

Università degli Studi della Calabria

Dipartimento Farmaco-Biologico

**TESI DI DOTTORATO DI RICERCA IN
BIOCHIMICA CELLULARE ED ATTIVITÀ DEI
FARMACI IN ONCOLOGIA
XIX° CICLO**

PARTE I

**SINTESI E CARATTERIZZAZIONE STRUTTURALE DI
COMPOSTI TIOSEMICARBAZONICI E COMPOSTI
POLINUCLEARI**

PARTE II

**VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ MOLECOLARE
ESERCITATA DA FITOESTROGENI SU CELLULE DI
TUMORE MAMMARIO**

SUPERVISORE

Chiar.mo Prof Giovanni DE MUNNO

Chiar.mo Prof Vincenzo PEZZI

CANDIDATA

Dott.ssa Rachele ROSSI

COORDINATORE

Chiar.mo Prof. Sebastiano ANDÒ

Anno accademico 2005/2006

A Patrice.

INDICE

Premessa	1
Introduzione	3
PARTE I	
Capitolo I	
1.1. I Tiosemicarbazoni.	8
1.2. Composti di tiosemicarbazoni con Nichel e loro attività biologica.	9
1.3. Composti di tiosemicarbazoni con Rame e loro attività biologica.	19
1.4. Composti di tiosemicarbazoni con Cobalto e loro attività biologica.	25
Riferimenti	28
Capitolo II	
2.1. Ruolo cellulare dei nucleotidi.	30
2.2. Complessi polinucleari.	32
2.3. Composti di Citidina con metalli di transizione.	35
2.4. Complessi polinucleari con nucleosidi.	38
Riferimenti	41
Capitolo III	
3.1. Parte sperimentale.	43
3.2. Sintesi dei complessi tiosemicarbazonici.	44
3.3. Sintesi del complesso $[\text{Cu}_8(\text{HCyd})_8(\text{CF}_3\text{SO}_3)_4][\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6] \cdot 6(\text{CF}_3\text{SO}_3) \cdot 12(\text{H}_2\text{O})$.	46
3.4. Sintesi del complesso $[\text{Cu}_{12}(\text{HCyd})_{12}(\text{CO}_3)_2][\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6] \cdot 8(\text{ClO}_4) \cdot x(\text{H}_2\text{O})$.	47
3.5. Sintesi del complesso $[\text{Co}(2'\text{-doxycyd}_2\text{Cl}_2)]$.	48
3.6. Raccolta dei dati di diffrazione.	49
3.7. Selezione e montaggio dei cristalli.	50
3.8. Risoluzione ed affinamento delle strutture.	50
Riferimenti	60

Capitolo IV

4.1. Struttura di $\text{Ni}(\text{FP-4f-TSC})_2]_3[\text{Ni}(\text{FP-4f-TSC})(\text{HFP-4f-TSC})] \text{NO}_3$ (1).	61
4.2. Struttura del composto $[\text{Ni}(\text{FP-4f-TSC})(\text{HFP-4f-TSC})]_2 \text{Br}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (2).	65
4.3. Struttura del composto $[\text{Ni}(\text{FP-4f-TSC})_2]_3[\text{Ni}(\text{FP-4f-TSC})(\text{HFP-4f-TSC})] \text{ClO}_4$ (3).	69
4.4. Struttura del composto $[\text{Co}(\text{FP-4f-TSC})]_3(\text{NO}_3)_3$ (4).	72
4.5. Struttura del composto $[\text{Cu}(\text{FP-4f-TSC})(\text{H}_2\text{O})]_2(\text{CF}_3 \text{SO}_3)_2$ (5).	75
4.6. Struttura del composto $[\text{Cu}_8(\text{HCyd})_8(\text{CF}_3\text{SO}_3)_4][\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6] \cdot 6(\text{CF}_3\text{SO}_3) \cdot 12(\text{H}_2\text{O})$ (6).	78
4.7. Struttura del composto $[\text{Cu}_{12}(\text{HCyd}_{12})(\text{CO}_3)_2] \cdot 8(\text{ClO}_4) \cdot x(\text{H}_2\text{O})$ (7).	85
4.8. Struttura del composto $[\text{Co}(2'\text{-doxycyd}_2\text{Cl}_2)]$ (8).	91
Riferimenti.	95
Conclusioni.	96

PARTE II

Capitolo I

1.1. Attività di metaboliti naturali.	101
1.2. Correlazione struttura-funzione di alcuni metaboliti.	103
1.3. Valutazione dell'attività biomolecolare esercitata da miricetina e piceatannolo in cellule tumorali mammarie ed endometriali	106
1.4. Tecniche adoperate.	107
1.5. Transattivazione di $\text{ER}\alpha$ endogeno e di $\text{ER}\alpha$ ed $\text{ER}\beta$ in sistemi eterologhi.	110
1.6. Down-regolazione dell'mRNA e dei livelli proteici di $\text{ER}\alpha$ ed up-regolazione di geni target degli estrogeni.	113
1.7. Effetti proliferativi su cellule di carcinoma mammario ormono-dipendenti.	114
Riferimenti.	115
Conclusioni	116

Premessa

La **cristallografia** (dalle parole greche "crystallon" = "goccia gelata", con un significato che si estende a tutti i solidi con qualche grado di trasparenza, and "graphein" = "scrivere") è la scienza sperimentale che si occupa di determinare la disposizione degli atomi nei solidi. In passato, era lo studio scientifico dei cristalli.

Prima dello sviluppo della cristallografia per diffrazione dei raggi X, lo studio dei cristalli era basato sulla geometria dei cristalli. Questo richiedeva la misurazione degli angoli che le facce dei cristalli formavano rispetto agli assi di riferimento teorici (detti assi cristallografici). Tale misura veniva eseguita per mezzo di un goniometro. La posizione nello spazio tridimensionale di ogni faccia del cristallo veniva tracciata su una rete stereografica, cioè una rete di Wolff o una rete di Lambert. In realtà, sulla rete veniva tracciata la normale di ogni faccia. Ogni punto veniva etichettato con il suo indice di Miller. Il modello finale permetteva di stabilire la simmetria del cristallo.

I metodi cristallografici adesso si basano sull'analisi dei pattern di diffrazione che emergono da un campione bersagliato dai raggi X. I raggi X sono utili per visualizzare le nubi elettroniche che compongono gli atomi.

Per visualizzare un'immagine di un oggetto microscopico, si possono focalizzare i raggi di luce visibile tramite un sistema di lenti, come nel microscopio ottico. Tuttavia, siccome la lunghezza d'onda della luce visibile è molto maggiore dei legami atomici e degli atomi stessi, è necessario usare una radiazione con lunghezze d'onda più corte, come i raggi X. Tuttavia, l'impiego di lunghezze d'onda più corte comporta l'abbandono della microscopia, perché è pressoché impossibile creare una lente capace di focalizzare questo tipo di radiazione. In generale, nella creazione di immagini di diffrazione, le uniche lunghezze d'onda usate sono quelle troppo corte per essere focalizzate.

Questa difficoltà è la ragione per cui, per analizzare la struttura dei solidi, si usano i cristalli, che sono un materiale ideale grazie alla loro struttura altamente ordinata e ripetitiva. Un singolo fotone X diffratto da una nube elettronica non genererà un segnale abbastanza forte per essere rilevato dagli strumenti. Tuttavia, molti fotoni X diffratti da molte nubi elettroniche che si trovino approssimativamente nelle stesse posizioni e orientamenti relativi per tutto il cristallo genereranno una interferenza costruttiva e quindi un segnale rilevabile. E questo vale anche per altri tipi di radiazione

Alcuni materiali studiati con la cristallografia, come i componenti del DNA per esempio, non si presentano in natura come cristalli. Tipicamente, tali molecole vengono poste in soluzione e lasciate cristallizzare nel corso di giorni, settimane, o mesi tramite la diffusione di vapore.

Dopo aver ottenuto un cristallo, i dati possono essere raccolti usando un fascio di raggi X. Produrre un'immagine da un pattern di diffrazione richiede della matematica sofisticata e spesso un procedimento iterativo di *modellazione e raffinamento*. In questo procedimento, i pattern di diffrazione predetti matematicamente in base a una struttura ipotizzata sono comparati ai pattern effettivamente generati dal campione cristallino. Idealmente, i ricercatori fanno più tentativi iniziali, che tramite raffinamento convergono sulla stessa risposta. I modelli vengono raffinati finché i loro pattern predetti corrispondono ad un massimo livello che si può raggiungere senza una radicale revisione del modello. Questo è un procedimento molto meticoloso, ma è stato facilitato dall'uso dei computer.

I metodi matematici per l'analisi dei dati di diffrazione si applicano solo ai *pattern*, che a loro volta si presentano solamente quando le onde sono diffratte da schiere ordinate. Pertanto, la cristallografia si applica quasi esclusivamente ai cristalli, o alle molecole che possono essere fatte cristallizzare a scopo di misurazione.

Introduzione

Semi- e tiosemi-carbazoni sono composti di notevole interesse per le loro caratteristiche chimiche e per la loro potenziale attività biologica benefica come antitumorali, antivirali ed antimalarici [1-8]. L'attività biologica di questi composti si pensa sia dovuta alla loro capacità di formare composti chelati con atomi pesanti [9-11]. Tuttavia, l'attività biologica dei complessi differisce da quella dei ligandi non complessati e questa attività aumenta o diminuisce a seconda dei metalli adoperati, tra tutti i metalli di transizione, gli studi più numerosi riguardano complessi di tiosemicarbazoni con rame e nichel [6-8]. Semi e tiosemicarbazoni sono composti versatili e possono coordinarsi al metallo sia come ligandi neutri sia come ligandi deprotonati sugli atomi S, N, N oppure sugli atomi O, N, N, a seconda del ligando tridentato [12].

È stato recentemente riportato che le attività antimicrobiche dei complessi di Ni(II) sono significativamente influenzate dalla struttura molecolare come dimostrato dal complesso attivo tetracoordinato [Ni(mtsc)(OAc)] e dal complesso esacoordinato [Ni(mtsc)₂], entrambi con lo stesso ligando tridentato, Hmtsc (*N'*-[1-(2-pyridyl)ethylidene]morpholine-4-carbothiohydrazide) [13].

Per quanto riguarda i composti di Ni(II), quindi, l'attività antimicrobica è da correlarsi con la capacità del metallo di complessare il ligando piuttosto che con la solubilità o l'idrofobicità dei composti, come avevano proposto altri in passato [14].

I cambiamenti delle proprietà antitumorali dei sistemi Cu(II)-ligando dipendono dalle caratteristiche del ligando considerato. La natura dei sostituenti in posizione 4'N può influenzare notevolmente l'attività biologica [15].

Il legame degli ioni metallici alle basi del DNA molto probabilmente è implicato nei processi di mutagenesi, metallo-carcinogenesi ed antineoplasticità di farmaci metallo-antitumorali.

Lo studio delle modalità di legame di ioni metallici alle biomolecole è dunque di grande importanza nell'aiutare a comprendere questo meccanismo.

I **nucleosidi** sono composti costituiti da uno zucchero pentoso (D-ribosio o 2-desossi-D-ribosio) e da una base azotata purinica (adenina, guanina) o pirimidinica (citosina, uracile, timina) legati per mezzo di un legame glicosidico. I nucleosidi più frequenti a livello cellulare sono quelli che si ottengono per idrolisi degli acidi nucleici (adenosina, guanosina uridina, ecc. e i corrispondenti desossi-): costituiscono infatti, per l'aggiunta di un gruppo fosfato, i nucleotidi, unità fondamentali del DNA e dell'RNA.

La citidina è un nucleoside pirimidinico che si ottiene in seguito alla demolizione chimica degli acidi nucleici di cui è uno dei costituenti. Cristallizza in aghi incolori solubili in acqua, poco solubili in alcol. I derivati fosforici della citidina prendono parte a importanti reazioni biochimiche legate al metabolismo dei grassi e delle nucleoproteine.[16]

Il monofosfato, detto *acido citidilico*, è la forma attiva della citidina nelle reazioni di sintesi degli acidi nucleici.

Il *citidin-difosfato* si combina nei tessuti con la fosforil-colina, fungendo da donatore di colina nei processi di sintesi delle lecitine e delle sfingomieline.

Notevole importanza biologica possiede anche il *citidin-trifosfato* che si forma dall'UTP (uridin-trifosfato) in presenza di glutammina e di ATP. È stato infatti accertato che tale sostanza è il principale regolatore della sintesi dei nucleotidi pirimidinici nei tessuti animali e nei microrganismi.[17]

Data l'importanza che ricopre nel campo biomedico lo studio dei complessi di coordinazione di ioni metallici con gli acidi nucleici ed i loro costituenti, molte ricerche sono rivolte alla caratterizzazione di nuovi composti, nonché delle loro specifiche attività.

È stato dimostrato che diversi composti di derivazione ambientale (fito-estrogeni) sono capaci di transattivare il recettore estrogenico (ER) alpha e beta anche se in maniera meno efficace rispetto al ligando naturale E2.[18] Attraverso una azione agonista diretta su ER alpha i fitoestrogeni inducono a concentrazioni comprese nel range nM effetti stimolatori sulla crescita di cellule ormono-dipendenti di carcinoma mammario. Viceversa, elevati livelli promuovono marcati effetti citotossici indipendentemente dall'espressione di ER alpha, verosimilmente per l'inibizione di attività tirosino-chinasiche.

Sarà dunque importante valutare la risposta funzionale di ER alpha ed ER beta (sia endogeni che espressi ectopicamente) a diversi composti ad attività estrogenica di derivazione naturale ed il ruolo di tali recettori sull'espressione di geni coinvolti nella proliferazione cellulare indotta dai fitoestrogeni.

La continua domanda di nuovi farmaci antitumorali ha stimolato la ricerca chemioterapica basata sull'uso di metalloelementi essenziali.

I complessi contenenti metalli sono stati usati come diagnostici e nella sintesi di farmaci ad azione antineoplastica. Un esempio di tali applicazioni sono i complessi di platino(II).

Questo lavoro di tesi si articola su due linee parallele: la prima è dedicata alla cristallizzazione di molecole ad attività antitumorale denominate tiosemicarbazoni e di componenti degli acidi nucleici con ioni metallici, la seconda, invece, si occupa dello studio in vitro delle interazioni di composti simil-estrogenici su cellule tumorali.

RIFERIMENTI:

- [1] I.H. Hall, S.Y. Chen, B.J. Barnes, D.X. West, *Metal Based Drugs* 6 (1999) 143.
- [2] E. Bermejo, R. Carballo, A. Castineiras, R. Dominguez, A.E. Liberta, C. Maichle-Mossmer, D.X. West, *Z. Naturforsch. B54* (1999) 777.
- [3] J.M. Perez, A.I. Matesanz, A. Marin-Ambite, P. Navarro, C. Alonso, P. Souza, J. Inorg. Biochem. 75 (1999) 255.
- [4] K.H. Reddy, P.S. Reddy, P.R. Babu, *J. Inorg. Biochem.* 77 (1999) 169.
- [5] P.F. Kelly, A.M.Z. Slawin, A. Soriano-Rama, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1996) 53.
- [6] D.X. West, S.B. Padhye, P.B. Sonawane, *Structure Bonding* 76 (1991) 1.
- [7] A.E. Liberta, D.X. West, *BioMetal* 5 (1992) 121.
- [8] D.X. West, A.E. Liberta, S.B. Padhye, R.C. Chikate, P.B. Sonawane, A.S. Kumbhar, R.G. Yerande, *Coord. Chem. Rev.* 123 (1993) 49.
- [9] U. Abram, K. Ortner, K. Sommer, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* (1999) 735.
- [10] R. Dimmer, U. Dittes, B. Nuber, V. Sefried, W. Opferkuch, B.K. Keppler, *Metal Based Drugs* 2 (1995) 271.
- [11] D.X. West, G.A. Bain, R.J. Butcher, J.P. Jasinski, Y. Li, R.Y. Pozdniakiv, J. Valdes-Martinez, R.A. Toscano, S. Hernandez-Ortega, *Polyhedron* 15 (1996) 665.
- [12] M.B. Ferrari, G. Fava, C. Pelizzi, Tarasani. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* (1992) 2153.
- [13] N.C. Kasuga, A. Ohashi, C. Koumo, J. Uesugi, M. Oda, K. Nomiya, *Chem. Lett.* (1997) 609.
- [14] N.C. Kasuga, K. Sekino, C. Koumo, N. Shimada, M. Ishikawa, K. Nomiya, *J. Inorg. Biochem.* 84 (2001) 55.
- [15] F.A. French, E.J. Blanz, *J. Med. Chem.* 9 (1966) 585.
- [16] A. Watson et al.: "Biologia molecolare del gene" Cap. 9, Ed. Zanichelli, (1989).
- [17] F. Abad-Santos, S. Gallego-Sandín, J. Novalbos, M.A. Gálvez-Múgica, *Rev. Ecuat. Neurol.*, 3, 10, (2001).
- [18] M. Maggiolini, D. Bonofiglio, S. Marsico, ML Panno, B. Cenni, D. Picard, S. Andò, *Mol Pharmacol.* 60 (2001), 595.

PARTE I

CAPITOLO I

1.1. *I Tiosemicarbazoni*

I tiosemicarbazoni sono considerati una importante classe di ligandi zolfo-azoto donatori a causa delle loro interessanti proprietà chimiche, biologiche e mediche [1].

Queste molecole ed i loro derivati hanno attirato l'attenzione delle case farmaceutiche per le loro attività antivirali [2], antibatteriche [3] ed antitumorali [4].

La loro attività antitumorale sembra sia dovuta ad una inibizione della sintesi del DNA prodotta dalla modificazione nella conversione riduttiva dei ribonucleotidi a deossiribonucleotidi: è stato postulato che tali molecole agiscano da ligandi tridentati NNS legando il ferro nel sito attivo della ribonucleotide reductasi, un enzima chiave nella sintesi dei precursori del DNA [5].

L'attività biologica dei tiosemicarbazoni è correlata alla loro capacità di chelazione con ioni metallici, che vengono coordinati tramite gli atomi N, N ed S [6, 7].

I tiosemicarbazoni sono composti versatili. In letteratura sono stati riportati diversi tipi di isomeri (E, E', Z) che riescono sia a coordinarsi con i metalli, sia a comportarsi da ligando neutro o da ligando deprotonato mediante gli atomi S, N, N, o O, N, S.

La coordinazione di uno ione metallico all'eteroatomo di azoto nella molecola eterociclica potenzia l'effetto electron-withdrawing come risultato della sua carica positiva, cosicché aumenta la stabilità dell'interazione π - π . Ciò è molto importante poiché il fenomeno del riconoscimento molecolare, chiave di volta della chimica supramolecolare, dipende da una gran varietà di interazioni non-covalenti come appunto le interazioni π - π [8].

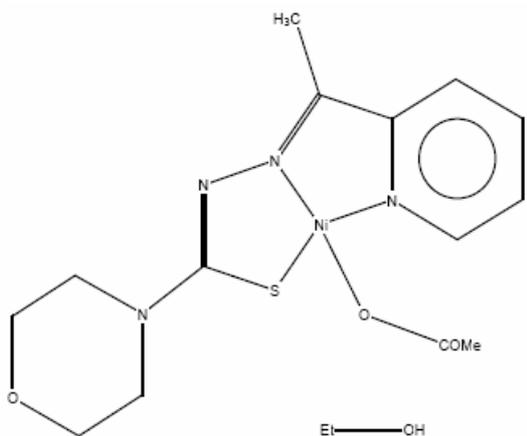
Come già detto, l'attività biologica dei complessi differisce da quella dei ligandi non complessati. Infatti è stato visto che alcuni complessi di rame e ferro hanno una certa attività nella distruzione cellulare come nell'inibizione della sintesi del DNA, mentre il ligando libero, non complessato, non mostra alcuna attività [9].

1.2. Composti di tiosemicarbazoni con Nichel e loro attività biologica.

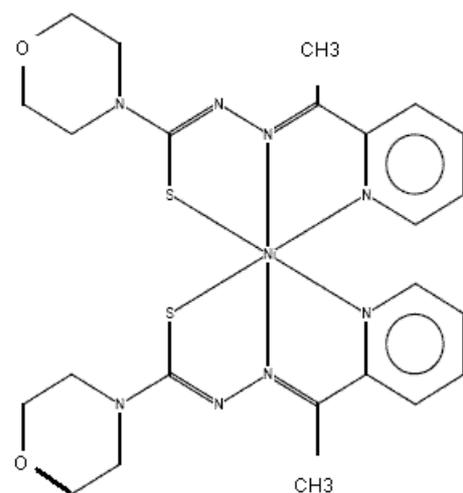
Il nichel è un sale minerale in traccia essenziale nel corpo umano. Ricerche eseguite su esseri umani e animali mostrano che il nichel ha una funzione nel metabolismo degli ormoni, dei lipidi e della membrana e nell'integrità della membrana cellulare. E' un attivatore di alcuni enzimi - nel fegato arginasi, tripsina e carbossilasi - e partecipa al metabolismo del glucosio. Se ne trovano quantità importanti nel DNA e nell'RNA e può agire come stabilizzatore di questi acidi nucleici. Il nichel è un sottoprodotto di molte industrie; si trova nei carburanti per riscaldamento, nel fumo delle sigarette, nei fertilizzanti a base di superfosfato e nei gas di scarico delle autovetture. I grassi e gli oli idrogenati, come la margarina o i condimenti e gli alimenti raffinati e lavorati contengono questo minerale. Tra i cibi il nichel è presente nei frutti di mare, nei cereali, nel grano saraceno, nell'avena, nei legumi, nei semi e nel cavolo.[10]

L'attività antimicrobica dei complessi di Ni(II) con ligandi tiosemicarbazonici viene significativamente influenzata dalla struttura molecolare come dimostrato dai complessi $[\text{Ni}(\text{mtsc})(\text{OAc})]$ (**1**) e $[\text{Ni}(\text{mtsc})_2]$ (**2**), che mostrano attività opposta nonostante il ligando sia lo stesso [11].

Per ottenere questi due composti sono stati messi a reagire Ni(OAc) con *N'*-[1-(2-pyridyl)ethylidene]morpholine-4-carbothiohydrazide. Di questi, il primo (**1**) è tetracoordinato e diamagnetico, il secondo (**2**) è esacoordinato e paramagnetico. Le analisi ai raggi X del composto **1** hanno rivelato che i ligandi sono coordinati allo ione metallico centrale in modo da formare una geometria quadrato-planare. Tale composto mostra una notevole attività antimicrobica contro batteri Gram(+), assai superiore rispetto a quella del ligando da solo, mentre il composto **2** non ha mostrato alcuna attività.



Composto (1)



Composto (2)

Gli autori di questo lavoro hanno approfondito gli studi sul Ni(II) sintetizzando altri 6 composti con ligandi tiosemicarbazonici e semicarbazonici [12].

I ligandi in questione sono rappresentati in figura 1:

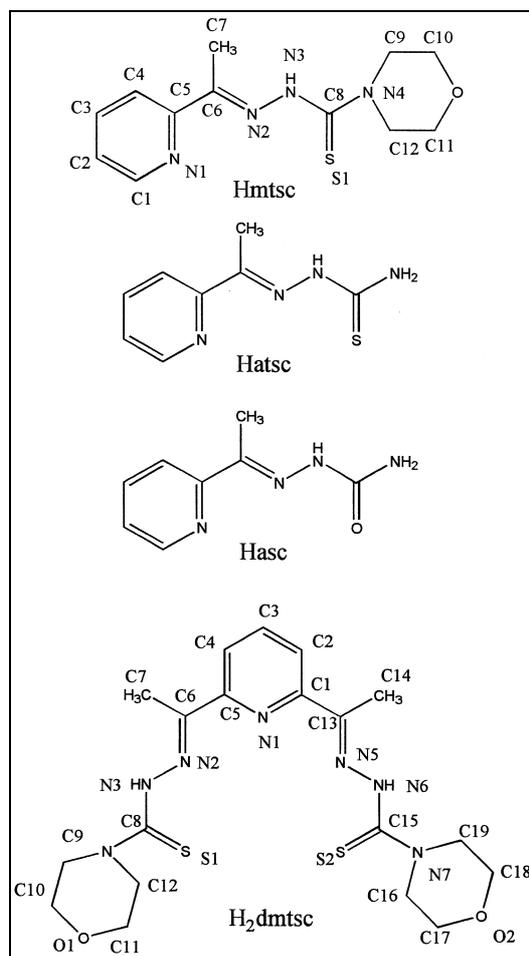
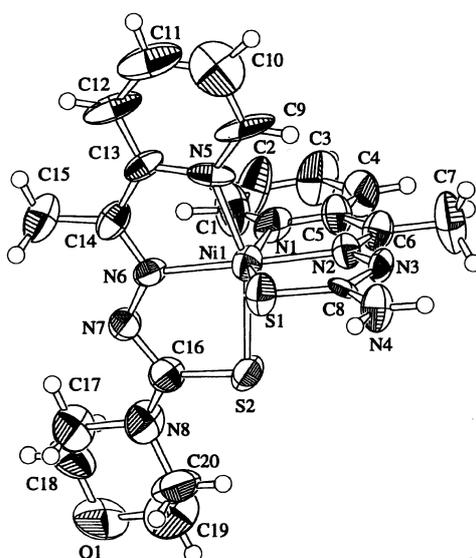


Figura 1

In questi studi le strutture molecolari dei complessi di Ni(II) sono state determinate mediante suscettibilità magnetica ed analisi ai raggi X su cristallo singolo, mentre le loro attività antimicrobiche sono state valutate mediante il MIC (Minimum Inhibitory Concentration) su quattro specie di batteri, due lieviti e due muffe, ed è stata discussa la correlazione struttura-attività.

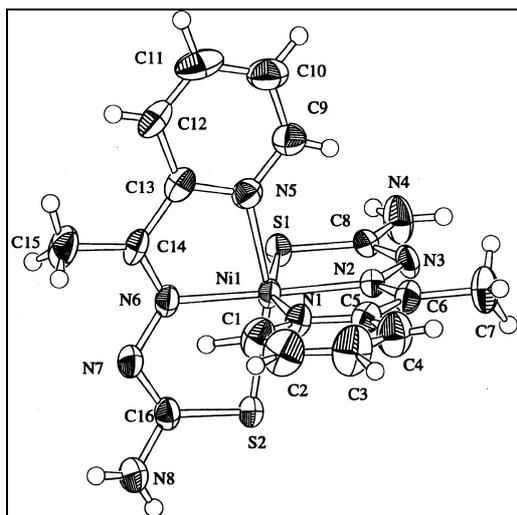
Il composto **3** [Ni(mtsc)Cl] è un complesso diamagnetico tetracoordinato, invece il composto **4** [Ni(atsc)(mtsc)] è paramagnetico ed esacoordinato.



Composto 4

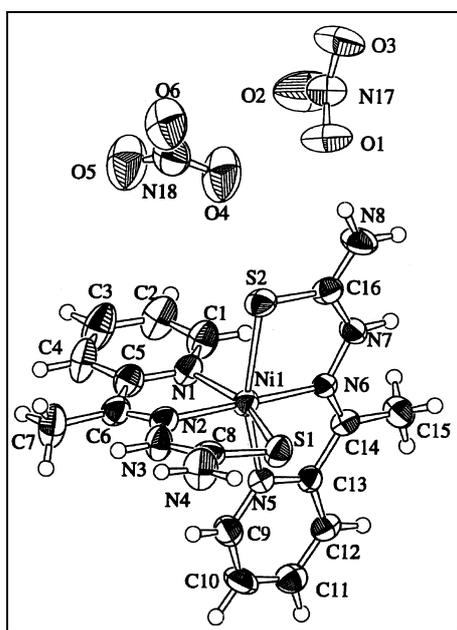
I composti **1-4** hanno in comune la proprietà di essere insolubili in acqua.

Il composto **5** [Ni(atsc)(OAc)] è diamagnetico tetracoordinato e solubile in acqua, il composto **6** [Ni(atsc)₂] è paramagnetico esacoordinato ed insolubile in acqua.



Composto 6

Il composto **7** $[\text{Ni}(\text{Hatsc})_2](\text{NO}_3)_2$ è paramagnetico esacoordinato. I due ligandi non sono deprotonati e due molecole di NO_3^- agiscono da controioni per neutralizzare la carica positiva dello ione metallico centrale.

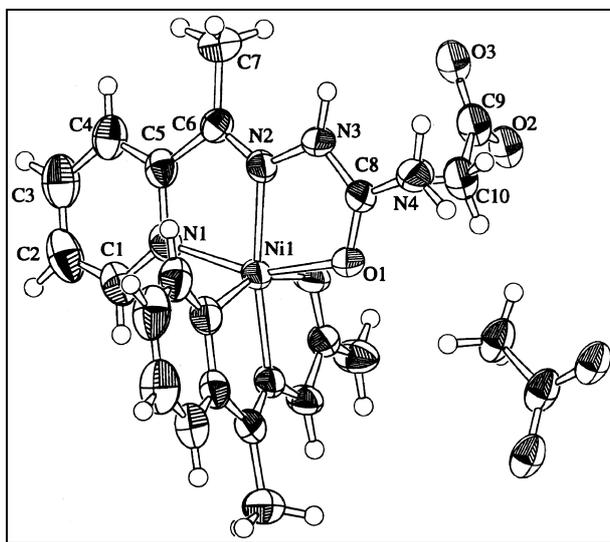


Composto 7

Il composto **8** $[\text{Ni}(\text{Hatsc})_2]\text{Cl}_2$ è paramagnetico esacoordinato. I ligandi non sono deprotonati e due ioni Cl^- agiscono da controioni.

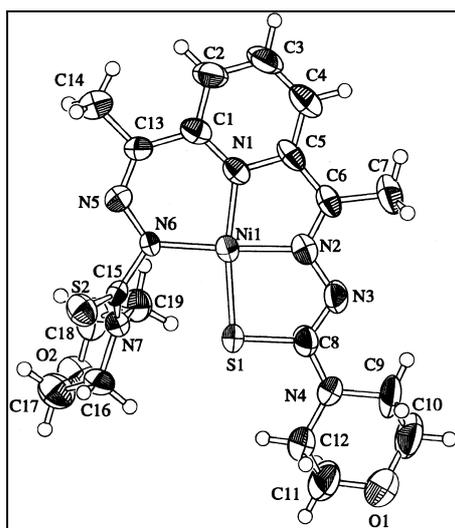
Sia il composto **7** che il composto **8** sono solubili in acqua.

Il composto **9** $[\text{Ni}(\text{Hasc})_2](\text{OAc})_2$ è cationico esacoordinato. Questo composto è racemico con geometria *cis-mer*. A differenza di tutti i composti fin qui riportati, di colore rosso scuro, questo è il primo caso di cristallo di colore blu e si pensa che ciò sia dovuto alla coordinazione degli atomi di ossigeno in luogo di quelli di zolfo.



Composto 9

Il composto **10** $[\text{Ni}(\text{dmtsc})]$ è stato ottenuto mettendo a reagire $\text{Ni}(\text{OAc})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ con H_2dmtsc , il risultato è un composto paramagnetico esacoordinato.



Composto 10

L'attività antimicrobica dei ligandi è molto diversa.

Il ligando *Hmtsc* ha mostrato una larga sfera di attività antimicrobiche contro gli organismi di controllo, specialmente contro i lieviti *C. albicans* e *S cerevisiae*.

H₂mtsc ha mostrato attività, invece, solo contro determinati batteri (*E. coli*, *B. subtilis* e *S. aureus*) e determinati lieviti (*C. albicans* e *S cerevisiae*).

Hatsc ha mostrato un'attività modesta verso determinati batteri (*B. subtilis* e *P. aeruginosa*) e determinati lieviti (*C. albicans*).

Il ligando *Hasc*, che contiene atomi di ossigeno, al posto degli atomi di zolfo, non ha inibito la crescita degli organismi testati.

Per quanto riguarda invece i composti di partenza, $\text{Ni}(\text{OAc})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ e $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, hanno mostrato una moderata attività contro i lieviti (*C. albicans* e *S cerevisiae*), e le muffe (*A. niger* e *P. citrinum*), ma nessuna attività contro i batteri.

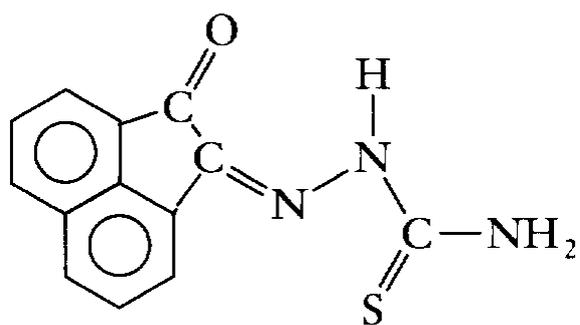
L'attività dei complessi tetraordinati ha mostrato efficacia antimicrobica differente rispetto a quella dei ligandi liberi e dei composti di partenza; il composto **1** ha mostrato attività antimicrobica contro 2 batteri Gram (+) (*B. subtilis* e *S. aureus*) ed una attività modesta contro un lievito (*S. cerevisiae*), il composto **3** ha una moderata attività contro un batterio Gram (+) (*S. aureus*) ed il composto **5** una modesta attività contro due batteri Gram (+) (*B. subtilis* e *S. aureus*).

Risultato completamente diverso hanno dato, invece, i composti esacoordinati (**2**, **4**, **6**, **7**, **8**, **9**) ed il composto **10**, che non sono stati in grado di inibire la crescita degli organismi test.

Questi risultati sono utili per interpretare e spiegare la relazione tra struttura ed attività dei composti di Ni(II) con tiosemicarbazoni e semicarbazoni verso microrganismi selezionati.

È ragionevole dedurre da questi test che l'attività antimicrobica dei composti in questione sia dovuta alla loro capacità di sostituire il ligando piuttosto che alla loro solubilità o idrofobicità. Questi studi possono essere utili per lo sviluppo di un nuovo tipo di farmaci con attività antimicrobica selettiva.

Un altro legante tiosemicarbazonic aromatico, di nuova sintesi, ha ricevuto grande interesse per la sua capacità di inibire la proliferazione cellulare e la differenziazione indotta, sia in forma libera sia complessato, l'acenaphthenequinone thiosemicarbazone (*Haqtsc*):



Haqtsc

Studi biologici hanno infatti mostrato che il ligando libero è attivo sia nell'inibizione della proliferazione cellulare sia nella differenziazione indotta delle cellule eritroleucemiche di Friend (FLC).[13] Le FLC sono precursori cellulari eritroidi trasformati da retrovirus che, in vitro, conservano la capacità di auto-rigenerarsi e di differenziare emoglobina (Hb) in seguito ad esposizione ad agenti stimolanti diversi, tra i quali il DMSO.

Haqtsc ha mostrato una certa inibizione della proliferazione cellulare già a livelli di 2 $\mu\text{g/mL}$. A valori di 9.3 $\mu\text{g/mL}$ si ha un incremento di questa inibizione, mentre concentrazioni pari a 20 $\mu\text{g/mL}$ risultano letali per le cellule.

Il ligando libero, inoltre, è in grado di inibire la differenziazione DMSO-indotta del 40% sia a 2 $\mu\text{g/mL}$, sia a 9.3 $\mu\text{g/mL}$.

Simili test sono stati altresì effettuati su un complesso di Haqtsc con Ni(II) in soluzione di N,N'-dimetilformammide (DMF). Nel composto di formula $[\text{Ni}(\text{aqtsc})_2]\cdot\text{DMF}$ (figura 2), il ligando anionico si comporta da chelante tridentato:

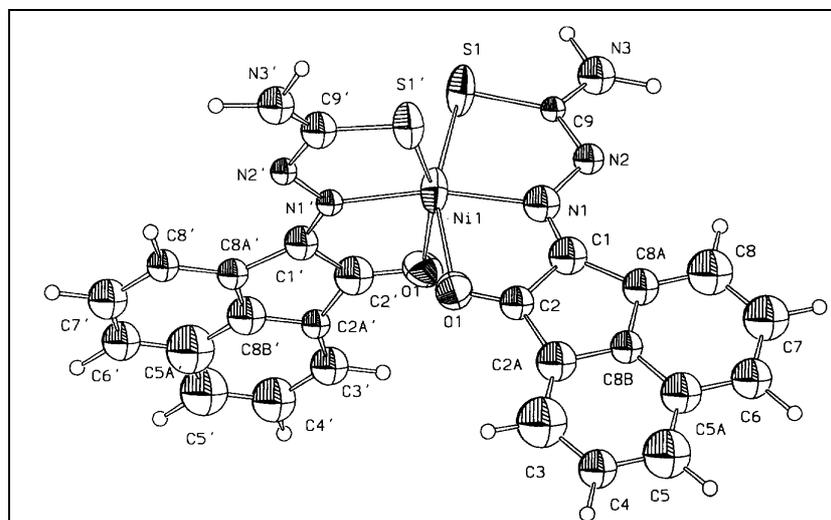


Figura 2

Come si può vedere in figura, l'atomo di Ni è coordinato a due ligandi tiosemicarbazonici in una geometria ottaedrica distorta.

Il complesso in questione ha mostrato una minore attività nell'inibire la proliferazione cellulare rispetto al ligando libero, infatti è in grado di esercitare attività di rilievo solo a concentrazioni di 4.4 µg/mL.

Per quanto riguarda l'inibizione della differenziazione DMSO-indotta, invece, il complesso ha dimostrato di essere più attivo rispetto al ligando libero poiché a concentrazioni di 2 µg/mL inibisce il 50% della differenziazione ed a concentrazioni di 4.4 µg/mL dimostra un potere inibente addirittura del 90%.

La proliferazione incontrollata dei cloni leucemici, l'arresto della maturazione allo stadio iniziale di emopoiesi e l'abbattimento del turnover cellulare sono le più importanti alterazioni che caratterizzano la manifestazione patologica della leucemia. Molecole in grado di interferire con questi meccanismi possono contribuire all'eliminazione di cellule neoplastiche mediante l'inibizione della replicazione, inducendo la differenziazione o stimolando i processi apoptotici e, così, agendo come sostanze terapeutiche potenzialmente importanti.

