *n*-BuLi 2,47 mL (6,17 mmoli), (*i*PrO)₃B 1,20 mL (5,22 mmoli) e pinacolo 0,56 g (4,75 mmoli) in THF anidro (150 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3429, 2958, 1609, 1351, 1250, 1100, 794, 708, 539.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.90-0.92 (m, 3H, CH₂CH₂CH₃), 1.16 (s, 6H, CH₃), 1.32 (s, 6H, CH₃), 1.72-1.74 (m, 2H, CH₂CH₂CH₃), 2.70 (s, 3H, CH₃), 2.79 (s, 3H, CH₃), 4.50-4.51 (m, 2H, NCH₂), 6.87 (d, J = 7.84 Hz, 1H, *Ar*), 7.06 (d, J = 7.08 Hz, 1H, *Ar*), 7.54-7.86 (m, 3H, *Ar*).

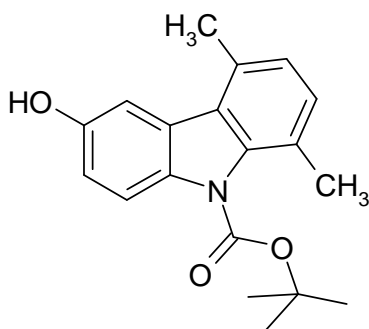
MS (EI) *m/z* (%): 363 (M⁺, 100), 334 (100) (M⁺- CH₂CH₃).

6.8 PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI:

- 9-Boc-6-idrossi-1,4-dimetil-9H-carbazolo (4a);
- Di e (tri) metil-9H-carbazol-3-oli (4b, 5).

La preparazione del 9-carbossilato di *ter*-butil-6-idrossi-1,4-dimetil-9H-carbazolo (4a) è riportata come esempio rappresentativo.

9-Carbossilato di *ter*-butil-6-idrossi-1,4-dimetil-9H-carbazolo (4a)



Solido bianco

Resa % = 82

P.f. = 205 °C

Formula Bruta: C₁₉H₂₁NO₃

Procedimento:

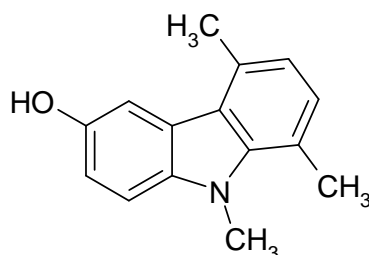
In un pallone da 250 mL, munito di agitatore elettromagnetico, si lascia sotto agitazione, alla temperatura di 50 °C per 1 h, una miscela di 3-acido boronico-9-*ter*-butossicarbonil-5,8-dimetil-9H-carbazolo (**3a**) (1,60 g; 4,80 mmoli), H₂O (40 mL), acetone (5 mL), NaOH (0,19 g; 4,80 mmoli) e NaHCO₃ (0,40 g; 4,80 mmoli). Dopo, a temperatura ambiente, si aggiunge, goccia a goccia, una soluzione di H₂O₂ al 35 % (1,90 mL; 19,20 mmoli) e la miscela ottenuta si lascia sotto agitazione per 24 h a temperatura ambiente. Si aggiunge poi acetato di etile (50 mL) e si separa la fase acquosa. La fase acquosa separata, si acidifica (pH = 4), alla temperatura di 5 °C, con una soluzione acquosa di HCl 2 N. Infine, si estrae con acetato di etile (2 x 50 mL) e le fasi organiche riunite si seccano su MgSO₄, si filtrano e si evaporano a pressione ridotta. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3410, 1701, 1449, 1329, 1157, 807.

¹H NMR (CDCl₃): δ 1.64 (s, 9H, CH₃), 2.43 (s, 3H, CH₃), 2.74 (s, 3H, CH₃), 6.91 (d, J = 8.56 Hz, 1H, Ar), 6.98 (d, J = 7.32 Hz, 1H, Ar), 7.09 (d, J = 7.32 Hz, 1H, Ar), 7.46 (s, 1H, OH), 7.63 (d, J = 8.56 Hz, 1H, Ar), 7.85 (s, 1H, Ar).

MS (EI) m/z (%): 311 (M⁺, 15), 255 (48) (M⁺ - *t*Bu), 211 (100) (M⁺ - CO₂*t*Bu).

Analisi Calcolata per C₁₉H₂₁NO₃: C, 73.29; H, 6.80; N, 4.50. **Trovata:** C, 73.31; H, 6.75; N, 4.50.

5,8,9-Trimetil-9H-carbazol-3-olo (4b)

Solido bianco

Resa % = 70

P.f. = 202 °C

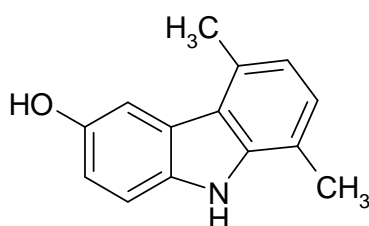
Formula Bruta: C₁₅H₁₅NO**Procedimento:**

Il 5,8,9-trimetil-9H-carbazol-3-olo (**4b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**4a**) ed utilizzando acido 3-boronico-5,8,9-trimetil-9H-carbazolo (**3b**) 1,20 g (4,80 mmoli), H₂O 40 mL, acetone 5 mL, NaOH 0,19 g (4,80 mmoli), NaHCO₃ 0,40 g (4,80 mmoli) e H₂O₂ al 35 % 1,90 mL (19,20 mmoli).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3415, 1587, 1460, 1165, 809, 543.

¹H NMR (CDCl₃): δ 2.78 (s, 3H, CH₃), 2.80 (s, 3H, CH₃), 4.07 (s, 3H, NCH₃), 6.88 (d, J = 7.32 Hz, 1H, Ar), 7.07 (d, J = 7.32 Hz, 1H, Ar), 7.23 (dd, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 7.52 (dd, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 8.23 (s, 1H, Ar).

Analisi Calcolata per C₁₅H₁₅NO: C, 79.97; H, 6.71; N, 6.22. **Trovata:** C, 80.00; H, 6.70; N, 6.00.

5,8-Dimetil-9H-carbazol-3-olo (5)

Solido bianco

Resa % = 75

P.f. = 174 °C

Formula Bruta: C₁₄H₁₃NO**Procedimento:**

Il 5,8-dimetil-9H-carbazol-3-olo (**5**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**4a**) ed utilizzando acido 3-boronico-9-ter-butossicarbonil-5,8-dimetil-9H-carbazolo (**3a**) 1,60 g (4,80 mmoli), H₂O 40 mL, acetone 5 mL, NaOH 0,19 g (4,80 mmoli), NaHCO₃ 0,40 g (4,80 mmoli) e H₂O₂ al 35 % 1,90 mL (19,20 mmoli). In questo caso, il prodotto viene ottenuto per acidificazione fino a pH = 1 utilizzando una soluzione acquosa di HCl 6N.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3517, 3415, 1461, 1165, 847, 809, 543.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.50 (s, 3H, CH₃), 2.61 (s, 3H, CH₃), 6.83 (d, 1H, J = 7.36 Hz, Ar), 6.95 (d, 1H, J = 8.56 Hz, Ar), 7.08 (d, 1H, J = 7.36 Hz, Ar), 7.40 (d, 1H, J = 8.56 Hz, Ar), 7.53 (s, 1H, Ar), 9.12 (br, 1H, OH), 10.88 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 150.2, 139.7, 133.8, 129.4, 125.4, 123.9, 120.3, 119.2, 117.2, 114.0, 111.1, 107.0, 20.1, 16.7.

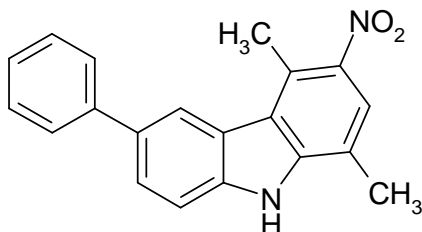
MS (ESI⁺): 212 (M⁺ + 1).

6.9 PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI:

- 6-Aril-1,4-dimetil-9H-carbazoli (10a-b, 7a-f).

La preparazione del 1,4-dimetil-6-fenil-3-nitro-9H-carbazolo (10a) è riportata come esempio rappresentativo.

1,4-Dimetil-6-fenil-3-nitro-9H-carbazolo (10a)



Solido giallo

Resa % = 67

P.f. = 226 °C

Formula Bruta: C₂₀H₁₆N₂O₂

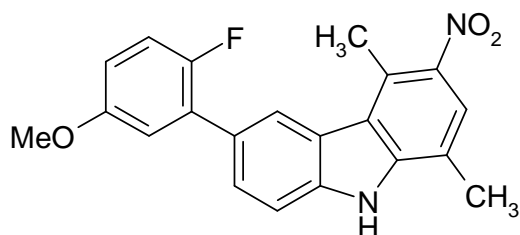
Procedimento:

In un pallone a tre colli da 100 mL munito di agitatore elettromagnetico, si dissolve il 6-bromo-1,4-dimetil-3-nitro-9H-carbazolo (**9a**) (1,50 g; 4,70 mmoli) in 1,4-diossano (70 mL), sotto atmosfera inerte (in presenza d'argon). Successivamente, si aggiunge l'acido fenil-boronic (0,63 g; 5,17 mmoli), una soluzione acquosa di Na₂CO₃ (1,25 g; 11,79 mmoli) in H₂O (3,50 mL) e Pd(PPh₃)₄ (0,30 g; 0,26 mmoli). La miscela di reazione si lascia sotto agitazione a riflusso per 48 h. Dopo, il solvente si evapora a pressione ridotta ed il solido grezzo ottenuto si ricristallizza con aceto nitrile. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3451, 1584, 1521, 1302, 1301, 817, 758.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.55 (s, 3H, CH₃), 2.96 (s, 3H, CH₃), 7.83-7.84 (m, 7H, Ar); 7.86 (s, 1H, Ar), 8.35 (s, 1H, Ar), 11.94 (s, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 316 (M⁺, 98), 271 (48) (M⁺ - NO₂).

1,4-Dimetil-3-nitro-6-(2'-fluoro-5'-metossifenil)-9H-carbazolo (10b)

Solido giallo

Resa % = 45

P.f. = 240 °C

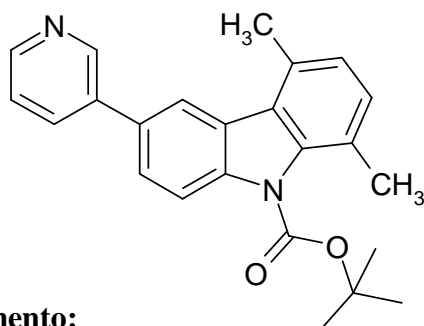
Formula Bruta: C₂₁H₁₇FN₂O₃**Procedimento:**

L'1,4-dimetil-3-nitro-6-(2'-fluoro-5'-metossifenil)-9H-carbazolo (**10b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**10a**) ed utilizzando 6-bromo-1,4-dimetil-3-nitro-9H-carbazolo (**9a**) 0,50 g (1,57 mmoli), acido 2-fluoro-5-metossifenile boronico 0,29 g (1,70 mmoli), Na₂CO₃ 0,42 g (3,90 mmoli) in H₂O (2 mL) e Pd(PPh₃)₄ 0,09 g (0,08 mmoli) in 1,4-diossano (50 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3309, 1578, 1299, 1205, 1034, 810, 756.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.58 (s, 3H, CH₃), 2.99 (s, 3H, CH₃), 3.80 (s, 3H, OCH₃), 6.93-6.95 (m, 1H, Ar), 7.14-7.17 (m, 1H, Ar), 7.23-7.28 (m, 1H, Ar), 7.65-7.71 (m, 2H, Ar), 7.87 (s, 1H, Ar), 8.36 (s, 1H, Ar), 12.06 (s, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 364 (M⁺+1).

1,4-Dimetil-6-piridin-3-il-9-ter-butossicarbonil-9H-carbazolo (7a)

Solido marrone

Resa % = 50

P.f. = 167 °C

Formula Bruta: C₂₄H₂₄N₂O₂**Procedimento:**

L'1,4-dimetil-6-piridin-3-il-9-ter-butossicarbonil-9H-carbazolo (**7a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**10a**) ed utilizzando 3-acido boronico-9-ter-butossicarbonil-5,8-dimetil-9H-carbazolo (**3a**) 0,30 g (0,88 mmoli), 3-bromo-piridina 0,08 mL (0,80 mmoli), Na₂CO₃ (0,21 g ,2,00 mmoli in H₂O 2 mL) e Pd(PPh₃)₄ 0,05 g (0,04 mmoli) in 1,4-diossano (50 mL).

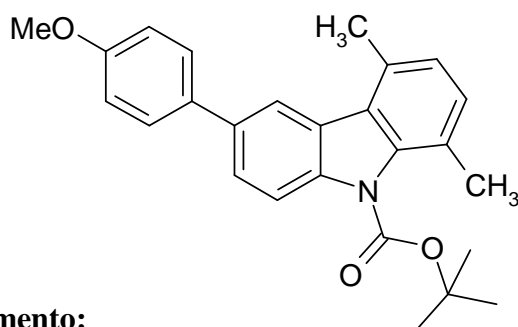
IR (KBr) (cm⁻¹): 3435, 2972, 1731, 1458, 1288, 1246, 1145, 1084, 809, 721, 619.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.67 (s, 9H, CH₃), 2.40 (s, 3H, CH₃), 2.84 (s, 3H, CH₃), 7.15 (d, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 7.24 (d, J = 7.80 Hz, 1H, Ar), 7.50-7.53 (m, 1H, Ar), 7.87 (d, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 8.11 (d, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 7.20 (d, J = 7.80 Hz, 1H, Ar), 8.35 (s, 1H, Ar), 8.56-8.60 (m, 1H, Ar), 9.01 (s, 1H, Ar).

MS (EI) *m/z* (%): 372 (M⁺, 1), 316 (100) (M⁺ - *t*Bu), 272 (100) (M⁺ - CO₂*t*Bu).

MS (ESI⁺): 373 (M⁺+1).

1,4-Dimetil-6-(4'-metossi-fenil)-9-*ter*-butossicarbonil-9*H*-carbazolo (7b)



Solido bianco

Resa % = 70

P.f. = 122 °C

Formula Bruta: C₂₆H₂₇NO₃

Procedimento:

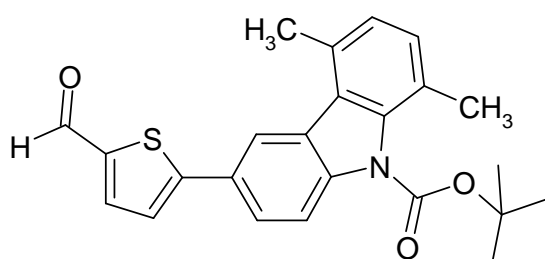
L'1,4-dimetil-6-(4'-metossi-fenil)-9-*ter*-butossicarbonil-9*H*-carbazolo (**7b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**10a**) ed utilizzando acido 3-boronic-9-*ter*-butossicarbonil-5,8-dimetil-9*H*-carbazolo (**3a**) 0,50 g (1,47 mmoli), 4-iodioanisolo 0,30 g (1,34 mmoli), Na₂CO₃ (0,35 g, 3,35 mmoli in H₂O 2,5 mL) e Pd(PPh₃)₄ 0,08 g (0,07 mmoli) in 1,4-diossano (60 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 2977, 1728, 1451, 1285, 1246, 1150, 1081, 804, 757, 697.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.71 (s, 9H, CH₃), 2.45 (s, 3H, CH₃), 2.89 (s, 3H, CH₃), 3.47 (s, 3H, OCH₃), 7.20 (d, J = 7.80 Hz, 1H, Ar), 7.29 (d, J = 7.80 Hz, 1H, Ar), 7.44-7.46 (m, 1H, Ar), 7.55-7.58 (m, 2H, Ar), 7.83-7.89 (m, 2H, Ar), 8.15 (d, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 8.36 (s, 1H, Ar).

MS (EI) *m/z* (%): 401 (M⁺, 1), 271 (100) (M⁺ - OCH₃, CO₂*t*Bu).

5-(5',8'-Dimetil-9'-*ter*-butossicarbonil-9'*H*-carbazol-3-il)-tiofen-2-carbaldeide (7c)



Solido giallo

Resa % = 90

P.f. = 168 °C

Formula Bruta: C₂₄H₂₃NO₃S

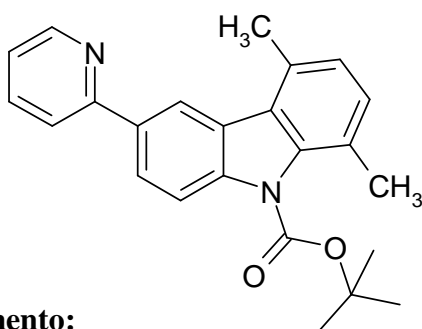
Procedimento:

La 5-(5',8'-dimetil-9'-*ter*-butossicarbonil-9'*H*-carbazol-3-il)-tiofen-2-carbaldeide (**7c**) è stata ottenuta seguendo la stessa procedura di sintesi di (**10a**) ed utilizzando acido 3-boronico-9-*ter*-butossicarbonil-5,8-dimetil-9*H*-carbazolo (**3a**) 0,51 g (1,54 mmoli), 5-bromo-2-tiofencarbossaldeide 0,27 g (1,54 mmoli), Na₂CO₃ (0,37 g, 3,50 mmoli in H₂O 2,5 mL) e Pd(PPh₃)₄ 0,08 g (0,07 mmoli) in 1,4-diossano (60 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3428, 2971, 1739, 1657, 1428, 1225, 1149, 1061, 797, 665.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.66 (s, 9H, CH₃), 2.40 (s, 3H, CH₃), 2.81 (s, 3H, CH₃), 7.15 (d, J = 7.80 Hz, 1H, *Ar*), 7.24 (d, J = 7.80 Hz, 1H, *Ar*), 7.82 (d, J = 3.90 Hz, 1H, *Ar*), 7.94 (d, J = 8.80 Hz, 1H, *Ar*), 8.05-8.07 (m, 2H, *Ar*), 8.38 (s, 1H, *Ar*), 9.90 (s, 1H, CHO).

MS (ESI⁺): 405 (M⁺+1).

1,4-Dimetil-6-piridin-2-il-9-*ter*-butossicarbonil-9*H*-carbazolo (7d**)**

Solido marrone

Resa % = 45

P.f. = 212 °C

Formula Bruta: C₂₄H₂₄N₂O₂

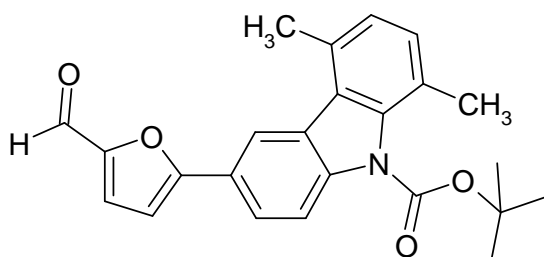
Procedimento:

L'1,4-dimetil-6-piridin-2-il-9-*ter*-butossicarbonil-9*H*-carbazolo (**7d**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**10a**) ed utilizzando acido 3-boronico-9-*ter*-butossicarbonil-5,8-dimetil-9*H*-carbazolo (**3a**) 0,30 g (0,88 mmoli), 2-bromo-piridina 0,08 mL (0,80 mmoli), Na₂CO₃ (0,21 g, 2,00 mmoli in H₂O 2 mL) e Pd(PPh₃)₄ 0,05 g (0,04 mmoli) in 1,4-diossano (50 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3370, 2977, 1701, 1457, 1290, 1252, 1149, 1088, 803, 780, 670.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.62 (s, 9H, CH₃), 2.41 (s, 3H, CH₃), 2.72 (s, 3H, CH₃), 7.02 (d, J = 7.80 Hz, 1H, *Ar*), 7.10 (d, J = 7.80 Hz, 1H, *Ar*), 7.15-7.20 (m, 1H, *Ar*), 7.68-7.71 (m, 2H, *Ar*), 7.75 (d, J = 8.80 Hz, 1H, *Ar*), 7.95-8.07 (m, 1H, *Ar*), 8.08 (d, J = 8.80 Hz, 1H, *Ar*), 8.66 (s, 1H, *Ar*).

MS (ESI⁺): 373 (M⁺+1).

5-(5',8'-Dimetil-9'-*ter*-butossicarbonil-9'*H*-carbazol-3-il)-furan-2-carbaldeide (7e)

Solido giallo

Resa % = 60

P.f. = 110 °C

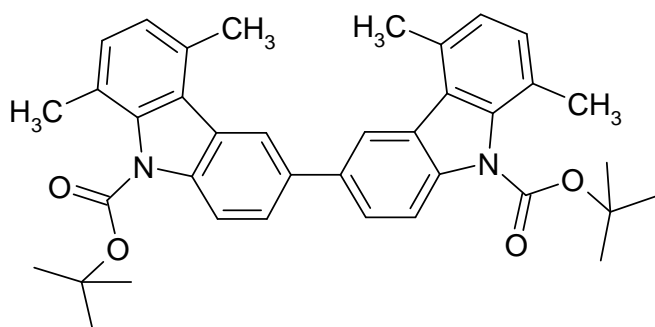
Formula Bruta: C₂₄H₂₃NO₄**Procedimento:**

La 5-(5',8'-dimetil-9'-*ter*-butossicarbonil-9'*H*-carbazol-3-il)-furan-2-carbaldeide (**7e**) è stata ottenuta seguendo la stessa procedura di sintesi di (**10a**) ed utilizzando acido 3-boronico-9-*ter*-butossicarbonil-5,8-dimetil-9*H*-carbazolo (**3a**) 0,57 g (1,68 mmoli), 5-bromo-2-furaldeide 0,27 g (1,54 mmoli), Na₂CO₃ (0,41 g, 3,50 mmoli in H₂O 2,5 mL) e Pd(PPh₃)₄ 0,09 g (0,08 mmoli) in 1,4-diossano (60 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3430, 2975, 1744, 1672, 1450, 1285, 1149, 1084, 795.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.67 (s, 9H, CH₃), 2.42 (s, 3H, CH₃), 2.82 (s, 3H, CH₃), 7.16 (d, J = 7.80 Hz, 1H, Ar), 7.25 (d, J = 7.80 Hz, 1H, Ar), 7.34 (d, J = 3.90 Hz, 1H, Ar), 7.67 (d, J = 3.90 Hz, 1H, Ar), 8.03 (d, J = 8.79 Hz, 1H, Ar), 8.10 (d, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 8.48 (s, 1H, Ar), 9.62 (s, 1H, CHO).

MS (ESI⁺): 390 (M⁺+1).

1,1',4,4'-Tetrametil-9-*ter*-butossicarbonil-9*H*-dicarbazolo (7f)

Solido bianco

Resa % = 40

P.f. = 214 °C

Formula Bruta: C₃₈H₄₀N₂O₄**Procedimento:**

L'1,1',4,4'-tetrametil-9-*ter*-butossicarbonil-9*H*-dicarbazolo (**7f**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**10a**) ed utilizzando acido 3-boronico-9-*ter*-butossicarbonil-5,8-dimetil-9*H*-carbazolo (**3a**) 0,29 g (0,88 mmoli), 6-bromo-9-*ter*-

butossicarbonil-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**2a**) 0,30 g (0,80 mmoli), Na₂CO₃ (0,21 g, 2,00 mmoli in H₂O 2,5 mL) e Pd(PPh₃)₄ 0,05 g (0,04 mmoli) in 1,4-diossano (50 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3439, 2979, 1726, 1453, 1295, 1248, 1154, 1083, 804, 541.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.68 (s, 18H, CH₃), 2.42 (s, 6H, CH₃), 2.85 (s, 6H, CH₃), 7.10-7.30 (m, 4H, Ar), 7.90-8.00 (m, 2H, Ar), 8.10-8.20 (m, 2H, Ar), 8.40 (s, 2H, Ar).

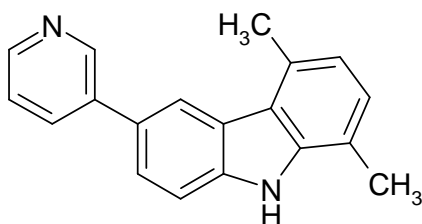
MS (EI) *m/z* (%): 588 (M⁺, 1), 388 (100) (M⁺ - 2 CO₂*t*Bu).

6.10 PROCEDURA GENERALE PER LA DEPROTEZIONE DI:

- 6-Aril-1,4-dimetil-9-*ter*-butossicarbonil-9*H*-carbazoli (**8a-d**, **8f**).

La preparazione del 1,4-dimetil-6-piridin-3-il-9*H*-carbazolo (**8a**) è riportata come esempio rappresentativo.

1,4-Dimetil-6-piridin-3-il-9*H*-carbazolo (**8a**)



Solido giallo

Resa % = 95

P.f. > 260 °C

Formula Bruta: C₁₉H₁₆N₂

Procedimento:

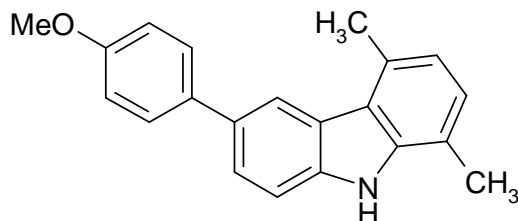
In un pallone da 100 mL, munito di agitatore elettromagnetico, contenete una miscela di 1,4-diossano (70 mL) e HCl_(gas) (in eccesso) si aggiunge, alla temperatura di 0 °C, 1,4-dimetil-6-piridin-3-il-9-*ter*-butossicarbonil-9*H*-carbazolo (**7a**) (0,87 g; 2,36 mmoli). La miscela di reazione ottenuta si lascia a riflusso per 48 h. Successivamente, si evapora a pressione ridotta, si ottiene un olio grezzo che si cristallizza con acetonitrile. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3426, 2518, 1470, 1258, 790, 671.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.52 (s, 3H, CH₃), 2.85 (s, 3H, CH₃), 3.42 (1H, NH⁺Cl⁻), 6.91 (d, J = 6.80 Hz, 1H, Ar), 7.13 (d, J = 6.80 Hz, 1H, Ar), 7.68 (d, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 7.85 (d, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 7.97-8.05 (m, 1H, Ar), 8.49 (s, 1H, Ar), 8.77 (dd, 1H, Ar), 8.84 (dd, 1H, Ar), 9.30 (s, 1H, Ar), 11.51 (s, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 273 (M⁺+1).

1,4-Dimetil-6-(4'-metossi-fenil)-9H-carbazolo (8b)



Solido bianco

Resa % = 95

P.f. = 200 °C

Formula Bruta: C₂₁H₁₉NO

Procedimento:

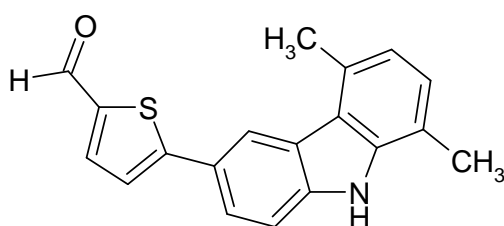
L'1,4-dimetil-6-(4'-metossi-fenil)-9H-carbazolo (**8b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**8a**) ed utilizzando 1,4-diossano 20 mL, HCl_(gas) in eccesso 1,4-dimetil-6-(4'-metossi-fenil)-9-*ter*-butossicarbonil-9H-carbazolo (**7b**) 0,10 g (0,24 mmoli).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3020, 1454, 1320, 1250, 1170, 1076, 799, 770, 676.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.54 (s, 3H, CH₃), 2.84 (s, 3H, CH₃), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 6.89 (d, J = 7.80 Hz, 1H, Ar), 6.98 (d, J = 7.80 Hz, 1H, Ar), 7.00-7.05 (m, 2H, Ar), 7.30 (d, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 7.40 (d, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 7.56-7.58 (m, 2H, Ar), 7.85 (s, 1H, Ar), 10.00 (s, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 301 (M⁺, 100).

5-(5',8'-Dimetil-9'H-carbazol-3-il)-tiofen-2-carbaldeide (8c)



Solido giallo

Resa % = 90

P.f. = 262 °C

Formula Bruta: C₁₉H₁₅NOS

Procedimento

La 5-(5',8'-dimetil-9'H-carbazol-3-il)-tiofen-2-carbaldeide (**8c**) è stata ottenuta seguendo la stessa procedura di sintesi di (**8a**) ed utilizzando 1,4-diossano 50 mL, HCl_(gas) in eccesso 5-(5',8'-dimetil-9-*ter*-butossicarbonil-9'H-carbazol-3-il)-tiofen-2-carbaldeide (**7c**) 0,3 g (0,74 mmoli).

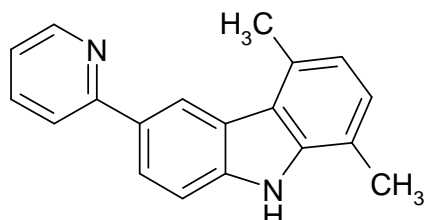
IR (KBr) (cm⁻¹): 3435, 3267, 1634, 1430, 1241, 1058, 800, 669.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.58 (s, 3H, CH₃), 2.89 (s, 3H, CH₃), 6.97 (d, J = 7.80 Hz, 1H, Ar), 7.19 (d, J = 7.80 Hz, 1H, Ar), 7.67 (d, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 7.83 (d, J = 3.90 Hz, 1H,

Ar), 7.89 (d, $J = 8.80$ Hz, 1H, *Ar*), 8.10 (d, $J = 3.90$ Hz, 1H, *Ar*), 8.50 (s, 1H, *Ar*), 9.94 (s, 1H, *CHO*), 11.58 (s, 1H, *NH*).

MS (ESI⁺): 306 (M⁺+1).

1,4-Dimetil-6-piridin-2-il-9H-carbazolo (8d)



Solido bianco

Resa % = 92

P.f. > 260 °C

Formula Bruta: C₁₉H₁₆N₂

Procedimento:

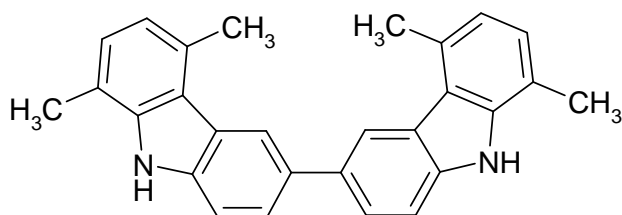
L'1,4-dimetil-6-piridin-2-il-9H-carbazolo (**8d**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**8a**) ed utilizzando 1,4-diossano 70 mL, HCl_(gas) in eccesso 1,4-dimetil-6-piridin-2-il-9-*ter*-butossicarbonil-9H-carbazolo (**7d**) 0,87 g (2,36 mmoli).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3424, 2516, 1468, 1270, 800, 673.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.45 (s, 3H, CH₃), 2.73 (s, 3H, CH₃), 3.43 (1H, NH⁺Cl⁻), 7.07 (d, $J = 7.80$ Hz, 1H, *Ar*), 7.13 (d, $J = 7.80$ Hz, 1H, *Ar*), 7.18-7.22 (m, 1H, *Ar*), 7.69-7.70 (m, 2H, *Ar*), 7.80 (d, $J = 8.80$ Hz, 1H, *Ar*), 7.92-8.09 (m, 1H, *Ar*), 8.10 (d, $J = 8.80$ Hz, 1H, *Ar*), 8.64 (s, 1H, *Ar*), 11.48 (s, 1H, *NH*).

MS (ESI⁺): 273 (M⁺+1).

1,1',4,4'-Tetrametil-9H-dicarbazolo (8f)



Solido bianco

Resa % = 94

P.f. = 254 °C

Formula Bruta: C₂₈H₂₄N₂

Procedimento:

L'1,1',4,4'-tetrametil-9H-dicarbazolo (**8f**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**8a**) ed utilizzando 1,4-diossano 30 mL, HCl_(gas) in eccesso 1,1',4,4'-tetrametil-9-*ter*-butossicarbonil-9H-dicarbazolo (**7f**) 0,1 g (0,17 mmoli).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3454, 2987, 1457, 1300, 1254, 1187, 1067, 812, 570.

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 2.55 (s, 6H, CH_3), 2.85 (s, 6H, CH_3), 6.98-7.15 (m, 4H, Ar), 7.38-7.59 (m, 4H, Ar), 7.94-7.99 (m, 2H, Ar), 10.20 (s, 2H, NH).

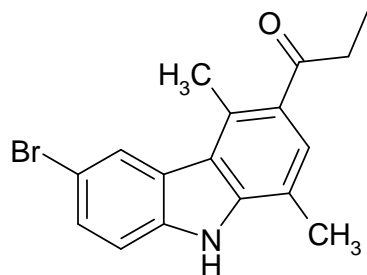
MS (EI) m/z (%): 388 (M^+ , 100).

6.11 PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI:

- 1,4-Dimetil-9H-carbazoli acil e (aroil) sostituiti (11-17 a, 11-12 b, 14b, 16c-l, 19a-b).

La preparazione del 6-bromo-1,4-dimetil-3-n-propionil-9H-carbazolo (11a) è riportata come esempio rappresentativo.

6-Bromo-1,4-dimetil-3-n-propionil-9H-carbazolo (11a)



Solido giallo

Resa % = 50

P.f. = 210 °C

Formula Bruta: $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{BrNO}$

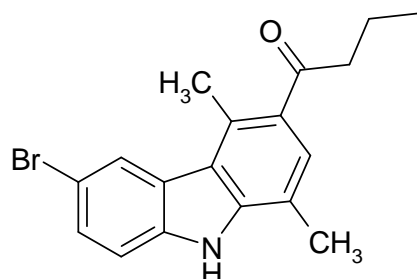
Procedimento:

In un pallone da 250 mL munito di agitatore elettromagnetico, si dissolve il 6-bromo-1,4-dimetil-9H-carbazolo (**1a**) (0,50 g; 1,82 mmoli) in CHCl_3 (70 mL). Alla soluzione ottenuta, si aggiungono AlCl_3 (0,62 g; 5,50 mmoli) ed anidride propionica (0,28 g; 2,18 mmoli). Si lascia reagire sotto agitazione ed a riflusso per 3 h. Successivamente, alla miscela di reazione si aggiunge del ghiaccio e si acidifica con una soluzione acquosa di HCl al 37 % (1 mL). Infine, si estrae con CHCl_3 e la fase organica ottenuta si lava con H_2O , si secca su MgSO_4 e si evapora a pressione ridotta. Si ottiene un olio che cristallizza da etere etilico.

IR (KBr) (cm^{-1}): 3306, 1642, 1580, 1440, 1282, 1225, 926, 799, 563.

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 1.07-1.10 (t, 3H, CH_2CH_3), 2.57 (s, 3H, CH_3), 2.83 (s, 3H, CH_3), 4.10-4.12 (q, 2H, CH_2CH_3), 7.50-7.55 (m, 2H, Ar), 7.63 (s, 1H, Ar), 8.28 (s, 1H, Ar), 11.71 (s, 1H, NH).

MS (ESI $^+$): 329 (M^+-1).

6-Bromo-1,4-dimetil-3-*n*-butiril-9*H*-carbazolo (12a)

Solido giallo

Resa % = 40

P.f. = 220 °C

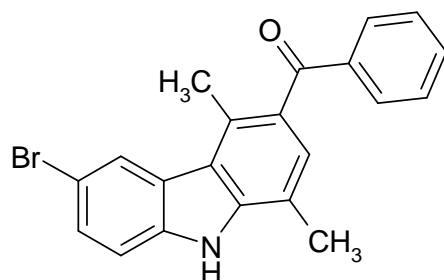
Formula Bruta: C₁₈H₁₈BrNO**Procedimento:**

Il 6-bromo-1,4-dimetil-3-*n*-butiril-9*H*-carbazolo (**12a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**11a**) ed utilizzando 6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**1a**) (0,50 g; 1,82 mmoli), AlCl₃ (0,62 g; 5,50 mmoli), anidride butirrica (0,34 g; 2,18 mmoli) in CHCl₃ (70 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3317, 1649, 1582, 1434, 1284, 1233, 928, 799, 602.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.90-0.94 (t, 3H, CH₂CH₂CH₃), 1.62-1.63 (q, 2H, CH₂CH₂CH₃), 2.54 (s, 3H, CH₃), 2.83 (s, 3H, CH₃), 2.92-2.94 (q, 2H, CH₂CH₂CH₃), 7.50-7.55 (m, 2H, Ar), 7.63 (s, 1H, Ar), 8.28 (s, 1H, Ar), 11.71 (s, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 344 (M⁺-1).

3-Benzoil-6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (13a)

Solido giallo

Resa % = 38

P.f. = 244 °C

Formula Bruta: C₂₁H₁₆BrNO**Procedimento:**

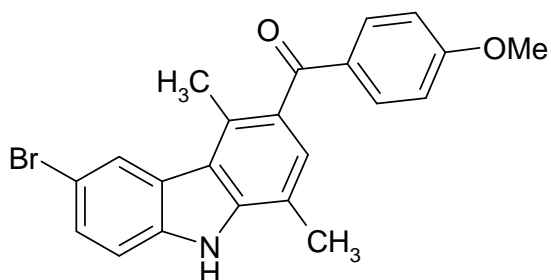
Il 3-benzoil-6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**13a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**11a**) ed utilizzando 6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**1a**) (0,50 g; 1,82 mmoli), AlCl₃ (0,62 g; 5,50 mmoli), benzoylcloruro (0,30 mL; 2,54 mmoli) in CHCl₃ (70 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3291, 2923, 1631, 1587, 1440, 1321, 1246, 814, 717, 607.

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 2.58 (s, 3H, CH_3), 2.68 (s, 3H, CH_3), 7.19 (s, 1H, Ar), 7.50-7.56 (m, 4H, Ar), 7.63 (d, 1H, $J = 7.84$ Hz, Ar), 7.72 (d, 2H, $J = 7.80$ Hz, Ar), 8.27 (s, 1H, Ar), 11.67 (s, 1H, NH).

MS (ESI $^+$): 378 ($\text{M}^+ - 1$).

