



UNIVERSITÀ DELLA CALABRIA



**UNICAEN**  
université de Caen  
Basse-Normandie

**UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELLA CALABRIA**

**DIPARTIMENTO DI SCIENZE FARMACEUTICHE**

**DOTTORATO IN: AMBIENTE, SALUTE E PROCESSI ECO-SOSTENIBILI**

**Cotutela di tesi**

tra

**L'Università della Calabria (Italia)**

e

**l'Université de Caen Basse-Normandie (France)**

**Area Farmaceutica (CHIM/08)**

**CONCEZIONE E SINTESI DI NUOVI ANALOGHI DELLA COLCHICINA E DELL'ANTOFINA  
AD ATTIVITÀ ANTITUMORALE**



**SUPERVISORI**

**Prof.ssa M. Stefania SINICROPI**

**CANDIDATA**

**Francesca SANTORO**

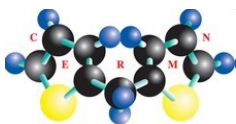
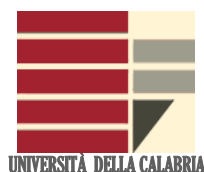
**Prof. Patrick DALLEMAGNE**

**COORDINATORE**

**Prof. Bruno de CINDIO**

*Anno Accademico*  
**2010/2011**





# UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DELLA CALABRIA

DIPARTIMENTO DI SCIENZE FARMACEUTICHE

DOTTORATO IN: AMBIENTE, SALUTE E PROCESSI ECO-SOSTENIBILI

Cotutela di tesi

tra

L'Università della Calabria (*Italia*)

e

l'Université de Caen Basse-Normandie (*France*)

TESI

presentata da

**Francesca SANTORO**

e sostenuta

**il 17 Gennaio 2012**

Area Farmaceutica (CHIM/08)

## **Titolo:**

**CONCEZIONE E SINTESI DI NUOVI ANALOGHI DELLA COLCHICINA E DELL'ANTOFINA  
AD ATTIVITÀ ANTITUMORALE**

**CONCEPTION ET SYNTHÈSE DE NOUVEAUX ANALOGUES DE COLCHICINE ET  
D'ANTOFINE A VISEE ANTICANCEREUSE**



## **MEMBRI della COMMISSIONE**

**Pr M. Stefania SINICROPI**  
**Pr Patrick DALLEMAGNE**  
**Pr Carmela SATURNINO**  
**Dr Elizabeth CHOSSON**  
**Pr Bruno de CINDIO**  
**Dr Christophe ROCHAIS**

**Professore, Università della Calabria (*Direttore di tesi*)**  
**Professeur, Université de Caen (*Directeur de thèse*)**  
**Professore, Università degli Studi di Salerno (*Rapporteur*)**  
**Maître de Conférences, Université de Rouen (*Rapporteur*)**  
**Professore, Università della Calabria**  
**Maître de Conférences, Université de Caen**



**A Madame Maria Stefania SINICROPI**

*Professoressa degli Studi dell'Università della Calabria.*

**A Monsieur Patrick DALLEMAGNE**

*Professeur à l'Université de Caen Basse-Normandie,*

*Directeur du Centre d'Etudes et de Recherche sur le Médicament de Normandie.*

**A Madame Carmela SATURNINO**

*Professoressa degli Studi dell'Università di Salerno.*

**A Madame Elizabeth CHOSSON**

*Maître de Conférences à l'Université de Rouen.*

**A Monsieur Bruno DE CINDIO**

*Professore dell'Università degli Studi della Calabria.*

**A Monsieur Christophe ROCHAIS**

*Maître de Conférences à l'Université de Caen Basse-Normandie.*

*Qui me font l'honneur de juger ce travail,*

*En témoignage de ma profonde gratitude.*

*Che mi fanno l'onore di giudicare questo lavoro,*

*Come segno della mia gratitudine.*



## MERCI...

*Je tiens tout d'abord à remercier le Professeur Patrick Dallemagne pour m'avoir accueillie au sein de son laboratoire et pour m'avoir guidée tout au long de ce travail. Je le remercie de m'avoir confié un sujet aussi passionnant et captivant. Je le remercie également d'avoir été disponible pour la moindre question, et de m'avoir fait partager toutes ses connaissances et son expérience, toujours avec le sourire et un mot d'humour.*

*Je ne remercierais jamais assez le Docteur Christophe Rochais pour son soutien et sa confiance sans faille. En plus de ses précieux conseils du point de vue scientifique, qui ont permis de faire avancer ma thèse à grand pas, lui a toujours gardé sa bonne humeur, son dynamisme impressionnant et son enthousiasme communicatif. Un très très grand merci également pour son extrême disponibilité....(TRÈS BIEN!!).*

*J'aimerais ensuite remercier les anciens du laboratoire : Jean-Charles, Silvia, Christine, Stephane, Anne-sophie, Valérie, Elodie, Peggy, Manu, Thomas, Marcella, Rémy, Aurélien, Fabienne, Sophie pour votre aide et les bons moments passés ensemble. J'ai également eu le plaisir de travailler aux côtés de Cedric, David, Vittoria, merci pour l'ambiance sympathique du laboratoire.*

*Merci Florent pour tous les moments très sympathiques et pour nos goûts musicaux communs. Que ces quelques lignes leur expriment toute mon amitié Elham, Domy et Sylvain..quel dommage que nous n'ayons pas travaillé ensemble plus longtemps !*





## **GRAZIE ..**

*Questa tesi è stata il frutto di un sogno che ho realizzato grazie a una grande donna e maestra di vita per me: la prof. Saturnino Carmela.*

*Nei momenti belli e brutti, sorrisi e pianti. c'è sempre stata per me. Lei è stata il mio angelo custode.*

*Grazie a lei, infatti, ho conosciuto la prof. Sinicropi Maria Stefania, che mi ha accompagnato e supportato in questa nuova esperienza. Grazie per aver condiviso e insegnato tante cose.*

*Grazie a quest'avventura è nata una nuova amicizia. Antonella è stata la mia compagna di viaggio all'estero e credo che il nostro legame durerà per sempre.*

*Grazie alla mia amica di sempre, Miba, anche da molto lontano lei non mi ha mai abbandonato.*

*Siccome accanto a una donna c'è sempre un grande uomo, grazie anche a lui che è grande e immenso per me.*

*Grazie alla mia famiglia perché quello che sono è stato frutto dei loro insegnamenti.*

*Grazie alla mia nonna Checca e alle sue infinite preghiere.*

*La fine di questi tesi coincide con la nascita di una piccola stella: ogni alba porta con sé una nuova speranza!*



***A MIO PADRE***

*“Stay Hungry, stay Foolish”*  
**STEVE JOBS**  
*(1955-2011)*



## INDICE

<b>1</b>	<b>CAPITOLO I: <i>INTRODUZIONE</i></b>	<b>5</b>
<b>1.1</b>	<b>INTRODUZIONE ALLE MOLECOLE NATURALI</b>	<b>7</b>
<b>1.2</b>	<b>ALCALOIDI UTILIZZATI NELLA TERAPIA ANTITUMORALE</b>	<b>7</b>
<b>1.3</b>	<b>UN TARGET PER L'AZIONE DI FARMACI ANTITUMORALI: LA TUBULINA</b>	<b>8</b>
<b>1.4</b>	<b>INIBITORI DELLA DEPOLIMERIZZAZIONE DELLA TUBULINA</b>	<b>11</b>
1.4.1	I TAXANI	11
1.4.2	GLI EPOTILONI	13
<b>1.5</b>	<b>INIBITORI DELLA POLIMERIZZAZIONE DELLA TUBULINA</b>	<b>14</b>
1.5.1	PODOFILLOTOSINE	14
1.5.2	AGENTI CHE SI LEGANO AL SITO DEGLI ALCALOIDI DELLA VINCA	16
1.5.3	LE CAMPTOTECINE	18
1.5.4	LE COMBRESTATINE	19
<b>1.6</b>	<b>ALCALOIDI A NUCLEO TROPOLONICO: LA COLCHICINA</b>	<b>20</b>
1.6.1	RELAZIONI STRUTTURA-ATTIVITA' DEGLI ANALOGHI DELLA COLCHICINA: GLI ALLOCOLCHICINOIDI	22
<b>1.7</b>	<b>ALCALOIDI FENANTROINDOLIZIDINICI: ANTOFINA E TILOFORINA</b>	<b>28</b>
1.7.1	RELAZIONI STRUTTURA-ATTIVITA' DI ANALOGHI DELL'ANTOFINA E DELLA TILOFORINA	31
<b>2</b>	<b>CAPITOLO II: <i>INTRODUZIONE ALLA RICERCA</i></b>	<b>43</b>
<b>2.1</b>	<b>PROSPETTIVE DEL LAVORO</b>	<b>45</b>
<b>2.2</b>	<b>STRATEGIE SINTETICHE</b>	<b>46</b>
<b>3</b>	<b>CAPITOLO III: SCOPO DELLA RICERCA: <i>ANALOGHI DELLA COLCHICINA</i></b>	<b>51</b>
<b>3.1</b>	<b>SCOPO DELLA RICERCA</b>	<b>53</b>
3.1.1	SINTESI DI ANALOGHI DELLA COLCHICINA: GLI ALLOCOLCHICINOIDI	53
<b>3.2</b>	<b>SINTESI DEGLI ACIDI 3-AMINO-3-ARIL PROPIONICI</b>	<b>54</b>
<b>3.3</b>	<b>REAZIONE DI CONDENSAZIONE DI SUZUKI-MIYaura</b>	<b>57</b>
<b>3.4</b>	<b>METODICA A</b>	<b>59</b>
3.4.1	Sintesi di bifenil- $\beta$ -amminoacidi diversamente sostituiti	59
<b>3.5</b>	<b>METODICA B</b>	<b>62</b>
3.5.1	Sintesi di bifenil- $\beta$ -carbaldeidi diversamente sostituite	62
<b>3.6</b>	<b>REAZIONE DI CICLIZZAZIONE INTRAMOLECOLARE</b>	<b>64</b>

3.6.1	Sintesi dei trifluoro-dibenzocicloepantoni	64
<b>3.7</b>	<b>REAZIONE DI RIDUZIONE:</b>	<b>69</b>
3.7.1	Sintesi degli idrossi-dibenzocicloepantoni	69
<b>3.8</b>	<b>SEPARAZIONE DIASTEREOISOMERICA</b>	<b>70</b>
<b>3.9</b>	<b>UN CASO PARTICOLARE</b>	<b>71</b>
3.9.1	Sintesi del pirrolo indanone	71
<b>4</b>	<b>CAPITOLO IV: SCOPO DELLA RICERCA: ANALOGHI DELL'ANTOFINA E DELLA TILOFORINA</b>	<b>77</b>
<b>4.1</b>	<b>SCOPO DELLA RICERCA</b>	<b>79</b>
4.1.1	SINTESI DI ANALOGHI DELL'ANTOFINA E DELLA TILOFORINA	79
<b>4.2</b>	<b>Sintesi dei benzoisochinoloni</b>	<b>82</b>
4.2.1	METODICA A: RIASSETTO DI BECKMANN e RIASSETTO DI SCHMIDT	82
4.2.2	METODICA A: Sintesi degli analoghi dell'Antofina e della Tiloforina (via aril- $\beta$ -aminoacidi)	85
4.2.3	METODICA B: RIASSETTO DI CURTIUS e RIASSETTO DI ELOY-DERYCKERE	89
4.2.4	Metodica B: Sintesi degli analoghi dell'Antofina e della Tiloforina- Serie della 1-naftaldeide	92
4.2.5	REAZIONE DI KNOEVENAGEL: Sintesi dell'acido (E)-3-Naftalene-2- propen-1-oico	93
4.2.6	SINTESI DELLE AZIDI	93
4.2.7	RIARRANGIAMENTO DI CURTIUS: Sintesi del benzoisochinolone	94
<b>4.3</b>	<b>Sintesi del Sistema Naftalenindolizidinico</b>	<b>95</b>
4.3.1	REAZIONE DI CICLIZZAZIONE	95
4.3.2	REAZIONE DI RIDUZIONE	96
4.3.3	Metodica B: Sintesi degli analoghi dell'Antofina e della Tiloforina- Serie della 2-naftaldeide	97
<b>5</b>	<b>CAPITOLO V: PARTE SPERIMENTALE</b>	<b>103</b>
<b>5.1</b>	<b>SINTESI DEGLI ANALOGHI DELLA COLCHICINA</b>	<b>106</b>
5.1.1	Procedura generale per la preparazione degli acidi 3-amino-3-arilpropionici	106
5.1.2	Sintesi dell'acido 3-(2-bromofenil)-3-(2,2,2-trifluoroacetamide)-propionico (28)	113
<b>5.2</b>	<b>Preparazione dei bifenil-<math>\beta</math>-amminoacidi</b>	<b>115</b>
5.2.1	Sintesi del cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(3',4'-dimetossibifenil-2-il)-propionico (29a)	115
<b>5.3</b>	<b>Procedura generale per la preparazione delle bifenil-<math>\beta</math>-carbaldeidi diversamente sostituite</b>	<b>118</b>
5.3.1	Sintesi della 3',4'-dimetossibifenil-2-carbaldeide (31a)	118
5.3.2	Sintesi della 2',3',4'-trimetossibifenil-2-carbaldeide (31b)	120
5.3.3	Sintesi della 3',4,4'-trimetossibifenil-2-carbaldeide (31c)	122
5.3.4	Sintesi della 2',3',4,4'-tetrametossibifenil-2-carbaldeide (31d)	124
5.3.5	Sintesi della 4-idrossi-3',4'-dimetossibifenil-2-carbaldeide (31e)	126
5.3.6	Sintesi della 4-idrossi-2',3',4'-trimetossibifenil-2-carbaldeide (31f)	128
<b>5.4</b>	<b>Procedura generale per la preparazione dei bifenil-<math>\beta</math>-amminoacidi diversamente sostituiti</b>	<b>130</b>
5.4.1	Sintesi del cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(2',3',4'-trimetossibifenil-2-il)-propionico (29b)	130

5.4.2	Sintesi del cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(3',4,4'-trimetossibifenil-2-il)-propionico (29c)	132
5.4.3	Sintesi del cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(2',3',4,4'-tetrametossibifenil-2-il)-propionico (29d)	134
5.4.4	Sintesi del cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(4-idrossi-3',4'-dimetossibifenil-2-il)-propionico (29e)	136
5.4.5	Sintesi del cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(4-idrossi-2',3',4'-trimetossibifenil)-propionico (29f)	138
<b>5.5</b>	<b>Procedura generale per la preparazione dei trifluoro-dibenzocicloeptanoni diversamente sostituiti</b>	<b>140</b>
5.5.1	Sintesi della N-(9,10-dimetossi-7-osso-6,7-diidro-5H-dibenzo[a,c]cicloepten-2-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (32a)	140
5.5.2	Sintesi della N-(9,10,11-trimetossi-7-osso-6,7-diidro-5H-dibenzo[a,c]cicloepten-2-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (32b)	142
5.5.3	Sintesi della N-(3,9,10-trimetossi-7-osso-6,7-diidro-5H-dibenzo[a,c]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (32c)	144
5.5.4	Sintesi della N-(3,9,10,11-tetrametossi-7-osso-6,7-diidro-5H-dibenzo[a,c]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (32d)	146
5.5.5	Sintesi della N-(3-idrossi-9,10-dimetossi-7-osso-6,7-diidro-5H-dibenzo[a,c]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (32e)	148
5.5.6	Sintesi della N-(3-idrossi-9,10,11-trimetossi-7-osso-6,7-diidro-5H-dibenzo[a,c]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (32f)	150
<b>5.6</b>	<b>Procedura generale per la sintesi dei dibenzocicloeptanoli</b>	<b>152</b>
5.6.1	Sintesi della N-(7-idrossi-9,10-dimetossi-6,7-diidro-5H-dibenzo[a,c]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (42a)	152
5.6.2	Sintesi della N-(7-idrossi-9,10,11-trimetossi-6,7-diidro-5H-dibenzo[a,c]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (42b)	154
5.6.3	Sintesi della N-(7-idrossi-3,9,10-trimetossi-6,7-diidro-5H-dibenzo[a,c]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (42c)	156
5.6.4	Sintesi della N-(7-idrossi-3,9,10,11-tetrametossi-6,7-diidro-5H-dibenzo[a,c]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (42d)	158
5.6.5	Sintesi della N-(3,7-diidrossi-9,10-dimetossi-6,7-diidro-5H-dibenzo[a,c]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (42e)	160
5.6.6	Sintesi della N-(3,7-diidrossi-9,10,11-trimetossi-6,7-diidro-5H-dibenzo[a,c]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (42f)	162
<b>5.7</b>	<b>Sintesi della N-[4-metossi-3-osso-7-(2,3,4-trimetossifenil)-2,3-diidro-1H-indan-1-one]-2,2,2-trifluoroacetamide (41)</b>	<b>164</b>
<b>5.8</b>	<b>Procedura sintetica per l'ottenimento del pirrolo indanone (49).</b>	<b>166</b>
<b>5.9</b>	<b>SINTESI DEGLI ANALOGHI DELL'ANTOFINA e DELLA TILOFORINA (VIA ARIL-<math>\beta</math>-AMINOACIDI)</b>	<b>171</b>
5.9.1	Preparazione dell'acido 3-naftalen-1-il-3-(2,2,2-trifluoroacetilamide)-propionico	171
<b>5.10</b>	<b>Preparazione della N-(3-osso-2,3-diidro-1H-fenalen)-2,2,2-trifluoroacetamide</b>	<b>175</b>
<b>5.11</b>	<b>Sintesi della: N-(2-osso-1,2,3,4-tetraidro-nafto[1,8]azepin)-2,2,2-trifluoroacetamide (59); N-(1-osso-1,2,3,4-tetraidro-nafto[1,8]azepin)-2,2,2-trifluoroacetamide (60); Fenalen-1-one (61).</b>	<b>177</b>
<b>5.12</b>	<b>SINTESI DEGLI ANALOGHI DELL'ANTOFINA E TILOFORINA ("VIA AZIDI")</b>	<b>181</b>
5.12.1	Preparazione degli acidi (E)-3-Naftalene propen-2-oici	181
5.12.2	Sintesi dell'acido (E)-3-naftalen-2-propen-1-oico(72a)	181

5.12.3	Sintesi dell' acido (E)-3-naftalen-2-propen-1-oico (72b)	183
5.12.4	Sintesi dell' acido (E)- 3-(6-metossi-naftalen)-2-propen-1-oico (72c)	185
<b>5.13</b>	<b>Preparazione delle azidi</b>	<b>187</b>
5.13.1	Sintesi del 3-naftalen-1-il-acriloil azide (70a)	187
5.13.2	Sintesi del 3-naftalen-2-il-acriloil azide (70b)	189
5.13.3	Sintesi del 3-(6-metossi-naftalen)-2-il-acriloil azide (70c)	191
<b>5.14</b>	<b>Preparazione dei benzoisochinolini</b>	<b>193</b>
5.14.1	Sintesi del 3H-Benzo[f]isochinolin-4-one (71a)	193
5.14.2	Sintesi del 2H-Benzo[h]isochinolin-1-one (71b)	195
5.14.3	Sintesi dell' 8-metossi-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (71c)	197
<b>5.15</b>	<b>Preparazione dei derivati naftalenindolizidinici.</b>	<b>199</b>
5.15.1	Sintesi del 3-(3-Cloro-propil)-3H-benzo[f]isochinolin-4-one (73a)	199
5.15.2	Sintesi del 2-(3-cloro-propil)-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (73b)	201
5.15.3	Sintesi del 2-(3-cloro-propil)-8-metossi-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (73c)	203
<b>5.16</b>	<b>Reazione di CICLIZZAZIONE RADICALICA</b>	<b>205</b>
5.16.1	Sintesi di: 10,11,11a,12-tetraidro-9H-benzo[f]pirrolo[1,2-b]isochinolin-7-one (74a) e 2,3-diidro-1H-4-osso-12a-aza-benzofenantrene ioduro(75a)	205
5.16.2	Sintesi dei: 7a,8,9,10-tetraidro-7H-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinolin-12-one (74b); 3,4-diidro-2H-1-oxa-4a-aza-benzofenantrene ioduro (75b); 2-(3-idrossi-propil)-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (77b); 2-Propil-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (78)	208
5.16.3	Sintesi dei: 3-metossi-7a,8,9,10-tetraidro-7H-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinolin-12-one (74c); 2-(3-idrossi-propil)-8-metossi-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (77c)	213
<b>5.17</b>	<b>Reazione di RIDUZIONE</b>	<b>216</b>
5.17.1	Sintesi di: 7,9,10,11,11a,12-esaidro-benzo[f]pirrolo[1,2-b]isochinolina (76a)	216
5.17.2	Sintesi della 7,7a,8,9,10,12-esaidro-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinolina (76b)	218
5.17.3	Sintesi della: 3-metossi-7,7a,8,9,10,12-esaidro-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinolina (76c)	220
<b>6</b>	<b>CAPITOLO IV: RISULTATI BIOLOGICI</b>	<b>223</b>
<b>6.1</b>	<b>RISULTATI BIOLOGICI <i>in vitro</i> PER GLI ALLOCOLCHICINOIDI</b>	<b>225</b>
<b>6.2</b>	<b>RISULTATI BIOLOGICI <i>in vitro</i> PER GLI ANALOGHI DELL'ANTOFINA E TILOFORINA</b>	<b>229</b>
<b>6.3</b>	<b>Conclusione e prospettive</b>	<b>231</b>
<b>6.4</b>	<b>Attività biologica: protocolli sperimentali</b>	<b>232</b>
6.4.1	CELL CULTURE AND PROLIFERATION ASSAY	232
6.4.2	TUBULIN POLYMERIZATION INHIBITION	232
6.4.3	CRISTALLOGRAPHIC STUDY	232



## 1 CAPITOLO I:

### *INTRODUZIONE*

*«L'homme naît avec des sens  
et des facultés ; mais il  
n'apporte avec lui en naissant  
aucune idée : son cerveau est  
une table rase qui n'a reçu  
aucune impression, mais qui  
est préparée pour en  
recevoir».*

*Antoine-Laurent de  
Lavoisier  
Extrait de « Réflexions sur  
l'instruction publique »*



## 1.1 INTRODUZIONE ALLE MOLECOLE NATURALI

La natura, per la presenza d'innomerevoli sostanze farmacologicamente attive, è da sempre un'affascinante fonte d'interesse per i ricercatori<sup>1</sup>.

Le piante medicinali occupano, un posto fondamentale tra i rimedi di origine naturale; molti farmaci contengono molecole di natura vegetale e molti principi attivi di sintesi, sono modellati sulla struttura di molecole vegetali<sup>2</sup>. Negli ultimi venti anni la chimica delle sostanze naturali è stata oggetto di un'intensa attività di ricerca. Questo successo è legato all'incredibile biodiversità presente nel regno vegetale che ha dimostrato di essere una preziosa fonte per la realizzazione di nuovi farmaci ed in particolare di antitumorali<sup>3</sup>. Più del 60% dei farmaci antineoplastici, infatti, hanno origine naturale, derivando da piante, da organismi marini e da microrganismi<sup>4</sup>.

## 1.2 ALCALOIDI UTILIZZATI NELLA TERAPIA ANTITUMORALE

Il termine alcaloide è usato per indicare composti di origine naturale contenenti uno o più atomi di azoto, in un anello eterociclico, si tratta di sostanze con proprietà basiche che risultano molto diverse sia dal punto di vista chimico che per l'attività farmacologica.

I criteri di classificazione degli alcaloidi sono i seguenti:

- 1) botanico, a seconda della pianta di derivazione;
- 2) farmacologico, basato sull'attività terapeutica e/o tossicologica della sostanza;
- 3) chemiotassonomico, basato su criteri sia botanico-morfologici che chimici;
- 4) chimico, a seconda dell'eterociclico azotato presente nella struttura.

Molte di queste molecole sono utilizzate nel trattamento di malattie molto gravi quali i tumori.

Il successo della ricerca di agenti antitumorali da organismi vegetali è iniziato a metà del secolo scorso con la scoperta degli alcaloidi della *Vinca* e l'isolamento delle podofillotossine. In seguito, il National Cancer Institute (NCI) ha avviato nei primi anni '60 un intenso programma di raccolta e screening di piante, focalizzando l'attenzione su quelle utilizzate nella medicina popolare utilizzate per la cura di numerose patologie. La realizzazione di

questo programma ha permesso di individuare nuovi composti ad alto potenziale citotossico, fra cui le camptotecine e i taxani.

Grazie a tale ricerca conclusasi negli anni '90, nuove molecole sono state avviate alla fase clinica di studio ed altre alla fase pre-clinica avanzata.