Il composto di 5-formiluracile tiosemicarbazone e Ni(II) è stato testato proprio su queste linee cellulari, dando interessanti risultati (figura 5).[19]

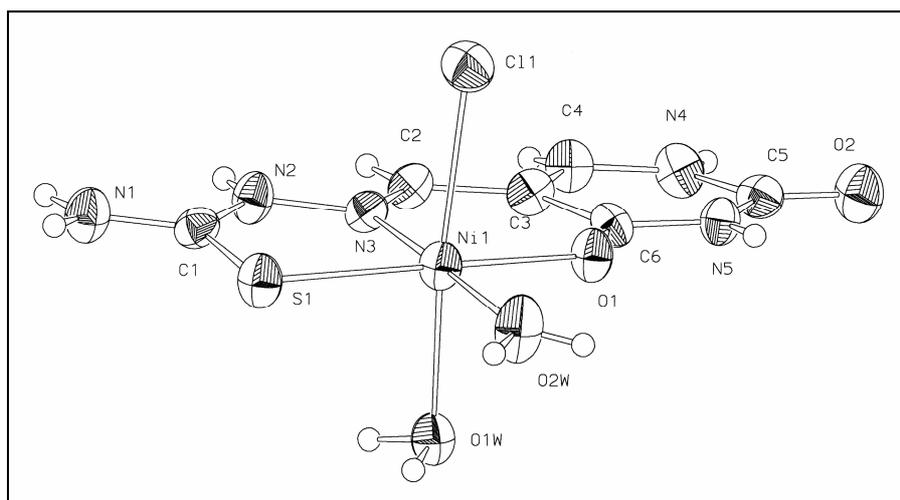


Figura 5

Nel composto $[\text{Ni}(\text{H}_3\text{ut})(\text{OH}_2)_2\text{Cl}]\text{Cl}\cdot\text{H}_2\text{O}$, l'atomo di Ni ha un intorno ottaedrico distorto determinato dalla coordinazione del ligando tridentato SNO e di una molecola d' acqua e di un atomo di cloro. Il complesso è carico positivamente ed un secondo atomo di cloro non

coordinato agisce da controione. Il ligando neutro presenta una piccola delocalizzazione di carica come mostrato dalle distanze S-C1 e C2-N3, tipiche di un doppio legame.

Questo complesso, testato su linee cellulari leucemiche K562 e CEM non ha attività di inibizione sulla proliferazione cellulare a concentrazioni fino a 40 $\mu\text{g/mL}$, oltre le quali non si è potuti andare poiché quantità superiori di DMSO necessarie per solubilizzare il composto interferivano con i dati sperimentali.

È stato postulato che la causa di questa mancata attività sia dovuta alla presenza di una sfera di coordinazione completa intorno all'atomo di Ni.

Un altro chinone che ha suscitato grande interesse è stato il derivato tiosemicarbazonico del 9,10-phenanthrenequinone (PQ).[14]

I composti chinoidali di origine naturale o sintetica rappresentano la seconda più grande classe di agenti antitumorali approvati clinicamente. La loro citotossicità è stata spiegata sulla base di molti meccanismi inclusi l'intercalazione, la rottura della doppia elica del DNA, l'alterazione delle funzioni della membrana cellulare e l'alchilazione mediata dai radicali liberi.[15-16].

Il PQ è in grado di formare complessi con ioni metallici di transizione, e tale capacità viene potenziata se uno degli ossigeni carbonilici della molecola viene sostituito con un frammento attivo tiosemicarbazonico, da qui la sintesi della molecola PQTSC (figura 3).

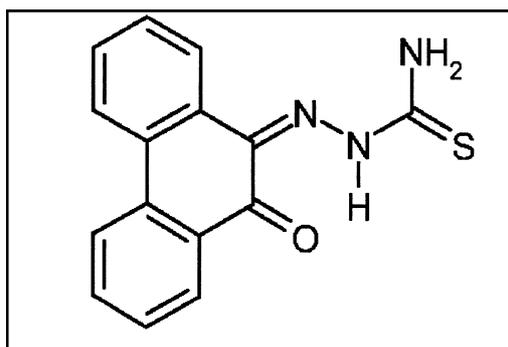


Figura 3

Il potere intercalante del chinone, unito all'attività citotossica del tiosemicarbazone ha già mostrato in passato di produrre effetti sinergici contro l'attività proliferativa delle cellule tumorali.[17]

Sulla base di questi dati è stato sintetizzato il composto $[\text{Ni}(\text{PQTSC})_2] \cdot 3\text{DMSO}$ ed è stata analizzata la sua attività antitumorale verso linee cellulari di carcinoma mammario T47D ricche di recettore per il progesterone.

La struttura cristallina del composto metallico rivela che il Ni(II) centrale è coordinato con due molecole di ligando deprotonate in posizione N(2), leganti lo ione metallico tramite l'atomo di azoto e di zolfo della porzione tiosemicarbazonica e con l'ossigeno del chinone dando luogo così ad una geometria ottaedrica distorta (figura 4).

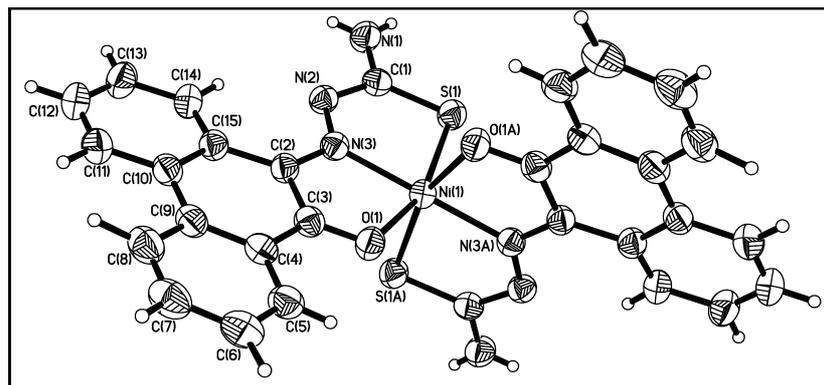


Figura 4

Il composto è stato testato sulle cellule T47D ricche in recettore per il progesterone. Da questi studi è stato possibile osservare che la complessazione con i metalli ha un effetto sinergico sull'attività antiproliferativa di questi composti, specialmente contro i tumori ormono-responsivi.

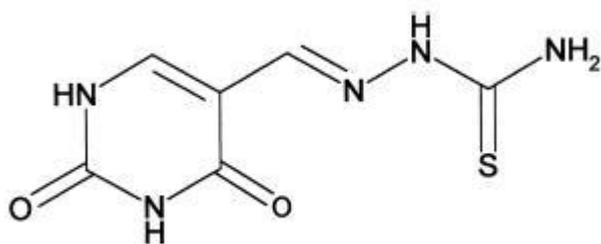
Sotto determinate condizioni, è stato osservato che alcuni metalli sono in grado di inibire il legame degli ormoni ai loro recettori o comunque di riuscire a prevenire la dimerizzazione del recettore estrogenico, ciò dovuto forse al coinvolgimento dei tioli nel legame degli steroidi.[18] I siti specifici di interazione di questi ioni metallici, comunque, restano ancora sconosciuti.

1.3. Composti di tiosemicarbazoni con Rame e loro attività biologica.

Il rame è un sale minerale in traccia presente in tutti i tessuti dell'organismo in quantità che vanno dai 75 ai 100 mg. Durante la crescita la percentuale più alta si trova nei tessuti in via di sviluppo. Ha un ruolo nella respirazione perché partecipa alla sintesi dell'emoglobina, la sostanza che nel sangue trasporta l'ossigeno. Partecipa alla produzione del collagene e del neurotrasmettitore noradrenalina. Il rame è anche uno dei più importanti antiossidanti del sangue e previene l'irrancidimento degli acidi grassi polinsaturi e aiuta la membrana cellulare a rimanere sana. Il rame è presente in molti enzimi che scompongono o costruiscono i tessuti dell'organismo. Contribuisce alla conversione dell'aminoacido tirosina in un pigmento scuro (melanina) che colora i capelli e la pelle. Partecipa anche al metabolismo delle proteine e ai processi di cicatrizzazione. Il rame è necessario per la sintesi dei fosfolipidi, sostanze essenziali nella formazione delle membrane protettive della mielina che circondano le fibre nervose. Il rame ha un ruolo nel processo di ossidazione della vitamina C e collabora con questa vitamina alla formazione dell'elastina, una componente fondamentale delle fibre elastiche dei muscoli del corpo. Il rame è necessario per la formazione di una buona struttura ossea. E' necessario anche per la produzione dell'RNA.

I cambiamenti delle proprietà antitumorali dei sistemi Cu(II)-tiosemicarbazoni dipendono dalle caratteristiche del ligando considerato.

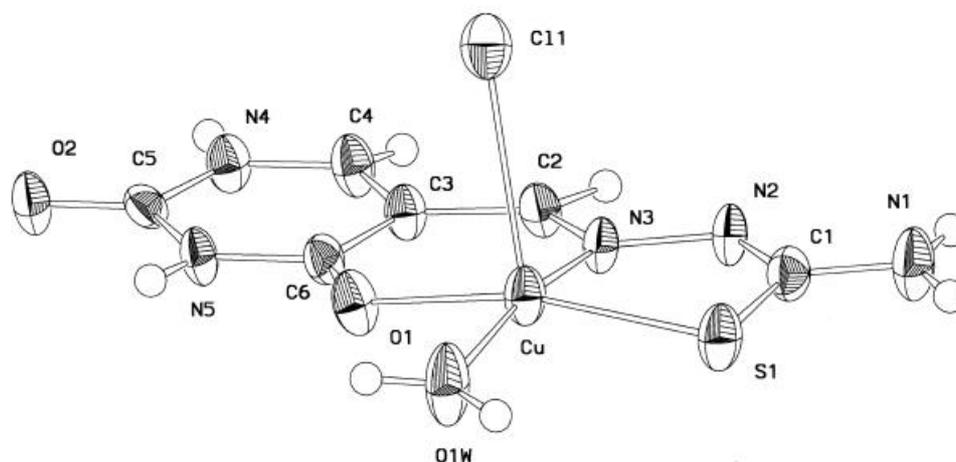
La molecola 5-formiluracile tiosemicarbazone (H_3ut) contiene sia un anello pirimidinico sia una catena alifatica con centri nucleofili N ed S. Questa molecola possiede tre gruppi NH e quindi può assumere differenti stadi di deprotonazione in funzione del pH. La delocalizzazione di carica sviluppata può avere implicazione nella stabilizzazione della geometria complessiva e può favorire interazioni specifiche con le molecole target.



H_3ut

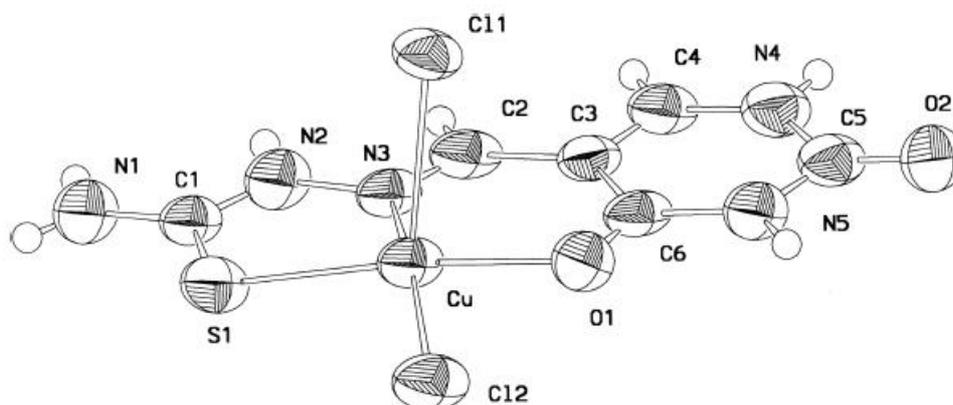
Dalla reazione di questo ligando tiosemicarbazonicico con sali di Rame sono stati ottenuti 4 composti, testati in vitro su cellule leucemiche umane di linea K562 e CEM. I composti in questione sono: $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{ut})(\text{OH}_2)\text{Cl}]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**1**), $[\text{Cu}(\text{H}_3\text{ut})\text{Cl}_2]\cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (**2**), $[\text{Cu}(\text{H}_3\text{ut})(\text{OH}_2)\text{SO}_4]\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (**3**)[11] e $[\text{Cu}(\text{H}_3\text{ut})(\text{OH}_2)_2](\text{NO}_3)_2\cdot \text{H}_2\text{O}$ (**4**)[19].

Nel composto **1** l'atomo di rame è circondato da 5 atomi donatori in una geometria piramidale quadrata (4+1). Il piano basale è costituito dagli atomi S, N ed O del ligando e da una molecola d'acqua; l'atomo di cloro occupa la posizione apicale.



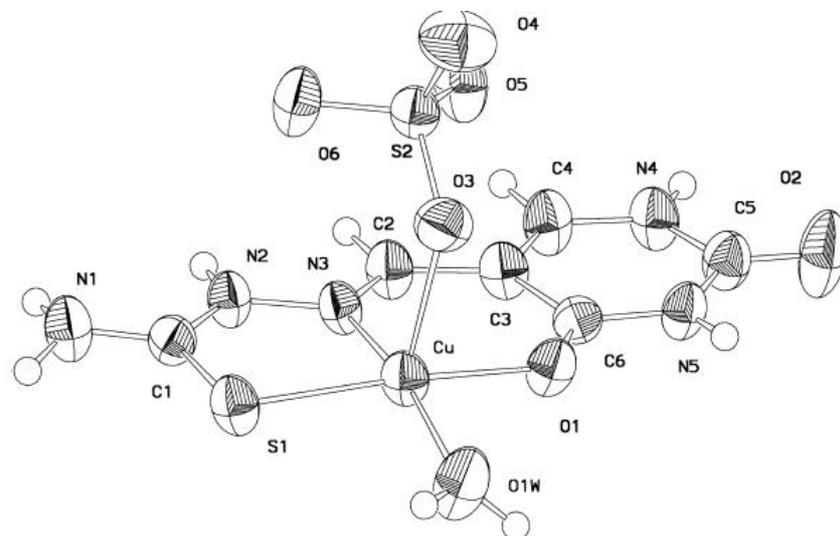
Composto 1

La stessa geometria si ritrova nel composto **2**. In questo secondo caso l'atomo di rame ha due atomi di cloro coordinati all'atomo di rame ed il ligando è neutro. Il secondo atomo di cloro occupa la posizione che nel composto **1** occupava la molecola d'acqua.



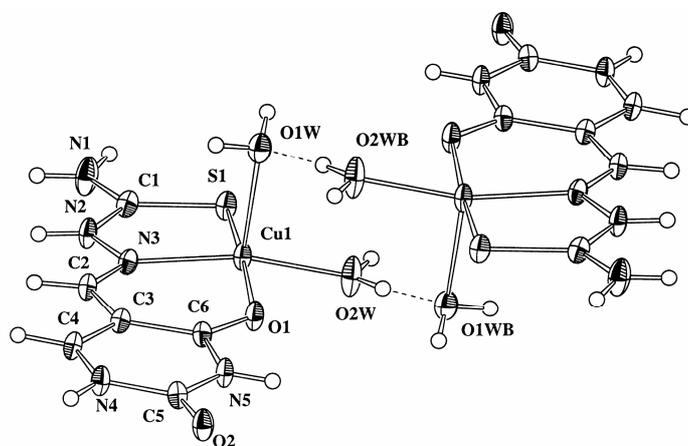
Composto 2

Nel composto **3** il ligando è neutro e la geometria è una piramide quadrata. La quarta posizione è occupata da una molecola d'acqua come nel composto **1**. Nella posizione apicale il rame è coordinato con un ossigeno del gruppo solfato.



Composto 3

Il composto **4**, infine, presenta una struttura a piramide quadrata come i precedenti composti; la differenza è nella coordinazione di due molecole d'acqua all'atomo di rame. Il ligando è nella sua forma neutra e con la sua coordinazione al rame costituisce il piano basale della molecola insieme ad una delle due molecole d'acqua, mentre la seconda acqua occupa la posizione apicale. Due ioni NO_3^- completano l'unità asimmetrica.



Composto 4

I complessi **1** e **2**, utilizzati a concentrazioni di 40 µg/ml hanno inibito la proliferazione del clone 13 delle CEM e delle K562, mentre alle stesse concentrazioni il composto **3** ha inibito solo le K562. Il composto **4** è stato in grado di inibire la proliferazione a concentrazioni inferiori, infatti era attivo già a 30 µg/ml sulle CEM ed a 35 µg/ml sulle K562. Vista questa sua elevata attività, si è voluto testare questo composto anche sulla linea cellulare U937, ed anche su queste ultime ha provocato una inibizione della proliferazione a concentrazioni di 30 µg/ml.

Dopo 18 h di trattamento sulle cellule solo il composto **1** ha indotto apoptosi nelle cellule CEM; un tempo di esposizione più lungo è stato necessario (30 h) affinché anche le cellule K562 andassero in apoptosi, con risultati meno evidenti.

Il legante tiosemicarbazone 2-formilpiridinatiosemicarbazone (HPATS) ha ricevuto grande attenzione negli ultimi anni per la sua spiccata attività antitumorale. [21] I suoi complessi di Cu(II) sono ancora più attivi del ligando libero. [22]

Poiché l'attività biologica e la stereochimica dei complessi rame-tiosemicarbazoni dipende anche dalla natura del sostituente sull'atomo ⁴N del ligando, sono stati sintetizzati nuovi complessi di rame con ligandi tridentati simili alla HPATS. Il ligando 6-metil-2-formilpiridina ⁴N-dimetiltiosemicarbazone (HNNS) è strutturalmente simile all'HPATS, eccetto che per il suo sostituente metilico su entrambi gli anelli pirimidinici e sull'atomo ⁴N della catena tiosemicarbazonica. Tale ligando può esistere sia sotto forma di tione (**1a**) sia di tiolo (**1b**) (figura 6).[23]

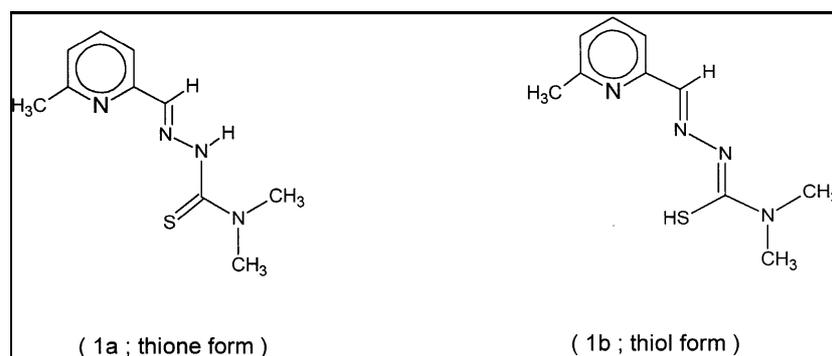


Figura 6

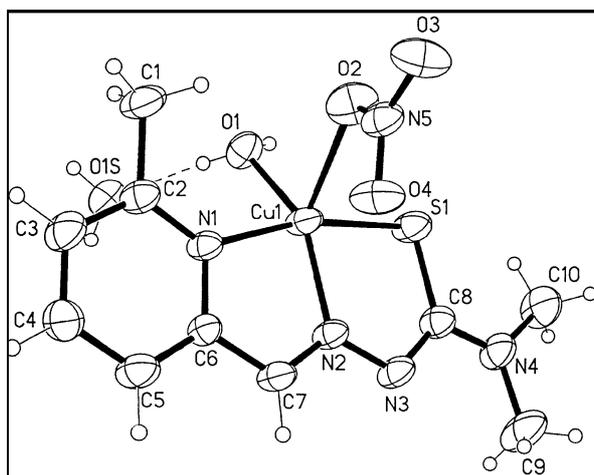
Il ligando in questione reagisce con $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ e con $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ dando la formazione di complessi cristallini mono- e bis-chelati di formula $[\text{Cu}(\text{NNS})(\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})]\cdot\text{H}_2\text{O}$ e $[\text{Cu}(\text{NNS})_2]$, rispettivamente.

Bisogna sottolineare il fatto che il ligando non riesce a reagire in un rapporto 1:1 con il $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$, mentre invece con un rapporto 1:2 si ha la formazione di un complesso cristallino in cui 2 ligandi sono coordinati al metallo centrale.

Questo è probabilmente il primo esempio di un complesso di rame in cui due ligandi tiosemicarbazonici tridentati NNS planari entrambi deprotonati sono coordinati allo ione $\text{Cu}(\text{II})$. C'è un solo esempio di un complesso simile, che però contiene un ligando protonato ed uno deprotonato [24].

In entrambi i composti, il ligando HNNS si coordina al rame centrale come anione mononegativo.

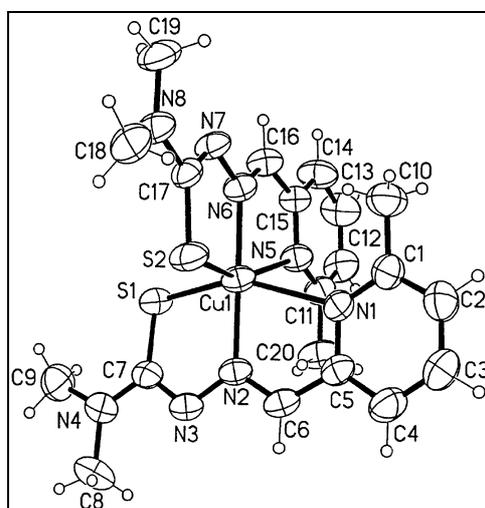
La risoluzione strutturale del complesso di nitrato mostra una geometria monomerica e pentacoordinata, con tre posizioni occupate dal ligando tridentato e le altre due occupate, rispettivamente, da una molecola di acqua ed una molecola di nitrato. La stereochimica intorno allo ione $\text{Cu}(\text{II})$ può essere considerata come un intermedio tra una bipiramide trigonale ed una piramide quadrato planare.



$[\text{Cu}(\text{NNS})(\text{NO}_3)(\text{H}_2\text{O})]\cdot\text{H}_2\text{O}$

La struttura molecolare del secondo composto mostra una esacoordinazione intorno al rame, con due ligandi coordinati in una forma tiolata monodeprotonata. La sfera di coordinazione intorno allo ione $\text{Cu}(\text{II})$ può essere descritta come un ottaedro distorto. I due ligandi sono

arrangiati in una configurazione *mer* simile a quella osservata in altri complessi in cui si ha una coordinazione di due ligandi all'atomo centrale.



[Cu(NNS)₂]

Entrambi i complessi ed il ligando libero sono stati testati su funghi fitopatogenici, quali *A. alternata*, *F. equiseti* e *M. phaseolina*. I dati indicano che il ligando libero è fungitossico, mentre invece i due complessi di rame sono molto meno attivi. Il basso livello di tossicità di questi composti rispetto al ligando libero può ascrivere alla loro bassa solubilità in solventi non-acquosi.

1.4. Composti di tiosemicarbazoni con Cobalto e loro attività biologica.

Il cobalto è considerato un sale minerale essenziale ed è parte integrante della vitamina B12, o cobalamina. La concentrazione normale nel sangue va dagli 80 ai 300 ng/ml. Il cobalto agisce come sostituto del manganese nell'attivare una serie di enzimi (come dipeptidasi e glicilglicina) nel corpo. Il cobalto sostituisce lo zinco in alcuni enzimi e ne attiva altri. È necessario per un normale funzionamento e mantenimento dei globuli rossi e di tutte le altre cellule del corpo. Il corpo umano non ha la capacità di sintetizzare il cobalto e dipende quindi da fonti animali per una giusta quantità di questa sostanza. Una carenza di cobalto può causare l'anemia perniciosa ed essere responsabile di uno sviluppo lento. Se la carenza di cobalto non viene curata, può causare disturbi nervosi permanenti.

Sono solo due i composti di Cobalto-tiosemicarbazone che sino ad oggi sono stati studiati sia strutturalmente sia a livello biologico.

Il primo è il complesso $[\text{Co}(\text{C}_7\text{H}_7\text{N}_4\text{S})_2][\text{NCS}]$ [25], il cui ligando, la piridina-2-carbaldeide tiosemicarbazone, è una molecola di nuova sintesi (figura 7).

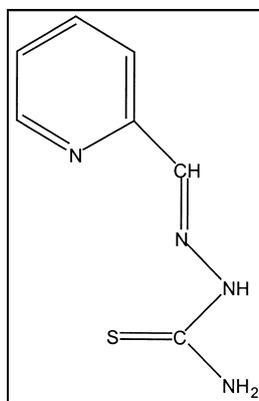
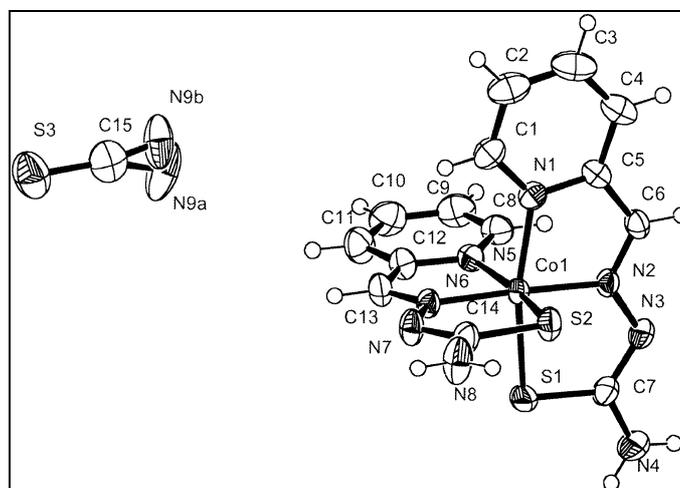


Figura 7

Questo ligando, solitamente, induce ossidazione del Co(II) in soluzioni acquose in condizioni atmosferiche e livelli di pH bassi o vicino alla neutralità, portando così alla formazione di Co(III) . [26] Il complesso di cobalto è stato preparato con l'aggiunta di KNCS ad una soluzione acquosa di CoCl_2 . Solo dopo è stato aggiunto il ligando.

La struttura cristallina del composto contiene entità discrete ottaedriche $[\text{Co}(\text{L})_2]^+$. Lo ione Co(III) è circondato dagli atomi di S, N(2), ed N(6) dei due tiosemicarbazoni in una

coordinazione ottaedrica. Il gruppo tiocianato agisce da controione. I piani NNS dei due ligandi sono praticamente ortogonali, con angoli vicino ai 90°.

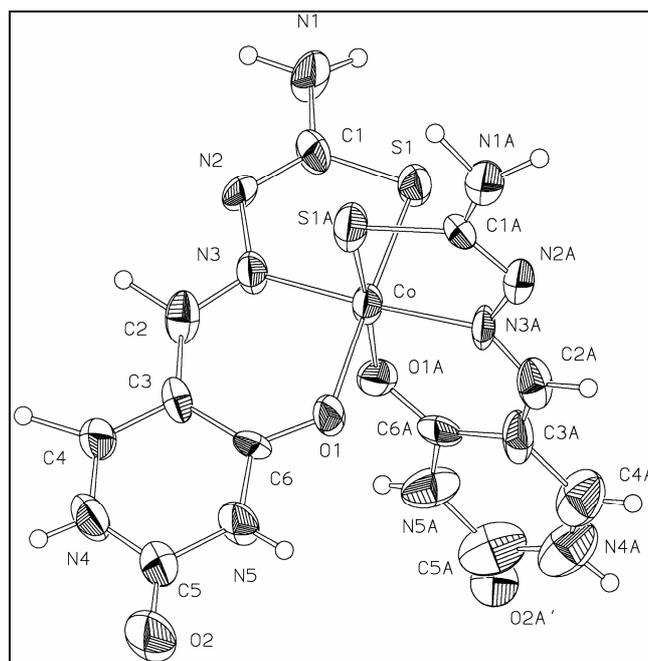


[Co(C₇H₇N₄S)₂][NCS]

L'effetto citotossico del ligando libero e del composto è stato testato su cellule di melanoma, dando i seguenti risultati: il valore ID₅₀ del ligando libero era approssimativamente 4.5 µM, mentre quello del composto era 8.0 µM. Questi test sono stati effettuati anche su cellule FLC, dando come risultato un valore ID₅₀ di 0.5 µM per il ligando e 10.0 µM per il complesso. In entrambi i casi il ligando ha mostrato un effetto maggiore rispetto al complesso.

Il secondo complesso che ha visto uno sviluppo non solo strutturale ma anche biologico è [Co(H₂ut)₂].0.5SO₄.2.5H₂O.[19] Il ligando 5-formiluracile tiosemicarbazone è già stato descritto precedentemente (H₃ut).

La struttura del composto è esacordinata con due ligandi direttamente legati all'atomo di cobalto centrale mediante gli atomi NNS. Entrambe le molecole di ligando sono deprotonate e ciò produce una negatività di carica che potrebbe essere localizzata nella porzione tiosemicarbazonica. Come conseguenza del disordine strutturale, l'affinamento non è potuto giungere a livelli ottimali e non è possibile discutere le distanze di legame in maniera corretta.



[Co(H₂ut)₂]0.5SO₄·2.5H₂O

L'attività antitumorale del composto è stata testata su cellule K562 e CEM.

Questo complesso, non ha attività di inibizione sulla proliferazione cellulare a concentrazioni fino a 40 µg/mL, oltre le quali non si è potuti andare poiché quantità superiori di DMSO necessarie per solubilizzare il composto interferivano con i dati sperimentali (stesso problema incontrato per il composto simile di Nichel).

Probabilmente anche in questo caso l'assenza di alcuna attività antitumorale è dovuta alla presenza di una sfera di coordinazione completa intorno all'atomo di Co.

RIFERIMENTI:

- [1] Campbell, (1975); Scovill et al., (1982).
- [2] Garcia et al., *Antiviral Res.*, **57**, (2003), 161.
- [3] Sau et al., *Mol Cell Biochem.*, **253**, (2003), 21.
- [4] Afrasiabi et al., *Inorg. Chim. Acta*, **357**, (2004), 271.
- [5] Kovala-Demertzi et al., *Polyhedron*, **13**, (1994), 1917.
- [6] Sartorelli et al., (1977).
- [7] Lu et al., (1993); Bindu et al., (1997); Dutta et al., (1997).
- [8] Cozzi et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **112**, (1993), 5525.
- [9] Alistair et al., *Dalton Trans.*, 493, (1987)
- [10] Gayla J. Kirschmann e John D. Kirshmann, Almanacco della Nutrizione, *Alfa Omega Editrice*, (1992).
- [11] N.C. Kasuga, A. Ohashi, C. Koumo, J. Uesugi, M. Oda, K. Nomiya, *Chem. Lett.* (1997) 609.
- [12] N.C. Kasuga, K. Sekino, C. Koumo, N. Shimada, M. Ishikawa, K. Nomiya, *J. Inorg. Biochem.*, **85** (2001), 55.
- [13] M.C. Rodriguez-Arguelles, M. Belicchi Ferrari, G. Gasparri Fava, C. Pelizzi, G. Pelosi, R. Albertini, A. Bonati, P.P. Dall'Aglio, P. Lunghi, S. Pinelli, *J. Inorg. Biochem.*, (1997), 7
- [14] Z. Afrasiabi, E. Sinn, S. Padhye, S. Dutta, S. Padhye, C. Newton, C.E. Anson, A.K. Powell, *J. Inorg. Biochem.*, **95**, (2003), 306
- [15] H. Kappus, *Biochem. Pharmacol.*, **35**, (1986), 1.
- [16] T.W. Gant, D.N.R. Rao, R.P. Mason, G.M. Cohen, *Chem. Biol. Interact.*, **65**, (1988), 157.
- [17] A. Murugkar, B. Unnikrishnan, S. Padhye, R. Bhonde, S. Teat, E. Triantafillou, E. Sinn, *Metal-Based Drugs*, **6**, (1999), 177.
- [18] P.F. Predki, B. Sarkar, *J. Biol. Chem.*, **267**, (1992), 5842.
- [19] M. Belicchi Ferrari, F. Bisceglie, G. Pelosi, P. Tarasconi, R. Albertini, A. Bonati, P. Lunghi, S. Pinelli, *J. Inorg. Biochem.*, **83**, (2001), 16
- [20] M. Belicchi Ferrari, G.G. Fava, E. Leporati, G. Pelosi, R. Rossi, P. Tarasconi, Albertini, A. Bonati, P. Lunghi, S. Pinelli, *J. Inorg. Biochem.*, **70**, (2001), 145.
- [21] K.C. Agrawal, A.C. Sartorelli, *Prog. Med. Chem.*, **15**, (1978), 349.
- [22] E.J. Blanz, F.A. French, *Cancer Res.*, **28**, (1968), 2419.
- [23] M. Akbar Ali, A.H. Mirza, A. Monsur S. Hossain, M. Nazimuddin, *Polyhedron*, **20**, (2001), 1045.
- [24] P. Souza, A.I. Matesan, V. Fernandez, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1996), 3011

- [25] J. Garcia-Tojal, A. Garcia-Orad, A. Alvarez Diaz, J.L. Serra, M.K. Urtiaga, M.I.Arriortua, T. Rojo, *J. Inorg. Biochem.*, **84**, (2001), 271.
- [26] A.V. Ablov, N.I. Belichuk, *Russ. J. Inorg. Chem.*, **14**, (1969), 93.

CAPITOLO II

2.1. Ruolo cellulare dei nucleotidi

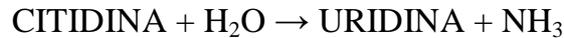
I **nucleotidi purinici e pirimidinici** hanno grande importanza funzionale nella vita cellulare.

Il metabolismo nucleotidico è fondamentale nella vita, nella proliferazione e crescita cellulare. I ribonucleosidi trifosfati sono polimerizzati dalla RNA polimerasi ad RNA, oppure sono trasformati in desossiribonucleosidi trifosfati dalla ribonucleotide reduttasi, e poi polimerizzati a DNA. La loro sintesi e degradazione regolano il contenuto in RNA e la duplicazione del DNA. Agiscono come coenzimi. L'ATP ha inoltre la ben nota funzione di serbatoio e distributore di energia.

Il GTP interviene nella sintesi proteica, l'UTP nella sintesi del glicogeno, il CTP nella sintesi dei fosfolipidi. La loro determinazione ha un ruolo importante ricerca biomedica. Il loro contenuto è costante e rigidamente regolato, essendo essi composti "funzionali"; varia solo in particolari condizioni, è sotto controllo ormonale, ed è alterato in condizioni patologiche. Il metabolismo purinico è basato sulla sintesi *de novo*, la via di recupero ed il catabolismo. La prima porta ad inosina monofostato (IMP) da precursori come l'anidride carbonica e gli amminoacidi, in 11 steps. Dall'IMP vengono sintetizzati AMP, per opera dell'adenilosuccinato sintetasi e liasi; IMP deidrogenasi e GMP sintetasi portano al GMP. La via di recupero utilizza i nucleosidi preformati e le basi che derivano dall'idrolisi dei nucleosidi o dalla degradazione dell'RNA e del DNA. E' costituita dall'adenina fosforibosil transferasi e dalla ipoxantina-guanina fosforibosil trasferasi. La via catabolica è basata su: la 5'-nucleotidasi, l'AMP deaminasi, l'adenosina deaminasi, la purina nucleoside fosforilasi e la xantina ossidasi (quest'ultima assente nelle cellule linfocitarie). I nucleotidi pirimidinici sono sintetizzati da composti molto semplici, il carbamilfosfato e l'acido aspartico, che conducono ad acido orotico: quest'ultimo metabolita reagisce col PRPP, formando acido orotidilico e poi uridilico (UMP), che viene fosforilato a UMP, dal quale si forma il CTP (= citidinatrifosfato). Per defosforilazione, i nucleotidi pirimidinici producono nucleosidi, citidina e uridina, che sono ulteriormente degradati. Ai mononucleotidi sono affiancati i dinucleotidi, NAD ed NADP, noti per la loro importanza nei processi ossido-riduttivi e nella trasduzione del segnale. Alcuni enzimi del metabolismo nucleotidico rivestono una

particolare importanza; tra questi la 5'-nucleotidasi; l'adenosina deaminasi; la NADasi; la NMN -adenililtrasferasi, la Citidina Deaminasi (CDA).

La citidina deaminasi deamina il Nucleoside Citidina a Uridina nella reazione:



Regola la disponibilità dei due più importanti nucleosidi pirimidinici, e dei corrispondenti nucleotidi.

Citidina ed uridina forniscono ai neuroni il substrato ossidabile per le vie di utilizzazione del glucosio: il ciclo di Krebs e lo shunt dell'esoso monofosfato, potenziano il ciclo del succinato a livello cerebrale, ciclo che si origina in situazioni di ipossia e che consente di attenuare i danni provocati da ammoniaca e acido lattico. Permettono, inoltre, l'utilizzazione del glucosio anche in caso di gravi alterazioni epatiche e consentono di avere metabolismo e funzionalità cerebrali normali anche in caso di cervello isolato e perfuso in esclusione dal fegato. L'uridina possiede notevoli proprietà anticonvulsivanti, dimostrate in un gran numero di modelli sperimentali.

La citidina, d'altra parte, è stato dimostrato che promuove la biosintesi dei fosfolipidi delle membrane neuronali.

Citidina e uridina sono i precursori dei nucleotidi pirimidinici che intervengono nella sintesi proteica, vengono assorbite nel tratto gastrointestinale sia per diffusione passiva che per trasporto attivo, con meccanismo apparentemente differenziato e più veloce per l'uridina.

Date per via intraperitoneale a ratti, mostrano emivita plasmatica di 1,1 ore per l'uridina e 25 ore per la citidina.

Sia citidina che uridina partecipano ai pool endocellulari dei nucleosidi pirimidinici e vengono incorporate negli acidi nucleici.

A livello epatico, l'uridina viene metabolizzata soprattutto ad uracile e b-alanina. Nei neuroni cerebrali, la citidina si trasforma soprattutto in CTP e CDP-colina.