6-Bromo-1,4-dimetil-3-(4'-metossibenzoil)-9H-carbazolo (14a)



Solido bianco

Resa % = 77

P.f. > 260 °C

Formula Bruta: $\text{C}_{22}\text{H}_{18}\text{BrNO}_2$

Procedimento:

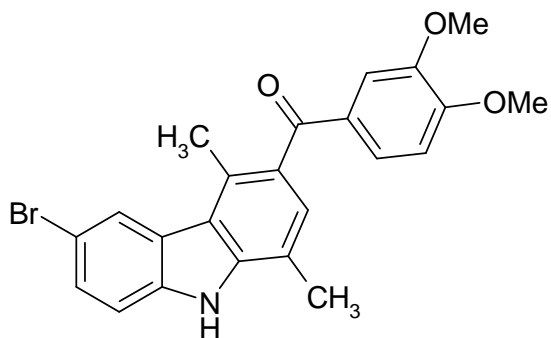
Il 6-bromo-1,4-dimetil-3-(4'-metossibenzoil)-9H-carbazolo (**14a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**11a**) ed utilizzando 6-bromo-1,4-dimetil-9H-carbazolo (**1a**) (0,50 g; 1,82 mmoli), AlCl_3 (0,72 g; 5,46 mmoli), 4-metossi-benzoil-cloruro (0,40 g; 2,36 mmoli) in CHCl_3 (70 mL). Per migliorare la resa di reazione si lascia reagire 24 h a refluxo. L'olio grezzo ottenuto si riprende con etere etilico, si filtra su carta per eliminare le impurezze e poi si lascia cristallizzare. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm^{-1}): Bande principali: 3325 (NH), 1638 (C=O).

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 2.49 (s, 3H, CH_3), 2.60 (s, 3H, CH_3), 3.79 (s, 3H, OCH_3), 6.98 (d, 2H, Ar), 7.67 (d, 2H, Ar), 7.12 (s, 1H, Ar), 7.51 (m, 2H, Ar), 8.22 (d, 1H, Ar), 11.59 (s, 1H, NH).

MS (ESI $^+$): 409 ($\text{M}^+ + 1$).

6-Bromo-1,4-dimetil-3-(3',4'-dimetossibenzoil)-9H-carbazolo (15a)



Solido crema

Resa % = 40

P.f. = 160 °C

Formula Bruta: $\text{C}_{23}\text{H}_{20}\text{BrNO}_3$

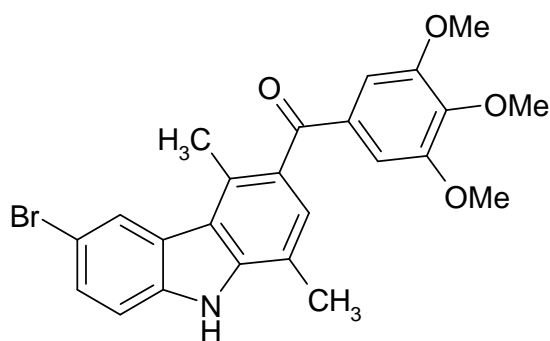
Procedimento:

Il 6-bromo-1,4-dimetil-3-(3',4'-dimetossibenzoil)-9*H*-carbazolo (**15a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**11a**) ed utilizzando 6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**1a**) (0,50 g; 1,82 mmoli), AlCl₃ (0,72 g; 5,46 mmoli), 3,4-dimetossi-benzoil-cloruro (0,47 g; 2,36 mmoli) in CHCl₃ (70 mL). Per migliorare la resa di reazione si lascia reagire 24 h a riflusso. L'olio grezzo ottenuto si riprende con etere etilico, si filtra su carta per eliminare le impurezze e poi si lascia cristallizzare. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): Banda principale: 3486 (NH), 1641 (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.45 (s, 3H, CH₃), 2.61 (s, 3H, CH₃), 3.76 (s, 3H, OCH₃), 3.78 (s, 3H, OCH₃), 6.96 (d, 1H, Ar), 7.12 (m, 2H, Ar), 7.39 (s, 1H, Ar), 7.51 (m, 2H, Ar), 8.22 (d, 1H, Ar), 11.66 (s, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 439 (M⁺ +1).

6-Bromo-1,4-dimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9*H*-carbazolo (16a**)**

Solido giallo

Resa % = 50

P.f. = 170 °C

Formula Bruta: C₂₄H₂₂BrNO₄

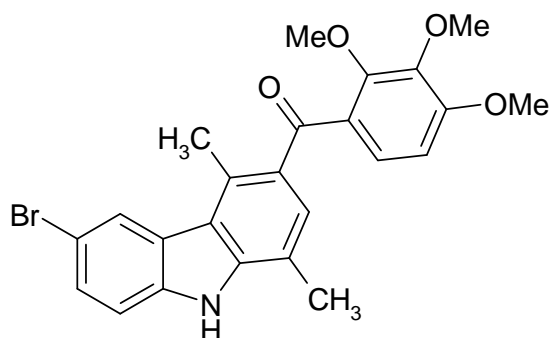
Procedimento:

Il 6-bromo-1,4-dimetil-3-(3',4',5'-trimetossibenzoil)-9*H*-carbazolo (**16a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**11a**) ed utilizzando 6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**1a**) (0,50 g; 1,82 mmoli), AlCl₃ (0,62g; 5,50 mmoli), 3,4,5-tri-metossi-benzoil-cloruro (0,50 g; 2,18 mmoli) in CHCl₃ (70 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3340, 2930, 1638, 1577, 1411, 1331, 1229, 1130, 994, 731, 593.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.53 (s, 3H, CH₃), 2.69 (s, 3H, CH₃), 3.73 (s, 6H, OCH₃), 3.75 (s, 3H, OCH₃), 7.01 (s, 2H, Ar), 7.24 (s, 1H, Ar), 7.55-7.56 (m, 2H, Ar), 8.28 (s, 1H, Ar), 11.74 (s, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 468 (M⁺-1).

6-Bromo-1,4-dimetil-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (17a)

Solido bianco

Resa % = 60

P.f. = 264 °C

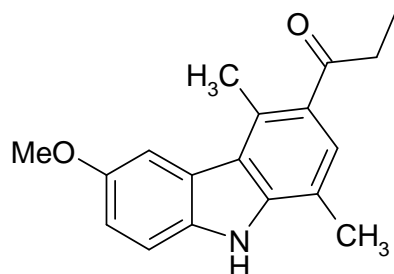
Formula Bruta: C₂₄H₂₂BrNO₄**Procedimento:**

Il 6-bromo-1,4-dimetil-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**17a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**11a**) ed utilizzando 6-bromo-1,4-dimetil-9H-carbazolo (**1a**) (0,50 g; 1,82 mmoli), AlCl₃ (0,72 g; 5,46 mmoli), 2,3,4-trimetossi-benzoil-cloruro (0,54 g; 2,36 mmoli) in CHCl₃ (70 mL). Per migliorare la resa di reazione si lascia reagire 24 h a riflusso. L'olio grezzo ottenuto si riprende con etere etilico, si filtra su carta per eliminare le impurezze e poi si lascia cristallizzare. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): Bande principali: 3292 (NH), 1631 (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.50 (s, 3H, CH₃), 2.82 (s, 3H, CH₃), 3.55 (s, 3H, OCH₃), 3.72 (s, 3H, OCH₃), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 6.91 (d, 1H, Ar), 7.15 (m, 2H, Ar), 7.55 (m, 2H, Ar), 8.31 (d, 1H, Ar), 11.72 (s, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 469 (M⁺+1).

1,4-Dimetil-6-metossi-3-*n*-propionil-9H-carbazolo (11b)

Solido giallo

Resa % = 25

P.f. = 144 °C

Formula Bruta: C₁₈H₁₉NO₂**Procedimento:**

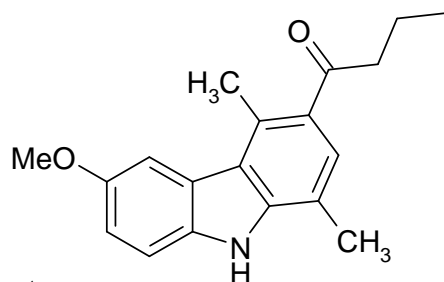
L'1,4-dimetil-6-metossi-3-*n*-propionil-9H-carbazolo (**11b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**11a**) ed utilizzando 1,4-dimetil-6-metossi-9H-carbazolo (**1b**) (0,64 g; 2,84 mmoli), AlCl₃ (0,97 g; 8,52 mmoli), anidride propionica (0,44 g; 3,41 mmoli) in CHCl₃ (70 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3286, 1651, 1578, 1474, 1224, 1146, 1048, 805, 578.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.14-1.17 (t, 3H, CH₂CH₃), 2.59 (s, 3H, CH₃), 2.93 (s, 3H, CH₃), 3.02-3.06 (q, 2H, CH₂CH₃), 3.91 (s, 3H, OCH₃), 7.15 (dd, 1H, J = 8.80 Hz, *Ar*), 7.53 (d, 1H, J = 8.80 Hz, *Ar*), 7.65 (s, 1H, *Ar*), 7.71 (s, 1H, *Ar*), 11.38 (s, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 282 (M⁺+1), 280 (M⁺-1).

1,4-Dimetil-6-metossi-3-*n*-butiril-9*H*-carbazolo (**12b**)



Solido giallo

Resa % = 35

P.f. = 148 °C

Formula Bruta: C₁₉H₂₁NO

Procedimento:

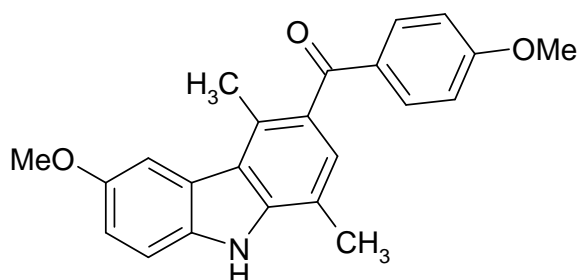
L'1,4-dimetil-6-metossi-3-*n*-butiril-9*H*-carbazolo (**12b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**11a**) ed utilizzando 1,4-dimetil-6-metossi-9*H*-carbazolo (**1b**) (0,30 g; 1,33 mmoli), AlCl₃ (0,45 g; 3,99 mmoli), anidride butirrica (0,25 g; 1,60 mmoli) in CHCl₃ (30 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3312, 1640, 1573, 1473, 1324, 1218, 1164, 1077, 845, 796, 608, 568.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.90-0.94 (t, 3H, CH₂CH₂CH₃), 1.60-1.65 (q, 2H, CH₂CH₂CH₃), 2.51 (s, 3H, CH₃), 2.86 (s, 3H, CH₃), 2.91-2.95 (m, 2H, CH₂CH₂CH₃), 3.84 (s, 3H, OCH₃), 7.08 (dd, 1H, J₁ = 1.92 Hz, J₂ = 8.76 Hz, *Ar*), 7.46 (d, 1H, J = 8.80 Hz, *Ar*), 7.57 (s, 1H, *Ar*), 7.66 (d, 1H, J = 1.92 Hz, *Ar*), 11.33 (s, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 396 (M⁺+1).

1,4-Dimetil-6-metossi-3-(4'-metossibenzoil)-9*H*-carbazolo (**14b**)



Solido crema

Resa % = 60

P.f. = 200 °C

Formula Bruta: C₂₃H₂₁NO₃

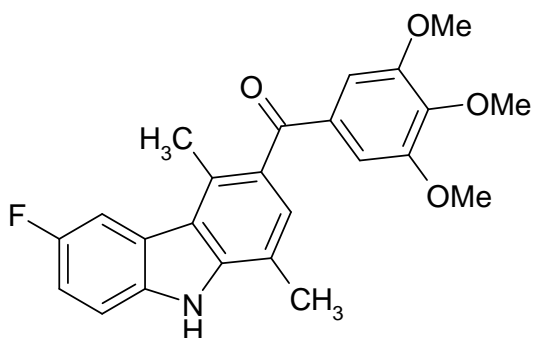
Procedimento:

L'1,4-dimetil-6-metossi-3-(4'-metossibenzoil)-9*H*-carbazolo (**14b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**11a**) ed utilizzando 1,4-dimetil-6-metossi-9*H*-carbazolo (**1b**) (0,30 g; 1,33 mmoli), AlCl₃ (0,45 g; 3,99 mmoli), 4-metossi-benzoil-cloruro (0,29 g; 1,73 mmoli) in CHCl₃ (30 mL). Per migliorare la resa di reazione si lascia reagire 24 h a riflusso. L'olio grezzo ottenuto si riprende con etere etilico, si filtra su carta per eliminare le impurezze e poi si lascia cristallizzare. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): Bande principali: 3233 (NH), 1630 (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.47 (s, 3H, CH₃), 2.67 (s, 3H, CH₃), 3.81 (s, 6H, OCH₃), 7.01 (d, 2H, Ar), 7.70 (d, 2H, Ar), 7.09 (m, 2H, Ar), 7.49 (d, 1H, Ar), 7.63 (d, 1H, Ar), 11.30 (s, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 360 (M⁺ +1).

1,4-Dimetil-6-fluoro-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9*H*-carbazolo (16c)

Solido crema

Resa % = 59

P.f. = 192 °C

Formula Bruta: C₂₄H₂₂FNO₄

Procedimento:

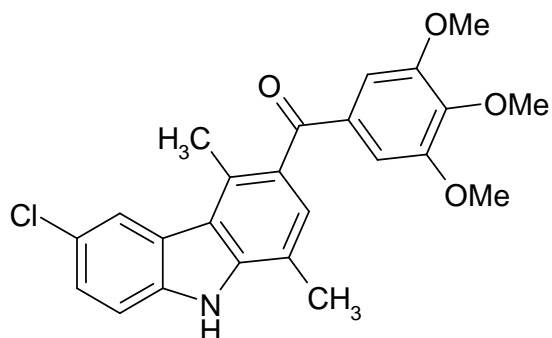
L'1,4-dimetil-6-fluoro-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9*H*-carbazolo (**16c**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**11a**) ed utilizzando 1,4-dimetil-6-fluoro-9*H*-carbazolo (**1c**) (0,30 g; 1,40 mmoli), AlCl₃ (0,55 g; 4,20 mmoli), 2,3,4-trimetossi-benzoil-cloruro (0,42 g; 1,82 mmoli) in CHCl₃ (30 mL). Per migliorare la resa di reazione si lascia reagire 24 h a riflusso. L'olio grezzo ottenuto si riprende con etere etilico, si filtra su carta per eliminare le impurezze e poi si lascia cristallizzare. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): Bande principali: 3487 (NH), 1637 (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.49 (s, 3H, CH₃), 2.65 (s, 3H, CH₃), 3.69 (s, 9H, OCH₃), 7.00 (s, 2H, Ar), 7.18 (s, 1H, Ar), 7.38 (m, 1H, Ar), 7.70 (q, 1H, Ar), 7.90 (q, 1H, Ar), 11.56 (s, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 422 (M⁺ +1).

6-Cloro-1,4-dimetil-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (16d)



Solido giallo

Resa % = 59

P.f. = 210 °C

Formula Bruta: C₂₄H₂₂ClNO₄

Procedimento:

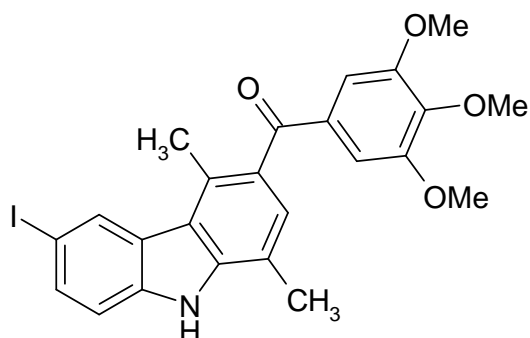
Il 6-cloro-1,4-dimetil-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**16d**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**11a**) ed utilizzando 6-cloro-1,4-dimetil-9H-carbazolo (**1d**) (0,30 g; 1,31 mmoli), AlCl₃ (0,52 g; 3,90 mmoli), 2,3,4-trimetossi-benzoil-cloruro (0,39 g; 1,70 mmoli) in CHCl₃ (30 mL). Per migliorare la resa di reazione si lascia reagire 24 h a reflusso. L'olio grezzo ottenuto si riprende con etere etilico, si filtra su carta per eliminare le impurezze e poi si lascia cristallizzare. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): Bande principali: 3465 (NH), 1635 (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.49 (s, 3H, CH₃), 2.65 (s, 3H, CH₃), 3.69 (s, 9H, OCH₃), 6.96 (s, 2H, Ar), 7.19 (s, 1H, Ar), 7.40 (d, 1H, Ar), 7.53 (d, 1H, Ar), 8.10 (d, 1H, Ar), 11.67 (s, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 424 (M⁺ +1).

1,4-Dimetil-6-iodio-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (16e)



Solido crema

Resa % = 53

P.f. = 218 °C

Formula Bruta: C₂₄H₂₂INO₄

Procedimento:

L'1,4-dimetil-6-iodio-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**16e**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**11a**) ed utilizzando 1,4-dimetil-6-iodio-9H-carbazolo (**1e**) (0,30 g; 0,93 mmoli), AlCl₃ (0,37 g; 2,80 mmoli), 2,3,4-trimetossi-benzoil-

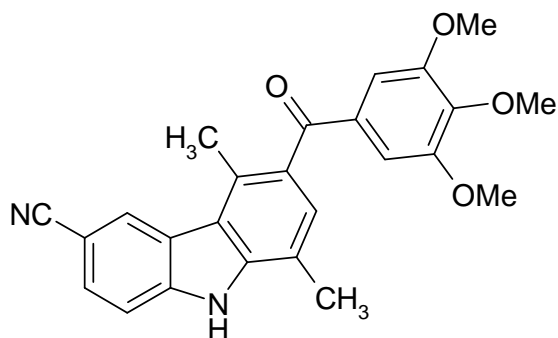
cloruro (0,28 g; 1,21 mmoli) in CHCl_3 (30 mL). Per migliorare la resa di reazione si lascia reagire 24 h a riflusso. L'olio grezzo ottenuto si riprende con etere etilico, si filtra su carta per eliminare le impurezze e poi si lascia cristallizzare. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm^{-1}): Bande principali: 3435 (NH), 1622 (C=O).

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 2.46 (s, 3H, CH_3), 2.61 (s, 3H, CH_3), 3.69 (s, 9H, OCH_3), 6.97 (s, 2H, Ar), 7.18 (s, 1H, Ar), 7.38 (d, 1H, Ar), 7.64 (d, 1H, Ar), 8.40 (d, 1H, Ar), 11.58 (s, 1H, NH).

MS (ESI $^+$): 516 ($\text{M}^+ + 1$).

6-Ciano-1,4-dimetil-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (16f)



Solido bianco

Resa % = 40

P.f. = 236 °C

Formula Bruta: $\text{C}_{25}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4$

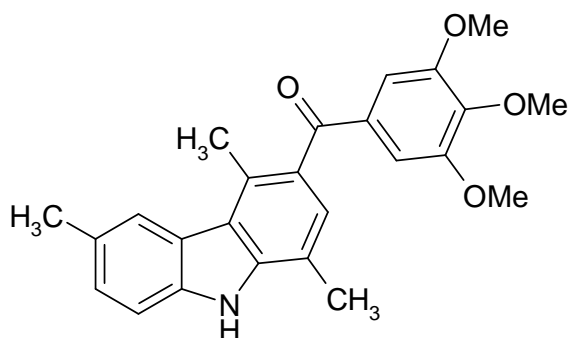
Procedimento:

Il 6-ciano-1,4-dimetil-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**16f**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**11a**) ed utilizzando 6-ciano-1,4-dimetil-9H-carbazolo (**1f**) (0,30 g; 1,36 mmoli), AlCl_3 (0,54 g; 4,09 mmoli), 2,3,4-trimetossi-benzoil-cloruro (0,41 g; 1,77 mmoli) in CHCl_3 (30 mL). Per migliorare la resa di reazione si lascia reagire 24 h a riflusso. L'olio grezzo ottenuto si riprende con etere etilico, si filtra su carta per eliminare le impurezze e poi si lascia cristallizzare. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm^{-1}): Bande principali: 3326 (NH), 2216 (CN), 1652 (C=O).

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 2.57 (s, 3H, CH_3), 2.73 (s, 3H, CH_3), 3.74 (s, 9H, OCH_3), 7.02 (s, 2H, Ar), 7.29 (s, 1H, Ar), 7.72 (d, 1H, Ar), 7.81 (d, 1H, Ar), 8.63 (d, 1H, Ar), 12.07 (s, 1H, NH).

MS (ESI $^+$): 415 ($\text{M}^+ + 1$).

1,4,6-Trimetil-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (16g)

Solido grigio

Resa % = 55

P.f. = 220 °C

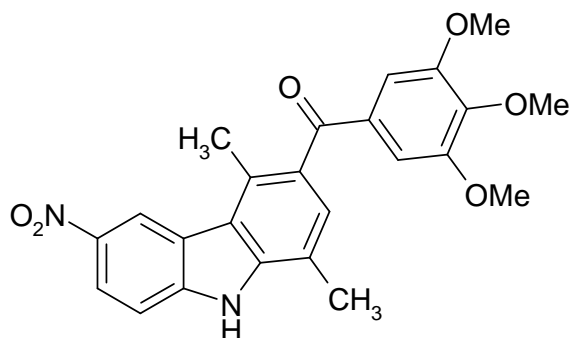
Formula Bruta: C₂₅H₂₅NO₄**Procedimento:**

L'1,4,6-trimetil-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**16g**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**11a**) ed utilizzando 1,4,6-trimetil-9H-carbazolo (**1g**) (0,30 g; 1,43 mmoli), AlCl₃ (0,57 g; 4,30 mmoli), 2,3,4-trimetossi-benzoil-cloruro (0,43 g; 1,86 mmoli) in CHCl₃ (30 mL). Per migliorare la resa di reazione si lascia reagire 24 h a riflusso. L'olio grezzo ottenuto si riprende con etere etilico, si filtra su carta per eliminare le impurezze e poi si lascia cristallizzare. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): Bande principali: 3335 (NH), 1637 (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.53 (s, 3H, CH₃), 2.70 (s, 3H, CH₃), 2.73 (s, 3H, CH₃), 3.75 (s, 9H, OCH₃), 7.03 (s, 2H, Ar), 7.18 (s, 1H, Ar), 7.27 (d, 1H, Ar), 7.48 (d, 1H, Ar), 7.99 (d, 1H, Ar), 11.28 (s, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 404 (M⁺+1).

1,4-Dimetil-6-nitro-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (16h)

Solido giallo

Resa % = 36

P.f. = 176 °C

Formula Bruta: C₂₄H₂₂N₂O₆**Procedimento:**

L'1,4-dimetil-6-nitro-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**16h**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**11a**) ed utilizzando 1,4-dimetil-6-nitro-9H-carbazolo (**1h**) (0,30 g; 1,25 mmoli), AlCl₃ (0,46 g; 3,75 mmoli), 2,3,4-trimetossi-benzoil-

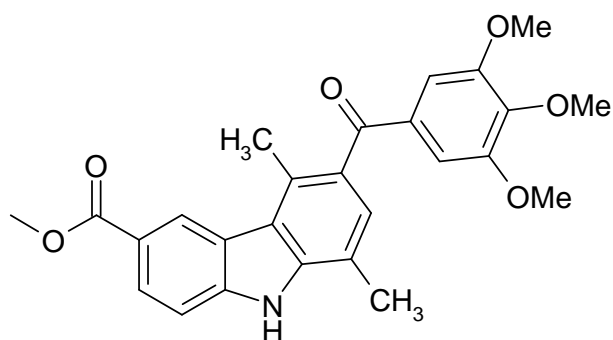
cloruro (0,38 g; 1,63 mmoli) in CHCl_3 (30 mL). Per migliorare la resa di reazione si lascia reagire 24 h a riflusso. L'olio grezzo ottenuto si riprende con etere etilico, si filtra su carta per eliminare le impurezze e poi si lascia cristallizzare. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm^{-1}): Bande principali: 3312 (NH), 1687 (C=O).

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 2.58 (s, 3H, CH_3), 2.77 (s, 3H, CH_3), 3.75 (s, 9H, OCH_3), 7.03 (s, 2H, *Ar*), 7.22 (s, 1H, *Ar*), 7.40 (d, 1H, *Ar*), 8.40 (d, 1H, *Ar*), 8.79 (d, 1H, *Ar*), 11.28 (s, 1H, NH).

MS (ESI $^+$): 435 ($\text{M}^+ + 1$).

1,4-Dimetil-6-metilcarbossi-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (16i)



Solido grigio

Resa % = 60

P.f. = 240°C

Formula Bruta: $\text{C}_{26}\text{H}_{25}\text{NO}_6$

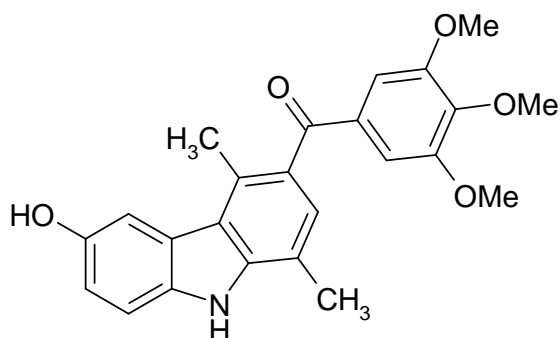
Procedimento:

L'1,4-dimetil-6-metilcarbossi-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**16i**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**11a**) ed utilizzando 1,4-dimetil-6-metilcarbossi-9H-carbazolo (**1i**) (0,30 g; 1,18 mmoli), AlCl_3 (0,47 g; 3,55 mmoli), 2,3,4-trimetossi-benzoil-cloruro (0,35 g; 1,53 mmoli) in CHCl_3 (30 mL). Per migliorare la resa di reazione si lascia reagire 24 h a riflusso. L'olio grezzo ottenuto si riprende con etere etilico, si filtra su carta per eliminare le impurezze e poi si lascia cristallizzare. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm^{-1}): Bande principali: 3342 (NH), 1693 (C=O).

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 2.44 (s, 3H, CH_3), 2.65 (s, 3H, CH_3), 3.65 (s, 9H, OCH_3), 3.80 (s, 3H, CO_2CH_3), 6.96 (s, 2H, *Ar*), 7.18 (s, 1H, *Ar*), 7.56 (d, 1H, *Ar*), 7.98 (d, 1H, *Ar*), 8.72 (s, 1H, *Ar*), 11.83 (s, 1H, NH).

MS (ESI $^+$): 448 ($\text{M}^+ + 1$).

1,4-Dimetil-6-idrossi-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (16l)

Solido giallo

Resa % = 27

P.f. = 182 °C

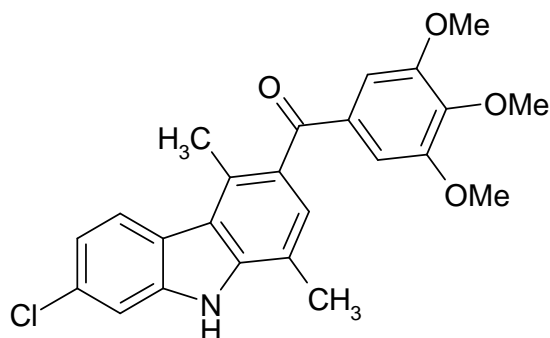
Formula Bruta: C₂₄H₂₃NO₅**Procedimento:**

L'1,4-dimetil-6-idrossi-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**16l**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**11a**) ed utilizzando 5,8-dimetil-3-etossicarbonilossi-9H-carbazolo (**11**) (0,30 g; 1,06 mmoli), AlCl₃ (0,42 g; 3,18 mmoli), 2,3,4-trimetossi-benzoil-cloruro (0,32 g; 1,38 mmoli) in CHCl₃ (30 mL). Per migliorare la resa di reazione si lascia reagire 24 h a riflusso. L'olio grezzo ottenuto si purifica mediante colonna cromatografica (gel di silice, eluente EtO₂/nEsano = 7:3).

IR (KBr) (cm⁻¹): Bande principali: 3344 (NH, OH), 1636 (C=O).

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.46 (s, 3H, CH₃), 2.70 (s, 3H, CH₃), 3.71 (s, 9H, OCH₃), 3.82 (s, 1H, OH), 6.99 (s, 2H, Ar), 7.08 (d, 1H, Ar), 7.14 (s, 1H, Ar), 7.45 (d, 1H, Ar), 7.64 (d, 1H, Ar), 11.25 (s, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 406 (M⁺ + 1).

7-Cloro-1,4-dimetil-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (19a)

Solido bianco

Resa % = 61

P.f. = 192 °C

Formula Bruta: C₂₄H₂₂ClNO₄**Procedimento:**

Il 7-cloro-1,4-dimetil-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**19a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**11a**) ed utilizzando 7-cloro-1,4-dimetil-9H-carbazolo (**18a**) (0,30 g; 1,31 mmoli), AlCl₃ (0,52 g; 3,90 mmoli), 2,3,4-trimetossi-benzoil-

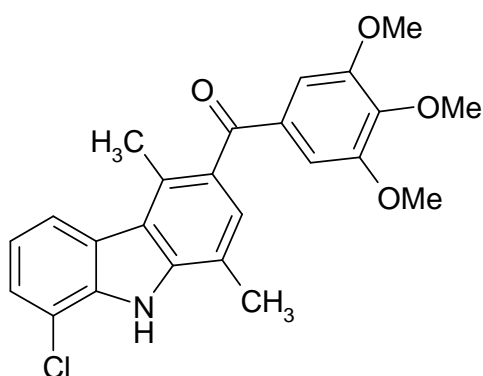
cloruro (0,39 g; 1,70 mmoli) in CHCl_3 (30 mL). Per migliorare la resa di reazione si lascia reagire 24 h a riflusso. L'olio grezzo ottenuto si riprende con etere etilico, si filtra su carta per eliminare le impurezze e poi si lascia cristallizzare. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm^{-1}): Bande principali: 3414 (NH), 1644 (C=O).

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 2.62 (s, 3H, CH_3), 2.71 (s, 3H, CH_3), 3.74 (s, 9H, OCH_3), 7.02 (s, 2H, Ar), 7.24 (m, 2H, Ar), 7.53 (d, 1H, Ar), 8.17 (d, 1H, Ar), 11.41 (s, 1H, NH).

MS (ESI $^+$): 424 ($\text{M}^+ + 1$).

8-Cloro-1,4-dimetil-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (19b)



Solido grigio

Resa % = 20

P.f. = 202 °C

Formula Bruta: $\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{ClNO}_4$

Procedimento:

L' 8-cloro-1,4-dimetil-3-(2',3',4'-trimetossibenzoil)-9H-carbazolo (**19b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**11a**) ed utilizzando 8-cloro-1,4-dimetil-9H-carbazolo (**18b**) (0,30 g; 1,31 mmoli), AlCl_3 (0,52 g; 3,90 mmoli), 2,3,4-trimetossibenzoil-cloruro (0,39 g; 1,70 mmoli) in CHCl_3 (30 mL). Per migliorare la resa di reazione si lascia reagire 24 h a riflusso. L'olio grezzo ottenuto si riprende con etere etilico, si filtra su carta per eliminare le impurezze e poi si lascia cristallizzare. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm^{-1}): Bande principali: 3349 (NH), 1645 (C=O).

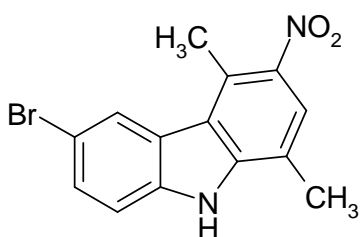
$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3): δ 2.45 (s, 3H, CH_3), 2.70 (s, 3H, CH_3), 3.70 (s, 6H, OCH_3), 3.77 (s, 3H, OCH_3), 7.00 (s, 2H, Ar), 7.20 (m, 2H, Ar), 7.45 (s, 1H, Ar), 8.10 (d, 1H, Ar), 8.30 (s, 1H, NH).

MS (ESI $^+$): 424 ($\text{M}^+ + 1$).

6.12 PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI:

- **1,4-Dimetil-nitro-(e dinitro)-9H-carbazoli diversamente sostituiti (9a-b, 9i-l);**
- **3-Nitro-dibenzofurano (47a);**
- **3-Nitro-dibenzotiofene (47b).**

La preparazione del 6-bromo-1,4-dimetil-3-nitro-9H-carbazolo (9a) è riportata come esempio rappresentativo.

6-Bromo-1,4-dimetil-3-nitro-9H-carbazolo (9a)

Solido verde

Resa % = 60

P.f. = 264 °C

Formula Bruta: C₁₄H₁₁BrN₂O₂

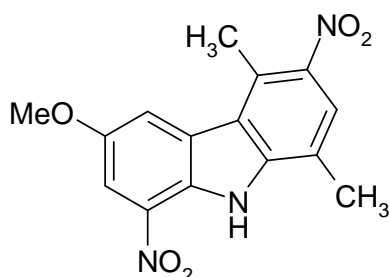
Procedimento:

In un pallone da 250 mL, munito di pipetta al cloruro di calcio ed agitatore elettromagnetico, si dissolve il 6-bromo-1,4-dimetil-9H-carbazolo (**1a**) (5,00 g; 18,40 mmoli) in 50 mL di anidride acetica.

La soluzione si raffredda a 0-5 °C e vi si aggiunge goccia a goccia, acido nitrico fumante al 100% (d = 1,52 g/mL) 0,76 mL (18,40 mmoli).

Si lascia reagire a temperatura ambiente per 5 ore. Poi, il precipitato ottenuto, si filtra sotto vuoto e si lava con etere etilico (10 mL). Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3315, 1582, 1454, 1302, 1120, 805, 625.

1,4-Dimetil-3,8-dinitro-6-metossi-9H-carbazolo (9b)

Solido arancione

Resa % = 68

P.f. > 260 °C

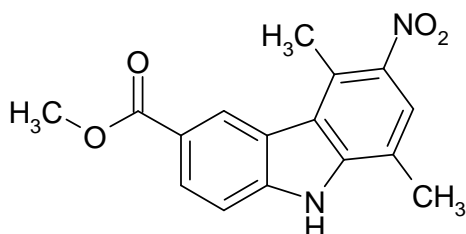
Formula Bruta: C₁₅H₁₃N₃O₅

Procedimento:

L'1,4-dimetil-3,8-dinitro-6-metossi-9*H*-carbazolo (**9b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**9a**) ed utilizzando 1,4-dimetil-6-metossi-9*H*-carbazolo (**1b**) 5,00 g (22,00 mmoli), acido nitrico (d = 1,52 g/mL) 1,82 mL (in eccesso, 44,00 mmoli) in anidride acetica (30 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3413, 1291, 1526, 1438, 1229, 1047, 802.

MS (EI) *m/z* (%): 315 (M⁺, 70), 270 (100) (M⁺ - NO₂).

5,8-Dimetil-3-metilcarbossi-6-nitro-9*H*-carbazolo (9i**)**

Solido giallo

Resa % = 80

P.f. > 266 °C

Formula Bruta: C₁₆H₁₄N₂O₄

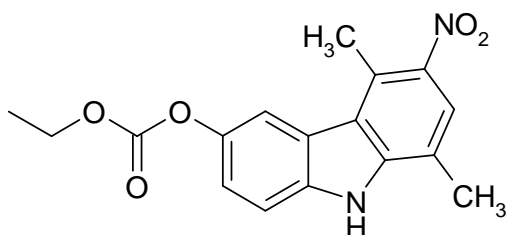
Procedimento:

Il 5,8-dimetil-3-metilcarbossi-6-nitro-9*H*-carbazolo (**9i**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**9a**) ed utilizzando 5,8-dimetil-3-metilcarbossi-9*H*-carbazolo (**1i**) 2,00 g (8,00 mmoli), acido nitrico (d = 1,52 g/mL) 0,33 mL (8,00 mmoli) in anidride acetica (80 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3344, 1685, 1492, 1256, 1133, 824, 765.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.49 (s, 3H, CH₃), 2.82 (s, 3H, CH₃), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 7.55 (d, J = 8.56 Hz, 1H, Ar), 7.79 (s, 1H, Ar), 8.00 (d, J = 8.56 Hz, 1H, Ar), 8.59 (s, 1H, Ar), 12.12 (s, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 299 (M⁺ + 1).

5,8-Dimetil-3-etossicarbonilossi-6-nitro-9*H*-carbazolo (9l**)**

Solido verde

Resa % = 55

P.f. = 232 °C

Formula Bruta: C₁₇H₁₆N₂O₅

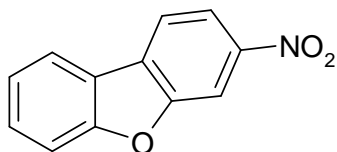
Procedimento:

Il 5,8-dimetil-3-etossicarbonilossi-6-nitro-9*H*-carbazolo (**9l**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**9a**) ed utilizzando 5,8-dimetil-3-etossicarbonilossi-9*H*-carbazolo (**1l**) 3,80 g (13,40 mmoli), acido nitrico (d = 1,52 g/mL) 0,55 mL (13,40 mmoli) in anidride acetica (30 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3356, 1762, 1496, 1312, 1232, 778.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.25-1.36 (m, 3H, CH₃), 2.57 (s, 3H, CH₃), 2.93 (s, 3H, CH₃), 4.22-4.31 (m, 2H, CH₂), 7.37 (dd, J₁ = 2.20 Hz, J₂ = 8.80 Hz, 1H, Ar), 7.62 (d, J = 8.76 Hz, 1H, Ar), 7.88 (s, 1H, Ar), 8.08 (d, J = 2.16 Hz, 1H, Ar), 12.02 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆): 153.99, 144.65, 142.10, 141.87, 138.81, 127.89, 123.53, 122.84, 120.81, 120.34, 119.16, 115.35, 112.40, 16.55, 16.46, 14.27.

3-Nitro-dibenzofurano (47a)

Solido bianco

Resa % = 55

P.f. = 176 °C

Formula Bruta: C₁₂H₇NO₃

Procedimento:

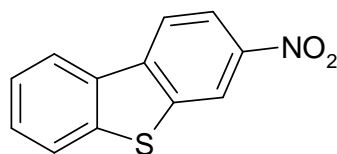
3-Nitro-dibenzofurano (**47a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**9a**) ed utilizzando dibenzofurano 1,00 g (5,95 mmoli), acido nitrico (d = 1,52 g/mL) 0,25 mL (5,95 mmoli) in anidride acetica (30 mL).

La resa % del prodotto è stata ottimizzata lasciando reagire la miscela di reazione per 48 h a temperatura ambiente.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3436, 1630, 1526, 1459, 1342, 1198, 821, 734.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 7.48–7.52 (t, 1H, Ar), 7.65-7.69 (t, 1H, Ar), 7.81 (d, 1H, J = 8.28 Hz, Ar), 8.28-8.32 (m, 2H, Ar), 8.40 (d, 1H, J = 8.56 Hz, Ar), 8.60 (s, 1H, Ar).

MS (EI) m/z (%): 213 (M⁺, 1), 211 (65), 196 (100).