Le principali piante medicinali da cui sono derivati importanti farmaci utilizzati nella terapia antitumorale, sono il *Taxus baccata* e *T. brevifolia*, il *Colchicum autumnale*, il *Podophyllum peltatum*, la *Camptotheca acuminata* ed il *Catharanthus roseus*.

In questo contesto la tesi, è rivolta allo studio, alla sintesi e alla caratterizzazione di analoghi semplificati di molecole presenti in natura, con particolare attenzione alla colchicina, alla tiloforina e all'antofina, alcaloidi che hanno suscitato interesse proprio per le loro potenzialità citotossiche.

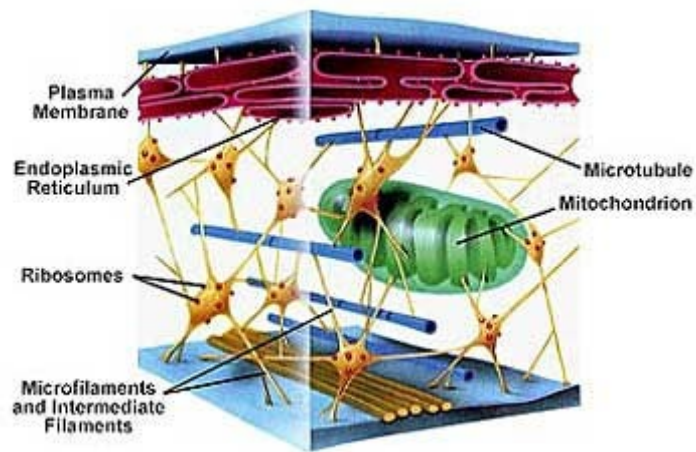
### 1.3 UN TARGET PER L'AZIONE DI FARMACI ANTITUMORALI: LA TUBULINA

Scopo dei farmaci antitumorali è la distruzione selettiva delle cellule tumorali. Tra i composti naturali più importanti ad azione antineoplastica sono da annoverarsi quelli che interagiscono con la tubulina (sono un esempio gli alcaloidi della vinca e derivati del taxano).

Ma dove è presente tale proteina?

Il citoscheletro è una struttura dinamica che contribuisce al mantenimento della forma della cellula, al suo movimento intra- ed inter- cellulare e svolge funzione di tipo contrattile e di protezione. E' costituito da una fitta rete di microtubuli, microfilamenti e strutture accessorie implicate nella formazione del fuso mitotico, elemento fondamentale per la replicazione e per la generazione di quella fitta rete di "binari" necessaria al movimento cellulare e al sostegno dei vari organuli citoplasmatici.

Come mostrato in *Figura 1* i microtubuli sono lunghi polimeri rigidi che si estendono verso il citoplasma. Ogni microtubulo è costituito da eterodimeri di due proteine,  $\alpha$  e  $\beta$ -tubulina (proteina globulare che costituisce l'unità fondamentale delle strutture del citoscheletro). I dimeri di tubulina polimerizzano a formare lunghe catene di proto-filamenti. Essi agiscono da impalcatura determinando la forma della cellula, forniscono una serie di tracce per consentire agli organelli cellulari e alle vescicole di muoversi, formano le fibre del fuso per separare i cromosomi durante la mitosi<sup>5</sup>.



*Figura 1. Il citoscheletro.*

Sia la tubulina  $\alpha$  che la tubulina  $\beta$  sono in grado di riconoscere, di legare GTP, la subunità  $\beta$  è anche in grado di idrolizzarlo. La tubulina è presente in due forme: la tubulina GTP e la tubulina GDP. La tubulina, quando lega il GTP presenta un'elevata affinità anche per altre tubuline, e risulta essere polarizzata, questa affinità è maggiore nella subunità  $\beta$ . Nel momento in cui varie tubuline si aggregano hanno luogo 5 distinti processi (*Figura 2*):

- Nucleazione: varie tubuline si aggregano a formare un protofilamento, unità costitutiva dei microtubuli;
- Aggregazione: aggregazione dei protofilamenti in abbondanza di GTP;
- Disaggregazione: disaggregazione dei microtubuli in scarsità di GTP;
- Stabilizzazione: avviene nel momento in cui la velocità di liberazione di tubuline dal terminale (-) del microtubulo eguaglia l'aggiunta di tubuline al terminale (+) per nucleazione.

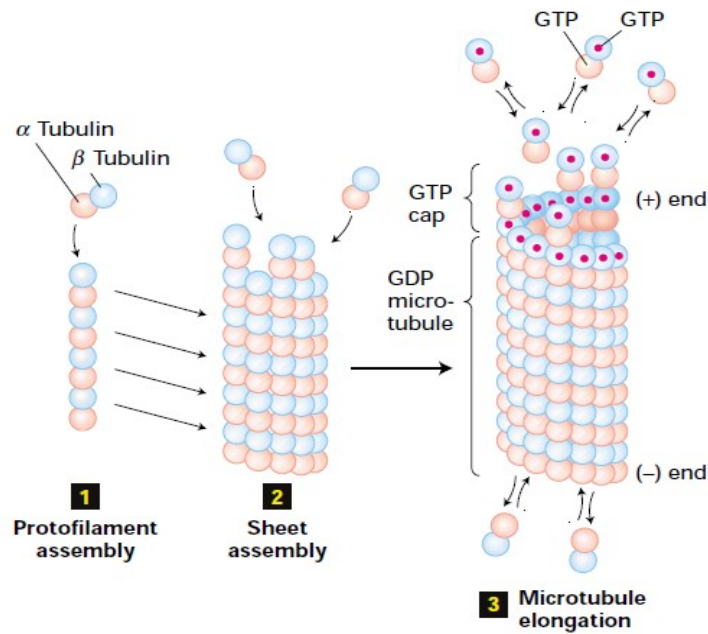


Figura 2. Fasi di assemblaggio per la formazione dei microtubuli.

I microtubuli sono un target privilegiato per numerosi agenti antitumorali (Figura 3). I composti appartenenti a questa famiglia possono essere classificati in due categorie:

- composti che inibiscono la depolimerizzazione e stabilizzano i microtubuli;
- composti che inibiscono la polimerizzazione della tubulina e impediscono la formazione dei microtubuli.

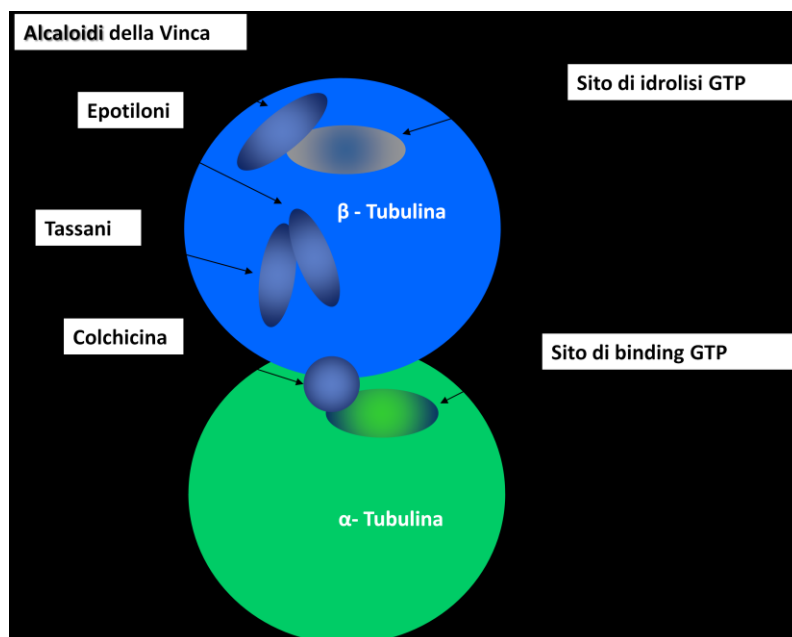


Figura 3. Modello di interazione dei diversi farmaci sulla tubulina.

## 1.4 INIBITORI DELLA DEPOLIMERIZZAZIONE DELLA TUBULINA

### 1.4.1 I TAXANI

I componenti di questa classe sono il Paclitaxel (Taxol<sup>®</sup>), estratto per la prima volta da Wall e Wan<sup>6</sup> dalla corteccia di alcuni alberi di *Taxus brevifolia* (Figura 4) del Pacifico, risultato molto attivo in diversi carcinomi e sarcomi umani.

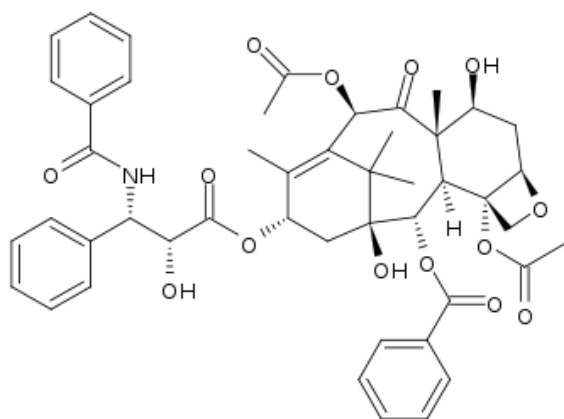


Figura 4. Albero di *Taxus brevifolia*.

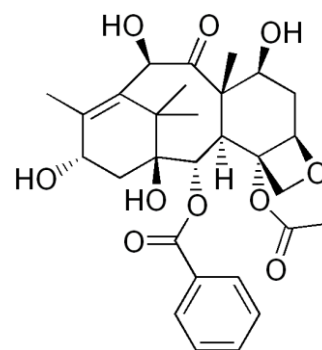
Il Paclitaxel (**1**) fa parte della classe dei diterpeni ed è composto da due sistemi principali: uno taxanico, riscontrabile in tutti i taxani e una catena laterale derivante dalla esterificazione del gruppo ossidrilico posto sul carbonio-13 del sistema taxanico. La peculiarità del paclitaxel, che lo distingue dagli antimitotici inibitori della polimerizzazione della tubulina, tipo la colchicina, sta nel suo particolare meccanismo d'azione<sup>7</sup>. Questa molecola, infatti, si lega alla subunità  $\beta$  dell'eterodimero della tubulina, accelerando la polimerizzazione della tubulina stessa ed allo stesso tempo stabilizzando i microtubuli formatisi, inibendone la depolimerizzazione. L'inibizione della depolimerizzazione dei microtubuli tra la profase e l'anafase della mitosi porta all'arresto del ciclo di divisione cellulare, con la conseguente morte delle cellule cancerose.

Attualmente il paclitaxel è approvato dalla FDA (Food & Drug Administration) per il trattamento del cancro alle ovaie in stato avanzato e del cancro metastatico al seno. Il primo problema che si è dovuto affrontare, riguardo all'estrazione del paclitaxel dalla corteccia del tasso, è stato quello dell'approvvigionamento del principio attivo, in quanto l'estrazione avrebbe comportato alti costi e basse rese, oltre alla rapida estinzione della specie. Tale ostacolo è stato superato con la scoperta della 10- deacetilbaccatina III (**2**) (DAB)<sup>8</sup>, un

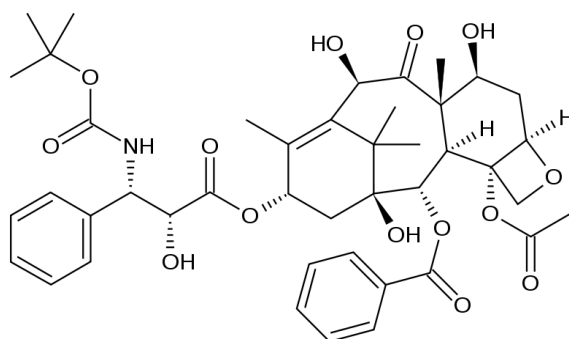
diterpenoide caratterizzato dal complesso sistema tetraciclico del paclitaxel e che viene isolato con buone rese da diverse parti della pianta del tasso europeo (*Taxus baccata*). La semisintesi del paclitaxel a partire dal composto **2** ha consentito un migliore approvvigionamento del farmaco, e ha favorito lo sviluppo di nuovi tassani con proprietà farmacologiche migliorate, come lo stesso docetaxel (**3**), composto che presenta una citotossicità più elevata rispetto al paclitaxel<sup>9</sup> nei confronti di alcune linee tumorali. Il derivato semisintetico docetaxel (Taxotere<sup>®</sup>), è utilizzato nella terapia del tumore polmonare a piccole cellule. Malgrado la grande efficacia dei composti predetti, l'utilizzo in terapia di essi è limitato, a causa della loro bassa disponibilità per via orale, della tossicità e della comparsa di fenomeni di resistenza.



Paclitaxel (Taxol<sup>®</sup>) (**1**)



10- Deacetylbaflatina III (**2**)



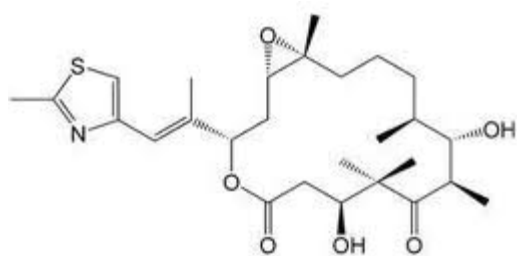
Docetaxel (**3**)



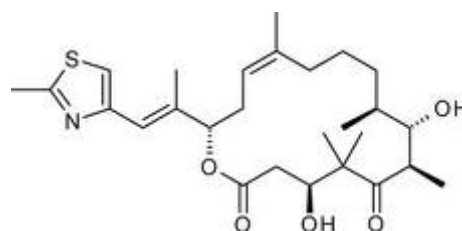
### 1.4.2 GLI EPOTILONI

Gli epotiloni, sono una nuova classe di molecole candidate ad essere gli “eredi” dei tassani. Essi hanno un meccanismo di azione anticancro simile a quello del paclitaxel ma con effetti secondari ridotti.

Si ottengono per estrazione dalle alghe marine e inibiscono il processo di depolimerizzazione dei microtubuli stabilizzando il fuso mitotico. I risultati *in vitro* mostrano che gli epotiloni B e C (4 e 5) agiscono stabilizzando la formazione dei microtubuli allo stesso modo del paclitaxel. Al contrario del tassolo, essi non esercitano attivita' stimolatrice sui macrofagi che liberando endotossine, sostanze che sembrano essere responsabili degli effetti secondari non ematologici del paclitaxel, quali la mialgia o l'artralgia. Questi composti, inoltre, non inibiscono il rilascio di monossido d'azoto mediato dai lipopolisaccaridi.



Epotilone B (4)



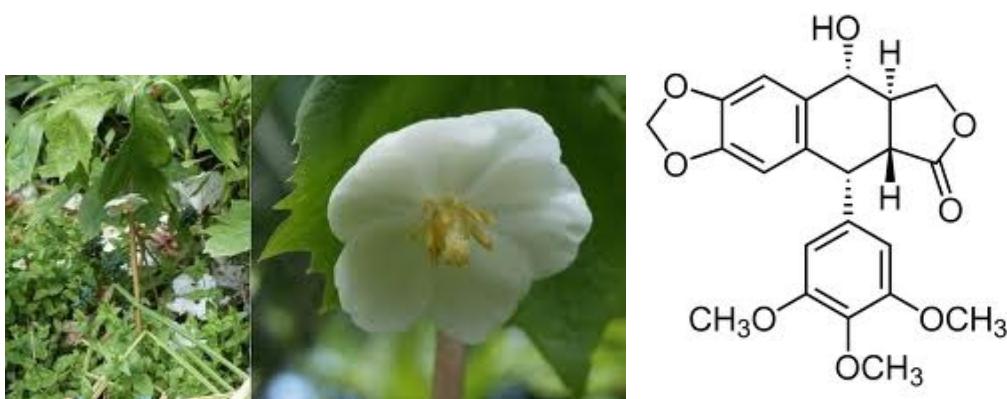
Epotilone C (5)

## 1.5 INIBITORI DELLA POLIMERIZZAZIONE DELLA TUBULINA

Gli inibitori della polimerizzazione della tubulina possono essere suddivisi in due sottocategorie in funzione dei siti di legame alla tubulina stessa. Si possono infatti legare sia a livello del sito di legame della colchicina, che si trova sul lato degli eterodimeri rivolto verso il lume del microtubulo tra i due monomeri  $\alpha\beta$ , sia a livello del sito di legame degli alcaloidi della *Vinca*, che si trova più in alto o vicino al sito di contatto longitudinale tra due dimeri di tubulina, sul monomero  $\beta$ .

### 1.5.1 PODOFILLOTOSSINE

Le podofillotossine (6) sono composti estratti principalmente dal *Podophyllum peltatum* (*Podofillo* o *mandragola*), una pianta erbacea perenne della famiglia delle Berberidaceae (*Figura 5*).



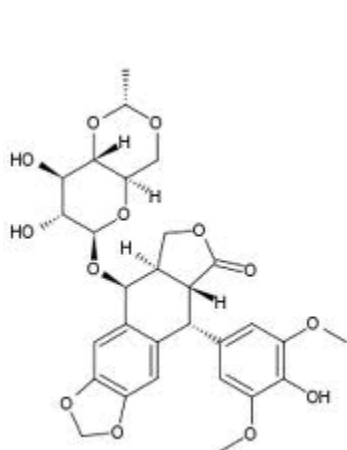
*Figura 5. Podophyllum peltatum e Podofillotossina (6).*

La podofillina, una resina ottenuta dall'estratto alcolico dei rizomi di *Podophyllum* era usata per il trattamento delle verruche ed è stata inclusa nella Farmacopea Americana dal 1820 al 1942, successivamente fu rimossa per la sua elevata tossicità<sup>10</sup>. Nel 1880 la podofillotossina (6), che presenta il motivo strutturale trimetossifenile della colchicina, fu isolata dai rizomi del *Podophyllum peltatum*. La podofillotossina compete con la colchicina per il blocco dei microtubuli, inoltre rispetto alla colchicina si lega a questo sito più rapidamente e con maggiore affinità. Sebbene dotata di una buona azione antineoplastica è molto tossica, tuttavia il suo studio ha consentito la progettazione e la sintesi di numerosi derivati. I derivati semisintetici etoposide e teniposide (7 e 8), rappresentano farmaci attivi contro una varietà di

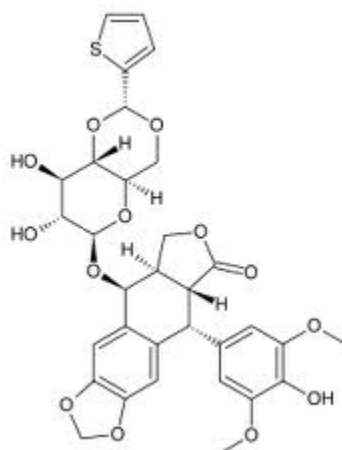
linfomi (tra cui il linfoma di Hodgkin) e contro il cancro del testicolo, il cancro del polmone (in particolare a piccole cellule) e la leucemia acuta<sup>11,12</sup>. Il loro meccanismo d'azione consiste nel bloccare le cellule nell'ultima parte della fase S e G2 del ciclo cellulare, inibendo la topoisomerasi II e, quindi, bloccando la sintesi del DNA<sup>13</sup>. Le caratteristiche strutturali essenziali delle più importanti podofillotossine sono:

- un gruppo tetraciclico “quasi” planare;
- un anello aromatico posto in posizione 1;
- quattro centri di asimmetria adiacenti;

Il limite nell'utilizzo di questi composti è la scarsa solubilità in acqua che potrebbe causarne la precipitazione durante una somministrazione intravenosa<sup>14</sup>.



Etoposide(7)



Teniposide(8)

### 1.5.2 AGENTI CHE SI LEGANO AL SITO DEGLI ALCALOIDI DELLA VINCA

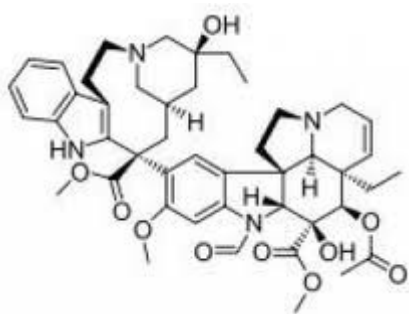
La pervinca del Madagascar (*Catharanthus roseus* G. Don o *Vinca rosea* L.) (Figura 6) della famiglia delle Apocinaceae, è una pianta usata in passato nella medicina popolare per bloccare la secrezione del latte e per la cura del diabete.



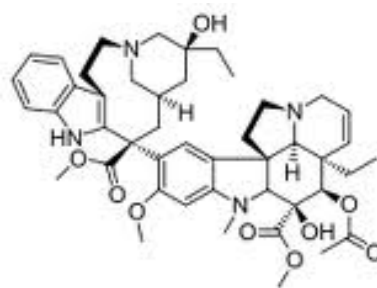
Figura 6. Fiore della Vinca.

Sottoposta a dettagliati studi per la determinazione dell'attività ipoglicemizzante, non ha però rivelato negli animali alcuna azione sulla glicemia, mentre ha aumentato la suscettibilità degli animali stessi nei confronti delle infezioni batteriche. Tale osservazione ha indotto i ricercatori a identificare i componenti presenti nella droga; sono stati così isolati e caratterizzati alcuni alcaloidi dimerici indolici, provvisti di attività antileucemica, tra cui la vincristina e la vinblastina o vincalucoblastina (**9** e **10**), oggi farmaci di elezione nel trattamento delle leucemie. Gli alcaloidi della vinca sono farmaci ciclo-specifici e, come altri farmaci quali la colchicina e la podofillotossina, bloccano la mitosi con arresto in metafase. L'incubazione delle cellule con vinblastina, determina dissoluzione dei microtubuli e formazione di cristalli molto regolari. A causa della disgregazione dell'apparato mitotico, la divisione cellulare si arresta in metafase. In assenza di un fuso mitotico intatto, i cromosomi possono disperdersi nel citoplasma o aggregarsi in strani raggruppamenti, come sfere o stelle. Chiaramente l'incapacità a segregare i cromosomi in maniera corretta durante la mitosi, porta, infine, alla morte cellulare. La vinblastina (**10**) è impiegata principalmente nel trattamento del morbo di Hodgkin, una neoplasia che colpisce il sistema linfatico, la milza ed il fegato, ma anche in altre forme maligne, quali carcinoma mammario, carcinoma della vescica, melanoma e carcinoma testicolare<sup>15</sup>. La vincristina (**9**), invece, molto più usata della vinblastina, è particolarmente utile nella cura delle leucemie dell'infanzia<sup>16</sup>, ed è anche impiegata in molte associazioni tra farmaci antitumorali nel trattamento di sarcomi dei tessuti molli, sarcoma osteogenico e tumori cerebrali.

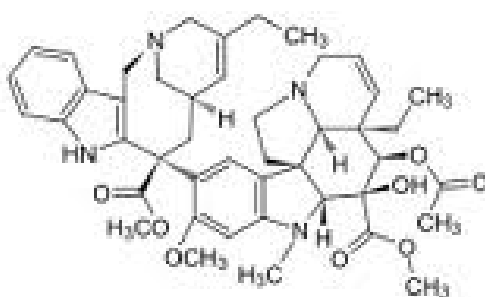
Derivato semisintetico della vinblastina, che sta acquistando sempre maggiore interesse, è la vinorelbina (**11**); le modificazioni strutturali che la caratterizzano ne consentono una somministrazione per via orale<sup>17</sup>, a differenza della vinblastina e della vincristina, disponibili solo per via endovenosa. Il meccanismo di azione della vinorelbina è identico a quello degli altri alcaloidi della vinca, ma la più bassa affinità per i microtubuli neuronali rispetto a quelli mitotici, ne spiega la diminuita incidenza di neurotossicità paragonata a quella della vincristina. L'alcaloide è stato studiato nel trattamento di pazienti affetti da cancro al polmone, sia come singolo agente terapeutico, sia in combinazione con il cisplatino, portando ad un significativo aumento della risposta ed un' aumentata sopravvivenza, se paragonata al solo cisplatino. Attualmente è oggetto di studio nel trattamento del tumore al seno resistente alle antracicline, nel morbo di Hodgkin e per il cancro alle ovaie<sup>18</sup>.



Vincristina (**9**)



Vinblastina (**10**)



Vinorelbina (**11**)

### 1.5.3 LE CAMPTOTECINE

Un ultimo gruppo di molecole che di recente in fase di sperimentazione clinica è quello degli alcaloidi isolati dalla *Camptotheca acuminata* (Figura 7), un albero della famiglia delle Nyssaceae, originaria di Cina e Tibet<sup>19</sup>.

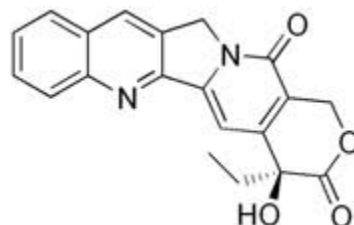


Figura 7. La *Camptotheca acuminata* e la Camptotecina (**12**).