Analoghi della citidina hanno nell'uomo attività antineoplastica. Ricordiamo il caso dell'Ara-C, che è il più importante antimetabolita nella terapia della leucemia granulocitica acuta, ma è utilizzato anche in altre forme di leucemie.[1]

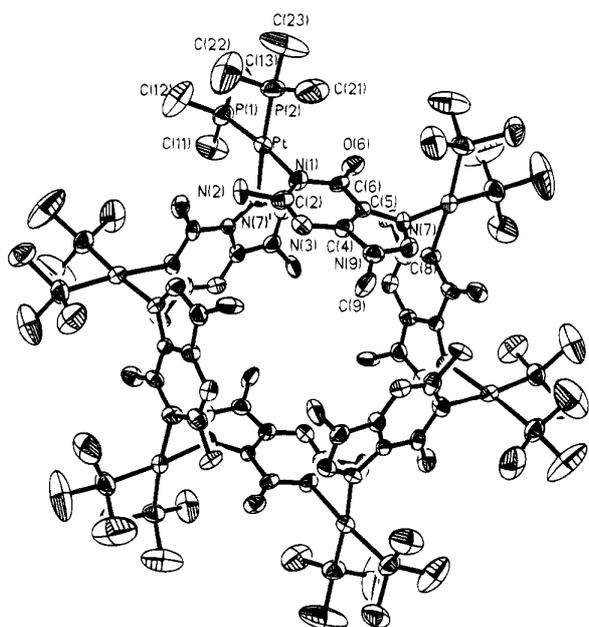
2.2. Complessi polinucleari.

I **complessi metallici macrociclici** hanno attirato una crescente attenzione negli ultimi tempi per le loro proprietà chimiche.[2]

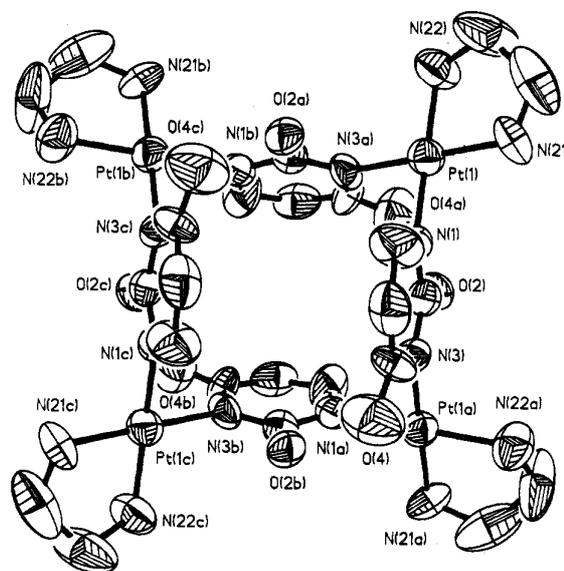
L'immenso potenziale di queste specie auto-assemblanti risulta, essenzialmente, dalla loro capacità di legare piccole molecole.[3] Da qui si può dedurre che ci siano per essi una gran quantità di applicazioni tra cui processi di riconoscimento molecolare e di complessazione.[4, 5]

Di solito, in queste strutture, i centri metallici si trovano posizionati agli angoli di queste "gabbie molecolari", che di solito hanno forma di quadrati o esagoni. Di conseguenza, possono essere catalogati come analoghi metallici dei composti calixarenici.[6]

Le nucleobasi possono essere incorporate in questi macrocicli. Utilizzandoli con complessi cisplatino simili sono stati ottenuti complessi multinucleari.[7, 8]

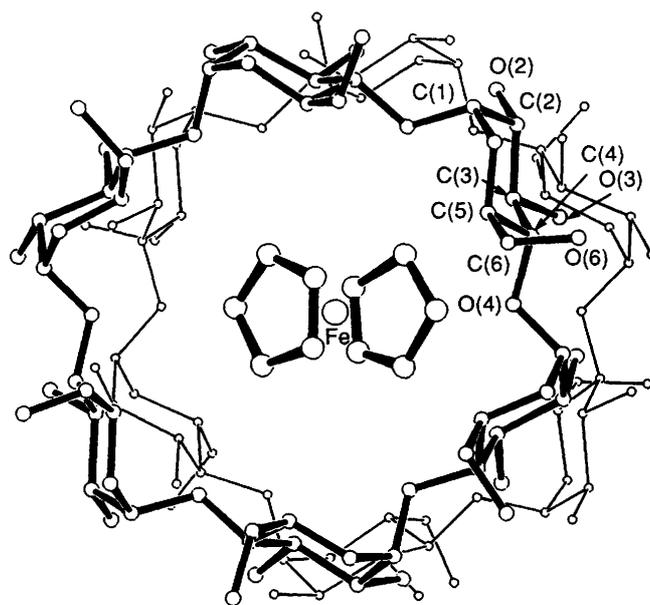


$\text{cis-}[(\text{PMe}_3)_2\text{Pt}(9\text{-MeG}(-\text{H}))]_6^{6+}$



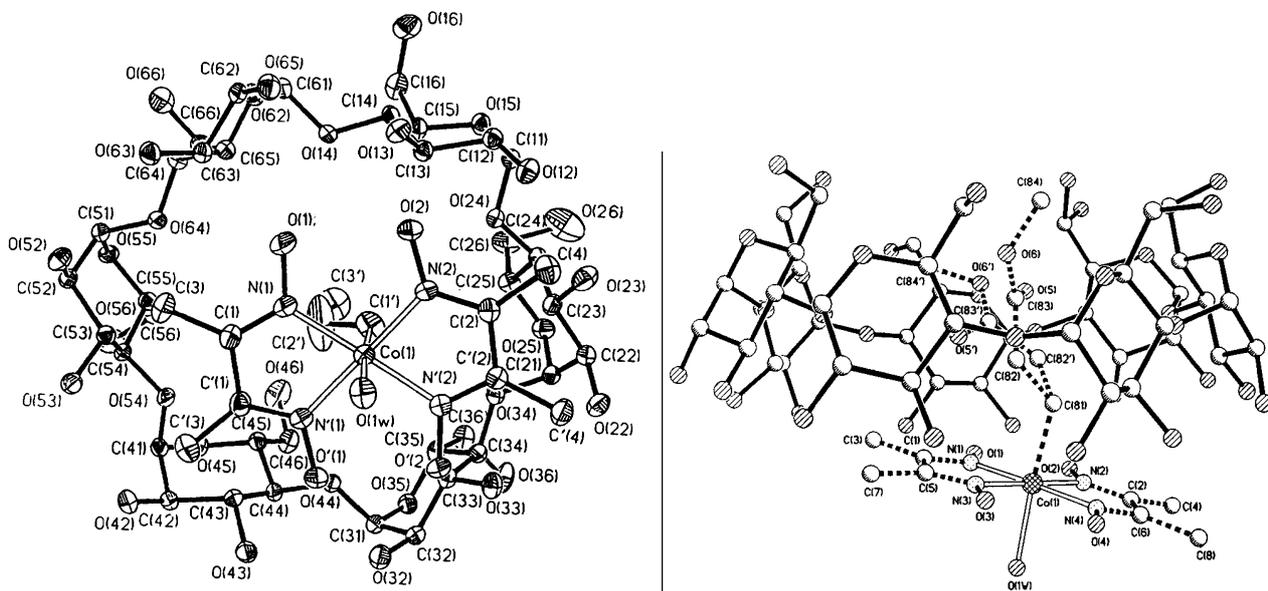
$[(\text{en})\text{Pt}(\text{UH-N}_1, \text{N}_3)](\text{NO}_3)_4$

L'inclusione di complessi di metalli di transizione all'interno di varie molecole containers (ciclodestrine, calixareni) rappresenta un raro fenomeno nella chimica supramolecolare. I primi esempi di questi complessi "host-guest" (ospitante-ospite), l'inclusione di composti di ferrocene all'interno della cavità di α -, β - e γ -ciclodestrine, erano già stati riportati negli anni 80'. [9, 10, 11]



α-cyclodextrin-ferrocene

La maggior parte dei composti di inclusione conosciuti fino ad ora mostrano un complesso organometallico (metalloceni, complessi metallo olefinici, metallo alchilici, carbonili) incapsulati all'interno di cavità dei macrocicli ospiti.[12-16]



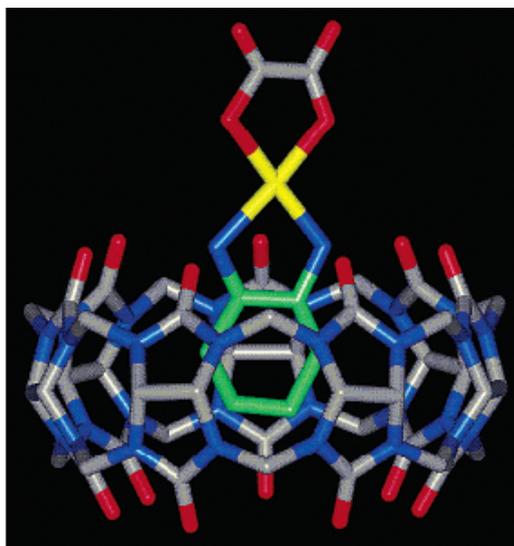
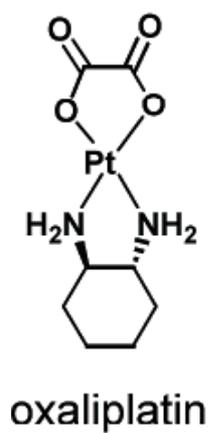
α -cd-[Co(Hdmg)₂-Prⁿ(H₂O)]

[Co(CH₂CH₂O₂CCH₃)(HD)₂(H₂O)]-β-CD

Lo studio di questo tipo di composti è molto importante, perché l'inglobamento può modificare sostanzialmente la geometria dell'ospite, la sua stabilità termica, le proprietà magnetiche e fotochimiche, il comportamento elettrochimico e la reattività. L'inclusione

all'interno di macrocicli ospiti può essere la via migliore per stabilizzare ambienti di coordinazione inusuali, e stati di ossidazione instabili dei metalli.

Ciò lascia ben sperare che si possano avere applicazioni in chimica bioinorganica ed in campo farmaceutico (sistemi modello per processi biologici e trasporto di farmaci). [17, 18]



struttura cristallina del complesso oxaliplatino-CB[7]

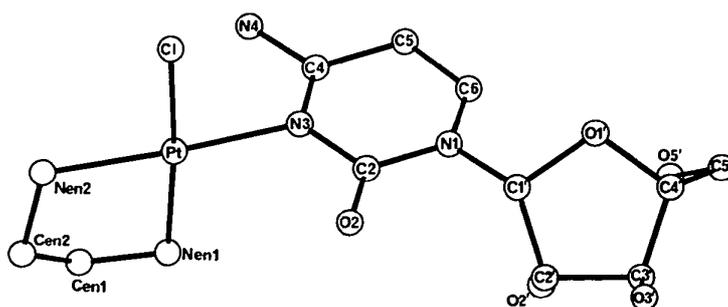
2.3. Composti di Citidina con metalli di transizione.

La struttura della citidina è stata analizzata per la prima volta nel 1950 da Furberg. Da allora si sono susseguiti di anno in anno studi su questa molecola, fino a giungere all'ultimo presentato in cui vengono analizzate le proprietà elettrostatiche di questo nucleoside.[19]

L'importante lavoro, effettuato da Rosenberg e collaboratori, sulle proprietà chemoterapeutiche di vari complessi di *cis*-platino ha generato un grande interesse nello studio di complessi di Pt(II) e di Pd(II) coordinati con costituenti degli acidi nucleici.[20-23]

L'interesse è andato oltre questi due metalli, coinvolgendo in questi studi anche l'atomo di Cu(II).[28]

L'1-(β -D-Arabinofuranosyl)citosina (ara-C) è un nucleoside antimetabolita con potente attività antileucemica ed antivirale. Test in vitro hanno dimostrato che l'ara-C è in grado di inibire la replicazione del DNA mediante due meccanismi: nel primo caso inibisce in modo competitivo l'utilizzazione del corrispondente deossiribonucleotidi nella reazione della DNA polimerasi, nel secondo caso l'ara-C viene incorporata nel DNA impedendo così la l'ulteriore sintesi della catena. Come già detto, l'attività di questa molecola è limitata, poiché viene rapidamente deaminata ad ara-U dalla CDA. Mettendo a reagire in soluzione questa molecola con il *cis*-platino è stato ottenuto il composto [Pt(en)Cl(ara-C)].



[Pt(en)Cl(ara-C)]

Come si può vedere in figura, il legame del nucleoside al metallo è *via* N(3), come è già stato visto in altri composti metallo-citosina e metallo-CMP. L'atomo di Pt presenta l'usuale coordinazione quadrato-planare. La molecola ha una carica netta +1, che viene bilanciata da uno ione Cl⁻.

Complessi di proteine ed acidi nucleici si formano, a livello cellulare, grazie ad interazioni tra le porzioni reattive degli amminoacidi e dei costituenti degli acidi nucleici. Tali interazioni possono essere favorite anche da ioni metallici. [24, 25]

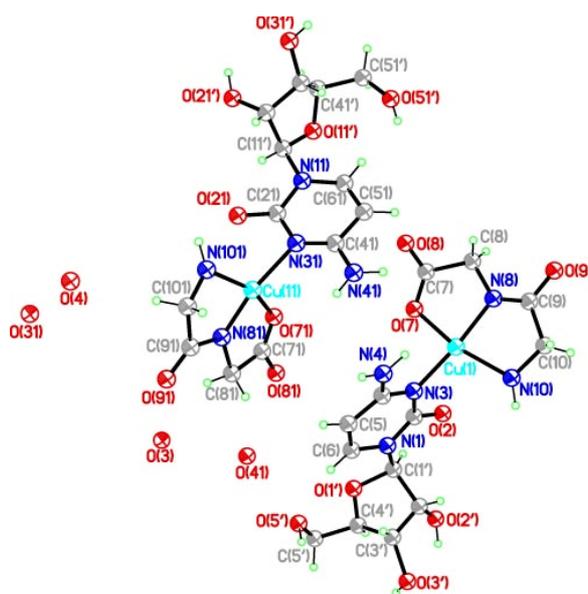
L'importanza di ioni metallici divalenti nella formazione di complessi acido nucleico-proteina durante la sintesi di DNA ed RNA è già stata provata.[26, 27]

Informazioni strutturali dettagliate su complessi ternari metallo-amminoacido-nucleoside sono necessarie per iniziare a comprendere meglio il ruolo degli ioni metallici nelle interazioni tra proteine ed acidi nucleici.

Due complessi ternari di citidina-amminoacido sono stati sintetizzati con Cu(II) e Pd(II).

Nel composto [Cu(Cyd)(glygly)] ci sono due complessi indipendenti, ma molto simili, e quattro molecole di acqua di cristallizzazione per unità asimmetrica. La geometria intorno all'atomo di rame è una piramide quadrata distorta (4+1) in cui il dianione tridentato glicilglicinato occupa tre delle posizioni equatoriali e la quarta è occupata dall'N(3) della Citidina. L'O(2) esociclico occupa una delle posizioni assiali, con distanza Cu-O(2) di 2.73 Å, e contribuisce in maniera significativa alla stabilità molecolare ed alle proprietà conformazionali.

Entrambi gli zuccheri esibiscono il comune piegamento C(3') *endo* e la conformazione del legame C(4')-C(5') è *gauche-gauche* in entrambi gli anelli di ribosio:

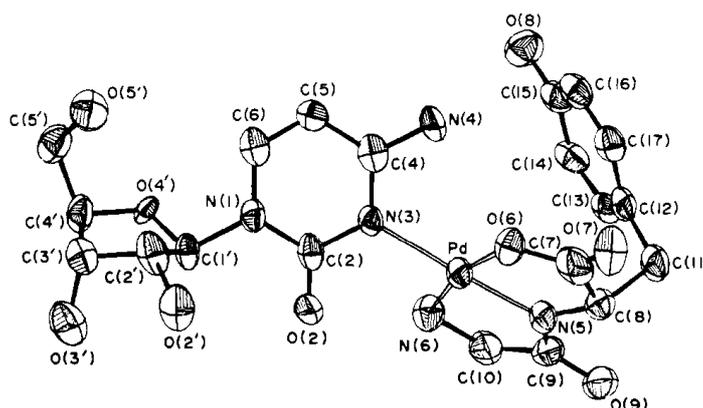


Nel composto di palladio, oltre all'amminoacido glicina è presente anche l'amminoacido tirosina. La porzione di catena reattiva della tirosina è molto interessante poiché può avere sia interazioni di stacking, sia interazioni tipo legame a H con costituenti degli acidi nucleici.[29]

L'unità asimmetrica è costituita da una singola unità e 6,5 molecole di H₂O. Il metallo presenta una coordinazione di piramide quadrata distorta (4+1) che ricorda il composto di rame. Il nucleoside si lega al metallo *via* N(3).

La conformazione della citidina è tipica dei composti di nucleosidi coordinati con ioni metallici. Il ribosio mostra il piegamento C(2') *endo* e la conformazione *gauche-gauche*.

La struttura presenta numerose molecole di idratazione che esibiscono un significativo disordine. La struttura tridimensionale del composto lascia intravedere dei canali tra una molecola e l'altra, che vengono occupati dalle acque di cristallizzazione.



[Pd(Cyd)(Gly-L-Tyr)]

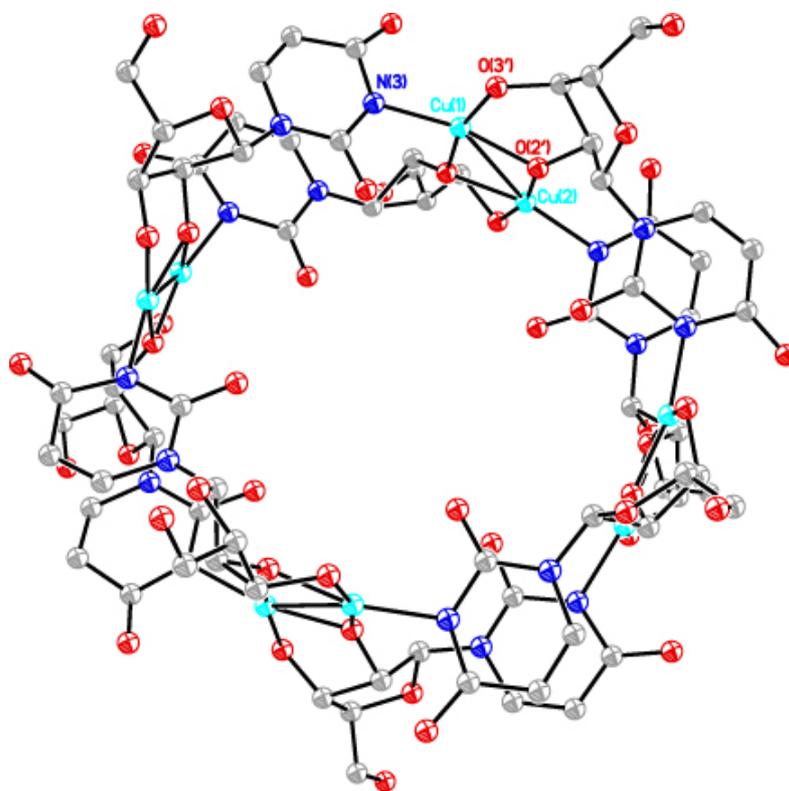
2.4. *Complessi polinucleari con nucleosidi.*

Molti studi sono stati effettuati per comprendere meglio le interazioni tra ioni metallici e nucleosidi. Queste molecole contengono un gran numero di siti donatori quali atomi di ossigeno e di azoto.

Diverso è invece il discorso per i complessi supramolecolari formati da ioni metallici e nucleosidi, per i quali abbiamo pochissime informazioni. Ciò è dovuto alla scarsa quantità di dati forniti dall'analisi strutturale ed in soluzione di questi sistemi. In parte ciò è dovuto alla debole stabilità dei complessi formati, che rende difficile l'interpretazione dei dati in soluzione o rende impossibile l'ottenimento di cristalli singoli adeguati per l'analisi strutturale.

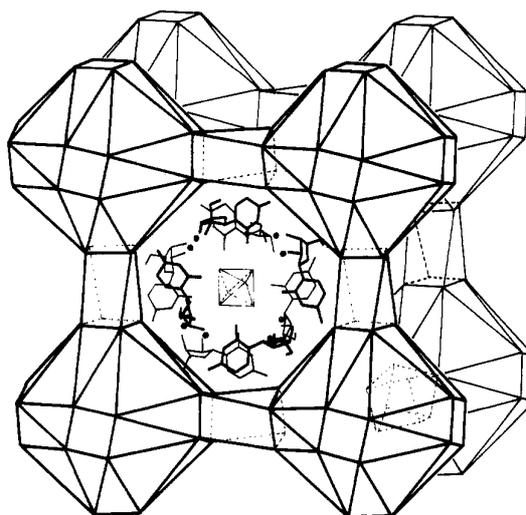
In letteratura sono presenti solo due complessi supramolecolari: il primo con la nucleobase uridina, il secondo con l' adenosina.[30, 31]

La struttura del complesso Cu(II)-uridina è stata determinata mediante l'analisi ai raggi X. Il composto $\text{Cu}_8(\text{urid})_8\text{Na}_8 \cdot 5\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ cristallizza in una cella cubica con gruppo spaziale P_{432} . Il complesso forma un ottametro di formula $[\text{Cu}_8(\text{urid})_8\text{Na}(\text{H}_2\text{O})_6]^{7-}$; questa specie molecolare esibisce una struttura torica.



$\text{Cu}_8(\text{urid})_8\text{Na}_8 \cdot 5\text{NaClO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

Il ligando uridina, nella sua forma anionica (URI^{3-}), è tricoordinato a tre atomi di rame attraverso gli atomi N(3), O(3') ed O(2'), questo ultimo ossigeno coordina a ponte due atomi di Cu(II). La conformazione del legame glicosidico è *anti*, il puckering dello zucchero è C(2')-*endo* e la conformazione del legame C(4')-C(5') è *gauche-gauche*. Gli atomi di sodio formano un network tridimensionale simile ad un zeolita sintetico:

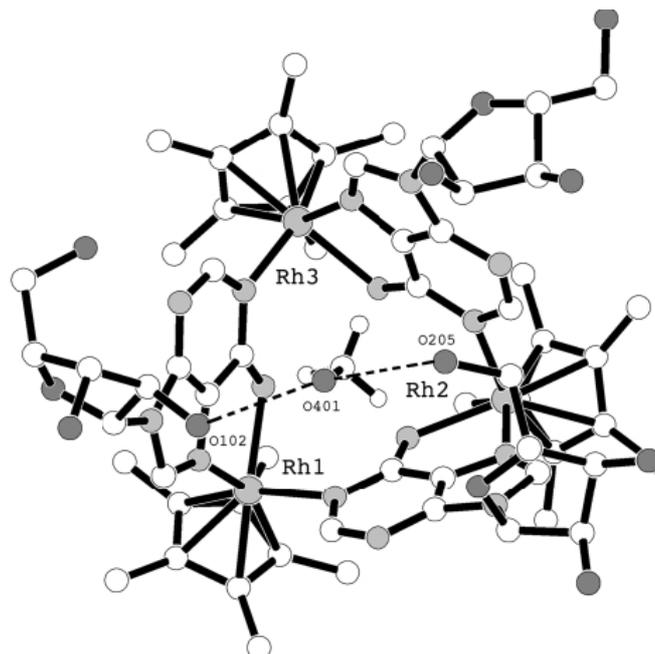


Nella struttura tridimensionale sono stati definiti due tipi di cavità: degli spazi occupati da molecole di acqua e cationi Na, e dei tunnels occupati da anioni ClO_4 e dal complesso Cu(II)-uridina.

Studi in soluzione hanno provato il mantenimento di tale struttura anche al di fuori dello stato cristallino.

Il composto di adenosina ha una struttura trinucleare. Tre ioni Rh(III) sono cristallograficamente indipendenti e formano un triangolo quasi equilatero.

Il ligando adenosina adotta una modalità di legame $\mu\text{-}1\text{kN}^1:2\text{k}2\text{N}^6,\text{N}^7$. Secondo questa modalità di legame coordina un atomo di Rh(III) in maniera bidentata via NH^6 ed N(7), formando un anello a 5, e lega un secondo atomo di Rh(III) via N(1). I tre anelli purinici si trovano dallo stesso lato e formano una cavità triangolare che viene chiusa da una molecola di CH_3OH , che forma un composto di inclusione. La molecola di metanolo forma due legami a H con i gruppi idrossilici degli zuccheri, queste interazioni stabilizzano l'inclusione del metanolo.



Tre gruppi ribosio chiudono la cavità agendo come una protezione.

Fish e collaboratori hanno formulato l'ipotesi che strutture simili possano essere utili per il riconoscimento molecolare di amminoacidi aromatici.[32]

RIFERIMENTI:

- [1] A. Lehninger et al.: "Principi di biochimica", **Cap. 12**, Ed. Zanichelli, (1994).
- [2] S. Leininger, B. Olenyuk, P.J. Stang, *Chem Rev.*, **100** (2000), 853.
- [3] J.A.R. Navarro, E. Freisinger, B. Lippert, *Inorg. Chem.*, **39** (2000), 2301.
- [4] J.A.R. Navarro, B. Lippert, *Coord. Chem. Rev.*, **185-186** (1999), 653.
- [5] R.D. Schnebeck, E. Freisinger, B. Lippert, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **38** (1999), 168.
- [6] C.D. Gutsche, Calixarenes, Monographs in Supramolecular Chemistry, **Vol. 1**, *The Royal Society of Chemistry, Cambridge*, 1989.
- [7] H. Rauter, E.C. Hillgeris, A. Erxleben, B. Lippert, *J. Am. Chem. Soc.*, **116** (1994), 616.
- [8] B. Longato, G. Bandoli, G. Trovò, E. Marasciulo, G. Valle, *Inorg. Chem.*, **34** (1995), 1745.
- [9] A. Harada, S. Takahashi, *J. Chem. Soc., Chem Commun.*, (1984), 645
- [10] A. Harada, Y. Hu, S. Yamamoto, S. Takahashi, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1988), 729.
- [11] Y. Odagaki, K. Hirotsu, T. Higuchi, A. Harada, S. Takahashi, *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, (1990), 1230.
- [12] L. Zangh, A. Macias, T. Lu, J.I. Gordon, G.W. Gokel, A.E. Kaifer, *J. Chem Soc., Chem Comm.*, (1993), 1017.
- [13] R. Fornasier, F. Marcuzzi, D. Marton, G. Bavero, U. Russo, *J. Organomet. Chem.*, **605** (2000), 127.
- [14] L.-B. Luo, H.-L- Chen, W.X. Tang, Z.-Y.Zhang, T.C.W. Mak, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1996), 4425.
- [15] Y. Chen, H.-L- Chen, Q.-C. Yang, X.-Y. Song, C.-Y. Duan, T.C.W. Mak, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (1999), 629.
- [16] H.C. Canuto, S.J. Heyes, S. Aime, R. Gobetto, F. Napolitano, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, (2000), 4075.
- [17] J.W. Lee, S. Samal, N. Selvapalam, H.-J. Kim, K. Kim, *Acc. Chem. Res.*, **36** (2003) 621.
- [18] K. Kim, Y.J. Jeon, S.-Y. Kim, Y.H. Ko, POSTECH Foundation, South Korea, *PCT Int. Appl.* (2003) 42.
- [19] L. Chen, B.M. Crave, *Acta Cryst.*, **B51**, (1995) 1081
- [20] S. Neidle, G.L. Taylor, A.B. Robins, *Acta Cryst.*, **B34**, (1978) 1838.
- [21] R. Melanson, F.D. Rochon, *Inorg. Chem.*, **17** (1978) 679.
- [22] M. Sabat, K.A. Satyshur, M. Sundaralingam, *J. Am. Chem. Soc.*, **105** (1983) 976.
- [23] B.T. Khan, K.Murali Mohan, S.R. Ali Khan, K. Venkatasubramanian, T. Satyanarayana, *Polyhedron*, **15** (1996) 63.

- [24] G.L. Eichhorn, Metal Ions in Biological Systems, *Ed. Siegel, New York*, **Vol. 10** (1980) 1.
- [25] C. Helene, J.-C. Maurizot, *Crit. Rev. Biochem.*, **11** (1982) 213.
- [26] R. Koren, A.S. Mildvan, *Biochemistry*, **16** (1977) 241.
- [27] B.L. Bean, R. Koren, A.S. Mildvan, *Biochemistry*, **16** (1977) 3322.
- [28] D.J. Szalda, T.J. Kistenmacher, *Acta Cryst.*, **B33**, (1977) 865.
- [29] R. Mayer, F. Toulme, T. Monteray-Garestier, C. Helene, *J. Biol. Chem.*, **254** (1979) 75.
- [30] J. Galy, A. Mosset, I. Grenthe, I. Puigdomenech, B. Sjoberg, F. Hulten, *J. Am. Chem. Soc.* **109**, (1987) 380.
- [31] K. Yamanari, R. Ito, S. Yamamoto, A. Fuyuhiko, *Chem. Comm.* (2001) 1414.
- [32] H. Chen, M. F. Maestre, R. H. Fish, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, (1995) 3631.

CAPITOLO III

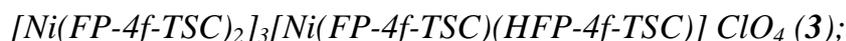
3.1. *Parte sperimentale*

L'attività antileucemica della 2-formilpiridina tiosemicarbazone fu dimostrata già nella seconda metà degli anni 50' da Brockman e collaboratori.

Ketcham e collaboratori hanno formulato in seguito l'ipotesi che la presenza di sostituenti in posizione 4 modifichi l'attività dei tiosemicarbazoni e dei loro complessi metallici, rendendoli più solubili in acqua. Tale caratteristica fa sì che questi composti possano essere testati in vivo.[1]

Sulla base di queste conoscenze, sono stati sintetizzati nuovi complessi metallici di Formilpiridina 4-feniltiosemicarbazone (HFP-4f-TSC), una molecola che racchiude in sé sia le proprietà della 2-formilpiridina, sia dei composti con sostituenti in posizione 4, nell'intento di ottenere composti con attività tumorale saggiabile sia in vitro che in vivo.

3.2. Sintesi dei complessi $[Ni(FP-4f-TSC)_2]_3[Ni(FP-4f-TSC)(HFP-4f-TSC)] NO_3$ (**1**);



Tutti i composti sono stati ottenuti a partire da 0.1 mmol del corrispettivo sale e 0.1 mmol di Formilpiridina-4, feniltiosemicarbazone. I due reagenti sono stati posti in due distinti becker e solubilizzati in etanolo. Unite le soluzioni in un solo becker, la soluzione risultante è stata concentrata su piastra a 70° fino al raggiungimento del volume finale (V_f) di 4 ml.

Dopo una settimana è stata osservata la precipitazione dei composti sotto forma di cristalli.

Il composto **1** ha una forma rettangolare, il composto **2** ha forma cubica, i composti **3** e **4** hanno forma di lamina sottile ed infine il composto **5** è stato ottenuto sotto forma di aghi sottili.

I cristalli sono stati filtrati e sottoposti ad analisi elementare che ha dato i seguenti risultati:

COMPOSTO 1

Dati sperimentali:

C = 52.6%

H = 3.4%

N = 19.2%

Questi valori sono in accordo con i dati teorici, calcolati in base alla formula minima del composto:

Formula minima: $C_{104} H_{87} N_{33} Ni_4 O_3 S_8$

Dati teorici:

C = 53.4%

H = 3.7%

N = 19.7%

COMPOSTO 2

Dati sperimentali:

C = 45.9%

H = 3.6%

N = 16.8%

Questi valori sono in accordo con i dati teorici, calcolati in base alla formula minima del composto:

Formula minima: $C_{52} H_{50} Br_2 N_{16} Ni_2 O_1 S_4$

Dati teorici:

C = 46.8%

H = 3.8%

N = 17.1%

COMPOSTO 3**Dati sperimentali:**

C = 52.3%

H = 3.9%

N = 17.9%

Questi valori sono in accordo con i dati teorici, calcolati in base alla formula minima del composto:

Formula minima: $C_{104} H_{87} Cl N_{32} Ni_4 O_4 S_8$ **Dati teorici:**

C = 52.5%

H = 3.6%

N = 18.8%

COMPOSTO 4**Dati sperimentali:**

C = 49.7%

H = 3.9%

N = 19.6%

Questi valori sono in accordo con i dati teorici, calcolati in base alla formula minima del composto:

Formula minima: $C_{78} H_{72} Co_3 N_{27} O_9 S_6$ **Dati teorici:**

C = 49.3%

H = 3.8%

N = 19.9%

COMPOSTO 5**Dati sperimentali:**

C = 32.9%

H = 2.5%

N = 10.8%

Questi valori sono in accordo con i dati teorici, calcolati in base alla formula minima del composto:

Formula minima: $C_{28} H_{22} Cu_2 F_6 N_8 O_{11} S_4$ **Dati teorici:**

C = 33.1%

H = 2.1%

N = 11%

3.3. Sintesi del complesso $[Cu_8(HCyd)_8(CF_3SO_3)_4][Cu(H_2O)_6] \cdot 6(CF_3SO_3) \cdot 12(H_2O)$ (**6**).

Il composto **6** è stato ottenuto da una soluzione acquosa contenente 0,1 mmoli di Citidina ed una equivalente quantità di $Cu(CF_3SO_3)_2$. La solubilizzazione dei due composti è stata effettuata a 70°C sotto continua agitazione. Le due soluzioni sono state unite e la soluzione risultante è stata lasciata evaporare a temperatura ambiente. Dopo alcuni giorni, all'interno di una soluzione blu chiaro sono cresciuti dei cristalli di colore azzurro a forma di parallelepipedo. Il beacker è stato coperto con parafilm per permettere ai cristalli di crescere ulteriormente.

Uno di questi cristalli è stato selezionato per la caratterizzazione mediante analisi diffrattometrica ai raggi X. Sul composto è stata condotta l'analisi elementare presso il laboratorio del Prof. M. Julve dell'università di Valencia, che ha dato i seguenti risultati:

Dati sperimentali:

C = 22,2% H = 2,8% N = 7,5% S = 7,6%

Questi valori sono in accordo con i dati teorici, calcolati in base alla formula minima del composto:

Formula minima: $C_{82}H_{140}N_{24}S_{10}O_{92}F_{30}Cu_9$

Dati teorici:

C = 22,4% H = 3,2% N = 7,6% S = 7,2%

3.4. Sintesi del complesso $[Cu_{12}(HCyd_{12})(CO_3)_2] \cdot 8(ClO_4) \cdot x(H_2O)$ (7).

0,1 mmoli di Citidina sono stati solubilizzati in acqua a 70°C sotto continua agitazione; in un altro beacker sono stati sciolti, in acqua, 0,1 mmoli di $Cu(ClO_4)_2$. Le due soluzioni sono state unite, e la soluzione risultante è stata lasciata evaporare a temperatura ambiente. Dopo circa un mese, quando ormai la soluzione era quasi totalmente evaporata, si è avuta la precipitazione di un composto cristallino aghiforme di colore viola. Dopo circa 1 settimana accanto ai cristalli viola sono comparsi anche dei cristalli laminari azzurri. La soluzione è stata lasciata ulteriormente riposare per dare la possibilità a questo secondo composto di crescere fino a raggiungere una dimensione adeguata per poter essere analizzato al raggi X. Giunti a dimensioni adeguate, i cristalli, di entrambe le specie, sono stati recuperati ed asciugati su carta da filtro.

Non è stato possibile definire la struttura molecolare del composto viola a causa del disordine interno del cristallo.

Sul composto azzurro non è ancora stata condotta l'analisi elementare.

3.5. Sintesi del complesso $[Co(2'-doxycyd_2Cl_2)]$ (**8**).

Il composto **8** è stato ottenuto a partire da 0,1 mmoli di $CoCl_2$ e 0,1 mmoli di 2'-deossicitidina. I reagenti sono stati posti in due distinti beacker e solubilizzati in acqua distillata (circa 0,5 ml). Le soluzioni risultanti sono state quindi scaldate su piastra a circa $60^\circ C$ fino a completa solubilizzazione dei solidi. Unite, quindi, le due soluzioni in un solo beacker, la soluzione risultante è stata concentrata fino al raggiungimento del V_f di 4 ml.

Dopo circa una settimana è stata osservata la precipitazione di cristalli blu scuro di forma regolare. I cristalli sono stati filtrati e sottoposti ad analisi elementare che ha dato i seguenti risultati:

Dati sperimentali:

C = 37%

H = 3.9%

N = 14.8%

Questi valori sono in accordo con i dati teorici, calcolati in base alla formula minima del composto:

Formula minima: $C_{18} H_{24} Cl_2 Co N_6 O_8$

Dati teorici:

C = 37.1%

H = 4.1%

N = 14.4%

Tutti i cristalli prelevati erano di dimensioni non adeguate per una analisi diffrattometrica, essendo troppo grossi. Per questo motivo, uno di essi è stato sottoposto a taglio con bisturi al fine di ottenere un cristallo di dimensioni adatte.

3.6. RACCOLTA DEI DATI DI DIFFRAZIONE.

La raccolta dei dati è stata effettuata grazie all'utilizzo di un diffrattometro dotato di area detector (X8 Apex Bruker-Nonius). Esso è costituito da una sorgente a raggi X, da un collimatore, da un sistema goniometrico per l'orientazione del cristallo, e da un rivelatore (area detector).