3-Nitro-dibenzotiofene (47b)

Solido giallo

Resa % = 60

P.f. = 181 °C

Formula Bruta: C₁₂H₇NO₂S**Procedimento:**

3-Nitro-dibenzotiofene (**47b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**9a**) ed utilizzando dibenzotiofene 4,00 g (22,0 mmoli), acido nitrico (d = 1,52 g/mL), 0,90 mL (22,00 mmoli) in anidride acetica (50 mL).

La resa % del prodotto è stata ottimizzata lasciando reagire la miscela di reazione per 48 h a temperatura ambiente.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3436, 1518, 1346, 1229, 1064, 883, 739.

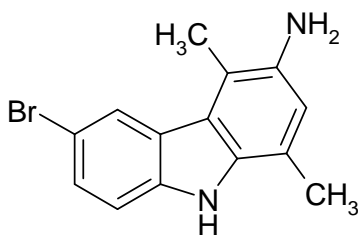
¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 7.59-7.61 (m, 2H, *Ar*), 8.13 (d, 1H, J = 7.80 Hz, *Ar*), 8.28-8.37 (m, 2H, *Ar*), 8.65 (d, 1H, J = 6.36 Hz, *Ar*), 9.25 (s, 1H, *Ar*).

MS (EI) *m/z* (%): 229 (M⁺, 100), 199 (98), 139 (95).

6.13 PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI:

- **3-Ammino-(e 6-ammino)-1,4-dimetil-9H-carbazoli diversamente sostituiti (27a-b).**

La preparazione del 3-ammino-6-bromo-1,4-dimetil-9H-carbazolo (27b) è riportata come esempio rappresentativo.

3-Ammino-6-bromo-1,4-dimetil-9H-carbazolo (27b)

Solido giallo

Resa % = 44

P.f. = 186 °C

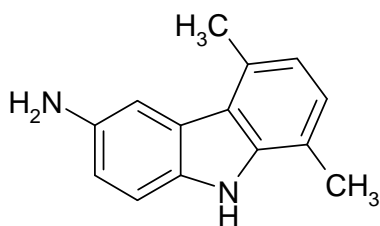
Formula Bruta: C₁₄H₁₃BrN₂

Procedimento:

In un pallone da 250 mL, munito di agitatore elettromagnetico, si dissolve alla temperatura di 80 °C il 6-bromo-1,4-dimetil-3-nitro-9*H*-carbazolo (**9a**) (5,00 g; 16,00 mmoli) in 30 mL di N,N-dimetilformammide (DMF). La soluzione ottenuta, si addiziona ad una miscela costituita da 60 mL di HCl al 37 % e da 20 mL di acido acetico in cui è stato preventivamente solubilizzato cloruro stannoso (10,60 g; 56,00 mmoli).

La miscela di reazione si lascia alla temperatura di 100 °C per 3 h e dopo raffreddamento si versa in 1 L di soluzione acquosa di NaOH al 20 %. Si ottiene un precipitato che si filtra, si lava con acqua (20 mL) e si secca su MgSO₄. Infine, esso si dissolve in etere etilico (30 mL) e si evapora a pressione ridotta, si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3396, 3331, 3154, 1609, 1519, 1299, 1164, 790, 677.

6-Ammino-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (27a)

Solido crema

Resa % = 39

P.f. = 160 °C

Formula Bruta: C₁₄H₁₄N₂

Procedimento:

Il 6-ammino-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**27a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**27b**) ed utilizzando 1,4-dimetil-6-nitro-9*H*-carbazolo (**1h**) 5,00 g (21,00 mmoli), cloruro stannoso 15,80 g (70,00 mmoli).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3408, 3368, 3210, 1625, 1582, 1474, 1325, 895, 794.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.44 (s, 3H, CH₃), 2.70 (s, 3H, CH₃), 4.70 (s, 2H, NH₂), 6.69-6.73 (q, 2H, Ar), 6.95-6.97 (m, 1H, Ar), 7.35 (s, 1H, Ar), 7.23-7.25 (q, 1H, Ar), 10.60 (s, 1H, NH).

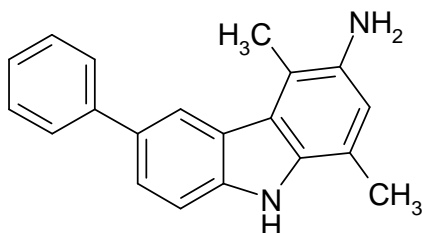
MS (ESI⁺): 211 (M⁺ +1).

6.14 PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI:

- **Ammino-(e diammino)-dimetil-9H-carbazoli diversamente sostituiti (27c-g).**

La preparazione del 3-ammino-1,4-dimetil-6-fenil-9H-carbazolo (27g) è riportata come esempio rappresentativo.

3-Ammino-1,4-dimetil-6-fenil-9H-carbazolo (27g)



Solido blu

Resa % = 77

P.f. = 240 °C

Formula Bruta: C₂₀H₁₈N₂

Procedimento:

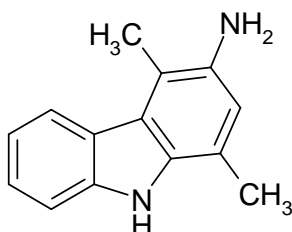
Una soluzione di 1,4-dimetil-6-fenil-3-nitro-9H-carbazolo (**10a**) (1,00 g, 3,20 mmoli) in etanolo (250 mL) in presenza di 0,50 g di Pd/C (al 10 %), in autoclave, sotto 15 Kg d'idrogeno, si lascia sotto agitazione per 3h. Successivamente, la soluzione si filtra e si concentra a pressione ridotta. Il grezzo ottenuto cristallizza da etere etilico, ottenendo un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3343, 3271, 3059 2924, 2852, 1598, 1519, 1296, 1120, 811, 698.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.37 (s, 3H, CH₃), 2.47 (s, 3H, CH₃), 4.50 (br, 2H, NH₂), 6.98 (s, 1H, Ar), 7.35-7.47 (m, 5H, Ar), 7.50 (d, 1H, J = 7.32 Hz, Ar), 7.76 (d, 1H, J = 7.32 Hz, Ar), 8.43 (s, 1H, Ar), 10.61 (s, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 286 (M⁺, 32).

3-Ammino-1,4-dimetil-9H-carbazolo (27c)



Solido blu

Resa % = 87

P.f. = 212°C

Formula Bruta: C₁₄H₁₄N₂

Procedimento:

Il 3-ammino-1,4-dimetil-9H-carbazolo (**27c**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**27g**) ed utilizzando 6-bromo-1,4-dimetil-3-nitro-9H-carbazolo (**9a**) 7,30 g

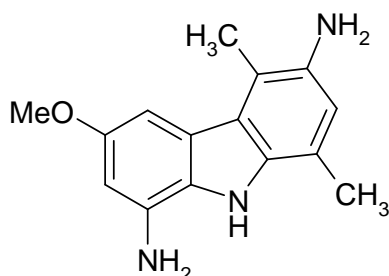
(23,00 mmoli), Pd/C (al 10 %) 1,80 g in etanolo assoluto (300 mL). Il grezzo ottenuto si lava due volte con bicarbonato di sodio, si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm^{-1}): 3395, 3152, 2896, 1617, 1519, 1457, 1309, 1033, 865, 800, 749, 735, 627.

^1H NMR (DMSO- d_6): δ 2.38 (s, 3H, CH_3), 2.46 (s, 3H, CH_3), 4.48 (br, 2H, NH_2), 6.67 (s, 1H, *Ar*), 7.01-7.05 (t, 1H, *Ar*), 7.24-7.28 (t, 1H, *Ar*), 7.40 (d, $J = 7.88$ Hz, 1H, *Ar*), 8.09 (d, $J = 7.88$ Hz, 1H, *Ar*), 10.61 (s, 1H, *NH*).

MS (ESI $^+$): 211 ($\text{M}^+ + 1$).

3,8-Diammino-1,4-dimetil-6-metossi-9H-carbazolo (27d)



Solido violetto

Resa % = 98

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: $\text{C}_{15}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}$

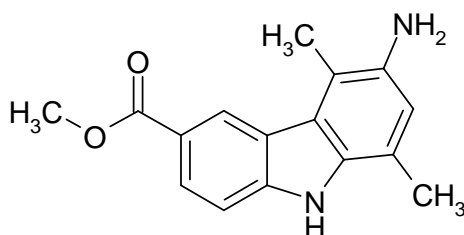
Procedimento:

Il 3,8-diammino-1,4-dimetil-6-metossi-9H-carbazolo (**27d**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**27g**) ed utilizzando 1,4-dimetil-3,8-dinitro-6-metossi-9H-carbazolo (**9b**) 1,00 g (3,17 mmoli), C/Pd (al 10 %) 0,30 g in etanolo assoluto (50 mL).

IR (KBr) (cm^{-1}): 3351, 3300, 1591, 1460, 1322, 799.

^1H NMR (DMSO- d_6): δ 2.58 (s, 3H, CH_3), 2.74 (s, 3H, CH_3), 3.84 (s, 3H, OCH_3), 4.05 (br, 2H, NH_2), 6.85 (s, 1H, *Ar*), 7.01 (s, 1H, *Ar*), 7.54 (s, 1H, *Ar*), 10.20 (br, 2H, NH_2), 11.74 (s, 1H, *NH*).

6-Ammino-5,8-dimetil-3-metilcarbossi-9H-carbazolo (27e)



Solido crema

Resa % = 60

P.f. = 252 °C

Formula Bruta: $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_2$

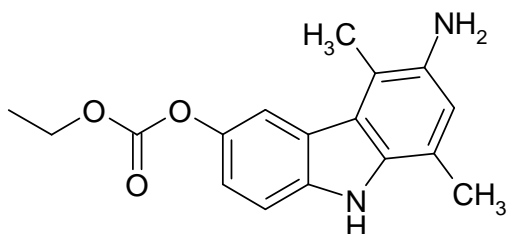
Procedimento:

Il 6-ammino-5,8-dimetil-3-metilcarbossi-9*H*-carbazolo (**27e**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**27g**) ed utilizzando 5,8-dimetil-3-metilcarbossi-6-nitro-9*H*-carbazolo (**9i**) 3,00 g (10.06 mmoli), C/Pd (al 10 %) 0.90 g in etanolo (100 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3397, 3148, 2950, 1699, 1522, 1278, 1121, 828, 762, 559.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.41 (s, 3H, CH₃), 2.52 (s, 3H, CH₃), 3.85 (s, 3H, OCH₃), 4.53 (s, 2H, NH₂), 6.71 (s, 1H, Ar), 7.45 (d, J = 8.56 Hz, 1H, Ar), 7.91 (d, J = 8.56 Hz, 1H, Ar), 8.72 (s, 1H, Ar), 11.22 (s, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 268 (M⁺, 100) 209 (43) (M⁺ - CO₂CH₃).

6-Ammino-5,8-dimetil-3-etossicarbonilossi-9*H*-carbazolo (27f)

Solido crema

Resa % = 90

P.f. = 196°C

Formula Bruta: C₁₇H₁₈N₂O₃

Procedimento:

Il 6-ammino-5,8-dimetil-3-etossicarbonilossi-9*H*-carbazolo (**27f**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**27g**) ed utilizzando 5,8-dimetil-3-etossicarbonilossi-6-nitro-9*H*-carbazolo (**9i**) 2,00 g (6,10 mmoli), C/Pd (al 10 %) 0,60 g in etanolo assoluto (80 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3380, 3207, 1746, 1523, 1259, 1192, 899.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.29-1.32 (t, 3H, CH₂CH₃), 2.49 (s, 3H, CH₃), 2.67 (s, 3H, CH₃), 4.22-4.25 (m, 2H, CH₂CH₃), 4.49 (br, 2H, NH₂), 7.09-7.25 (m, 1H, Ar), 7.32 (s, 1H, Ar), 7.50 (d, J = 7.89 Hz, 1H, Ar), 7.95 (s, 1H, Ar), 11.05 (s, 1H, NH).

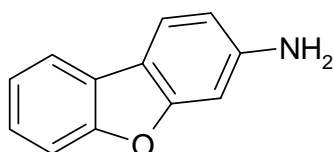
¹³C NMR (DMSO-*d*₆): 154.26, 142.98, 138.77, 138.22, 133.67, 123.37, 121.33, 117.76, 117.57, 114.26, 111.80, 110.88, 64.46, 30.61, 16.93, 13.59.

MS (ESI⁺): 299 (M⁺ + 1).

6.15 PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI:

- **3-Ammino-dibenzofurano (48a);**
- **3-Ammino-dibenzotiofene (48b).**

La preparazione del 3-ammino-dibenzofurano (48a) è riportata come esempio rappresentativo.

3-Ammino-dibenzofurano (48a)

Solido marrone

Resa % = 94

P.f. = 110 °C

Formula Bruta: C₁₂H₉NO

Procedimento:

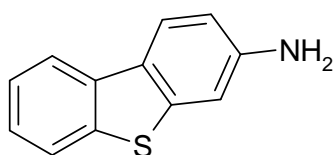
In un pallone da 100 mL, munito pipetta al cloruro di calcio e di agitatore elettromagnetico, si solubilizza il 3-nitro-dibenzofurano (**47a**) (1,80 g; 8,45 mmoli) con una miscela (7:1) di *i*PrOH-H₂O (30 ml di *i*-PrOH e 4,5 ml di H₂O).

Successivamente, si aggiungono NH₄Cl (1,34 g; 25,10 mmoli) e la limatura di ferro (4,66 g; 83,40 mmoli). Si lascia reagire a temperatura ambiente, sotto continua agitazione, per circa tre ore. Dopo, si estrae la fase organica con acetato d'etile (60 mL) e la si evapora a pressione ridotta. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3400, 3100, 1686, 1454, 1298, 1188, 816, 741.

¹H NMR (CDCl₃): δ 2.90 (br, 2H, NH₂), 6.55-6.60 (m, 1H, Ar), 6.72-6.6.75 (m, 1H, Ar), 7.12-7.30 (m, 2H, Ar), 7.38-7.41 (m, 1H, Ar), 7.60-7.65 (m, 1H, Ar), 7.70-7.75 (m, 1H, Ar).

MS (EI) *m/z* (%): 183 (M⁺, 100).

3-Ammino-dibenzotiofene (48b)

Solido rosso

Resa % = 65

P.f. = 123 °C

Formula Bruta: C₁₂H₉NS

Procedimento:

Il 3-ammino-dibenzotiofene (**48b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**48a**) ed utilizzando 3-nitro-dibenzotiofene (**47b**) 1,24 g (5,40 mmoli), NH₄Cl 0,85 g (16,00 mmoli), limatura di ferro 3,00 g (54,00 mmoli), *i*PrOH 20,15 mL, H₂O 3,00 mL. Per ottimizzare le rese, la reazione è stata condotta a riflusso. Il solido grezzo ottenuto si purifica mediante colonna cromatografia (gel di silice, eluente AcOE/Esano = 1:1).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3450, 3100, 1600, 1473, 1427, 1214, 764, 736.

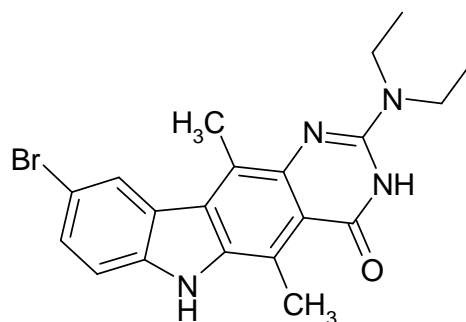
¹H NMR (CDCl₃): δ 3.45-4.13 (br, 2H, NH₂), 6.87 (dd, 1H, J₁ = 8,04 Hz, J₂ = 2.10 Hz, *Ar*), 7.37-7.45 (m, 3H, *Ar*), 7.58 (d, 1H, J = 8.04 Hz, *Ar*), 7.73-7.81 (m, 1H, *Ar*), 7.98-8.03 (m, 1H, *Ar*).

MS (EI) *m/z* (%): 199 (M⁺, 100).

6.16 PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI:

- **5,11-Dimetil (e di 7,10-dimetil)-3,6-diidro-pirimido-[5,4-b]-carbazoli diversamente sostituiti (34a-e, 35a-e, 36a-b, 37a-h, 38, 39a-b, 40);**
- ***N*-(1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-guanidine diversamente sostituiti (29f-l, 30f-g, 32i-l);**
- **7-Etil (e 7 H)-2,7-diidro-pirimido-[4,5-c]-carbazoli diversamente sostituiti (44, 45a-q);**
- **2*H*-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-oni diversamente sostituiti (51a-q, 53a-h);**
- ***N*-(2-metossi-dibenzofuro-3-il)-*N*'-ciclopentil-guanidina (53i);**
- **2*H*-benzotieno-[2,3-c]-chinazolin-1-oni diversamente sostituiti (52a-m).**

La preparazione del 9-bromo-2-dietilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**34a**) è riportata come esempio rappresentativo.

9-Bromo-2-dietilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (34a)

Solido giallo

Resa % = 44

P.f. > 266 °C

Formula Bruta: C₂₀H₂₁BrN₄O

Procedimento:

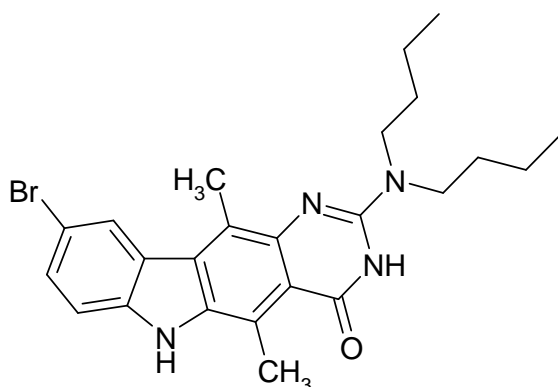
In un pallone da 250 mL munito di agitatore elettromagnetico, si dissolve in DMF (50 mL) il 3-ammino-6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (1,50 g; 5,20 mmoli) e si aggiunge l'etossicarbonil-isotiocianato (0,68 g; 5,20 mmoli). La miscela ottenuta si lascia reagire a temperatura ambiente per 4 h.

Successivamente, alla miscela, alla temperatura di 0-5 °C (realizzata con un bagno di ghiaccio) si aggiunge dietilammina (1,14 g; 1,56 mmoli) e cloruro mercurico (1,41 g; 5,30 mmoli). Si lascia reagire a temperatura ambiente per tutta la notte e poi a riflusso per 1 ora e 30 minuti. Infine, si filtra (utilizzando 4 filtri di carta) ed il filtrato si evapora a pressione ridotta. Il solido ottenuto si riprende con CH₃CN (20 mL) e si lava più volte con Et₂O. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3424, 3183, 3114, 1645, 1610, 1285, 1015, 803, 784.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.09-1.21 (t, 6H, CH₂CH₃), 2.86 (s, 3H, CH₃), 3.02 (s, 3H, CH₃), 3.61-3.63 (m, 4H, CH₂), 7.47 (d, J = 8.52 Hz, 1H, Ar), 7.55-7.60 (m, 1H, Ar), 8.30 (s, 1H, Ar), 10.75 (br, 1H, NH), 11.27 (s, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 413 (M⁺, 4), 127 (100).

9-Bromo-2-dibutilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one**(34b)**

Solido giallo

Resa % = 50

P.f. = 246 °C

Formula Bruta: C₂₄H₂₉BrN₄O**Procedimento:**

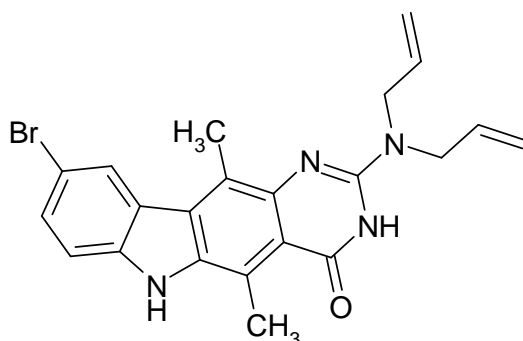
Il 9-bromo-2-dibutilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**34b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**27b**) 1,20 g (4,15 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,54 g (4,15 mmoli), dibutilammina 1,61 g (12,50 mmoli), HgCl₂ 1,13 g (4,15 mmoli) in DMF (50 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3430, 1643, 1606, 1467, 1288, 1047, 805.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.84-0.96 (m, 6H, (CH₂)₃CH₃), 1.27-1.37 (m, 4H, CH₂CH₃), 1.55-1.63 (m, 4H, CH₂CH₂CH₃), 2.89 (s, 3H, CH₃), 2.96 (s, 3H, CH₃), 3.50-3.54 (m, 4H, NCH₂), 7.48 (d, J = 8.56 Hz, 1H, Ar), 7.57 (d, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 8.30 (s, 1H, Ar), 8.79 (br, 1H, NH), 11.32 (s, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 469 (M⁺, 6), 205 (100).

9-Bromo-2-diallilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (34c)



Solido giallo

Resa % = 20

P.f. > 260 °C

Formula Bruta: C₂₂H₂₁BrN₄O

Procedimento:

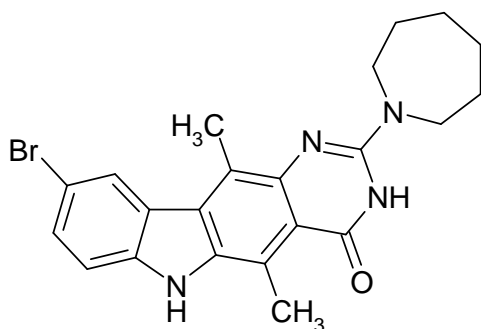
Il 9-bromo-2-diallilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**34c**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**27b**) 1,50 g (5,20 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,68 g (5,20 mmoli), diallilammina 1,52 g (15,60 mmoli), HgCl₂ 1,41 g (5,20 mmoli) in DMF (50 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3391, 1613, 1473; 1292, 934, 800.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.89 (s, 3H, CH₃), 3.02 (s, 3H, CH₃), 4.20-4.21 (m, 4H, CH₂CHCH₂), 5.20-5.30 (q, 4H, CH₂CHCH₂), 5.88-5.95 (m, 2H, CH₂CHCH₂), 7.50 (d, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 7.60 (d, J = 8.76 Hz, 1H, Ar), 8.31 (s, 1H, Ar), 10.84 (s, 1H, NH), 11.78 (s, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 437 (M⁺, 27), 390 (82), 291 (82).

9-Bromo-3,6-diidro-5,11-dimetil-2-esametenimmino-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (34d)



Solido giallo

Resa % = 53

P.f. = 228 °C

Formula Bruta: C₂₂H₂₃BrN₄O

Procedimento:

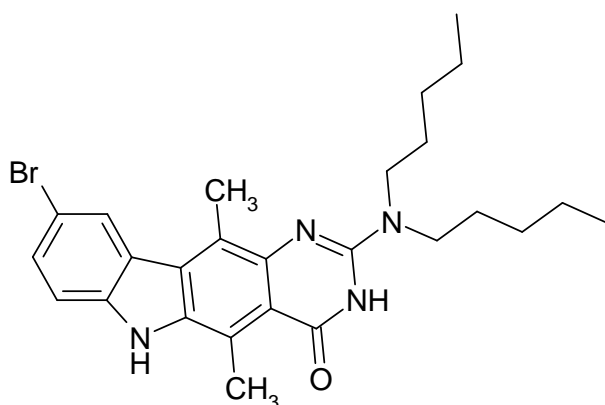
Il 9-bromo-3,6-diidro-5,11-dimetil-2-esametenimmino-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**34d**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**27b**) 1,50 g (5,20 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,68 g (5,20 mmoli), esaidro-1*H*-azepina 1,55 g (15,60 mmoli), HgCl₂ 1,41 g (5,20 mmoli) in DMF (50 mL).

(KBr) (cm⁻¹): 3420, 2937, 2856, 1651, 1454, 1285, 1016, 832.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.59-2.06 (m, 8H, CH₂ esametenimmina), 2.89 (s, 3H, CH₃), 3.04 (s, 3H, CH₃), 3.66-3.72 (m, 4H, NCH₂), 7.49 (d, J = 8.56 Hz, 1H, Ar), 7.58 (d, J = 8.32 Hz, 1H, Ar), 8.27 (s, 1H, Ar), 9.23 (s, 1H, NH), 11.41 (s, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 440 (M⁺, 100).

9-Bromo-3,6-diidro-5,11-dimetil-2-dipentilammino-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (34e)



Solido giallo

Resa % = 65

P.f. = 248 °C

Formula Bruta: C₂₆H₃₃BrN₄O

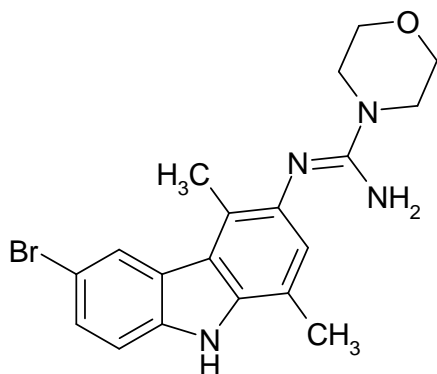
Procedimento:

Il 9-bromo-3,6-diidro-5,11-dimetil-2-dipentilammino-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**34e**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**27b**) 1,00 g (3,50 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,45 g (3,50 mmoli), dipentilammina 1,38 g (8,75 mmoli), HgCl₂ 0,95 g (3,50 mmoli) in DMF (50 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3421, 2926, 1640, 1608, 1443, 1360, 1287, 1048, 807.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.86-0.89 (m, 6H, CH₃), 1.30-1.34 (m, 8H, CH₂), 1.58-1.60 (m, 4H, CH₂), 2.87 (s, 3H, CH₃), 2.97 (s, 3H, CH₃), 3.50-3.52 (m, 4H, CH₂), 7.46 (d, J = 8.56 Hz, 1H, Ar), 7.55 (d, J = 8.56 Hz, 1H, Ar), 8.30 (s, 1H, Ar), 10.67 (br, 1H, NH), 11.16 (s, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 496 (M⁺, 100), 426 (34) (M⁺, - C₅H₁₁).

***N*-(6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N'*-morfolin-guanidina (**29f**)**

Solido giallo

Resa % = 35

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₁₉H₂₁BrN₄O

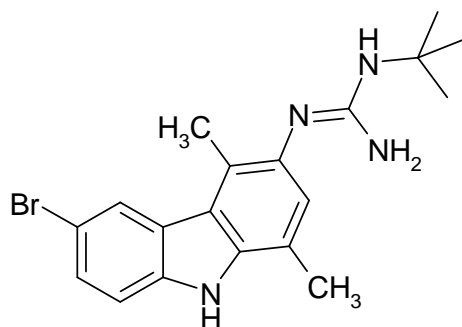
Procedimento:

La *N*-(6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N'*-morfolin-guanidina (**29f**) è stata ottenuta seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**27b**) 1,00 g (3,50 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,45 g (3,50 mmoli), morfolina 0,76 g (8,75 mmoli), HgCl₂ 0,95 g (3,50 mmoli) in DMF (50 mL).

(KBr) (cm⁻¹): 3401, 1651, 1614, 1448, 1295, 1111, 969.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.91 (s, 3H, CH₃), 2.99 (s, 3H, CH₃), 3.55-3.73 (m, 8H, CH₂ morfolina), 7.10 (s, 1H, Ar), 7.47-7.59 (m, 2H, Ar), 8.26-8.31 (m, 1H, Ar), 11.30 (s, 2H, NH₂), 11.61 (s, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 401 (M⁺, 36), 315 (48) (M⁺, - Morfolina).

***N*-(6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N'*-*t*-butil-guanidina (29g)**

Solido verde

Resa % = 50

P.f. > 270 °C

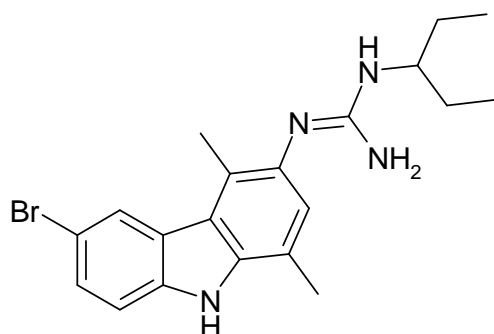
Formula Bruta: C₁₉H₂₃BrN₄**Procedimento:**

La *N*-(6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N'*-*t*-butil-guanidina (**29g**) è stata ottenuta seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**27b**) 0,73 g (2,52 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,33 g (2,52 mmoli), *t*-butilammina 0,28 g (3,78 mmoli), HgCl₂ 0,68 g (2,52 mmoli) in DMF (50 mL).

(KBr) (cm⁻¹): 3410, 2977, 1656, 1632, 1375, 1297, 1156, 932.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.38 (s, 9H, CH₃), 2.49 (s, 3H, CH₃), 2.56 (s, 3H, CH₃), 6.96-7.04 (m, 2H, Ar), 7.50 (s, 1H, Ar), 7.96 (s, 1H, NH), 8.23 (s, 1H, Ar), 9.13 (s, 1H, NH), 11.72 (s, 2H, NH₂).

MS (EI) *m/z* (%): 387 (M⁺, 66), 315 (58) (M⁺, - HN(CH₃)₃).

***N*-(6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N'*-(1-etil-1-propil)-guanidina (29h)**

Solido bianco

Resa % = 15

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₂₀H₂₅BrN₄**Procedimento:**

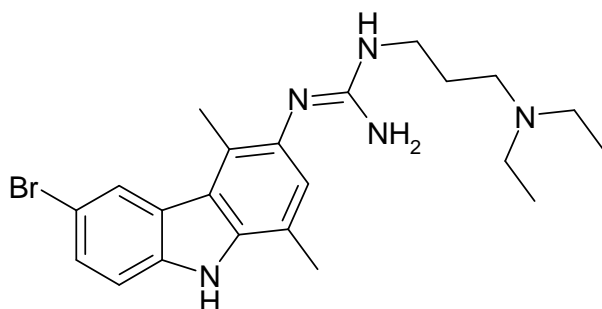
La *N*-(6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N'*-(1-etil-1-propil)-guanidina (**29h**) è stata ottenuta seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**27b**) 1,00 g (3,50 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,45 g (3,50 mmoli), 3-ammino-pentano 0,76 g (8,75 mmoli), HgCl₂ 0,95 g (3,50 mmoli) in DMF (50 mL).

(KBr) (cm^{-1}): 3411, 3178, 1655, 1633, 1443, 1298, 1147, 806.

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 0.91-0.94 (m, 6H, CH_3), 1.491-1.56 (m, 5H, CH_2CHCH_2), 2.53 (s, 3H, CH_3), 2.62 (s, 3H, CH_3), 7.06 (s, 1H, Ar), 7.07 (br, 2H, NH_2), 7.53-7.55 (m, 2H, Ar), 8.25 (s, 1H, Ar), 9.32 (br, 1H, NH), 11.63 (s, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 401 (M^+ , 5), 288 (100).

***N*-(6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N'*-(3-dietilammino-propil)-guanidina (29i)**



Solido verde

Resa % = 10

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: $\text{C}_{22}\text{H}_{30}\text{BrN}_5$

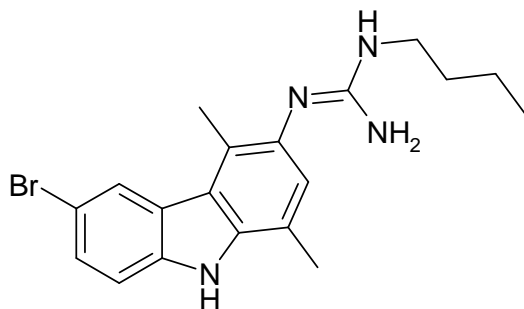
Procedimento:

La *N*-(6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N'*-(3-dietilammino-propil)-guanidina (**29i**) è stata ottenuta seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**27b**) 1,00 g (3,50 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,45 g (3,50 mmoli), 3-dietilammino-1-propilammina 0,91 g (7,00 mmoli), HgCl_2 0,95 g (3,50 mmoli) in DMF (50 mL). Il prodotto puro risulta insolubile nei comuni solventi deuterati.

(KBr) (cm^{-1}): 3193, 2967, 1625, 1443, 1300, 1151, 802.

MS (EI) m/z (%): 444 (M^+ , 20), 331 (79) (M^+ , - $(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{C}_2\text{H}_5)_2$).

***N*-(6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N'*-*n*-butil-guanidina (29l)**



Solido giallo

Resa % = 60

P.f. = 230 °C

Formula Bruta: $\text{C}_{19}\text{H}_{23}\text{BrN}_4$

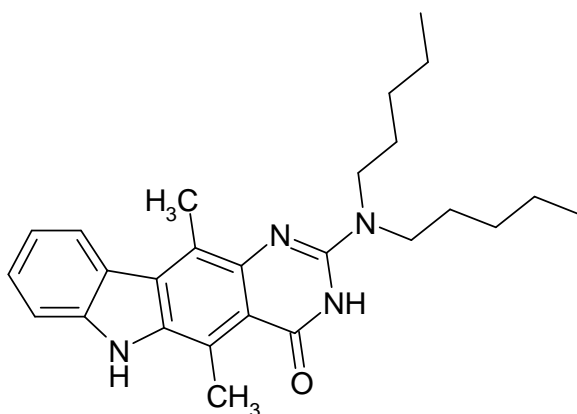
Procedimento:

La *N*-(6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N'*-*n*-butil-guanidina (**29i**) è stata ottenuta seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-6-bromo-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**27b**) 1,2 g (4,15 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,54 g (4,15 mmoli), *n*-butilammina 0,91 g (12,40 mmoli), HgCl₂ 1,13 g (4,15 mmoli) in DMF (70 mL).

(KBr) (cm⁻¹): 3191, 2959, 1648, 1445, 1300, 1147, 804.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.81-0.91 (m, 3H, CH₃), 1.29-1.31 (m, 2H, CH₂CH₃), 1.47-1.49 (m, 2H, CH₂CH₂CH₃), 2.56 (s, 3H, CH₃), 2.62 (s, 3H, CH₃), 3.28-3.31 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂CH₃), 7.06 (s, 1H, Ar), 7.42 (br, 2H, NH₂), 7.48-7.54 (m, 2H, Ar), 8.22 (s, 1H, Ar), 9.42 (s, 1H, NH), 11.69 (s, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 387 (M⁺, 18), 288 (100).

5,11-Dimetil-3,6-diidro-2-dipentilammino-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (35a)

Solido verde

Resa % = 56

P.f. = 246 °C

Formula Bruta: C₂₆H₃₄N₄O

Procedimento:

Il 5,11-dimetil-3,6-diidro-2-dipentilammino-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**35a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**27c**) 0,90 g (4,30 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,56 g (4,30 mmoli), dipentilammina 2,03 g (12,90 mmoli), HgCl₂ 1,17 g (4,30 mmoli) in DMF (50 mL).

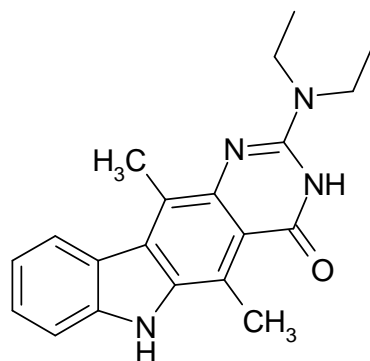
IR (KBr) (cm⁻¹): 3423, 2925, 1640, 1607, 1450, 1370, 1286, 806, 744.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.82-0.90 (m, 6H, CH₃), 1.30-1.33 (m, 8H, CH₂CH₂CH₃), 1.56-1.60 (m, 4H, CH₂(CH₂)₂CH₃), 2.89 (s, 3H, CH₃), 2.98 (s, 3H, CH₃), 3.47-3.51 (m, 4H,

NCH_2), 7.11-7.14 (t, 1H, Ar), 7.40-7.49 (m, 2H, Ar), 8.21 (d, 1H, J = 8.04 Hz, Ar), 10.74 (s, 1H, NH), 11.02 (s, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 419 (M⁺ +1).

2-Dietilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (35b)



Solido verde

Resa % = 53

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₂₀H₂₂N₄O

Procedimento:

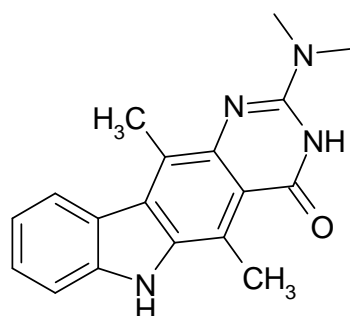
Il 2-dietilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**35b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-1,4-dimetil-9H-carbazolo (**27c**) 0,90 g (4,30 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,56 g (4,30 mmoli), dietilammina 0,94 g (12,90 mmoli), HgCl₂ 1,17 g (4,30mmoli) in DMF (50 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3326, 2973, 1670, 1609, 1450, 1369, 1289, 1014, 745.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.07-1.23 (m, 6H, CH₃), 2.91 (s, 3H, CH₃), 2.98 (s, 3H, CH₃), 3.54-3.59 (m, 4H, CH₂), 7.12-7.15 (t, 1H, Ar), 7.41-7.49 (m, 2H, Ar), 8.20 (d, 1H, J = 8.08 Hz, Ar), 10.75 (s, 1H, NH), 11.04 (s, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 334 (M⁺, 56), 305 (33) (M⁺, - CH₂CH₃), 73 (100).

3,6-Diidro-2-dimetilammino-5,11-dimetil-pirimido-[5,4b]-carbazol-4-one (35c)



Solido verde

Resa % = 42

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₁₈H₁₈N₄O

Procedimento:

Il 3,6-diidro-2-dimetilammino-5,11-dimetil-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**35c**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-1,4-

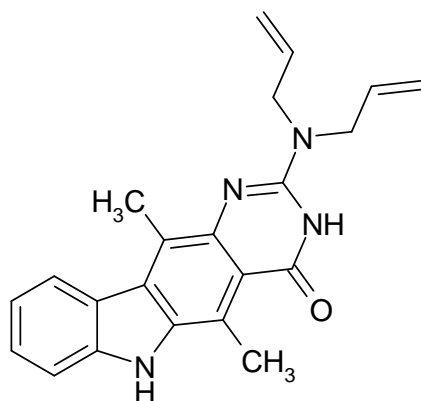
dimetil-9*H*-carbazolo (**27c**) 0,90 g (4,30 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,56 g (4,30 mmoli), di metilammina (_g) in eccesso, HgCl₂ 1,17 g (4,30 mmoli) in DMF (50 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3297, 2922, 1669, 1616, 1451, 1370, 1259, 1097, 745.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.71 (s, 3H, CH₃), 2.87 (s, 3H, CH₃), 3.08 (s, 6H, CH₃), 7.12-7.16 (t, 1H, *Ar*), 7.42-7.50 (m, 2H, *Ar*), 8.22 (d, 1H, J = 7.80 Hz, *Ar*), 10.88 (s, 1H, NH), 11.08 (s, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 306 (M⁺, 100), 291 (28) (M⁺ - CH₃).