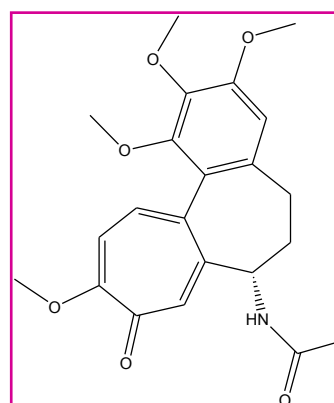
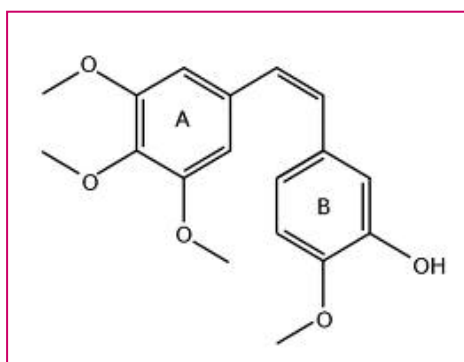
La camptotecina **12** è un alcaloide pentaciclico, la cui attività citotossica dipende dall'interazione con l'enzima topoisomerasi I, che è responsabile della riduzione della tensione torsionale nel DNA superavvolto. Le camptotecine, infatti, si legano e stabilizzano il legame tra topoisomerasi I e DNA<sup>20</sup>, consentendo il taglio dell'acido nucleico da parte della topoisomerasi, e inibendo la successiva richiusura dell'elica determinando l'accumulo di filamenti singoli di DNA con conseguente morte cellulare<sup>21</sup>.

#### 1.5.4 LE COMBRESTATINE

Le combrestatine sono prodotti naturali estratti dalla corteccia del *Combretum caffrum*.

La combrestatina A-4 (**13**) è il composto più attivo di questa famiglia, e come pro-farmaco fosfato (più solubile in acqua) è attualmente in fase di studio clinico (*Figura 8*). Essa si lega alla tubulina nello stesso sito della colchicina (**14**) (con cui mostra caratteristiche strutturali simili), e presenta proprietà antivascolari e antiangiogenetiche su cellule tumorali<sup>22</sup>.

La Combrestatina A4 intereagisce con i microtubuli che formano il citoscheletro delle cellule endoteliali. Quest'ultime cambiano di forma, diventando rotonde e interrompendo il flusso sanguigno nei capillari. Si riduce perciò l'apporto di nutrienti alle cellule cancerose, provocandone la morte. Essa e' costituita da un anello 3,4,5 trimetossifenilenico (A) e un 4-metossi-3-idrossifenilenico (B), legati da un ponte etilenico in disposizione *cis* che fornisce a questi composti un'elevata potenza citotossica.



*Figura 8. Combretum caffrum, la combrestatina A-4 (13) e la colchicina (14.)*

## 1.6 ALCALOIDI A NUCLEO TROPOLONICO: LA COLCHICINA

La colchicina (**14**) è un alcaloide appartenente alla famiglia dei tropoloni (**15**), originariamente estratto dalle piante del genere *Colchicum* (in particolare il *Colchicum autumnale*) e presente anche in *Gloriosa superba* (Figura 9). La colchicina è ben conosciuta per il suo uso negli attacchi di gotta, nel trattamento e nella prevenzione di processi infiammatori (ad esempio la febbre mediterranea familiare)<sup>23</sup>, nel trattamento delle pericarditi<sup>24</sup>.

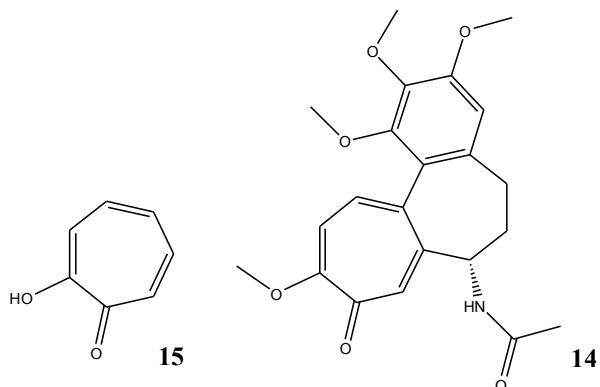


Figura 9. Anello tropolone **15**, Colchicina, **14**

*Colchicum autumnale* e *Gloriosa superba*.

L'esatto meccanismo di azione della colchicina non è completamente conosciuto. La maggior parte dei suoi effetti farmacologici sulle cellule coinvolte nel processo infiammatorio sembrano essere collegati alla sua capacità di bloccare la polimerizzazione dei microtubuli<sup>25</sup> che rappresentano i principali tipi di filamenti proteici che costituiscono il citoscheletro e sono il cuore della regolazione di numerosi processi cellulari (chemiotassi, fagocitosi, migrazione e divisione cellulare)<sup>26</sup>.



La colchicina interagendo all'interfaccia fra  $\alpha$  e  $\beta$ -tubulina impedisce l'allungamento dei microtubuli del fuso mitotico, interrompendo così la divisione e quindi la proliferazione cellulare<sup>27</sup>. Tale meccanismo prende il nome di effetto antimitotico<sup>28</sup>.

Sebbene l'elevata tossicità della colchicina ne impedisca l'uso come composto antitumorale, essa può essere utilizzata come "lead compound" per la realizzazione di potenziali farmaci antitumorali<sup>29</sup>.

### 1.6.1 RELAZIONI STRUTTURA-ATTIVITA' DEGLI ANALOGHI DELLA COLCHICINA: GLI ALLOCOLCHICINOIDI

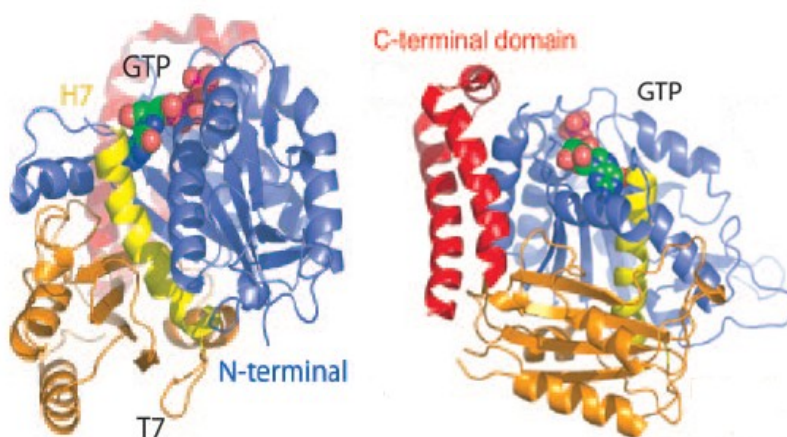
La colchicina è capace di legarsi alla tubulina in maniera non covalente provocando cambiamenti significativi nella sua conformazione. Una volta formatosi tale complesso risulta molto stabile e irreversibile<sup>30</sup>.

Per analizzare il meccanismo d'interazione farmaco-tubulina è necessario descrivere prima la tubulina<sup>31,32</sup>. Come mostrato in *Figura 10* abbiamo un dominio *N*-terminale (colore azzurro) costituito da:

- 6  $\beta$ -foglietti (S1-S6);
- 2  $\alpha$ -eliche (H1-H6);
- Sito di legame ligando (Loop T1-T6);
- Sito di legame costituito da 3  $\alpha$ -eliche (H8-H10) e 3  $\beta$ -foglietti (S7-S10).

Il dominio *C*-terminale (colore rosso) possiede:

- 2  $\alpha$ -eliche antiparallele (H11-H12);
- Una superficie interna formata da serie di loop (H1-S2), (H2-S3) e (S9-S10).



*Figura 10. Descrizione del modello cristallografico della tubulina.*

Studi di cristallografia hanno dimostrato che l'interazione<sup>33</sup> tra la colchicina e la tubulina avviene all'interfaccia del dimero  $\alpha / \beta$ , a livello della regione Cys-239/Cys-354 della  $\beta$ -tubulina. Una distanza di nove Angstrom è presente tra i due atomi di zolfo delle cisteine,

invece vi è una distanza di tre Angstrom tra l'atomo di zolfo della Cys-354 e l'atomo di ossigeno legato al C-3 (Figura 11).

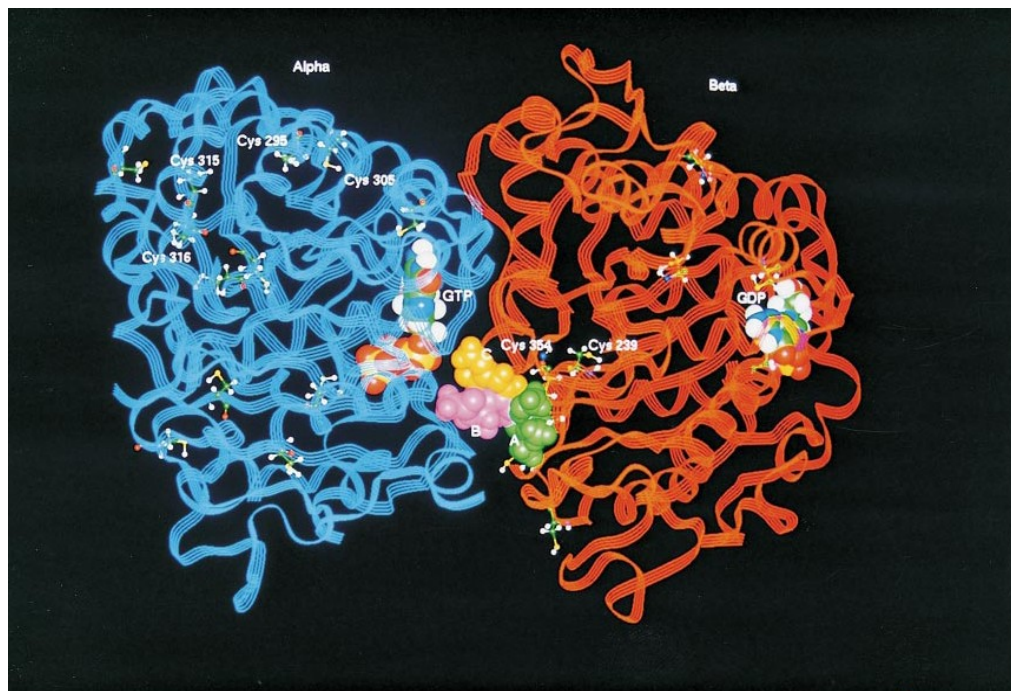
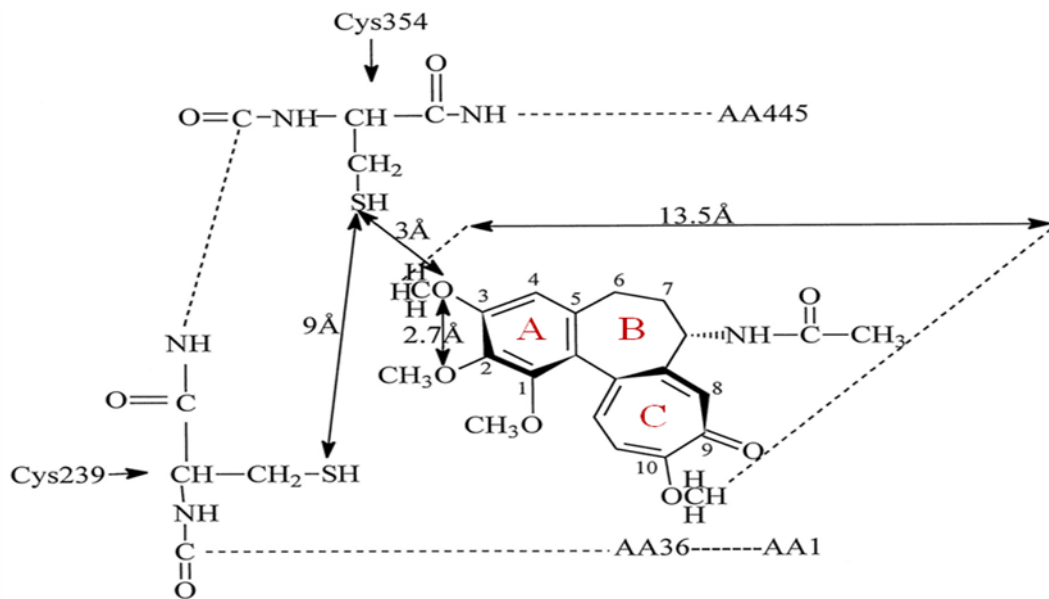


Figura 11. Un modello d'interazione della colchicina con la tubulina<sup>34</sup>.

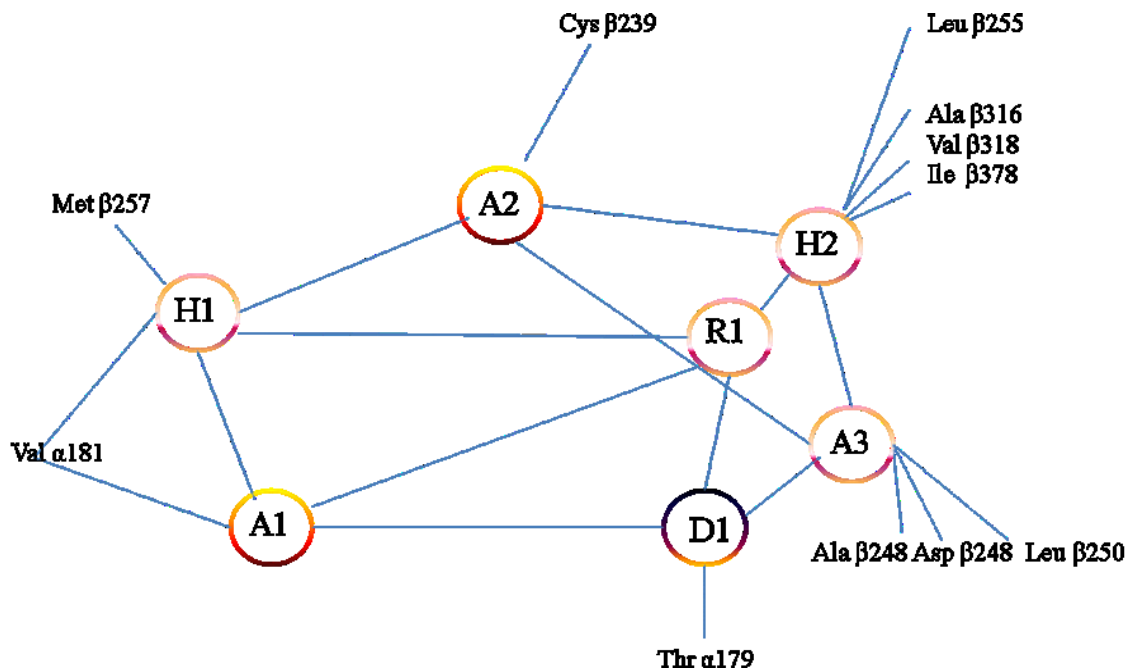
L'anello A è in verde ed interagisce direttamente con Cys354. L'anello B è in viola e interagisce con un dominio di  $\alpha$ -subunità. Infine l'anello C in arancio interagisce con una parte della  $\beta$ -subunità.

Gli aminoacidi coinvolti nell'interazione con la  $\beta$ -tubulina sono His-227 e Phe-270 (con l'anello A della colchicina), Val-23 e Ala-231 (con l'anello B) e Asp-26, Tyr-36 e Phe-242 (con l'anello C); mentre sull' $\alpha$ -tubulina i residui che interagiscono sono: Asp-76 (per l'anello B) e Thr-73 (per l'anello C).

In *Figura 12* è mostrato un modello di farmacoforo<sup>35</sup>, che mette in evidenza gruppi funzionali, disposti opportunamente nelle tre dimensioni spaziali, che sono responsabili dell'effetto di inibizione della polimerizzazione della tubulina sul sito di legame della colchicina. Vi sono sette elementi farmacoforici:

- Tre legami idrogeno accettori (A1, A2 e A3);
- Un legame idrogeno donatore (D1);
- Due centri idrofobici (H1 e H2);
- Un gruppo planare (R1).

I gruppi A2, H2 e R1 sono essenziali per l'attività. In *Figura 12* sono riportate le interazioni più probabili con gli aminoacidi.



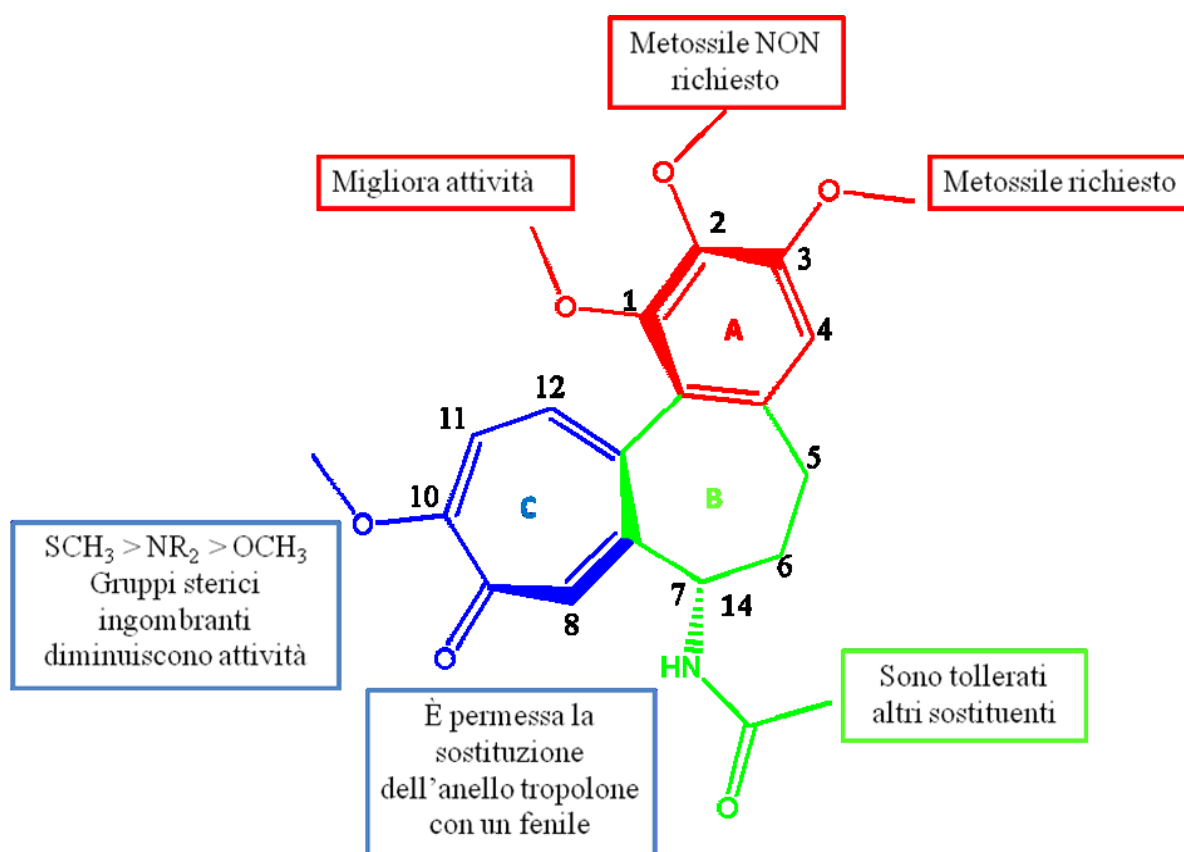
*Figura 12. Modello di farmacoforo.*

La configurazione assoluta dell'alcaloide colchicina nella sua forma biologicamente attiva, è stata determinata da Corrodi e Hardegger<sup>36</sup> ed è la seguente: (-)-(aS,7S)-colchicina. Strutturalmente è costituita da uno scheletro benzo-cicloeptano-tropolonico che comprende tre cicli (*Figura 13*):

**Ciclo A:** benzene con tre gruppi metossilici;

**Ciclo B:** anello a sette termini con un gruppo acetammidico in posizione 7;

**Ciclo C:** ciclotropolone con un gruppo metossilico in alfa rispetto alla funzione chetonica.



*Figura 13. Relazioni struttura-attività della Colchicina.*

La colchicina presenta un solo centro stereogenico: il carbonio in posizione 7 e la sua configurazione assoluta è importante per l'attività.

E' necessario un angolo di torsione di circa 53 gradi tra gli anelli A e C per l'inibizione della tubulina.

In sintesi le porzioni molecolari responsabili dell'inibizione della polimerizzazione della tubulina<sup>37,38</sup> sono le seguenti:

- ✓ Anello A: la rimozione o la demetilazione dei gruppi metossili diminuisce la potenza (essi sono essenziali per stabilizzare il complesso tubulina-colchicina);
- ✓ Anello B: presenta un gruppo acetammidico che può essere sostituito da altre amidi alchiliche. La sostituzione con gruppi amminici provoca una diminuzione dell'attività antitubulinica. Il gruppo acetammidico può essere eliminato del tutto e l'attività è mantenuta.
- ✓ Sostituzione del metossile in posizione 10 sull'anello C: alogeni, gruppi alchilici, amminici sono consentiti senza effetti sul binding con la tubulina, mentre sostituenti di grandi dimensioni diminuiscono l'attività.
- ✓ Nucleo tropolone C a sette termini: sostituzione con un anello aromatico più piccolo non porta a cambiamenti di affinità con la tubulina.

I dati riportati ci hanno suggerito la progettazione di analoghi della colchicina, quali potenziali inibitori della polimerizzazione della tubulina<sup>38</sup>.

Recenti studi hanno dimostrato che il nucleo tropolonico della colchicina non è del tutto necessario per l'espressione dell'effetto anti-mitotico<sup>39</sup>, giacché anche il benzologo naturale della colchicina, l'alcolcolchicina (**16**), ha dimostrato la stessa attività inibitoria nei confronti della tubulina. Sono riportati in letteratura numerosi lavori riguardanti la sintesi di analoghi dell'alcolcolchicina, noti come allocolchicinoidi, in particolare il composto *N*-acetilcolchinolo (**17**) e il suo estere metilico (NSC51046) (**18**) hanno mostrato attività inibitorie della polimerizzazione della tubulina paragonabile alla colchicina stessa (*Figura 14*)<sup>40,41</sup>.

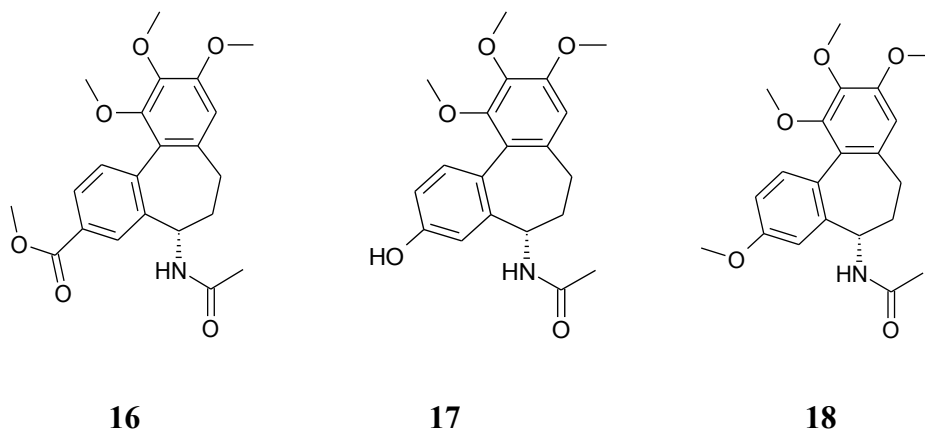
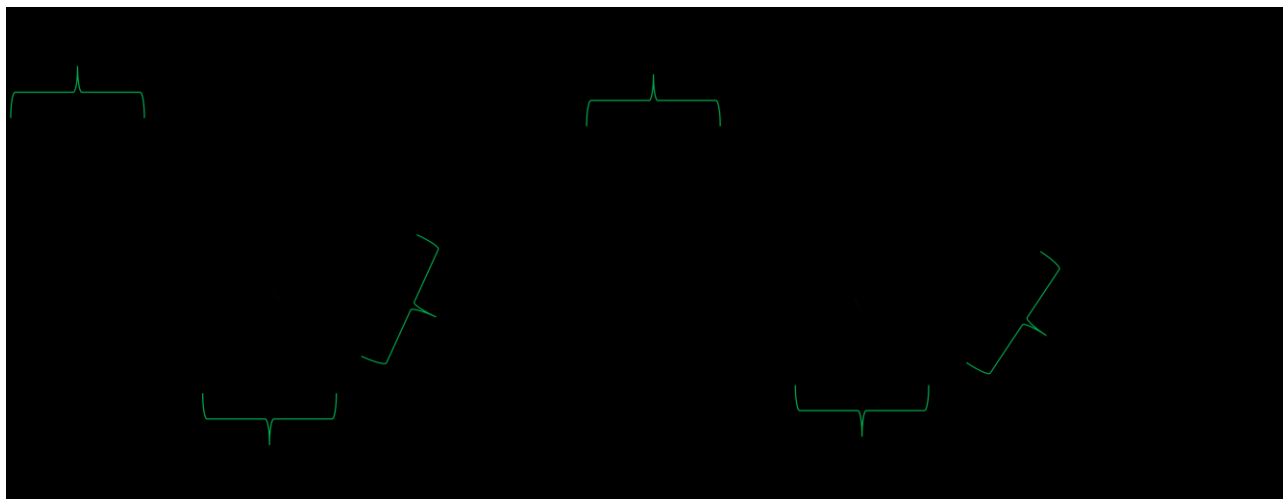


Figura 14. Alcolchicina (**16**); N-acetilcolchinolo (**17**); NSC51046 (**18**).