La sorgente di raggi X comprende un generatore ad alto voltaggio ed un tubo di Coolidge. Quest'ultimo è costituito da un'ampolla di vetro ad alto vuoto, contenete due elettrodi fra i quali si stabilisce una forte differenza di potenziale. Il catodo è costituito da un filamento di tungsteno riscaldato da una corrente ausiliaria a bassa tensione che provoca l'emissione termoionica di elettroni. Questi, accelerati da una elevata tensione, colpiscono l'anticatodo metallico provocando l'emissione di raggi X con lunghezza d'onda (λ) caratteristica del metallo adoperato. Il rapporto tra l'energia del raggio emesso e flusso di elettroni risulta essere bassa, il resto dell'energia degli elettroni si trasforma in calore. È necessario perciò avere un sistema di raffreddamento ad acqua dell'anticatodo che ne impedisce la fusione. I raggi X escono dal tubo attraverso una finestra costituita da un sottile foglio di berillio, materiale tale da essere il più trasparente possibile e nello stesso tempo capace di tenere il vuoto del tubo. Il tubo adoperato presenta l'anticatodo di molibdeno ($\lambda_{k\alpha}=0.71073\text{Å}$). Il fascio incidente, emesso dal tubo radiogeno, viene collimato da una fenditura per fargli assumere un percorso quanto più possibile rettilineo. Ciò viene ottenuto mediante l'uso di un cilindretto che conduce il fascio nella direzione voluta permettendo così una divergenza massima dipendente dalla geometria del collimatore, secondo il rapporto tra il diametro della sezione e la lunghezza del percorso. Per l'orientazione del cristallo rispetto alla sorgente di raggi X si usa un sistema goniometrico a quattro cerchi orientato secondo la geometria k. Il sistema di rivelazione consiste in un'area detector (CCD: charge couplet device), che registra il pattern di diffrazione su una vasta area contenete un elevato numero di riflessi. L'immagine di diffrazione è immagazzinata digitalmente come una sequenza di informazioni di intensità diffratte. Molte sequenze sono messe insieme in base a come il cristallo viene ruotato in una serie di piccoli step. Le sequenze sono, poi, analizzate e l'intensità di ogni singola riflessione può essere determinata. L'area rilevatrice presenta una gamma bidimensionale di fotodiodi (1024 elementi) legati attraverso fibre ottiche ad uno schermo di fosforo sensibile alla luce; quando i raggi X colpiscono lo schermo viene

prodotta la luce la cui intensità è misurata attraverso i fotodiodi. Il rivelatore opera a -55°C per la diffusione di un segnale ottimale. Al diffrattometro è collegato un computer che gestisce la parte goniometrica e provvede all'acquisizione dei dati fornitigli dal rivelatore. Si fa, infine, uso di un calcolatore dedicato allo strumento per la risoluzione delle strutture e la grafica molecolare. Il sistema è fornito di programmi che permettono di ottenere le coordinate atomiche, gli angoli e le distanze di legame, nonché le immagini delle strutture. Sono programmi per la raccolta e la risoluzione dei dati e programmi per la risoluzione e l'affinamento della struttura e la grafica molecolare (SHELXTL PLUS versione 6.1).

3.7. SELEZIONE E MONTAGGIO DEI CRISTALLI.

I cristalli vengono selezionati mediante l'uso di un microscopio. Essi devono possedere caratteristiche opportune, tra cui la dimensione che deve rientrare nel range di 0.1/0.05 mm. Inoltre devono essere singoli e non devono avere lesioni interne. Nel caso in cui il cristallo fosse troppo grande o unito ad altri cristalli, lo si taglia con un bisturi. Il cristallo viene bloccato con colla acrilica ad un capillare di vetro. Questo viene poi inserito in un cilindretto di ottone che verrà inserito nella testina goniometrica del diffrattometro prima dell'analisi.

3.8. RISOLUZIONE ED AFFINAMENTO DELLE STRUTTURE.

Per ottenere tutta la sequenza di riflessi, indicizzati secondo gli assi di cella, si procede ad una "integrazione", cioè ad una somma di tutti i riflessi immagazzinati nelle immagini, mediante il programma SAINT PLUS. Questo programma processa i dati correggendoli anche da effetti di polarizzazione o altro.

Il file .HKL contiene tutta la sequenza di riflessi h, k, l con le relative intensità ed analizza i dati individuando, mediante l'analisi delle assenze sistematiche, il gruppo spaziale in cui il composto in esame cristallizza. Costituisce l'input del programma XPREP. Esso permette di scrivere il file .INS che contiene le istruzioni di input, necessari per la risoluzione della struttura. A questo punto si passa alla risoluzione strutturale mediante il metodo di Patterson o i metodi diretti. Il metodo consente il calcolo, in prima approssimazione, dei fattori di struttura, parametri che sono direttamente proporzionali alla densità elettronica, e che non si

possono calcolare direttamente dalla intensità dei riflessi a causa del fatto che è impossibile conoscerne a priori il segno. Il segno del fattore di struttura viene, quindi, calcolato in base alla posizione degli atomi più pesanti nella cella elementare. Dopo aver fatto questo si passa all'affinamento strutturale, che permette di individuare i massimi di densità elettronica mediante Fourier differenza. Si continua il calcolo in base ai nuovi atomi e ciò permette di affinare la mappa di densità elettronica fino a localizzare, a volte, anche gli atomi di idrogeno. Durante il processo si osserva come varia il fattore di accordanza R_1 , definito come:

$$R_1 = \frac{\sum ||F_0| - |F_c||}{\sum |F_0|}$$

Che è una misura di quanto la distribuzione calcolata differisce da quella reale, poiché tiene conto dei fattori di struttura osservati (F_0) e di quelli calcolati (F_c). Il valore ideale di R sarebbe 0, ma ovviamente, nella realtà, è sufficiente che si avvicini il più possibile a questo numero. Se la risoluzione è corretta, si osserva che il parametro diminuisce sempre di più. Posizionati gli atomi si effettua la correzione anisotropa, mediante i comandi ANIS; ciò permette di eliminare dalla mappa eventuali picchi di densità elettronica dovuti al movimento anisotropo degli atomi del cristallo. Gli atomi di idrogeno vengono aggiunti alla fine, spesso in posizione calcolata. Alla fine si ottimizza la risoluzione agendo sul parametro w , un fattore che permette di calcolare i pesi individuali dei singoli riflessi secondo l'equazione:

$$W = 1/\sigma^2(F_0)^2 + (aP)^2 + bP$$

dove P è pari a $[2F_c^2 + \text{Max}(F_0^2, 0)]/3$.

Dopo un certo numero di cicli di affinamento si giunge al valore finale di R e la risoluzione è completata. I principali parametri di raccolta e affinamento relativi alle strutture determinate per i composti da **(1)** a **(8)** sono riportati nelle tabelle da 3.1 a 3.8.

Tabella 3.1: Dati cristallografici, Parametri di raccolta e Risoluzione del composto [Ni(FP-4f-TSC)₂]₃[Ni(FP-4f-TSC)(HFP-4f-TSC)] NO₃.

Identification code	NINOTSC	
Empirical formula	C ₁₀₄ H ₈₇ N ₃₃ Ni ₄ O ₃ S ₈	
Formula weight	2335.8	
Temperature	293(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinio	
Space group	Cc	
Unit cell dimensions	a = 30.490(3) Å	a = 90°.
	b = 18.446(3) Å	b = 106.606(6)°.
	c = 19.6147(17) Å	g = 90°.
Volume	10571(2) Å ³	
Z	4	
Density (calculated)	1.469 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.928 mm ⁻¹	
F(000)	4824	
Crystal size	0.2 x 0.2 x 0.1 mm ³	
Theta range for data collection	1.31 to 21.61°.	
Index ranges	-31<=h<=31, -19<=k<=19, -19<=l<=20	
Reflections collected	84037	
Independent reflections	11921 [R(int) = 0.0345]	
Completeness to theta = 21.61°	99.5 %	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	11921 / 2 / 1369	
Goodness-of-fit on F ²	1.306	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0487, wR2 = 0.1373	
R indices (all data)	R1 = 0.0555, wR2 = 0.1444	
Absolute structure parameter	0.760(12)	
Largest diff. peak and hole	1.199 and -0.275 e.Å ⁻³	

Tabella 3.2: Dati cristallografici, Parametri di raccolta e Risoluzione del composto***[Ni(FP-4f-TSC)(HFP-4f-TSC)]₂ Br₂·H₂O***

Identification code	NIBRTSC
Empirical formula	C ₅₂ H ₅₀ Br ₂ N ₁₆ Ni ₂ O ₁ S ₄
Formula weight	1307.2
Temperature	293(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Triclino
Space group	P-1
Unit cell dimensions	a = 10.7236(6) Å a = 66.894(2)°. b = 16.8770(12) Å b = 83.970(3)°. c = 17.1610(12) Å g = 82.289(2)°.
Volume	2826.2(3) Å ³
Z	4
Density (calculated)	1.538 Mg/m ³
Absorption coefficient	2.280 mm ⁻¹
F(000)	1328
Crystal size	0.1 x 0.1 x 0.2 mm ³
Theta range for data collection	1.29 to 24.47°.
Index ranges	-12<=h<=12, -19<=k<=19, -19<=l<=19
Reflections collected	66962
Independent reflections	9329 [R(int) = 0.0312]
Completeness to theta = 24.47°	99.4 %
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	9329 / 0 / 694
Goodness-of-fit on F ²	1.669
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0407, wR2 = 0.1167
R indices (all data)	R1 = 0.0536, wR2 = 0.1224
Largest diff. peak and hole	1.796 and -1.321 e.Å ⁻³

Tabella 3.3: Dati cristallografici, Parametri di raccolta e Risoluzione del composto
[Ni(FP-4f-TSC)₂]₃[Ni(FP-4f-TSC)(HFP-4f-TSC)] ClO₄

Identification code	NICLOTSC	
Empirical formula	C ₁₀₄ H ₈₇ Cl ₁ N ₃₂ Ni ₄ O ₄ S ₈	
Formula weight	2373.2	
Temperature	293(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinio	
Space group	Cc	
Unit cell dimensions	a = 30.4601(7) Å	a = 90°.
	b = 18.5281(3) Å	b = 106.8160(10)°.
	c = 19.6077(4) Å	g = 90°.
Volume	10592.8(4) Å ³	
Z	6	
Density (calculated)	1.488 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.952 mm ⁻¹	
F(000)	4884	
Crystal size	0.1 x 0.2 x 0.3 mm ³	
Theta range for data collection	1.56 to 22.35°.	
Index ranges	-32<=h<=26, -19<=k<=19, -19<=l<=20	
Reflections collected	31602	
Independent reflections	12165 [R(int) = 0.0287]	
Completeness to theta = 22.35°	99.6 %	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	12165 / 2 / 858	
Goodness-of-fit on F ²	1.418	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0789, wR2 = 0.2160	
R indices (all data)	R1 = 0.0991, wR2 = 0.2342	
Absolute structure parameter	0.76(2)	
Largest diff. peak and hole	1.911 and -0.690 e.Å ⁻³	

Tabella 3.4: Dati cristallografici, Parametri di raccolta e Risoluzione del composto***[Co(FP-4f-TSC)]₃(NO₃)₃***

Identification code	CONOTSC	
Empirical formula	C ₇₈ H ₇₂ Co ₃ N ₂₇ O ₉ S ₆	
Formula weight	1898.8	
Temperature	293(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Ortorombico	
Space group	Pna2 ₁	
Unit cell dimensions	a = 18.2577(5) Å	a = 90°.
	b = 28.6780(8) Å	b = 90°.
	c = 15.9627(5) Å	g = 90°.
Volume	8358.0(4) Å ³	
Z	6	
Density (calculated)	1.453 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.811 mm ⁻¹	
F(000)	3624	
Crystal size	0.2 x 0.2 x 0.1 mm ³	
Theta range for data collection	1.32 to 21.57°.	
Index ranges	-16<=h<=18, -29<=k<=29, -16<=l<=16	
Reflections collected	106672	
Independent reflections	9608 [R(int) = 0.0298]	
Completeness to theta = 21.57°	100.0 %	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	9608 / 1 / 1108	
Goodness-of-fit on F ²	1.743	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.1001, wR2 = 0.3094	
R indices (all data)	R1 = 0.1080, wR2 = 0.3234	
Absolute structure parameter	0.91(3)	
Largest diff. peak and hole	0.583 and -2.111 e.Å ⁻³	

Tabella 3.5: Dati cristallografici, Parametri di raccolta e Risoluzione del composto***[Cu(FP-4f-TSC)(H₂O)]₂(CF₃SO₃)₂***

Identification code	CUTRTSC
Empirical formula	C ₂₈ H ₂₂ Cu ₂ F ₆ N ₈ O ₁₁ S ₄
Formula weight	1015
Temperature	293(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Monoclinio
Space group	P2 ₁ /a
Unit cell dimensions	a = 13.9143(8) Å a = 90°. b = 11.4222(9) Å b = 97.104(3)°. c = 26.031(2) Å g = 90°.
Volume	4105.4(5) Å ³
Z	4
Density (calculated)	1.618 Mg/m ³
Absorption coefficient	1.326 mm ⁻¹
F(000)	2008
Crystal size	0.3 x 0.1 x 0.1 mm ³
Theta range for data collection	1.58 to 24.85°.
Index ranges	-15<=h<=16, -13<=k<=13, -30<=l<=30
Reflections collected	53924
Independent reflections	7094 [R(int) = 0.0417]
Completeness to theta = 24.85°	99.6 %
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	7094 / 0 / 513
Goodness-of-fit on F ²	1.423
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0913, wR2 = 0.3037
R indices (all data)	R1 = 0.1168, wR2 = 0.3359
Largest diff. peak and hole	2.273 and -0.995 e.Å ⁻³

Tabella 3.6: Dati cristallografici, Parametri di raccolta e Risoluzione del composto***[Cu₈(HCyd)₈(CF₃SO₃)₄][Cu(H₂O)₆]·6(CF₃SO₃)·12(H₂O)***

Identification code	CUTRCYD
Empirical formula	C ₈₂ H ₁₄₀ N ₂₄ S ₁₀ O ₉₂ F ₃₀ Cu ₉
Formula weight	4256
Temperature	293(2) K
Wavelength	1.54018 Å
Crystal system	Ortorombico
Space group	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Unit cell dimensions	a = 20.4591(9) Å a = 90°. b = 21.3180(10) Å b = 90°. c = 36.871(2) Å g = 90°.
Volume	16081.2(14) Å ³
Z	5
Density (calculated)	1.758 Mg/m ³
Absorption coefficient	3.785 mm ⁻¹
F(000)	8476
Crystal size	0.3 x 0.3 x 0.4 mm ³
Theta range for data collection	4.15 to 49.62°.
Index ranges	-19<=h<=20, -20<=k<=20, -36<=l<=26
Reflections collected	47448
Independent reflections	15447 [R(int) = 0.0354]
Completeness to theta = 49.62°	96.7 %
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	15447 / 0 / 1779
Goodness-of-fit on F ²	0.971
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0784, wR2 = 0.2109
R indices (all data)	R1 = 0.0921, wR2 = 0.2267
Absolute structure parameter	0.08(3)
Extinction coefficient	0.00033(3)
Largest diff. peak and hole	0.880 and -0.511 e.Å ⁻³

Tabella 3.7: *Dati cristallografici, Parametri di raccolta e Risoluzione del composto***[Cu₁₂(HCyd₁₂)(CO₃)₂] \cdot 8(ClO₄) \cdot x(H₂O).***

Identification code	CUCYDCLO
Empirical formula	C ₁₁₁ H _x Cl ₈ Cu ₁₂ N ₃₆ O _x
Formula weight	4220.65
Temperature	293(2) K
Wavelength	0.71073 Å
Crystal system	Ortorombico
Space group	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁
Unit cell dimensions	a = 18.5630(9) Å $\alpha = 90^\circ$. b = 31.125(2) Å $\beta = 90^\circ$. c = 43.846(3) Å $\gamma = 90^\circ$.
Volume	25333(3) Å ³
Z	4
Density (calculated)	1.107 Mg/m ³
Absorption coefficient	1.122 mm ⁻¹
F(000)	8288
Crystal size	0.1 x 0.1 x 0.1 mm ³
Theta range for data collection	0.80 to 18.55°.
Index ranges	-16 \leq h \leq 15, -27 \leq k \leq 27, -38 \leq l \leq 39
Reflections collected	151616
Independent reflections	17907 [R(int) = 0.1172]
Completeness to theta = 18.55°	94.4 %
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²
Data / restraints / parameters	17907 / 0 / 2073
Goodness-of-fit on F ²	1.625
Final R indices [I \geq 2 σ (I)]	R1 = 0.1506, wR2 = 0.3660
R indices (all data)	R1 = 0.1822, wR2 = 0.3909
Absolute structure parameter	0.18(4)
Largest diff. peak and hole	1.833 and -1.207 e.Å ⁻³

* Dati ancora parziali

Tabella 3.8: Dati cristallografici, Parametri di raccolta e Risoluzione del composto**[Co(2'-doxycy₂Cl₂)]**

Identification code	COCLDCYD	
Empirical formula	C ₁₈ H ₂₄ Cl ₂ Co N ₆ O ₈	
Formula weight	581.7	
Temperature	293(2) K	
Wavelength	0.71073 Å	
Crystal system	Monoclinio	
Space group	P2 ₁	
Unit cell dimensions	a = 7.1035(5) Å	a = 90°.
	b = 16.5795(12) Å	b = 104.499(3)°.
	c = 10.5085(7) Å	g = 90°.
Volume	1198.20(14) Å ³	
Z	3	
Density (calculated)	1.619 Mg/m ³	
Absorption coefficient	0.996 mm ⁻¹	
F(000)	602	
Crystal size	0.2 x 0.3 x 0.3 mm ³	
Theta range for data collection	2.00 to 25.15°.	
Index ranges	-8<=h<=8, -18<=k<=19, -12<=l<=12	
Reflections collected	10386	
Independent reflections	3953 [R(int) = 0.0255]	
Completeness to theta = 25.15°	99.4 %	
Refinement method	Full-matrix least-squares on F ²	
Data / restraints / parameters	3953 / 1 / 316	
Goodness-of-fit on F ²	1.379	
Final R indices [I>2sigma(I)]	R1 = 0.0546, wR2 = 0.1586	
R indices (all data)	R1 = 0.0608, wR2 = 0.1701	
Absolute structure parameter	0.96(3)	
Largest diff. peak and hole	1.155 and -0.484 e.Å ⁻³	

RIFERIMENTI:

[1] L Latheef, E Manoj, MR Prathapachandra Kurup, *Acta Cryst.*, **C62** (2006) o16.

CAPITOLO IV

4.1. Struttura del composto $[Ni(FP-4f-TSC)_2]_3[Ni(FP-4f-TSC)(HFP-4f-TSC)]NO_3$ (**1**).

La struttura molecolare del composto **1** è mostrata in figura 1 e le lunghezze di legame e gli angoli più significativi sono riassunti nella tabella 1.

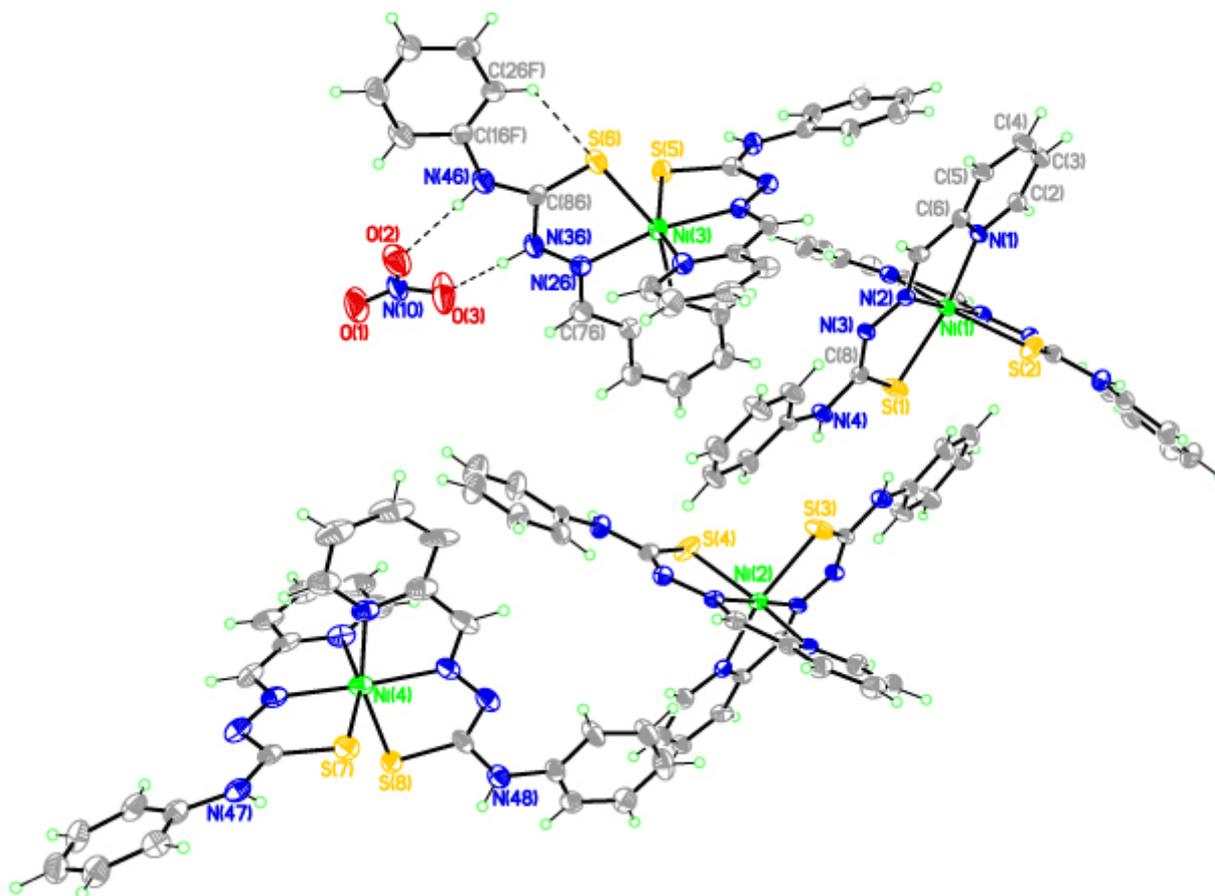


Figura 1

L'unità asimmetrica è costituita da 4 complessi indipendenti, di cui 3 entità complesse neutre ed una sola entità complessa carica.

Le entità complesse sono costituite da uno ione Ni^{2+} legato a due molecole di formilpiridina-4fenil,tiosemicarbazone con geometria ottaedrica, quelle neutre sono costituite da due ligandi deprotonati in posizione 3, in quella carica, invece, è presente sia un ligando deprotonato sia uno in forma neutra.

Uno ione NO_3^- neutralizza la carica positiva risultante. Tale ione è legato alla molecola tiosemicarbazonica neutra mediante legami a ponte H in cui sono coinvolti due suoi atomi di ossigeno e gli idrogeni in posizione 3 ed in posizione 4.

La molecola neutra si distingue da quella carica per la presenza dell'idrogeno in posizione 3 assegnato dalla mappa di Fourier.

Il complesso ottaedrico esacoordinato contiene due molecole di tiosemicarbazone coordinate al metallo centrale tramite gli atomi di azoto in posizione 2 del ligando posti in *trans* tra di loro. Il composto cristallizza in un gruppo spaziale Monoclinico Cc. La visione in prospettiva mostra che il tiosemicarbazone si comporta da ligando tridentato NNS ed è coordinato con un arrangiamento meridionale. Come già osservato, i due atomi di azoto coordinati al metallo sono approssimativamente nello stesso piano dell'atomo di Ni esibendo così una considerevole distorsione dalla simmetria ottaedrica indicata dagli angoli di legame N(2)-Ni(1)-N(21) (176°) ed N(21)-Ni(1)-S(2) (80°). Le posizioni apicali dell'ottaedro sono occupate dall'atomo di azoto N(1) dell'anello pirimidinico e dall'atomo di zolfo S(1) dello stesso ligando con distanze di legame Ni(1)-N(1) di 2.105\AA ed Ni(1)-S(1) di 2.389\AA . Gli angoli di legame N(11)-Ni(1)-S(2) (158.3°) ed N(1)-Ni(1)-S(1) (158.6°), N(21)-Ni(1)-N(11) (78.3°) ed S(1)-Ni(1)-S(2) (96.1°) sono lontani da quelli di un ottaedro perfetto indicando così una considerevole distorsione nella geometria.

Gli anioni nitrato non-coordinanti hanno una struttura trigonale piana leggermente distorta, come mostrato dall'angolo di legame O(2)-N(10)-O(3) (115.1°), dovuta alla formazione dei legami a idrogeno con il legante tiosemicarbazonico (figura 2).

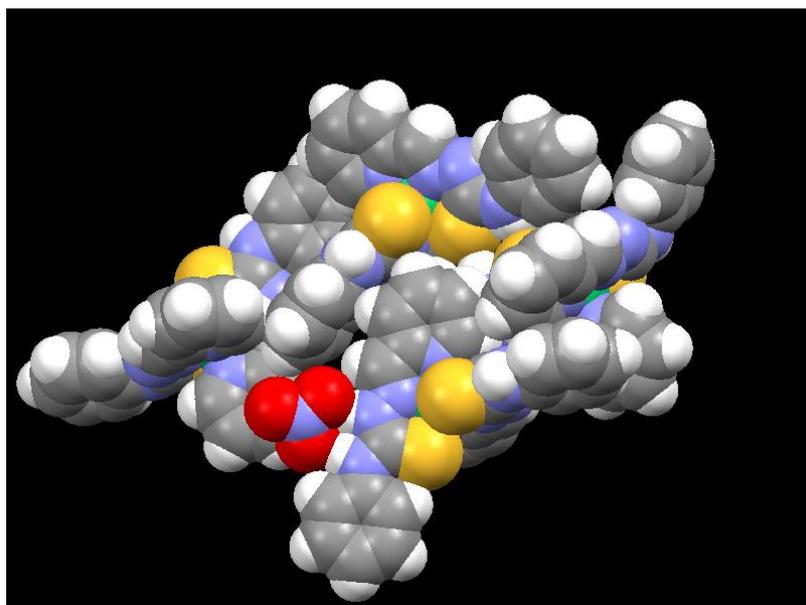


Figura 2

La presenza di questi legami in cui è coinvolto l'anione nitrato comporta una rotazione dell'anello fenilico legato ad N(46) che volge dal lato opposto, permettendo altresì all'atomo di zolfo S(6) di formare un legame con H(26B) alla distanza di 2.547 Å (figura 1). Il packing del complesso è stabilizzato da interazioni tipo legame a idrogeno tra gli ossigeni dell'anione ed i ligandi tiosemicarbazonici di altre unità e da interazioni di stacking tra gli anelli dei diversi ligandi (figura 3).

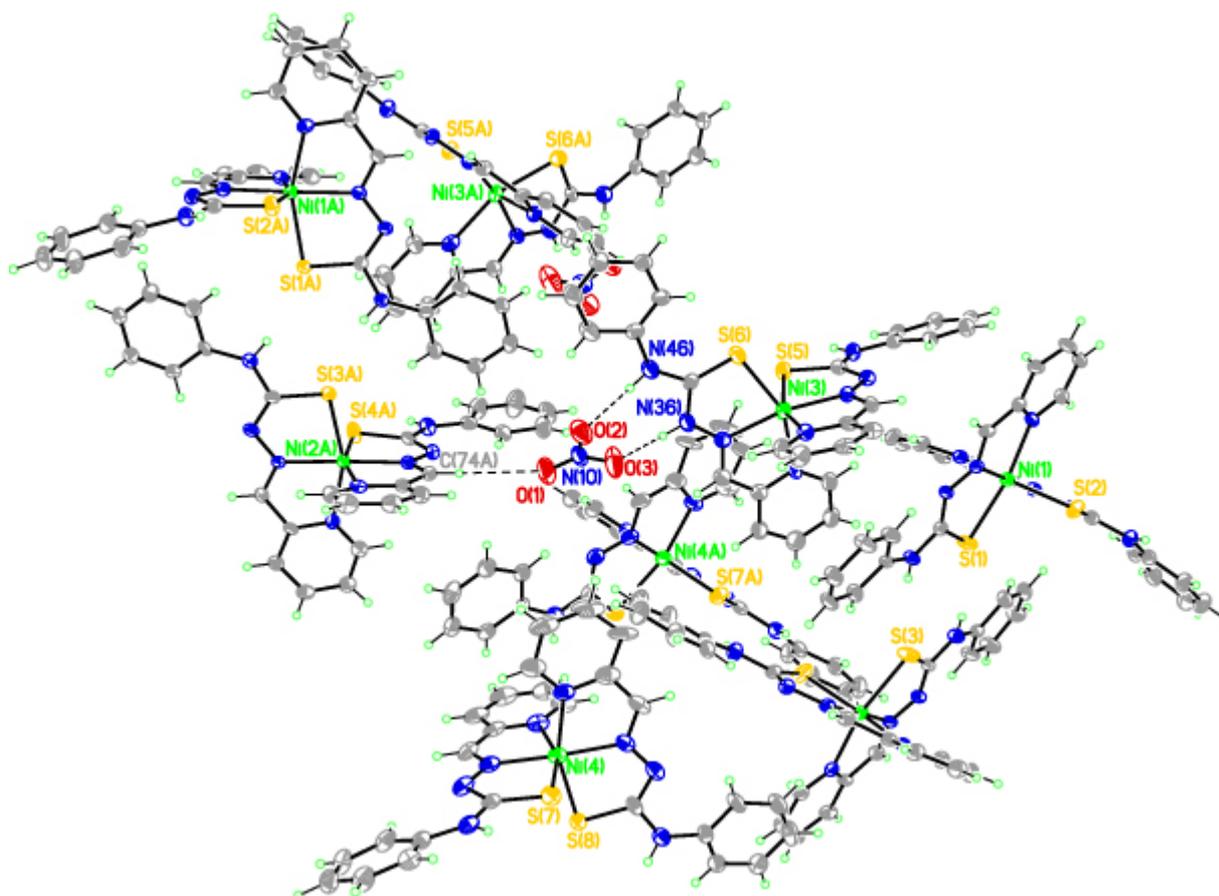


Figura 3

L'interazione C(74A)-H(74B)...O(1) = 2.69 Å può essere considerata un legame a idrogeno debole a causa della distanza alquanto lunga.

I parametri dei legami a idrogeno sono elencati nella tabella 2.

Tabella 1. Lunghezze di legame [Å] ed angoli [°].

Ni(1)-N(21)	2.026(6)	C(4)-C(5)	1.371(12)
Ni(1)-N(2)	2.045(6)	C(5)-C(6)	1.391(10)
Ni(1)-N(1)	2.105(6)	C(6)-C(7)	1.443(10)
Ni(1)-N(11)	2.112(6)	C(7)-N(2)	1.270(8)
Ni(1)-S(1)	2.389(2)	N(2)-N(3)	1.382(8)
Ni(1)-S(2)	2.414(2)	N(3)-C(8)	1.334(9)
Ni(2)-N(24)	2.005(6)	C(8)-N(4)	1.356(9)
Ni(2)-N(22)	2.014(6)	N(4)-C(1F)	1.417(9)
Ni(2)-N(12)	2.114(6)	N(10)-O(1)	1.179(11)
Ni(2)-N(14)	2.120(6)	N(10)-O(3)	1.228(10)
Ni(2)-S(4)	2.381(2)	N(10)-O(2)	1.246(12)
Ni(2)-S(3)	2.397(2)	N(21)-Ni(1)-N(2)	176.0(2)
Ni(3)-N(25)	2.030(6)	N(21)-Ni(1)-N(1)	100.9(2)
Ni(3)-N(26)	2.073(7)	N(2)-Ni(1)-N(1)	78.4(2)
Ni(3)-N(15)	2.131(6)	N(21)-Ni(1)-N(11)	78.3(2)
Ni(3)-N(16)	2.150(8)	N(2)-Ni(1)-N(11)	97.8(2)
Ni(3)-S(5)	2.379(2)	N(1)-Ni(1)-N(11)	94.9(2)
Ni(3)-S(6)	2.486(3)	N(21)-Ni(1)-S(1)	100.42(17)
Ni(4)-N(27)	1.995(8)	N(2)-Ni(1)-S(1)	80.26(16)
Ni(4)-N(28)	2.023(7)	N(1)-Ni(1)-S(1)	158.65(17)
Ni(4)-N(18)	2.100(7)	N(11)-Ni(1)-S(1)	89.07(17)
Ni(4)-N(17)	2.129(7)	N(21)-Ni(1)-S(2)	80.04(18)
Ni(4)-S(7)	2.387(2)	N(2)-Ni(1)-S(2)	103.85(15)
Ni(4)-S(8)	2.404(2)	N(1)-Ni(1)-S(2)	88.03(17)
S(1)-C(8)	1.737(7)	N(11)-Ni(1)-S(2)	158.28(18)
N(1)-C(2)	1.363(9)	S(1)-Ni(1)-S(2)	96.05(9)
N(1)-C(6)	1.364(9)	O(1)-N(10)-O(3)	122.9(11)
C(2)-C(3)	1.383(12)	O(1)-N(10)-O(2)	122.1(10)
C(3)-C(4)	1.346(12)	O(3)-N(10)-O(2)	115.1(10)

Tabella 2. Legami a idrogeno [Å e °].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
N(36)-H(36B)...O(3)	0.86	1.94	2.735(11)	154.0
N(46)-H(46B)...O(2)	0.86	2.01	2.872(11)	176.3
C(74A)-H(74B)...O(1)#1	0.93	2.69	3.621(11)	177.7
C(26F)-H(26B)...S(6)	0.93	2.54	3.232(11)	130.8

Operazione di simmetria adoperata per generare gli atomi equivalenti: #1 x, y+3, z

4.2. Struttura del composto $[Ni(FP-4f-TSC)(HFP-4f-TSC)]_2 Br_2 \cdot H_2O$ (**2**).

In questo composto, l'unità asimmetrica è costituita da due molecole indipendenti $[Ni(L)(HL)]^+$, ciascuna delle quali presenta uno dei due ligandi deprotonato, due ioni Br^- ed una molecola d'acqua (figura1).

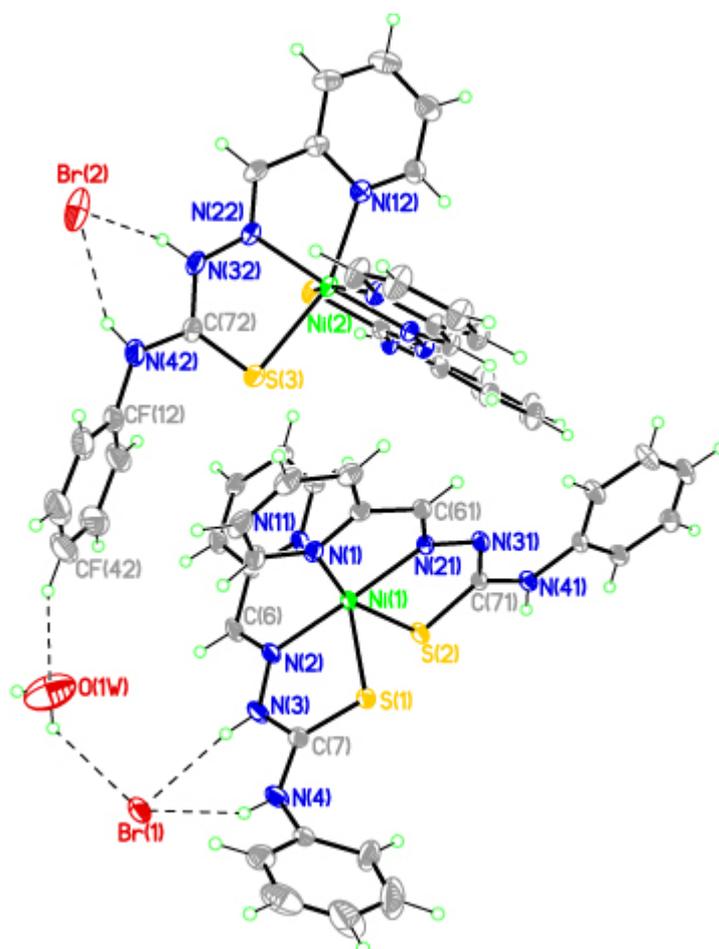


Figura 1

La geometria intorno all'atomo centrale di nichel è ottaedrica distorta in modo simile al composto **1**.

Due ioni di Br^- bilanciano la carica del metallo centrale formando un legame a ponte idrogeno con gli atomi in posizione 3 e 4. Una molecola di acqua di cristallizzazione contribuisce alla formazione del reticolo cristallino formando legando a ponte idrogeno con lo ione $Br(1)$, legato ad una delle due entità indipendenti, e con l'anello fenilico dell'altra entità.

I due ligandi, come atteso, coordinano il metallo in una conformazione meridionale mediante l'atomo di azoto pirimidinico, l'azoto in posizione 2 e l'atomo di zolfo.

L'angolo N(2)-Ni(1)-N(21) che coinvolge gli atomi di azoto iminico dei due ligandi è 177.4° , mostrando, quindi, una leggera distorsione dalla simmetria ottaedrica.

I numerosi legami a idrogeno che si formano in $[\text{Ni}(\text{FP-4f-TSC})(\text{HFP-4f-TSC})]_2\text{Br}_2\cdot\text{H}_2\text{O}$ coinvolgono gli ioni bromuro, la molecola d'acqua e gli idrogeni dei ligandi (figura 2).

In particolare, lo ione Br(1) si lega ad H(1WA), H(4B) ed H(3A) ad una distanza, rispettivamente, di 2.747, 2.567 e 2.390 Å; lo ione Br(2) lega H(32A) ed H(42A) ad una distanza, rispettivamente, di 2.502, 2.639 Å.

L'atomo O(1W) lega H(F4C) ad una distanza di 2.570 Å.