2-Diallilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-pirimido-[5,4-*b*]-carbazol-4-one (**35d**)



Solido verde

Resa % = 30

P.f. = 244 °C

Formula Bruta: C₂₂H₂₂N₄O

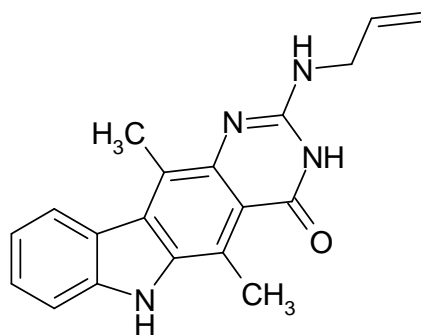
Procedimento:

Il 2-diallilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-pirimido-[5,4-*b*]-carbazol-4-one (**35d**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**27c**) 0,90 g (4,30 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,56 g (4,30 mmoli), diallilammina 1,25 g (12,90 mmoli), HgCl₂ 1,17 g (4,30 mmoli) in DMF (50 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3243, 2925, 1669, 1605, 1452, 1308, 1248, 1098, 921.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.87 (s, 3H, CH₃), 2.99 (s, 3H, CH₃), 4.19 (d, 4H, J = 5.16 Hz, CH=CH₂), 5.11-5.27 (m, 4H, NCH₂), 5.86-5.95 (m, 2H, CH), 7.12-7.16 (t, 1H, *Ar*), 7.42-7.51 (m, 2H, *Ar*), 8.22 (d, 1H, J = 7.80 Hz, *Ar*), 10.79 (s, 1H, NH), 11.09 (s, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 358 (M⁺, 74), 317 (100) (M⁺ - CH₂CH=CH₂).

2-Allilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (35e)

Solido grigio

Resa % = 20

P.f. = 250 °C

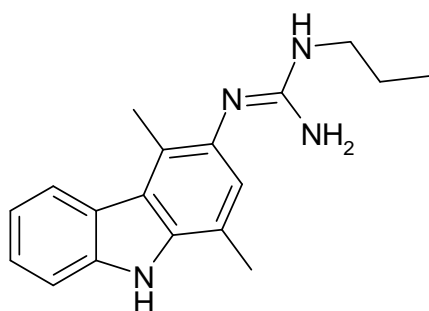
Formula Bruta: C₁₉H₁₈N₄O**Procedimento:**

Il 2-allilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**35e**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**27c**) 0,70 g (3,30 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,44 g (3,30 mmoli), allilammina 0,47 g (mmoli), HgCl₂ 0,90 g (3,30 mmoli) in DMF (50 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3420, 3165, 1658, 1639, 1453, 1298, 736.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.52 (s, 3H, CH₃), 2.63 (s, 3H, CH₃), 3.87-3.89 (m, 2H, CHCH₂), 5.18-5.29 (m, 2H, NCH₂), 5.86-5.87 (m, 1H, CH), 7.18-7.19 (m, 1H, *Ar*), 7.40-7.41 (m, 1H, *Ar*), 7.56 (d, 1H, J = 7.32 Hz, *Ar*), 7.75 (br, 1H, NH), 8.16 (d, 1H, J = 7.80 Hz, *Ar*), 9.50 (s, 1H, NH), 11.45 (s, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 318 (M⁺, 22), 292 (100) (M⁺ - CH=CH₂), 277 (55) (M⁺ - CH₂CH=CH₂).

***N*-(1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N*'-propil-guanidina (30f)**

Solido crema

Resa % = 56

P.f. = 208 °C

Formula Bruta: C₁₈H₂₂N₄**Procedimento:**

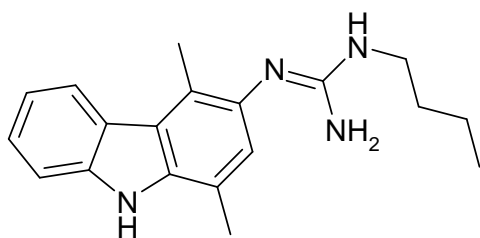
La *N*-(1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N*'-propil-guanidina (**30f**) è stata ottenuta seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**27c**) 0,61 g (2,90 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,38 g (2,90 mmoli), propilammina 0,43 g (7,25 mmoli), HgCl₂ 0,79 g (2,90 mmoli) in DMF (50 mL).

(KBr) (cm^{-1}): 3171, 2964, 1659, 1457, 1298, 1093, 661.

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 0.89-0.93 (t, 3H, CH_3), 1.47-1.49 (m, 2H, CH_2CH_3), 2.53 (s, 3H, CH_3), 2.63 (s, 3H, CH_3), 3.28-3.30 (m, 2H, NCH_2), 7.02 (s, 1H, Ar), 7.17-7.21 (m, 2H, Ar), 7.25 (br, 2H, NH_2), 7.39-7.43 (t, 1H, Ar), 8.16 (d, 1H, $J = 8.04$ Hz, Ar), 9.31 (s, 1H, NH), 11.37 (s, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 294 (M^+ , 77), 235 (52) ($\text{M}^+ - \text{NH-CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

***N*-(1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N'*-*n*-butil-guanidina (30g)**



Solido crema

Resa % = 20

P.f. = 176 °C

Formula Bruta: $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_4$

Procedimento:

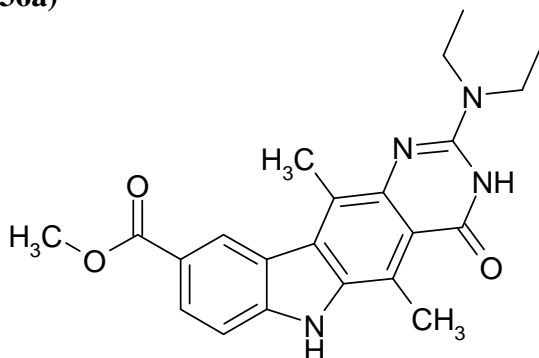
La *N*-(1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N'*-*n*-butil-guanidina (**30g**) è stata ottenuta seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**27c**) 0,70 g (3,30 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,44 g (3,30 mmoli), *n*-butilammina 0,61 g (8,30 mmoli), HgCl_2 0,90 g (3,30 mmoli) in DMF (50 mL).

(KBr) (cm^{-1}): 3176, 2929, 1666, 1635, 1373, 1261, 663.

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 0.90-1.49 (m, 5H, CH_2CH_3), 1.96-1.98 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2.55 (s, 3H, CH_3), 2.62 (s, 3H, CH_3), 3.88-4.10 (m, 2H, NCH_2), 7.02 (s, 1H, Ar), 7.19-7.41 (m, 4H, 2Ar, NH_2), 7.55-7.57 (m, 1H, Ar), 8.14-8.16 (m, 1H, Ar), 9.33 (br, 1H, NH), 11.43 (s, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 308 (M^+ , 100), 210 (100) ($\text{M}^+ - \text{H}_2\text{N-C-NH-C}_4\text{H}_9$).

2-Dietilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-9-metilcarbossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (36a)



Solido marrone

Resa % = 65

P.f. = 240 °C

Formula Bruta: $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}_3$

Procedimento:

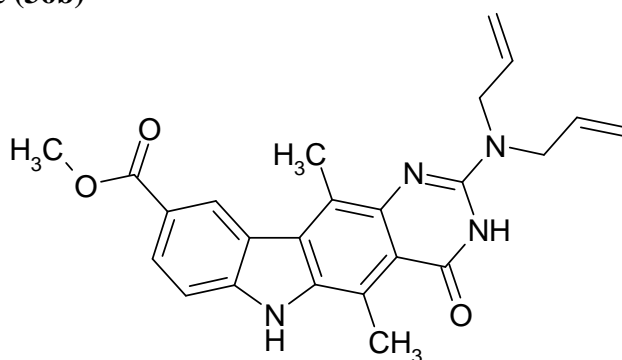
Il 2-dietilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-9-metilcarbossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**36a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 6-ammino-5,8-dimetil-3-metilcarbossi-9*H*-carbazolo (**27e**) 0,90 g (3,33 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,44 g (3,33 mmoli), dietilammina 0,61 g (8,40 mmoli), HgCl₂ 0,91 g (3,33 mmoli) in DMF (50 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3308, 2928, 1689, 1594, 1268, 1002, 763.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.14-1.18 (t, 6H, CH₃), 2.95 (s, 3H, CH₃), 2.96 (s, 3H, CH₃), 3.56-3.61 (q, 4H, CH₂), 3.88 (s, 3H, OCH₃), 7.54 (d, J = 8.56 Hz, 1H, Ar), 8.05 (d, 1H, J = 8.80 Ar), 8.78 (s, 1H, Ar), 10.76 (s, 1H, NH), 11.51 (s, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 392 (M⁺, 34), 363 (32) (M⁺ - CH₂CH₃), 295 (100).

2-Diallilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-9metilcarbossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (36b)



Solido verde

Resa % = 32

P.f. = 244 °C

Formula Bruta: C₂₄H₂₄N₄O₃

Procedimento:

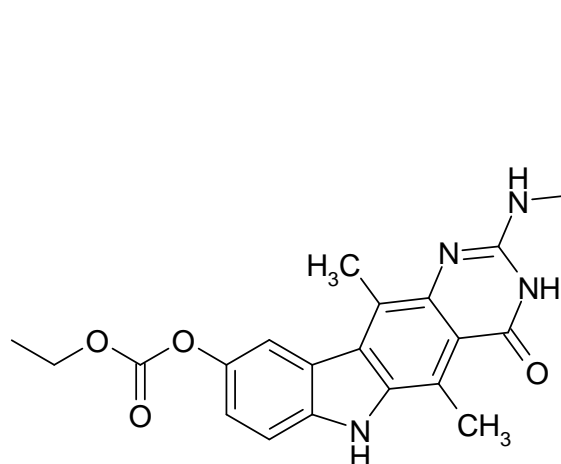
Il 2-diallilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-9-metilcarbossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**36b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 6-ammino-5,8-dimetil-3-metilcarbossi-9*H*-carbazolo (**27e**) 0,60 g (2,24 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,29 g (2,24 mmoli), diallilammina 0,54 g (5,60 mmoli), HgCl₂ 0,61 g (2,24mmoli) in DMF (40 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3372, 1646, 1601, 1270, 1129, 925, 762.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.92 (s, 3H, CH₃), 2.99 (s, 3H, CH₃), 3.86-3.88 (m, 4H, CH₂), 4.35 (s, 3H, OCH₃), 5.15-5.38 (m, 4H, NCH₂), 5.87-5.94 (m, 2H, CH), 7.55 (d, J = 8.52 Hz, 1H, Ar), 8.06 (d, 1H, J = 8.52 Hz, Ar), 8.81 (s, 1H, Ar), 10.84 (s, 1H, NH), 11.59 (s, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 416 (M⁺, 72), 375 (100) (M⁺ - CH₂CH=CH₂).

2-(3-Dietilammino-propilammino)-3,6-diidro-5,11-dimetil-9-etossicarbonilossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (37a)



Solido giallo

Resa % = 25

P.f. > 260 °C

Formula Bruta: C₂₆H₃₃N₅O₄

Procedimento:

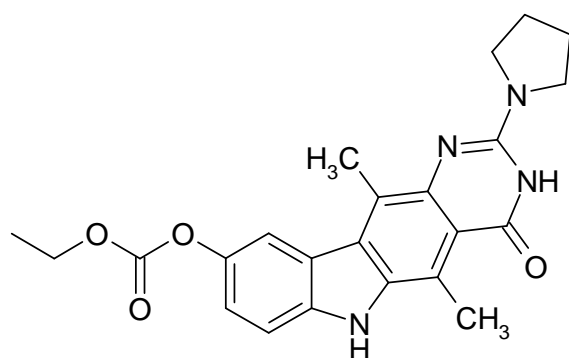
Il 2-(3-dietilammino-propilammino)-3,6-diidro-5,11-dimetil-9-etossicarbonilossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**37a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 6-ammino-5,8-dimetil-3-etossicarbonilossi-9*H*-carbazolo (**27f**) 1,00 g (3,30 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,44 g (3,30 mmoli), 3-(dietilammino)-propilammina 1,29 g (9,90 mmoli), HgCl₂ 0,90 g (3,30 mmoli) in DMF (50 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3407, 3051, 2970, 2869, 2081, 1744, 1633, 1498, 1255, 1053, 885.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.94-1.03 (t, 9H, CH₂CH₃), 1.29-1.37 (m, 4H, CH₂CH₃), 1.72-1.75 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂), 2.52-2.61 (m, 2H, CH₂), 2.91 (s, 3H, CH₃), 3.11 (s, 3H, CH₃), 3.44-4.27 (m, 2H, HNCH₂), 4.32-4.50 (m, 2H, CH₂CH₃), 5.98 (s, 1H, NH), 7.34 (d, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 7.52 (d, 1H, J = 8.52 Hz, Ar), 8.04 (s, 1H, Ar), 10.67 (s, 1H, NH), 11.19 (s, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 480 (M⁺ + 1).

3,6-Diidro-5,11-dimetil-9-etossicarbonilossi-2-pirrolidin-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (37b)



Solido verde

Resa % = 18

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₂₃H₂₄N₄O₄

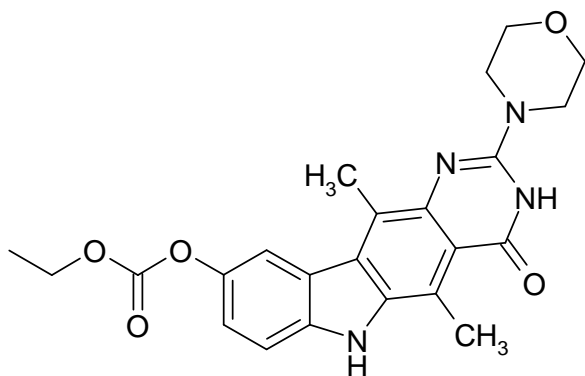
Procedimento:

Il 3,6-diidro-5,11-dimetil-9-etossicarbonilossi-2-pirrolidin-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**37b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 6-ammino-5,8-dimetil-3-etossicarbonilossi-9*H*-carbazolo (**27f**) 1,34 g (4,50 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,60 g (4,50 mmoli), pirrolidina 0,92 g (13,00 mmoli), HgCl₂ 1,22 g (4,50 mmoli) in DMF (50 mL). Il prodotto risulta insolubile in DMSO.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3435, 3153, 2926, 1665, 1613, 1555, 1373, 1233, 797.

MS (EI) m/z (%): 420 (M⁺, 3), 336 (100).

3,6-Diidro-5,11-dimetil-9-etossicarbonilossi-2-morfolin-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (37c**)**



Solido verde

Resa % = 49

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₂₃H₂₄N₄O₅

Procedimento:

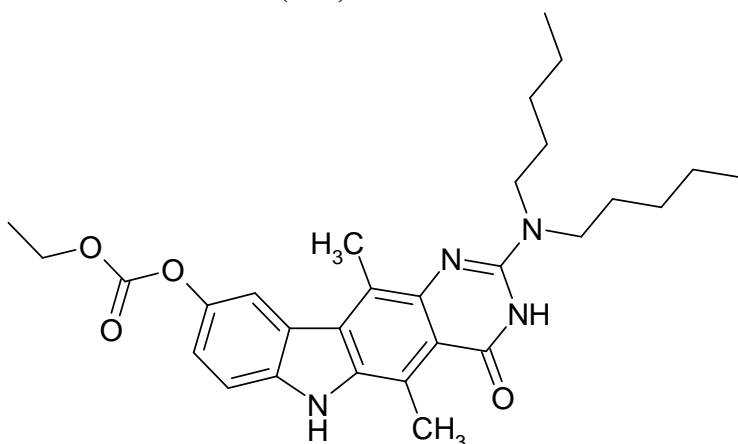
Il 3,6-diidro-5,11-dimetil-9-etossicarbonilossi-2-morfolin-pirimido-[5,4b]-carbazol-4-one (**37c**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 6-ammino-5,8-dimetil-3-etossicarbonilossi-9*H*-carbazolo (**27f**) 1,00 g (3,35 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,44g (3,35 mmoli), morfolina 0,87 g (mmoli), HgCl₂ 0,91 g (3,35 mmoli) in DMF (60 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3392, 2975, 1745, 1619, 1489, 1256, 1123, 1002, 816, 559.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.27-1.32 (t, 3H, CH₃), 2.93 (s, 3H, CH₃), 3.03 (s, 3H, CH₃), 3.49-3.54 (m, 4H, CH₂ morfolina), 3.68-3.70 (m, 4H, CH₂ morfolina), 4.23-4.29 (q, 2H, CH₂CH₃), 7.33 (dd, J₁ = 1.96 Hz, J₂ = 8.80 Hz, 1H, Ar), 7.51 (d, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 8.03 (s, 1H, Ar), 11.16 (s, 1H, NH), 11.27 (s, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 436 (M⁺, 100), 363 (80) (M⁺ - CO₂CH₂CH₃).

3,6-Diidro-5,11-dimetil-2-dipentilammino-9-etossicarbonilossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (37d)



Solido giallo

Resa % = 25

P.f. = 177 °C

Formula Bruta: C₂₉H₃₈N₄O₄

Procedimento:

Il 3,6-diidro-5,11-dimetil-2-dipentilammino-9-etossicarbonilossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**37d**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 6-ammino-5,8-dimetil-3-etossicarbonilossi-9*H*-carbazolo (**27f**) 0,70 g (2,34 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,30 g (2,34 mmoli), dipentilammina 1,10 g (7,02 mmoli), HgCl₂ 0,63 g (2,34 mmoli) in DMF (70 mL).

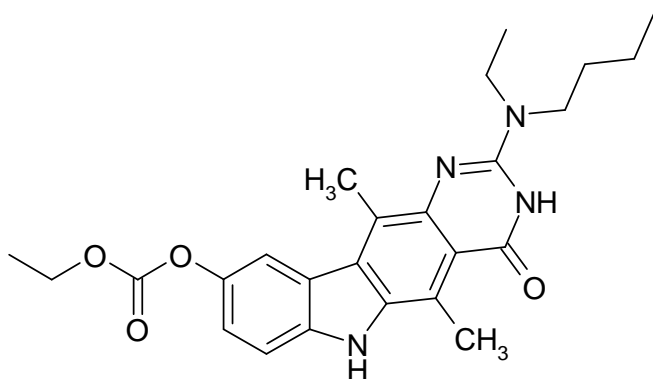
IR (KBr) (cm⁻¹): 3402, 2926, 1758, 1649, 1605, 1487, 1369, 1251, 1050, 817.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.85-0.89 (m, 9H, CH₃), 1.29-1.32 (m, 8H, CH₂CH₂CH₃), 1.45-1.60 (m, 4H, NCH₂CH₂), 2.85 (s, 3H, CH₃), 2.97 (s, 3H, CH₃), 3.37-3.58 (m, 4H, NCH₂), 4.23-4.29 (q, 2H, CH₂CH₃), 7.32 (dd, J₁ = 1.96 Hz, J₂ = 8.80 Hz, 1H, Ar), 7.50 (d, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 8.00 (s, 1H, Ar), 10.75 (br, 1H, NH), 11.15 (s, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 506 (M⁺, 100), 436 (38) (M⁺ - CO₂CH₂CH₃).

MS (ESI⁺): 507 (M⁺ +1).

2-(*N*-etil-*n*-butilammino)-3,6-diidro-5,11-dimetil-9-etossicarbonilossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (37e)



Solido giallo

Resa % = 50

P.f. > 260 °C

Formula Bruta: C₂₅H₃₀N₄O₄

Procedimento:

Il 2-(*N*-etil-*n*-butilammino)-3,6-diidro-5,11-dimetil-9-etossicarbonilossi-pirimido-[5,4-*b*]-carbazol-4-one (**37e**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 6-ammino-5,8-dimetil-3-etossicarbonilossi-9*H*-carbazolo (**27f**) 0,90 g (3,00 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,40 g (3,00 mmoli), *N*-etil-*n*-butilammina 0,91 g (9,00 mmoli), HgCl₂ 0,81 g (3,00 mmoli) in DMF (70 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3433, 2964, 1745, 1643, 1610, 1487, 1369, 1270, 1051, 818, 704.

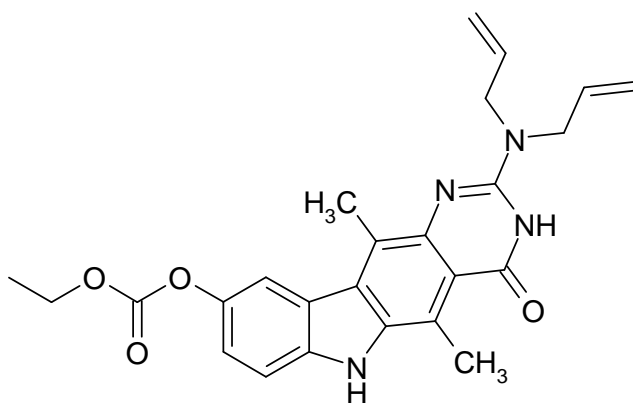
¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.91-0.95 (t, 3H, CH₃), 1.13-1.18 (t, 3H, CH₃), 1.30-1.33 (m, 5H, CH₂CH₂CH₃), 1.55-1.62 (m, 2H, CH₂CH₂CH₃), 2.87 (s, 3H, CH₃), 2.99 (s, 3H, CH₃), 3.49-3.60 (m, 4H, NCH₂), 4.24-4.30 (q, 2H, CH₂CH₃), 7.29 (dd, J₁ = 1.96 Hz, J₂ = 8.80 Hz, 1H, *Ar*), 7.49 (d, J = 8.80 Hz, 1H, *Ar*), 8.00 (s, 1H, *Ar*), 10.66 (br, 1H, NH), 11.07 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆): 166.73, 154.11, 147.53, 143.22, 142.30, 139.96, 136.06, 120.46, 117.77, 115.69, 112.94, 111.13, 91.68, 85.64, 81.42, 72.62, 64.43, 46.60, 32.10, 19.65, 15.67, 14.10, 13.91, 13.66, 13.16.

MS (EI) m/z (%): 450 (M⁺, 100), 377 (23) (M⁺ - CO₂CH₂CH₃).

MS (ESI⁺): 451 (M⁺ + 1).

2-Diallilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-9-etossicarbonilossi-pirimido-[5,4-*b*]-carbazol-4-one (37f)



Solido giallo

Resa % = 30

P.f. > 260 °C

Formula Bruta: C₂₅H₂₆N₄O₄

Procedimento:

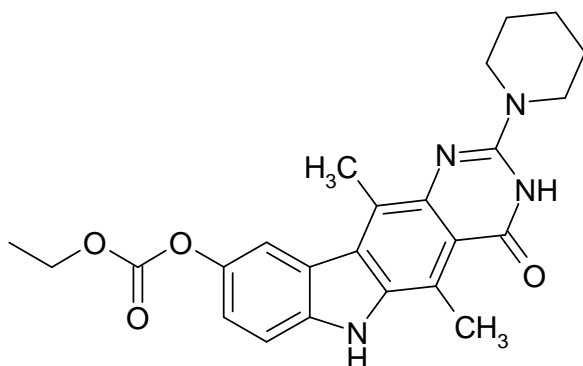
Il 2-diallilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-9-etossicarbonilossi-pirimido-[5,4-*b*]-carbazol-4-one (**37f**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 6-ammino-5,8-dimetil-3-etossicarbonilossi-9*H*-carbazolo (**27f**) 1,00 g (3,35 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,44 g (3,35 mmoli), diallilammina 0,97 g (10,00 mmoli), HgCl₂ 0,91 g (3,35 mmoli) in DMF (70 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3419, 2980, 1763, 1647, 1611, 1368, 1249, 1000, 923, 820, 779.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.28-1.32 (t, 3H, CH₃), 2.86 (s, 3H, CH₃), 2.98 (s, 3H, CH₃), 4.18-4.27 (m, 6H, CH=CH₂), 5.14-5.23 (m, 4H, NCH₂), 5.85-5.95 (m, 2H, CH₂CH₃), 7.31 (d, J₂ = 8.80 Hz, 1H, Ar), 7.49 (d, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 8.01 (s, 1H, Ar), 10.83 (br, 1H, NH), 11.22 (s, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 446 (M⁺, 89), 405 (100) (M⁺ - CH₂CH=CH₂), 373 (23) (M⁺ - CO₂CH₂CH₃).

3,6-Diidro-5,11-dimetil-9-etossicarbonilossi-2-piperidin-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (37g)



Solido giallo

Resa % = 48

P.f. > 260 °C

Formula Bruta: C₂₄H₂₆N₄O₄

Procedimento:

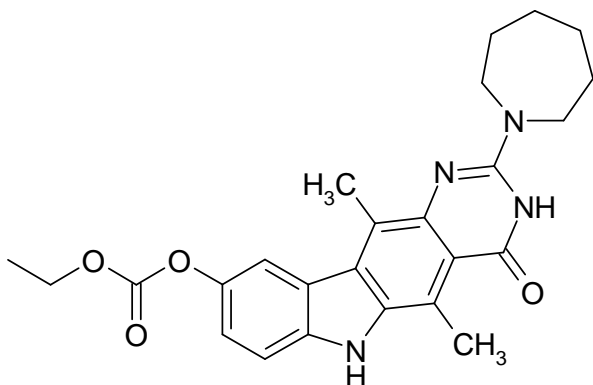
Il 3,6-diidro-5,11-dimetil-9-etossicarbonilossi-2-piperidin-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**37g**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 6-ammino-5,8-dimetil-3-etossicarbonilossi-9*H*-carbazolo (**27f**) 1,00 g (3,35 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,44 g (3,35 mmoli), piperidina 0,85 g (10,00 mmoli), HgCl₂ 0,91 g (3,35 mmoli) in DMF (70 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3401, 2948, 1745, 1617, 1368, 1253, 1198, 1001, 824, 785, 553.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.28-1.32 (t, 3H, CH₃), 1.51-1.66 (m, 6H, CH₂ piperidina), 2.86 (s, 3H, CH₃), 2.99 (s, 3H, CH₃), 3.52-3.60 (m, 4H, NCH₂ piperidina), 4.22-4.30 (q, 2H, CH₂CH₃), 7.30 (d, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 7.50 (d, J = 8.80 Hz, 1H, Ar), 8.02 (s, 1H, Ar), 10.85 (s, 1H, NH), 11.12 (s, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 434 (M⁺, 100), 361 (62) (M⁺ - CO₂CH₂CH₃).

3,6-Diidro-5,11-dimetil-2esametenimmino-9-etossicarbonilossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (37h)



Solido giallo

Resa % = 56

P.f. > 260 °C

Formula Bruta: C₂₅H₂₈N₄O₄

Procedimento:

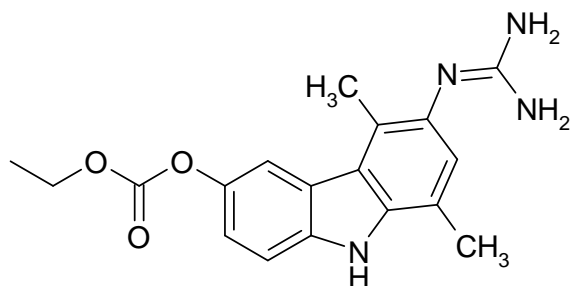
Il 3,6-diidro-5,11-dimetil-2-esametenimmino-9-etossicarbonilossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**37h**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 6-ammino-5,8-dimetil-3-etossicarbonilossi-9*H*-carbazolo (**27f**) 1,00 g (3,35 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,44 g (3,35 mmoli), esaidro-1*H*-azepina 0,99 g (10,00 mmoli), HgCl₂ 0,91 g (3,35 mmoli) in DMF (70 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3423, 2927, 1746, 1639, 1606, 1487, 1371, 1249, 1052, 1003, 817, 701.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.28-1.32 (t, 3H, CH₃), 1.49-1.76 (m, 8H, CH₂ esametenimmina), 2.87 (s, 3H, CH₃), 3.03 (s, 3H, CH₃), 3.67-3.70 (m, 4H, CH₂ esametenimmina), 4.23-4.28 (q, 2H, CH₂CH₃), 7.30 (dd, J₁ = 1.96 Hz, J₂ = 8.80 Hz, 1H, *Ar*), 7.48 (d, J = 8.80 Hz, 1H, *Ar*), 7.99 (s, 1H, *Ar*), 10.80 (br, 1H, NH), 11.17 (s, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 448 (M⁺, 100), 375 (41) (M⁺ - CO₂CH₂CH₃).

***N*-(6-etossicarbonilossi-1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N'*-guanidina (32i)**



Solido bianco

Resa % = 20

P.f. = 221 °C

Formula Bruta: C₁₈H₂₀N₄O₃

Procedimento:

La *N*-(6-etossicarbonilossi-1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N'*-guanidina (**32i**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-1,4-

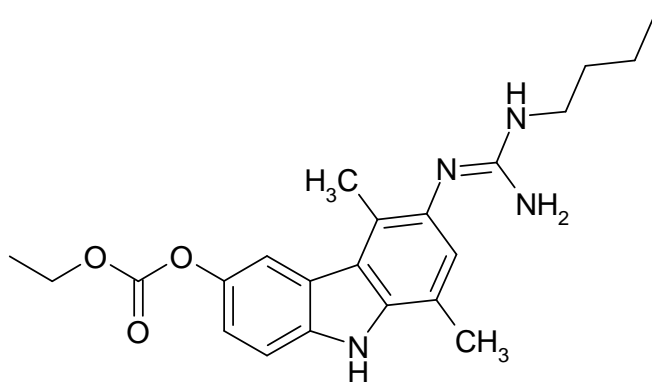
dimetil-6-etossicarbonilossi-9*H*-carbazolo (**27f**) 0,83 g (2,80 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,36 g (2,80 mmoli), NH₃ (g) eccesso, HgCl₂ 0,76 g (2,80 mmoli).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3392, 2110, 1739, 1262, , 1005, 784, 554.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): 1.35-1.39 (t, 3H, CH₃), 2.55 (s, 3H, CH₃), 2.79 (s, 3H, CH₃), 4.30-4.35 (q, 2H, CH₂), 7.30-7.32 (m, 5H, 1*Ar*, 2NH₂), 7.35 (dd, J₁ = 1.92 Hz, J₂ = 8.80 Hz, 1H, *Ar*), 7.61 (d, J = 8.80 Hz, 1H, *Ar*), 8.01 (s, 1H, *Ar*), 11.64 (s, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 339 (M⁺ -1).

***N*-(6-etossicarbonilossi -1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N'*-*n*-butil-guanidina (**32l**)**



Solido verde

Resa % = 15

P.f. = 226 °C

Formula Bruta: C₂₂H₂₈N₄O₃

Procedimento:

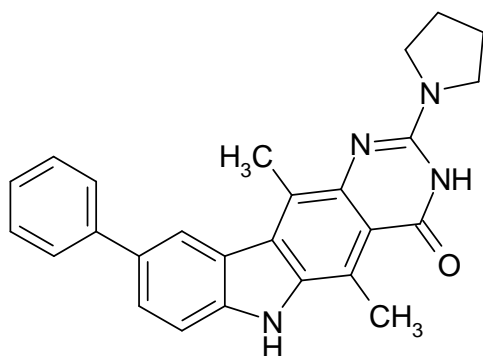
La *N*-(6-etossicarbonilossi-1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N'*-*n*-butil-guanidina (**32l**) è stata ottenuta seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 6-ammino-5,8-dimetil-3-etossicarbonilossi-9*H*-carbazolo (**27f**) 0,70 g (2,34 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,30 g (2,34 mmoli), *n*-butilammina 0,51 g (7,02 mmoli), HgCl₂ g (2,34 mmoli) in DMF (70 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3408, 3193, 2971, 1768, 1632, 1463, 1245, 1056, 807, 658.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.87-0.91 (t, 3H, CH₃), 1.28-1.32 (t, 3H, CH₃), 1.41-1.58 (m, 2H, CH₂CH₂CH₃), 2.52 (s, 3H, CH₃), 2.58 (s, 3H, CH₃), 3.16-3.22 (m, 4H, NCH₂CH₂), 4.22-4.28 (q, 2H, CH₂CH₃), 7.05 (s, 1H, *Ar*), 7.25 (d, J = 8.04 Hz, 1H, *Ar*), 7.55 (d, J = 8.04 Hz, 1H, *Ar*), 7.56 (br, 2H, NH₂), 7.96 (s, 1H, *Ar*), 9.33 (br, 1H, NH), 11.58 (s, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 396 (M⁺, 15), 251 (100) (M⁺ - HNC₄H₉, CO₂C₂H₅).

MS (ESI⁺): 397 (M⁺ +1).

3,6-Diidro-5,11-dimetil-9-fenil-2-pirrolidin-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (38)

Solido giallo

Resa % = 65

P.f. > 266 °C

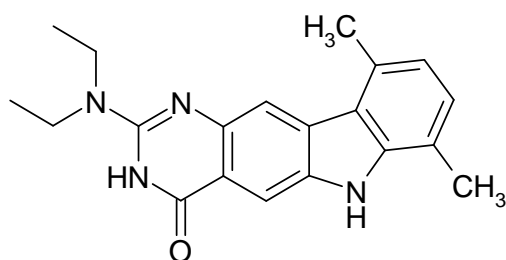
Formula Bruta: C₂₆H₂₄N₄O**Procedimento:**

Il 3,6-diidro-5,11-dimetil-9-fenil-2-pirrolidin-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**38**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-1,4-dimetil-6-fenil-9*H*-carbazolo (**27g**) 0,70 g (2,45 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,32 g (2,45 mmoli), pirrolidina 0,52 g (7,35 mmoli), HgCl₂ 0,66 g (2,45 mmoli) in DMF (50 mL).

(KBr) (cm⁻¹): 3355, 1645, 1614, 1458, 1385, 1007, 810.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.79-1.93 (m, 4H, CH₂ pirrolidina), 2.89 (s, 3H, CH₃), 3.02 (s, 3H, CH₃), 3.50-3.54 (m, 4H, NCH₂ pirrolidina), 7.35-7.47 (m, 5H, Ar), 7.50 (d, 1H, J = 7.32 Hz, Ar), 7.76 (d, 1H, J = 7.32 Hz, Ar), 8.43 (s, 1H, Ar), 10.75 (s, 1H, NH), 11.00 (s, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 408 (M⁺, 2), 71 (100).

2-Dietilammino-3,6-diidro-7,10-dimetil-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (39a)

Solido marrone

Resa % = 26

P.f. > 226 °C

Formula Bruta: C₂₀H₂₂N₄O**Procedimento:**

Il 2-dietilammino-3,6-diidro-7,10-dimetil-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**39a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 6-ammino-1,4-

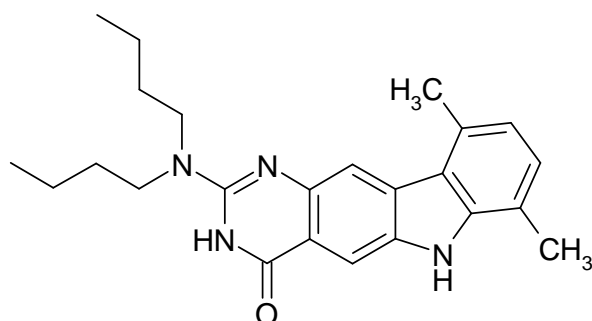
dimetil-9*H*-carbazolo (**27a**) 1,20 g (5,70 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,75 g (5,70 mmoli), dietilammina 1,25 g (17,10 mmoli), HgCl₂ 1,55 g (5,70 mmoli) in DMF (100 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3429, 3162, 1611, 1569, 1443, 1319, 791, 562.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.16-1.17 (t, 6H, CH₂CH₃), 2.52 (s, 3H, CH₃), 2.80 (s, 3H, CH₃), 3.60-3.62 (q, 4H, NCH₂CH₃), 6.87 (d, 1H, J = 7.32 Hz, *Ar*), 7.16 (d, 1H, J = 7.32 Hz, *Ar*), 8.15 (s, 2H, *Ar*), 8.75 (br, 1H, *NH*), 11.25 (s, 1H, *NH*).

MS (EI) *m/z* (%): 334 (M⁺, 61).

2-Dibutilammino-3,6-diidro-7,10-dimetil-pirimido-[5,4-*b*]-carbazol-4-one (**39b**)



Solido marrone

Resa % = 18

P.f. = 182 °C

Formula Bruta: C₂₄H₃₀N₄O

Procedimento:

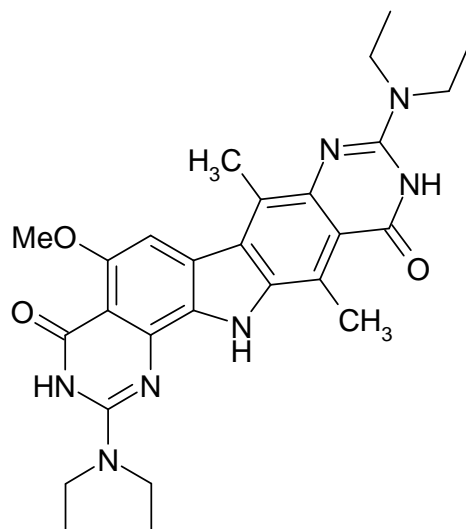
Il 2-dibutilammino-3,6-diidro-7,10-dimetil-pirimido-[5,4*b*]-carbazol-4-one (**39b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 6-ammino-1,4-dimetil-9*H*-carbazolo (**27a**) 1,20 g (5,70 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,75 g (5,70 mmoli), dibutilammina 2,20 g (17,10 mmoli), HgCl₂ 1,55 g (5,70 mmoli) in DMF (100 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3428, 3234, 1608, 1581, 1436, 1350, 1036, 795.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.85-0.98 (m, 6H, (CH₂)₃CH₃), 1.29-1.37 (m, 4H, (CH₂)₂CH₂CH₃), 1.53-1.58 (m, 4H, CH₂CH₂CH₂CH₃), 2.51 (s, 3H, CH₃), 2.80 (s, 3H, CH₃), 3.48-3.46 (m, 4H, NCH₂), 6.86 (d, 1H, J = 7.56 Hz, *Ar*), 7.16 (d, 1H, J = 7.32 Hz, *Ar*), 8.01 (s, 2H, *Ar*), 8.57 (br, 1H, *NH*), 11.31 (s, 1H, *NH*).