Per lungo tempo gli alcolchicinoidi sono stati ottenuti partendo da modificazioni della colchicina stessa<sup>42</sup>. In questo lavoro di tesi si sono messe a punto nuove metodiche sintetiche semplici per l'ottenimento di analoghi della colchicina partendo invece da molecole piccole, semplici e commercialmente disponibili. I derivati ottenuti sono stati saggiati su linee tumorali (KB) al fine di valutarne l'attività citotossica.

## 1.7 ALCALOIDI FENANTROINDOLIZIDINICI: ANTOFINA E TILOFORINA

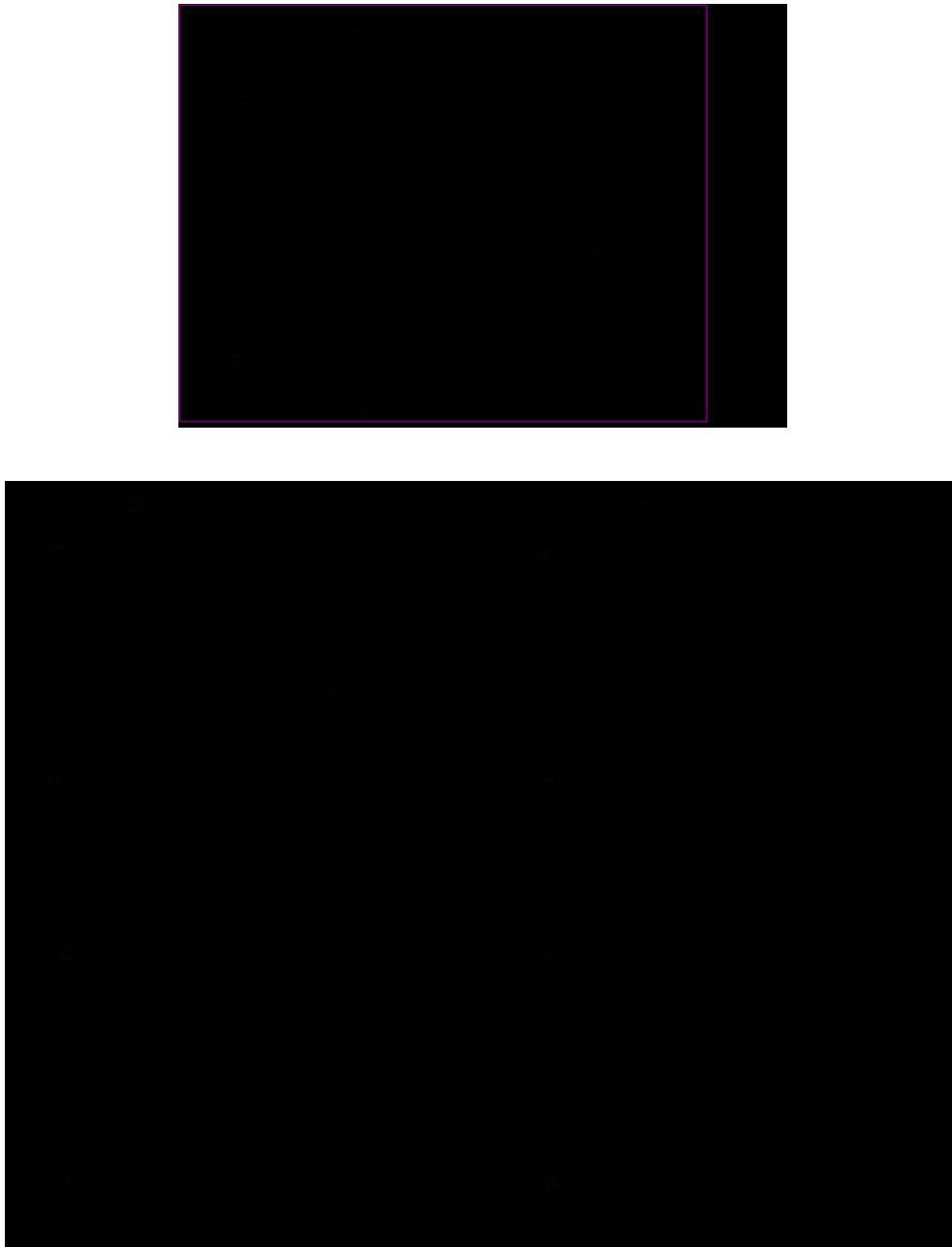
Gli alcaloidi fenantroindolizidinici e gli alcaloidi fenantrochinolizidinici (*Figura 15*) rappresentano una famiglia di piccole molecole derivate dalle piante del genere *Asclepiadaceae*, *Cynanchum*, *Vincetoxicum nigrum*, *Pergularia* e *Tylophora*, native dell'India e dell'Asia del Sud<sup>43</sup>. Recenti studi hanno dimostrato che, dalle predette specie, sono state isolate più di sessanta molecole diverse con attività antivirale, anti-infiammatoria, anti-proliferativa e anti-tumorale<sup>44</sup>.



*Figura 15. Strutture fenantroindolizidinica e fenantrochinolizidinica.*

I principali rappresentanti di questa classe sono la Tiloforina e l'Antofina (*Figura 16*). Quest'ultime presentano una buona azione citotossicità nei confronti di diverse linee cancerose<sup>45</sup>.





*Figura 16. Antofina e Tiloforina e alcuni esempi di analoghi.*

Le molecole riportate in *Figura 16* presentano potenti effetti inibitori nei confronti delle cellule in proliferazione mediante interruzione della fase G<sub>2</sub>/M del ciclo cellulare, con conseguente inibizione dell'espressione di ciclina D<sub>1</sub>, ciclina E e CDK4. Le chinasi dipendenti da ciclina (Cdk, *Cyclin-dependent kinase*) e le cicline sono due classi di proteine fondamentali che costituiscono il sistema di controllo del ciclo cellulare. L'espressione della ciclina D<sub>1</sub> oscilla moderatamente durante il ciclo cellulare con picchi di livello nella fase G<sub>1</sub>. Il gene che codifica la ciclina D<sub>1</sub> è un proto-oncogene localizzato sul cromosoma 11. Questo gene è frequentemente amplificato o inibito nella sua espressione in un ampio range di

patologie maligne umane come: il tumore della mammella, del colon, della cute e della vescica<sup>46</sup>.

Fondamentale è l'inibizione dell'attività del fattore nucleare Kappa B (NF-kB) e della proteina attivatrice-1 (AP-1), due fattori di trascrizione genica (sempre in eccesso nelle cellule tumorali)<sup>47</sup>.

NF-kB ha un ruolo centrale sia nel controllo della risposta infiammatoria che nello sviluppo del tumore, infatti, è rapidamente attivato come risposta a infezioni infiammatorie e stress (danno al DNA). Esso promuove la produzione di citochine (IL-6 e tumor necrosis factor  $\alpha$ ), regola l'espressione di geni che codificano per fattori di crescita, molecole di adesione e fattori pro-angiogenici, tutte molecole che favoriscono la crescita e la sopravvivenza delle cellule tumorali.

NF-kB media, inoltre, importanti processi cellulari incluse le risposte immunitarie, così come la crescita, la sopravvivenza e l'apoptosi nel mieloma multiplo. L'attivazione intrinseca di NF-kB è associata alla crescita del mieloma. Quindi NF-kB è un regolatore chiave della crescita e della sopravvivenza delle cellule di mieloma midollare.

Recenti lavori riportano, inoltre, che l'Antofina è capace di interagire con regioni del DNA e dell'RNA con conseguente inibizione della sintesi di proteine e acidi nucleici<sup>48</sup>. Nello specifico si è riscontrato un'inibizione della timidilato sintasi (TS), un enzima chiave nell'ambito della riproduzione cellulare capace di catalizzare uno step fondamentale nella sintesi degli acidi nucleici (DNA), ossia la reazione di metilazione della desossitimidina monofosfato (dUMP) a desossitimidina monofosfato (dTMP)<sup>49</sup>. L'Antofina inibisce anche la diidrofolato reduttasi (DHFR), enzima che catalizza la riduzione dell'acido diidrofolicco ad acido tetraidrofolicco. Dal momento che il tetraidrofolato, prodotto della reazione, è la forma attiva dell'acido folico nell'uomo, l'inibizione della DHFR può causare un deficit funzionale di acido folico, necessario alle cellule a rapida proliferazione per la produzione di timina. Tale effetto può risultare terapeutico, perché in grado di bloccare la crescita incontrollata delle cellule tumorali<sup>50</sup>.

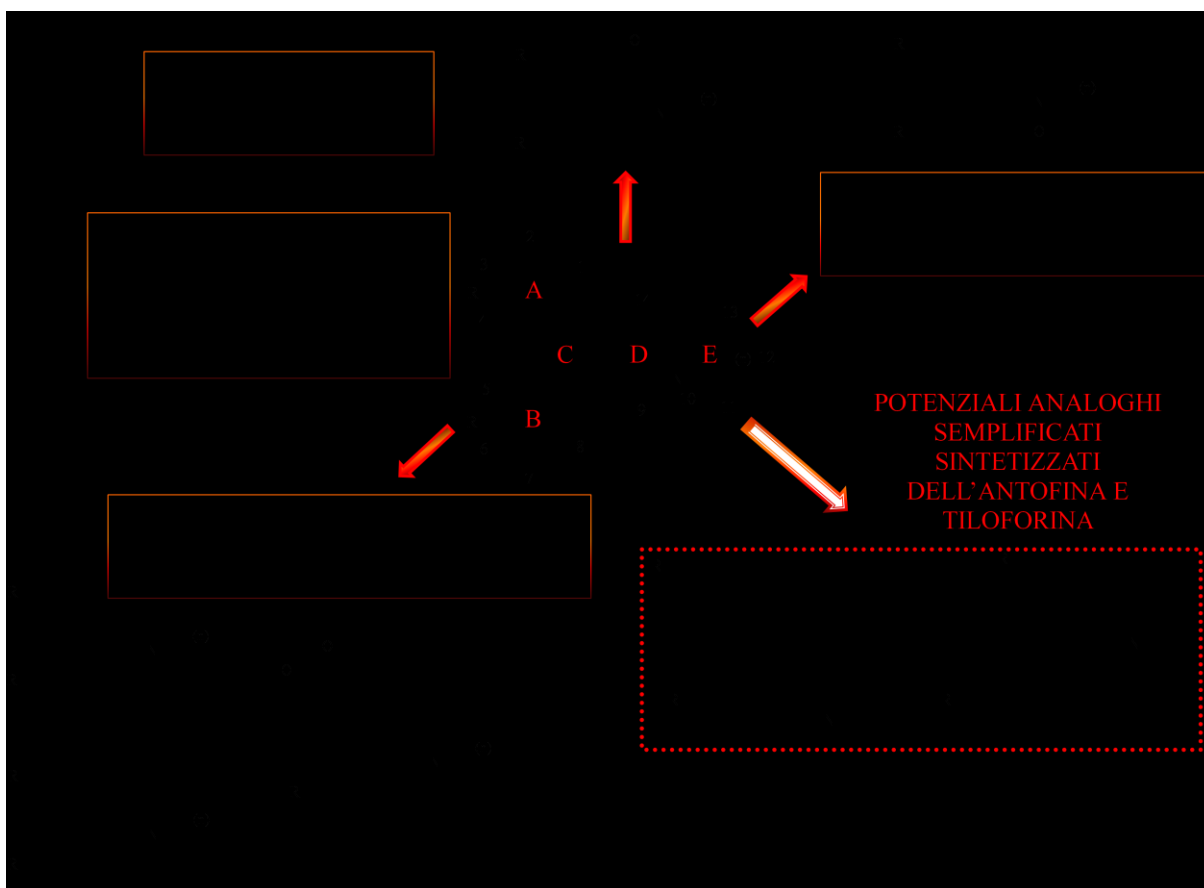
Dati recenti dimostrano che l'attività citotossica degli alcaloidi fenantroindolizidinici e degli intermedi sintetici è buona su una serie di linee cellulari umane cancerose: al seno e al polmone. Queste molecole sono risultate utili anche per la soppressione della proliferazione del carcinoma epatocellulare e del tumore al sistema nervoso centrale (grazie alla possibilità di superare la barriera ematoencefalica)<sup>51</sup>.

### 1.7.1 RELAZIONI STRUTTURA-ATTIVITA' DI ANALOGHI DELL'ANTOFINA E DELLA TILOFORINA

Le fenantroindolizine sono composti costituiti da un nucleo fenantrenico fuso ad un anello indolizidinico. Numerosi studi di relazione struttura-attività hanno messo in evidenza una serie di effetti biologici importanti strettamente dipendenti dalla presenza di sostituenti posti sull'anello fenantrenico; dalla presenza o meno dell'anello indolico (fuso e non), dalla presenza o meno di un gruppo idrossilico in posizione C14 e dallo stato di ossidazione dell'ammina (*Figura 17*).

Analizziamo in breve gli aspetti più importanti:

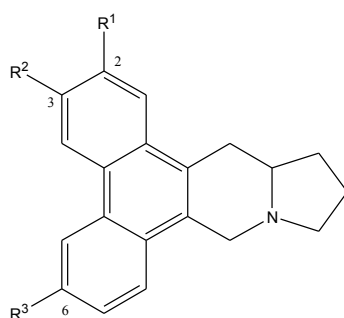
- ❖ I sostituenti sull'anello fenantrenico influiscono notevolmente sull'attività (*in vitro*) anti-cancro<sup>52,53</sup>. Per cercare di non ridurre gli effetti citotossici è importante che i sostituenti sul C2 e sul C3 siano di piccole dimensioni (-OMe, -OH, -OCH<sub>2</sub>O, etc..). A livello di C3 e C6 possono essere introdotte, quindi, varie modifiche strutturali e se sul C6 è presente un gruppo idrossilico, l'attività aumenta rispetto all'antofina.
- ❖ Molti derivati della tiloforina mancano del nucleo fenantrenico o il nucleo indolico non risulta esser fuso. In entrambi i casi si riscontrano: differente meccanismo biologico e minore attività cancerosa rispetto ai loro analoghi. Ciò sembra essere legato alla forma strutturale della molecola: quando la struttura è aperta, si ha conseguentemente perdita della planarità, requisito essenziale per l'attività inibitoria della biosintesi proteica<sup>54</sup>.
- ❖ Le molecole che presentano l'*N*-ossido risultano meno attive<sup>55</sup>.
- ❖ Studi bibliografici hanno reso evidente come il pH del terreno di coltura cellulare abbia un forte effetto sull'attività delle fenantroindolizidine e fenantrochinolizidine. Ad esempio la Tiloforina a pH 5.8 è meno citostatica rispetto a quando il pH è 7.0. Questo indica non solo che la forma non protonata dell'ammina è necessaria nel trasporto trans-membranario nella cellula, ma potrebbe anche indicare che questa forma è quella più adatta a legarsi al recettore<sup>56</sup>.
- ❖ Alcune fenantroindolizidine hanno una stereochimica C13a (*R*) e altre invece C13a (*S*). Tuttavia, in alcune forme tumorali l'enantiomero naturale *R* è più citotossico rispetto all'*S* e viceversa. Nella serie *R* è importante il gruppo metossilico in posizione C2, nella serie *S* invece tale gruppo deve essere presente in C7.
- ❖ I derivati che presentano sul C14 un gruppo idrossilico, sono meno attivi dei corrispondenti derivati non idrossilati<sup>57</sup>.



*Figura 17. Relazioni Struttura-Attività degli Alcaloidi fenantroindolizidinici.*

In *Tabella 1* sono indicati i risultati riguardanti la citotossicità di alcuni di questi derivati. Il test è effettuato grazie alla Sulforodamina B, test colorimetrico che evidenzia il comportamento proliferativo delle cellule (riportate in tabella) sottoposte all'azione del composto che si vuole testare. Poiché la Sulforodamina B è un colorante in grado di legarsi alle proteine cellulari, la quantità del colorante stesso, rivelata spettrofotometricamente, è direttamente proporzionale al numero di cellule vive in ogni pozzetto<sup>58</sup>.

I risultati indicano che rispetto all'antofina la sostituzione del gruppo metossilico in posizioni 3 e 6 con un gruppo più ingombrante (isopropilico) non altera in modo significativo la citotossicità nei confronti di alcune linee cellulari cancerose testate (vedi tabella seguente). Tuttavia, la presenza di un gruppo ingombrante in posizione 2 provoca perdita completa di attività, e probabilmente ciò è dovuto ad un'interazione sfavorevole causata dall'ingombro sterico del gruppo. Inoltre, rimpiazzando il gruppo metossilico con un gruppo idrossilico in posizione 2 si ha diminuzione d'attività, esso è invece ben tollerato in posizione 3, mentre per sostituzione della posizione 6 con un gruppo OH l'attività viene di gran lunga migliorata ( $IC_{50}=1.1nM$ ) rispetto all'antofina<sup>58</sup>.



R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	IC <sub>50</sub> (nM)		
			HCT 116 <sup>a</sup>	HT-1080 <sup>b</sup>	A549 <sup>c</sup>
OMe	OMe	OMe	9.9	9.6	10.4
OMe	OMe	OMe	29.4	27.5	25.1
O <sup>i</sup> Pr	OMe	OMe	783.2	>1000	>1000
OMe	O <sup>i</sup> Pr	OMe	24.7	37.4	53.9
OMe	OMe	O <sup>i</sup> Pr	19.2	23.6	40.5
OH	OMe	OMe	68.3	72.6	>100
OMe	OH	OMe	21.4	19.8	49.8
OMe	OMe	OH	1.1	1.1	1.4
OMe	OMe	H	49.3	59.1	>100
-OCH <sub>2</sub> O-	OMe	OMe	364.1	453.0	747.2

Tabella 1. Risultati riguardanti la citotossicità dell'antofina e di analoghi.

(a: carcinoma colon-rettale; b: adenocarcinoma colon-rettale; c: carcinoma polmonare).

In *Tabella 2* è riportata inoltre l'attività citotossica dell'antofina su alcune linee cellulari (riportate in tabella) rispetto ad altri farmaci tumorali conosciuti<sup>59</sup>. L'inibizione sulla crescita di diverse linee cellulari umane ha sempre valori di IC<sub>50</sub> al di sotto di 30nM.

Linee cellulari	Classificazione	IC <sub>50</sub> (nM)			
		Antofina	Paclitaxel	Vinblastina	Camptotecina
HCT 116	Cancro del colon	6.3	10.6	1.4	54.0
HT-29	Cancro del colon	10.8	6.9	0.9	166.7
A549	Cancro del polmone	9.6	1.4	17.0	168.4
NCI-H358	Cancro del polmone	7.0	9.9	1.2	41.1
MDA-MB-231	Cancro al seno	12.2	>100	>1000	>500
T47D	Cancro al seno	19.7	17.5	>100	61.3
SNU-638	Cancro allo stomaco	8.9	5.7	2.2	18.7
HT-1080	Fibrosarcoma	7.1	9.9	0.8	148
HL-60	Leucemia	10.7	10.0	1.0	15.1
A549-PA	Cancro al polmone	8.9	321.2	NT <sup>a</sup>	NT
HCT 116-FU	Tumore al polmone resistente ai farmaci	8.3 <sup>b</sup>	NT	NT	NT

*Tabella 2. Effetto inibitorio dell'antofina in cellule cancerose umane in proliferazione.*

*Le cellule sono state trattate con differenti concentrazioni di antofina per 48h.*

## BIBLIOGRAFIA

- (<sup>1</sup>) Harwell W.B.; *J. Tenn. Med. Assoc.*, **1982**, 75(1), 20-21.
- (<sup>2</sup>) Newman D.J., Cragg G.M., Snader K.M.; “Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002”; *J. Nat. Prod.*, **2003**, 66(7), 1022-1037.
- (<sup>3</sup>) Cragg G.M. e Newman D.J.; “Plants as a source of anti-cancer agents”; *J. Ethnopharmacol.*, **2005**, 100(1-2), 72-79.
- (<sup>4</sup>) Cragg G.M. e Newman D.J.; “Discovery and development of antineoplastic agents from natural sources”; *Cancer. Invest.*, **1999**, 17, 153-163.
- (<sup>5</sup>) Alberts B., Bray D., Lewis J., Rarr M., Robert K.; *Biologia molecolare della cellula (Zanichelli)*; 2006, 1049-1058.
- (<sup>6</sup>) Wani M.C., Tayler H.I., Wall M.E., Coggon P., McPhail A.T.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1927**, 93, 2325–2327.
- (<sup>7</sup>) Jordan M.A., Toso R.J., Thrower D., Wilson L.; “Mechanism of mitotic block and inhibition of cell proliferation by taxol at low concentrations”; *Prot. Natl. Acad. Sci.*, **1993**, 90, 9552.
- (<sup>8</sup>) Kingston D.G., Hawkins D.R., Ovington L.; “New taxanes from *Taxus brevifolia*”; *J. Nat. Prod.*, **1982**, 45(4), 466-470.
- (<sup>9</sup>) Cheson B.D., Arbuck S.G., Phillips P.H.; “Clinical trials referral resource. Clinical trials with Docetaxel (Taxotere)”; *Oncology*, **1993**, 7(9), 51-52.
- (<sup>10</sup>) Imbert T.F.; *Biochimie*, **1998**, 80, 207–222.
- (<sup>11</sup>) Lee K.H., Imamura Y., Haruna M., Beers S.A., Thurston L.S., Dai H.J., Chen C.H., Liu S.Y., Chan Y.C.; “Plant-derived natural product research aimed at new drug discovery”; *J. Nat. Prod.*, **1989**, 52, 606–613.
- (<sup>12</sup>) Wu W.L., Chang W.L., Chen C.F.;” Association of the renin-sodium profile with the risk of myocardial infarction in patients with hypertension”; *J. Chin. Med.*, **1991**, 14, 207–16.
- (<sup>13</sup>) Bertram G. Katzung; *Farmacologia generale e clinica*, Piccin editore.



- (14) Cho S.J, Trosha A., Suffness M., Chen Y.C., Lee K.H.; “Plant-derived natural product research aimed at new drug discovery”; *J. Med. Chem.*, **1996**, *39*, 1383–1385.
- (15) Porter P.; *Sem. Oncol.*, **1989**, *16*, 2–4.
- (16) Jenks S., Smigel K.; *J. Natl. Cancer. Inst.*, **1996**, *87*, 167–170.
- (17) Vlahov I.R., Santhapuram H.K.R., Kleindl P.J., Howard S.J., Stanford K.M., Leamon C.P.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2005**, *16*, 5093–5096.
- (18) Okouneva T., Hill B.T., Wilson L., Jordan M.A.; “Suppression of microtubule dynamics by discodermolide by a novel mechanism is associated with mitotic arrest and inhibition of tumor cell proliferation”; *Mol. Cancer. Ther.*, **2003**, *2*, 427–436.
- (19) Wall M.E., Wani M.C., Cook C.E., Palmer K.H., McPhail A.T., Sim G.A.; “Plant antitumor agents. i. the isolation and structure of camptothecin, a novel alkaloidal leukemia and tumor inhibitor from *camptotheca acuminata*”; *J. Am. Chem. Soc.*, **1966**, *88*, 3888–3890.
- (20) Hsiang Y., Hertzberg R., Hecht S., Liu L.F.; “Camptothecin induces protein-linked DNA breaks via mammalian DNA topoisomerase I.”; *J. Biol. Chem.*, **1985**, *260*, 14873-14878.
- (21) Covey J.M., Jaxel C., Konn K.W., Pommer Y.; *Cancer. Res.*, **1989**, *49*, 5016–5022.
- (22) Marrelli M., Conforti F., Statti G.A., Cachet X., Michel S., Tillequin F., Menichini F.; “Biological Potential and Structure-Activity Relationships of Most Recently Developed Vascular Disrupting Agents: An Overview of New Derivatives of Natural”; *Current medicinal*, **2011**, *18*, 3035-3081.
- (23) Brossi, A.; *J. Med. Chem.*, **1990**, *33*, 2311.
- (24) Niel E.; Sherrmann J.-M.; “Actualité de la colchicine” ; *Revue du Rhumatisme* ,**2006**, *73*, 1338–1345.
- (25) Rodriguez de la Serna A.; Guido J.; Marti V.; Bayes de Luna A.; “Colchicine for recurrent pericarditis”; *Letter. Lancet*, **1987**, *2*, 1517.
- (26) Molad Y.; “Update on colchicine and its mechanism of action”; *Curr. Rheumatol Rep.*, **2002**, *3*, 252-256.