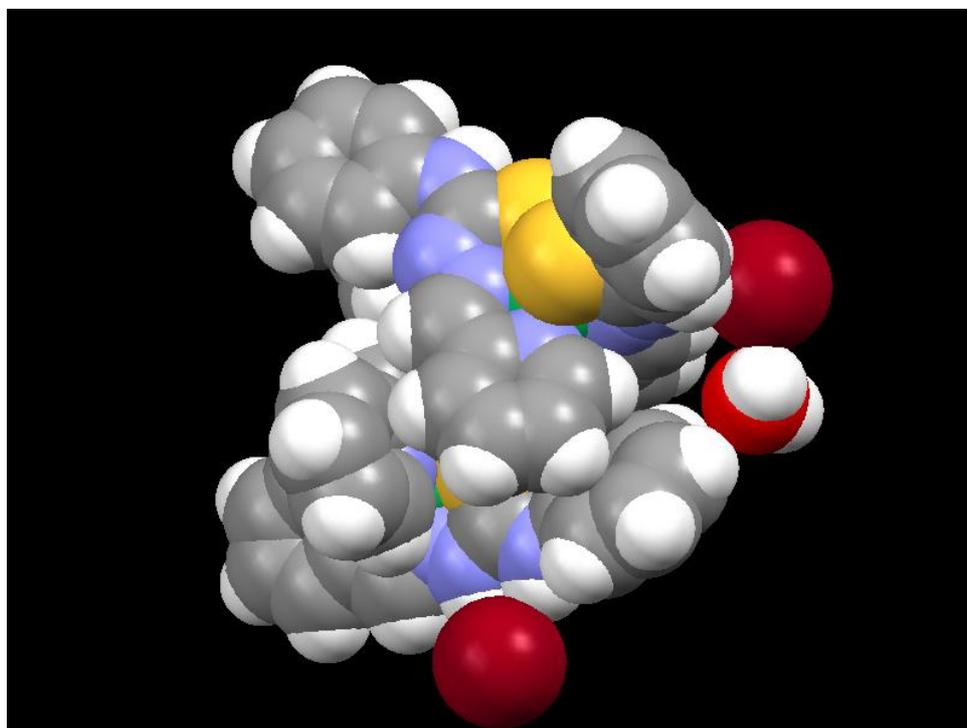


Figura 2

Lo ione Br(2) contribuisce alla formazione del reticolo cristallino coordinando atomi su piani diversi [Br(2)--H(43D)=2.544 Å] (figura 3).

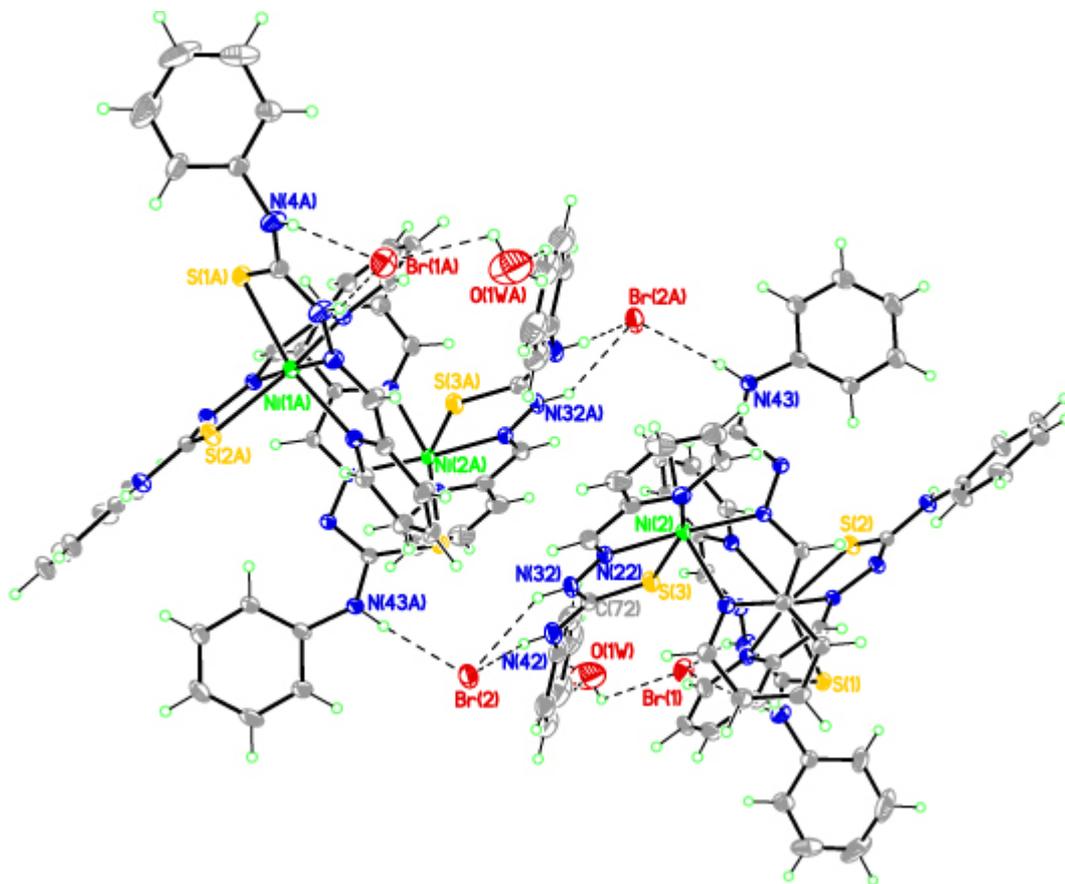


Figura 3

Tabella 3. Lunghezze di legame [Å] ed angoli [°].

Ni(1)-N(21)	2.008(3)	C(11)-C(21)	1.380(6)
Ni(1)-N(2)	2.031(3)	C(21)-C(31)	1.361(6)
Ni(1)-N(11)	2.105(3)	C(31)-C(41)	1.369(6)
Ni(1)-N(1)	2.122(3)	C(41)-C(51)	1.386(5)
Ni(1)-S(2)	2.4010(10)	C(51)-C(61)	1.452(5)
Ni(1)-S(1)	2.4837(10)	C(61)-N(21)	1.289(4)
Ni(2)-N(23)	2.005(3)	N(21)-N(31)	1.373(4)
Ni(2)-N(22)	2.020(3)	N(31)-C(71)	1.313(4)
Ni(2)-N(12)	2.102(3)	C(71)-N(41)	1.362(4)
Ni(2)-N(13)	2.114(3)	C(71)-S(2)	1.738(3)
Ni(2)-S(4)	2.3654(10)	N(41)-CF11	1.406(4)
Ni(2)-S(3)	2.4522(11)	CF11-CF21	1.383(5)
N(1)-C(1)	1.325(4)	CF11-CF61	1.393(5)
N(1)-C(5)	1.349(4)	CF21-CF31	1.383(5)
C(1)-C(2)	1.395(5)	CF31-CF41	1.377(6)
C(2)-C(3)	1.349(6)	CF41-CF51	1.364(6)
C(3)-C(4)	1.374(6)	CF51-CF61	1.377(6)
C(4)-C(5)	1.377(5)		
C(5)-C(6)	1.456(5)	N(21)-Ni(1)-N(2)	177.36(11)
C(6)-N(2)	1.272(5)	N(21)-Ni(1)-N(11)	78.97(11)
N(2)-N(3)	1.361(4)	N(2)-Ni(1)-N(11)	101.31(12)
N(3)-C(7)	1.359(5)	N(21)-Ni(1)-N(1)	100.19(11)
C(7)-N(4)	1.340(5)	N(2)-Ni(1)-N(1)	77.18(11)
C(7)-S(1)	1.674(4)	N(11)-Ni(1)-N(1)	93.00(11)
N(4)-CF1	1.419(5)	N(21)-Ni(1)-S(2)	80.42(8)
CF1-CF6	1.344(6)	N(2)-Ni(1)-S(2)	99.36(9)
CF1-CF2	1.350(6)	N(11)-Ni(1)-S(2)	159.32(9)
CF2-CF3	1.350(8)	N(1)-Ni(1)-S(2)	92.35(8)
CF3-CF4	1.294(10)	N(21)-Ni(1)-S(1)	102.60(8)
CF4-CF5	1.399(11)	N(2)-Ni(1)-S(1)	80.04(9)
CF5-CF6	1.389(9)	N(11)-Ni(1)-S(1)	87.17(8)
N(11)-C(11)	1.340(5)	N(1)-Ni(1)-S(1)	156.80(8)
N(11)-C(51)	1.350(5)	S(2)-Ni(1)-S(1)	95.63(4)

Tabella 4. Legami a idrogeno [Å e °].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
N(3)-H(3A)...Br(1)	0.86	2.39	3.216(3)	161.2
N(4)-H(4B)...Br(1)	0.86	2.56	3.368(3)	155.8
N(32)-H(32A)...Br(2)	0.86	2.50	3.271(3)	149.2
N(42)-H(42A)...Br(2)	0.86	2.63	3.424(3)	153.1
N(43)-H(43D)...Br(2)#1	0.86	2.54	3.394(3)	170.2
C(F42)-H(F4C)...O(1W)	0.93	2.57	3.323(3)	142.0

Operazione di simmetria adoperata per generare gli atomi equivalenti: #1 $-x+1, -y+1, -z$

Tabella 5. Lunghezze di legame [Å] ed angoli [°].

Ni(1)-N(2)	1.981(8)	C(7)-N(4)	1.381(16)
Ni(1)-N(21)	2.014(8)	N(4)-CF1	1.393(16)
Ni(1)-N(11)	2.120(10)	CF1-CF2	1.394(17)
Ni(1)-N(1)	2.132(10)	CF1-CF6	1.42(2)
Ni(1)-S(2)	2.371(4)	CF2-CF3	1.42(2)
Ni(1)-S(1)	2.377(4)	CF3-CF4	1.39(2)
Ni(2)-N(22)	1.962(13)	CF4-CF5	1.32(2)
Ni(2)-N(23)	1.994(10)	CF5-CF6	1.32(2)
Ni(2)-N(13)	2.094(14)	S(2)-C(71)	1.710(11)
Ni(2)-N(12)	2.127(11)	Cl(1)-O(2)	1.272(15)
Ni(2)-S(3)	2.386(4)	Cl(1)-O(4)	1.288(15)
Ni(2)-S(4)	2.448(4)	Cl(1)-O(1)	1.384(16)
Ni(3)-N(24)	2.037(8)	Cl(1)-O(3)	1.402(18)
Ni(3)-N(25)	2.043(9)		
Ni(3)-N(15)	2.104(9)	N(2)-Ni(1)-N(21)	176.7(4)
Ni(3)-N(14)	2.116(9)	N(2)-Ni(1)-N(11)	98.3(4)
Ni(3)-S(5)	2.408(3)	N(21)-Ni(1)-N(11)	78.6(3)
Ni(3)-S(6)	2.418(4)	N(2)-Ni(1)-N(1)	79.0(4)
Ni(4)-N(26)	2.028(10)	N(21)-Ni(1)-N(1)	102.3(4)
Ni(4)-N(16)	2.130(10)	N(11)-Ni(1)-N(1)	94.8(4)
Ni(4)-N(27)	2.154(13)	N(2)-Ni(1)-S(2)	102.9(3)
Ni(4)-N(17)	2.190(14)	N(21)-Ni(1)-S(2)	80.2(3)
Ni(4)-S(7)	2.364(4)	N(11)-Ni(1)-S(2)	158.7(2)
Ni(4)-S(8)	2.453(5)	N(1)-Ni(1)-S(2)	88.2(3)
S(1)-C(7)	1.753(12)	N(2)-Ni(1)-S(1)	80.6(3)
N(1)-C(1)	1.331(15)	N(21)-Ni(1)-S(1)	98.1(3)
N(1)-C(5)	1.353(15)	N(11)-Ni(1)-S(1)	88.8(3)
C(1)-C(2)	1.429(19)	N(1)-Ni(1)-S(1)	159.6(3)
C(2)-C(3)	1.430(19)	S(2)-Ni(1)-S(1)	95.76(17)
C(3)-C(4)	1.326(18)	O(2)-Cl(1)-O(4)	110.1(16)
C(4)-C(5)	1.389(17)	O(2)-Cl(1)-O(1)	114.2(14)
C(5)-C(6)	1.409(16)	O(4)-Cl(1)-O(1)	107.7(18)
C(6)-N(2)	1.349(14)	O(2)-Cl(1)-O(3)	111.1(18)
N(2)-N(3)	1.368(12)	O(4)-Cl(1)-O(3)	108.6(14)
N(3)-C(7)	1.276(15)	O(1)-Cl(1)-O(3)	104.8(16)

Tabella 6. Legami a idrogeno [Å e °].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
C(F27)-H(F2I)...S(8)	0.93	2.53	3.22(13)	131.6
C(6A)-H(6AA)...O(2)#1	0.93	2.50	3.429(9)	175.6
N(37)-H(37A)...O(4)	0.86	2.45	3.28(3)	161.4
N(47)-H(47A)...O(1)	0.86	2.01	2.87(2)	175.4

Operazione di simmetria adoperata per generare gli atomi equivalenti: #1 x, -y, -0.5+z

4.4. Struttura del composto $[Co(FP-4f-TSC)]_3(NO_3)_3$ (**4**).

La struttura cristallina del composto **4** contiene entità ottaedriche discrete $[Co(L)_2]^+$ in cui ciascun ligando presenta una carica negativa (figura 1).

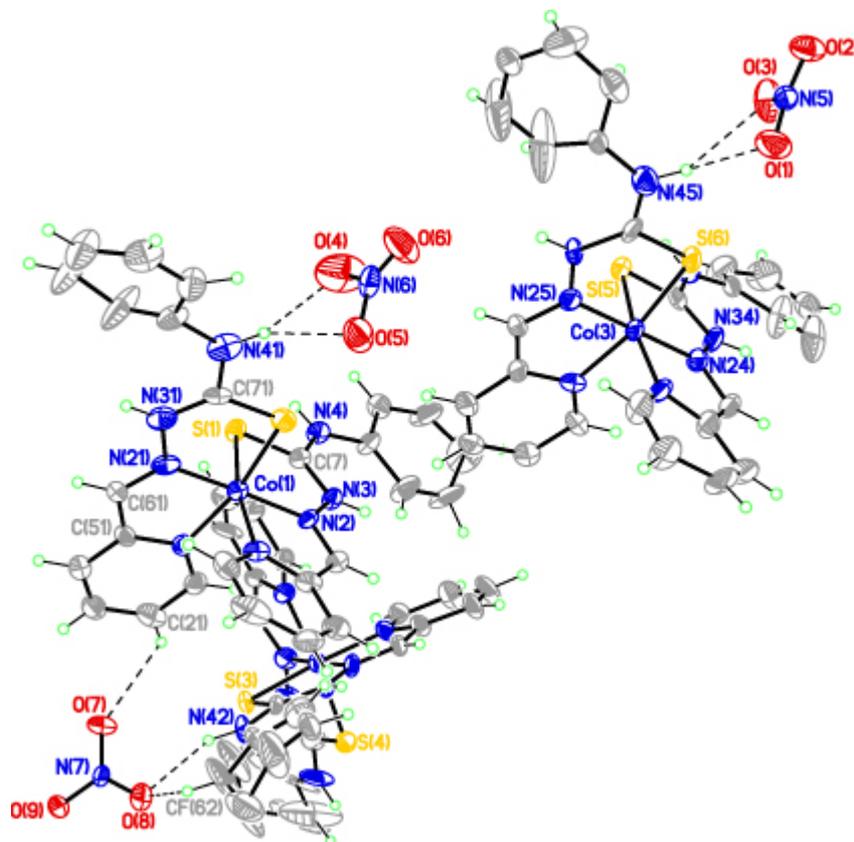


Figura 1

Nel composto **4** sono presenti ioni Co^{3+} . Essendo il sale di partenza $Co(NO_3)_2$ è evidente che c'è stata ossidazione del cobalto durante la preparazione del composto. Questo effetto è stato visto spesso nella preparazione di composti di cobalto con tiosemicarbazoni.[3, 4]

Lo ione Co^{3+} è legato da un atomo di zolfo e da due atomi di azoto per ciascun ligando e mostra una leggera distorsione dalla geometria ottaedrica.

I piani NNS dei ligandi sono praticamente ortogonali, con angoli vicini ai 90° .

I gruppi NO_3^- agiscono come controioni per bilanciare la carica $3+$ del cobalto e contribuiscono alla formazione dell'edificio cristallino nelle tre dimensioni (figura 2a-2d).

I legami a idrogeno e le rispettive operazioni di simmetria sono riportate in tabella 8.

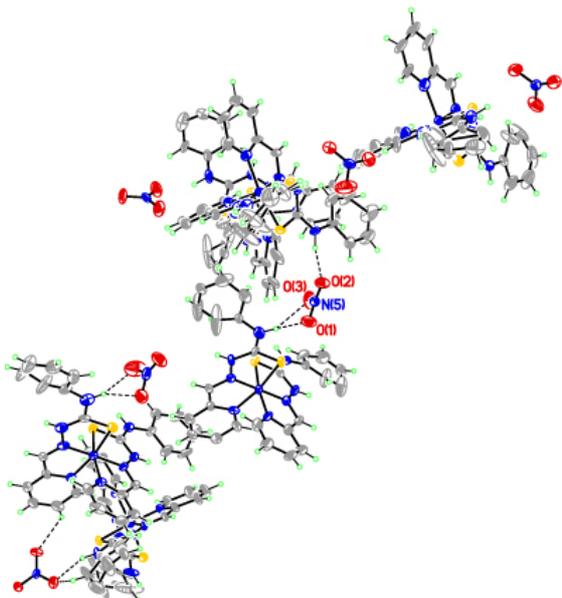


Figura 2a

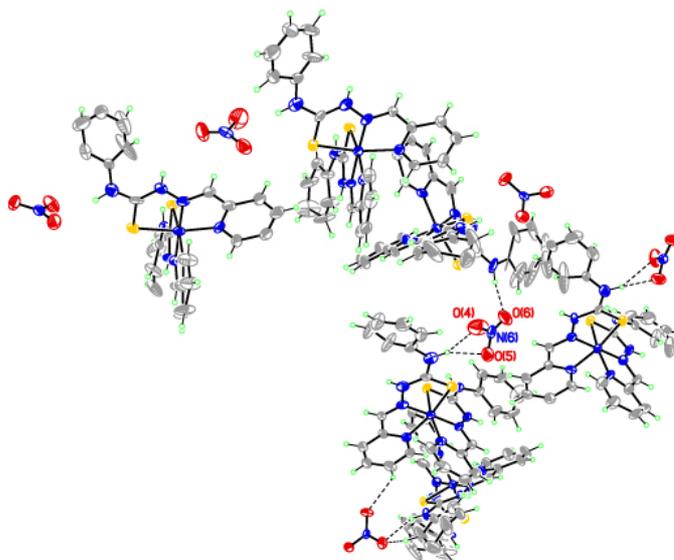


Figura 2b

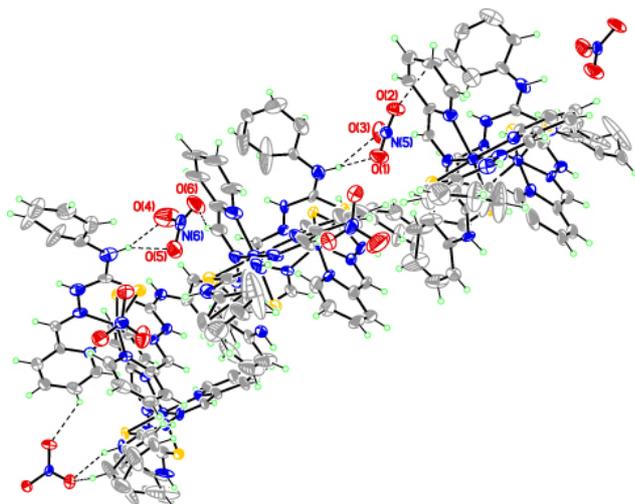


Figura 2c

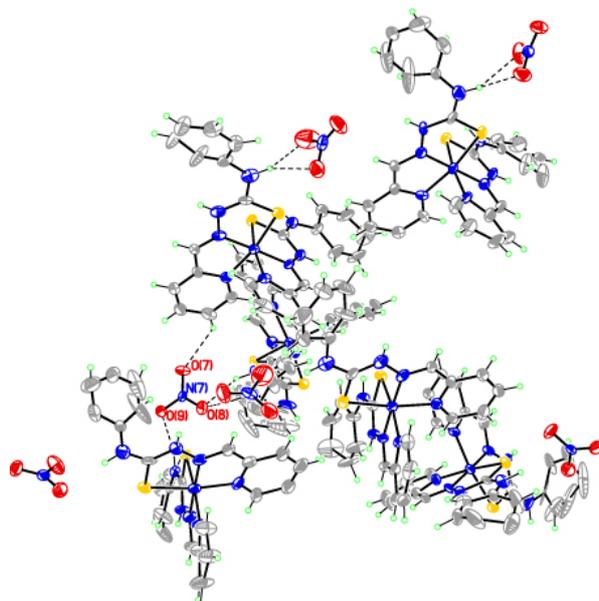


Figura 2d

Tabella 7. Lunghezze di legame [Å] ed angoli [°].

Co(1)-N(21)	1.853(10)		
Co(1)-N(2)	1.895(8)	N(21)-Co(1)-N(2)	177.8(4)
Co(1)-N(1)	1.955(10)	N(21)-Co(1)-N(1)	95.3(4)
Co(1)-N(11)	1.974(9)	N(2)-Co(1)-N(1)	82.9(4)
Co(1)-S(2)	2.219(3)	N(21)-Co(1)-N(11)	82.4(4)
Co(1)-S(1)	2.232(3)	N(2)-Co(1)-N(11)	96.3(4)
N(1)-C(5)	1.370(17)	N(1)-Co(1)-N(11)	91.8(4)
N(1)-C(1)	1.395(18)	N(21)-Co(1)-S(2)	86.2(3)
C(1)-C(2)	1.33(2)	N(2)-Co(1)-S(2)	95.1(3)
C(2)-C(3)	1.43(3)	N(1)-Co(1)-S(2)	89.7(3)
C(3)-C(4)	1.34(2)	N(11)-Co(1)-S(2)	168.6(3)
C(4)-C(5)	1.411(16)	N(21)-Co(1)-S(1)	97.2(3)
C(5)-C(6)	1.467(17)	N(2)-Co(1)-S(1)	84.6(3)
C(6)-N(2)	1.302(12)	N(1)-Co(1)-S(1)	167.5(3)
N(2)-N(3)	1.353(12)	N(11)-Co(1)-S(1)	90.5(3)
N(3)-C(7)	1.290(13)	S(2)-Co(1)-S(1)	90.42(12)
C(7)-N(4)	1.390(13)	C(5)-N(1)-C(1)	118.2(11)
C(7)-S(1)	1.745(11)	C(5)-N(1)-Co(1)	111.6(8)
N(4)-CF1	1.428(14)	C(1)-N(1)-Co(1)	130.1(10)
CF1-CF2	1.391(17)	C(2)-C(1)-N(1)	118.5(15)
CF1-CF6	1.418(18)	C(1)-C(2)-C(3)	123.1(14)
CF2-CF3	1.40(2)	C(4)-C(3)-C(2)	119.5(13)
CF3-CF4	1.36(3)	C(3)-C(4)-C(5)	116.6(14)
CF4-CF5	1.44(3)	N(1)-C(5)-C(4)	123.9(13)
CF5-CF6	1.37(3)	N(1)-C(5)-C(6)	115.0(9)
N(5)-O(1)	1.199(16)	O(1)-N(5)-O(3)	116.2(16)
N(5)-O(3)	1.213(17)	O(1)-N(5)-O(2)	119.7(16)
N(5)-O(2)	1.215(16)	O(3)-N(5)-O(2)	123.4(13)
N(6)-O(6)	1.087(17)	O(6)-N(6)-O(4)	119.5(17)
N(6)-O(4)	1.24(2)	O(6)-N(6)-O(5)	127.9(14)
N(6)-O(5)	1.251(17)	O(4)-N(6)-O(5)	112.5(17)
N(7)-O(7)	1.219(14)	O(7)-N(7)-O(8)	120.7(12)
N(7)-O(8)	1.226(16)	O(7)-N(7)-O(9)	121.4(11)
N(7)-O(9)	1.244(14)	O(8)-N(7)-O(9)	117.6(11)

Tabella 8. Legami a idrogeno [Å e °].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
N(45)-H(45B)...O(1)	0.86	2.34	3.137(13)	147.1
N(42A)-H(4BA)...O(2)#1	0.86	2.04	2.918(11)	164.3
C(F3C)-H(F3H)...O(2)#3	0.93	2.56	3.309(9)	134.6
N(45)-H(45B)...O(3)	0.86	2.29	3.105(3)	150.5
N(41)-H(41B)...O(4)	0.86	2.14	2.974(2)	153.7
N(41)-H(41B)...O(5)	0.86	2.27	3.092(2)	150.5
N(43A)-H(43D)...O(6)#2	0.86	2.01	2.909(11)	169.9
C(64A)-H(64B)...O(6)#3	0.93	2.27	3.166(11)	154.8
C(21)-H(21A)...O(7)	0.93	2.50	3.164(11)	125.9
N(42)-H(42B)...O(8)	0.86	2.12	2.971(11)	157.4
C(F62)-H(F6C)...O(8)	0.93	2.43	3.245(9)	141.8
N(44A)-H(44D)...O(9)#4	0.86	2.01	2.893(11)	166.4

Operazione di simmetria adoperata per generare gli atomi equivalenti: #1 1.5-x, 0.5+y, -0.5+z; #2 0.5+x, 0.5-y, -1+z

#3 1-x, 1-y, -0.5+z; #4 -0.5+x, 0.5-y, +z

4.5. Struttura del composto $[Cu(FP-4f-TSC)(H_2O)]_2(CF_3SO_3)_2$ (**5**).

La struttura molecolare del composto **5** consiste di entità discrete $[Cu(L)(OH_2)]$, anioni $CF_3SO_3^-$ e molecole d'acqua di cristallizzazione (figura 1).

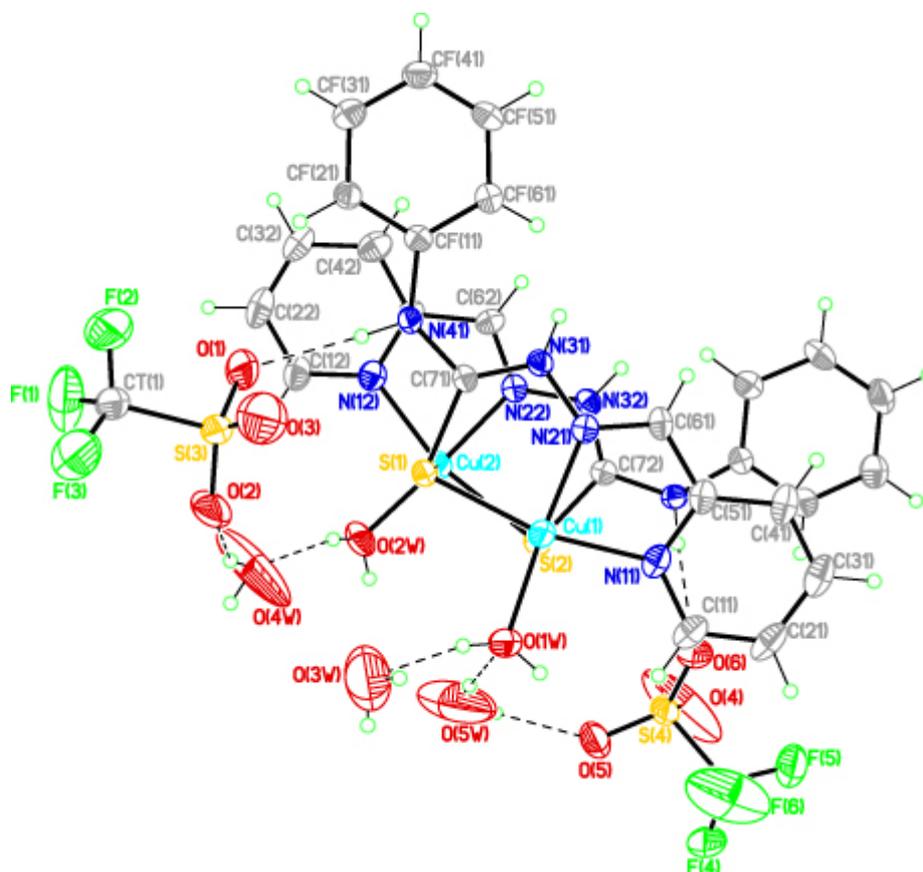


Figura 1

La geometria intorno all'atomo di Cu è piramidale a base quadrata distorta. La base della piramide è costituita dall'atomo di zolfo S(1), dagli atomi di azoto N(21) ed N(11) del ligando coordinato e da una molecola d'acqua di cristallizzazione legata all'atomo di rame. L'apice della piramide è occupato dall'atomo di zolfo S(2) del ligando della seconda entità presente nell'unità asimmetrica (distanza Cu---S = 2.85 Å). Ciò conduce alla formazione di specie dinucleari $[Cu(L)X]_2$.

La distanza intramolecolare Cu(1)---Cu(2) è 3.458 Å.

Il ligando tiosemicarbazonico esibisce un alto livello di planarità.

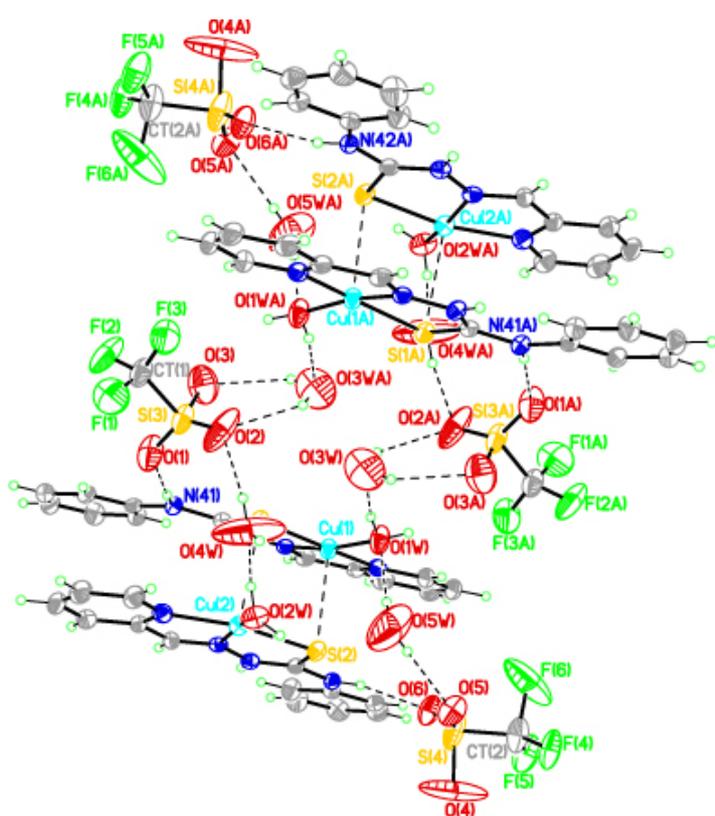


Figura 2a

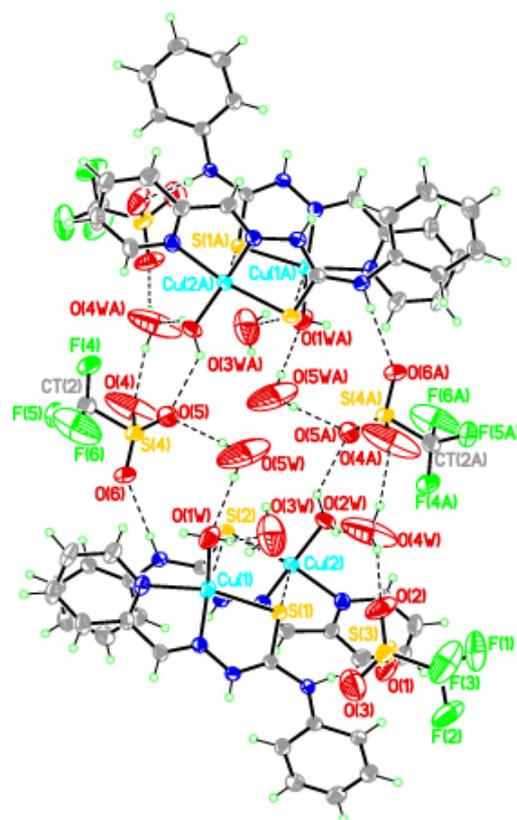


Figura 2b

Il complesso network di legami a idrogeno che si viene a formare (figura 2a, 2b) è essenziale per lo sviluppo della struttura nelle tre dimensioni.

I legami a idrogeno sono elencati nella tabella 10.

Tabella 9. Lunghezze di legame [Å] ed angoli [°].

Cu(1)-N(21)	1.968(6)	CT1-F(2)	1.276(13)
Cu(1)-O(1W)	1.974(6)	CT1-F(1)	1.276(17)
Cu(1)-N(11)	2.001(6)		
Cu(1)-S(1)	2.256(2)	N(21)-Cu(1)-O(1W)	169.1(3)
Cu(2)-N(22)	1.953(6)	N(21)-Cu(1)-N(11)	81.8(3)
Cu(2)-O(2W)	1.959(6)	O(1W)-Cu(1)-N(11)	94.8(3)
Cu(2)-N(12)	2.021(7)	N(21)-Cu(1)-S(1)	83.96(18)
Cu(2)-S(2)	2.258(2)	O(1W)-Cu(1)-S(1)	98.4(2)
N(11)-C(11)	1.334(11)	N(11)-Cu(1)-S(1)	165.1(2)
N(11)-C(51)	1.369(11)	N(22)-Cu(2)-O(2W)	169.9(2)
C(11)-C(21)	1.378(14)	N(22)-Cu(2)-N(12)	81.1(3)
C(21)-C(31)	1.371(15)	O(2W)-Cu(2)-N(12)	95.5(3)
C(31)-C(41)	1.377(14)	N(22)-Cu(2)-S(2)	84.17(18)
C(41)-C(51)	1.386(11)	O(2W)-Cu(2)-S(2)	98.3(2)
C(51)-C(61)	1.435(11)	N(12)-Cu(2)-S(2)	164.6(2)
C(61)-N(21)	1.280(9)	C(11)-N(11)-C(51)	119.0(7)
N(21)-N(31)	1.353(8)	C(11)-N(11)-Cu(1)	129.6(7)
N(31)-C(71)	1.328(8)	C(51)-N(11)-Cu(1)	111.5(5)
C(71)-N(41)	1.349(9)	N(11)-C(11)-C(21)	122.3(10)
C(71)-S(1)	1.750(7)	O(1)-S(3)-O(2)	128.1(8)
N(41)-CF11	1.412(8)	O(1)-S(3)-O(3)	104.1(7)
CF11-CF61	1.369(10)	O(2)-S(3)-O(3)	109.9(8)
CF11-CF21	1.399(10)	O(1)-S(3)-CT1	106.5(6)
CF21-CF31	1.396(11)	O(2)-S(3)-CT1	104.0(5)
CF31-CF41	1.359(13)	O(3)-S(3)-CT1	101.1(7)
CF41-CF51	1.378(13)	F(3)-CT1-F(2)	114.1(13)
CF51-CF61	1.370(11)	F(3)-CT1-F(1)	104.6(13)
S(3)-O(1)	1.365(9)	F(2)-CT1-F(1)	100.7(13)
S(3)-O(2)	1.380(8)	F(3)-CT1-S(3)	113.3(9)
S(3)-O(3)	1.497(12)	F(2)-CT1-S(3)	111.5(9)
S(3)-CT1	1.819(11)	F(1)-CT1-S(3)	111.8(11)
CT1-F(3)	1.249(13)		

Tabella 10. Legami a idrogeno [Å e °].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
N(41)-H(41A)...O(1)	0.86	2.11	2.963(9)	168.9
N(42)-H(42A)...O(6)	0.86	2.11	2.967(9)	168.5
O(1W)-H(1WA)...O(3W)	0.85	1.83	2.636(3)	166.2
O(4W)-H(4WD)...O(2)	0.85	1.98	2.784(9)	155.9
O(2W)-H(2WA)...O(4W)	0.85	1.76	2.537(1)	155.9
O(5W)-H(5WD)...O(5)	0.85	2.20	3.051(2)	179.3
O(5W)-H(5WC)...O(1W)	0.85	2.14	2.997(9)	179.3
O(3WA)-H(3WA)...O(2)#1	0.85	2.29	2.987(4)	139.0
O(3WA)-H(3WB)...O(3)#1	0.85	2.28	2.977(4)	139.0
O(4WA)-H(4WA)...O(4)#2	0.85	2.02	2.824(9)	156.0
O(2WA)-H(2WB)...O(5)#2	0.85	2.16	2.831(2)	135.1

Operazione di simmetria adoperata per generare gli atomi equivalenti: #1 -x, 1-y, 2-z; #2 1-x, 1-y, 2-z

4.6. *Struttura del composto* $[Cu_8(HCyd)_8(CF_3SO_3)_4][Cu(H_2O)_6] \cdot 6(CF_3SO_3) \cdot 12(H_2O)$ (**6**).

Il complesso **6** mostra una affascinante struttura calixarene-simile costituita da un anello ottanucleare $[Cu_8(HCyd)_8(CF_3SO_3)_4]^{4+}$ ($H_2Cyd =$ citidina) che comprende al suo interno un catione mononucleare $[Cu(H_2O)_6]^{2+}$ (Figura 1 e 2). L'unità asimmetrica è altresì costituita da molecole di triflato non coordinanti e da acque di cristallizzazione.