MS (EI) *m/z* (%): 390 (M⁺, 28), 86 (100).

2,8-Bis(dietilammino)-5,13-dimetil-11-metossi-3,6,9-triidro-dipirimido-[5,4-b, 4',5'-f]-carbazol-4,10-dione (40)



Solido giallo

Resa % = 15

P.f. > 260 °C

Formula Bruta: C₂₇H₃₃N₇O₃

Procedimento:

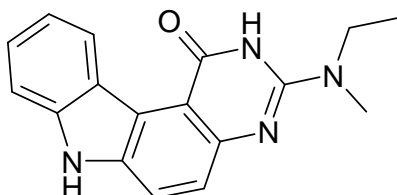
Il 2,8-bis(dietilammino)-5,13-dimetil-11-metossi-3,6,9-triidro-dipirimido-[5,4-b, 4',5'-f]-carbazol-4,10-dione (**40**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3,8-diammino-1,4-dimetil-6-metossi-9*H*-carbazolo (**27d**) 0,93 g (3,60 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,95 g (7,30 mmoli), dietilammina 1,58 g (21,60 mmoli), HgCl₂ 1,98 g (7,30 mmoli) in DMF (70 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3474, 3192, 2973, 2931, 1660, 1590, 1469, 1218, 1056, 808.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.11-1.14 (t, 12H, CH₂CH₃), 2.65 (s, 3H, CH₃), 2.84 (s, 3H, CH₃), 3.39-3.66 (q, 8H, NCH₂CH₃), 3.87 (s, 3H, OCH₃), 7.95 (s, 1H, *Ar*), 10.43 (s, 1H, *NH*), 10.55 (s, 1H, *NH*).

MS (EI) *m/z* (%): 503 (M⁺, 5), 268 (59), 253 (63).

2,7-Diidro-3-(etil-metilammino)-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (44)



Solido crema

Resa % = 64

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₁₇H₁₆N₄O

Procedimento:

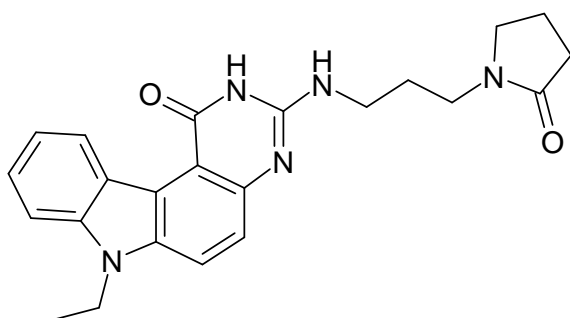
Il 2,7-diidro-3-(etil-metilammino)-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (**44**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-9*H*-carbazolo

(42) 2,00 g (10,98 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 1,43 g (10,98 mmoli), etilmetilammina 1,94 g (32,66 mmoli), HgCl₂ 2,98 g (10,98 mmoli). Il prodotto puro risulta insolubile nei comuni solventi deuterati.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3426, 3240, 1610, 1320, 826, 750.

MS (EI) *m/z* (%): 292 (M⁺, 100), 179 (40).

2,7-Diidro-7-etil-3-[3-(2'-osso-pirrolidin-1'-il)-propilammino]-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (45a)



Solido crema

Resa % = 60

P.f. > 266 °C

Formula Bruta: C₂₃H₂₅N₅O₂

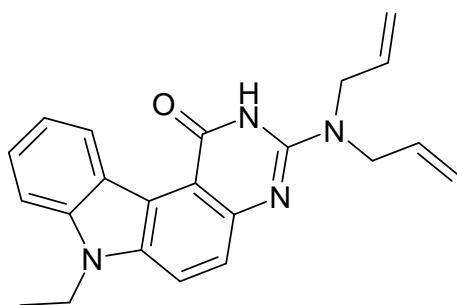
Procedimento:

Il 2,7-diidro-7-etil-3-[3-(2'-osso-pirrolidin-1'-il)-propilammino]-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (45a) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (34a) ed utilizzando 3-ammino-9-etil-9*H*-carbazolo (43) 2,00 g (9,52 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 1,24 g (9,52 mmoli), *N*-(3-amminopropil)-2-pirrolidinone 4,05 g (28,56 mmoli), HgCl₂ 2,58 g (9,52 mmoli) in DMF (150 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3434, 2972, 1678, 1632, 1462, 1322, 815, 746.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.28-1.30 (t, 3H, CH₂CH₃), 1.77-1.75 (m, 2H, HNCH₂CH₂CH₂), 1.92-1.94 (m, 2H, HNCH₂CH₂), 2.22-2.24 (t, 2H, HNCH₂), 3.26-3.28 (m, 6H, CH₂), 4.50-4.52 (q, 2H, CH₂CH₃), 6.22-6.24 (t, 1H, NHCH₂), 7.18-7.19 (m, 1H, *Ar*), 7.49-7.65 (m, 3H, *Ar*), 8.08-8.09 (m, 1H, *Ar*), 9.46-9.47 (m, 1H, *Ar*), 11.00 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 493 (M⁺, 1), 290 (100).

3-Diallilammino-2,7-diidro-7-etil-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (45b)

Solido marrone

Resa % = 64

P.f. = 213 °C

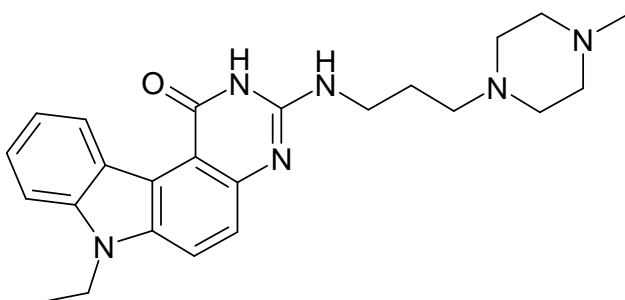
Formula Bruta: C₂₂H₂₂N₄O**Procedimento:**

Il 3-diallilammino-2,7-diidro-7-etil-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (**45b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-9-etil-9*H*-carbazolo (**43**) 2,00 g (9,52 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 1,24 g (9,52 mmoli), diallilammina 2,77 g (28,56 mmoli), HgCl₂ 2,58 g (9,52 mmoli) in DMF (150 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 2974, 1705, 1458, 1330, 817, 760.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.30 (s, 3H, CH₂CH₃), 2.09-2.17 (m, 4H, CH=CH₂), 4.36-4.38 (q, 2H, CH₂CH₃), 4.53-4.57 (m, 4H, NCH₂=CH), 5.34-5.47 (m, 2H, CH=CH₂), 7.21 (d, 1H, J = 7.40 Hz, *Ar*), 7.50-7.52 (m, 2H, *Ar*), 7.68 (d, 1H, J = 8.28 Hz, *Ar*), 8.16 (m, 1H, *Ar*), 9.54 (d, 1H, J = 8.04 Hz, *Ar*), 11.00 (s, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 358 (M⁺, 100), 317 (90) (M⁺ - CH₂-CH=CH₂).

2,7-Diidro-7-etil-3-[3-(4'-metil-piperazin-1'-il)-propilammino]-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (45c)

Solido marrone

Resa % = 60

P.f. > 266 °C

Formula Bruta: C₂₄H₃₀N₆O**Procedimento:**

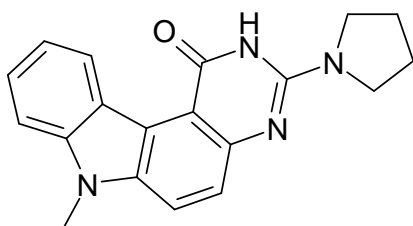
Il 2,7-diidro-7-etil-3-[3-(4'-metil-piperazin-1'-il)-propilammino]-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (**45c**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-9-etil-9*H*-carbazolo (**43**) 2,00 g (9,52 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 1,24 g (9,52 mmoli), 1-metil-4-(3'-amminopropil)-piperazina 4,48 g (28,56 mmoli), HgCl₂ 2,58 g (9,52 mmoli) in DMF (150 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3251, 2934, 1630, 1462, 1324, 818, 746.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.27-1.30 (t, 3H, CH₂CH₃), 1.72-1.74 (m, 2H, HNCH₂), 2.39-2.71 (m, 15H, HNCH₂CH₂CH₂, CH₂ ciclo, NCH₃), 4.49-4.51 (q, 2H, CH₂CH₃), 6.22-6.23 (t, 1H, NH), 7.13 (d, 1H, J = 7.80 Hz, *Ar*), 7.42-7.44 (m, 2H, *Ar*), 7.61 (d, 1H, J = 8.08 Hz, *Ar*), 7.99 (d, 1H, J = 8.80 Hz, *Ar*), 9.55 (d, 1H, J = 8.32 Hz, *Ar*), 11.00 (br, 1H, NH).

Ms [m/z (%): 418 (57) [M⁺], 348 (100).

2,7-Diidro-7-etil-3-pirrolidin-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (45d)



Solido crema

Resa % = 68

P.f. > 266 °C

Formula Bruta: C₂₀H₂₀N₄O

Procedimento:

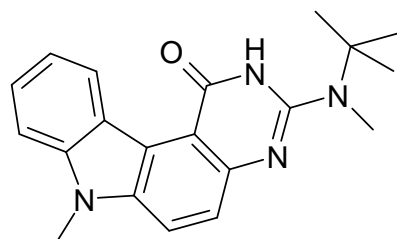
Il 2,7-diidro-7-etil-3-pirrolidin-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (**45d**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-9-etil-9*H*-carbazolo (**43**) 2,00 g (9,52 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 1,24 g (9,52 mmoli), pirrolidina 2,03 g (28,56 mmoli), HgCl₂ 2,58 g (9,52 mmoli) in DMF (150 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3135, 2968, 1647, 1455, 1314, 824, 748.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.27-1.30 (t, 3H, CH₂CH₃), 1.90-1.93 (m, 4H, CH₂CH₂), 3.51-3.53 (m, 4H, NCH₂ pirrolidina), 4.47-4.52 (m, 2H, CH₂CH₃), 7.15 (d, 1H, J = 8.02 Hz, *Ar*), 7.40-7.44 (m, 2H, *Ar*), 7.59 (d, 1H, J = 8.32 Hz, *Ar*), 7.96 (d, 1H, J = 8.80 Hz, *Ar*), 9.56-9.58 (m, 1H, *Ar*), 11.09 (s, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 332 (M⁺, 100).

3-(*ter*-Butil-metil-ammino)-2,7-diidro-7-etil-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (45e)



Solido crema

Resa % = 72

P.f. > 266 °C

Formula Bruta: C₂₁H₂₄N₄O

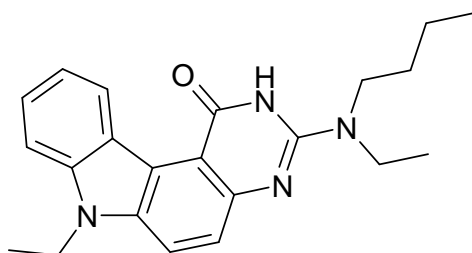
Procedimento:

Il 3-(*ter*-butil-metil-ammino)-2,7-diidro-7-etil-pirimido-[4,5-*c*]-carbazol-1-one (**45e**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-9-etil-9*H*-carbazolo (**43**) 2,00 g (9,52 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 1,24 g (9,52 mmoli), *ter*-butil-metil-ammina 2,48 g (28,56 mmoli), HgCl₂ 2,58 g (9,52 mmoli) in DMF (150 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 2970, 1709, 1676, 1454, 1322, 920, 746.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.26 (s, 9H, CH₃), 1.46-1.48 (t, 3H, CH₂CH₃), 2.94 (s, 3H, NCH₃), 4.50-4.54 (m, 2H, CH₂CH₃), 7.17 (d, 1H, J = 8.08 Hz, *Ar*), 7.44-7.46 (m, 2H, *Ar*), 7.63 (d, 1H, J = 8.28 Hz, *Ar*), 8.02 (d, 1H, J = 8.80 Hz, *Ar*), 9.55-9.57 (m, 1H, *Ar*), 11.36 (s, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 348 (M⁺, 52), 292 (100) (M⁺ - C(CH₃)₃).

2,7-Diidro-7-etil-3-(etil-*n*-butilammino)-pirimido-[4,5-*c*]-carbazol-1-one (45f)

Solido marrone

Resa % = 70

P.f. = 168 °C

Formula Bruta: C₂₂H₂₆N₄O

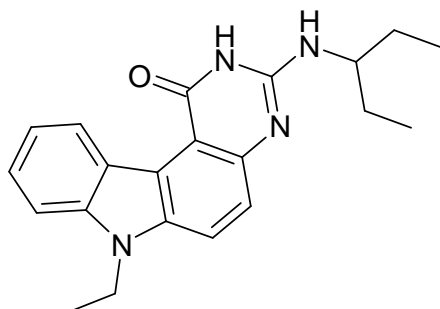
Procedimento:

Il 2,7-diidro-7-etil-3-(etil-*n*-butilammino)-pirimido-[4,5-*c*]-carbazol-1-one (**45f**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-9-etil-9*H*-carbazolo (**43**) 2,00 g (9,52 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 1,24 g (9,52 mmoli), etil-*n*-butilammina 2,88 g (28,56 mmoli), HgCl₂ 2,58 g (9,52 mmoli) in DMF (150 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3224, 2961, 1645, 1457, 1319, 817, 745.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.90-0.94 (m, 3H, CH₂CH₂CH₂CH₃), 1.12-1.14 (t, 3H, CH₂CH₃), 1.25-1.37 (m, 5H, CH₂CH₂CH₂CH₃, NCH₂CH₃), 1.54-1.57 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂CH₃), 3.37-3.61 (m, 4H, CH₂CH₃, CH₂CH₂CH₂CH₃), 4.50-4.52 (q, 2H, NCH₂CH₃), 7.16 (d, 1H, J = 8.04 Hz, *Ar*), 7.44-7.46 (m, 2H, *Ar*), 7.60 (d, 1H, J = 8.08 Hz, *Ar*), 7.97 (d, 1H, J = 8.80 Hz, *Ar*), 9.54 (d, 1H, J = 8.04 Hz, *Ar*), 11.05 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 362 (M⁺, 100) 306 (46) (M⁺ - CH₂CH₂CH₂CH₃).

2,7-Diidro 7-etil-3-(1-etil-1-propilammino)-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (45g)

Solido marrone

Resa % = 60

P.f. > 266 °C

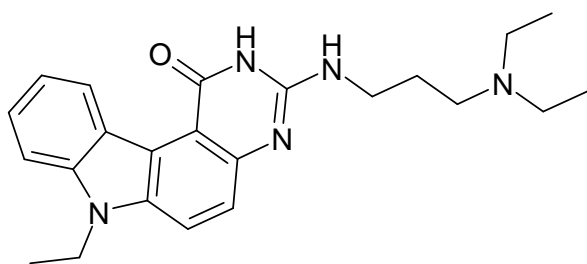
Formula Bruta: C₂₁H₂₄N₄O**Procedimento:**

Il 2,7-diidro-7-etil-3-(1-etil-propilammino)-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (**45g**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-9-etil-9*H*-carbazolo (**43**) 2,00 g (9,52 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 1,24 g (9,52 mmoli), 3-ammino-pentano 2,48 g (28,56 mmoli), HgCl₂ 2,58 g (9,52 mmoli) in DMF (150 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3434, 2964, 2931, 1627, 1464, 1323, 814, 740.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.88-0.92 (m, 6H, CHCH₂CH₃), 1.29-1.31 (t, 3H, CH₂CH₃), 1.49-1.62 (m, 4H, CHCH₂CH₃), 2.08-2.10 (m, 1H, CH), 4.50-4.52 (q, 2H, NCH₂CH₃), 7.16-7.18 (m, 1H, *Ar*), 7.46-7.48 (m, 2H, *Ar*), 7.65 (d, 1H, J = 7.80 Hz, *Ar*), 7.88-7.89 (m, 1H, *Ar*), 8.15 (br, 1H, NH), 9.47 (d, 1H, J = 7.32 Hz, *Ar*), 11.00 (s, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 348 (M⁺, 100), 319 (65) (M⁺ - CH₂CH₃), 278 (84) (M⁺ - CH(CH₂CH₃)₂).

3-(3'-Dietilammino-propilammino)-2,7-diidro-7-etil-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (45h)

Solido crema

Resa % = 58

P.f. > 266 °C

Formula Bruta: C₂₃H₂₉N₅O**Procedimento:**

Il 3-(3'-diethylammino-propilammino)-2,7-diidro-7-etil-pirimido-[4,5-c]carbazol-1-one (**45h**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-9-etil-9*H*-carbazolo (**43**) 2,00 g (9,52 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 1,24 g

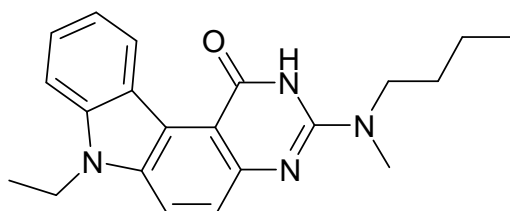
(9,52 mmoli), 3-(diethylammino)-propilammina 3,71 g (28,56 mmoli), HgCl₂ 2,58 g (9,52 mmoli) in DMF (150 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3036, 2967, 1621, 1452, 1323, 816, 739.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.96-0.99 (m, 6H, CH₃), 1.29-1.31 (t, 3H, CH₂CH₃), 1.68-1.70 (m, 2H, HNCH₂CH₂CH₂N), 2.48-2.50 (m, 6H, HNCH₂CH₂CH₂N, CH₂CH₃), 3.37-3.38 (t, 2H, HNCH₂), 4.50-4.51 (q, 2H, NCH₂CH₃), 6.19-6.21 (t, 1H, HNCH₂), 7.14-7.16 (m, 1H, *Ar*), 7.43-7.45 (m, 2H, *Ar*), 7.59 (d, 1H, J = 8.28 Hz, *Ar*), 7.96-7.98 (m, 1H, *Ar*), 9.55 (d, 1H, J = 8.04 Hz, *Ar*), 11.03 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 391 (M⁺, 11), 81 (100).

2,7-Diidro-7-etil-3-(metil-*n*-butilammino)-pirimido-[4,5-*c*]-carbazol-1-one (45i)



Solido crema

Resa % = 68

P.f. = 218 °C

Formula Bruta: C₂₁H₂₄N₄O

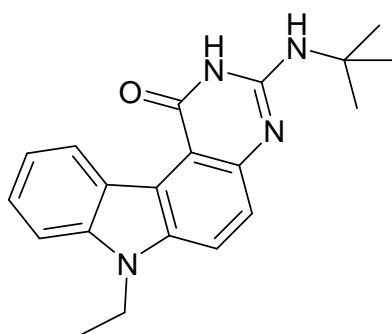
Procedimento:

Il 2,7-diidro-7-etil-3-(metil-*n*-butilammino)-pirimido-[4,5-*c*]-carbazol-1-one (**45i**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-9-etil-9*H*-carbazolo (**43**) 2,00 g (9,52 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 1,24 g (9,52 mmoli), metil-*n*-butilammina 2,48 g (28,56 mmoli), HgCl₂ 2,58 g (9,52 mmoli) in DMF (150 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3436, 3229, 2954, 1663, 1456, 1319, 816, 738.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.90-0.93 (m, 3H, CH₂CH₂CH₂CH₃), 1.30-1.32 (m, 5H, CH₂CH₃, CH₂CH₂CH₂CH₃), 1.56-1.58 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂CH₃), 3.05 (s, 3H, NCH₃), 3.56-3.58 (m, 2H, NCH₂CH₂CH₂CH₃), 4.50-4.52 (q, 2H, CH₂CH₃), 7.15 (d, 1H, J = 8.08 Hz, *Ar*), 7.43-7.46 (m, 2H, *Ar*), 7.61 (d, 1H, J = 8.04 Hz, *Ar*), 7.97-7.99 (m, 1H, *Ar*), 9.54 (d, 1H, J = 8.04 Hz, *Ar*), 11.08 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 348 (M⁺, 40), 292 (100) (M⁺ - CH₂CH₂CH₂CH₃).

3-ter-Butilammino-2,7-diidro-7-etil-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (45l)

Solido crema

Resa % = 60

P.f. > 266 °C

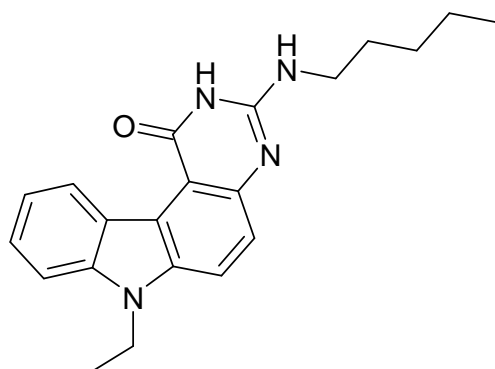
Formula Bruta: C₂₀H₂₂N₄O**Procedimento:**

Il 3-ter-butilammino-2,7-diidro-7-etil-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (**45l**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-9-etil-9*H*-carbazolo (**43**) 2,00 g (9,52 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 1,24 g (9,52 mmoli), *ter*-butilammina 2,05 g (28,56 mmoli), HgCl₂ 2,58 g (9,52 mmoli) in DMF (150 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3420, 2970, 1674, 1633, 1539, 820, 742.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.27 (s, 9H, CH₃), 1.28-1.30 (t, 3H, CH₂CH₃), 4.50-4.52 (m, 2H, CH₂CH₃), 6.07 (s, 1H, NH), 7.15 (d, 1H, J = 8.08 Hz, *Ar*), 7.43-7.46 (m, 2H, *Ar*), 7.60 (d, 1H, J = 8.28 Hz, *Ar*), 7.95(d, 1H, J = 8.80 Hz, *Ar*), 9.54 (d, 1H, J = 8.28 Hz, *Ar*), 10.67 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 334 (M⁺, 1), 129 (46), 73 (100).

2,7-Diidro-7-etil-3-pentilammino-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (45m)

Solido marrone

Resa % = 54

P.f. = 210 °C

Formula Bruta: C₂₁H₂₄N₄O**Procedimento:**

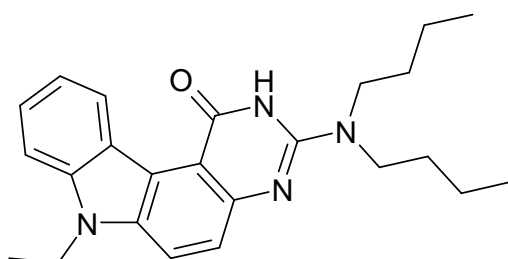
Il 2,7-diidro-7-etil-3-pentilammino-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (**45m**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-9-etil-9*H*-carbazolo (**43**) 2,00 g (9,52 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 1,24 g (9,52 mmoli), *n*-pentilammina 2,48 g (28,56 mmoli), HgCl₂ 2,58 g (9,52 mmoli) in DMF (150 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3262, 2949, 1710, 1463, 1326, 821, 744.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.87-0.91 (m, 6H, CH₂CH₃, CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 1.34-1.36 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 1.60-1.62 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 2.06-2.08 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 3.42-3.43 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃), 4.52-4.54 (q, 2H, CH₂CH₃), 6.51 (s, 1H, NH), 7.19 (d, 1H, J = 8.04 Hz, Ar), 7.48-7.50 (m, 2H, Ar), 7.66 (d, 1H, J = 8.32 Hz, Ar), 8.11 (d, 1H, J = 8.56 Hz, Ar), 9.48 (d, 1H, J = 8.28 Hz, Ar), 10.66 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 348 (M⁺, 100), 278 (57) (M⁺ - C₅H₁₁).

3-Dibutilammino-2,7-diidro-7-etil-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (45n)



Solido crema

Resa % = 78

P.f. = 115 °C

Formula Bruta: C₂₄H₃₀N₄O

Procedimento:

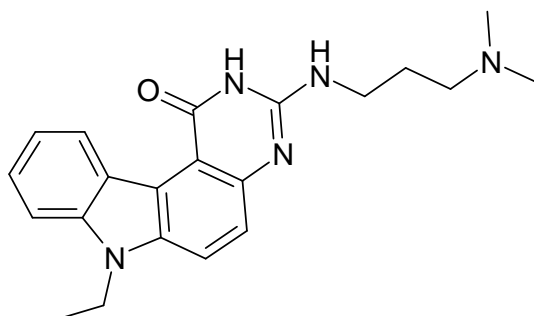
Il 3-dibutilammino-2,7-diidro-7-etil-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (**45n**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-9-etil-9*H*-carbazolo (**43**) 2,00 g (9,52 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 1,24 g (9,52 mmoli), dibutilammina 3,68 g (28,56 mmoli), HgCl₂ 2,58 g (9,52 mmoli) in DMF (150 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3220, 2957, 1645, 1457, 1321, 819, 745.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.87-0.96 (m, 9H, CH₂CH₃, CH₂CH₂CH₂CH₃), 1.28-1.32 (m, 4H, CH₂CH₂CH₂CH₃), 1.54-1.60 (m, 4H, CH₂CH₂CH₂CH₃), 3.48-3.53 (m, 4H, CH₂CH₂CH₂CH₃), 4.92-4.95 (q, 2H, CH₂CH₃), 7.14 (d, 1H, J = 7.80 Hz, Ar), 7.42-7.44 (m, 2H, Ar), 7.60 (d, 1H, J = 8.28 Hz, Ar), 7.96 (d, 1H, J = 8.80 Hz, Ar), 9.55 (d, 1H, J = 8.28 Hz, Ar), 11.00 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 390 (M⁺, 100), 334 (31) (M⁺ - C₄H₉).

2,7-Diidro-3-(3'-dimetilammino-propilammino)-7-etil-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (45o)



Solido crema

Resa % = 56

P.f. = 204 °C

Formula Bruta: C₂₁H₂₅N₅O

Procedimento:

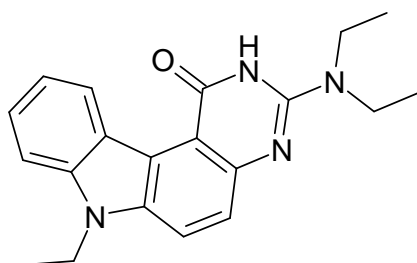
Il 2,7-diidro-3-(3'-dimetilammino-propilammino)-7-etil-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (**45o**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-9-etil-9*H*-carbazolo (**43**) 2,00 g (9,52 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 1,24 g (9,52 mmoli), 3-(dimetilammino)-propilammina 2,91 g (28,56 mmoli), HgCl₂ 2,58 g (9,52 mmoli) in DMF (150 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3251, 2969, 1632, 1461, 1324, 818, 747.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.01-1.04 (t, 6H, CH₃), 1.29-1.33 (t, 3H, CH₂CH₃), 1.74-1.76 (m, 2H, HNCH₂CH₂CH₂N), 3.44-3.47 (m, 4H, HNCH₂CH₂CH₂N), 4.55-4.57 (q, 2H, CH₂CH₃), 6.36 (s, 1H, NH), 7.20 (d, 1H, J = 8.04 Hz, *Ar*), 7.62-7.64 (m, 2H, *Ar*), 7.64 (d, 1H, J = 8.04 Hz, *Ar*), 8.00 (d, 1H, J = 8.80 Hz, *Ar*), 9.63 (d, 1H, J = 8.04 Hz, *Ar*), 11.11 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 363 (M⁺, 100), 292 (97).

3-Dietilammino-2,7-diidro-7-etil-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (45p)



Solido crema

Resa % = 68

P.f. > 266 °C

Formula Bruta: C₂₀H₂₂N₄O

Procedimento:

Il 3-dietilammino-2,7-diidro-7-etil-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (**45p**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-9-etil-9*H*-

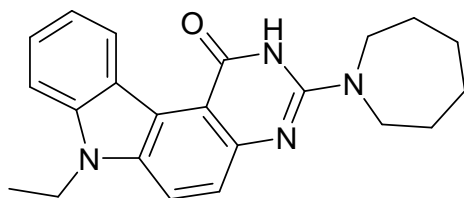
carbazolo (**43**) 2,00 g (9,52 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 1,24 g (9,52 mmoli), dietilammina 2,08 g (28,56 mmoli), HgCl₂ 2,58 g (9,52 mmoli) in DMF (150 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3251, 2969, 1632, 1461, 1324, 818, 747.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.14-1.17 (t, 6H, CH₃), 1.29-1.32 (t, 3H, CH₂CH₃), 3.56-3.58 (q, 4H, CH₂CH₃), 4.48-4.50 (q, 2H, CH₂CH₃), 7.15 (d, 1H, J = 7.80 Hz, *Ar*), 7.42-7.44 (m, 2H, *Ar*), 7.60 (d, 1H, J = 8.04 Hz, *Ar*), 7.96 (d, 1H, J = 8.76 Hz, *Ar*), 9.55 (d, 1H, J = 8.04 Hz, *Ar*), 11.07 (br, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 334 (M⁺, 100), 305 (70) (M⁺ - C₂H₅).

2,7-Diidro-3-esametenimmino-7-etil-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (**45q**)



Solido marrone

Resa % = 66

P.f. = 222 °C

Formula Bruta: C₂₂H₂₄N₄O

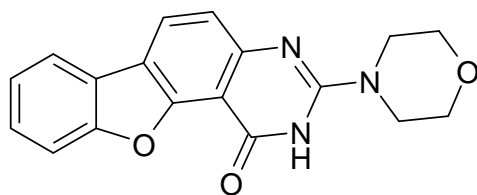
Procedimento:

Il 2,7-diidro-3-esametenimmino-7-etil-pirimido-[4,5-c]-carbazol-1-one (**45q**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-9-etil-9*H*-carbazolo (**43**) 2,00 g (9,52 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 1,24 g (9,52 mmoli), esaidro-1*H*-azepina 2,82 g (28,56 mmoli), HgCl₂ 2,58 g (9,52 mmoli) in DMF (150 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 2940, 1588, 1455, 1317, 824, 750.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.28-1.31 (t, 3H, CH₂CH₃), 1.56-1.57 (m, 4H, CH₂ esametenimmina), 3.03-3.04 (m, 4H, CH₂ esametenimmina), 3.69-3.70 (m, 4H, CH₂ esametenimmina), 4.50-4.52 (q, 2H, CH₂CH₃), 7.16 (d, 1H, J = 7.80 Hz, *Ar*), 7.42-7.44 (m, 2H, *Ar*), 7.61 (d, 1H, J = 8.28 Hz, *Ar*), 7.97 (d, 1H, J = 8.76 Hz, *Ar*), 9.53 (d, 1H, J = 8.52 Hz, *Ar*), 11.00 (br, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 360 (M⁺, 27), 70 (100).

3-Morfolin-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (51a)

Solido grigio

Resa % = 51

P.f. > 270 °C

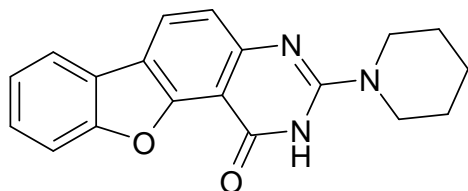
Formula Bruta: C₁₈H₁₅N₃O₃**Procedimento:**

Il 3-morfolin-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**51a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzofurano (**48a**) 0,35 g (1,91 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,25 g (1,91 mmoli), morfolina 0,41 g (4,78 mmoli), HgCl₂ 0,52 g (1,91 mmoli) in DMF (30 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3452, 3108, 2968, 1671, 1588, 1452, 1181, 1118, 1004, 889, 743.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 3.68-3.80 (m, 8H, CH₂ morfolina), 7.38-7.53 (m, 3H, Ar), 7.78 (d, 1H, J = 8.10 Hz, Ar), 8.04 (d, 1H, J = 8.70 Hz, Ar), 8.32 (d, 1H, J = 8.40 Hz, Ar), 11.55 (br, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 322 (M⁺ + 1).

3-Piperidin-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (51b)

Solido grigio

Resa % = 38

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₁₉H₁₇N₃O₂**Procedimento:**

Il 3-piperidin-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**51b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzofurano (**48a**) 0,53 g (2,90 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,38 g (2,90 mmoli), piperidina 0,74 g (8,70 mmoli), HgCl₂ 0,78 g (2,90 mmoli) in DMF (30 mL).

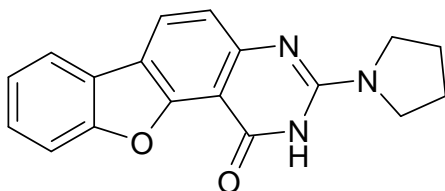
IR (KBr) (cm⁻¹): 3056, 2932, 1671, 1588, 1462, 1259, 1176, 837, 749.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.10-1.15 (m, 2H, CH₂ piperidina), 1.40-1.55 (m, 4H, CH₂ piperidina), 3.58-3.61 (m, 4H, NCH₂ piperidina), 7.18 (d, 1H, J = 8.58 Hz, Ar), 7.28-7.42 (m, 2H, Ar), 7.70 (d, 1H, J = 7.75 Hz, Ar), 8.01 (d, 1H, J = 7.62 Hz, Ar), 8.20 (d, 1H, J = 8.47 Hz, Ar), 11.30 (br, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 319 (M^+ , 100), 290 (100).

MS (ESI⁺): 320 ($M^+ + 1$).

3-Pirrolidin-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (51c)



Solido crema

Resa % = 40

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₁₈H₁₅N₃O₂

Procedimento:

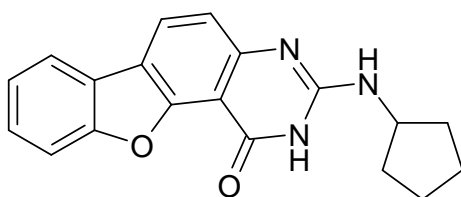
Il 3-pirrolidin-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**51c**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzofurano (**48a**) 0,52 g (2,84 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,37 g (2,84 mmoli), pirrolidina 0,60 g (8,50 mmoli), HgCl₂ 0,77 g (2,84 mmoli) in DMF (40 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3448, 2952, 1681, 1598, 1462, 1191, 832, 743.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.79-1.89 (t, 4H, CH₂ pirrolidina), 3.42-3.47 (t, 4H, NCH₂ pirrolidina), 7.19 (d, 1H, J = 8.55 Hz, Ar), 7.27-7.40 (m, 2H, Ar), 7.69 (d, 1H, J = 7.86 Hz, Ar), 7.90 (dd, 1H, J₁ = 8.63 Hz, J₂ = 1.35 Hz, Ar), 8.18 (d, 1H, J = 8.53 Hz, Ar), 11.10 (br, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 306 ($M^+ + 1$).

3-Ciclopentilammino-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (51d)



Solido grigio

Resa % = 32

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₁₉H₁₇N₃O₂

Procedimento:

Il 3-ciclopentilammino-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**51d**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzofurano (**48a**) 0,23 g (1,26 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,16 g (1,26 mmoli), ciclopentilammina 0,27 g (3,15 mmoli), HgCl₂ 0,34 g (1,26 mmoli) in DMF (30 mL).

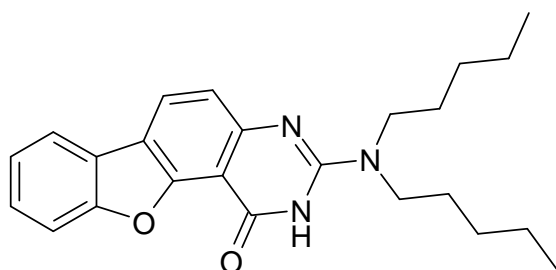
IR (KBr) (cm⁻¹): 3431, 3338, 2947, 1634, 1520, 1332, 1176, 816, 782.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.40–2.20 (m, 8H, CH₂ ciclopentile), 4.30 (m, 1H, CH ciclopentile), 6.90 (br, 1H, NH), 7.30-7.60 (m, 3H, Ar), 7.76 (d, 1H, J = 8.10 Hz, Ar), 8.12 (d, 1H, J = 7.20 Hz, Ar), 8.32 (d, 1H, J = 8.40 Hz, Ar), 11.10 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 319 (M⁺, 45), 251 (100).

MS (ESI⁺): 320 (M⁺ +1).

3-Dipentilammino-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (51e)



Solido rosso

Resa % = 30

P.f. = 180 °C

Formula Bruta: C₂₄H₂₉N₃O₂

Procedimento:

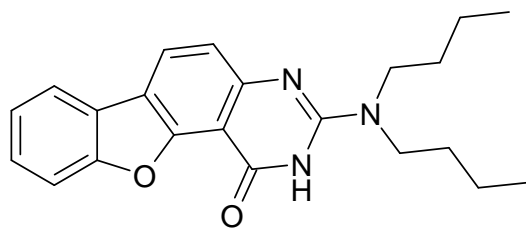
Il 3-dipentilammino-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**51e**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzofurano (**48a**) 0,62 g (3,38 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,44 g (3,38 mmoli), dipentilammina 1,57 g (10,00 mmoli), HgCl₂ 0,92 g (3,38 mmoli) in DMF (50 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3121, 2980, 2943, 1670, 1598, 1460, 1312, 1197, 1025, 823, 745.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.82–0.88 (t, 6H, (CH₂)₄CH₃), 1.26-1.34 (m, 8H, CH₂CH₂(CH₂)₂CH₃), 1.53-1.59 (quint, 4H, CH₂CH₂(CH₂)₂CH₃), 3.49-3.52 (m, 4H, NCH₂CH₂(CH₂)₂CH₃), 7.20 (br, 1H, NH), 7.30-7.50 (m, 3H, Ar), 7.76 (d, 1H, J = 8.08 Hz, Ar), 8.05 (d, 1H, J = 7.60 Hz, Ar), 8.23 (d, 1H, J = 8.52 Hz, Ar).

MS (EI) *m/z* (%): 391 (M⁺, 100), 278 (66).