- (27) Lange U.; Schumann C.; Schmidt K.L.; “Current aspects of colchicine therapy: classical indications and new therapeutic uses”; *Eur. J. Med. Res.*, **2001**, *6*, 150-160.
- (28) Cheng V.C.; Ho P.L.; Yuen K.Y. ; “Two probable cases of serious drug interaction between clarithromycin and colchicine.” *South. Med. J.*, **2005**, *98*, 811-813.
- (29) Jordan A.; Hadfield J.A.; “Tubulin as a target for anticancer drugs: agents which interact with the mitotic spindle”; *Med. Res. Rev.*, **1998**, *18*, 259-296.
- (30) Hastie S. B.;” Interactions of colchicine with tubulin” *Pharmacol. Ther.*,**1991**, *51*, 377–401.
- (31) Nogales E., Wolf S.G. e Downing K.H.; “Structure of the tubulin dimer by electron crystallography”; *Nature*, **1998**, *391*, 199-203.
- (32) Bai R., Covell D.G., Pei X.F., Ewell J.B., Nguyen Y.N., Brossi A. e Hamel E.; *J. Biol. Chem.*, “Mapping the binding site of colchicinoids on  $\beta$ -tubulin”; **2000**, *275*, 40443-40452.
- (33) Williams R.F., Mumford C.L., Williams G.A., Floyd L.J., Aivaliotis M.J., Martinez R.A., Robinson A.K., Barnes L.D.; ” Photoaffinity labeling of tubulin with (2-nitro-4-azidophenyl) deacetylcolchicine: direct evidence for two colchicine”; *J. Biol. Chem.*,**1985**, *260*, 13794–13802.
- (34) Chaudhuri A.R., Seetharamalu P., Schwarz P.M., Hausheer F., Ludueña R.; “The interaction of the B-ring of colchicine with  $\alpha$ -tubulin: a novel footprinting approach”, *Journal of Molecular Biology*, , **2000**, *303*, 679-692.
- (35) Nguyen T.L., McGrath C., Hermone A.R., Hamel E., Gussio R.; “A common pharmacophore for a diverse set of colchicine site inhibitors using a structure-based approach”; *J. Med. Chem.*, **2005**, *48*, 6107-6116.
- (34) Floyd L.J., Barnes L.D., Williams R.F.; “Localization of the colchicine-binding site of tubulin”; *Biochemistry*, **1989**, *28*, 8515–8525.
- (35) Ke C., Torin H., Holly F., Parameswaran R., Andreas A., Jack A.T. and Lukasz K.; “Identification of tubulin drug binding sites and prediction of relative differences in binding

affinities to tubulin isotypes using digital signal processing”; *Journal of Molecular Graphics and Modelling*, **2008**, *27*, 497-505.

(36) Corrodi, H., Hardegger, E.; “Die Konfiguration des Colchicins und verwandter Verbindungen”; *Helv. Chem. Acta*, **1955**, *38*, 2030-2033.

(37) Capraro H.G., Brossi A.; “Bioactive alkaloids. Results of recent investigations with colchicine and physostigmine”; *J. Med. Chem.* **1990**, *33*, 2311-2319.

(38) Eliel, E.L., Wilen, S.H.; *Stereochemistry of Organic Compounds*, “Configuration and conformation of cyclic molecules”; **1994**, 1119-1122.

(39) Chen K., Kuo S.C., Hsieh M.C., Mauger A., Lin C.M., Hamel E., Lee K.H.; “Antitumor Agents. 174. 2', 3', 4', 5, 6, 7-Substituted 2-Phenyl-1, 8-naphthyridin-4-ones: Their Synthesis, Cytotoxicity, and Inhibition of Tubulin Polymerization 1”; *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3049-3056.

(40) Baiyung Y., Zhiqing C.Z., Holy V.G., Marvin J.M. ; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2010**, *20*, 3831-3833.

(41) Jordan M.A., Wilson L.; “Microtubules as a target for anticancer”; *Nat. Rev. Cancer* , **2004**, *59*, 163.

(42) Lin J.C., Yang S.C., Hong T.M., Yu S.L., Shi Q., Wei L., Lee K.H.; “Phenanthrene-Based Tylophorine-1 (PBT-1) Inhibits Lung Cancer Cell Growth through the Akt and NF- $\kappa$ B Pathways”; *J. Med. Chem.*, **2009**, *52*, 1903-1911.

(43) Berenson J.R., Ma H.M., Vescio R.; “The role of nuclear factor-[kappa] b in the biology and treatment of multiple myeloma”; *Semin. Oncol.*, **2001**, *28*, 626-633.

(44) Yang X., Shi Q., Liu Y.N., Zhao G., Bastow K.F., Lin J.C., Yang S.C., Yang P.C., Lee K.H.; “Design, synthesis, and mechanistic studies of new 9-substituted phenanthrene-based tylophorine analogues as potent cytotoxic agents”; *J. Med. Chem.*, **2009**, *52*, 5262-5268.

(45) Chemler S.R.; “Phenanthroindolizidines and Phenanthroquinolizidines: Promising Alkaloids for Anti-Cancer Therapy”; *Current Bioactive Compounds*, **2009**, *5*, 2-19.

(46) Li S., Han L., Sun L., Zheng D., Liu J., Fu Y., Huang X., Wang Z.; “Synthesis and Antitumor Activities of Phenanthrene-Based Alkaloids”; *Molecules*, **2009**, *14*, 5042-5053.

- (47) Fu Y., Lee S.K., Min H.Y., Lee T., Lee J., Cheng M., Kim S.; “Synthesis and structure-activity studies of antofine analogues as potential anticancer agents”; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **2007**, *17*, 97-100.
- (48) Min H.Y., Chung H.J., Kim E.H., Kim S., Park E.J., Lee S.K.; “Inhibition of cell growth and potentiation of tumor necrosis factor-[alpha](TNF-[alpha])-induced apoptosis by a phenanthroindolizidine alkaloid antofine in human colon” ; *Biochemical Pharmacology*, **2010**, *80*, 1356-1364.
- (49) Suffness M., Douros J.; “Miscellaneous natural products with antitumor activity”; *Anticancer Agent Based on Natural Product Models*, **1980**, 465-487.
- (50) Donaldson G.R., Atkinson M.R., Murray A.W.; *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **1968**, *31*, 104-109.
- (51) Bhutani K.K., Sharma G.L., Ali M.; *Planta Med.*, **1987**, *53*, 532-536.
- (52) Banwell M.G., Bezos A., Burns C., Kruszelnicki I., Parish C., Su S., Sydes M.O.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2006**, *16*, 181-185.
- (53) Staerk D., Christensen J., Lemmich E., Duus J., Olsen C.E., Jaroszewski J.W.; *J. Nat. Prod.*, **2000**, *63*, 1584-1586.
- (54) Gao W., Busson S., Grill S.P., Gullen E.A., Hu Y.C., Huang X., Baker D.C., Yu S., Cheng Y.C.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, *17*, 4338-4342.
- (55) Grant P., Sanchez L., Jimenez A.; “Cryptopleurine resistance: genetic locus for a 40S ribosomal component in *Saccharomyces cerevisiae*”; *J. Bacteriology*, **1974**, *120*, 1308-1314.
- (56) Gao W., Lam W., Zhong S., Kaczmarek C., Baker D.C., Cheng Y.C.; “Novel mode of action of tylophorine analogs as antitumor compounds”; *Cancer Res*, **2004**, *64*, 678-688.
- (57) Gao W., Busson S., Grill S.P., Gullen E.A., Hu Y.-C., Cheng Y.-C.; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, *17*, 4338-4342.
- (58) Lee S.K., Cui B., Mehta R.R., Kinghorn A.D., Pezzuto J.M.; “Cytostatic mechanism and antitumor potential of novel 1H-cyclopenta [b] benzofuran lignans isolated from *Aglaia elliptica*”; *Chem. Biol. Interact.*, **1998**, *115*, 215.

<sup>(59)</sup> Staerk D., Lykkeberg A.K., Christensen J., Budnik B.A., Abe F., Jaroszewski J.W.; “In Vitro Cytotoxic Activity of Phenanthroindolizidine Alkaloids from *Cynanchum v incetoxicum* and *Tylophora* against Drug-Sensitive and Multidrug-Resistant”; *J.Nat.Prod.*, **2002**, 65, 1299-1302.

## SITOGRAFIA

<http://it.wikipedia.org/wiki/Alcaloidi>

[http://www.farmacoteca.com/farmaci/farmaci\\_alcaloidi.asp](http://www.farmacoteca.com/farmaci/farmaci_alcaloidi.asp)

<http://www.cancerquest.org/index.cfm?page=520&lang=italian>



## 2 CAPITOLO II:

### *INTRODUZIONE ALLA RICERCA*

*«Le début ne laisse pas  
présager la fin».*

*Hérodote  
Extrait de « Histoires »*





## 2.1 PROSPETTIVE DEL LAVORO

La parte sperimentale della tesi è stata svolta principalmente presso il Centro di Studi e di Ricerca dei Medicamenti di Normandia (CERMN) e, pur riguardando lo studio di due differenti classi di composti, ha avuto come denominatore unico la progettazione e la realizzazione di nuovi farmaci con potenziale attività antitumorale.

In particolare, sono stati studiati:

- a) analoghi della colchicina;
- b) analoghi dell'antofina e della tiloforina.

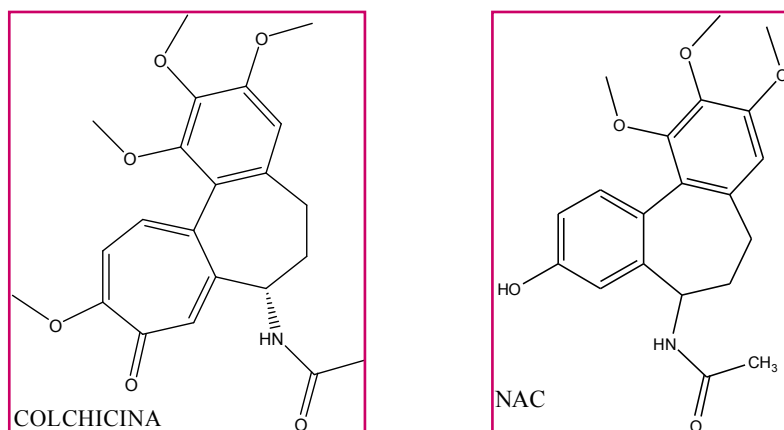
Lo scopo è stato, inoltre, quello di ricercare analogie strutturali e di reattività tra i sistemi eterociclici polifunzionali, realizzati grazie a metodologie sintetiche via aril- $\beta$ -aminoacidi.

Il gruppo di ricerca del CERMN, diretto dal professor Dallemagne e dal Dr Rochais, negli ultimi anni ha, infatti, focalizzato gli interessi della ricerca verso la sintesi di derivati strutturalmente correlati ad alcaloidi naturali mediante l'utilizzo di prodotti facili da trovare (per esempio grazie ad aldeidi diversamente sostituite). Inoltre, particolare attenzione è stata rivolta a studi riguardanti la reattività chimica degli acidi- $\beta$ -amino arilpropionici<sup>1</sup>.

Ulteriore obiettivo della tesi è stato la valutazione dell'attività biologica dei composti e degli intermedi ottenuti in collaborazione con l'Istituto di Chimica delle Sostanze Naturali di Gif-sur-Yvette di Parigi.

## 2.2 STRATEGIE SINTETICHE

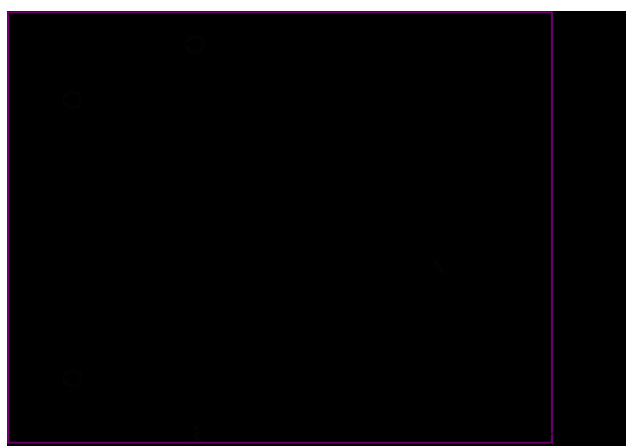
- ✓ La prima parte del progetto ha riguardato lo studio della reattività di aldeidi a struttura bifenilica (**19**) (*Figura 18*), impiegate in una sequenza multi tappe, per l'accesso a una nuova famiglia di analoghi del NAC (*N*-Acetilcolchinolo)<sup>2</sup> quale potente antimitotico, inibitore della tubulina (*Schema 1*).



*Schema 1. Schema retrosintetico per l'ottenimento di analoghi della Colchicina.*

Lo scopo principale è stato quello di mettere appunto una strategia di sintesi per l'ottenimento delle molecole di interesse e di valutare l'influenza dei sostituenti sul sistema ciclico nei confronti dell'attività citotossica.

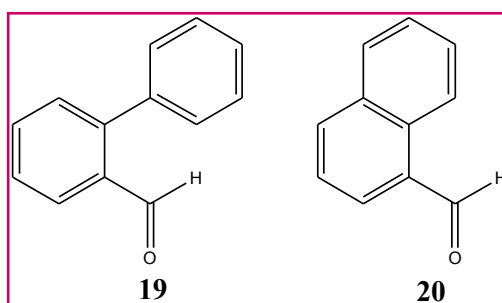
- ✓ Nella seconda parte del progetto, invece, grazie all'utilizzo di derivati aldeidici commerciali a struttura naftaldeidica (**20**) (*Figura 18*) è stata realizzata la sintesi di sistemi eterociclici semplificati quali analoghi della tiloforina e dell'antofina, come nuovi potenziali antitumorali (*Schema 2*).



*Schema 2. Schema retrosintetico per l'ottenimento di analoghi dell'Antofina e Tiloforina.*

Anche in questo caso lo scopo è stato quello di mettere a punto una strategia di sintesi per l'ottenimento delle molecole desiderate e di valutare l'influenza sull'attività citotossica di un sistema naftalenico rispetto ad un sistema fenantrenico presente invece nelle strutture di riferimento (Antofina e Tiloforina).

Gli schemi sintetici realizzati durante il lavoro sono particolarmente versatili e vantaggiosi in quanto gli starting materials impiegati: la 2-bifenilcarbaldeide (**19**) e la naftaldeide (**20**) (*Figura 18*) sono commercialmente disponibili e poco costosi.



*Figura 18. Aldeidi a struttura 2-bifenilcarbaldeidica (**19**) e a struttura naftaldeidica (**20**).*

## BIBLIOGRAFIA

- <sup>(1)</sup> Renault O., Guillon J., Huard C, Miel H., Stiebing S., Lebourn S., Boulouard M., Dallemagne P., Rault S.; “Synthesis and CNS activity of new 3-amino-3-aryl propionic acid derivatives a central”; *Pharm. Pharmacol. Commun.*, **1999**, 5, 217-223.
- <sup>(2)</sup> Broady S.D., Golden M.D., Leonard J., Muir J.C., Maudet M; “Asymmetric synthesis of (S)-(-)-N-acetylcolchinol via Ullmann biaryl coupling”; *Tetrahedron Letters*, **2007**, 48(26), 4627-4630 .



### 3 CAPITOLO III

**SCOPO DELLA RICERCA:**

***ANALOGHI DELLA COLCHICINA***

*« Il mondo non ha bisogno  
di dogmi, ma di libera  
ricerca ».*

*Bertrand Arthur William  
Russell (Bertrand Russell)  
(1872-1970)*





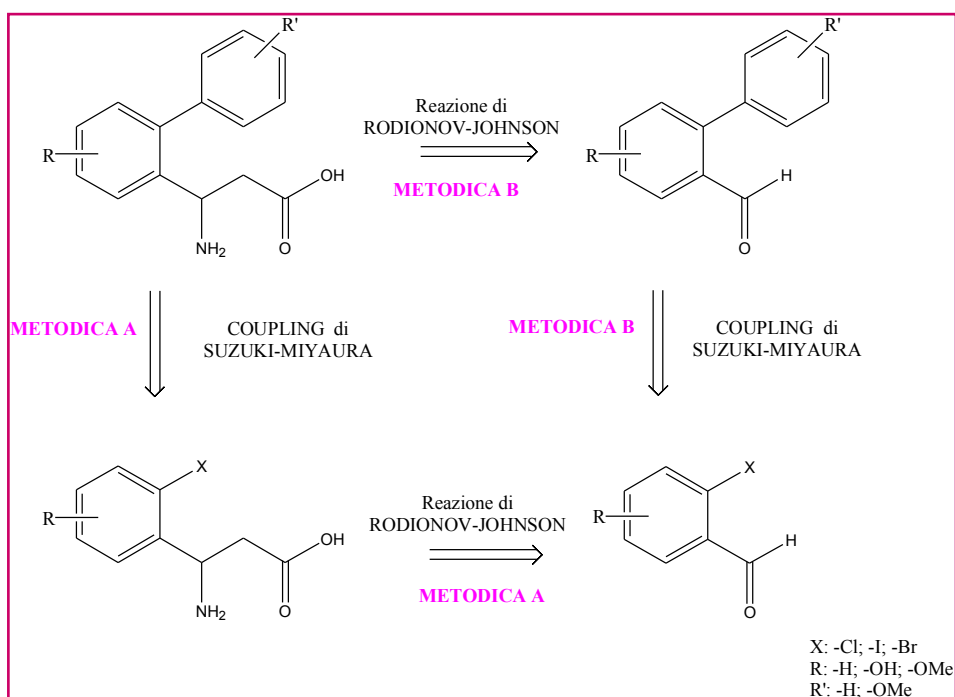
### 3.1 SCOPO DELLA RICERCA

#### 3.1.1 SINTESI DI ANALOGHI DELLA COLCHICINA: GLI ALLOCOLCHICINOIDI

Il presente lavoro di tesi ha come obiettivo principale lo studio chimico-farmaceutico, la caratterizzazione e la valutazione biologica di nuovi alcaloidi naturali, quali nuovi analoghi a struttura semplificata, con potenziali attività antitumorali.

La prima parte del lavoro ha previsto la progettazione e la realizzazione (attraverso un semplice schema sintetico) del sistema 7-aminodibenzo[a,c]cicloepa-5-one a partire da *orto*-alogenuro benzaldeidi diversamente sostituite e commercialmente disponibili.

Nello *Schema 3* sono riportate le due principali vie sintetiche messe a punto durante il lavoro di ricerca: la sintesi dei  $\beta$ -aminoacidi e il coupling metallo-catalizzato del tipo di Suzuki-Miyaura (metodica A); o viceversa (metodica B). Le relative reazioni saranno descritte dettagliatamente in seguito.



*Schema 3. Schema retrosintetico degli Allocolchicinoidi.*

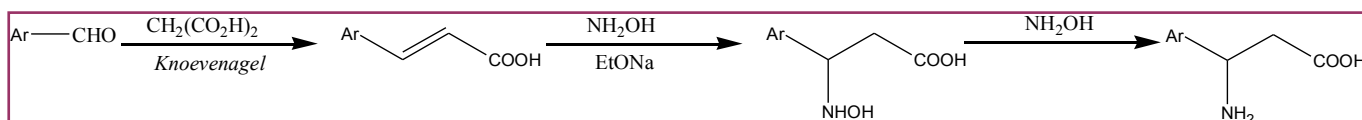
### 3.2 SINTESI DEGLI ACIDI 3-AMINO-3-ARIL PROPIONICI

Il gruppo di ricerca diretto dal professor P. Dallemagne, presso il Centro di Studi e di Ricerca sui Medicamenti in Normandia (CERMN), si occupa da tempo della preparazione d'intermedi sintetici quali gli aril- $\beta$ -aminoacidi.

Gli aril- $\beta$ -aminoacidi costituiscono dei vantaggiosi scaffolds, utili per esempio per la realizzazione di reazioni di ciclizzazione intramolecolare, e per l'ottenimento di molecole con interessanti proprietà farmacologiche e biologiche<sup>1</sup>.

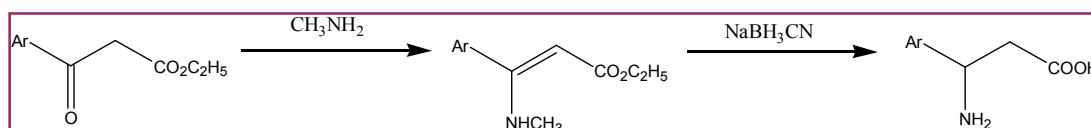
Esistono numerose vie d'accesso riportate in letteratura per la preparazione dei *beta* amminoacidi.

Uno dei più antichi metodi è quello di *Steiger*<sup>2</sup> che consiste nel trattare gli acidi acrilici, ottenuti a partire dalle aril-aldeidi (metodo di Knoevenagel),<sup>3</sup> in presenza di etilato di sodio e idrossilammina. Tale reazione porta alla formazione degli idrossi-aminoacidi che per ulteriore azione d'idrossilammina danno gli aminoacidi di interesse (*Schema 4*).



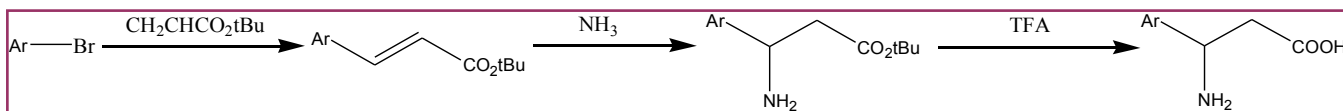
*Schema 4. Metodo di Steiger*

Un'altra metodica (*Furukawa*<sup>4</sup>) prevede che i  $\beta$ -chetoesteri reagiscano con metilammina con l'ottenimento delle enammine corrispondenti ridotte poi con cianoboroidruo di sodio (*Schema 5*).



*Schema 5. Metodo di Furukawa*

Ancora i beta-amminoacidi possono essere ottenuti secondo il metodo di *Bovy*<sup>5</sup> (addizione di Michael) che prevede la reazione degli esteri *tert*-butilici di derivati arilici dell'acido acrilico con ammoniaca sotto pressione (*Schema 6*).



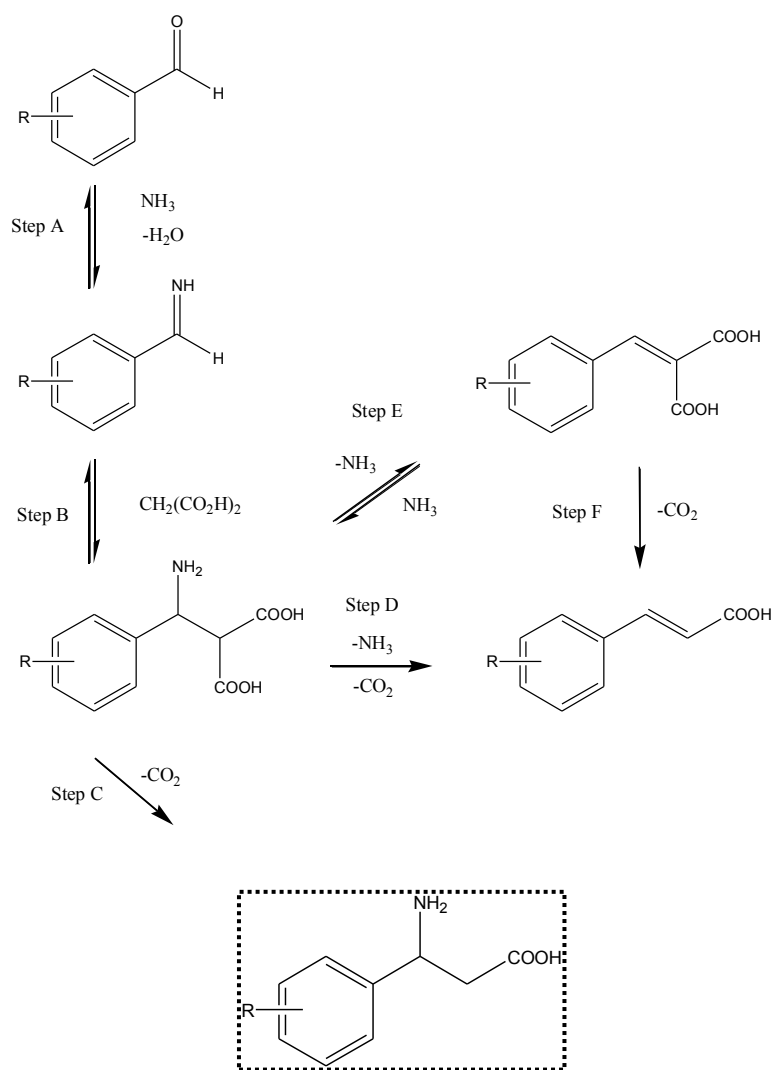
Schema 6. Metodo di Bovy

Le tre metodiche hanno tuttavia l'inconveniente di dover essere realizzate in condizioni di reazione drastiche e con basse rese.