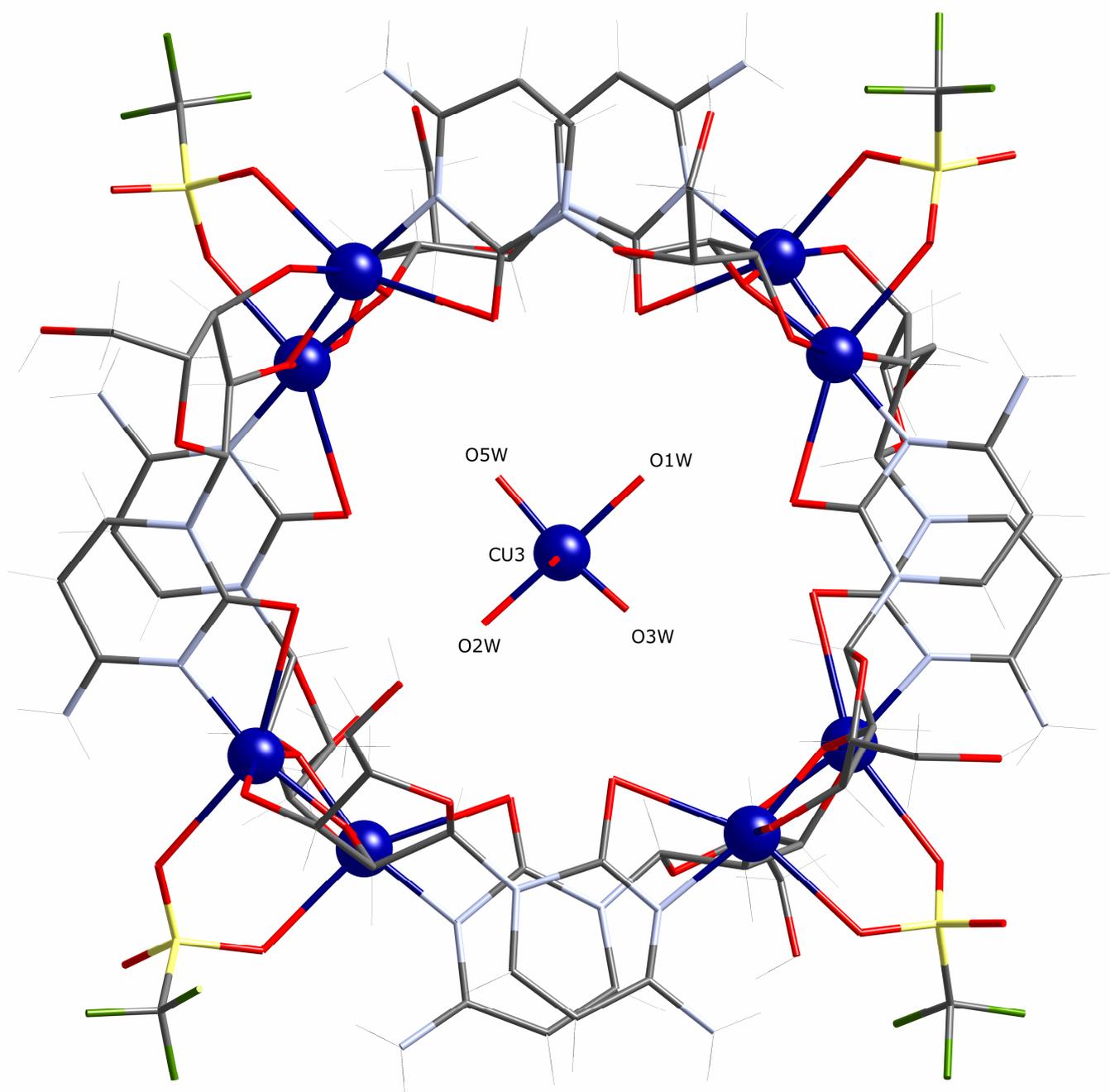


Figura 1

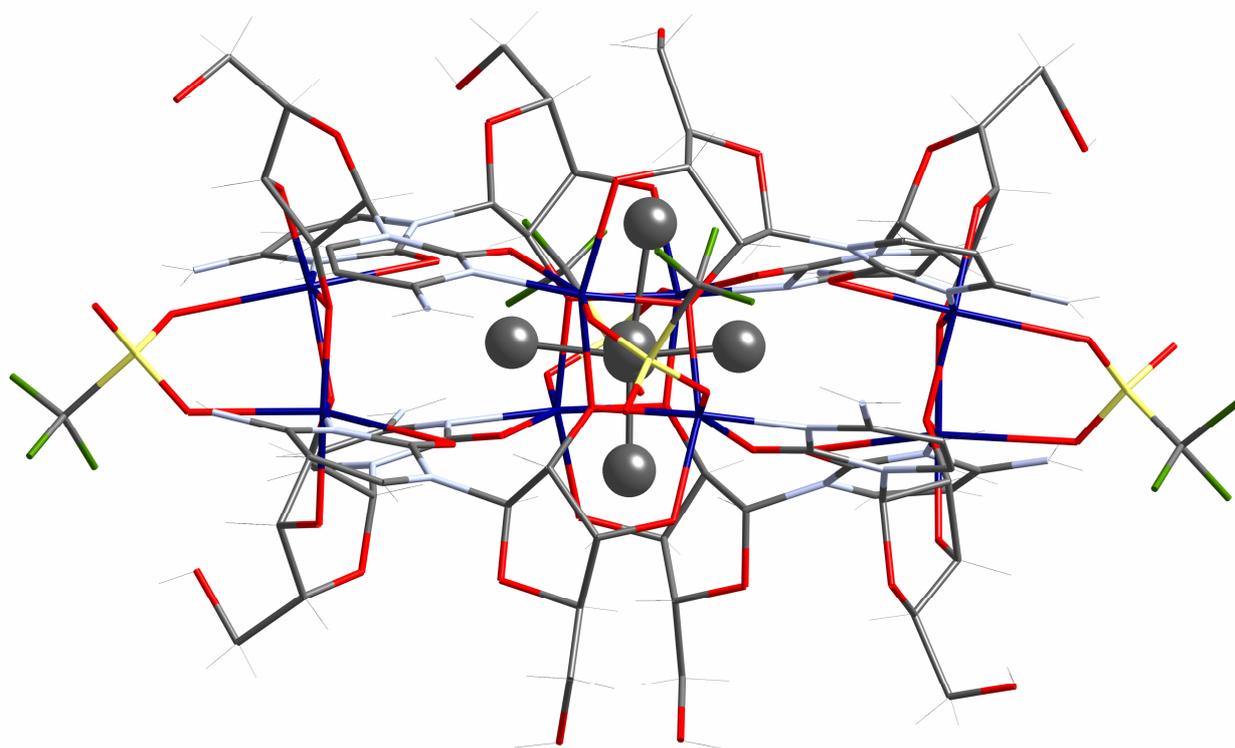


Figura 2

L'anello è costituito da 4 subunità formate da unità dirame(II). Ciascuna subunità lega a ponte due gruppi alkoxo della citidina ed un gruppo O-S-O del triflato. Contemporaneamente, le molecole di citidina monodeprotonate collegano tra loro queste subunità strutturali. Infatti, le molecole di citidina sono coordinate a tre diversi atomi di rame mediante l'atomo di azoto N(3) e gli ossigeni del ribosio O(3') ed O(2'). Quest'ultimo lega a ponte contemporaneamente due diversi atomi di rame in ciascuna subunità dinucleare [le distanze Cu-N(3), Cu(O3') e Cu-O(2') sono, rispettivamente, 1.99(1), 2.05(1) e 1.98(1) Å] (Figura 3).

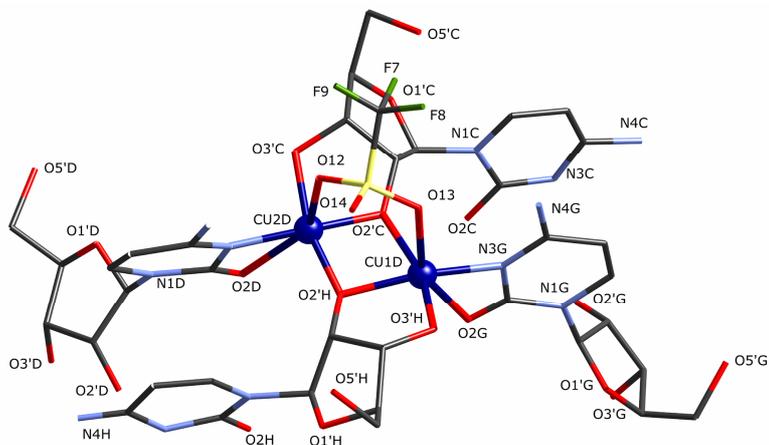


Figura 3

Ciascun atomo di rame presenta una coordinazione ottaedrica distorta le cui posizioni assiali sono occupate, da una parte, dall'atomo di ossigeno di una molecola di triflato e dall'altra dall'ossigeno carbonilico di una molecola di citidina [i legami Cu-O variano nel range 2.412(3)-2.554(4) e 2.512(4)-2.711(4) Å, rispettivamente]. Le lunghezze Cu-N(3) e Cu-O(2) sono simili a quelle riportate in letteratura.[5].

I valori delle distanze rame-rame e degli angoli formati dagli ossigeni O(2') a ponte con le subunità dirame(II) variano nel range, rispettivamente, di 2.972(3)-3.003(3) Å e 94.7(4)-100.8(4)°.

Il doppio legame a ponte formato dagli ossigeni delle citidine è il primo caso conosciuto in letteratura ed in generale è davvero inusuale per tutti i nucleosidi. Tale tipo di coordinazione era stata supposta, per primo, da uno studio EPR in soluzione di DMSO.[6] Alcuni esempi allo stato solido sono stati riportati per l'adenosina, la guanosina e l'uridina.[7, 8, 9]

Gli otto atomi di rame occupano l'apice di un antiprisma quadrato distorto. L'anello mostra proprietà di recettore attraverso le interazioni multiple tipo legame a idrogeno con il catione $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ che occupa il centro della struttura ottanucleare. I cationi in questione sono legati agli anioni del toro mediante legami a idrogeno che coinvolgono gli atomi O(2) degli anelli pirimidinico (che puntano verso l'interno della cavità) e le quattro molecole di acqua di cristallizzazione O(1W), O(2W), O(3W) ed O(5W) [le distanze O(W)...O variano nel range di 2.74(2)-3.27(1) Å]. I valori delle lunghezze di legame Cu-Ow sono nel range 1.96(2)-2.43(3) Å e corrispondono a quelle riportate in letteratura per composti simili.[10]

Le analisi strutturali hanno inoltre rivelato la presenza di un notevole numero di acque di cristallizzazione poste all'interno ed all'esterno degli anelli che formano un esteso network che coinvolge le molecole di acqua coordinate O(4W) ed O(6W) e gli anioni triflato. Ciò porta alla formazione di layers di anelli ottanucleari nel piano *ac* con una sequenza di stacking AB e profondi canali lungo l'asse *b* (figura 4).

La risultante struttura a canali facilita l'assorbimento ed il rilascio del solvente dal cristallo, come dimostrato da analisi termogravimetriche, e questo processo porta alla perdita della cristallinità.

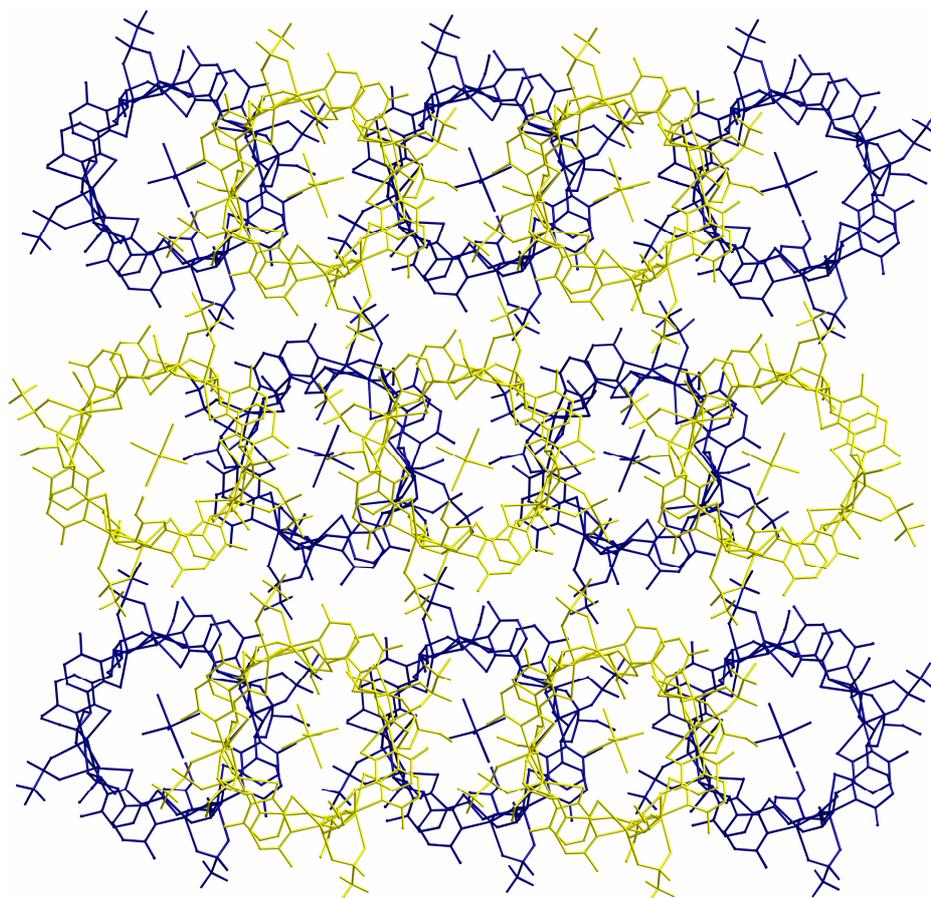


Figura 4

Le proprietà magnetiche del composto sotto forma di $\chi_M T$ su T [χ_M è la suscettibilità magnetica dei nove atomi di rame] sono mostrate in figura 5.

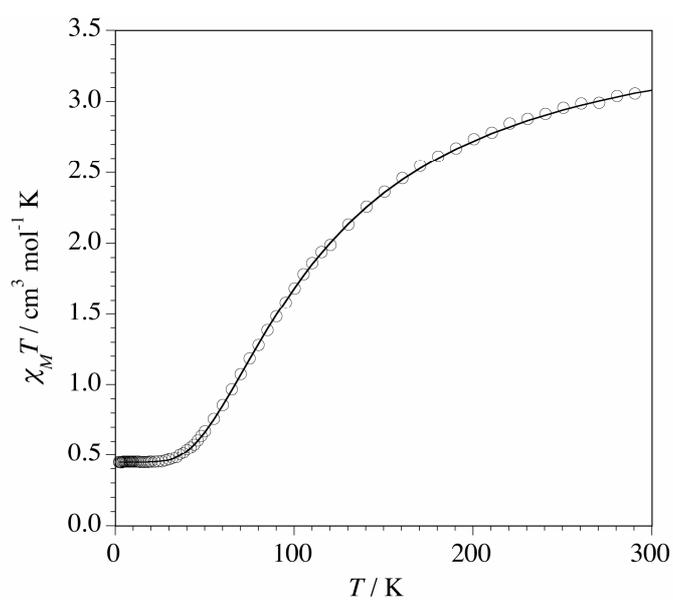


Figura 5

A temperatura ambiente $\chi_M T$ è $3.07 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ K}$, un valore che è significativamente inferiore a quello atteso per nove doppietti di spin magneticamente isolati ($\chi_M T = 3.72 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ K}$ con $g = 2.10$). Quando si abbassa la temperatura, $\chi_M T$ decresce in maniera continua fino a raggiungere un plateau a $T \leq 80 \text{ K}$, con un valore di $0.45 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ K}$. Questa curva è tipica di una forte interazione antiferromagnetica dovuta ad un doppietto di spin magneticamente isolato. La presenza, nel composto **6**, di quattro paia di ioni rame, ciascun paio legato a ponte con due atomi di ossigeno del ribosio con angoli che variano nel range $94.7(4)\text{-}100.8(4)^\circ$, rende conto del forte accoppiamento antiferromagnetico osservato, in accordo con i dati di altri composti simili di rame(II).[11] I dati magnetici del composto **6** sono stati analizzati mediante un modello di quattro dimeri di rame (II) identici con una forte interazione antiferromagnetica intradimero ed un doppietto magneticamente isolato di spin, dove i parametri variabili sono i fattori medi di Landé per il dimero (g_d) ed il monomero (g_m) e la costante di accoppiamento di scambio intradimero (J).

I parametri best-fit sono: $J = -141 \text{ cm}^{-1}$, $g_d = 2.08$, $g_m = 2.20$ con $R = 1.2 \times 10^{-5}$ (R è il fattore definito come $\sum_i [(\chi_M T)_{\text{obs}}(i) - (\chi_M T)_{\text{calc}}(i)]^2 / [(\chi_M T)_{\text{obs}}(i)]^2$).

Il valore di J è consistente con il valore medio dell'angolo del ponte alkoxo (θ) tenendo presente che il nucleo Cu_2O_2 non è planare (una geometria a forma di tetto con angoli diedri tra 20.6 e 25.9°). Il grafico di magnetizzazione a 2.0 K (figura 6) corrisponde alla funzione di Brillouin per un doppietto di spin isolato con $g = 2.20$ in totale accordo con le interpretazioni date prima.

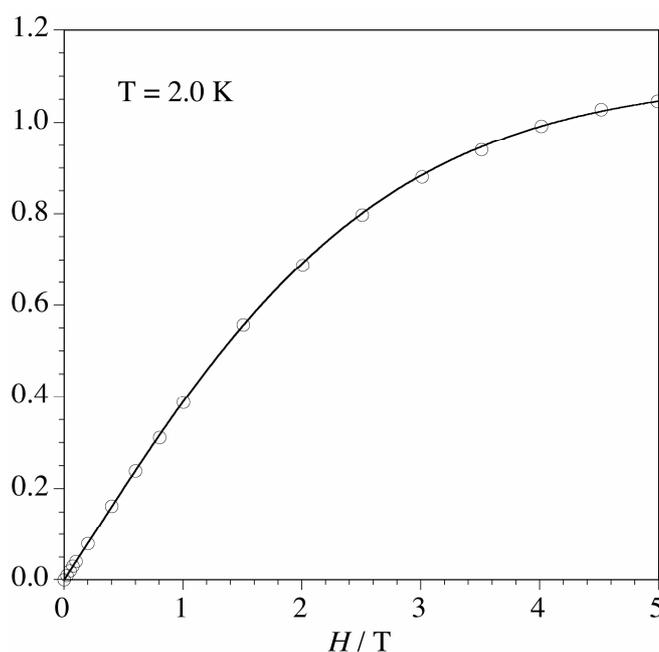


Figura 6

La banda X dello spettro EPR a $T \leq 80$ K (figura 7) è tipica di un doppietto di spin a simmetria assiale con $g_{\parallel}(2.44) > g_{\perp}(2.10) > 2.0$ e l'accoppiamento iperfine ($A_{\parallel} = 107$ G) sulla componente parallela [splitting del segnale uniforme dei quattro picchi che si alzano dall'accoppiamento iperfine con il nucleo del rame ($I = 3/2$)]. Ciò è in accordo con la presenza di un ottaedro elongato $[\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$ con una configurazione $d(x^2-y^2)$.

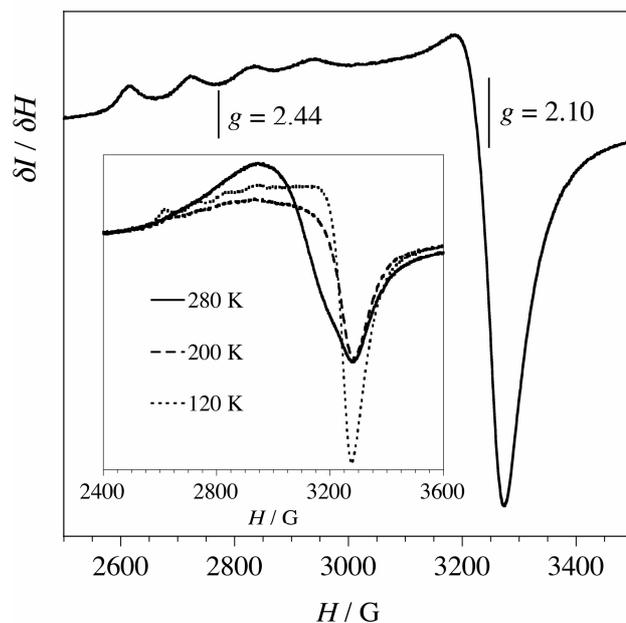


Figura 7

Questo composto apre nuove possibilità di riconoscimento e complessazione nell'ambito della chimica "host-guest", che potrebbero essere combinate con le proprietà magnetiche e strutturali intrinseche degli ioni metallici coinvolti.[12]

Tabella 11. Lunghezze di legame [Å] ed angoli [°].

Cu(1A)-O(2E)	1.938(8)	O(2E)-Cu(1A)-Cu(2A)	41.1(3)	O(3B)-Cu(2C)-Cu(1C)	121.1(3)
Cu(1A)-N(2H)	2.012(9)	N(2H)-Cu(1A)-Cu(2A)	145.9(4)	O(3H)-Cu(1D)-N(2G)	95.8(3)
Cu(1A)-O(2D)	2.053(8)	O(2D)-Cu(1A)-Cu(2A)	39.90(18)	O(3H)-Cu(1D)-O(2H)	86.0(3)
Cu(1A)-O(3E)	2.204(12)	O(3E)-Cu(1A)-Cu(2A)	118.6(3)	N(2G)-Cu(1D)-O(2H)	167.5(4)
Cu(1A)-Cu(2A)	3.002(3)	O(2D)-Cu(2A)-N(2A)	164.4(3)	O(3H)-Cu(1D)-O(2C)	160.1(4)
Cu(2A)-O(2D)	1.942(6)	O(2D)-Cu(2A)-O(2E)	80.2(3)	N(2G)-Cu(1D)-O(2C)	103.6(4)
Cu(2A)-N(2A)	1.988(9)	N(2A)-Cu(2A)-O(2E)	101.3(4)	O(2H)-Cu(1D)-O(2C)	76.1(4)
Cu(2A)-O(2E)	2.000(9)	O(2D)-Cu(2A)-O(3D)	82.0(3)	O(3H)-Cu(1D)-Cu(2D)	121.3(2)
Cu(2A)-O(3D)	2.036(11)	N(2A)-Cu(2A)-O(3D)	98.0(4)	N(2G)-Cu(1D)-Cu(2D)	142.8(3)
Cu(2A)-O(6)	2.433(9)	O(2E)-Cu(2A)-O(3D)	160.4(4)	O(2H)-Cu(1D)-Cu(2D)	38.4(3)
Cu(1B)-O(2F)	1.892(7)	O(2D)-Cu(2A)-O(6)	99.7(3)	O(2C)-Cu(1D)-Cu(2D)	39.2(2)
Cu(1B)-O(3F)	1.988(9)	N(2A)-Cu(2A)-O(6)	95.9(3)	O(2H)-Cu(2D)-O(2C)	84.1(4)
Cu(1B)-O(2A)	2.016(9)	O(2E)-Cu(2A)-O(6)	87.2(3)	O(2H)-Cu(1D)-N(2D)	99.6(5)
Cu(1B)-N(2E)	2.033(9)	O(3D)-Cu(2A)-O(6)	87.8(4)	O(2C)-Cu(2D)-N(2D)	170.4(4)
Cu(1B)-Cu(2B)	2.988(3)	O(2D)-Cu(2A)-Cu(1A)	42.7(2)	O(2H)-Cu(2D)-O(3C)	164.2(3)
Cu(2B)-O(2A)	1.958(8)	N(2A)-Cu(2A)-Cu(1A)	140.8(3)	O(2C)-Cu(2D)-O(3C)	80.1(4)
Cu(2B)-O(3A)	1.975(10)	O(2E)-Cu(2A)-Cu(1A)	39.6(3)	N(2D)-Cu(2D)-O(3C)	96.0(5)
Cu(2B)-O(2F)	1.984(8)	O(3D)-Cu(2A)-Cu(1A)	121.1(3)	O(2H)-Cu(2D)-O(12)	93.5(4)
Cu(2B)-N(2B)	2.003(9)	O(6)-Cu(2A)-Cu(1A)	84.3(2)	O(2C)-Cu(2D)-O(12)	93.5(4)
Cu(1C)-N(2F)	1.950(12)	O(2F)-Cu(1B)-O(3F)	83.6(4)	N(2D)-Cu(2D)-O(12)	95.0(4)
Cu(1C)-O(2G)	1.972(8)	O(2F)-Cu(1B)-O(2A)	79.6(3)	O(3C)-Cu(2D)-O(12)	87.1(4)
Cu(1C)-O(3G)	1.998(9)	O(3F)-Cu(1B)-O(2A)	163.2(4)	O(2H)-Cu(2D)-Cu(1D)	41.7(2)
Cu(1C)-O(2B)	2.007(9)	O(2F)-Cu(1B)-N(2E)	169.4(4)	O(2C)-Cu(2D)-Cu(1D)	44.1(3)
Cu(1C)-Cu(2C)	3.000(3)	O(3F)-Cu(1B)-N(2E)	96.1(4)	N(2D)-Cu(2D)-Cu(1D)	141.0(4)
Cu(2C)-O(2B)	1.970(8)	O(2A)-Cu(1B)-N(2E)	100.5(4)	O(3C)-Cu(2D)-Cu(1D)	122.9(2)
Cu(2C)-N(2C)	1.980(11)	O(2F)-Cu(1B)-Cu(2B)	40.7(3)	O(12)-Cu(2D)-Cu(1D)	85.4(2)
Cu(2C)-O(2G)	2.099(10)	O(3F)-Cu(1B)-Cu(2B)	122.9(3)	C(6A)-O(2A)-Cu(2B)	116.0(7)
Cu(2C)-O(3B)	2.101(12)	O(2A)-Cu(1B)-Cu(2B)	40.5(2)	C(6A)-O(2A)-Cu(1B)	131.6(7)
Cu(1D)-O(3H)	1.933(10)	N(2E)-Cu(1B)-Cu(2B)	140.9(3)	Cu(2B)-O(2A)-Cu(1B)	97.5(4)
Cu(1D)-N(2G)	1.991(8)	O(2A)-Cu(2B)-O(3A)	82.0(4)	C(7A)-O(3A)-Cu(2B)	118.7(8)
Cu(1D)-O(2H)	2.007(7)	O(2A)-Cu(2B)-O(2F)	78.8(3)	O(3W)-Cu(3)-O(4W)	95.3(9)
Cu(1D)-O(2C)	2.084(9)	O(3A)-Cu(2B)-O(2F)	160.6(4)	O(3W)-Cu(3)-O(5W)	165.5(10)
Cu(1D)-Cu(2D)	2.973(3)	O(2A)-Cu(2B)-N(2B)	167.5(4)	O(4W)-Cu(3)-O(5W)	96.6(8)
Cu(2D)-O(2H)	1.874(11)	O(3A)-Cu(2B)-N(2B)	96.0(4)	O(3W)-Cu(3)-O(2W)	95.8(7)
Cu(2D)-O(2C)	1.892(8)	O(2F)-Cu(2B)-N(2B)	103.3(4)	O(4W)-Cu(3)-O(2W)	92.7(5)
Cu(2D)-N(2D)	1.949(12)	O(2A)-Cu(2B)-Cu(1B)	42.0(3)	O(5W)-Cu(3)-O(2W)	91.9(5)
Cu(2D)-O(3C)	2.116(10)	O(3A)-Cu(2B)-Cu(1B)	122.3(3)	O(3W)-Cu(3)-O(1W)	84.1(7)
Cu(2D)-O(12)	2.416(9)	O(2F)-Cu(2B)-Cu(1B)	38.5(2)	O(4W)-Cu(3)-O(1W)	91.6(4)
Cu(3)-O(3W)	1.96(2)	N(2B)-Cu(2B)-Cu(1B)	141.7(3)	O(5W)-Cu(3)-O(1W)	87.4(5)
Cu(3)-O(4W)	2.062(15)	N(2F)-Cu(1C)-O(2G)	168.5(4)	O(2W)-Cu(3)-O(1W)	175.7(5)
Cu(3)-O(5W)	2.139(15)	N(2F)-Cu(1C)-O(3G)	98.0(4)	O(3W)-Cu(3)-O(6W)	76.9(10)
Cu(3)-O(2W)	2.247(13)	O(2G)-Cu(1C)-O(3G)	78.0(4)	O(4W)-Cu(3)-O(6W)	171.5(8)
Cu(3)-O(1W)	2.322(11)	N(2F)-Cu(1C)-O(2B)	100.8(4)	O(5W)-Cu(3)-O(6W)	91.6(9)
Cu(3)-O(6W)	2.43(3)	O(2G)-Cu(1C)-O(2B)	82.2(4)	O(2W)-Cu(3)-O(6W)	85.0(5)
S(1)-O(7)	1.448(11)	O(3G)-Cu(1C)-O(2B)	159.9(3)	O(1W)-Cu(3)-O(6W)	90.8(5)
S(1)-O(8)	1.469(10)	N(2F)-Cu(1C)-Cu(2C)	141.0(4)	O(7)-S(1)-O(8)	116.8(6)
S(1)-O(6)	1.479(10)	O(2G)-Cu(1C)-Cu(2C)	44.2(3)	O(7)-S(1)-O(6)	113.2(6)
S(1)-C(10)	1.820(13)	O(3G)-Cu(1C)-Cu(2C)	121.0(2)	O(8)-S(1)-O(6)	113.8(5)
C(10)-F(2)	1.228(15)	O(2B)-Cu(1C)-Cu(2C)	40.6(2)	O(7)-S(1)-C(10)	106.9(6)
C(10)-F(3)	1.319(15)	O(2B)-Cu(2C)-N(2C)	162.5(4)	O(8)-S(1)-C(10)	100.9(6)
C(10)-F(1)	1.355(17)	O(2B)-Cu(2C)-O(2G)	79.9(3)	O(6)-S(1)-C(10)	103.1(6)
		N(2C)-Cu(2C)-O(2G)	100.4(4)	F(2)-C(10)-F(3)	101.6(11)
O(2E)-Cu(1A)-N(2H)	165.3(4)	O(2B)-Cu(2C)-O(3B)	83.7(4)	F(2)-C(10)-F(1)	109.0(12)
O(2E)-Cu(1A)-O(2D)	79.0(3)	N(2C)-Cu(2C)-O(3B)	97.6(4)	F(3)-C(10)-F(1)	101.3(11)
N(2H)-Cu(1A)-O(2D)	106.0(5)	O(2G)-Cu(2C)-O(3B)	161.9(4)	F(2)-C(10)-S(1)	116.7(10)
O(2E)-Cu(1A)-O(3E)	79.9(4)	O(2B)-Cu(2C)-Cu(1C)	41.5(3)	F(3)-C(10)-S(1)	114.0(9)
N(2H)-Cu(1A)-O(3E)	95.5(5)	N(2C)-Cu(2C)-Cu(1C)	141.3(3)	F(1)-C(10)-S(1)	112.7(10)
O(2D)-Cu(1A)-O(3E)	158.5(3)	O(2G)-Cu(2C)-Cu(1C)	40.9(2)	S(1)-O(6)-Cu(2A)	127.9(5)

4.7. *Struttura del composto $[Cu_{12}(HCyd_{12})(CO_3)_2] \cdot 8(ClO_4) \cdot x(H_2O)$ (7).*

Alla luce dei risultati ottenuti per il composto **6**, è stato interesse di questa tesi sintetizzare nuovi sistemi ad alta nuclearità, utilizzando come strategia di sintesi di base quella di adoperare un basso rapporto metallo legante (1:1), variando il controione in modo da testare la sua influenza nella costruzione di gabbie polinucleari.

La lenta evaporazione di una soluzione contenente Citidina e $Cu(ClO_4)_2$ in acqua ha permesso di isolare un nuovo composto con struttura tipo calixarene. L'unità asimmetrica è costituita da un'unica entità polinucleare di formula $[Cu_{12}(HCyd_{12})(CO_3)_2] \cdot 8(ClO_4) \cdot x(H_2O)$ ($H_2cyd = citidina$) (figura 1).

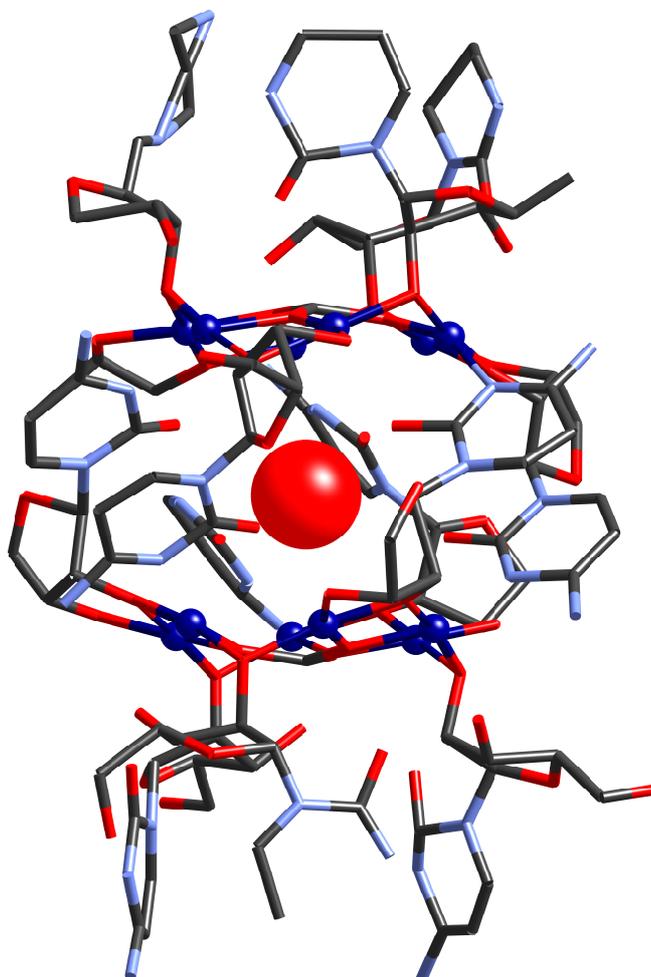


Figura 1

La struttura presenta ben dodici centri metallici coordinati a 12 molecole di citidina. Si possono distinguere 2 subunità costituite da 2 anelli a 6 membri di rame ed un anione

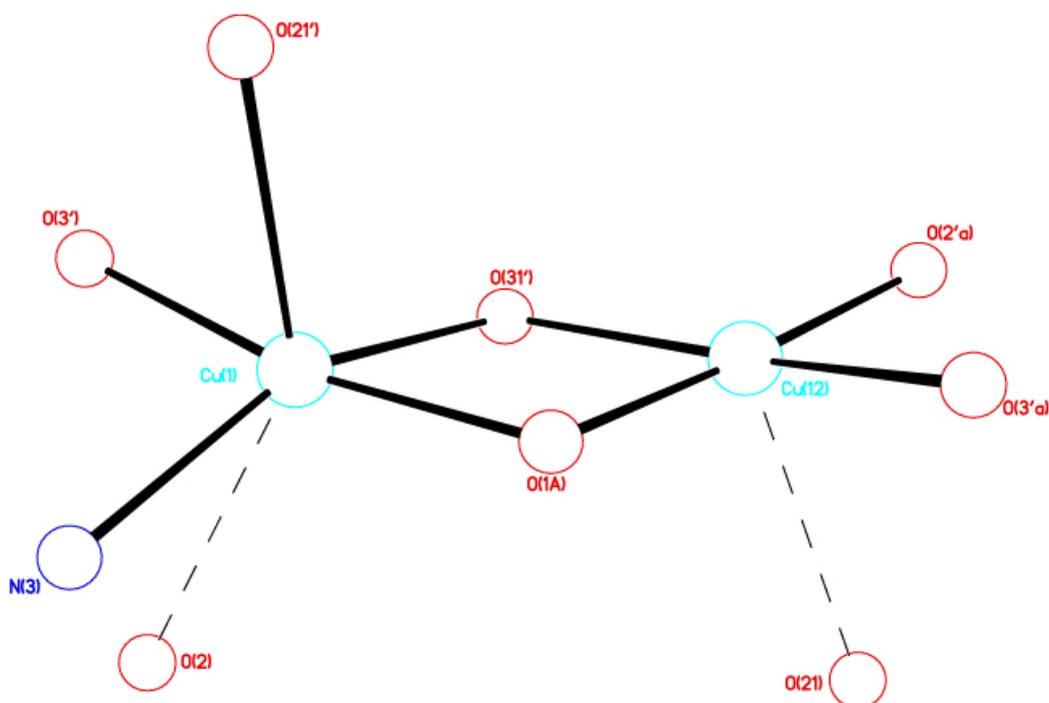
carbonato tenuti insieme da sei ioni citidinato, considerati “interni”, che si legano ai centri metallici in due modi diversi. Gli altri sei ioni citidinato, considerati “esterni”, sono invece legati solo tramite gli ossigeni del ribosio.

In ciascuna subunità si distinguono due entità dinucleari contenenti Cu(II) e doppi ponti ossigeno con centri metallici con diversa coordinazione: tre Cu^{2+} sono pentacoordinati con geometria di piramide a base quadrata [4+1] e gli altri tre sono esacoordinati con geometria di ottaedro distorto per elongazione [4+2].

Gli atomi di rame pentacoordinati legano, nelle posizioni equatoriali, 2 atomi di ossigeno degli zuccheri delle citidine “interne”, O(2'a) ed O(3'a), un ossigeno dello zucchero delle citidine “esterne”, O(31'), l'ossigeno O(1A) del CO_3^{2-} , e nella posizione apicale legano l'ossigeno carbonilico O(21) dell'anello pirimidinico di una citidina “interna”.

L'esacoordinazione, invece vede, nel piano equatoriale, un ossigeno del ribosio di una citidina “esterna” O(31'), l'ossigeno di uno zucchero di una citidina “interna” O(3'), l'ossigeno del carbonato, ed infine l'azoto N(3) della base pirimidinica, mentre, le posizioni apicali, sono occupate dall'ossigeno carbonilico O(2) e dall'ossigeno di uno zucchero di una citidina “esterna” O(21'). (Le distanze e gli angoli di legame selezionati intorno ai centri metallici sono riportate in tabella 12).

Una descrizione visiva dei legami è data nello schema 1.



Schema 1

Ciascun ossigeno carbonilico lega a ponte due ioni Cu^{2+} .

È notevole sottolineare, inoltre, che la modalità di legame della citidina, solo attraverso lo zucchero, viene vista allo stato solido per la prima volta in questo complesso.