3-Dibutilammino-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (51f)



Solido grigio

Resa % = 48

P.f. = 192 °C

Formula Bruta: C₂₂H₂₅N₃O₂

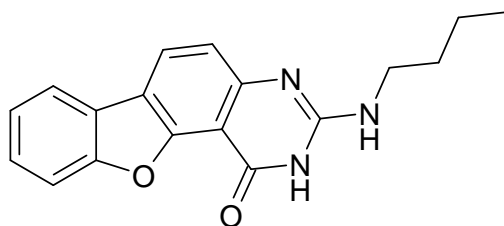
Procedimento:

Il 3-dibutilammino-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**51f**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzofurano (**48a**) 0,49 g (2,67 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,35 g (2,67 mmoli), dibutilammina 0,86 g (6,67 mmoli), HgCl₂ 0,72 g (2,67 mmoli) in DMF (40 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3129, 3051, 2958, 2869, 1660, 1592, 1457, 1176, 1020, 743.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.89-0.94 (t, 6H, (CH₂)₃CH₃), 1.28-1.40 (m, 4H, (CH₂)₂CH₂CH₃), 1.50-1.60 (m, 4H, CH₂CH₂CH₂CH₃), 3.53-3.60 (m, 4H, NCH₂(CH₂)₂CH₃), 7.10-7.60 (m, 3H, *Ar*), 7.77 (d, 1H, J = 7.80 Hz, *Ar*), 8.06 (d, 1H, J = 7.20 Hz, *Ar*), 8.24 (d, 1H, J = 7.80 Hz, *Ar*), 11.30 (br, 1H, *NH*).

MS (ESI⁺): 364 (M⁺ +1).

3-Butilammino-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (51g**)**

Solido bianco

Resa % = 25

P.f. > 270°C

Formula Bruta: C₁₈H₁₇N₃O₂

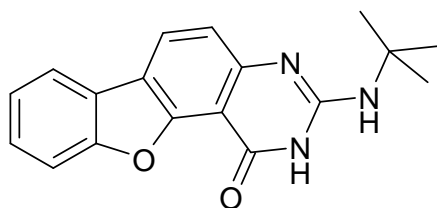
Procedimento:

Il 3-butilammino-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**51g**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzofurano (**48a**) 0,57 g (3,11 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,41 g (3,11 mmoli), butilammina 0,68 g (9,33 mmoli), HgCl₂ 0,84 g (3,11 mmoli) in DMF (40 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3260, 3046, 2958, 2864, 1712, 1681, 1634, 1457, 1348, 1186, 712.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.90-0.95 (t, 3H, CH₃), 1.23-1.38 (m, 2H, CH₂CH₃), 1.55-1.60 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂CH₃), 3.48-3.52 (m, 2H, NCH₂(CH₂)₂CH₃), 6.40 (br, 1H, *NH*), 7.30-7.60 (m, 3H, *Ar*), 7.65-7.90 (m, 1H, *Ar*), 8.15 (d, 1H, J = 7.80 Hz, *Ar*), 8.40 (d, 1H, J = 7.80 Hz, *Ar*), 11.10 (br, 1H, *NH*).

MS (ESI⁺): 308 (M⁺ +1).

3-*ter*-Butilammino-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (51h)

Solido rosso

Resa % = 50

P.f. > 270 °C

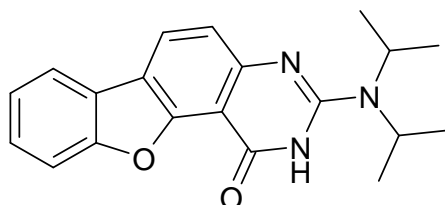
Formula Bruta: C₁₈H₁₇N₃O₂**Procedimento:**

Il 3-*ter*-butilammino-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**51h**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzofurano (**48a**) 0,50 g (2,73 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,36 g (2,73 mmoli), *ter*-butilammina 0,59 g (8,10 mmoli), HgCl₂ 0,73 g (2,73 mmoli) in DMF (40 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3126, 2991, 2945, 1678, 1560, 1465, 1318, 1199, 1027, 826, 748.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.41–1.45 (s, 9H, (CH₃)₃C), 6.13 (br, 1H, NH), 7.27 (d, 1H, J = 8.76 Hz, *Ar*), 7.37-7.47 (m, 2H, *Ar*), 7.72 (d, 1H, J = 8.04 Hz, *Ar*), 8.07 (d, 1H, J = 7.60 Hz, *Ar*), 8.26 (d, 1H, J = 8.56 Hz, *Ar*), 10.64 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 307 (M⁺, 58), 251 (100) (M⁺ – C(CH₃)₃).

3-Diisopropilammino-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (51i)

Solido bianco

Resa % = 32

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₂₀H₂₁N₃O₂**Procedimento:**

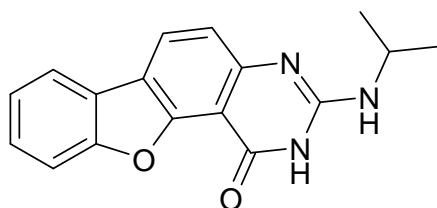
Il 3-diisopropilammino-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**51i**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzofurano (**48a**) 0,34 g (1,85 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,24 g (1,85 mmoli), diisopropilammina 0,46 g (4,62 mmoli), HgCl₂ 0,50 g (1,85 mmoli) in DMF (30 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3452, 3119, 2973, 1666, 1577, 1452, 1348, 1181, 1014, 816, 743.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.20-1.40 (m, 12H, CH(CH₃)₂), 4.10-4.11 (m, 2H, CH(CH₃)₂), 7.20 (br, 1H, NH), 7.30-7.50 (m, 3H, *Ar*), 7.75 (d, 1H, J = 8.10 Hz, *Ar*), 8.08 (d, 1H, J = 7.50 Hz, *Ar*), 8.25 (d, 1H, J = 8.40 Hz, *Ar*).

MS (ESI⁺): 336 (M⁺ +1).

3-Isopropilammino-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (51l)



Solido marrone

Resa % = 23

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₁₇H₁₅N₃O₂

Procedimento:

Il 3-isopropilammino-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**51l**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzofurano (**48a**) 0,60 g (3,27 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,42 g (3,27 mmoli), isopropilammina 0,50 g (8,17 mmoli), HgCl₂ 0,94 g (3,27 mmoli) in DMF (40 mL).

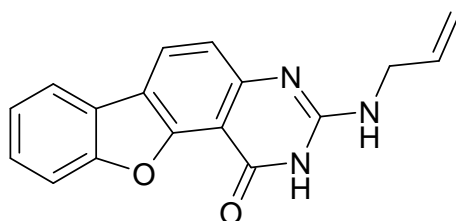
IR (KBr) (cm⁻¹): 3364, 3275, 2702, 1712, 1640, 1551, 1452, 1317, 1181, 936, 821, 634.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.18-1.27 (m, 6H, CH(CH₃)₂), 4.04-4.21 (m, 1H, CH(CH₃)₂), 7.19 (br, 1H, NH), 7.38-7.58 (m, 3H, Ar), 7.80 (d, 1H, J = 8.10 Hz, Ar), 8.15 (d, 1H, J = 7.50 Hz, Ar), 8.40 (d, 1H, J = 8.40 Hz, Ar), 9.70 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 293 (M⁺, 100), 278 (52) (M⁺ - CH₃), 251 (62) (M⁺ - C(CH₃)₂).

MS (ESI⁺): 294 (M⁺ +1).

3-Allilammino-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (51m)



Solido giallo

Resa % = 32

P.f. = 268 °C

Formula Bruta: C₁₇H₁₃N₃O₂

Procedimento:

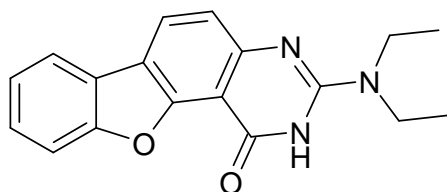
Il 3-allilammino-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**51m**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzofurano (**48a**) 0,32 g (1,74 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,23 g (1,74 mmoli), allilammina 0,30 g (5,22 mmoli), HgCl₂ 0,47 g (1,74 mmoli) in DMF (30 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3396, 3275, 3062, 2926, 1718, 1634, 1556, 1337, 1191, 837.

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$): δ 3.99–4.06 (m, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.11–5.27 (m, 2H, $\text{NCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 5.88–5.97 (m, 1H, $\text{NCH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$), 7.00 (br, 1H, NH), 7.25–7.50 (m, 3H, Ar), 7.74 (d, 1H, $J = 8.00$ Hz, Ar), 8.08 (d, 1H, $J = 7.27$ Hz, Ar), 8.32 (d, 1H, $J = 8.56$ Hz, Ar), 8.70 (br, 1H, NH).

$\text{MS (ESI}^+)$: 292 ($\text{M}^+ + 1$).

3-Dietilammino-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (51n)



Solido arancione

Resa % = 50

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: $\text{C}_{18}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_2$

Procedimento:

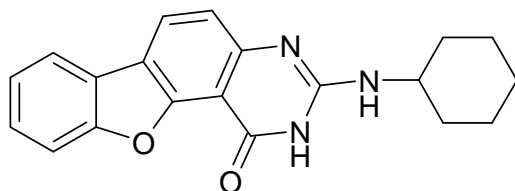
Il 3-dietilammino-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**51n**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzofurano (**48a**) 0,61 g (3,10 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,44 g (3,10 mmoli), dietilammina 0,66 g (9,10 mmoli), HgCl_2 0,81 g (3,10 mmoli) in DMF (50 mL).

$\text{IR (KBr)} (\text{cm}^{-1})$: 3119, 2977, 2932, 1668, 1596, 1457, 1304, 1187, 1021, 819, 739.

$^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO-}d_6$): δ 1.10–1.15 (t, 6H, NCH_2CH_3), 3.57–3.61 (q, 4H, NCH_2CH_3), 7.25 (br, 1H, NH), 7.26–7.50 (m, 3H, Ar), 7.76 (d, 1H, $J = 8.04$ Hz, Ar), 8.06 (d, 1H, $J = 7.60$ Hz, Ar), 8.25 (d, 1H, $J = 8.52$ Hz, Ar).

$\text{MS (EI)} m/z$ (%): 307 (M^+ , 100), 278 (100) ($\text{M}^+ - \text{C}_2\text{H}_5$)

3-Cicloesilammino-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (51o)



Solido marrone

Resa % = 20

P.f. = 202 °C

Formula Bruta: $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2$

Procedimento:

Il 3-cicloesilammino-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**51o**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzofurano

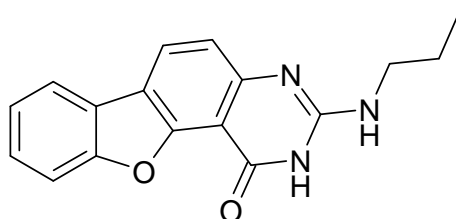
(48a) 0,23 g (1,26 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,16 g (1,26 mmoli), cicloesilammina 0,31 g (3,15 mmoli), HgCl₂ 0,34 g (1,26 mmoli) in DMF (30 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3336, 2926, 2854, 1629, 1577, 889, 645.

¹H NMR (DMSO-d₆): 1.00-1.80 (m, 10H, CH₂ cicloesilammina), 3.90-3.91 (m, 1H, CH cicloesilammina), 5.60 (br, 1H, NH), 7.40-7.60 (m, 3H, Ar), 7.75 (d, 1H, J = 7.20 Hz, Ar), 8.10 (d, 1H, J = 9.60 Hz, Ar), 8.32 (d, 1H, J = 8.70 Hz, Ar), 11.00 (br, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 333 (M⁺, 91), 251 (100) (M⁺ - cicloesile).

3-Propilammino-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (51p)



Solido marrone

Resa % = 25

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₁₇H₁₅N₃O₂

Procedimento:

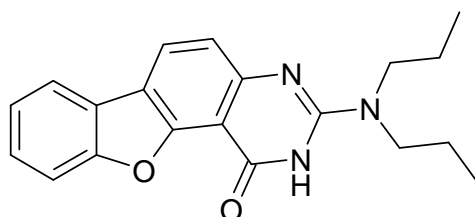
Il 3-propilammino-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**51p**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzofurano (**48a**) 0,24 g (1,31 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,17 g (1,31 mmoli), propilammina 0,16 g (2,62 mmoli), HgCl₂ 0,35 g (1,31 mmoli) in DMF (30 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3344, 2959, 2874, 1674, 1636, 1518, 1475, 1340, 1186, 740, 634.

¹H NMR (DMSO-d₆): δ 0.94-1.07 (t, 3H, CH₃), 1.50-1.70 (m, 4H, CH₂CH₂CH₃), 6.55 (br, 1H, NH), 7.35-7.55 (m, 3H, Ar), 7.75 (d, 1H, J = 8.10 Hz, Ar), 8.10 (d, 1H, J = 7.20 Hz, Ar), 8.30 (d, 1H, J = 8.76 Hz, Ar), 11.10 (br, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 293 (M⁺, 100), 278 (39) (M⁺ - CH₃), 264 (100) (M⁺ - CH₂CH₃), 235 (77) (M⁺ - CH₂CH₂CH₃).

3-Dipropilammino-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (51q)



Solido giallo

Resa % = 30

P.f. = 246 °C

Formula Bruta: C₂₀H₂₁N₃O₂

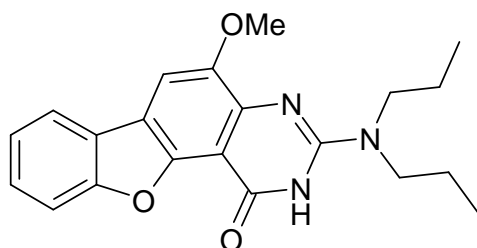
Procedimento:

Il 3-dipropilammino-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**51q**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzofurano (**48a**) 0,26 g (1,42 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,19 g (1,42 mmoli), dipropilammina 0,29 g (2,84 mmoli), HgCl₂ 0,38 g (1,42 mmoli) in DMF (30 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3135, 2963, 1662, 1583, 1456, 1186, 825, 745, 519.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.82-0.92 (t, 6H, CH₃), 1.50-1.70 (m, 4H, CH₂CH₃), 3.45-3.55 (t, 4H, NCH₂CH₂CH₃), 7.22 (d, 1H, J = 8.70 Hz, *Ar*), 7.30-7.50 (m, 2H, *Ar*), 7.75 (d, 1H, J = 8.01 Hz, *Ar*), 8.08 (d, 1H, J = 7.60 Hz, *Ar*), 8.25 (d, 1H, J = 8.58 Hz, *Ar*), 11.25 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 335 (M⁺, 100), 306 (75) (M⁺ - CH₂CH₃), 292 (61) (M⁺ - CH₂CH₂CH₃).

3-Dipropilammino-5-metossi-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (53a)

Solido giallo

Resa % = 60

P.f. = 254 °C

Formula Bruta: C₂₁H₂₃N₃O₃

Procedimento:

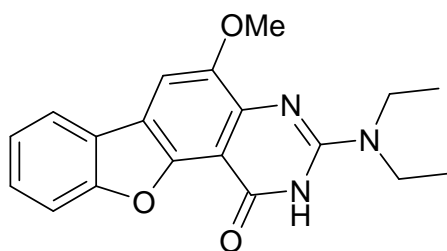
Il 3-dipropilammino-5-metossi-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**53a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-2-metossi-dibenzofurano (**55**) 1,00 g (4,69 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,62 g (4,69 mmoli), dipropilammina 1,19 g (11,70 mmoli), HgCl₂ 1,27 g (4,69 mmoli) in DMF (80 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3130, 2960, 1667, 1582, 1459, 1187, 1016, 746, 620, 554.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.89-0.92 (t, 6H, CH₂CH₃), 1.51-1.54 (m, 4H, CH₂CH₂CH₃), 3.49-3.52 (m, 4H, NCH₂CH₂CH₃), 3.95 (s, 3H, OCH₃), 7.32-7.48 (m, 2H, *Ar*), 7.71 (d, 1H, J = 7.50 Hz, *Ar*), 7.88 (s, 1H, *Ar*), 8.06 (d, 1H, J = 7.20 Hz, *Ar*), 11.25 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 365 (M⁺, 100), 322 (50) (M⁺ - CH₂CH₂CH₃), 294 (100).

MS (ESI⁺): 366 (M⁺ + 1).

3-Dietilammino-5-metossi-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (53b)

Solido giallo

Resa % = 55

P.f. = 262 °C

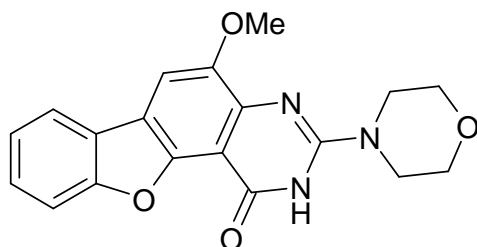
Formula Bruta: C₁₉H₁₉N₃O₃**Procedimento:**

Il 3-dietilammino-5-metossi-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**53b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-2-metossidibenzofurano (**55**) 1,00 g (4,70 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,61 g (4,70 mmoli), dietilammina 1,03 g (14,10 mmoli), HgCl₂ 1,28 g (4,70 mmoli) in DMF (80 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 2971, 1659, 1598, 1443, 1353, 1173, 1056, 1019, 845, 738.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.12-1.18 (m, 6H, CH₃), 3.60-3.67 (m, 4H, CH₂CH₃), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 7.26-7.50 (m, 2H, Ar), 7.70 (d, 1H, J = 8.28 Hz, Ar), 7.87 (s, 1H, Ar), 8.07 (d, J = 8.56 Hz, 1H, Ar), 10.30 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 337 (M⁺, 100), 308 (100) (M⁺ - CH₂CH₃),

5-Metossi-3-morfolin-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (53c)

Solido crema

Resa % = 40

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₁₉H₁₇N₃O₄**Procedimento:**

Il 5-metossi-3-morfolin-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**53c**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-2-metossidibenzofurano (**55**) 0,50 g (2,34 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,31 g (2,34 mmoli), morfolina 0,51 g (5,85 mmoli), HgCl₂ 0,63 g (2,34 mmoli) in DMF (30 mL).

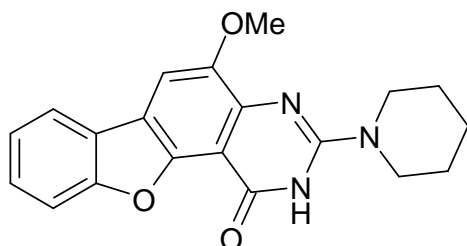
IR (KBr) (cm⁻¹): 3435, 2956, 1678, 1587, 1451, 1261, 1169, 1117, 1061, 1010, 872, 744, 556.

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 3.60-3.75 (m, 8H, CH_2 morfolina), 3.95 (s, 3H, OCH_3), 7.35-7.50 (m, 2H, Ar), 7.75 (d, 1H, $J = 8.28$ Hz, Ar), 7.95 (s, 1H, Ar), 8.10 (d, 1H, $J = 8.56$ Hz, Ar), 11.20 (br, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 351 (M^+ , 100).

MS (ESI $^+$): 352 ($\text{M}^+ + 1$).

5-Metossi-3-piperidin-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (53d)



Solido giallo

Resa % = 83

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_3$

Procedimento:

Il 5-metossi-3-piperidin-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**53d**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-2-metossidibenzofurano (**55**) 0,50 g (2,34 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,31 g (2,34 mmoli), piperidina 0,50 g (5,85 mmoli), HgCl_2 0,63 g (2,34 mmoli) in DMF (30 mL).

IR (KBr) (cm^{-1}): 2941, 2841, 1678, 1586, 1463, 1353, 1232, 1058, 798, 739, 555.

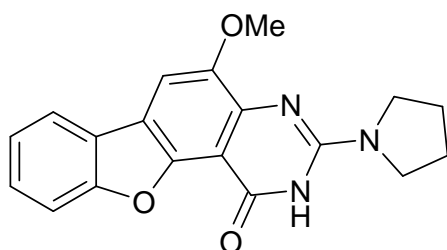
$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 1.47-1.70 (m, 6H, CH_2 piperidina), 2.93-3.02 (m, 4H, $\text{H}_2\text{C-N-CH}_2$ piperidina), 3.96 (s, 3H, OCH_3), 7.32-7.50 (m, 2H, Ar), 7.75 (d, 1H, $J = 8.28$ Hz, Ar), 7.92 (s, 1H, Ar), 8.10 (d, 1H, $J = 8.56$ Hz, Ar), 9.80 (br, 1H, NH).

$^{13}\text{C NMR}$ (DMSO- d_6): 155.61, 125.63, 123.85, 122.89, 119.83, 115.84, 111.48, 107.37, 56.71, 45.61, 43.59, 25.17, 23.91, 22.10, 21.68.

MS (EI) m/z (%): 349 (M^+ , 100), 334 (27) ($\text{M}^+ - \text{CH}_3$).

MS (ESI $^+$): 350 ($\text{M}^+ + 1$).

5-Metossi-3-pirrolidin-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (53e)



Solido bianco

Resa % = 54

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_3$

Procedimento:

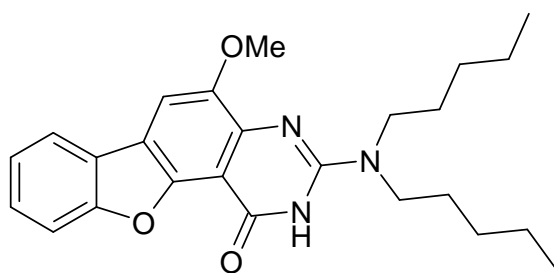
Il 5-metossi-3-pirrolidin-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**53e**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-2-metossi-dibenzofurano (**55**) 0,50 g (2,34 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,31 g (2,34 mmoli), pirrolidina 0,41 g (5,79 mmoli), HgCl₂ 0,63 g (2,34 mmoli) in DMF (30 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3432, 2955, 1681, 1599, 1466, 1355, 1193, 1060, 740, 555.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.90-1.93 (m, 4H, CH₂ pirrolidina), 3.53-3.55 (m, 4H, CH₂-N-CH₂ pirrolidina), 3.94 (s, 3H, OCH₃), 7.35-7.41 (m, 2H, *Ar*), 7.70 (d, 1H, J = 8.32 Hz, *Ar*), 7.85 (s, 1H, *Ar*), 8.04 (d, 1H, J = 7.08 Hz, *Ar*), 11.30 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 335 (M⁺, 100), 320 (25) (M⁺ - CH₃).

MS (ESI⁺): 336 (M⁺ +1).

3-Dipentilammino-5-metossi-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (53f)

Solido crema

Resa % = 25

P.f. = 148 °C

Formula Bruta: C₂₅H₃₁N₃O₃

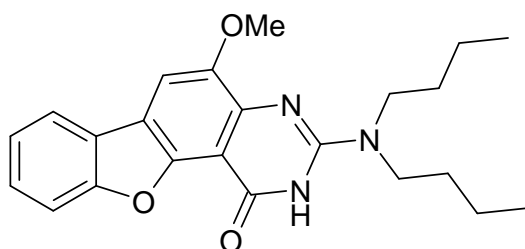
Procedimento:

Il 3-dipentilammino-5-metossi-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**53f**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-2-metossi-dibenzofurano (**55**) 1,50 g (7,03 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,92 g (7,03 mmoli), dipentilammina 2,72 g (17,60 mmoli), HgCl₂ 1,90 g (7,03 mmoli) in DMF (100 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3143, 2928, 1665, 1583, 1462, 1188, 1055, 819, 752, 619.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.80-1.00 (m, 6H, CH₃), 1.05-1.45 (m, 8H, CH₂CH₂CH₃), 1.51-1.90 (m, 4H, CH₂CH₂CH₂CH₃), 3.45-3.60 (m, 4H, NCH₂), 3.95 (s, 3H, OCH₃), 7.35-7.50 (m, 2H, *Ar*), 7.75 (d, 1H, J = 9.00 Hz, *Ar*), 7.88 (s, 1H, *Ar*), 8.08 (d, 1H, J = 6.90 Hz, *Ar*), 11.29 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 421 (M⁺, 22), 100 (100).

3-Dibutilammino-5-metossi-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (53g)

Solido giallo

Resa % = 70

P.f. = 196 °C

Formula Bruta: C₂₃H₂₇N₃O₃**Procedimento:**

Il 3-dibutilammino-5-metossi-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**53g**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-2-metossi-dibenzofurano (**55**) 1,00 g (4,69 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,61 g (4,69 mmoli), dibutilammina 1,20 g (9,38 mmoli), HgCl₂ 1,27 g (4,69 mmoli) in DMF (80 mL).

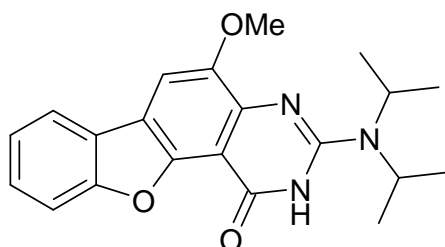
IR (KBr) (cm⁻¹): 3126, 3050, 2955, 1656, 1599, 1462, 1187, 1052, 799, 740, 556.

¹H NMR (CDCl₃): δ 0.80-0.97 (m, 6H, CH₃), 1.25-1.48 (m, 4H, CH₂CH₃), 1.51-1.90 (m, 4H, CH₂CH₂CH₃), 3.60-3.80 (m, 4H, NCH₂), 3.95 (s, 3H, OCH₃), 7.25-7.40 (m, 2H, Ar), 7.50 (s, 1H, Ar), 7.60 (d, 1H, J = 8.10 Hz, Ar), 7.80 (d, 1H, J = 7.20 Hz, Ar), 9.42 (br, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆): 155.61, 147.79, 125.47, 123.92, 122.84, 119.74, 111.46, 108.17, 57.15, 46.90, 46.45, 29.60, 27.41, 19.39, 19.29, 13.66, 13.37.

MS (EI) *m/z* (%): 393 (M⁺, 77), 294 (100).

MS (ESI⁺): 394 (M⁺ + 1).

3-Diisopropilammino-5-metossi-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (53h)

Solido giallo

Resa % = 58

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₂₁H₂₃N₃O₃**Procedimento:**

Il 3-diisopropilammino-5-metossi-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**53h**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-2-metossi-dibenzofurano (**55**) 0,50 g (2,34 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,31 g (2,34

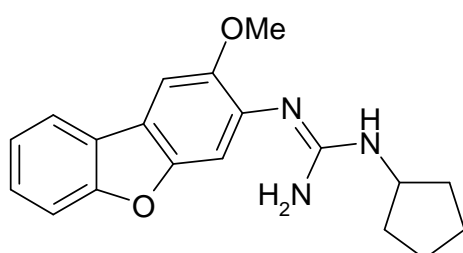
mmoli), diisopropilammina 0,59 g (5,85 mmoli), HgCl₂ 0,63 g (2,34 mmoli) in DMF (30 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3058, 2960, 1663, 1586, 1445, 1336, 1135, 1014, 743, 609, 555.

¹H NMR (CDCl₃): δ 1.35-1.39 (m, 12H, CH₃), 4.00 (s, 3H, OCH₃), 4.49-4.51 (m, 2H, CH), 7.25-7.37 (m, 2H, Ar), 7.45 (s, 1H, Ar), 7.69 (d, 1H, J = 8.10 Hz, Ar), 7.80 (d, 1H, J = 7.50 Hz, Ar), 9.00 (br, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 365 (M⁺, 73), 322 (100) (M⁺ - CH(CH₃)₂).

***N*-(2-metossi-dibenzofuro-3-il)-*N'*-ciclopentil-guanidina (53i)**



Solido crema

Resa % = 25

P.f. = 242 °C

Formula Bruta: C₁₉H₂₁N₃O₂

Procedimento:

La *N*-(2-metossi-dibenzofuro-3-il)-*N'*-ciclopentil-guanidina (**53i**) è stata ottenuta seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-2-metossi-dibenzofurano (**55**) 0,50 g (2,34 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,31 g (2,34 mmoli), ciclopentilammina 0,50 g (5,85 mmoli), HgCl₂ 0,63 g (2,34 mmoli) in DMF (30 mL).

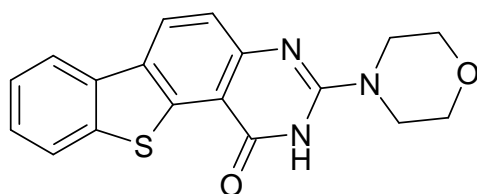
IR (KBr) (cm⁻¹): 3427, 3122, 1642, 1473, 1313, 1026, 766.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.45-2.05 (m, 8H, CH₂ ciclopentilammina), 3.93 (s, 3H, OCH₃), 3.95 (m, 1H, CH ciclopentilammina), 7.38-7.42 (m, 1H, Ar), 7.49-7.52 (m, 1H, Ar), 7.61 (s, 1H, Ar), 7.67 (d, 1H, J = 8.32 Hz, Ar), 7.85 (br, 3H, NH, NH₂), 7.90 (s, 1H, Ar), 8.15 (d, 1H, J = 7.80 Hz, Ar).

MS (EI) m/z (%): 323 (M⁺, 66), 292 (49) (M⁺ - OCH₃), 224 (100).

MS (ESI⁺): 324 (M⁺ + 1).

3-Morfolin-2*H*-benzotieno-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (52a)



Solido verde

Resa % = 50

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₁₈H₁₅N₃O₂S

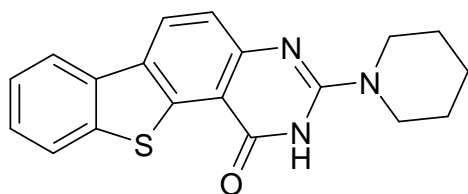
Procedimento:

Il 3-morfolin-2*H*-benzotieno-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**52a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzotiofene (**48b**) 0,23 g (1,15 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,15 g (1,15 mmoli), morfolina 0,25 g (2,90 mmoli), HgCl₂ 0,31 g (1,15 mmoli) in DMF (20 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3649, 3056, 2960, 1647, 1581, 1456, 1115, 1065, 884, 775.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 3.50-3.62 (m, 8H, CH₂ morfolina), 7.30-7.42 (m, 3H, *Ar*), 7.92 (d, 1H, J = 7.80 Hz, *Ar*), 8.11 (d, 1H, J = 8.70 Hz, *Ar*), 9.68 (d, 1H, J = 9.00 Hz, *Ar*), 11.35 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 337 (M⁺, 100).

3-Piperidin-2*H*-benzotieno-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (52b)

Solido marrone

Resa % = 42

P.f. = 228 °C

Formula Bruta: C₁₉H₁₇N₃OS

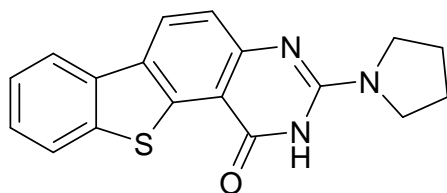
Procedimento:

Il 3-piperidin-2*H*-benzotieno-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**52b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzotiofene (**48b**) 0,16 g (0,80 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,10 g (0,80 mmoli), piperidina 0,17 g (2,00 mmoli), HgCl₂ 0,22 g (0,80 mmoli) in DMF (20 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3220, 3200, 2918, 1648, 1585, 1395, 1256, 1121, 731.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.58-1.62 (m, 2H, CH₂ piperidina), 2.40-2.60 (m, 4H, CH₂ piperidina), 3.50-3.80 (m, 4H, N(CH₂)₂ piperidina), 7.40-7.52 (m, 3H, *Ar*), 8.02 (d, 1H, J = 7.79 Hz, *Ar*), 8.14-8.23 (d, 1H, J = 8.80 Hz, *Ar*), 9.79 (d, 1H, J = 8.80 Hz, *Ar*), 11.32 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 335 (M⁺, 100).

3-Pirrolidin-2H-benzotieno-[2,3-c]-chinazolin-1-one (52c)

Solido marrone

Resa % = 50

P.f. > 270 °C

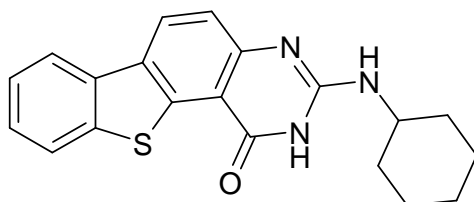
Formula Bruta: C₁₈H₁₅N₃OS**Procedimento:**

Il 3-pirrolidin-2H-benzotieno-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**52c**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzotiofene (**48b**) 0,42 g (2,08 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,27 g (2,08 mmoli), pirrolidina 0,37 g (5,20 mmoli), HgCl₂ 0,57 g (2,08 mmoli) in DMF (30 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3735, 2968, 2343, 1645, 1543, 1396, 811, 759.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.90-1.95 (m, 4H, CH₂ pirrolidina), 3.55-3.58 (t, 4H, NCH₂ pirrolidina), 7.37-7.51 (m, 3H, Ar), 7.95-8.05 (d, 1H, J = 8.00 Hz, Ar), 8.09-8.15 (d, 1H, J = 8.80 Hz, Ar), 9.82 (d, 1H, J = 8.80 Hz, Ar), 10.90-11.10 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 321 (M⁺, 100).

3-Cicloesilammino-2H-benzotieno-[2,3-c]-chinazolin-1-one (52d)

Solido giallo

Resa % = 52

P.f. > 260 °C

Formula Bruta: C₂₀H₁₉N₃OS**Procedimento:**

Il 3-cicloesilammino-2H-benzotieno-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**52d**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzotiofene (**48b**) 0,10 g (0,50 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,07 g (0,50 mmoli), cicloesilammina 0,12 g (1,25 mmoli), HgCl₂ 0,14 g (0,50 mmoli) in DMF (20 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3417, 2925, 2851, 1632, 1429, 1154, 826, 753, 617.

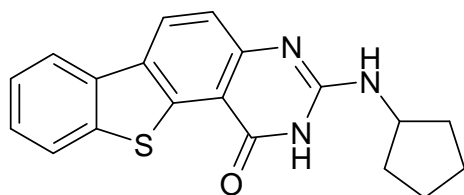
¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.19-1.42 (m, 4H, CH₂ cicloesilammina), 1.54-1.60 (m, 2H, CH₂ cicloesilammina), 1.65-1.68 (m, 2H, CH₂ cicloesilammina), 1.90-1.98 (m, 2H, CH₂ cicloesilammina), 3.87-3.91 (m, 1H, CH cicloesilammina), 6.50 (br, 1H, NH), 7.40-7.52

(m, 3H, Ar), 8.00 (d, 1H, J = 7.84 Hz, Ar), 8.19 (d, 1H, J = 8,76 Hz, Ar), 9.82 (d, 1H, J = 8,76 Hz, Ar), 11.00 (br, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 349 (M^+ , 43), 267 (100) (M^+ - cicloesile).

MS (ESI⁺): 350 (M^+ +1), 348 (M^+ -1).

3-Ciclopentilammino-2H-benzotieno-[2,3-c]-chinazolin-1-one (52e)



Solido crema

Resa % = 40

P.f. > 268 °C

Formula Bruta: C₁₉H₁₇N₃OS

Procedimento:

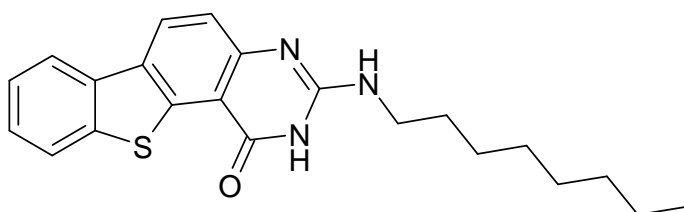
Il 3-ciclopentilammino-2H-benzotieno-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**52e**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzotiofene (**48b**) 0,90 g (4,52 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,59 g (4,52 mmoli), ciclopentilammina 0,96 g (11,20 mmoli), HgCl₂ 1,23 g (4,52 mmoli) in DMF (70 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3419, 2954, 1628, 1460, 1301, 824, 758.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.50–2.10 (m, 8H, CH₂ ciclopentile), 4.30-4.40 (m, 1H, CH ciclopentile), 5.90-6.01 (br, 1H, NH), 7.42-7.66 (m, 3H, Ar), 8.00 (d, 1H, J = 7.84 Hz Ar), 8.30 (d, 1H, J = 8.76 Hz, Ar), 9.70 (d, 1H, J = 8.32 Hz, Ar), 11.10 (br, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 335 (M^+ , 53), 267 (100) (M^+ - ciclopentile).

3-*n*-Ottilammino-2H-benzotieno-[2,3-c]-chinazolin-1-one (52f)



Solido marrone

Resa % = 43

P.f. > 212 °C

Formula Bruta: C₂₂H₂₅N₃OS

Procedimento:

Il 3-*n*-ottilammino-2H-benzotieno-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**52f**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzotiofene (**48b**) 0,31 g (1,56 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,20 g (1,56 mmoli), *n*-ottilammina 0,50 g (3,90 mmoli), HgCl₂ 0,42 g (1,56 mmoli) in DMF (20 mL).

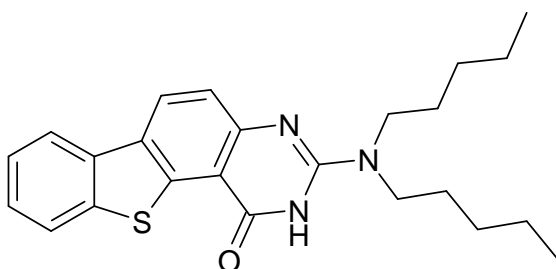
IR (KBr) (cm⁻¹): 3333, 2925, 2852, 1705, 1615, 1458, 1303, 1154, 823, 757, 729, 619.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.80-0.88 (t, 3H, CH₃), 1.20-1.38 (m, 10H, CH₂CH₂(CH₂)₅CH₃), 1.54-1.61 (quint, 2H, CH₂CH₂(CH₂)₅CH₃), 2.90-2.93 (m, 2H, NCH₂(CH₂)₆CH₃), 5.66 (br, 1H, NH), 6.65 (br, 1H, NH), 7.43-7.50 (m, 3H, Ar), 8.00 (d, 1H, J = 7,80 Hz, Ar), 8.21 (d, 1H, J = 7.80 Hz, Ar), 9.82 (d, 1H, J = 7,80 Hz, Ar).

MS (EI) *m/z* (%): 379 (M⁺, 91), 267 (100) (M⁺ - (CH₂)₇CH₃).

MS (ESI⁺): 380 (M⁺ +1), 378 (M⁺ -1).

3-Dipentilammino-2*H*-benzotieno-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (52g)



Solido giallo

Resa % = 44

P.f. > 200 °C

Formula Bruta: C₂₄H₂₉N₃OS

Procedimento:

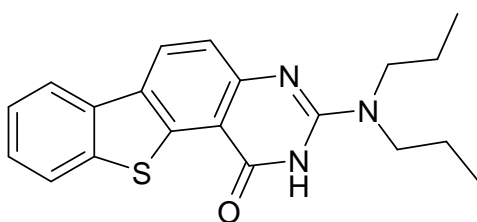
Il 3-dipentilammino-2*H*-benzotieno-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**52g**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzotiofene (**48b**) 1,00 g (5,00 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,66 g (5,00 mmoli), dipentilammina 2,00 g (12,50 mmoli), HgCl₂ 1,40 g (5,00 mmoli) in DMF (90 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3435, 2954, 2927, 1635, 1600, 1456, 1307, 1132, 827, 729, 624.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.82-0.97 (t, 6H, CH₃), 1.20-1.38 (m, 8H, CH₂CH₂(CH₂)₂CH₃), 1.58 (quint, 4H, CH₂CH₂(CH₂)₂CH₃), 3.46-3.56 (t, 4H, NCH₂(CH₂)₃CH₃), 7.40-7.50 (m, 3H, Ar), 8.00 (d, 1H, J = 7.80 Hz, Ar), 8.15 (d, 1H, J = 8.80 Hz, Ar), 9.80 (d, 1H, J = 7.56 Hz, Ar), 11.20 (br, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 408 (M⁺ +1).