Il metodo scelto nel lavoro è invece quello descritto da Rodionov<sup>6</sup> e poi modificato da Johnson<sup>7</sup>. In un singolo step l'aryl-aldeide è lasciata a riflusso in etanolo e in presenza di acido malonico e acetato d'ammonio. Si ha la formazione dell'aminoacido atteso in concomitanza al diacido acrilico<sup>8</sup>. L'aminoacido è isolato per estrazione con una soluzione acquosa acida, come cloruro di ammonio. Sebbene la via sia molto semplice, tuttavia le rese ottenute non risultano entusiasmanti per la contemporanea formazione del diacido acrilico e probabilmente anche a causa dell'*orto*-posizione dei sostituenti sull'anello fenilico (effetto d'ingombro sterico)<sup>9</sup>.

Nello *Schema 7* è mostrato un possibile meccanismo di reazione a partire da benzaldeidi non *o*-sostituite. Per addizione di una molecola di ammoniaca sulle benzaldeidi opportunamente derivatizzate si formano le basi di Schiff (l'atomo di azoto attacca nucleofilicamente il carbonio carbonilico e forma l'immina) (Step A). In seguito l'aggiunta di acido malonico porta alla formazione dell'aminoacido dicarbossilico (Step B). Successivamente, tale intermedio è decarbossilato per produrre l'aminoacido desiderato (Step C) o deamminato e decarbossilato per dare il corrispondente acido cinnamico (Step D).

Quindi il  $\beta$ -aminoacido si ottiene per decarbossilazione dell'aminoacido dicarbossilico e non per addizione diretta di ammoniaca sul doppio legame dell'acido cinnamico. L'aminoacido dicarbossilico potrà dar anche luogo al diacido acrilico in presenza di ammoniaca (Step E) e in seguito per decarbossilazione formare l'acido cinnamico (Step F).



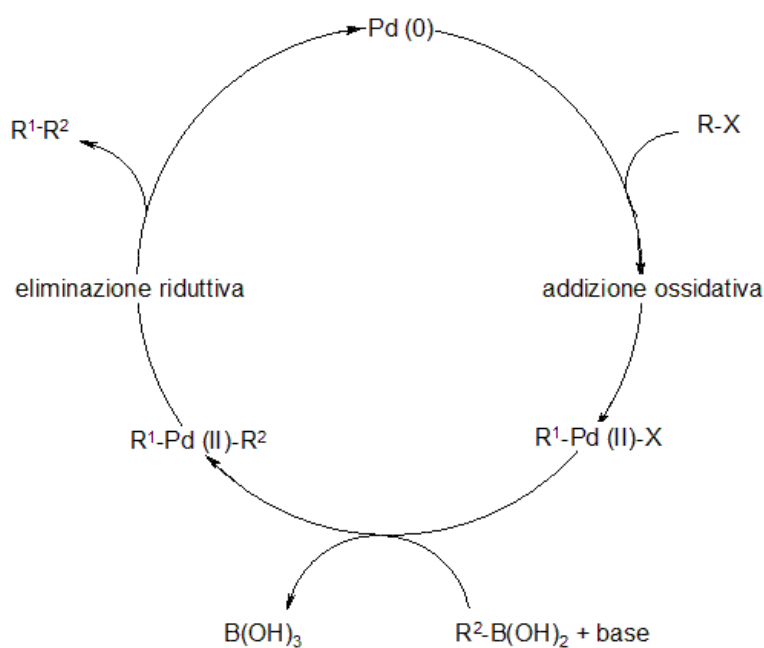
*Schema 7. Meccanismo di reazione proposto per la sintesi degli acidi 3-amino-3-arylpropionici.*

### 3.3 REAZIONE DI CONDENSAZIONE DI SUZUKI-MIYAURA

La condensazione di Suzuki-Miyaura, o più semplicemente reazione di Suzuki, è una reazione che coinvolge acidi aril-boronic ed alogenuri arilici ed è catalizzata da complessi di Palladio(0). Essa deve il suo nome in quanto fu messa a punto per la prima volta nel 1979 dai giapponesi Akira Suzuki e Norio Miyaura<sup>10,11</sup>.

La reazione di condensazione segue un ciclo catalitico (*Figura 15*) e coinvolge<sup>12</sup>:

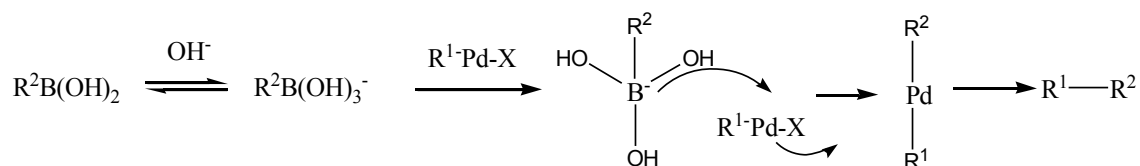
- l'addizione ossidativa al Pd di alogenuri organici o altri elettrofili per dare un complesso di palladio(II)  $R^1-Pd-X$ ;
- la transmetallazione tra  $R^1-Pd-X$  e  $R^2-B(OH)_2$  con l'aiuto di una base;
- l'eliminazione riduttiva di  $R^1-R^2$  per rigenerare il complesso di Palladio (0).



*Figura 15. Ciclo catalitico della reazione di cross-coupling di Suzuki-Miyaura.*

Si ritiene che ci siano diversi processi implicati nel trasferimento del gruppo organico al complesso  $R^1-Pd-X$ . L'aggiunta di idrossido di sodio o di altre basi causa una notevole accelerazione della transmetallazione tra  $R^1-Pd-X$  e alchilborati o acidi organoboronic<sup>13</sup>. La quaternizzazione dell'atomo di boro da parte di una base carica negativamente, aumenta la nucleofilicità del gruppo organico sull'atomo di boro per l'alchilazione di  $R^1-Pd-X$ . Un

anione idrossiborato  $R^2B(OH)_3^-$ , presente in equilibrio con l'acido boronico libero, potrebbe alchilare  $R^1-Pd-X$  (Schema 8).



Schema 8. Transmetallazione tra  $R^1-Pd-X$  e  $R^2-B(OH)_2$ .

La reazione può comunque essere condotta usando vari catalizzatori, basi, solventi, influenzando significativamente le rese e la selettività dei prodotti.

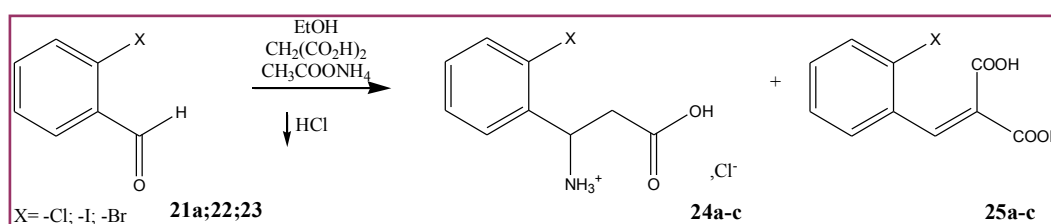
Il catalizzatore più comunemente impiegato è il  $Pd(PPh_3)_4$  (palladio *tetra*-fenilfosfina) anche se sono note numerose preparazioni che prevedono l'impiego di altri catalizzatori:  $Pd(OAc)_2$ , palladio acetato;  $Pd(dba)_2$  (palladio *bis*-dibenzilacetone);  $PdCl_2$ , (cloruro di palladio);  $Pd(PhCN)_2Cl_2$ , (*bis*(benzonnitrile)dicloro palladio);  $Pd(PPh_3)_2Cl_2$  (*bis*(trifenilfosfina)dicloro palladio).

### 3.4 METODICA A

#### 3.4.1 Sintesi di bifenil- $\beta$ -amminoacidi diversamente sostituiti

La prima reazione ha previsto l'impiego di materie prime commercialmente disponibili e poco costose: le *orto*-alogenuri benzaldeidi<sup>14,15</sup>.

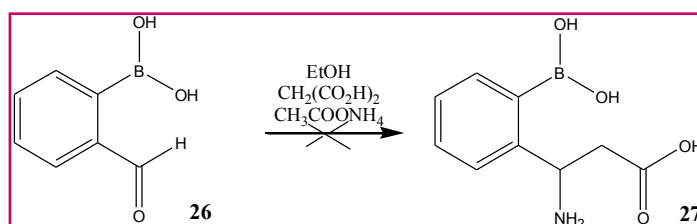
Come mostrato nello *Schema 9*, facendo reagire la cloro, la iodio o la bromo benzaldeide rispettivamente (**21a;22;23**) con acido malonico e acetato di ammonio in etanolo a refluxo, secondo la procedura di Rodionov, si sono ottenuti i rispettivi  $\beta$ -amminoacidi. Questi ultimi sono stati isolati sottoforma di cloridrati (**24a-c**), le rese non hanno mai superato il 53% a causa della contemporanea formazione del diacido acrilico (**25a-c**)<sup>16</sup>.



	Amminoacido	Resa		Diacido acrilico	Resa
<b>24a</b>		46%	<b>25a</b>		50%
<b>24b</b>		7%	<b>25b</b>		90%
<b>24c</b>		53%	<b>25c</b>		40%

*Schema 9. Reazione di Rodionov-Johnson e rispettive rese.*

Abbiamo tentato anche di effettuare una reazione di Rodionov direttamente sul derivato aldeidico di un acido boronico, l'acido 2-formil-fenil boronico (**26**), ma essa non è andata a buon fine (*Schema 10*).



*Schema 10.*

I tentativi di coupling sono stati dapprima realizzati con l'acido 3-ammino-3-(2-clorofenil)-propionico cloridrato (**24a**), ma i risultati sono stati deludenti.

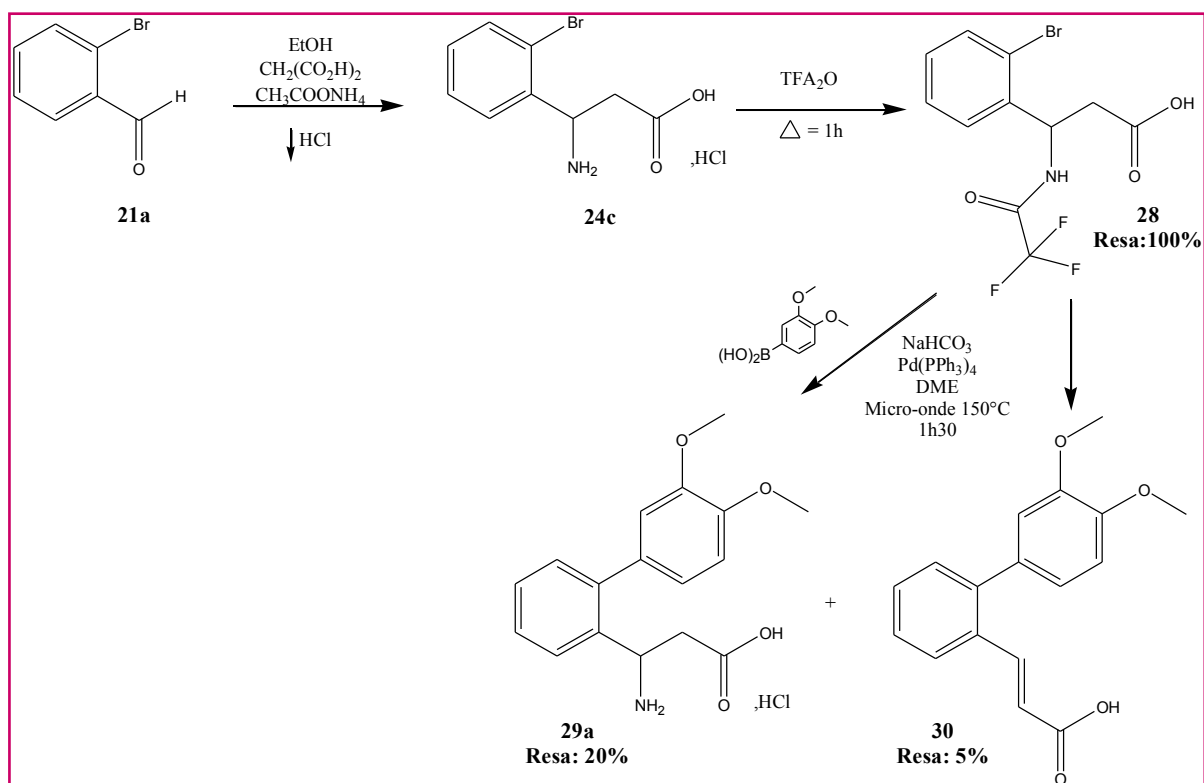
Si è deciso quindi di utilizzare il 3-ammino-3-(2-bromofenil)-propionico cloridrato (**24c**), prodotto ottenuto con le maggiori rese, dimostratosi più reattivo per le condensazioni di Suzuki-Miyaura.

Dunque, il cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(2-bromofenil)-propionico (**24c**), ottenuto dalla reazione di Rodionov, è stato sottoposto alle seguenti condizioni di cross-coupling:

- protezione del gruppo amminico in presenza di anidride trifluoroacetica a riflusso, ottenendo il rispettivo acido: 3-(2-bromofenil)-3-(2,2,2-trifluoroacetamide)-propionico (**28**);
- coupling con 3,4-dimetossifenil acido boronico, in presenza di un catalizzatore quale il palladio tetrafenilfosfina ed in presenza di NaHCO<sub>3</sub> (in soluzione acquosa, come base) e utilizzando 1,2-dimetossietano (come solvente). Tale coupling è stato eseguito al microonde a 150° per 1h e 30 minuti.

La reazione ha portato alla formazione del bifenil- $\beta$ -amminoacido (**29a**) come cloridrato con rese scarse, che non superavano mai il 10%. La povertà di tali rese era probabilmente dovuta alla contemporanea formazione del derivato dell'acido bifenil cinnamico (**30**) (*Schema 10*).



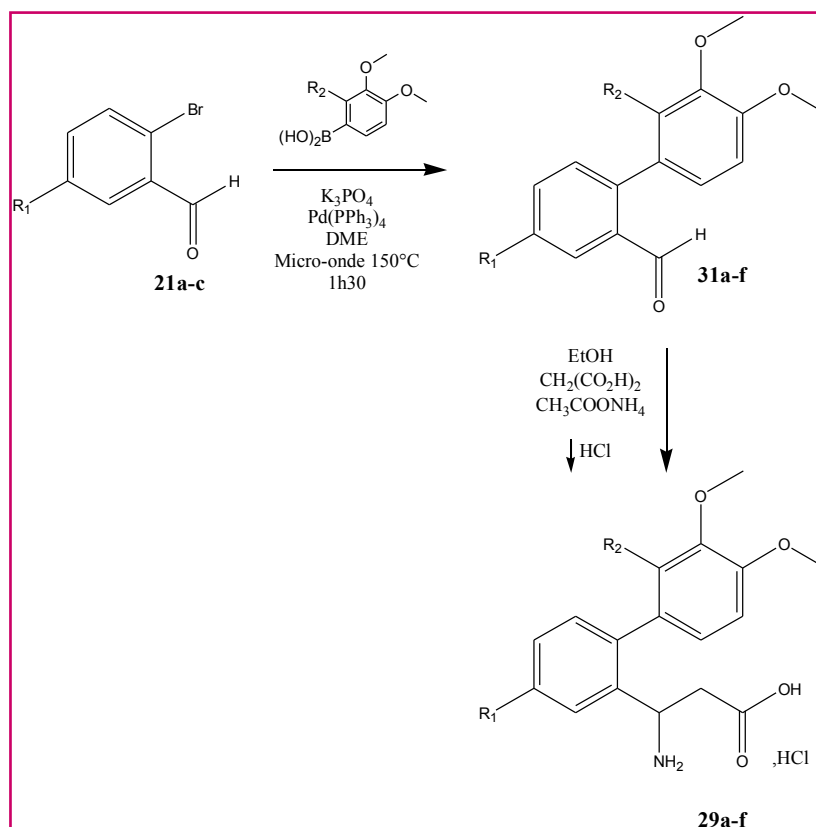


Schema 10. Procedura sintetica relativa alla metodica A.

## 3.5 METODICA B

### 3.5.1 Sintesi di bifenil- $\beta$ -carbaldeidi diversamente sostituite

Con la metodica di seguito descritta abbiamo capovolto la sequenza di reazioni. La 2-bromo-benzaldeide diversamente sostituita (**21a-c**) ha reagito prima con i rispettivi acidi boronici (opportunamente sostituiti) secondo una procedura di coupling messa a punto dal gruppo di ricerca diretto dal prof. Dallemagne<sup>17</sup> e poi è stata effettuata la reazione di Rodionov-Johnson (*Schema 11*). In questa procedura, per il coupling sono stati impiegati: palladio tetrafenilfosfina, come catalizzatore, una soluzione acquosa di  $K_3PO_4$  e 1,2-dimetossietano come solvente. Tale reazione è stata effettuata al microonde a  $150^\circ$  per 1h e 30 minuti. Si sono ottenute sei nuove bifenil- $\beta$ -carbaldeidi (**31a-f**) diversamente sostituite che sono state sottoposte successivamente alla reazione di Rodionov-Johnson, secondo le condizioni espote in precedenza. In questo modo si è riusciti ad ottenere i bifenil-  $\beta$ -amminoacidi (**29a-f**) diversamente sostituiti, come cloridrati, con rese dal 10 al 26%.



	<b>21a</b>	<b>21b</b>	<b>21c</b>
R <sub>1</sub>	H	OMe	OH

	<b>31a</b>	<b>Resa</b>	<b>31b</b>	<b>Resa</b>	<b>31c</b>	<b>Resa</b>	<b>31d</b>	<b>Resa</b>	<b>31e</b>	<b>Resa</b>	<b>31f</b>	<b>Resa</b>
R <sub>1</sub>	H	71%	H	70%	OMe	77%	OMe	86%	OH	72%	OH	68%
R <sub>2</sub>	H		OMe		H		OMe		H		OMe	

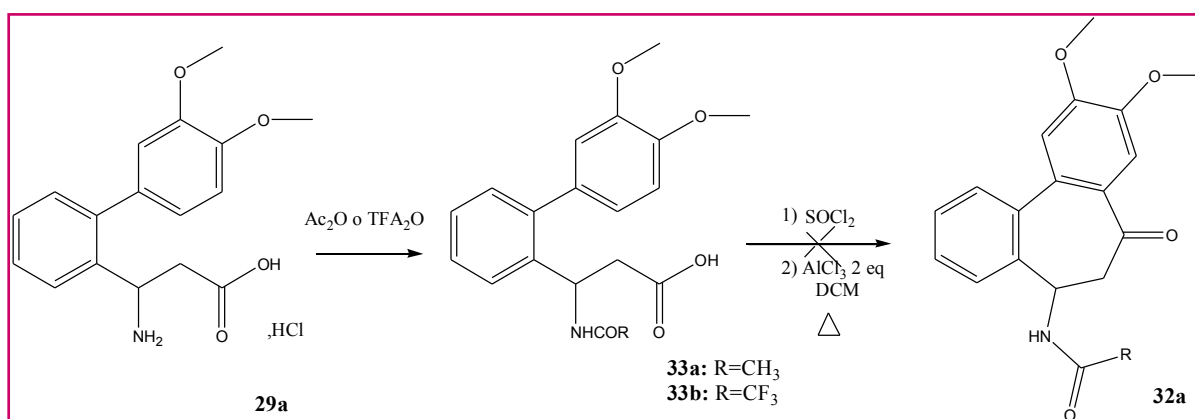
	<b>29a</b>	<b>Resa</b>	<b>29b</b>	<b>Resa</b>	<b>29c</b>	<b>Resa</b>	<b>29d</b>	<b>Resa</b>	<b>29e</b>	<b>Resa</b>	<b>29f</b>	<b>Resa</b>
R <sub>1</sub>	H	20%	H	17%	OMe	26%	OMe	25%	OH	10%	OH	23%
R <sub>2</sub>	H		OMe		H		OMe		H		OMe	

*Schema 11. Procedura sintetica relativa alla metodica B e rispettive rese.*

### 3.6 REAZIONE DI CICLIZZAZIONE INTRAMOLECOLARE

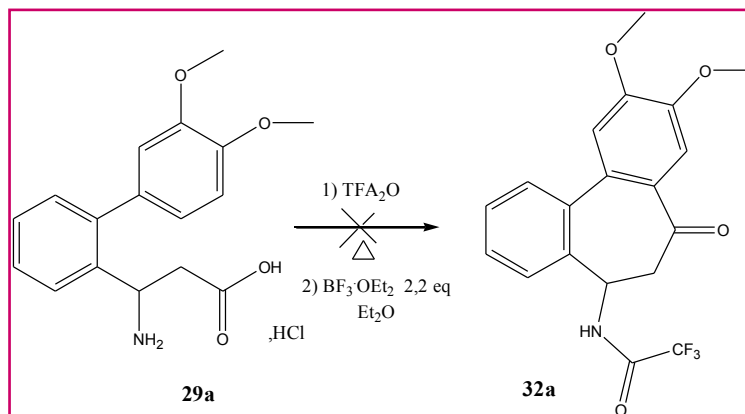
#### 3.6.1 Sintesi dei trifluoro-dibenzocicloheptanoni

Un metodo classico per ottenere il sistema ciclico è rappresentato dalle reazioni di ciclizzazione intramolecolare di Friedel-Crafts<sup>18</sup>. Anche nel nostro caso abbiamo inizialmente impiegato tale metodica. A tal fine abbiamo protetto il gruppo amminico del derivato **29a** con anidride trifluoroacetica o con anidride acetica. La trasformazione della funzione carbossilica nei cloruri è avvenuta utilizzando cloruro di tionile a refluxo. Purtroppo la ciclizzazione dei cloruri ottenuti non è andata a buon fine utilizzando cloruro di alluminio a refluxo in diclorometano<sup>19</sup> (Schema 12).



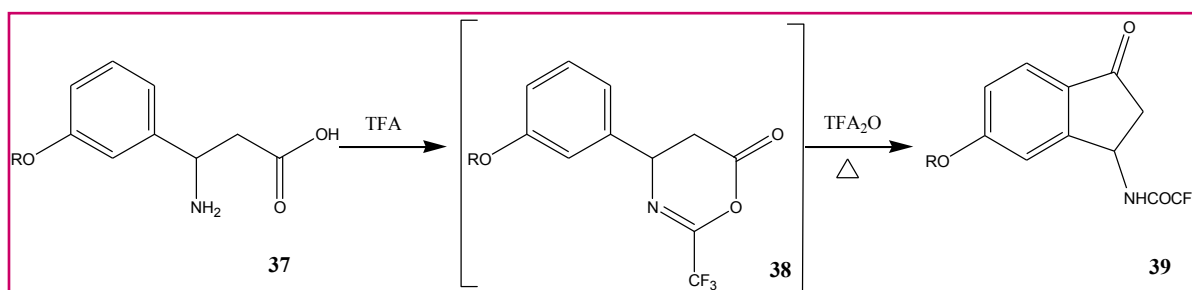
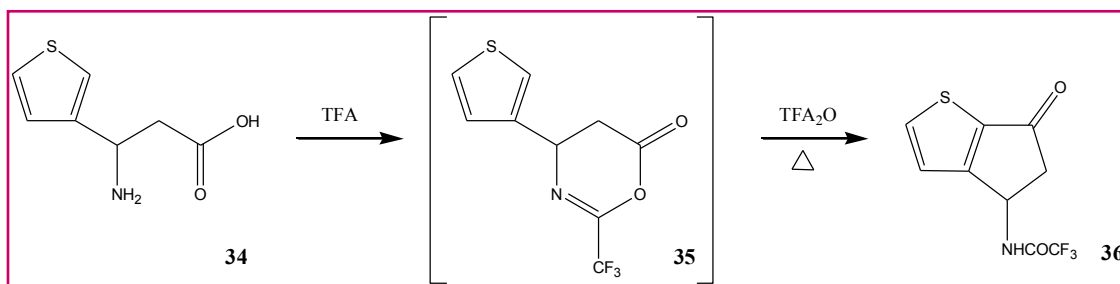
Schema 12. Ciclizzazione di Friedel-Crafts.