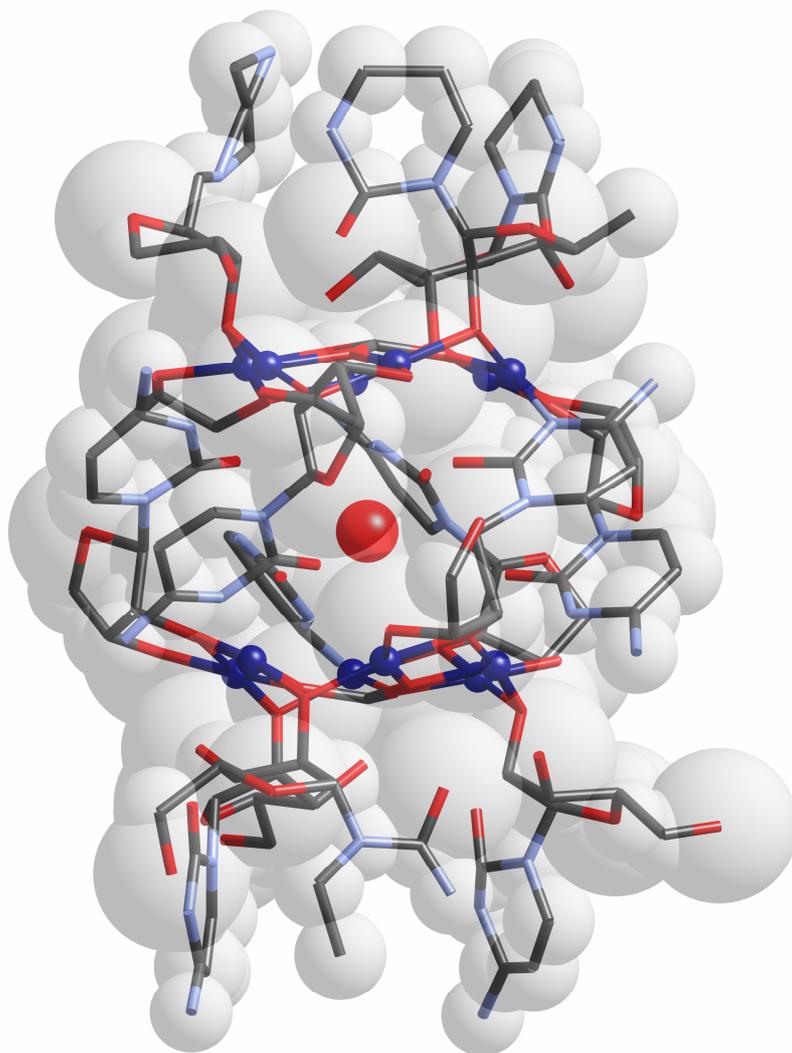


Figura 2

È ragionevole supporre che la coordinazione del CO_3^{2-} sia la “driving force” che inizia il “self-assembling” delle due subunità per mezzo delle Hcyd.

Le molecole di carbonato si legano con coordinazione μ_6 : i sei atomi di rame legano a ponte gli ossigeni delle molecole di carbonato, che vanno a chiudere le porzioni apicali della gabbia, così che la struttura che si viene a formare ricorda un pallone da rugby.

È notevole sottolineare che non era presente carbonato nella reazione di partenza e che quindi è stata incorporata CO_2 atmosferica nella struttura. La necessità di formare carbonato può spiegare i lunghi tempi di cristallizzazione di questo composto e la sua bassa resa.

La cavità centrale dell'aggregato polinucleare è sufficientemente larga per poter accogliere molecole di acqua.

Sono inoltre presenti, nell'unità asimmetrica, anioni perclorato non-coordinati e molecole di acqua di cristallizzazione in numero non ancora ben definito.

Non è ancora chiaro quale sia il contenuto di acqua, ma da analisi del volume si evince che l'area accessibile per il solvente potrebbe rappresentare il 43% del volume della cella.

Dal momento che la struttura non è stata risolta in maniera accurata non è stato possibile determinare la chiralità dei centri metallici, tuttavia da dati di letteratura sembrerebbe necessario che tutti e dodici i centri metallici debbano trovarsi nella stessa configurazione ottica. Infatti, se la configurazione ottica di uno dei centri metallici venisse invertita, i ligandi non si posizionerebbero più nello stesso modo e non sarebbe possibile chiudere la gabbia.[15] Una conseguenza di ciò è l'associazione alternata dei ligandi e dei centri metallici.

Le interazioni di stacking che si vengono così a formare tra gli anelli pirimidinici giocano un ruolo significativo nella stabilizzazione della struttura (figura 3).

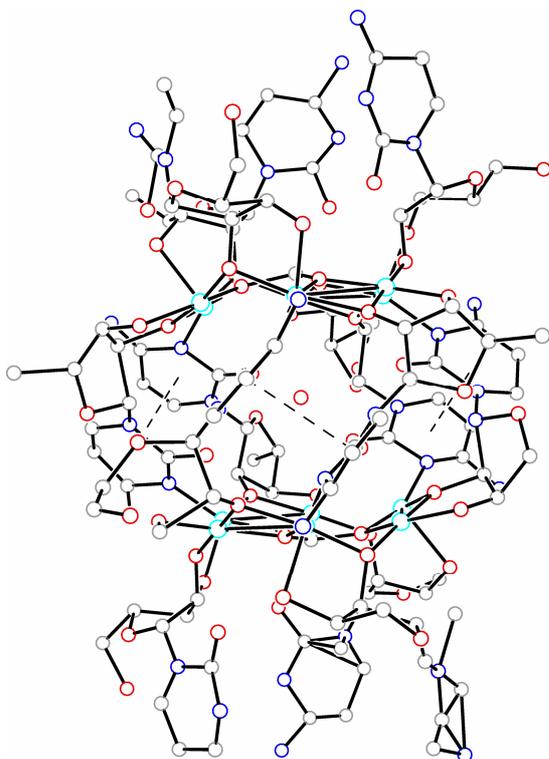


Figura 3

Le molecole di citidina che occupano le posizioni apicali della struttura presentano siti di coordinazione liberi. Essendo a conoscenza delle capacità della citidina di occupare tutti i suoi siti di coordinazione possiamo ben supporre che questa molecola potrebbe essere ulteriormente funzionalizzata.

La struttura di questo composto è comunque ancora in fase di studio. Si cercherà di ottenere una più accurata definizione del numero di molecole di solvente e verranno effettuate analisi del magnetismo della struttura che prevedibilmente contiene centri metallici fortemente accoppiati, come nel caso del composto **6**.

L'interesse nei confronti di questi aggregati polinucleari non riguarda solo la chimica di coordinazione, ma anche l'ingegneria biochimica per i potenziali sviluppi nel campo dei sistemi biomimetici per la loro capacità di legare, attivare e trasformare a livello catalitico substrati specifici.

Tabella 12. Lunghezze di legame [Å] ed angoli [°].

Cu(1)-O(13)	1.91(2)	O(13)-Cu(1)-Cu(12)	35.3(7)	O(1)-Cu(7)-O(6)	81.2(9)
Cu(1)-O(31)	1.969(18)	O(31)-Cu(1)-Cu(12)	136.2(6)	O(24)-Cu(7)-O(6)	170.2(7)
Cu(1)-N(45)	2.01(3)	N(45)-Cu(1)-Cu(12)	135.3(9)	O(1)-Cu(7)-N(101)	153.3(13)
Cu(1)-O(4)	2.02(3)	O(4)-Cu(1)-Cu(12)	40.9(5)	O(24)-Cu(7)-N(101)	82.5(9)
Cu(1)-O(25)	2.32(2)	O(25)-Cu(1)-Cu(12)	97.3(7)	O(6)-Cu(7)-N(101)	103.7(9)
Cu(1)-Cu(12)	3.006(6)	O(31)-Cu(2)-O(50)	94.3(10)	O(1)-Cu(7)-O(60)	103.2(9)
Cu(2)-O(31)	1.880(17)	O(31)-Cu(2)-O(20)	176.2(9)	O(24)-Cu(7)-O(60)	77.5(8)
Cu(2)-O(50)	1.91(3)	O(50)-Cu(2)-O(20)	83.1(12)	O(6)-Cu(7)-O(60)	93.6(8)
Cu(2)-O(20)	1.94(2)	O(31)-Cu(2)-O(11)	104.0(9)	N(101)-Cu(7)-O(60)	102.7(11)
Cu(2)-O(11)	1.97(2)	O(50)-Cu(2)-O(11)	160.8(10)	O(1)-Cu(7)-Cu(6)	42.9(7)
Cu(2)-Cu(4)	2.983(5)	O(20)-Cu(2)-O(11)	78.3(10)	O(24)-Cu(7)-Cu(6)	137.5(5)
Cu(3)-O(21)	1.973(17)	O(31)-Cu(3)-O(4)	142.9(6)	O(6)-Cu(7)-Cu(6)	38.6(6)
Cu(3)-O(28)	1.995(19)	O(50)-Cu(2)-Cu(4)	120.6(8)	N(101)-Cu(7)-Cu(6)	138.8(7)
Cu(3)-N(21)	2.01(3)	O(20)-Cu(2)-Cu(4)	38.8(8)	O(60)-Cu(7)-Cu(6)	96.9(5)
Cu(3)-O(19)	2.03(2)	O(11)-Cu(2)-Cu(4)	40.2(6)	O(28)-Cu(8)-O(72)	81.8(9)
Cu(3)-O(10)	2.363(19)	O(21)-Cu(3)-O(28)	170.4(7)	O(28)-Cu(8)-O(19)	83.2(9)
Cu(3)-Cu(8)	2.968(5)	O(21)-Cu(3)-N(21)	87.5(11)	O(72)-Cu(8)-O(19)	164.6(10)
Cu(4)-O(20)	1.91(3)	O(28)-Cu(3)-N(21)	100.0(11)	O(28)-Cu(8)-O(12)	177.7(9)
Cu(4)-O(16)	1.95(2)	O(21)-Cu(3)-O(19)	101.0(8)	O(72)-Cu(8)-O(12)	96.5(9)
Cu(4)-O(11)	1.95(2)	O(28)-Cu(3)-O(19)	75.3(8)	O(19)-Cu(8)-O(12)	98.4(9)
Cu(4)-N(40)	2.01(4)	N(21)-Cu(3)-O(19)	151.1(12)	O(28)-Cu(8)-Cu(3)	41.1(6)
Cu(4)-O(7)	2.257(19)	O(21)-Cu(3)-O(10)	79.5(8)	O(72)-Cu(8)-Cu(3)	122.0(7)
Cu(5)-O(12)	1.853(17)	O(28)-Cu(3)-O(10)	92.6(9)	O(19)-Cu(8)-Cu(3)	42.6(7)
Cu(5)-N(3)	1.95(2)	N(21)-Cu(3)-O(10)	105.9(12)	O(12)-Cu(8)-Cu(3)	140.2(6)
Cu(5)-O(30)	1.985(19)	O(19)-Cu(3)-O(10)	102.8(8)	O(17)-Cu(9)-O(24)	176.4(9)
Cu(5)-O(17)	2.01(2)	O(21)-Cu(3)-Cu(8)	137.8(5)	O(17)-Cu(9)-O(30)	83.2(9)
Cu(5)-O(9)	2.314(18)	O(28)-Cu(3)-Cu(8)	36.8(6)	O(24)-Cu(9)-O(30)	99.8(7)
Cu(5)-Cu(9)	2.960(5)	N(21)-Cu(3)-Cu(8)	133.5(10)	O(17)-Cu(9)-O(42)	80.2(11)
Cu(6)-O(6)	1.877(19)	O(19)-Cu(3)-Cu(8)	38.9(6)	O(24)-Cu(9)-O(42)	96.5(10)
Cu(6)-O(21)	1.914(17)	O(10)-Cu(3)-Cu(8)	95.0(6)	O(30)-Cu(9)-O(42)	162.0(11)
Cu(6)-O(1)	2.04(2)	O(20)-Cu(4)-O(16)	171.9(9)	O(17)-Cu(9)-Cu(5)	42.3(7)
Cu(6)-O(27)	2.07(2)	O(20)-Cu(4)-O(11)	79.7(10)	O(24)-Cu(9)-Cu(5)	140.4(5)
Cu(6)-Cu(7)	2.968(5)	O(16)-Cu(4)-O(11)	98.1(8)	O(30)-Cu(9)-Cu(5)	41.8(6)
Cu(7)-O(1)	1.88(2)	O(20)-Cu(4)-N(40)	100.2(11)	O(42)-Cu(9)-Cu(5)	120.6(9)
Cu(7)-O(24)	1.939(17)	O(16)-Cu(4)-N(40)	84.9(11)	O(23)-Cu(10)-O(18)	96.0(10)
Cu(7)-O(6)	2.02(2)	O(11)-Cu(4)-N(40)	157.5(12)	O(23)-Cu(10)-O(2)	172.8(9)
Cu(7)-N(101)	2.04(2)	O(20)-Cu(4)-O(7)	92.3(8)	O(18)-Cu(10)-O(2)	80.7(9)
Cu(7)-O(60)	2.31(2)	O(16)-Cu(4)-O(7)	80.4(8)	O(23)-Cu(10)-N(50)	95.9(12)
Cu(8)-O(28)	1.818(19)	O(11)-Cu(4)-O(7)	101.5(8)	O(18)-Cu(10)-N(50)	151.1(16)
Cu(8)-O(72)	1.90(2)	N(40)-Cu(4)-O(7)	101.0(11)	O(2)-Cu(10)-N(50)	90.0(13)
Cu(8)-O(19)	1.89(2)	O(20)-Cu(4)-Cu(2)	39.5(7)	O(23)-Cu(10)-O(5)	81.5(14)
Cu(8)-O(12)	1.918(17)	O(16)-Cu(4)-Cu(2)	136.6(6)	O(18)-Cu(10)-O(5)	110.0(9)
Cu(9)-O(17)	1.92(2)	O(11)-Cu(4)-Cu(2)	40.8(6)	O(2)-Cu(10)-O(5)	93.6(13)
Cu(9)-O(24)	1.927(17)	N(40)-Cu(4)-Cu(2)	138.2(9)	N(50)-Cu(10)-O(5)	97.8(17)
Cu(9)-O(30)	1.971(18)	O(7)-Cu(4)-Cu(2)	93.2(5)	O(23)-Cu(10)-Cu(11)	134.0(7)
Cu(9)-O(42)	2.02(3)	O(12)-Cu(5)-N(3)	91.1(9)	O(18)-Cu(10)-Cu(11)	41.3(7)
Cu(10)-O(23)	1.93(3)	O(12)-Cu(5)-O(30)	94.3(8)	O(2)-Cu(10)-Cu(11)	41.1(7)
Cu(10)-O(18)	2.03(2)	N(3)-Cu(5)-O(30)	154.5(11)	N(50)-Cu(10)-Cu(11)	129.6(10)
Cu(10)-O(2)	2.05(3)	O(12)-Cu(5)-O(17)	171.6(8)	O(5)-Cu(10)-Cu(11)	96.7(8)
Cu(10)-N(50)	2.14(4)	N(3)-Cu(5)-O(17)	96.4(9)	O(33)-Cu(11)-O(16)	97.0(11)
Cu(10)-O(5)	2.37(3)	O(30)-Cu(5)-O(17)	80.6(8)	O(33)-Cu(11)-O(2)	78.1(13)
Cu(10)-Cu(11)	2.946(6)	O(12)-Cu(5)-O(9)	81.1(8)	O(16)-Cu(11)-O(2)	175.0(11)
Cu(11)-O(33)	1.87(3)	N(3)-Cu(5)-O(9)	100.3(11)	O(33)-Cu(11)-O(18)	162.2(12)
Cu(11)-O(16)	1.93(2)	O(30)-Cu(5)-O(9)	105.2(6)	O(16)-Cu(11)-O(18)	99.2(10)
Cu(11)-O(2)	1.94(2)	O(17)-Cu(5)-O(9)	93.7(8)	O(2)-Cu(11)-O(18)	85.5(11)
Cu(11)-O(18)	1.95(2)	O(12)-Cu(5)-Cu(9)	133.6(6)	O(33)-Cu(11)-Cu(10)	119.0(9)
Cu(12)-O(13)	1.82(3)	N(3)-Cu(5)-Cu(9)	134.3(7)	O(16)-Cu(11)-Cu(10)	140.3(7)
Cu(12)-O(23)	1.90(3)	O(30)-Cu(5)-Cu(9)	41.4(5)	O(2)-Cu(11)-Cu(10)	43.9(9)
Cu(12)-O(4)	1.984(19)	O(17)-Cu(5)-Cu(9)	40.0(6)	O(18)-Cu(11)-Cu(10)	43.4(7)
Cu(12)-O(22)	2.02(3)	O(9)-Cu(5)-Cu(9)	96.3(4)	O(13)-Cu(12)-O(23)	177.1(10)
		O(6)-Cu(6)-O(21)	171.1(9)	O(13)-Cu(12)-O(4)	78.7(10)
O(13)-Cu(1)-O(31)	169.2(9)	O(6)-Cu(6)-O(1)	80.8(9)	O(23)-Cu(12)-O(4)	100.4(9)
O(13)-Cu(1)-N(45)	102.6(11)	O(21)-Cu(6)-O(1)	104.8(9)	O(13)-Cu(12)-O(22)	85.6(13)
O(31)-Cu(1)-N(45)	87.4(11)	O(6)-Cu(6)-O(27)	81.7(10)	O(23)-Cu(12)-O(22)	94.7(13)
O(13)-Cu(1)-O(4)	75.7(9)	O(21)-Cu(6)-O(27)	92.3(9)	O(4)-Cu(12)-O(22)	161.8(15)
O(31)-Cu(1)-O(4)	97.1(8)	O(1)-Cu(6)-O(27)	162.3(10)	O(13)-Cu(12)-Cu(1)	37.4(7)
N(45)-Cu(1)-O(4)	154.0(12)	O(6)-Cu(6)-Cu(7)	42.2(7)	O(23)-Cu(12)-Cu(1)	141.3(6)
O(13)-Cu(1)-O(25)	94.0(9)	O(21)-Cu(6)-Cu(7)	142.1(5)	O(4)-Cu(12)-Cu(1)	41.7(7)
O(31)-Cu(1)-O(25)	79.9(8)	O(1)-Cu(6)-Cu(7)	38.9(6)	O(22)-Cu(12)-Cu(1)	121.3(12)
N(45)-Cu(1)-O(25)	100.9(11)	O(27)-Cu(6)-Cu(7)	123.4(7)		
O(4)-Cu(1)-O(25)	105.0(11)	O(1)-Cu(7)-O(24)	96.7(8)		

4.8. Struttura del composto $[Co(2'-doxycyd_2Cl_2)]$ (**8**).

Il composto **8** ha una struttura monomerica in cui l'atomo di cobalto centrale è legato a due anioni cloruro e due molecole di 2'deossicitidina tramite l'atomo di azoto in posizione 3 (figura 1).

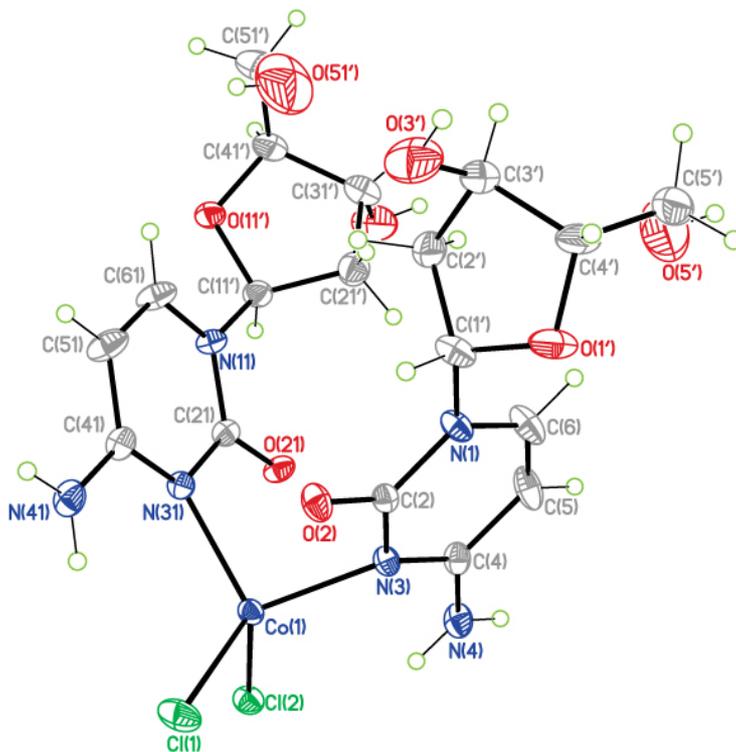


Figura 1

La coordinazione intorno all'atomo di Co è tetraedrica con angoli che assumono valori vicini a quelli attesi: $N(31)-Co(1)-N(3) = 99.0(2)^\circ$; $N(31)-Co(1)-Cl(1) = 111.45(15)^\circ$; $N(3)-Co(1)-Cl(1) = 118.22(16)^\circ$; $N(31)-Co(1)-Cl(2) = 116.72(15)^\circ$; $N(3)-Co(1)-Cl(2) = 110.94(15)^\circ$; $Cl(1)-Co(1)-Cl(2) = 101.35(7)^\circ$.

L'anello pirimidinico è planare ed il suo orientamento relativo rispetto a quello del ribosio corrisponde ad una configurazione *anti* del nucleoside. La stessa conformazione è stata osservata nella struttura della citidina da sola e nella struttura dei complessi di citidina conosciuti in letteratura. [5, 13, 14]

Gli angoli all'interno dell'anello di deossiribosio sono vicini a valori tetraedrici. Lo zucchero mostra il piegamento $C(3')-exo$ e la conformazione del legame $C(4')-C(5')$ è *gauche-gauche*.

La presenza di legami a ponte idrogeno, che coinvolgono gli atomi di cloro, gli idrogeni e gli ossigeni dello zucchero, porta alla formazione di una catena (figura 2).

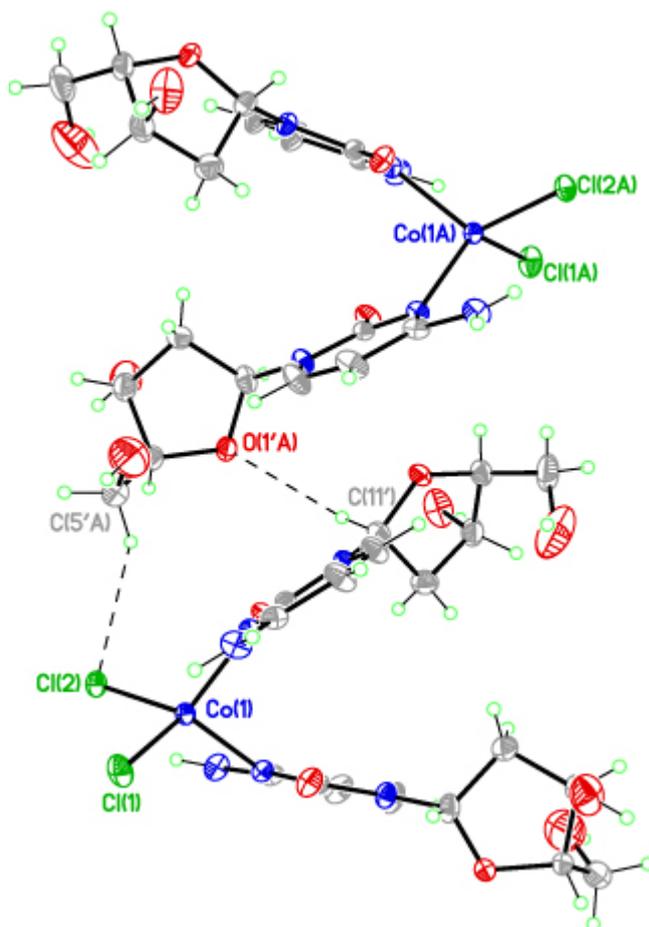


Figura 2

Nella figura 2 interagiscono gli atomi Cl(2)---H(5'E) che formano un legame a idrogeno debole lungo 2.897 Å.

Il legame O(1'A)---H(11'A) è invece di 2.647 Å.

I legami che coinvolgono gli ossigeni e i gruppi iminici della base contribuiscono, inoltre, alla formazione dell'edificio cristallino (figura 3).

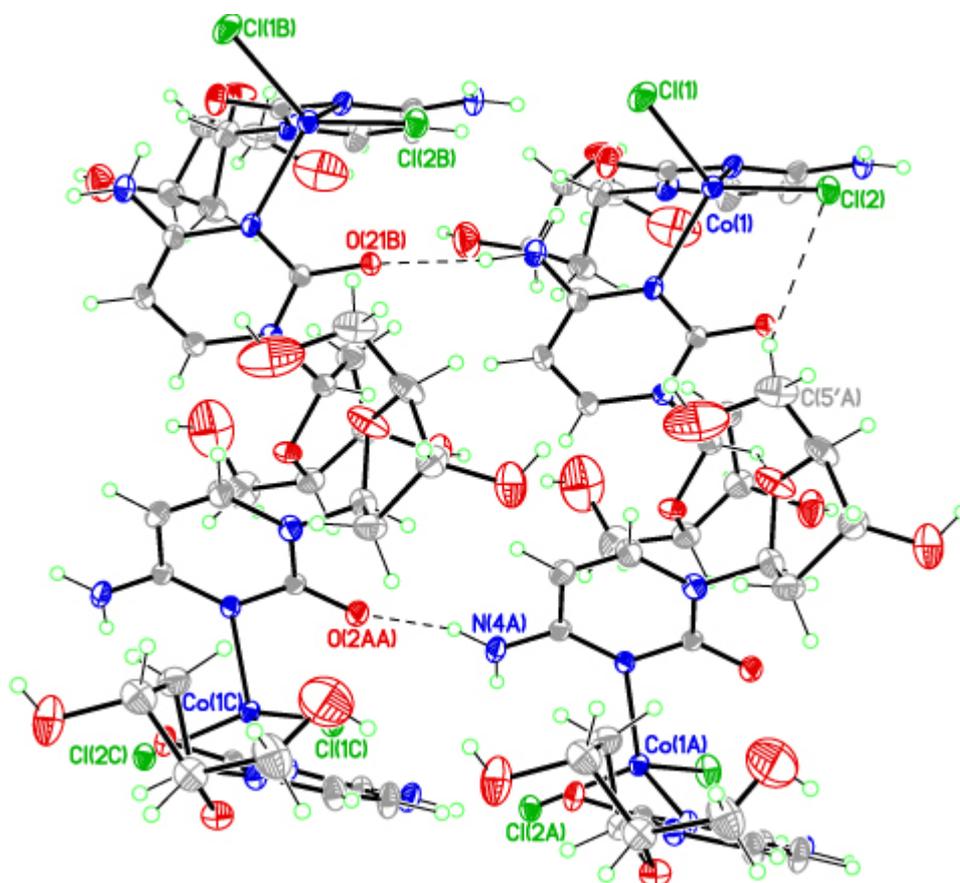


Figura 3

I legami O(21B)---H(41B) ed O(2AA)---H(4BA) sono, rispettivamente, di 2.140 e 2.087 Å.

Tabella 13. Lunghezze di legame [Å] ed angoli [°].

Co(1)-N(31)	2.054(5)	Cl(1)-Co(1)-Cl(2)	101.35(7)
Co(1)-N(3)	2.059(5)	C(6)-N(1)-C(2)	121.3(6)
Co(1)-Cl(1)	2.2783(17)	C(6)-N(1)-C(1')	119.8(6)
Co(1)-Cl(2)	2.2835(17)	C(2)-N(1)-C(1')	118.9(6)
N(1)-C(6)	1.358(10)	O(2)-C(2)-N(3)	119.8(5)
N(1)-C(2)	1.395(8)	O(2)-C(2)-N(1)	121.2(6)
N(1)-C(1')	1.470(10)	N(3)-C(2)-N(1)	119.0(5)
C(2)-O(2)	1.238(8)	C(4)-N(3)-C(2)	120.6(5)
C(2)-N(3)	1.354(8)	C(4)-N(3)-Co(1)	128.0(4)
N(3)-C(4)	1.352(8)	C(2)-N(3)-Co(1)	107.8(4)
C(4)-N(4)	1.349(10)	N(4)-C(4)-N(3)	119.2(6)
C(4)-C(5)	1.438(11)	N(4)-C(4)-C(5)	122.1(6)
C(5)-C(6)	1.318(13)	N(3)-C(4)-C(5)	118.7(7)
C(1')-O(1')	1.391(10)	C(6)-C(5)-C(4)	120.6(7)
C(1')-C(2')	1.516(11)	C(5)-C(6)-N(1)	119.6(7)
O(1')-C(4')	1.444(8)	O(1')-C(1')-N(1)	109.5(7)
C(2')-C(3')	1.569(12)	O(1')-C(1')-C(2')	105.9(6)
C(3')-O(3')	1.370(11)	N(1)-C(1')-C(2')	114.4(7)
C(3')-C(4')	1.538(12)	C(1')-O(1')-C(4')	111.7(6)
C(4')-C(5')	1.476(15)	C(1')-C(2')-C(3')	101.6(7)
C(5')-O(5')	1.473(19)	O(3')-C(3')-C(4')	111.9(8)
		O(3')-C(3')-C(2')	110.7(8)
N(31)-Co(1)-N(3)	99.0(2)	C(4')-C(3')-C(2')	101.1(6)
N(31)-Co(1)-Cl(1)	111.45(15)	O(1')-C(4')-C(5')	111.7(8)
N(3)-Co(1)-Cl(1)	118.22(16)	O(1')-C(4')-C(3')	106.0(6)
N(31)-Co(1)-Cl(2)	116.72(15)	C(5')-C(4')-C(3')	115.6(7)
N(3)-Co(1)-Cl(2)	110.94(15)	O(5')-C(5')-C(4')	111.9(9)

Tabella 14. Legami a idrogeno [Å e °].

D-H...A	d(D-H)	d(H...A)	d(D...A)	<(DHA)
N(4)-H(4B)...O(2)#1	0.86	2.08	2.889(8)	155.0
N(41)-H(41B)...O(21)#2	0.86	2.14	2.950(8)	156.9
C(11'A)-H(11'A)...O(1'A)#2	0.98	2.64	3.325(18)	126.6
C(5'A)-H(5'E)...O(31')#2	0.97	2.89	3.775(4)	145.2

Operazione di simmetria adoperata per generare gli atomi equivalenti: #1 x-1, y, z; #2 x+1, y, z

RIFERIMENTI:

- [1] SK Chattopadhyay, D. Chattopadhyay, T. Banerjee, R. Kuroda, S. Ghosh, *Polyhedron* **16** (1997) 1925.
- [2] M. Mathew, GJ Palenik, *J. Am. Chem. Soc.* **91** (1969) 6310.
- [3] DX West, IS Billeh, GA Bain, J Valdés-Martinez, KH Ebert, S. Hernández-ortega, *Trans. Metal Chem.*, **21** (1996) 572.
- [4] C Maichle, A. Castineiras, R. Carballo, DX West, H. Gebremedhin, MA Lockwood, CE Ooms, TJ Romack, *Trans. Met. Chem.* **20** (1995) 228.
- [5] DJ Szalda, TJ Kistenmacher, *Acta Cryst.*, **B33** (1977) 865.
- [6] YYH Chao, DR Kearns, *J. Am Chem. Soc.*, **99** (1977) 6425.
- [7] SJ Angus-Dunne, RJ Batchelor, AS Tracey, FWB Einstein, *J. Am Chem. Soc.*, **117** (1995) 5292.
- [8] P Kufilers, P Mayer, *Z Anorg. Allg. Chem.*, **623** (1997) 1496.
- [9] J Galy, A Mosset, I Grenthe, I Puighdomenech, B Sjoberg, F Hulten, *J. Am Chem. Soc.*, **109** (1987) 380.
- [10] JAR Navarro, E Freisinger, B Lippert, *Inorg. Chem.*, **39** (2000) 2301.
- [11] E ruiz, P Alemany, S Alvarez, J Cano, *J. Am Chem. Soc.*, **119** (1997) 1297.
- [12] **D Armentano, TF Mastropietro, M Julve, R Rossi, P Rossi, G De Munno, submitted to JACS.**
- [13] DJ Szalda, TJ Kistenmacher, LG Marzilli, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **63** (1975) 601.
- [14] R Melanson, FD Rochon, *Inorg. Chem.*, **17** (1978) 679.
- [15] SP Argent, H. Adams, T Riis-Johannessen, JC Jeffery, LP Harding, O Mamula, MD Ward, *Inorg. Chem.*, **45**, (2006) 3905.

CONCLUSIONI I

Le ricerche dell'ultimo decennio nel campo della biologia molecolare e della farmacologia hanno segnato l'inizio di una nuova era nella terapia dei tumori contribuendo alla nascita di strategie terapeutiche mirate e dirette contro nuovi targets molecolari. Importanti informazioni si stanno acquisendo ad esempio sul processo metastatico, che coinvolge un'intricata rete di interazioni tra l'adesione cellulare, la proteolisi, la migrazione e l'angiogenesi. Sono stati quindi intrapresi numerosi studi sulla modificazione della capacità adesiva delle cellule tumorali, dal momento che un aumento di questa proprietà può modificare significativamente l'abilità metastatica delle cellule tumorali.

L'identificazione di target molecolari tumore-specifici sta generando un considerevole entusiasmo verso nuovi farmaci generalmente caratterizzati da effetti tossici ridotti rispetto ai chemioterapici convenzionali. I risultati clinici sono incoraggianti soprattutto nei tumori con singole e caratterizzanti anomalie genomiche (Imatinib in CML e GIST).

Nella maggior parte dei casi, tuttavia, la natura multifattoriale della malattia tumorale continuerà a richiedere un approccio terapeutico basato sull'uso di combinazioni di farmaci, che prevedono l'associazione tra le più recenti molecole in fase di sviluppo e i farmaci tradizionali, o quelli derivati dalla ricerca su base meccanicistica di analoghi di farmaci tradizionali.

Semi- e tiosemi-carbazoni sono composti che mostrano un'alta versatilità farmacologica. Una delle caratteristiche che può spiegare questo alto grado di versatilità è la loro abilità di agire come chelanti coordinando i metalli che costituiscono alcuni enzimi cellulari.

Da questa coordinazione si ottiene una inattivazione di questi ultimi, una modulazione del loro carattere lipofilo o addirittura una modificazione della loro risposta ai substrati specifici. Inoltre, i gruppi tiolici dei tiosemicarbazoni possono essere coinvolti nelle reazioni redox dell'organismo.

Nel corso di questo lavoro di tesi sono stati sintetizzati e caratterizzati strutturalmente nuovi composti contenenti ioni quali Cu(II), Ni(II) e Co(III) e Formilpiridina-4fenil-tiosemicarbazone, al fine di produrre nuovi farmaci non-cisplatino simili con attività antitumorale.

I composti di Ni(II) e Co(III) presentano una coordinazione ottaedrica distorta, tipica dei composti analoghi presenti in letteratura, lo stesso vale per il composto di Cu(II) che presenta una pentacoordinazione [4+1] di piramide a base quadrata. Effettuando un confronto strutturale con questi composti è possibile formulare le seguenti ipotesi:

- 1) I composti di Ni(II), ottaedrici, saranno attivi come antibatterici ma non come antitumorali, dal momento che i composti antitumorali visti fino ad ora hanno tutti una tetraordinazione.
- 2) Il composto di Co(III) avrà, molto probabilmente, attività antitumorale.
- 3) Il composto di Cu(II) avrà sia attività antitumorale sia antibatterica, come i composti strutturalmente analoghi in letteratura già testati in vitro.

Sarà sicuramente necessario effettuare dei test in vitro per saggiare le capacità antitumorali ed antibatteriche di questi composti.

Tutte queste osservazioni saranno meglio interpretate quando sarà determinato il meccanismo d'azione di queste molecole, o quando sarà almeno chiaro quali siano i targets cellulari su cui essi esercitano la loro azione diretta o indiretta: pathways enzimatici, proteine strutturali, fattori di trascrizione o fattori che controllano l'espressione genica. Queste conoscenze potranno quindi essere adoperate, in futuro, per il design di un nuovo tipo di farmaci a base metallica con attività antitumorale ed antimicrobica specifica.

CONCLUSIONI II

Nella seconda sezione di questo lavoro, sono stati sintetizzati e caratterizzati strutturalmente composti ad alta nuclearità calixarene-simili.

Il nome calixareni è stato introdotto da C. David Gutsche per la somiglianza con un calice greco (calix crater). I calixareni classici sono una classe di macrocicli ottenuti dalla condensazione con formaldeide di fenoli sostituiti in para; hanno una forma a toro simile a quella delle ciclodestrine. Sono membri della classe dei ciclofani (anelli aromatici a ponte) e quelli più accessibili contengono un numero n uguale a 4, a 6 o a 8 di unità aromatiche. Calixareni con un valore di n dispari, o maggiore di 8, sono ottenuti in modeste rese e difficili da isolare.

Al giorno d'oggi la chimica supramolecolare rappresenta uno dei campi della ricerca più attivi e in espansione. Il suo carattere interdisciplinare ha portato ad ampie collaborazioni tra fisici, chimici teorici e computazionali, cristallografi, chimici inorganici e dello stato solido, chimici organici sintetisti, biochimici e biologi.

La linea costruttiva di molti sistemi supramolecolari è basata su principi di "self-assembly", nell'ambito delle linee guida di quella che è definita la "crystal engineering". Oltre a sistemi a base organica che possiamo considerare al giorno d'oggi tradizionali, da una decina di anni si è sviluppata un' area in vivace espansione che possiamo qualificare come chimica supramolecolare inorganica o di coordinazione. Questa mira alla preparazione ed all'utilizzo di architetture finite o di reticoli infiniti basati sulle proprietà coordinative di centri metallici. Sistemi complessi quali macrocicli, gabbie e poliedri contenenti nodi di coordinazione si stanno sviluppando sempre più numerosi. I nodi metallici hanno diverse funzioni: da un lato consentono di utilizzare le nozioni sviluppate in chimica di coordinazione per orientare le strutture e le topologie delle supramolecole e dei networks, dall'altro introducono in tali sistemi proprietà legate alle caratteristiche elettroniche e magnetiche dei metalli impiegati. La costruzione di nuovi materiali host di tipo zeolite - mimetico, con nodi metallici e leganti organici come spaziatori (definiti MOF o Metal-Organic Frameworks), apre lo spazio ad una ricca varietà di potenziali applicazioni.