3-Dipropilammino-2*H*-benzotieno-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (52h)



Solido verde

Resa % = 40

P.f. = 234 °C

Formula Bruta: C₂₀H₂₁N₃OS

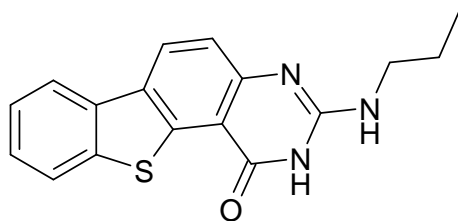
Procedimento:

Il 3-dipropilammino-2*H*-benzotieno-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**52h**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzotiofene (**48b**) 0,15 g (0,73 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,10 g (0,73 mmoli), dipropilammina 0,18 g (1,83 mmoli), HgCl₂ 0,20 g (0,73 mmoli) in DMF (30 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3166, 2962, 1637, 1581, 1455, 1302, 785, 503.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.83-0.93 (t, 6H, CH₃), 1.53-1.66 (sest, 4H, CH₂CH₃), 3.46-3.56 (t, 4H, CH₂CH₂CH₃), 7.40-7.52 (m, 3H, Ar), 7.98 (d, 1H, J = 7.84 Hz, Ar), 8.15 (d, 1H, J = 8.80 Hz, Ar), 9.80 (d, 1H, J = 7.84 Hz, Ar), 11.20 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 351 (M⁺, 93), 280 (100).

3-Propilammino-2*H*-benzotieno-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (52i**)**

Solido marrone

Resa % = 41

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₁₇H₁₅N₃OS

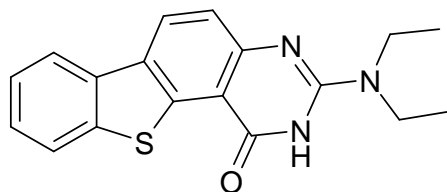
Procedimento:

Il 3-propilammino-2*H*-benzotieno-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**52i**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzotiofene (**48b**) 0,31 g (1,56 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,20 g (1,56 mmoli), *n*-propilammina 0,42 g (4,70 mmoli), HgCl₂ 0,30 g (1,56 mmoli) in DMF (40 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3735, 3264, 2957, 2871, 1715, 1636, 1458, 1300, 829, 753.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.87-0.98 (t, 3H, CH₃), 1.58-1.68 (sest, 2H, CH₂CH₂CH₃), 3.40-3.60 (m, 2H, CH₂CH₂CH₃), 6.50 (br, 1H, NH), 7.44-7.55 (m, 3H, Ar), 7.99 (d, 1H, J = 8.04 Hz, Ar), 8.30 (d, 1H, J = 8.80 Hz, Ar), 9.80 (d, 1H, J = 8.32 Hz, Ar), 11.10 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 309 (M⁺, 100), 267 (99) (M⁺ - (CH₂)₂CH₃).

3-Dietilammino-2*H*-benzotieno-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (52l)

Solido giallo

Resa % = 53

P.f. = 232 °C

Formula Bruta: C₁₈H₁₇N₃OS**Procedimento:**

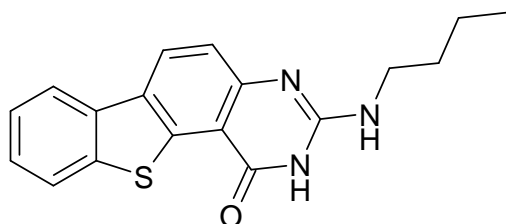
Il 3-dietilammino-2*H*-benzotieno-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**52l**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzotiofene (**48b**) 1,00 g (5,00 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,66 g (5,00 mmoli), dietilammina 1,10 g (15,00 mmoli), HgCl₂ 1,36 g (5,00 mmoli) in DMF (90 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3430, 2971, 2362, 1640, 1605, 1283, 1039, 827, 716.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.10-1.20 (t, 6H, CH₂CH₃), 3.58-3.62 (q, 4H, CH₂CH₃), 7.42-7.50 (m, 3H, *Ar*), 8.00 (d, 1H, J = 6,80 Hz, *Ar*), 8.15 (d, 1H, J = 8,76 Hz, *Ar*), 9.82 (d, 1H, J = 7.80 Hz, *Ar*), 11.25 (br, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆): 158.332, 135.296, 130.779, 128.385, 124.955, 124.165, 121.532, 120.833, 118.735, 117.698, 36.555, 35.411, 35.197, 34.992, 34.786, 34.572, 34.336, 34.161.

Ms (ESI⁺): 324 (M⁺ +1).

3-Butilammino-2*H*-benzotieno-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (52m)

Solido marrone

Resa % = 35

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₁₈H₁₇N₃OS**Procedimento:**

Il 3-butilammino-2*H*-benzotieno-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**52m**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**34a**) ed utilizzando 3-ammino-dibenzotiofene (**48b**) 0,20 g (1,02 mmoli), etossicarbonil-isotiocianato 0,13 g (1,02 mmoli), *n*-butilammina 0,19 g (2,57 mmoli), HgCl₂ 0,28 g (1,02 mmoli) in DMF (30 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3261, 2954, 2868, 1706, 1636, 1457, 1300, 1029, 757.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.65-0.75 (t, 3H, CH₂CH₃), 1.11-1.27 (sest, 2H, CH₂CH₃), 1.28-1.40 (quint, 2H, CH₂CH₂CH₂CH₃), 3.18-3.30 (m, 2H, NCH₂(CH₂)₂CH₃), 7.00 (br, 1H, NH), 7.20-7.48 (m, 3H, *Ar*), 7.85 (d, 1H, *J* = 7.80 Hz, *Ar*), 8.10 (d, 1H, *J* = 8.40 Hz, *Ar*), 9.58 (d, 1H, *J* = 8.10 Hz, *Ar*), 11.30 (br, 1H, NH).

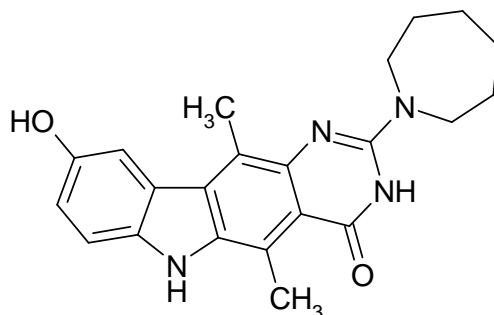
MS (EI) *m/z* (%): 323 (M⁺, 100), 267 (90) (M⁺ – (CH₂)₃CH₃).

6.17 PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI:

- **3,6-Diidro-5,11-dimetil-9-idrossi-pirimido-[5,4-b]-carbazoli** **diversamente sostituiti (41c-h);**
- ***N*-(6-idrossi-1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-guanidine (41l).**

La preparazione del 3,6-diidro-5,11-dimetil-2-esametenimmino-9-idrossi-pirimido-[5,4b]-carbazol-4-one (41h) è riportata come esempio rappresentativo.

3,6-Diidro-5,11-dimetil-2-esametenimmino-9-idrossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (41h)



Solido verde

Resa % = 50

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₂₂H₂₄N₄O₂

Procedimento:

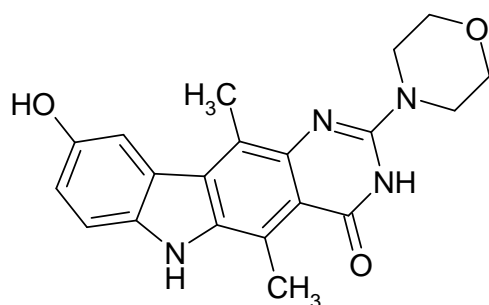
In un pallone da 250 mL munito di agitatore elettromagnetico, si dissolve in MeOH (70 mL) il 3,6-diidro-5,11-dimetil-2-esametenimmino-9-etossicarbonilossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**37h**) (0,15 g; 0,34 mmoli) e vi si aggiunge NaBH₄ (0,13 g; 3,35 mmoli). La miscela ottenuta si lascia reagire a riflusso per 5 h e successivamente si evapora a pressione ridotta. Al grezzo ottenuto, si aggiunge H₂O (20 mL) e poi si neutralizza la sospensione acquosa ottenuta (pH = 7) con HCl 1 N. Infine, si filtra sotto vuoto, ed il solido si lava con H₂O, con acetonitrile e poi con Et₂O. Si ottiene un solido puro.

IR (KBr) (cm⁻¹): 3426, 3253, 2928, 1601, 1462, 1336, 1223, 1021, 810.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.45-1.52 (m, 4H, CH₂ esametenimmina), 1.75-1.78 (m, 4H, CH₂ esametenimmina), 2.86 (s, 3H, CH₃), 2.93 (s, 3H, CH₃), 3.66-3.70 (m, 4H, CH₂ esametenimmina), 6.94 (d, 1H, J = 8.80 Hz, *Ar*), 7.29 (d, 1H, J = 8.80 Hz, *Ar*), 7.58 (s, 1H, *Ar*), 8.94 (s, 1H, NH), 10.67 (s, 2H, NH, OH).

MS (ESI⁺): 377 (M⁺ +1).

3,6-Diidro-5,11-dimetil-9-idrossi-2-morfolin-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (41c)



Solido verde

Resa % = 89

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₂₀H₂₀N₄O₃

Procedimento:

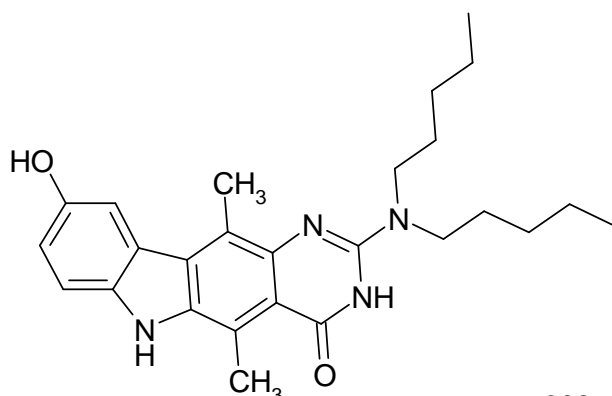
Il 3,6-diidro-5,11-dimetil-9-idrossi-2-morfolin-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**41c**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**41h**) ed utilizzando 3,6-diidro-5,11-dimetil-9-etossicarbonilossi-2-morfolin-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**37c**) 0,20 g (0,46 mmoli), NaBH₄ 0,21 g (5,50 mmoli) in MeOH (70 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3368, 2919, 1638, 1460, 1336, 1257, 1103, 820, 559.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.89 (s, 3H, CH₃), 2.96 (s, 3H, CH₃), 3.50-3.52 (m, 4H, CH₂ morfolina), 3.65-3.68 (m, 4H, CH₂ morfolina), 6.96 (dd, 1H, J₁ = 1.96 Hz, J₂ = 8.76 Hz, *Ar*), 7.32 (d, 1H, J = 8.80 Hz, *Ar*), 7.61 (s, 1H, *Ar*), 8.99 (br, 1H, NH), 10.79 (s, 1H, OH), 11.09 (br, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 365 (M⁺ +1).

3,6-Diidro-5,11-dimetil-2-dipentilammino-9-idrossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (41d)



Solido verde

Resa % = 30

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₂₆H₃₄N₄O₂

Procedimento:

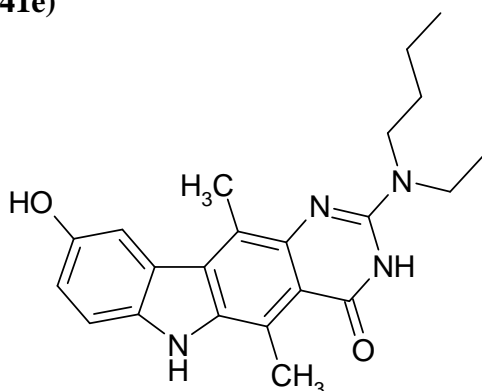
Il 3,6-diidro-5,11-dimetil-2-dipentilammino-9-idrossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**41d**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**47h**) ed utilizzando 3,6-diidro-5,11-dimetil-2-dipentilammino-9-etossicarbonilossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**37d**) 0,20 g (0,40 mmoli), NaBH₄ 0,21 g (4,70 mmoli) in MeOH (70 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3372, 2925, 2857, 1606, 1456, 1372, 1211, 804.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.66-0.89 (t, 6H, CH₃), 1.30-1.36 (m, 8H, CH₂CH₂CH₃), 1.55-1.61 (m, 4H, CH₂CH₂CH₂CH₃), 2.85 (s, 3H, CH₃), 2.94 (s, 3H, CH₃), 3.48-3.52 (m, 4H, NCH₂), 6.94 (d, 1H, J = 7.80 Hz, *Ar*), 7.30 (d, 1H, J = 6.84 Hz, *Ar*), 7.60 (s, 1H, *Ar*), 8.89 (br, 1H, NH), 10.56 (s, 1H, OH), 10.90 (br, 1H, NH).

MS (ESI⁺): 435 (M⁺ + 1).

3,6-Diidro-5,11-dimetil-2-(etil-*n*-butilammino)-9-idrossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (41e**)**



Solido verde

Resa % = 66

P.f. = 224 °C

Formula Bruta: C₂₂H₂₆N₄O₂

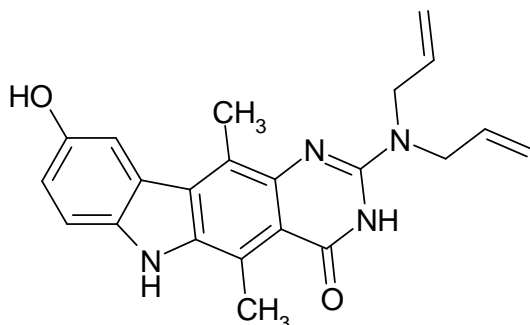
Procedimento:

Il 3,6-diidro-5,11-dimetil-2-(etil-*n*-butilammino)-9-idrossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**41e**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**41h**) ed utilizzando 3,6-diidro-5,11-dimetil-2-(etil-*n*-butilammino)-9-etossicarbonilossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**37e**) 0,20 g (0,45 mmoli), NaBH₄ 0,20 g (5,30 mmoli) in MeOH (70 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3428, 2929, 1613, 1461, 1369, 1099, 802.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.91-0.95 (t, 3H, CH₃), 1.13-1.17 (t, 3H, CH₃), 1.31-1.39 (m, 2H, (CH₂)₂CH₂CH₃), 1.56-1.62 (m, 2H, CH₂CH₂CH₂CH₃), 2.86 (s, 3H, CH₃), 2.95 (s, 3H, CH₃), 3.50-3.55 (m, 4H, NCH₂), 6.95 (d, 1H, J = 8.80 Hz, *Ar*), 7.31 (d, 1H, J = 8.80 Hz, *Ar*), 7.60 (s, 1H, *Ar*), 8.85 (s, 1H, NH), 10.57 (s, 2H, OH, NH).

MS (ESI⁺): 379 (M⁺ + 1).

2-Diallilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-9-idrossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one**(41f)**

Solido verde

Resa % = 65

P.f. = 167 °C

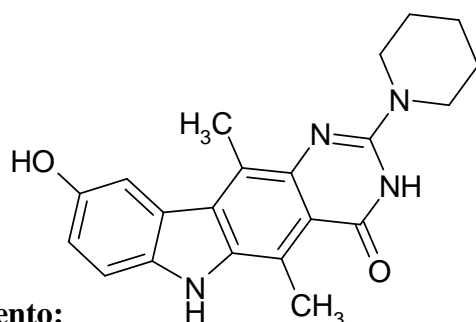
Formula Bruta: C₂₂H₂₂N₄O₂**Procedimento:**

Il 2-diallilammino-3,6-diidro-5,11-dimetil-9-idrossi-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**41f**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**41h**) ed utilizzando 3,6-diidro-5,11-dimetil-9-etossicarbonilossi-2-diallilammino-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**37f**) 0,20 g (0,45 mmoli), NaBH₄ 0,20 g (5,4 mmoli) in MeOH (70 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3420, 3152, 2914, 1638, 1615, 1484, 1384, 1185, 919, 815.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.87 (s, 3H, CH₃), 2.95 (s, 3H, CH₃), 4.18 (d, 2H, J = 4.88 Hz, CH=CH₂), 5.15-5.24 (q, 4H, NCH₂), 5.88-5.91 (m, 2H, CH), 6.96 (d, 1H, J = 8.76 Hz, Ar), 7.31 (d, 1H, J = 8.76 Hz, Ar), 7.61 (s, 1H, Ar), 8.87 (s, 1H, NH), 10.63 (s, 2H, OH, NH).

MS (ESI⁺): 375 (M⁺ + 1).

3,6-Diidro-5,11-dimetil-9-idrossi-2-piperidin-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (41g)

Solido verde

Resa % = 66

P.f. > 260 °C

Formula Bruta: C₂₁H₂₂N₄O₂**Procedimento:**

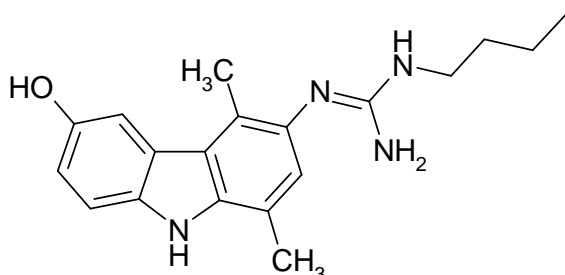
Il 3,6-diidro-5,11-dimetil-9-idrossi-2-piperidin-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**41g**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**41h**) ed utilizzando 3,6-diidro-5,11-dimetil-9-etossicarbonilossi-2-piperidin-pirimido-[5,4-b]-carbazol-4-one (**37g**) 0,20 g (0,46 mmoli), NaBH₄ 0,21 g (5,50 mmoli) in MeOH (70 mL).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3331, 2930, 2852, 1611, 1461, 1251, 1205, 1051, 801, 605.

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6): δ 1.56-1.60 (m, 6H, CH_2 piperidina), 2.88 (s, 3H, CH_3), 2.95 (s, 3H, CH_3), 3.55-3.58 (m, 4H, CH_2 piperidina), 6.97 (d, 1H, $J = 8.80$ Hz, Ar), 7.31-7.32 (m, 1H, Ar), 7.61 (s, 1H, Ar), 8.88 (br, 1H, NH), 10.68 (s, 1H, OH), 10.87 (br, 1H, NH).

MS (ESI $^+$): 363 ($\text{M}^+ + 1$).

N-(6-idrossi-1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N'*-butil-guanidina (**41l**)



Solido verde

Resa % = 15

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{N}_4\text{O}$

Procedimento:

La *N*-(6-idrossi-1,4-dimetil-9*H*-carbazol-3-il)-*N'*-butil-guanidina (**41l**) è stata ottenuta seguendo la stessa procedura di sintesi di (**41h**) ed utilizzando *N*-(1,4-dimetil-6-etossicarbonilossi-9*H*-carbazol-3-il)-*N'*-butil-guanidina (**32l**) 0,16 g (0,40 mmoli), NaBH_4 0,17 g (4,50 mmoli) in MeOH (70 mL). Il prodotto puro risulta insolubile nei comuni solventi deuterati.

IR (KBr) (cm^{-1}): 3411, 2928, 1633, 1463, 1208, 1093, 805.

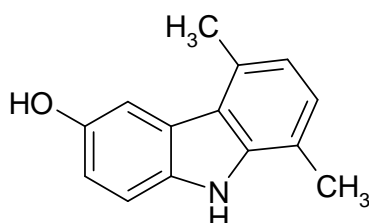
MS (EI) m/z (%): 324 (M^+ , 8), 226 (100).

6.18 PROCEDURA GENERALE PER LA SINTESI DI:

- 5,8-Dimetil-9*H*-carbazol-3-olo (**5**);
- 5-Idrossi-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-oni 3-sostituiti (**54a-b**).

La preparazione del 5,8-dimetil-9*H*-carbazol-3-olo (**5**) è riportata come esempio rappresentativo.

5,8-Dimetil-9*H*-carbazol-3-olo (**5**)



Solido bianco

Resa % = 79

P.f. = 174 °C

Formula Bruta: $\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{NO}$

Procedimento:

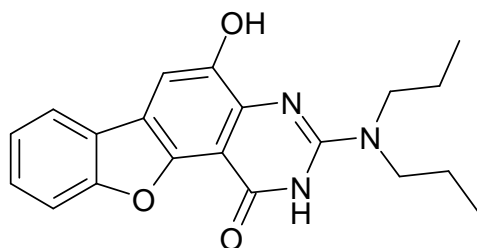
In un pallone da 250 mL, munito di agitatore elettromagnetico, una miscela di 1,4-dimetil-6-metossi-9*H*-carbazolo (**1b**) 5 g (22,00 mmoli) e di piridina cloridrata anidra 40,00 g (346,00 mmoli) si porta a riflusso per 3 h,. Successivamente, la miscela di reazione si raffredda con ghiaccio e si estrae con etere etilico (100 mL). La fase eterea si lava con una soluzione di HCl 1 N, si secca su MgSO₄ anidro, si filtra e si evapora a pressione ridotta ottenendo un solido puro.

IR (KBr)(cm⁻¹): 3517, 3415, 1461, 1165, 847, 809, 543.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 2.50 (s, 3H, CH₃), 2.61 (s, 3H, CH₃), 6.83 (d, 1H, J = 7.36 Hz, Ar), 6.95 (d, 1H, J = 8.56 Hz, Ar), 7.08 (d, 1H, J = 7.36 Hz, Ar), 7.40 (d, 1H, J = 8.56 Hz, Ar), 7.53 (s, 1H, Ar), 9.12 (br, 1H, OH), 10.88 (s, 1H, NH).

¹³C NMR (DMSO-*d*₆): δ 150.2, 139.7, 133.8, 129.4, 125.4, 123.9, 120.3, 119.2, 117.2, 114.0, 111.1, 107.0, 20.1, 16.7.

MS (ESI⁺): 212 (M⁺ +1).

3-Dipropilammino-5-idrossi-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (54a)

Solido verde

Resa % = 30

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₂₀H₂₁N₃O₃

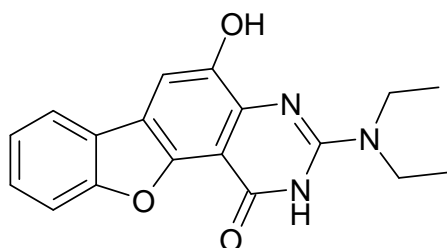
Procedimento:

Il 3-dipropilammino-5-idrossi-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**54a**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**5**) ma variando il tempo di reazione (1 h e 30 minuti a riflusso) ed utilizzando 3-dipropilammino-5-metossi-2*H*-benzofuro-[2,3-*c*]-chinazolin-1-one (**53a**) 0,50 g (1,37 mmoli), piridina cloridrata anidra 0,79 g (6,85 mmoli).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3389, 2931, 1668, 1355, 1177, 1027, 717.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 0.89-0.92 (t, 6H, CH₃), 1.50-1.62 (m, 8H, CH₂CH₂CH₃), 7.30-7.42 (m, 2H, Ar), 7.68-7.77 (m, 2H, Ar), 8.00 (d, 1H, J = 7.56 Hz, Ar), 8.23 (br, 1H, OH), 11.32 (br, 1H, NH).

MS (EI) *m/z* (%): 351 (M⁺, 100), 278 (78).

3-Dietilammino-5-idrossi-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (54b)

Solido bianco

Resa % = 35

P.f. > 270 °C

Formula Bruta: C₁₈H₁₇N₃O₃**Procedimento:**

Il 3-dietilammino-5-idrossi-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**54b**) è stato ottenuto seguendo la stessa procedura di sintesi di (**5**) ma variando il tempo di reazione (1 h e 30 minuti a riflusso) ed utilizzando 3-dietilammino-5-metossi-2H-benzofuro-[2,3-c]-chinazolin-1-one (**53b**) 2,00 g (5,93 mmoli), piridina cloridrata anidra 6,86 g (59,30 mmoli).

IR (KBr) (cm⁻¹): 3380, 2932, 1672, 1354, 1176, 1026, 747, 542.

¹H NMR (DMSO-*d*₆): δ 1.00-1.40 (m, 6H, CH₃), 3.53-3.60 (m, 4H, CH₂CH₃), 7.30-7.42 (m, 2H, Ar), 7.68-7.80 (m, 2H, Ar), 8.00 (d, 1H, J = 7.32 Hz, Ar), 8.32 (br, 1H, OH), 11.28 (br, 1H, NH).

MS (EI) m/z (%): 323 (M⁺, 100), 308 (49) (M⁺ - OH), 294 (100) (M⁺ - C₂H₅).

RISULTATI

RISULTATI

Dei 170 composti sintetizzati nel presente lavoro, 134 (vedi tabelle 4-20) sono stati saggiati farmacologicamente come riportato nel protocollo seguente.

In particolare, sono stati effettuati tests d'inibizione di crescita su cellule KB; per alcuni derivati, **14a** (sr 7162), **15a** (sr 7164), **16a** (sr 7058), **16b** (sr 7169), **16c** (sr 7177), **16d** (sr 7178), **17a** (sr 7168), sono stati fatti tests d'attivazione di caspasi 3/7 e test d'inibizione della tubulina.

In Tab. 21 sono presentati i dati IC₅₀ /tubulina / attivazione caspasi di alcuni prodotti sintetizzati nel presente lavoro.

In Fig. 66 è riportata la correlazione tra citotossicità / inibizione tubulina.

Le molecole risultate più attive sono evidenziate in rosso nella tabella 8.

Dallo studio dei risultati ottenuti, sembra esserci una buona correlazione tra attivazione di caspasi/IC₅₀ citotossicità.

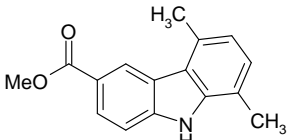
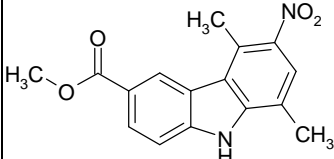
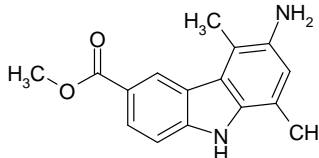
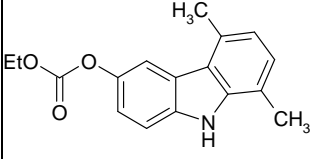
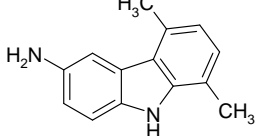
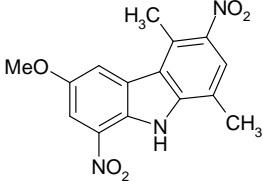
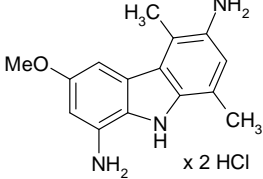
Protocollo: Materiali, metodi e linee cellulari utilizzate

Cell culture. The human cell lines KB (epidermoid carcinoma), HCT116 and HCT15 (colon adenocarcinoma), Vero (monkey kidney) and MRC5 (human fetal lung) were purchased from ECACC (Salisbury, UK) and HL60 (promyeocytic leukaemia) cells from ATCC. MCF7 (breast adenocarcinoma) were given by Dr Matthias Kassack (Bonn University, Germany). KB, Vero and MRC5 cells were grown in D-MEM medium supplemented with 10% fetal calf serum, in the presence of penicilline, streptomycine and fungizone in 75cm² flask under 5% CO₂, whereas HCT116, HCT15, MCF7, HL60 were grown in RPMI medium. Resistant MCF7 and HL60 cells were obtained by prolonged treatment with doxorubicine.

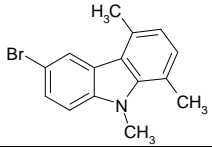
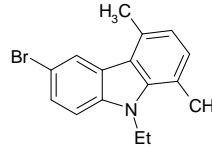
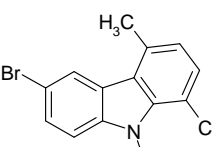
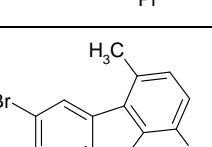
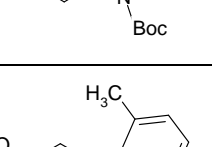
Cell proliferation assay. Cells were plated in 96-well tissue culture plates in 200µl medium and treated 24h later with compounds dissolved in DMSO with compound concentrations ranged 0.05 nM to 1µM using a Biomek 3000 (Beckman). Controls received the same volume of DMSO (1% final volume). After 72h exposure to the drug, MTS reagent (Promega) was added and incubated for 3h at 37°C: the absorbance was monitored at 490nm and results expressed as the inhibition of cell proliferation calculated as the ratio $[(1-(OD_{490} \text{ treated}/OD_{490} \text{ control})) \times 100]$. For IC₅₀ determinations (50% inhibition of cell proliferation) experiments were performed in separate duplicate.

Caspase activity assay. Caspase activities were assayed in HL60 cell after treatment with chemicals for 48 h. HL60 cells (20,000 cells per well in 180 μ l RPMI medium) were plated in black 96-well culture microplates and treated with chemicals dissolved in DMSO (1% final volume). Plates were kept under 5% CO₂ for 48h. Lysis buffer (20 μ l of a 10x stock solution) consisting in 250mM Hepes (pH7.5) 5 mM EDTA, 0.5% NP40, 0.1% SDS and 50mM dithiothreitol was added before caspase substrates dissolved in water (DEVD-AMC and LEHD-AMC) or DMSO (IETD-AMC) at a final concentration of 50 μ M. Plates were incubated at 37°C and fluorescence was recorded (exc 360nm, em 435nm) at time 0, 30, 60, 120 and 180 min. Reaction rates were calculated from the slope of the linear time-dependent reaction and expressed as the fold-activation over the control (HL60 with DMSO alone). 10nM Colchicine or 1 μ M doxorubicin were used as a positive control and processed as compounds added at concentrations ranged 10⁻⁵ to 10⁻⁹M.

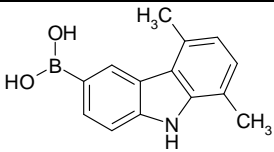
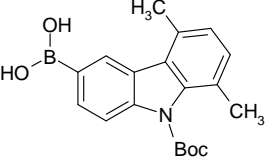
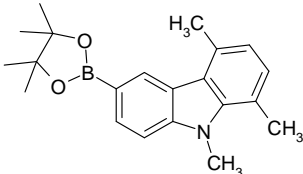
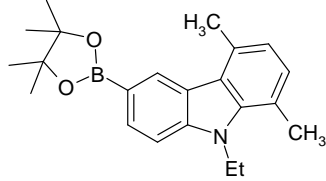
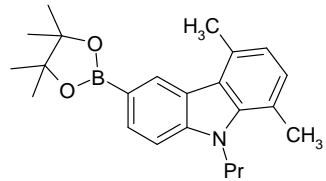
Tabelle risultati:

| Num. | Struttura | 10^{-5} M | 10^{-6} M | IC ₅₀ (nM) |
|------------|---|-------------|-------------|-----------------------|
| 1i |  | 30 | 16 | / |
| 9i |  | 24 | 22 | / |
| 27e |  | 46 | 15 | / |
| 1l |  | 72 | 19 | / |
| 27a |  | 11 | 9 | / |
| 9b |  | 30 | 9 | / |
| 27d |  | 5 | -13 | / |

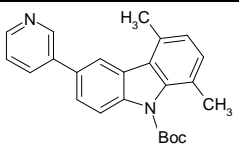
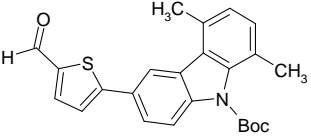
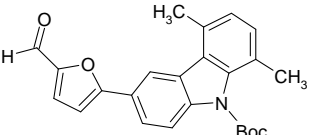
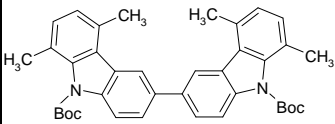
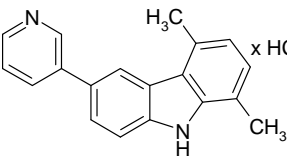
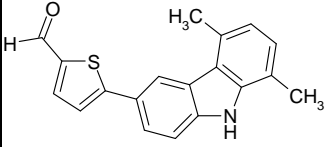
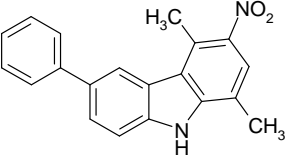
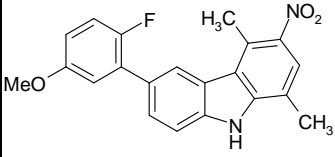
Tab. 4

| Num. | Struttura | 10^{-5} M | 10^{-6} M | IC ₅₀ (nM) |
|-----------|--|-------------|-------------|-----------------------|
| 2b |  | 0 | 0 | / |
| 2c |  | 8 | 2 | / |
| 2d |  | 12 | 5 | / |
| 2a |  | 4 | -10 | / |
| 4a |  | 84 | 6 | / |

Tab. 5

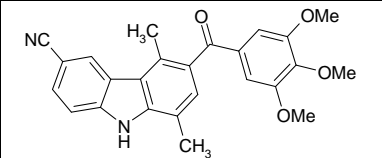
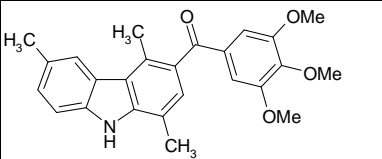
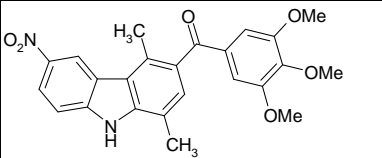
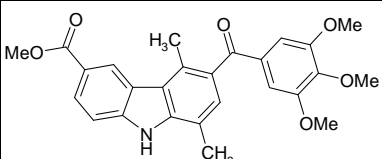
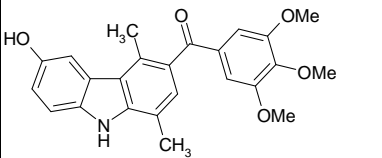
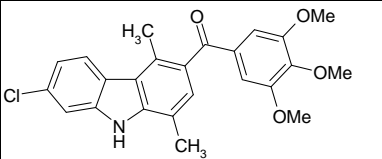
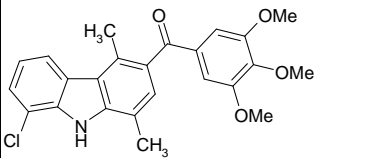
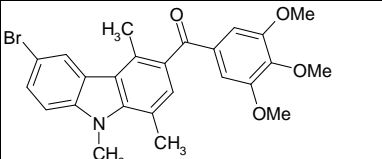
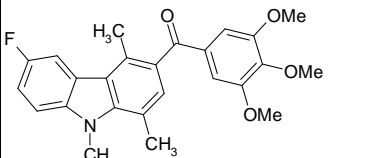
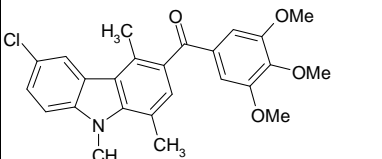
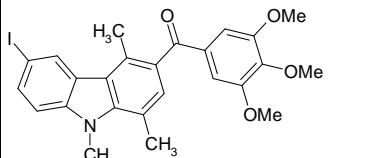
| Num. | Struttura | 10^{-5} M | 10^{-6} M | IC ₅₀ (nM) |
|-----------|--|-------------|-------------|-----------------------|
| 3f |  | 17 | 6 | / |
| 3a |  | 95 | 12 | / |
| 3c |  | 32 | 13 | / |
| 3d |  | 16 | -11 | / |
| 3e |  | 18 | -13 | / |

Tab. 6

| Num. | Struttura | 10^{-5} M | 10^{-6} M | IC ₅₀ (nM) |
|------------|---|-------------|-------------|-----------------------|
| 7a |  | 0 | 11 | / |
| 7c |  | 6 | 14 | / |
| 7e |  | 10 | 9 | / |
| 7f |  | 0 | -5 | / |
| 8a |  | 69 | 50 | / |
| 8c |  | 69 | 1 | / |
| 10a |  | 18 | 18 | / |
| 10b |  | 69 | 8 | / |

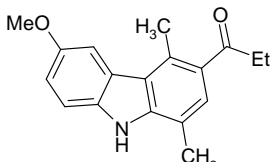
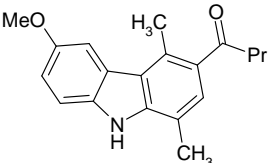
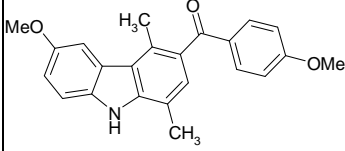
Tab. 7

| Num. | Struttura | 10^{-5} M | 10^{-6} M | IC ₅₀ (nM) |
|-----------------------|-----------|-------------|-------------|-----------------------|
| 11a | | 23 | -8 | / |
| 12a | | 15 | 8 | / |
| 13a | | 82 | 79 | 120 |
| 14a sr 7162 | | 87 | 77 | 478 |
| 15a sr 7164 | | 90 | 87 | 35.5 |
| 16a sr 7058 | | 87 | 87 | 9 |
| 17a sr 7168 | | 82 | 87 | 39.6 |
| 16b sr 7169 | | 89 | 91 | 9.1 |
| 16c sr 7177 | | 88 | 88 | 5 |
| 16d sr 7178 | | 89 | 86 | 3.3 |
| 16e | | 98 | 95 | 14 |

| | | | | |
|------------|---|------------|-----------|-----------|
| 16f |  | 84 | 97 | 14 |
| 16g |  | 97 | 96 | 4 |
| 16h |  | 96 | 94 | 42 |
| 16i |  | 95 | 32 | / |
| 16l |  | 99 | 98 | 4 |
| 19a |  | 100 | 96 | 23 |
| 19b |  | 96 | 96 | 10 |
| 20a |  | 92 | 90 | 91 |
| 20c |  | 87 | 84 | 281 |
| 20d |  | 99 | 84 | 171 |
| 20e |  | 102 | 94 | 271 |

| | | | | |
|------------|--|-----|----|-----|
| 20f | | 96 | 57 | / |
| 20g | | 102 | 92 | 60 |
| 20i | | 40 | 3 | / |
| 21a | | 89 | 30 | / |
| 22a | | 86 | 8 | / |
| 23a | | 98 | 86 | 75 |
| 24 | | 91 | 91 | 251 |
| 25 | | 91 | 84 | 214 |