In letteratura è riportato l'utilizzo di differenti acidi di Lewis per le reazioni di ciclizzazione, quale per esempio il  $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  (trifluoruro di boro eterato), commercialmente disponibile e poco costoso<sup>20</sup>; ma anche con l'utilizzo di tale reattivo non abbiamo ottenuto gli esiti attesi (Schema 13).



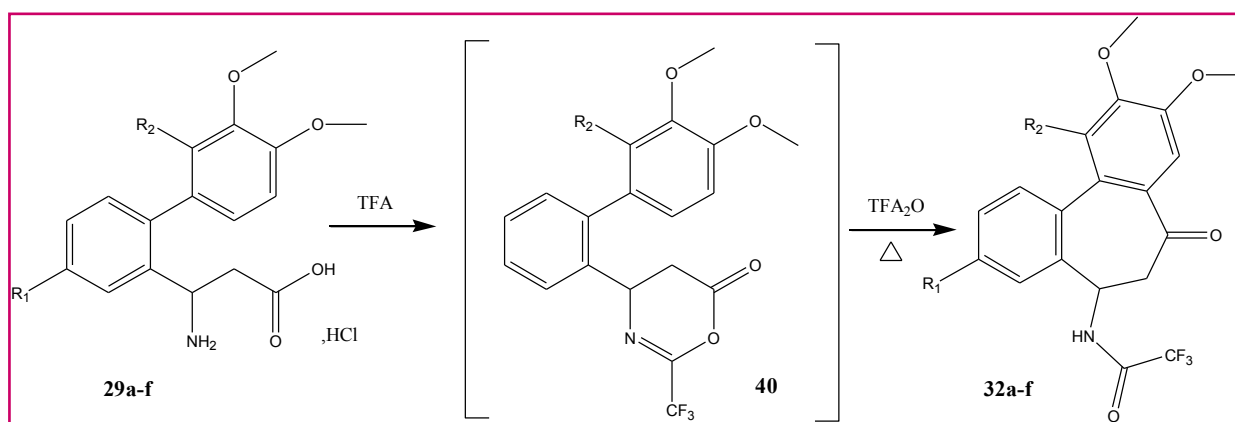
Schema 13.

Di recente, fortunatamente una reazione di ciclizzazione intramolecolare “one-pot” è stata messa a punto presso il laboratorio di ricerca del Centro di Studi e di Ricerca dei Medicamenti in Normandia<sup>21</sup>, e grazie all’applicazione di tale metodica sono state preparate numerose ed interessanti molecole eterocicliche. In particolare dati di letteratura riportano la formazione di un trifluoroaminociclopentatiofene (**36**) e di un derivato della trifluoroacetamide-indan-1-one (**39**) partendo rispettivamente dall’acido 3-amino-3-tiofen-propionico (**34**) e dall’acido 3-amino-3-fenilpropionico opportunamente sostituito (**37**). E’ tuttavia riportato che la formazione di tali prodotti avviene in condizioni precise di reazione. In particolare è necessario solubilizzare l’aminoacido in acido trifluoroacetico a temperatura ambiente ed in seguito aggiungervi l’anidride trifluoroacetica, per poi lasciare la reazione a ricadere per tre ore (Schema 14). In entrambi i casi è riportato che la reazione procede attraverso la formazione di intermedi: gli “ossazinoni” (**35** e **38** rispettivamente), che si potrebbero formare prima della ciclizzazione in *para*<sup>22</sup>.



Schema 14. Esempi di ciclizzazione “one-pot” intramolecolare.

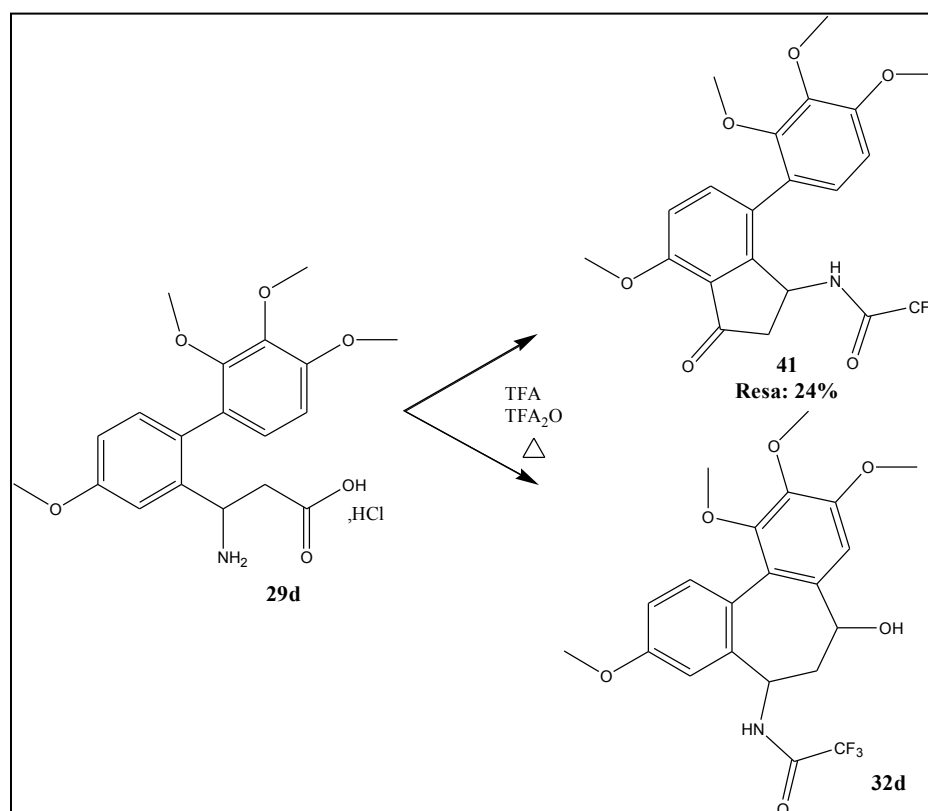
Abbiamo sperimentato le stesse condizioni di reazione per l’ottenimento dei nostri prodotti, arrivando con successo alla formazione dei trifluoro-dibenzocicloheptanoni diversamente sostituiti (**32a-f**) attesi a partire dai cloridrati dei β-amminoacidi (**29a-f**), con rese che vanno dal 50 al 60% (Schema 15). Anche nel nostro caso è stata ipotizzata la formazione dell’”ossazinone” intermedio (**40**).



	32a	Resa	32b	Resa	32c	Resa	32d	Resa	32e	Resa	32f	Resa
R <sub>1</sub>	H	61%	H	10%	OMe	53%	OMe	90%	OH	50%	OH	46%
R <sub>2</sub>	H		OMe		H		OMe		H		OMe	

Schema 15. Sintesi dei trifluoro-dibenzocicloeptanoni e rispettive rese.

Nel caso del derivato (**29d**) abbiamo isolato oltre al prodotto di ciclizzazione (**32d**) anche il derivato indanonico (**41**) (Schema 16). Questo metodo in ogni caso previene la *O*-demetilazione che avviene durante le condizioni di ciclizzazione (di Friedel-Crafts)<sup>18</sup> dei metossi-derivati utilizzando acidi di Lewis.



Schema 16. Sintesi del derivato trifluoro-dibenzocicloeptanone (**32d**) e del *N*-[4-metossi-3-osso-7-(2,3,4-trimetossifenil)-2,3-diidro-1*H*-indan-1-one]-2,2,2-trifluoro-acetamide (**41**).

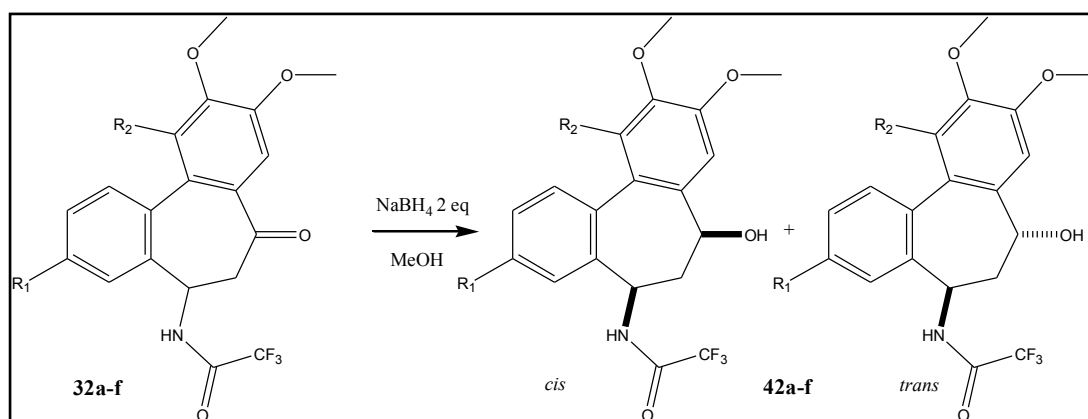
Abbiamo sperimentato anche una ciclizzazione in presenza di acido acetico e anidride acetica, pensando di proteggere con un gruppo acetico e di ciclizzare nello stesso momento, ma anche questa prova non è andata a buon fine.



### 3.7 REAZIONE DI RIDUZIONE:

#### 3.7.1 Sintesi degli idrossi-dibenzocicloeptanoni

La riduzione del carbonile dei derivati trifluoro dibenzocicloeptanoni, è stata realizzata in presenza di un eccesso di sodio boroidruro in metanolo a temperatura ambiente per 2 ore, ottenendo i rispettivi derivati alcolici del tipo dibenzo[a, c]cicloeppta-5-one (**42a-f**), con rese del 50-85% (Schema 17). I prodotti di riduzione sono una miscela di *cis* e *trans* diastereoisomeri.



	42a	Resa	42b	Resa	42c	Resa	42d	Resa	42e	Resa	42f	Resa
R <sub>1</sub>	H	85%	H	58%	OMe	68%	OMe	65%	OH	65%	OH	50%
R <sub>2</sub>	H		OMe		H		OMe		H		OMe	

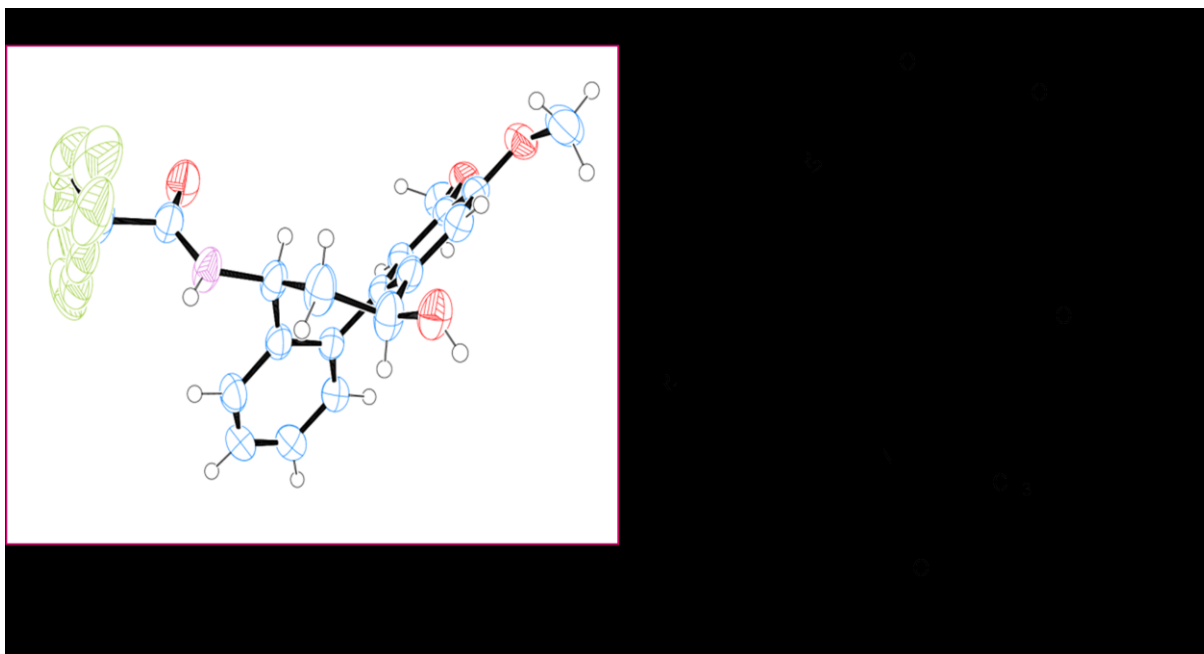
Schema 17. Reazione di riduzione e rispettive rese.

### 3.8 SEPARAZIONE DIASTEREOISOMERICA

Gli enantiomeri hanno uguali proprietà fisiche e non possono essere separati per cristallizzazione, distillazione o cromatografia, al contrario dei diastereoisomeri che possono essere separati attraverso tali tecniche.

La risoluzione classica consiste, pertanto, nel trasformare una coppia di enantiomeri in una coppia di diastereoisomeri, per reazione con un agente risolvete, cioè una sostanza enantiomericamente pura. Abbiamo utilizzato questa metodica per la separazione dei derivati **42a-f** impiegando acido (+)-tartarico. Una volta ottenuti, i sali diastereoisomerici sono stati separati per cristallizzazione frazionata, sfruttando cioè le diverse solubilità degli stessi.

In *Figura 16* è mostrata la struttura del diastereoisomero *trans* dimetossi derivato ((±*Trans*)-**42a**), confermata attraverso analisi cristallografiche che hanno evidenziato un angolo diedro di 49.2° tra i due anelli aromatici in analogia alla stessa colchicina.



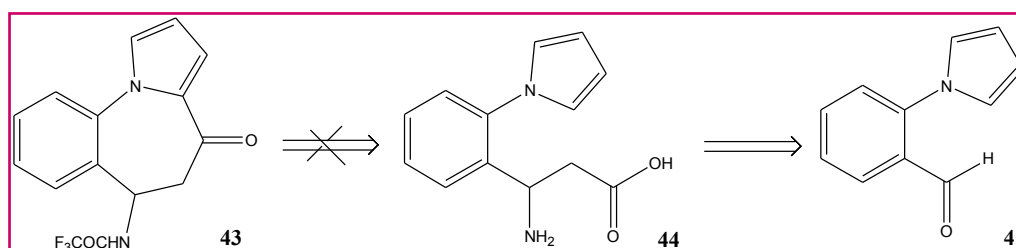
*Figura 16. Struttura del diastereoisomero dimetossi derivato ((±*Trans*)-**42a**).*

### 3.9 UN CASO PARTICOLARE

#### 3.9.1 Sintesi del pirrolo indanone

Un altro obiettivo del lavoro è stato la formazione di sistemi tricyclici attraverso la ciclizzazione di un sistema pirrolico. La prima prova ha riguardato una retrosintesi che ha previsto una reazione di Rodionov Johnson a partire dalla 2-pirrolo-1-benzaldeide (**45**). Essa attraverso la formazione del beta amminoacido (**44**) avrebbe dovuto dar luogo alla formazione del sistema trifluoro benzo-pirrolo[1,2]azepin-4-one (**43**) (*Schema 18*).

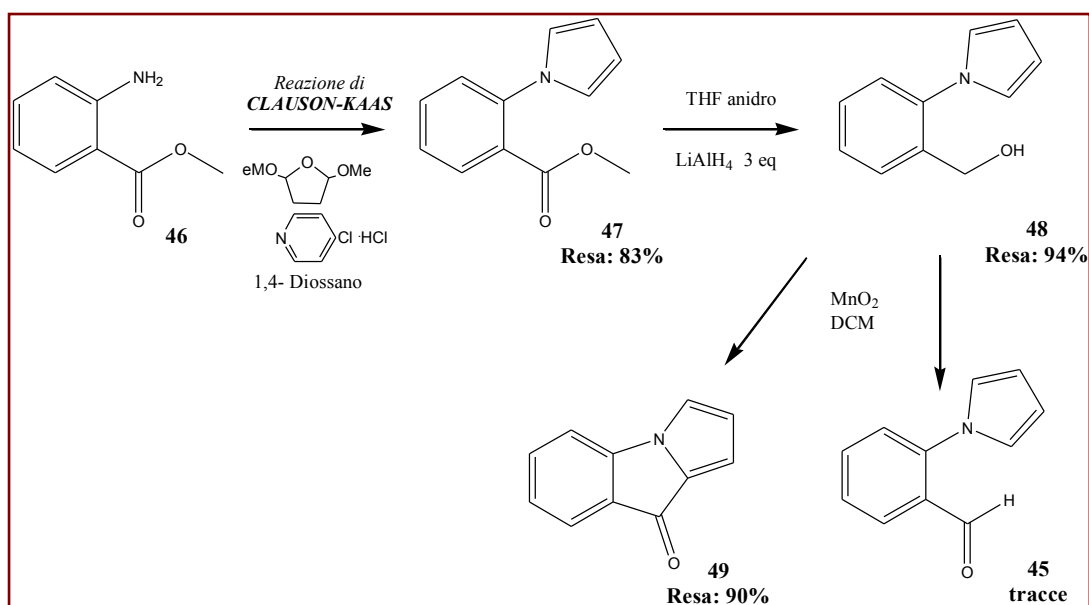
Purtroppo non si è riusciti ad ottenere il prodotto atteso.



*Schema 18. Schema retrosintetico per l'ottenimento del trifluoro benzo-pirrolo[1,2]azepin-4-one (**43**).*

Risulta essere di interesse sintetico la metodica che ci ha portato alla realizzazione di un sistema pirrolo indanonico (**49**).

Il primo step ha previsto l'applicazione della metodica di Clauson-Kaas, che sfrutta la condensazione tra il 2,5-dimetossitetraidrofurano e un'ammina primaria per dare un nucleo pirrolico. In particolare, il composto è stato preparato utilizzando l'antranilato di metile (**46**), come substrato di partenza in presenza della 4-cloro piridina cloridrata, e 1,4 diossano<sup>23</sup>. Il metilestere dell'acido 2-pirrolo benzoico (**47**) formatosi è stato in seguito sottoposto ad una reazione di riduzione ottenendo il 2-pirrolo-fenil-1-metanolo (**48**), utilizzando litoalluminio idruro, in tetraidrofurano anidro. Preparato l'alcol, per reazione con biossido di manganese in diclorometano a refluxo, ci aspettava la formazione della 2-pirrolo-1-benzaldeide (**45**), ma purtroppo di essa si è riusciti ad isolare piccole tracce; giacché il sistema pirrolo-indanonico (**49**) si formava con rese molto alte (*Schema 19*).



Schema 19. Schema di sintesi del pirrolo indanone.

Strutture del tipo (**49**) in realtà sono di notevole interesse sintetico e biologico poiché fanno parte di una famiglia di molecole, di recente studiata presso il CERMN, alla quale si è assegnato il nome di tripentoni<sup>24</sup>, molecole con accertate proprietà antitumorali.

C'è anche da dire che non sono noti lavori nei quali è riportata la capacità del biossido di manganese di essere un promotore di ciclizzazione (grazie alla formazione di legami carbonio-carbonio<sup>25</sup>), invece sono riconosciute le sue proprietà ossidanti. Nulla vieta di pensare che l'intermedio di reazione, dall'alcol all'indanone, sia l'aldeide stessa. Il meccanismo di reazione sarà oggetto di investigazioni future.

## BIBLIOGRAFIA

- <sup>(1)</sup> Rochais C., Rault S. e Dallemagne P.; “Intramolecular Cyclisation of  $\beta$ -Aryl- $\beta$ -Amino Acids in the Design of Novel Heterocyclic Systems with Therapeutic Interest: an Unfailing Source of Diversity”; *Current Medicinal Chemistry*, **2010**, *17*, 4342-4369.
- <sup>(2)</sup> Steiger R.E.; *Org. Synth. Coll.*, **1962**, *3*, 91-93.
- <sup>(3)</sup> Corey E.J.; “Enantioselective synthesis of the (5S, 6R, 9R) and (5S, 6R, 9S) analogs of lactacystin  $\beta$ -lactone”; *J. Am. Chem. Soc.*, **1952**, *74*, 5897.
- <sup>(4)</sup> Furukuwa M., Okawara T., Noguchi Y., Terawaki Y.; *Chem. Pharm. Bull.*, **1979**, *27*, 2223-2226.
- <sup>(5)</sup> Bovy P.R. e Rico J.; “Synthesis of heterocyclic  $\beta$ -amino acids. A convenient preparation of  $\beta$ -amino-5-pyrimidinepropanoic acid and derivatives”; *Tetrahedron Lett.*, **1993**, *34*, 8015-8018.
- <sup>(6)</sup> Rodionov W.M., Malewinskaja E.T.; *J. Am. Chem. Soc.*, **1929**, *51*, 847.
- <sup>(7)</sup> Johnson T.B., Livak J.E.; “Research esonpyrimidines. The synthesis of aryl substituted dihydrouracils and their conversion to uracil derivatives”; *J. Am. Chem. Soc.*, **1936**, *58*, 299-303.
- <sup>(8)</sup> Lebedev A.V., Lebedeva A. B., Sheludyakov V.D., Kovaleva E.A., Ustinova O.L., Kozhevnikov I.B.; “Competitive Formation of  $\beta$ -Amino Acids, Propenoic, and Ylidenemalonic Acids by the Rodionov Reaction from Malonic Acid, Aldehydes, and Ammonium Acetate in Alcoholic Medium”; *Russian J. Gen. Chem.*, **2005**, *75*, 1177.
- <sup>(9)</sup> Tan C.Y.K., Weaver D.F.; “A one-pot Synthesis of 3-amino-3arylpropionic acids”; *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 7449-7461.
- <sup>(10)</sup> Suzuki A.; “Recent advances in the cross-coupling reactions of organoboron derivatives with organic electrophiles, 1995-1998” *J. Organomet. Chem.*, **1999**, *576*, 147-168.
- <sup>(11)</sup> Miyaura N.; “Synthesis of biaryls via the cross-coupling reaction of arylboronic acids”; *Advances in Metal-Organic Chemistry*, **1998**, *6*, 187-243.

- (12) Kotha S., Lahiri K., Kashinath D.; “Recent applications of the Suzuki-Miyaura cross-coupling reaction in organic synthesis”; *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 9633-9695.
- (13) Littke A.F., Fu G.C.; “Versatile catalysts for the Suzuki cross-coupling of arylboronic acids with aryl and vinyl halides and triflates under mild conditions”; *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2002**, *41*, 4544-4568.
- (14) Rault S., Tembo O.N., Dallemagne P., Robba M.; “A new and efficient synthesis of 4-arylimidazolidin-2-ones”; *Heterocycles*, **1991**, *32*, 1301-1305.
- (15) Rault S., Dallemagne P., Robba M.; “Une synthèse simple des premières amino-3-indanones-1”; *Bull. Soc. Chim. Fr.*, **1987**, *6*, 1079-1083.
- (16) Tan C.Y.K., Weaver D.F.; “A one-pot synthesis of 3-amino-3-arylpropionic acids”; *Tetrahedron*, **2002**, *58*, 7449-7461.
- (17) Chosson E., Santoro F., Rochais C., Santos J.S-O., Legay R., Thoret S., Cresteil T., Sinicropi M.S., Besson T., Rault S., Dallemagne P.; “Synthesis of Novel 7-Oxo and 7-Hydroxy Alcolchicinoids With Antitubulin Effect”; *Chem.MED.Chem*, **2011**, *Submit*.
- (18) Wang X., Wang Y., Du D.M., Xu J.; “Solvent-free, AlCl<sub>3</sub>-promoted tandem Friedel-Crafts reaction of arenes and aldehydes”; *Journal of Molecular Catalysis*, **2006**, *255*, 31-35.
- (19) Dallemagne P., Boulouard M., Rault S., Robba M.; “Synthesis of new thienocyclopenta [3,2-d] oxazole and thiazole derivatives”; *J. Heterocyclic Chem.*, **1993**, *30*, 799-802.
- (20) Na A., Hongjun P., Lifeng L., Wenting D., Weiping D.; “A Mild and Highly Efficient Catalyst for Beckmann Rearrangement, BF<sub>3</sub>•OEt<sub>2</sub>”; *Chin. J. Chem.*, **2011**, *29*, 947-950.
- (21) Dallemagne P., Rault S., Pilo J.C., Foloppe M.P., Robba M.; “One-pot cyclization of alkoxy-3-aminoindan-1-ones”; *Tetrahedron Lett.*, **1991**, *44*, 6327.
- (22) Dallemagne P., Rault S., Cugnon de Sèvicourt M., Hassan K.M., Robba M.; “Cyclisation de l’acide amino-3 (thienyl-3)-3 propionique en aminocyclopentathiopenes ”; *Tetrahedron Lett.*, **1986**, *27(23)*, 2607-2610.
- (23) Gourlay B.S., Molesworth P.P., Ryan J.H., Smith J.A.; “A new and high yielding synthesis of unstable pyrroles via a modified Clauson-Kaas reaction”; *Tetrahedron Lett.*, **2006**, *47*, 799-801.