Nella sua forma più semplice, la chimica supramolecolare considera sistemi in cui si verifica una interazione non covalente o una forma di complessazione tra una molecola (un

“host”) che si lega ad una seconda molecola (un “guest”) a dare un complesso “host-guest” ossia una *supramolecola*. Comunemente l’host è una grossa molecola o un aggregato (come un enzima o una molecola ciclica sintetica) che presenta una grossa cavità centrale. Il guest può essere un catione monoatomico, un semplice anione inorganico o una molecola più sofisticata (come un ormone, un neurotrasmettitore, ecc.). Si usa anche definire l’host come una entità molecolare che possiede siti di legame convergenti (atomi donatori basici di Lewis, donatori nel legame di idrogeno, ecc.) mentre il guest possiede siti di legame divergenti (come un catione metallico sferico, che funziona da acido di Lewis, o un anione alogenuro, un accettore di legame di idrogeno).

Una distinzione che viene usata nella chimica host-guest supramolecolare è legata alla stabilità o meno del complesso in soluzione (quando è possibile). Il campo dei clatrati o più in generale dei composti di inclusione contiene specie host che sono stabili solo allo stato solido cristallino, mentre dissociano per solubilizzazione in un solvente (clatrati idrati, clatrati dell’urea, vari solvati cristallini). D’altro canto host molecolari per i cationi, come gli eteri a corona (crown ethers), i criptandi e gli sferandi, o host molecolari per molecole neutre, come i carcerandi e i criptofani, presentano legami significativamente stabili sia allo stato solido che in soluzione.

Un carcerando è definito come una gabbia chiusa o capsula molecolare che non presenta finestre di dimensioni significative attraverso cui molecole ospiti possano entrare o uscire. Le specie ospiti in un carcerando sono quindi intrappolate o incarcerate in modo permanente nel volume interno, a meno di non rompere le sbarre (legami covalenti) della prigione. Il complesso host-guest è definito in inglese un carceplex. Sulla base di questa definizione possiamo introdurre un altro termine, quello di semicarcerando, vale a dire un container molecolare da cui una specie ospite può entrare o uscire solo superando una barriera di attivazione misurabile (il complesso è detto in inglese hemicarceplexes). L’interesse principale per tali specie tridimensionali nasce dalla possibilità di stabilizzare specie reattive e di condurre una catalisi intracavità nella cavità host di semicarcerandi. I carcerandi non si prestano a ciò ma si possono intuire applicazioni in aree come l’elettronica molecolare ed i “devices” molecolari.

I composti sintetizzati ed analizzati a livello molecolare in questo lavoro di tesi sono un primo passo verso lo sviluppo di nuovi sistemi “host-guest” in cui l’host non è costituito da ligandi sintetici, come visto fino ad ora in letteratura, ma da componenti cellulari naturali.

Il composto $[\text{Cu}_8(\text{HCyd})_8(\text{CF}_3\text{SO}_3)_4][\text{Cu}(\text{H}_2\text{O})_6] \cdot 6(\text{CF}_3\text{SO}_3) \cdot 12(\text{H}_2\text{O})$ ha una struttura torica calixarene-simile, invece il composto $[\text{Cu}_{12}(\text{HCyd}_{12})(\text{CO}_3)_2] \cdot 8(\text{ClO}_4) \cdot x(\text{H}_2\text{O})$ si può definire strutturalmente come carcerando.

Il primo dei due composti appena citati potrebbe essere utilizzato come host per farmaci di grandezza adeguata. L'alta stabilità di questo composto suggerisce il suo potenziale uso nel rilascio controllato di farmaci. Inoltre, la cavità di questo composto potrebbe essere utilizzata come camera di reazione per mediare reazioni chimiche.

Nel secondo composto vediamo per la prima volta allo stato solido la coordinazione della citidina solo attraverso lo zucchero senza alcuna implicazione dell'anello pirimidinico.

I centri metallici in questo composto presentano coordinazione diversa, ciò è possibile perché il Cu(II) ha configurazione stabile sia con una esa- che con una penta-coordinazione. La cavità centrale di questa supramolecola è sufficientemente larga per poter accogliere piccole molecole, quindi, uno sviluppo futuro per questo composto potrebbe essere quello di agire come sistema biomimetico per il trasporto di farmaci.

Quando saranno chiare le proprietà fondamentali che guidano i processi di "self-assembling", sarà possibile sviluppare sistemi sempre più complessi che si avvicineranno, quando possibile, all'efficienza ed all'accuratezza dimostrate dalla natura.

Inoltre, l'alto grado di riconoscimento molecolare dimostrato da queste molecole le rende gli obiettivi ideali per gli enzimi sintetici.

Il lavoro svolto nel corso di questa tesi può altresì dimostrare che è presente un fine equilibrio tra il successo della sintesi, la riorganizzazione e la templazione nella creazione di grossi assemblati molecolari. I nuovi composti sintetizzati forniscono la prova ben fondata che il traguardo verso la comprensione delle caratteristiche di questi dispositivi molecolari è appena all'orizzonte.

PARTE II

CAPITOLO I

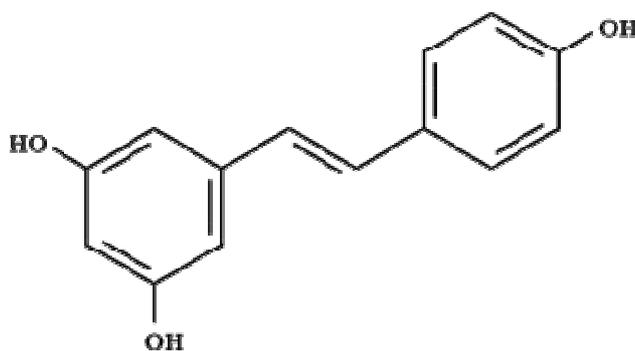
1.1. Attività di metaboliti naturali

Uno dei principali obiettivi della più recente chimica delle sostanze naturali è l'individuazione di metaboliti biologicamente attivi presenti nella dieta. Il contributo maggiore dei composti contenuti negli alimenti di origine vegetale è rappresentato dall'apporto di vitamine, acido folico e minerali. Tuttavia sono presenti altri metaboliti secondari, che vengono definiti nutraceutici: terpenoidi, flavonoidi, alcaloidi, pigmenti, polifenoli, fitosteroli, acidi grassi insaturi, che hanno un ruolo importante nel mantenimento dello stato di salute. La dieta mediterranea include una buona quantità di prodotti alimentari (frutta, verdure, nocciole, semi, vino, olio di oliva) che impedendo le reazioni di ossidazione riducono il rischio di malattie coronariche (CHD) e abbassano i livelli di colesterolo nel sangue [1]. Risulta inoltre diminuito il rischio di malattie croniche degenerative quali il cancro, il morbo di Alzheimer, il morbo di Parkinson, le malattie autoimmuni, la sclerosi multipla [2, 3]. Studi epidemiologici hanno attribuito tali effetti positivi alla presenza di composti ad azione antiossidante sia nei cibi che nelle bevande comunemente noti come polifenoli. Dal punto di vista chimico i polifenoli sono classificati in due gruppi: i flavonoidi e i non-flavonoidi. Ai flavonoidi appartengono i flavonoli miricetina, quercetina, camferolo ed isoramnetina presenti sia in forma libera che glicosidata; i flavan-3-oli quali la catechina e l'epicatechina e le antocianine quali la malvidin-3-glicoside. Fra i non flavonoidi vi sono l'acido gallico, gli idrossicinnammati quali l'acido p-cumarico e l'acido caftarico e gli stilbeni quali il trans- e il cis-resveratrolo. Una componente significativa dei polifenoli è costituita dai tannini condensati, detti anche procianidine. Essi sono oligomeri e polimeri delle catechine (catechina o epicatechina), condensate attraverso legami carbonio carbonio 4-6 e 4-8. L'uva contiene catechine e procianidine nei semi e nella buccia. Tali composti sono i maggiori costituenti del vino rosso, accanto al resveratrolo; l'epigallocatechina è abbondante nel tè verde. Il trans-resveratrolo, è inoltre, un potente fitoestrogeno [4]. L'interesse per i composti antiossidanti deriva dall'osservazione del loro ruolo nella modulazione della produzione dei radicali liberi. Un argomento di grande attualità in ricerche sulla patogenesi di molte malattie è quello relativo al ruolo svolto dalla formazione non controllata di radicali liberi: l'intervento dei radicali liberi quali mediatori del danno

tessutale è infatti riconosciuto in numerosi processi fisiopatologici quali l'infiammazione, l'aterosclerosi, l'ischemia, i tumori, il danno indotto da radiazioni ionizzanti, l'invecchiamento, le fotoreazioni cutanee. Tuttavia è noto che la formazione di radicali liberi non è da considerarsi un evento che interessi solo la patologia: la loro produzione avviene sistematicamente in vari processi metabolici e può costituire un evento utile in termini biologici, come nel caso dei fagociti, il cui meccanismo di difesa contro agenti nocivi esterni si avvale della generazione di elevate quantità di radicale superossido. I radicali liberi possono essere mediatori di danno ogni qualvolta la loro formazione eccede le capacità dei sistemi di difesa antiossidanti, preposti al loro rapido smaltimento. Occorre inoltre considerare che le molecole antiossidanti sono potenzialmente dotate di attività estrogenica. Sulla base di recenti ricerche i fitoestrogeni, grazie alla loro capacità di interagire selettivamente sui recettori alfa e beta degli estrogeni, sembrano contribuire alle proprietà salutistiche delle specie vegetali [5].

1.2. Correlazione struttura-funzione di alcuni metaboliti.

Il resveratrolo (3, 4', 5 - trans-tri-idrossi-stilbene) è uno stilbene di origine vegetale che si trova in alcune spermatofite, principalmente nell'uva rossa, nelle noccioline americane e nei pinoli, essendosi evoluto nelle piante come una molecola segnale, capace di interagire con le strutture biologiche, attivando una serie di processi di riparo e meccanismi difensivi. La sua sintesi è indotta dagli stress, fra cui le infezioni e la irradiazione da raggi UV.



trans-RESVERATROLO

Il *trans*-Resveratrolo ha notevoli proprietà biomediche [6], ha attività di forte antiossidante ed agente antinfiammatorio come di antiestrogenico ed anticancerogenico.

Il *cis*-Resveratrolo, invece, non ha la stessa attività biologica e sottolinea il fatto che la differenza nel comportamento molecolare di questi due composti dipende dalla loro struttura tridimensionale. Infatti, il *trans*-Resveratrolo interagisce con il recettore estrogenico in una maniera stereoselettiva. Studi dei due isomeri molecolari su cellule MCF-7 di carcinoma mammario mostrano che l'isomero *trans* è un agonista/antagonista del recettore ER-alpha rispetto all'isoforma *cis* [7].

Lo studio della struttura cristallina del *trans*-Resveratrolo ha permesso di conoscere la relativa coplanarità dello scheletro trans-stilbenico e l'impaccamento molecolare nello stato solido che mostra un fitto network di legami a H che spiegano il movimento "flip-flop" dei 3 gruppi idrossilici che in maniera alternata formano e rompono legami a ponte idrogeno con ciascuno degli ossigeni fenilici adiacenti (figura 1) [8].

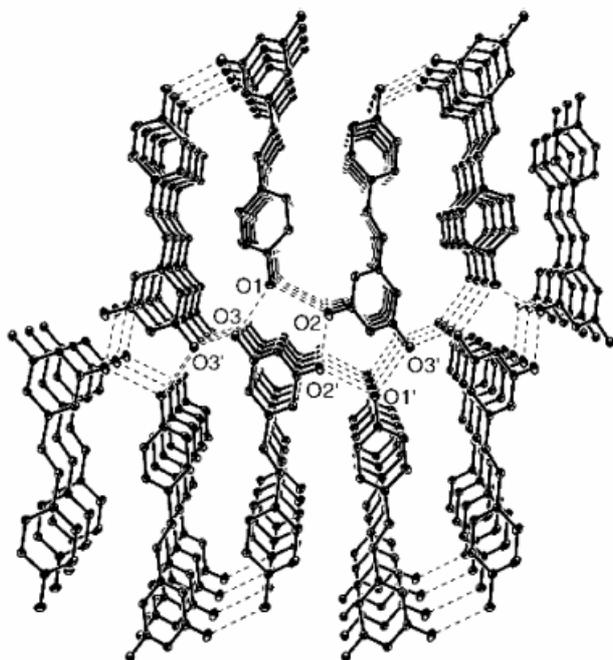
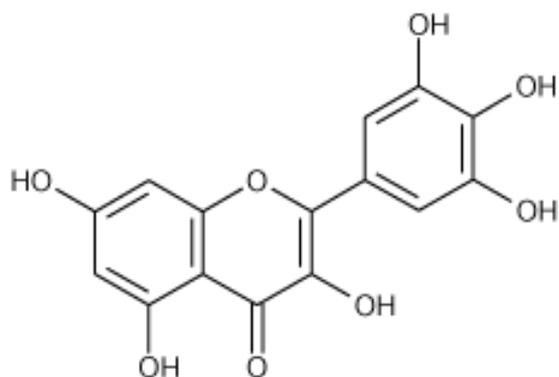
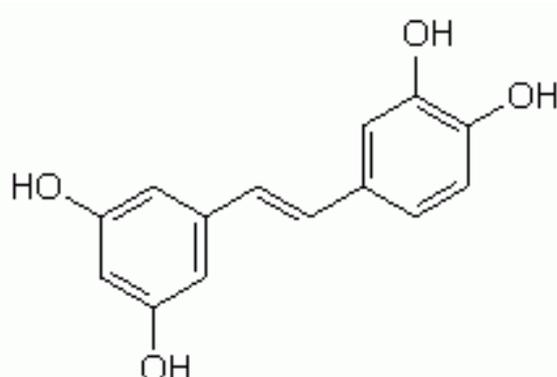


Figura 1

Il piceatannolo (PIC) e la miricetina (MYR), derivati del resveratrolo, sono due flavonoidi identificati in vari prodotti vegetali e nel vino rosso.



MIRICETINA



PICEATANNOLO

La struttura cristallina della miricetina è stata analizzata nel 1994 da Cody e Luft [9].

La molecola viene descritta non solo in base all'analisi ai raggi X, ma anche mediante il metodo degli orbitali molecolari AM1.

L'angolo diedro interplanare $\theta[C(3)-C(2)-C(1')-C(2')]$ tra i due anelli aromatici è $36.4(3)^\circ$.

La conformazione ad energia minima dai calcoli AM1 ha un valore di θ pari a 27.0° .

Le interazioni di trasferimento di carica sono un fattore molto importante per le interazioni di stacking nell'edificio cristallino.

La struttura del piceatannolo è quasi identica a quella del *trans*-Resveratrolo: differisce solo per un gruppo ossidrilico in più.

Anche in questo caso si ha una relativa coplanarità dello scheletro *trans*-stilbenico.

1.3. Valutazione dell'attività biomolecolare esercitata da miricetina e piceatannolo in cellule tumorali mammarie ed endometriali.

E' stato precedentemente dimostrato come i fitoestrogeni inducono effetti antiproliferativi in diverse linee cellulari tumorali attraverso l'inibizione di importanti attività enzimatiche come le tirosino-chinasi e la topoisomerasi II. Numerosi studi epidemiologici hanno inoltre evidenziato come i composti flavonoidi assunti con un moderato consumo di vino rosso, esercitano un ruolo protettivo nei confronti delle patologie cardiovascolari attraverso un'azione simil-estrogenica mediata principalmente dall'attivazione trascrizionale del recettore estrogenico (ER) α e/o β [10].

Sulla base di queste conoscenze, nel corso di questo lavoro di tesi, è stata valutata la capacità di PIC e MIR di transattivare ER α in una linea cellulare estrogeno-dipendente (MCF-7) ed una ormono-indipendente (SKBR3) di carcinoma mammario. Tale approccio sperimentale è stato motivato dal riscontro epidemiologico di una associazione positiva tra consumo medio-elevato di vino ed incidenza del tumore mammario nelle donne in post-menopausa.

1.4 TECNICHE ADOPERATE:

1.4.1 Colture cellulari

Le linee cellulari MCF7, Ishikawa ed SKBR3 sono state cresciute alla temperatura di 37°C, in ambiente umidificato al 5% di anidride carbonica in piastre per colture cellulari da 10 cm di diametro contenenti mezzo di coltura completo. Il mezzo di coltura è stato sostituito circa ogni 48 ore. MCF-7 ed Ishikawa sono state mantenute rispettivamente in DMEM e DMEM/F12 senza rosso fenolo. Le SKBR3 sono state mantenute in RPMI 1640 senza rosso fenolo.

1.4.2 Trasfezioni transienti

I saggi di trasfezione sono stati effettuati su cellule confluenti circa al 50-70% e mantenute in DMEM senza rosso fenolo e privo di siero, utilizzando il reagente Fugene 6, secondo la procedura indicata dalla casa produttrice: 0,5 µg/well di gene reporter; 5ng pRL-CMV; 0,1 µg/well di gene effettore.

Dopo un periodo di 5-6 ore il mezzo di trasfezione è stato sostituito con mezzo senza siero fresco e le cellule sono state trattate con 1 µM di E2, PIC e MYR. dopo un periodo di incubazione di 18-20 ore le cellule sono state lisate. L'attività della luciferasi è stata quindi misurata con il sistema "Dual Luciferase Reporter Assay" (Promega). La firefly luciferasi è stata normalizzata mediante la renilla luciferasi.

1.4.3 RT-PCR

La valutazione dell'mRNA è stata effettuata attraverso una tecnica di RT-PCR semiquantitativa che utilizza l'incorporazione diretta della DIGOSSIGENINA-11-dUTP (DIG-dUTP) durante l'amplificazione del cDNA (Maggiolini M et al 1999).

Quando le cellule hanno raggiunto una confluenza del 50-60% sono state deprivate per 24 ore sostituendo il mezzo di coltura con mezzo senza siero. Dopo un trattamento di 20-24 ore con 1 µM di E2, PIC e MYR l'RNA è stato estratto utilizzando il Triazol Reagent seguendo il protocollo della casa produttrice (Life Technologies).

L'RNA ottenuto viene convertito in cDNA secondo il seguente protocollo: 1 µg di RNAtot è stato miscelato con 20 pmol di Oligo(dt) in 30 µl di una miscela contenente TrisHCL 50 mM pH 8.8, KCl 75 mM, MgCl 3 mM, DTT 5 mM, 0.67 µg/µl di RNAsin. Questa miscela

è stata denaturata a 72°C per 5 min e mantenuta per 15 min a temperatura ambiente; dopo l'aggiunta del dNTPs 2 mM e dell'enzima Reverse Transcriptasi (RT) M-MLV (200 U) la miscela è stata incubata per 90 min a 37°C. Al termine della reazione l'enzima RT è stato inattivato mediante bollitura per 3 min.

Il cDNA ottenuto è stato amplificato mediante PCR.

È stata preparata una miscela di reazione di 20 µl contenente 2 µl del cDNA ottenuto e 0.2 µl di Taq DNA Polimerasi 500U; 1 µl di PCR Buffer 10X (TrisHCl 20 mM pH 8.4, KCl 50 mM); 1µl di MgCl 2.5 mM; 1 µl di PCR DIG Labelig Mix Plus (0.1 mM di dATP, dCTP, dUTP, 0.285 mM di d UTP, 1.5 ul di DIG -dUTP); 1.5 pmol di ciascun primer e acqua RNAsi free.

Sono stati utilizzati i seguenti primers:

- 1) ER forward.....5'AATTCAGATAATCGACGCCAG 3'
- 2) ER reverse.....5'GTGTTTCAACATTCTCCCTCCTC3'
- 3) pS2 forward.....5'TTCTATCCTAATACCATCGACG3'
- 4) pS2 reverse.....5'TTTGAGTAGTCAAAGTCAGAGC3'
- 5) Cathepsin D forward.....5'AACAACAGGGTGGGCTTC3'
- 6) Cathepsin D reverse.....5'ATGCACGAAACAGATCTGTGCT3'
- 7) EFP forward.....5'CGTGTGGATTTGTGTGTGGACG3'
- 8) EFP reverse.....5'CCCCGAGGTGGAAGTGAACC3'
- 9) 36B4 forward.....5'CTCAACATCTCCCCCTTCTC3'
- 10)36B4 reverse.....5'CAAATCCCATATCCTCGTCC3'

i cui prodotti sono stati rispettivamente di 345, 210,303, 162 e 400 paia di basi, ottenuti con 20, 15, 20, 20 e 15 cicli di reazione.

I prodotti amplificati sono stati poi separati su un gel di agarosio all'1.2%. la corsa elettroforetica è stata condotta a voltaggio costante (90 V) in TAE Buffer 1X.

Successivamente il gel è stato incubato per 20 min in una soluzione denaturante (NaOH 0.5 N, NaCl 1.5 M) e per altri 20 min in una soluzione neutralizzante (TrisHCl 0.5 M pH 7.5, NaCl 3M). Al termine dell'incubazione il gel è stato trasferito su un foglio di carta Wathman da 3mm imbevuto di una soluzione di SSC 10X (NaCl 1.5 M, Sodio Citrato 150 mM pH 7) e coperto con una membrana di nylon sulla quale è stata poggiata una pila di carta da filtro ed un peso di circa 500g così da garantire il trasferimento per capillarità del DNA sulla membrana di nylon.

Dopo circa 90 min il DNA è stato fissato sulla membrana mediante UV-Crosslinker (Bio-Rad).

La membrana è stata poi incubata per 30 min in una Blocking Solution per bloccare i siti aspecifici di interazione idrofobica, e per altri 30 min in una soluzione di anticorpo anti-DIG coniugato alla perossidasi (diluizione 1:1000).

Quest'ultima è stata rivelata mediante chemiluminescenza usando il Kit ECL System (Amersham).

1.4.4 Western Blotting

Quantità uguali (40 µg) di proteine estratte sono state separate mediante elettroforesi su gel SDS-PAGE di poliacrilammide al 10%.

La corsa elettroforetica è stata condotta a 80 mV per due ore circa a temperatura ambiente in un buffer di corsa contenente glicina (GLYCIN BUFFER 1X: Glicina 200 mM; Trizma Base 25 mM; SDS 0.1%).

Le proteine sono state poi trasferite su una membrana di nitrocellulosa (Amersham) che è stata incubata per tutta la notte a 4°C, in una soluzione contenente l'anticorpo primario: F-10, ER α e β -actina, (forniti dalla Santa Cruz Biotechnology, CA,USA), e poi visualizzato mediante chemiluminescenza (Kit ECL System).

1.4.5 Proliferaazione cellulare

Le cellule sono state incubate in mezzo di crescita senza siero per 24 ore. Il secondo giorno il mezzo è stato sostituito ed è stato aggiunto CS-FBS al 5%. Sono stati aggiunti i fitoestrogeni ed il sesto giorno le cellule sono state tripsinizzate e contate in un emocitometro adoperando il metodo di esclusione con il trypan blue.

1.5 Transattivazione di ER α endogeno e di ER α ed ER β in sistemi eterologhi.

Si è voluta analizzare la capacità di PIC e MYC di attivare delle risposte ER-mediate in cellule MCF-7. Il plasmide reporter utilizzato, XETL, contiene sequenze firefly luciferasi sotto il controllo di sequenze geniche che legano il Recettore Estrogenico (ERE) a monte del promoter della timidina chinasi. Come controllo interno è stato co-trasfettato un plasmide che esprime la renilla luciferasi, che è enzimaticamente distinguibile dalla firefly luciferasi. PIC e MYC hanno indotto la transattivazione dose-dipendente di ER α (Fig 1).

L'antagonista del recettore estrogenico ICI ha inibito tale attività transattivatoria dimostrando ulteriormente il ruolo svolto da ER α (Fig. 2).

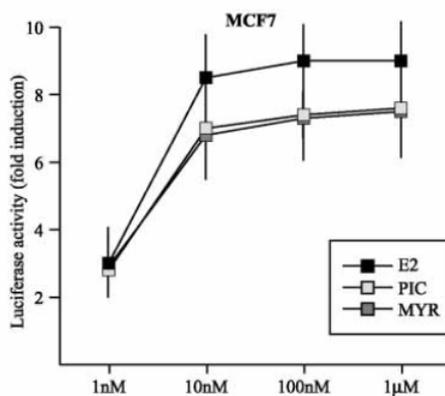


Figura 1

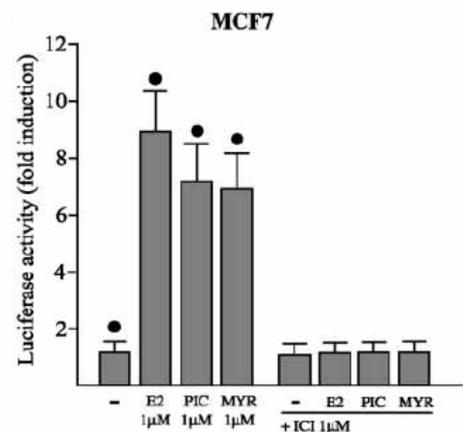


Figura 2

Utilizzando un vettore di espressione per il promoter del gene pS2 che contiene sequenze ERE, è stato confermato che entrambi i composti sono in grado di indurre attività trascrizionale ER α -mediata (Fig.3 e 4).

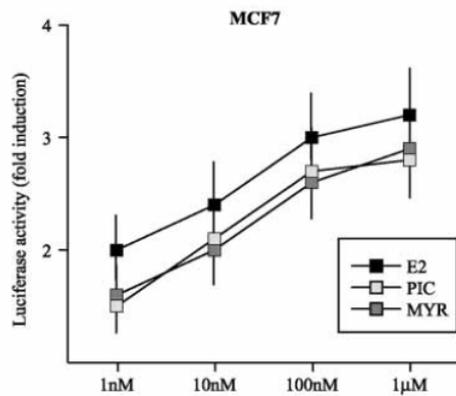


Figura 3

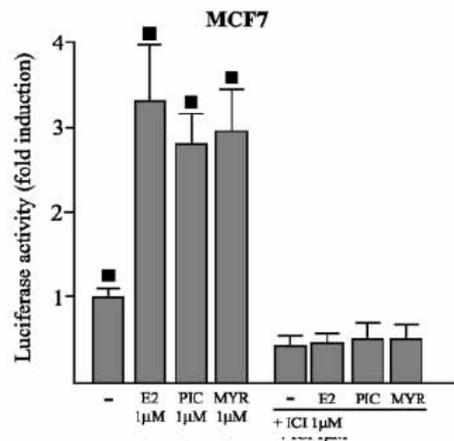


Figura 4

Gli stessi tests sono stati effettuati su cellule di carcinoma endometriale ormono-sensibili ER α -positive Ishikawa ed in linee cellulari ER-negative di carcinoma mammario SKBR3. Nelle Ishikawa PIC e MYR sono stati in grado di attivare ER α endogeno in modo diretto (Fig 5) ma non in presenza di ICI (Fig. 6).

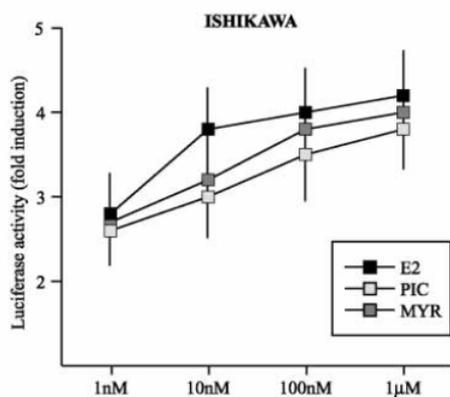


Figura 5

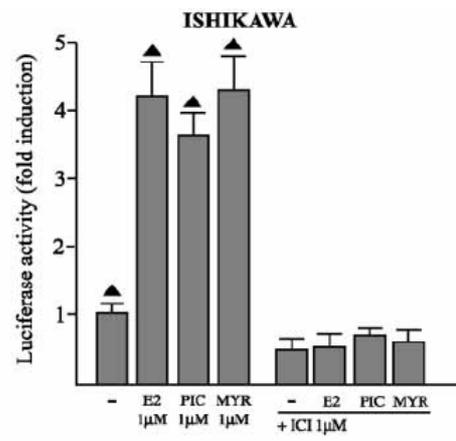


Figura 6

Nelle cellule SKBR3 è stata trasfettata la proteina chimerica composta dal DNA Binding Domain (DBD) del fattore di trascrizione Gal4 e l'Hormon Binding Domain (HBD) di ER α o di ER β contenente il dominio (AF)2 ligando-dipendente. Entrambe le proteine sono state attivate da PIC e MYR. È stato dunque possibile dedurre che l'HBD di ciascuna isoforma del recettore estrogenico è sufficiente per ottenere una risposta funzionale, mentre Gal4-DBD fuso al dominio AF1 ligando-indipendente non ha prodotto effetti trascrizionali in presenza dei composti utilizzati (Fig. 7).

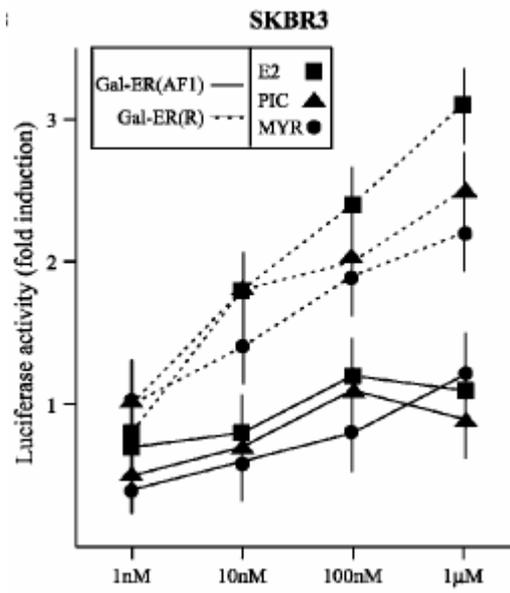


Figura 7

1.6 Down-regolazione dell'mRNA e dei livelli proteici di ER α ed up-regolazione di alcuni geni target degli estrogeni.

I livelli di ER α nelle cellule di carcinoma mammario sono auto-regolate dall'estradiolo attraverso differenti meccanismi che includono una ridotta trascrizione del gene di ER α insieme con un elevato turn-over della proteina [11]. Quindi, per vedere se anche PIC e MYR fossero in grado di modulare l'mRNA di ER α nella linea MCF-7, è stata realizzata una RT-PCR semiquantitativa standardizzando la sua espressione con il gene di controllo 36B4. Entrambi i composti hanno indotto una down-regolazione del recettore (Fig. 8).

Come già menzionato, il complesso E2/ER α -attivato regola l'espressione di geni che contengono le sequenze ERE all'interno del loro promotore [12]. Seguendo la medesima procedura sopra menzionata è stata documentata la capacità di PIC e MYR di up-regolare, come l'estradiolo, i livelli di mRNA di geni target come pS2/TIFF1, catepsina D e EFP (Fig. 8).

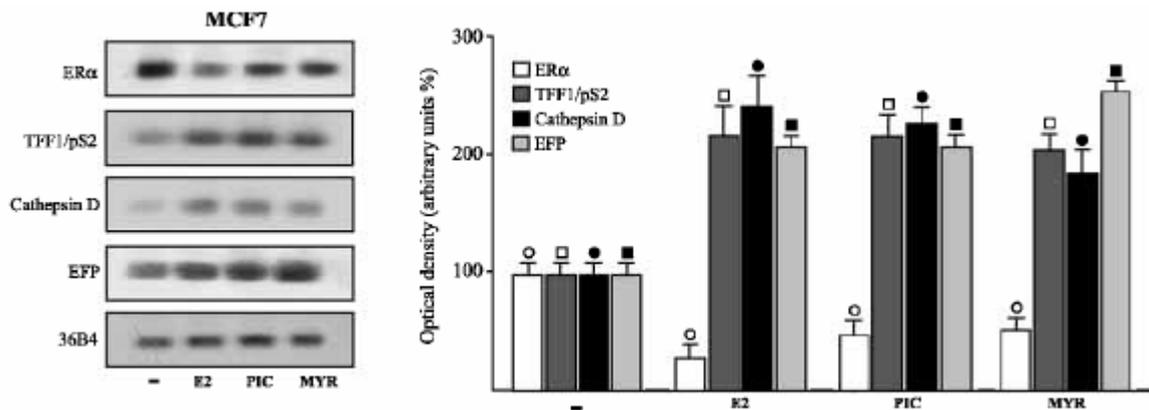


Figura 8

1.7 Effetti proliferativi in cellule di carcinoma mammario ormono-dipendenti.

La risposta proliferativa delle MCF-7 è stata valutata sottoponendo le cellule a concentrazioni crescenti di entrambi i fitoestrogeni. Le cellule sono state lisate, contate in un emocitometro ed i risultati ottenuti sotto trattamento sono stati confrontati con quelli di cellule non sottoposte a trattamento. Entrambi i composti sono stati in grado di indurre effetti proliferativi progressivi (Fig. 9), effetti che non era possibile riscontrare in presenza di ICI (Fig 10), suggerendo che anche lo stimolo proliferativo è mediato da un meccanismo ER α -dipendente.

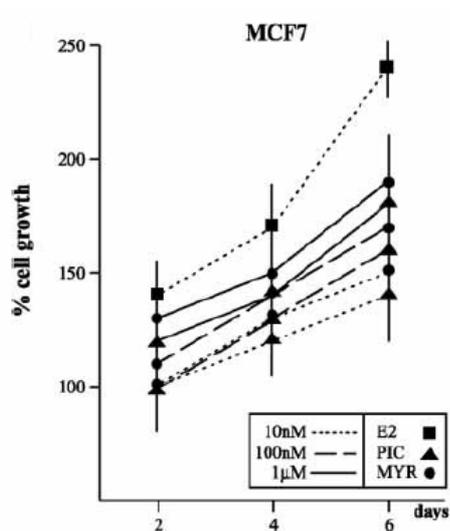


Figura 9

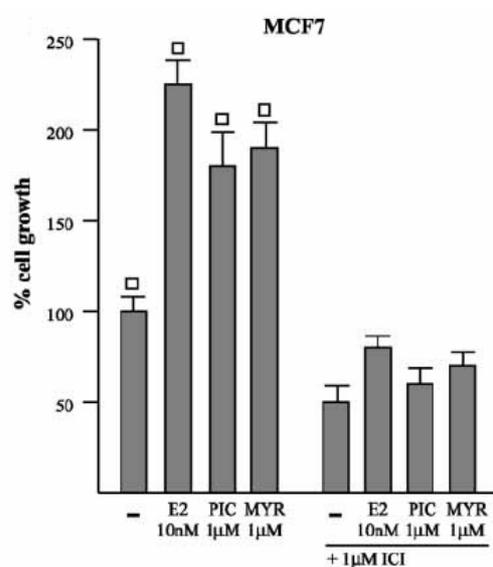


Figura 10

CONCLUSIONI

I risultati ottenuti hanno dimostrato come entrambi i composti siano in grado di:

- 1) transattivare ER α endogeno e proteine chimeriche composte dal dominio di legame al DNA di Gal4 e dal dominio di legame per l'ormone di ER α e ER β ;
- 2) modulare l'espressione di ER α e di altri geni target come pS2, catepsina D e EFP;
- 3) stimolare la proliferazione delle cellule estrogeno-dipendenti MCF7 a concentrazioni verosimilmente raggiungibili con un moderato consumo di vino rosso.

I dati ottenuti indicano pertanto come l'attività estrogenica dei flavonoidi PIC e MYR possa contribuire all'associazione tra assunzione di vino rosso e carcinoma mammario osservato in donne in post-menopausa [13].

RIFERIMENTI:

- [1] Covas MI, Nyssonen K, Poulsen HE, Kaikkonen J, Zunft HJ, Kiesewetter H, Gaddi A, de la Torre R, Mursu J, Baumler H, Nascetti S, Salonen JT, Fito M, Virtanen J, Marrugat J, *Ann Intern Med.* **145** (2006); 333
- [2] Bosetti C, Gallus S, Trichopoulou A, Talamini R, Franceschi S, Negri E, La Vecchia C. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, **12**, (2003), 1091
- [3] Solfrizzi V, Panza F, Capurso A., *J Neural Transm.* **110**, (2003); 95
- [4] Kris-Etherton PM, Hecker KD, Bonanome A, Coval SM, Binkoski AE, Hilpert KF, Griel AE, Etherton TD. *Am J Med.*, **113**, (2002) Suppl 9B, 71S.
- [5] M. Maggiolini, D. Bonofiglio, S. Marsico, ML Panno, B. Cenni, D. Picard, S. Andò, *Mol Pharmacol.* **60** (2001), 595.
- [6] Frémont L., *Life Sci.* (2000), **66**, 663.
- [7] J.P Basly, F. Marre-Fournier; J.C. LeBail, G Habrioux, A.J Chulia, *Life Sci.* **66**, (2000), 769.
- [8] F. Caruso, J. Tanski, A. Villegas-Estrada, M. Rossi, *J. Agric. Food. Chem.*, **52**, (2004) 7279.
- [9] Cody V., Luft JR., *J. Mol. Struct.*, **317**, (1994) 89.
- [10] Klinge CM., Risinger KE., Watts MB., Beck V., Eder R., Jungbauer A., *J Agric Food Chem.* **51** (2003); 1850
- [11] Santagati S., Giannazza E., Agrati P., Vegeto E., Patrone C., Pollio G., Maggi A., *Molecular Endocrin.*, **7** (1997) 938
- [12] Truss M., Beato M., *Endocrine Reviews*, **14** (1997), 459.
- [13] Maggiolini M., Recchia AG., Bonofiglio D., Catalano S., Vivacqua A., Carpino A., Rago V., Rossi R., Ando S., *J Mol Endocrinol.*, **35** (2005); 269.