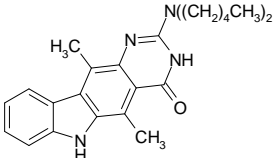
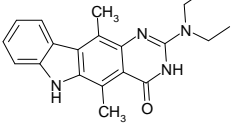
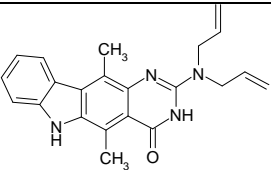
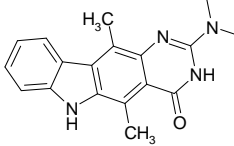
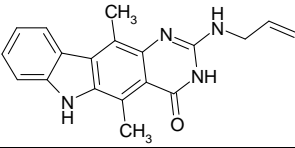
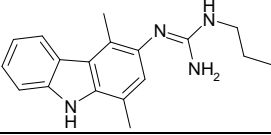
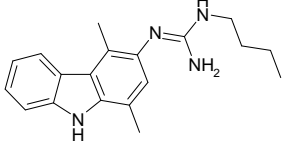
Tab. 8

| Num. | Struttura | 10^{-5} M | 10^{-6} M | IC ₅₀ (nM) |
|------------|---|-------------|-------------|-----------------------|
| 11b |  | 20 | 21 | / |
| 12b |  | 61 | 4 | / |
| 14b |  | 92 | 7 | / |

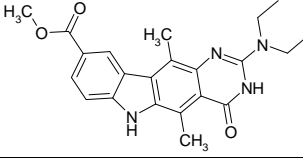
Tab. 9

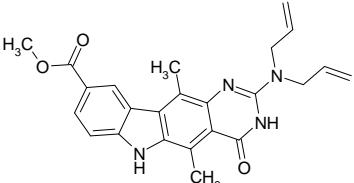
| Num. | Struttura | 10^{-5} M | 10^{-6} M | IC ₅₀ (nM) |
|------------------|-----------|-------------|-------------|-----------------------|
| 34e | | -31 | / | / |
| 34c | | 46 | / | / |
| 34b | | 8 | / | / |
| 34b x HCl | | -2 | / | / |
| 34a | | 61 | / | / |
| 34d | | 30 | / | / |
| 29f | | 69 | / | / |
| 29g | | 104 | 16 | / |
| 29h | | 107 | 15 | / |
| 29i | | 106 | 26 | / |

Tab. 10

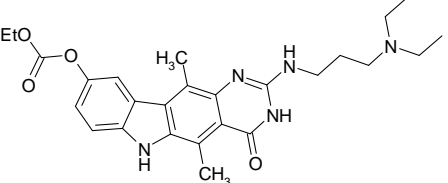
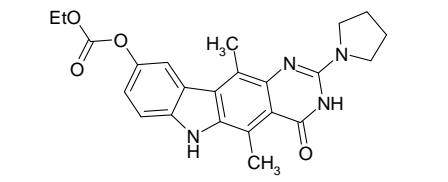
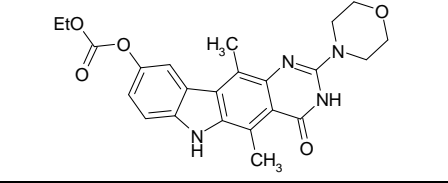
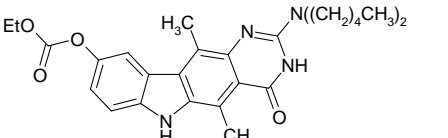
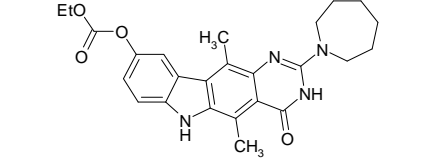
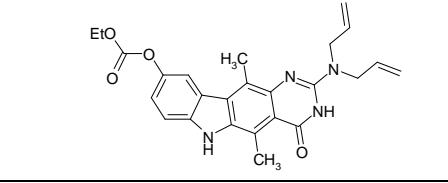
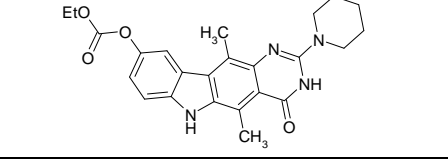
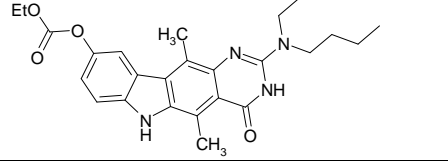
| Num. | Struttura | 10^{-5} M | 10^{-6} M | IC ₅₀ (nM) |
|------|---|-------------|-------------|-----------------------|
| 35a |  | -6 | / | / |
| 35b |  | 14 | / | / |
| 35d |  | 17 | / | / |
| 35c |  | 27 | / | / |
| 35e |  | 73 | / | / |
| 30f |  | 91 | 18 | / |
| 30g |  | 98 | 5 | / |

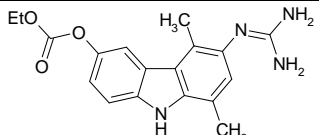
Tab. 11

| Num. | Struttura | 10^{-5} M | 10^{-6} M | IC ₅₀ (nM) |
|------|---|-------------|-------------|-----------------------|
| 36a |  | 43 | / | / |

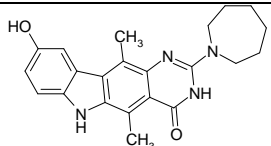
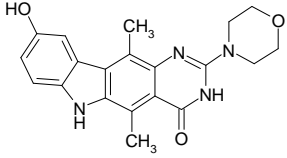
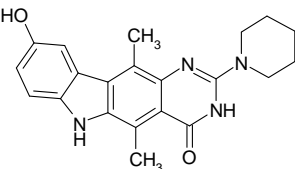
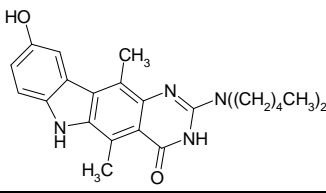
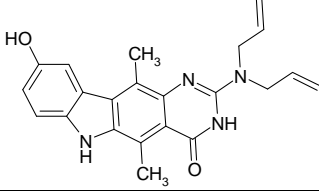
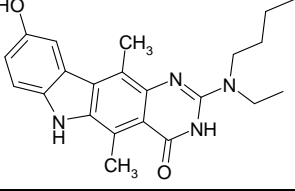
| | | | | |
|------------|---|----|---|---|
| 36b |  | 65 | / | / |
|------------|---|----|---|---|

Tab. 12

| Num. | Struttura | 10^{-5} M | 10^{-6} M | IC ₅₀ (nM) |
|------------|---|-------------|-------------|-----------------------|
| 37a |  | 80 | 22 | / |
| 37b |  | 22 | 18 | / |
| 37c |  | 14 | 10 | / |
| 37d |  | 21 | 8 | / |
| 37h |  | 1 | -6 | / |
| 37f |  | 2 | 4 | / |
| 37g |  | 0 | -23 | / |
| 37e |  | 7 | 3 | / |

| | | | | |
|------------|---|----|----|---|
| 32i |  | 73 | -7 | / |
|------------|---|----|----|---|

Tab. 13

| Num. | Struttura | 10^{-5} M | 10^{-6} M | IC ₅₀ (nM) |
|------------|---|-------------|-------------|-----------------------|
| 41h |  | 55 | -56 | / |
| 41c |  | 90 | 13 | / |
| 41g |  | 73 | 19 | / |
| 41d |  | 44 | 7 | / |
| 41f |  | 83 | 22 | / |
| 41e |  | 73 | 7 | / |

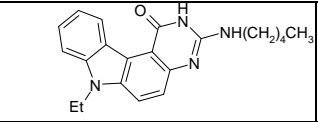
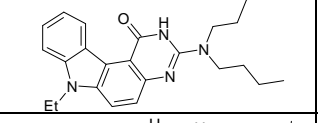
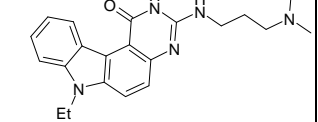
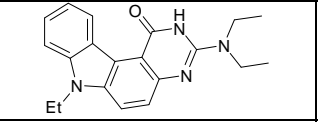
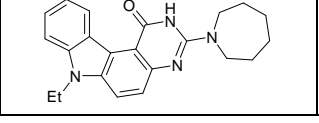
Tab. 14

| Num. | Struttura | 10^{-5} M | 10^{-6} M | IC ₅₀ (nM) |
|------|-----------|-------------|-------------|-----------------------|
|------|-----------|-------------|-------------|-----------------------|

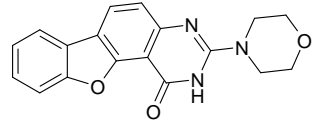
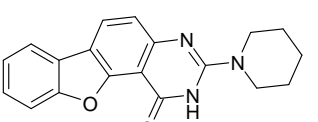
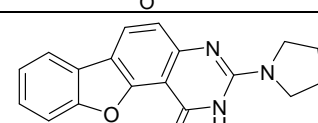
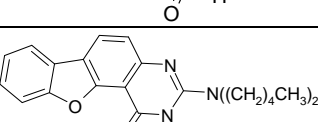
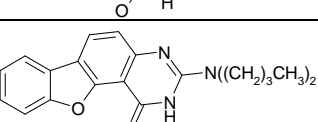
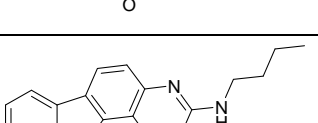
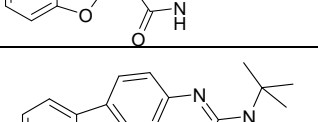
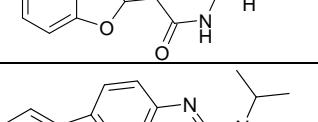
| | | | | |
|------------|--|----|---|---|
| 39a | | 68 | / | / |
| 39b | | 19 | / | / |

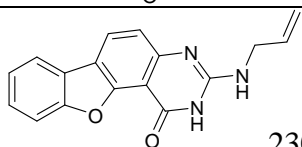
Tab. 15

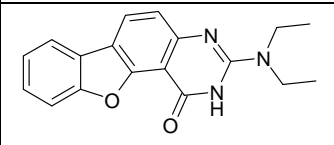
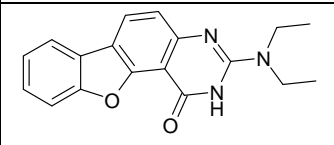
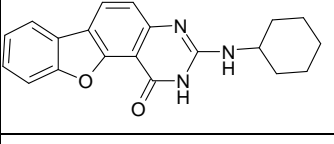
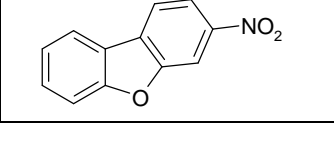
| Num. | Struttura | 10^{-5} M | 10^{-6} M | IC ₅₀ (nM) |
|------------|-----------|-------------|-------------|-----------------------|
| 45a | | 16 | / | / |
| 45b | | 99 | 15 | / |
| 45c | | 92 | 18 | / |
| 45d | | 61 | / | / |
| 45e | | 24 | / | / |
| 45f | | 42 | / | / |
| 45g | | 29 | / | / |
| 45h | | 95 | 28 | / |
| 45i | | 86 | 20 | / |
| 45l | | 43 | / | / |

| | | | | |
|------------|---|----|----|---|
| 45m |  | 9 | / | / |
| 45n |  | 9 | / | / |
| 45o |  | 93 | 13 | / |
| 45p |  | 28 | / | / |
| 45q |  | 0 | / | / |

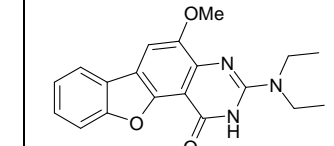
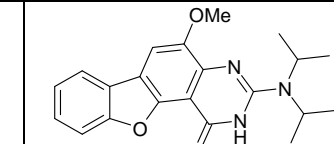
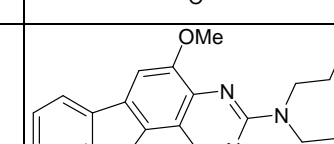
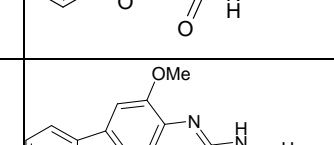
Tab. 16

| Num. | Struttura | 10^{-5} M | 10^{-6} M | IC ₅₀ (nM) |
|------------|---|-------------|-------------|-----------------------|
| 51a |  | 17 | / | / |
| 51b |  | 69 | / | / |
| 51c |  | 26 | / | / |
| 51e |  | -70 | / | / |
| 51f |  | 34 | / | / |
| 51g |  | 101 | 30 | / |
| 51h |  | 97 | 2 | / |
| 51i |  | 6 | / | / |

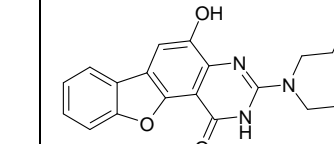


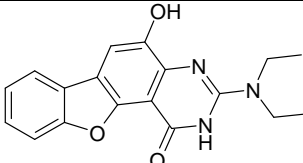
| | | | | |
|------------|---|----|----|---|
| 51m |  | 34 | / | / |
| 51n |  | 20 | / | / |
| 51o |  | 36 | / | / |
| 47a |  | 55 | 18 | / |

Tab. 17

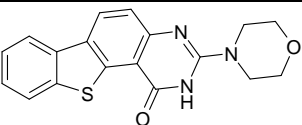
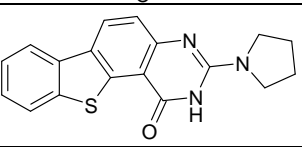
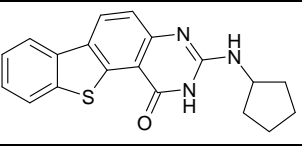
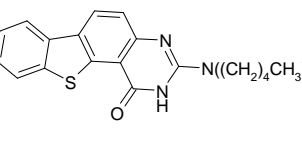
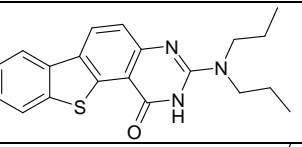
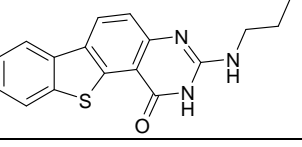
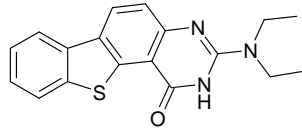
| Num. | Struttura | 10^{-5} M | 10^{-6} M | IC ₅₀ (nM) |
|------------|---|-------------|-------------|-----------------------|
| 53b |  | -13 | / | / |
| 53h |  | 40 | 18 | / |
| 53a |  | 81 | 62 | / |
| 56 |  | 9 | 19 | / |

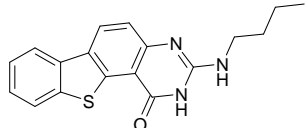
Tab. 18

| Num. | Struttura | 10^{-5} M | 10^{-6} M | IC ₅₀ (nM) |
|------------|---|-------------|-------------|-----------------------|
| 54a |  | 74 | 79 | 220 |

| | | | | |
|-----|---|----|----|---|
| 54b |  | 48 | -7 | / |
|-----|---|----|----|---|

Tab. 19

| Num. | Struttura | 10^{-5} M | 10^{-6} M | IC ₅₀ (nM) |
|------|---|-------------|-------------|-----------------------|
| 52a |  | 18 | 5 | / |
| 52c |  | 22 | -8 | / |
| 52e |  | 5 | / | / |
| 52g |  | -23 | / | / |
| 52h |  | 31 | / | / |
| 52i |  | 8 | / | / |
| 52l |  | 40 | / | / |

| | | | | |
|-----|---|----|----|---|
| 52m |  | -1 | 11 | / |
|-----|---|----|----|---|

Tab. 20



CENTRE
NATIONAL
DE LA
RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Institut de Chimie
des Substances
Naturelles



La plateforme du vivant
imAGIF

CYTOTOXICITE IN VITRO/INTERACTION TUBULINE

| | | caspases 3/7 fold activation | tubuline IC ₅₀ μM | inhibition proliferation KB IC ₅₀ nM |
|--------------------------|--------|---------------------------------|---------------------------------|---|
| colchicine 10 nM | | 3,1/3,2/3,6 | | |
| Doxorubicine 1 μM | | 11,1/10,9 | | |
| carbazolophenones | | | | |
| 7177 | 1nM | 10,14/0,75/0,96 | 1,7 | 5 |
| | 10nM | 1,47/1,02/1,09 | | |
| | 100nM | 4,0/3,14/4,85 | | |
| 7178 | 1 nM | 0,94/0,8/1,05 | 4,7 | 3,3 |
| | 10 nM | 1,5/0,81/1,21 | | |
| | 100 nM | 7,4/2,8/5,9 | | |
| 7169 | 1 nM | 0,41/1,17 | | 9,1 |
| | 10 nM | 0,84/1,12 | | |
| | 100 nM | 2,44/3,41 | | |
| 7058 | 1 nM | 0,71 | 5,3 | 9 |
| | 10 nM | 0,8 | | |
| | 100 nM | 4,7 | | |

| | | | | |
|------|------------|-----|--------------|------|
| 7162 | 100 nM | 0,8 | NI | 478 |
| | 1 μ M | 3,6 | (11% à 10mM) | |
| | 10 μ M | 2,2 | | |
| 7164 | 10 nM | 0,9 | 5 | 35,5 |
| | 100 nM | 4,8 | | |
| | 1 μ M | 2,8 | | |
| 7168 | 10 nM | 0,6 | 4,7 | 39,6 |
| | 100 nM | 2,6 | | |
| | 1 μ M | 2,4 | | |

Tab. 21

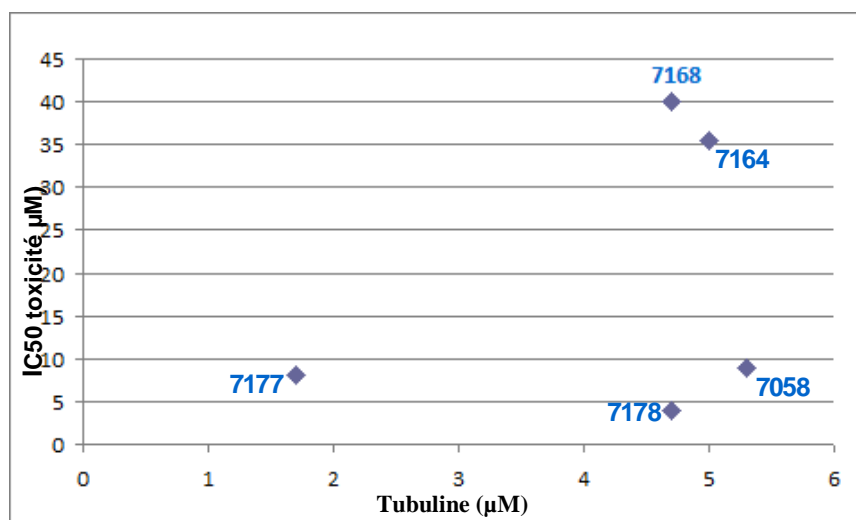


Fig. 66: Correlazione citotossicità / inibizione tubulina

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. <http://www.startoncology.net>. (06/02/2006 ore 12:37).
2. <http://www.fatigue.it/bgdisplay.jhtml> (06/02/2006 ore 12:33).
3. <http://www.effective.it/Novuspharma.htm> (13/12/2005 ore 16:30).
4. <http://www.alcase.it> (06/02/2006 ore 12:24).
5. Robbins, “*Le Basi Patologiche Delle Malattie*”, **VI Edizione** Italiana, Piccin Nuova Libreria S.p.A., Padova, **2000**.
6. http://www.registri-tumori.it/incidenza1998-2002/rapporto/I%20dati%20dei%20registri%20tumori/i_dati_di_incidenza_e_mortalita.pdf (6/09/2008 ore 15:43).
7. <http://www.med.unifi.it/didonline/corsi.htm> (16/01/2006 ore 16:44).
8. <http://www.oncologiaitalia.it/chemio.html> (09/12/2005 ore 16:23).
9. http://www.istitutotumori.mi.it/INT/informazioniINT/pdf/INT_informazioni_2003_3.pdf (09/12/2005 ore 16:16).
10. <http://www.ail.it/bambini/index.html> (16/01/2006 ore 15:53).
11. <http://www.iss.it/Rapporti> (ISTISAN 02/16) (09/09/2006 ore 11:30).
12. <http://www.sapere.it/tca/MainApp> (09/12/2005 ore 16:40).
13. <http://www.unitus.it/Scienze/giovani/Contadini/Pagina%20vuota%205.htm> (30/07/2007 ore 13:30).
14. http://www.farm.unisi.it/~corelli/Farma_I_antitumorali_I.rtf (31/07/2007 ore 16:15).
15. M. Wall, M. C. Wani, C. E. Cook, K. H. Palmer, A. T. McPhail, G. A. Sim, *J. Am. Chem. Soc.*, **88**, (1966), 3888-3890.
16. <http://it.wikipedia.org/wiki/Antineoplastici> (31/07/2007 ore 16:30).
17. http://www.geocities.com/nello_2000_it/files/chemioterapia1.htm (31/07/2007 ore 10:00).
18. <http://www.oncoprof.net> (04/09/2008 ore 14:45).
19. http://it.wikipedia.org/wiki/Fuso_mitotico (31/07/2007 ore 16:45).
20. <http://www.unisi.it/Biotechbook/view.asp?id=147> (31/07/2007 ore 22:15).
21. Goodman & Gilman, “*Le Basi Farmacologiche della Terapia*”, **IX Edizione** Italiana, McGraw-Hill, Libri Italia Srl.
22. R. Paletti, S. Nicosia, F. Clementi, G. Fumagalli, “*Farmacologia generale e molecolare*”, **II Edizione** Italiana, UTET, Torino, **1999**.

23. R. L. Bai, K. D. Paull, C. L. Herald, L. Malspeis, G. R. Petit, E. Hamel, *J. Biol. Chem.*, **266**, (1991), 15882-15889.
24. R. Bai, Z. A. Cichacz, C. L. Herald, J. A. Kepler, G. R. Petit, E. Hamel, *Mol. Pharmacol.*, **44**, (1993), 757-766.
25. S. Kobayashi, K. Tshuchiya, T. Kurokawa, T. Nakagawa, N. Shimada, J. Iitaka, *J. Antibiot.*, **47**, (1994), 703-707.
26. M. Kondoh, T. Usui, T. Nishikiori, T. Mayumi, H. Osada, *Biochem. J.*, **340**, (1999), 411-416.
27. G. R. Petit, S. B. Singh, M. R. Boyd, E. Hamel, R. K. Petit, J. M. Schimidt, F. Hogan, *J. Med. Chem.*, **38**, (1995), 1666-1672.
28. G. R. Petit, B. Toki, D.L. Herald, P. Vernier-Pinard, M. R. Boyd, E. Hamel, R. K. Petit, *J. Med. Chem.*, **41**, (1998), 1688-1695.
29. <http://www.medinews.it/pballegati/05%20-%20Storia%20della%20terapia.doc> (05/08/2007 ore 15:00).
30. http://www.aimac.it/informazioni/libretti/articolo.php?id_articolo=437&id=259 (05/08/2007 ore 18:30).
31. <http://it.wikipedia.org/wiki/Chemioterapia> (27/01/2006 ore 9:31).
32. B.G. Katsung, “*Farmacologia generale e clinica*”, **IV Edizione** Italiana, Piccin Nuova Libreria S.p.A., Padova, **2000**.
33. E. Schroder, C. Rufer, R. Schmiechen, “*Chimica Farmaceutica*”, Società editrice Scientifica, **I Edizione** Italiana.
34. <http://www.aimac.it> (24/01/2006 ore 13:33).
35. T. Conroy, *Principes et indications de la chimiothérapie anti-cancéreuse*.
36. www.benessere.com/salute/tumori/bombe_intelligenti.htm (09/08/2007) ore 11:50).
37. www.cnr.it/sitocnr/IICNR/DocumentiProgrammatici/CNRreport/Report2003_file/pdf/164-166Focus.pdf. (09/08/2007 ore 15:00).
38. D. E. Davies, S. G. Chamberlin, *Biochemical Pharmacology*, **51**, (1996), 1101-1110.
39. A. Kurup, R. Garg, C. Hansch, *Chem Rev.*, **101**, (2001), 2573-2600.
40. www.gavazzeni.it/data/457deeee949599865f66cd672dbb977a6.doc (10/10/2007 ore 09:49).
41. T. Schindler, W. G. Bornmann, P. Pellicena, W. T. Miller, B. Clarkson, J. Kuriyan, *Science*, **289**, (2000), 1938-1942.

42. B. Nagar, W. G. Borgmann, P. Pellicena, T. Schindler, D. R. Veach, W. T. Miller, B. Clarkson, J. Kuriyan, *Cancer Research*, 62, (2002), 4236-4243.
43. B. J. Druker et al. *NEJM*, 344, (2001), 1038.
44. M. Knochaert, P. Greengard, L. Meijer, *Trends in Pharmacological Sciences*, 23, (2002), 417-425.
45. J. W. Harper, P. D. Adams, *Chem. Rev.*, 101, (2001), 2511-2526.
46. T. S. Sielecki, J. F. Boylan, B. A. Benfield, G. L. Trainor, *J. Med. Chem.*, 43, (2000), 1-18.
47. L. Meijer, *Drug resistance Update*, 3, (2000), 83-88.
48. A. J. Larner, *Expert Opin. Ther. Pat.*, 9, (1999), 1359-1370.
49. M. Fisher, J. Endicott, L. Meijer, *Progressin Cell Cycle Research.*, 5, (2003), 235-248.
50. I. R. Hardcastle, B. T. Golding, R. J. Griffin, *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 42, (2002), 325-348.
51. T. Honma, K. Hayashi, T. Aoyama, N. Hashimoto, T. Machida, K. Fucasawa, T. Iwama, C. Ikeura, M. Ikuta, I. Suzuki-Takahashi, Y. Iwasawa, T. Hayama, S. Nishimura, H. Morishima, *J. Med. Chem.*, 44, (2001), 4615-4627.
52. W. F. Azavedo, H. J. Mueller-Dieckmann, J. Schulze-Ghamen, P. J. Worland, E. Sausville, S. H. Kim, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 93, (1996), 2735-2740.
53. S. T. Davis, B. G. Benson, H. N. Bramson, D. E. Chapman, S. H. Dickerson, K. M. Dold, D. J. Eberwein, M. Edelstein, S. V. Frye, R. T. Gampe, R. J. Griffin, P. A. Harris, A. M. Hassel, W. D. Holmes, R. N. Hunter, V. B. Knick, K. Lackey, B. Lovejoy, M. J. Luzzio, D. Murray, P. Parker, W. J. Rocque, L. Shewchuk, J. M. Veal, G. H. Walker, L. F. Kuyper, *Science*, 291, (2001), 134-137.
54. S. Frame, P. Cohen, *Biochem. J.*, 359, (2001), 1-16.
55. E. Harr, J. T. Coll, D. A. Austen, H. M. Hsiao, L. Swenson, J. Jain, *Nat. Struct. Biol.*, 8, (2001), 593-596.
56. R. Dajani, E. Fraser, S. M. Roe, L. Pearl, *The EMBO Journal*, 22, (2003), 494-501.
57. L. Meijer, M. Flajolet, P. Greengard, *Trends Pharmacol. Sc.*, 9, (2004), 471-480.
58. M. Leost, C. Schultz, A. Link, Y. Z. Wu, J. Biernat, E. M. Mandelkow, J. A. Bibb, G. L. Snyder, P. Greengard, D. W. Zaharevitz, R. Gussio, A. M.

- Senderowicz, E. A. Sausville, C. Kunick, L. Meijer, J. Eur, *Biochem.*, 267, (2000), 5983-5994.
59. J. Witherington, V. Bordas, A. Gaiba, A. Naylor, A. D. Rawlings, B. P. Slingsby, D. G. Smith, A. K. Takle, R. W. Ward, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 13, (2003), 3059-3062.
60. A. J. Peat, D. Garrido, J. A. Boucheron, S. L. Schweiker, S. H. Dickerson, J. R. Wilson, T. Y. Wang, S. A. Thomson, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 14, (2004), 2127-2130.
61. http://www.ricercailiana.it/prin/dettaglio_completo_prin-2004067189.htm (02/10/2007 ore 14:00).
62. <http://www.vegpyramid.info/nutrienti/fitochimiche.html> (08/10/2007 ore 15:00).
63. M. Greshoff, *Ber.*, 23, (1890), 3537.
64. L. M. Shi, T. G. Myers, Y. Fan, P. M. O'Connor, K. D. Paull, S. H. Friend, J. N. Weinstein, *Molecular Pharmacology*, 53, (1998), 241-251.
65. <http://www.arbolesornamentales.com/Apocynaceae.htm> (10/10/2007 ore 16:10).
66. M. Stiborova, M. Rupertova, H. H. Schmeiser, E. Frei, *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 150 (1), (2006), 13-23.
67. S. F. Braga, L. C. de Melo, P. M. V. B. Barone, *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, 710, (2004), 51-59.
68. S. Le Mée, F. Chaminade, C. Delaporte, J. Markovits, J. M. Saucier, A. J. Sablon, *Mol. Pharmacol.*, 58 (4), (2000), 709-718.
69. S. J. Freolich-Ammon, M. W. Patchan, N. Osheroff, R. B. Thompson, *The American Society for Biochemistry and Molecular Biology, Inc*, 270(25), (1995), 14998-15004.
70. Y. Kuo, P. Kuo, Y. Hsu, C. Cho, C. Lin, *Life Sciences*, 78, (2006), 2550-2557.
71. P. Kuo, Y. Hsu, C. Chang, C. Lin, *Cancer Letters*, 223, (2005), 293-301.
72. M. Hagg, M. Berndtsson, A. Mandic, R. Zhou, M. C. Shoshan, S. Linder, *Mol. Cancer Ther*, 3, (2004), 489-497.
73. F. Sureau, F. Moreau, J. Millot, M. Manfait, B. Allard, J. Aubard, M. Schwaller, *Biophysical Journal*, 65, (1993), 1767-1774.
74. E. Frei, C. A. Bieler, V. M. Arlt, M. Wiessler, M. Stiborova, *Biochemical Pharmacology*, 64, (2002), 289-295.

75. W. K. Anderson, A. Gopalsamy, P. S. Reddy, *J. Med. Chem.*, **37**, (1994), 1955-1963.
76. J. B. Le Pecq, N. D. Xuong, C. Gosse, C. Paoletti, *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, **71**, (1974), 5078-5082.
77. P. M. V. B. Barone, S.O. Dantas, D. S. Galvao, *Journal of Molecular Structure (Theochem)*, **465**, (1999), 219-229.
78. M. Romero, P. Renard, D. H. Caignard, G. Atassi, X. Solans, P. Constance, C. Bailly, M. D. Pujol, *J. Med. Chem.*, **50**, (2007), 294-307.
79. B. Dugue, C. Auclair, B. Meunier, *Cancer Research*, **46**, (1986), 3828-3833.
80. J. Bernadou, B. Meunier, J. Meunier, C. Auclair, C. Paoletti, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **81** (5), (1984), 1297-1301.
81. A. Caruso, A. S. Voisin-Chiret, J. Lancelot, M. S. Sinicropi, A. Garofalo, S. Rault, *Heterocycles*, **71**(10), (2007), 2203-2210.
82. A. Caruso, A. S. Voisin-Chiret, J. Lancelot, M. S. Sinicropi, A. Garofalo, S. Rault, *Molecules*, **13**, (2008), 1312-1320.
83. A. Suzuki, *J. Organomet. Chem.*, **576**, (1999), 147-168.
84. Z. Liu, R. C. Larock, *Tetradron*, **63**, (2007), 347-355.
85. C. Friedel, J. M. Crafts, *Compt. Rend.*, **84**, (1877), 1392-1450.
86. J. C. Lancelot, B. Letois, S. Rault, N. H. Dung, C. Saturnino, M. Robba, *Gazzetta Chimica Italiana*, **121**, (1991), 301-307.
87. J. C. Lancelot, J. M. Gazengel, M. Robba, *J. Heterocycl. Chem.*, **18**, (1981), 1281.
88. J. M. Gazengel, J. C. Lancelot, S. Rault, M. Robba, *Chem. Pharm. Bull.*, **37** (6), (1989), 1500.
89. J. M. Gazengel, *Tesi di Dottorato in Scienze Farmaceutiche*, Università di CAEN (1986).
90. J. C. Lancelot, J. M. Gazengel, S. Rault, Nguyen Huy Dung, M. Robba, *Chem. Pharm. Bull.*, **32**, (1984), 4447.
91. S. Rault, M. Cugnon de Sevracourt, D. Ladurree et M. Robba, *Synthesis*, **8** (1979), 1586.
92. D. Ladurree, M. Robba, *Chem. Pharm. Bull.*, **30**, (1982), 786.
93. H. Landelle, D. Ladurree, M. Cugnon de Sevracourt, M. Robba, *Chem. Pharm. Bull.*, **37** (10), (1989), 2679.

94. S. Rault, Y. Effi, M. Cugnon de Sevrécourt, J. C. Lancelot, M. Robba, *J. Heterocycl. Chem.*, **20**, (1983), 17.
95. J. C. Lancelot, S. Rault, M. Robba, Nguyen Huy Dung, *Chem. Pharm. Bull.*, **35** (1), (1987), 475.
96. J.C. Lancelot, B. Letois, S. Rault et M. Robba, *Heterocycles*, **31** (2), (1990), 241.
97. V. Moinet-Hedin, T. Tabka, F. Sichel, P. Gauduchon, J. Y Le Talaër, C. Saturnino, B Letois, J. C. Lancelot, M. Robba, *J. Med. Chem.*, **32**, (1997), 113-122.
98. P. A. Cranwell, J. E. Saxton, *J. Chem. Soc.*, (1967), 3482.
99. (a) B. R. Henke, C. J. Aquino, L. S. Birkemo, D. K. Croom, R. W. Dougherty, G. N. Ervin, M. K. Grizzle, G. C. Hirst, M. K. James, M.F. Johnson, K. L. Queen, R. G. Sherrill, E. E. Sugg, E. M. Suh, J. W. Szewczyk, R. J. Unwalla, J. Yingling, T. M. Willson, *J. Med. Chem.*, **40**, (1997), 2706; (b) V. Diep, J. J. Dannenberg, R. W. Franck, *J. Org. Chem.*, **68**, (2003), 7907; (c) A. Kuwahara, K. Nakano, K. Nozaki, *J. Org. Chem.*, **70**, (2005), 413 ; (d) M. Chakrabarty, T. Kundu, Y. Harigaya, *Synthetic Commun.*, **36** (14), (2006), 2069; (e) S. Routier, L. Sauge, N. Ayerbe, *Tetrahedron Lett.*, **43**, (2002), 589.
100. R. Cao, Q. Chen, X. Hou, H. Chen, H. Guan, Y. Ma, W. Peng, A. Xu, *Bioorgan. Med. Chem.*, **12**, (2004), 4613.
101. A. S. Voisin, A. Bouillon, J. C. Lancelot, S. Rault, *Tetrahedron*, **61**, (2005), 1417.
102. (a) A. Bouillon, J. C. Lancelot, V. Callot, P. R. Bovy, S. Rault, *Tetrahedron*, **58**,(2002), 2885; (b) J. Sopkovà-de Oliveira Santos, J. C. Lancelot, A. Bouillon, S. Rault, *Acta Crystallogr. C*, **59**, (2003), o111.
103. A. Bouillon, J. C. Lancelot, V. Callot, P. R. Bovy, S. Rault, *Tetrahedron*, **58**, (2002), 3323.
104. A. Bouillon, J. C. Lancelot, V. Callot, P. R. Bovy, S. Rault, *Tetrahedron*, **58**, (2002), 4369.
105. (a) A. Bouillon, J. C. Lancelot, J. Sopkovà-de Oliveira Santos, V. Callot, P. R. Bovy, S. Rault, *Tetrahedron*, **59**, (2003), 10043; (b) J. Sopkovà-de Oliveira Santos, A. Bouillon, J. C. Lancelot, S. Rault, *Acta Crystallogr. C*, **59**, (2003), o596.

- 106.** (a) J. B. Le Pecq, C. Paoletti, N. D. Xuong, *Eur. Pat. Appl.*, **(1980)**, EP 9445; (b) J. C. Lancelot, B. Letois, S. Rault, M. Robba, *Heterocycles*, *31* (2), **(1990)**, 241-6; (c) A. Langendoen, J. P. M. Plug, G. J. Koomen, U. K. Pandit, *Tetrahedron*, *45*, **(1989)**, 1759; (d) A. Langendoen, G. J. Koomen, U. K. Pandit, *Heterocycles*, *26*(1), **(1987)**, 91.
- 107.** J. Sopkova-de Oliveira Santos, A. Caruso, J. F. Lohier, J. C. Lancelot, S. Rault, *Acta Cryst. C64*, **(2008)**, o453-o455.
- 108.** A. Suzuki, H. C. Brown, *Organic Syntheses Via Boranes Volume 3: Suzuki coupling*; Aldrich Chemical Company: Milwaukee, **(2003)**.
- 109.** J. P. Liou, C.Y. Wu, H. P. Hsieh, C. Y. Chang, C. M. Chen, C. C. Kuo, J. Y. Chang, *J. Med. Chem.*, *50*, **(2007)**, 4548-4552.
- 110.** T. Tabka, L. Bartrand, J. C. Lancelot, et al, *European-Journal of Medicinal Chemistry*, *24* (6), **(1989)**, 605-10.
- 111.** B. Letois, J. C. Lancelot, S. Rault, M. Robba, et al, *European-Journal of Medicinal Chemistry*, *25* (9), **(1990)**, 775-84.
- 112.** M. Abid, A. Spaeth, B. Torok, *Advanced Synthesis & Catalysis*, *348* (15), **(2006)**, 2191-2196.