<sup>(24)</sup> Rochais C., Dallemagne P., Rault S.; Tripentones: “A promising series of potential Anti-cancer agents”; *Anti-Cancer Agents in Med.Chem.*, **2009**, *9*, 369-380.

<sup>(25)</sup> Aiello F., Garofalo A., Grande F.; “Efficient synthesis of 9H-pyrrolo[1,2-a]indol-9-one derivatives based on active manganese dioxide promoted intramolecular cyclization”, *Tetrahedron* , **2010**, *66*, 274-277.

### SITOGRAFIA

[http://it.wikipedia.org/wiki/Condensazione\\_di\\_Suzuki](http://it.wikipedia.org/wiki/Condensazione_di_Suzuki)

<http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/svilla>





## 4 CAPITOLO IV

SCOPO DELLA RICERCA:

*ANALOGHI*

*DELL'ANTOFINA E DELLA  
TILOFORINA*

*« Dans les sciences, le  
chemin est plus important  
que le but. Les sciences  
n'ont pas de fin. ».*

*Erwin Chargaff*



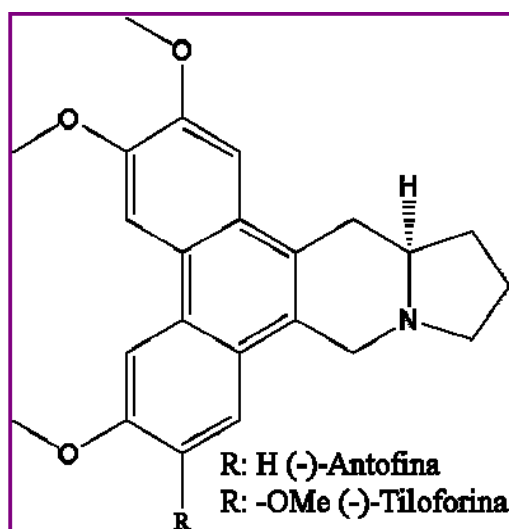
## 4.1 SCOPO DELLA RICERCA

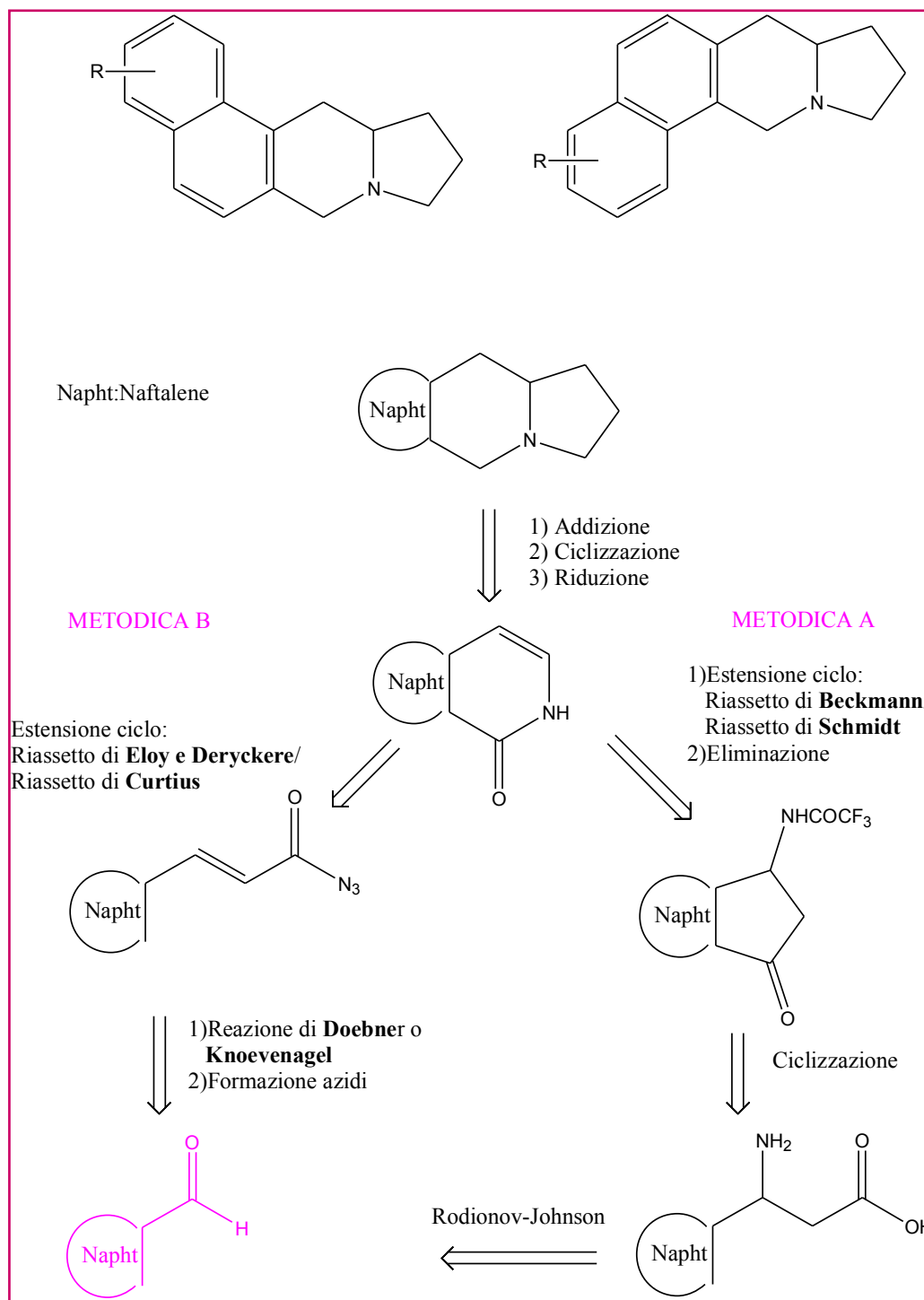
### 4.1.1 SINTESI DI ANALOGHI DELL'ANTOFINA E DELLA TILOFORINA

Un secondo obiettivo della tesi ha riguardato lo studio di una nuova classe di alcaloidi a struttura fenantroindolizidinica e indolizidinica, molecole di grande interesse per le loro proprietà citotossiche nei confronti di una serie di linee cellulari tumorali.

L'Antofina e la Tiloforina sono i rappresentati più significativi degli alcaloidi fenantroindolizidini, presentando una tipica struttura fenantrenica fusa ad un anello indolizidinicico. Le caratteristiche di bio-attività e l'architettura pentaciclica di queste molecole hanno fatto sì che in questi ultimi anni fossero ottenute attraverso diverse strategie di sintesi<sup>1,2</sup>.

Il progetto ha riguardato la sintesi di analoghi semplificati dell'Antofina e della Tiloforina che presentano un anello naftalenico fuso ad un anello indolizidinicico. A tal fine abbiamo progettato una via sintetica semplice e versatile a partire da materie prime poco costose, nello specifico le naftaldeidi. Come di seguito riportato (*Schema 20*), analogamente a quanto già visto per la colchicina, sono state impiegate per la sintesi due metodiche: la metodica A (via aril- $\beta$ -aminoacidi) e la metodica B (via azidi).





Schema 20. Strategie retrosintetiche: metodica A e metodica B.

In particolare pensavano inizialmente di ottenere il sistema naftalenindolizidinico attraverso la metodica A: ciclizzazione del  $\beta$ -amminoacido, riarrangiamento (riassetto di Beckmann o di Schmidt) per ottenere un derivato benzoisochinolonico, addizione, ciclizzazione e riduzione di quest'ultimo. I risultati non sono stati molto promettenti ma sono stati tuttavia spunto per la realizzazione della metodica B. Quest'ultima ha previsto la formazione del derivato benzoisochinolonico attraverso la formazione di un'azide intermedia, instabile e molto reattiva, e successivo suo riarrangiamento (Curtius o di Eloy-Derickere).

Anche per questa strategia sintetica sono state impiegate le aldeidi, quali versatili prodotti di partenza, ed in particolare sono state adoperate le naftaldeidi.

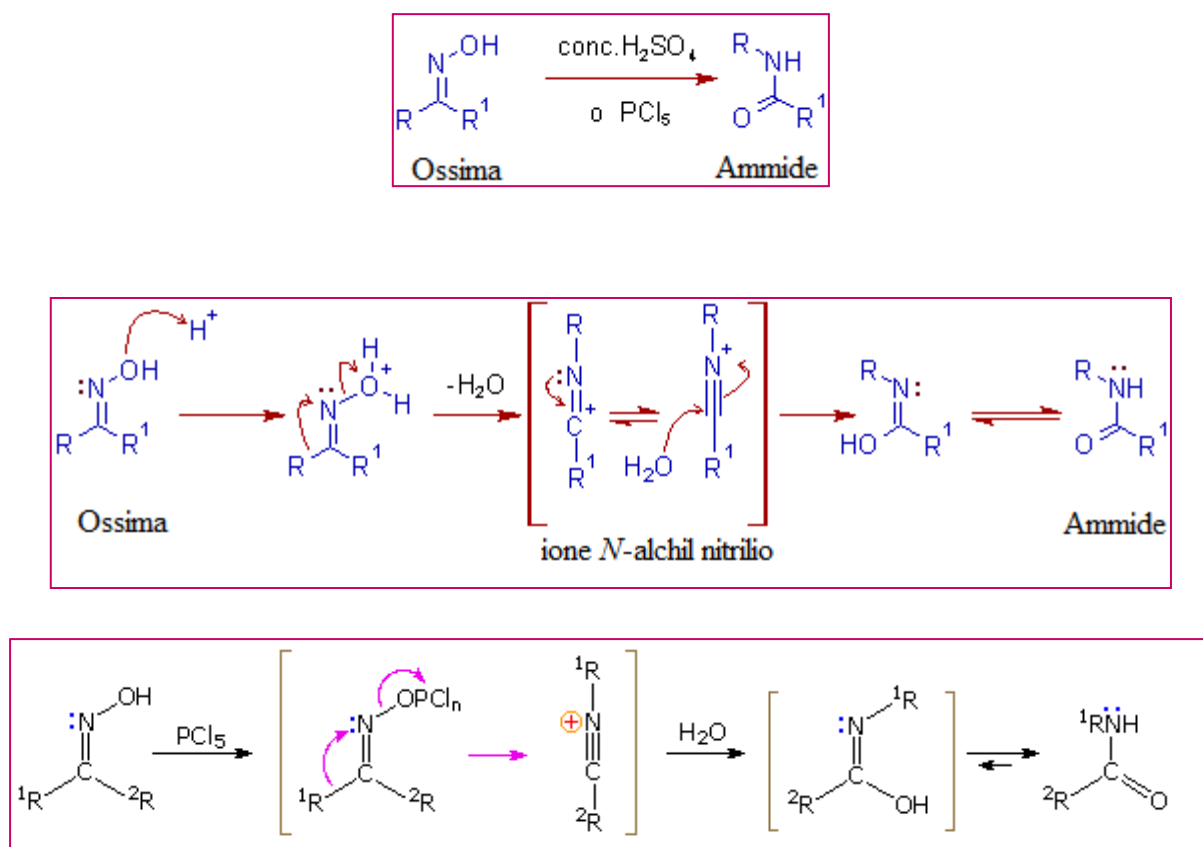
La procedura risulta estremamente innovativa e originale, sia per i materiali di partenza impiegati che per le stesse strutture progettate, di notevole interesse farmacologico e tuttavia ancora poco studiate.

## 4.2 Sintesi dei benzoisochinoloni

### 4.2.1 METODICA A: RIASSETTO DI BECKMANN e RIASSETTO DI SCHMIDT

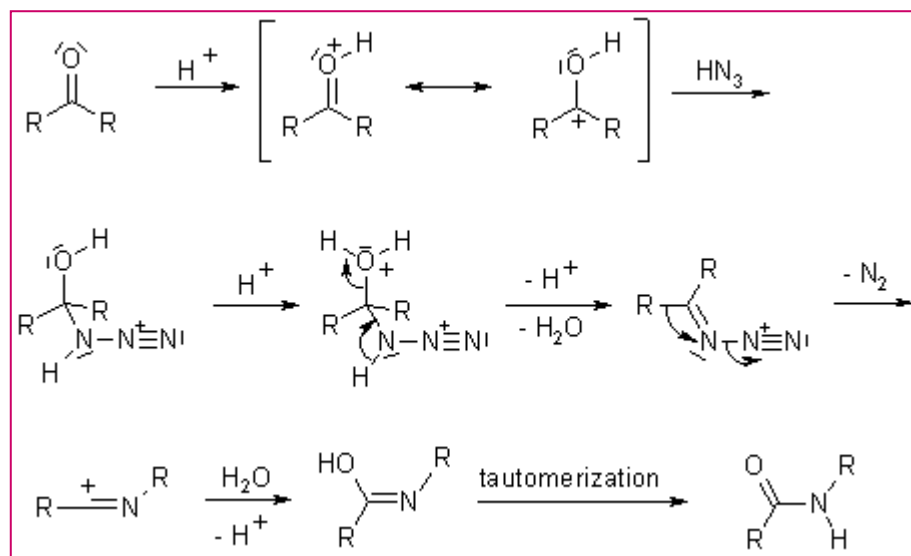
I nostri primi tentativi per la realizzazione del sistema benzoisochinolonico sono stati realizzati a partire dalla 1-naftaldeide. Il passaggio fondamentale è consistito nell'estensione del ciclo indanonico per ottenere un sistema isochinolonico. A tal fine, si è fatto ricorso a due tipi di riassetto: Beckmann e Schmidt.

Il riassetto di Beckmann è un riarrangiamento acido-catalizzato di un'ossima ad ammido. Inizialmente il gruppo ossidrilico dell'ossima è protonato a ione ossonio, poi si ha migrazione del gruppo alchilico con eliminazione di acqua, formazione di uno ione nitrilico e idrolisi di quest'ultimo ad ammido (*Schema 21*). In alcune procedure è anche riportato l'utilizzo di  $\text{PCl}_5$  come clorurante dell'ossima. In questi casi, la reazione procede come descritto in precedenza.



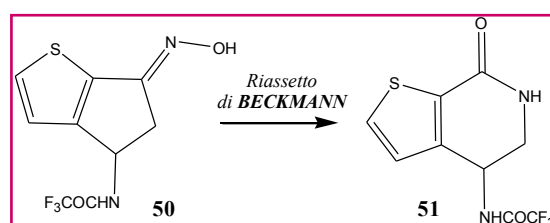
*Schema 21. Riassetto di Beckmann.*

Il riassetto di Schmidt invece è un riarrangiamento acido-catalizzato di un acido idrazoico con elettrofili. Come mostrato nello *Schema 22* la reazione tra un chetone e un azituro crea un acil-azide intermedia che riarrangia per formare un'ammide.



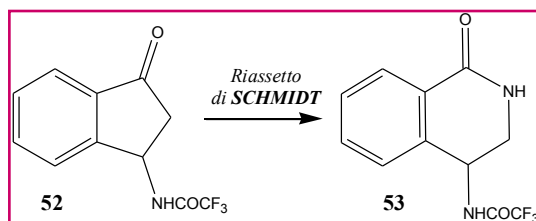
*Schema 22. Riassetto di Schmidt.*

Numerosi lavori bibliografici mettono a confronto questi due tipi di riarrangiamenti per dare estensione di cicli. Ad esempio il riarrangiamento di Beckman di un'ossima della 3-trifluoroacetamide-ciclopentatiotene (**50**), per azione di pentacloruro di fosforo, dà il derivato piridonico (**51**) con rese del 50% (*Schema 23*)<sup>3</sup>.



*Schema 23.*

Invece, per riarrangiamento di Schmidt il 3-trifluoroacetamide-indanone (**52**) in presenza di azituro di sodio in acido trifluoroacetico porta alla formazione dell'isochinolone (**53**), con rese del 60% (*Schema 24*)<sup>4,5</sup>.



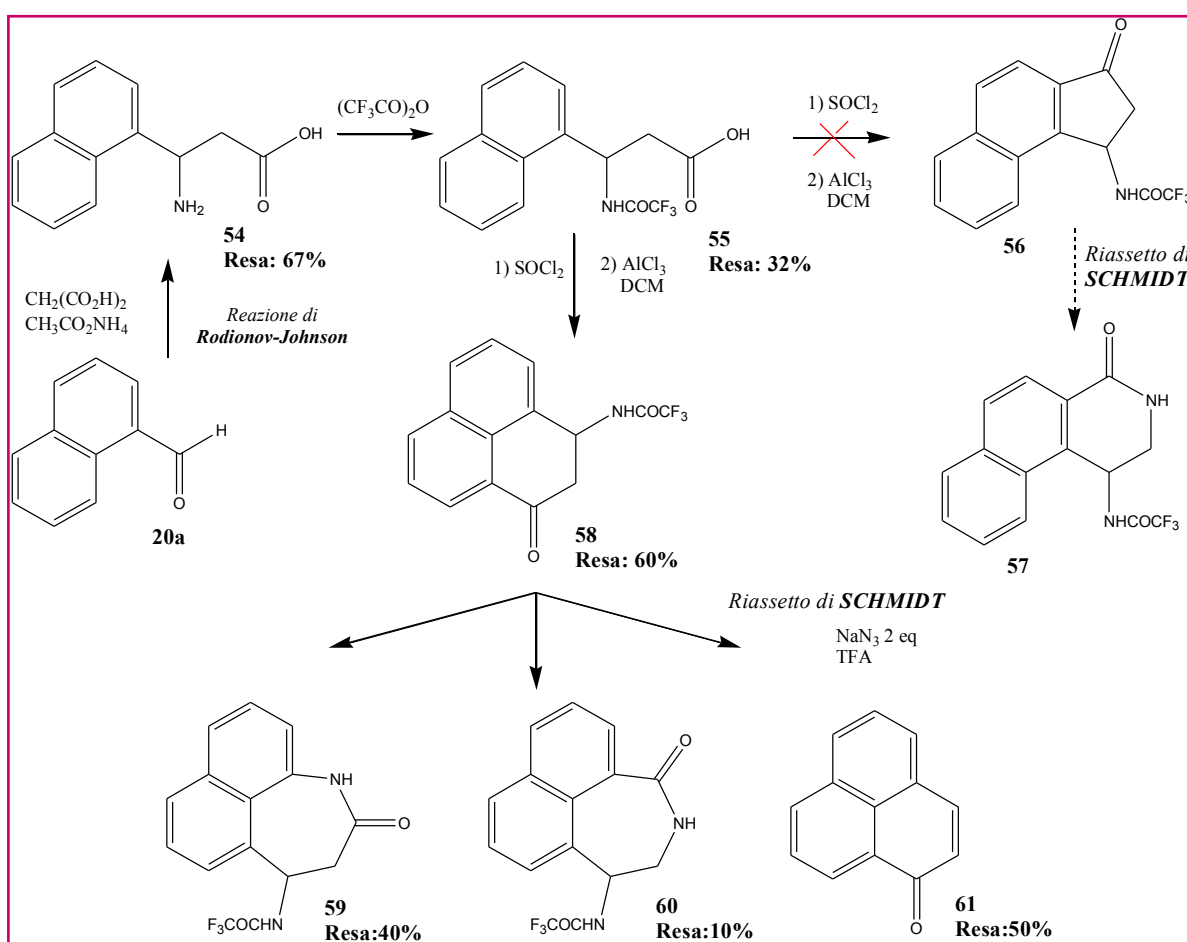
*Schema 24.*

Per la strategia di sintesi della metodica A abbiamo scelto di utilizzare il metodo di Schmidt, in quanto, in molti casi dimostra presentare rese più alte e l'estensione del ciclo si effettua in un solo step.



#### 4.2.2 METODICA A: Sintesi degli analoghi dell'Antofina e della Tiloforina (via aril- $\beta$ -aminoacidi)

Per realizzare la metodica A siamo partiti dall'1-naftaldeide (**20a**) ed il primo step ha riguardato la reazione di Rodionov-Johnson precedentemente descritta (acetato d'ammonio e acido malonico) per ottenere il corrispondente  $\beta$ -aminoacido (**54**) che è stato opportunamente protetto con anidride trifluoroacetica ottenendo l'acido 3-naftalen-3-(2,2,2-trifluoroacetamide)-propionico (**55**) (Schema 25).



Schema 25. Schema sintetico degli analoghi dell'antofina via aril- $\beta$ -aminoacidi.

Purtroppo i tentativi di ciclizzazione del derivato (**55**), realizzati secondo il metodo di Friedel-Crafts (in presenza di cloruro di alluminio a riflusso in diclorometano), dopo trasformazione della funzione carbossilica nel cloruro dell'acido con cloruro di tionile, non sono andati a buon fine. L'attesa ciclizzazione avrebbe consentito di ottenere il derivato indanonico (**56**), che in seguito per riassetto di Schmidt avrebbe dato il (**57**) per estensione del ciclo.

In realtà è risultato (come riportato dalla caratterizzazione spettroscopica, vedi <sup>1</sup>H-NMR parte sperimentale) che il composto preparato non era il presunto derivato indanonico (**57**) bensì la *N*-(3-osso-2,3-diidro-1H-fenalen)-2,2,2-trifluoroacetamide (**58**). Essa è stata sottoposta alla reazione di Schmidt in presenza di azituro di sodio in acido trifluoroacetico a riflusso, ed in questo modo è stato possibile realizzare l'estensione del ciclo ed isolare i seguenti sistemi eterociclici: *N*-(2-osso-1,2,3,4-tetraidro-nafto[1,8]azepin)-2,2,2-trifluoroacetamide (**59**); *N*-(1-osso-1,2,3,4-tetraidro-nafto[1,8]azepin)-2,2,2-trifluoroacetamide (**60**) e Fenalen-1-one (**61**).

Di seguito si riportano gli spettri NMR dei composti (**59**) e (**60**). Per il composto (**59**) (*Figura 17*) il protone dell'NH del ciclo ( $\delta=10.2$  ppm) è un singoletto confermando la posizione 2 del carbonile, invece per il composto (**60**) (*Figura 18*) il protone dell'NH del ciclo ( $\delta=8.42$  ppm) è un tripletto confermando la posizione 1 del carbonile.

Tale risultato è stato incoraggiante e interessante, considerato che gli analoghi ottenuti presentano una struttura "somigliante" alla colchicina stessa.

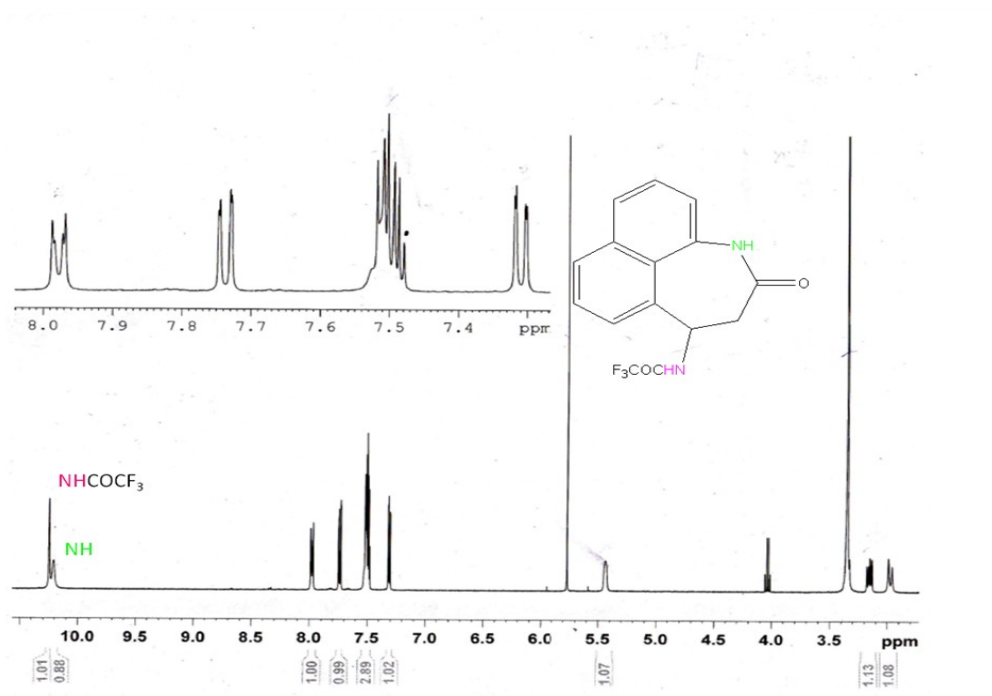


Figura 17. Spettro protonico della *N*-(2-osso-1,2,3,4-tetraidro-nafto[1,8]azepin)-2,2,2-trifluoroacetamide (59).

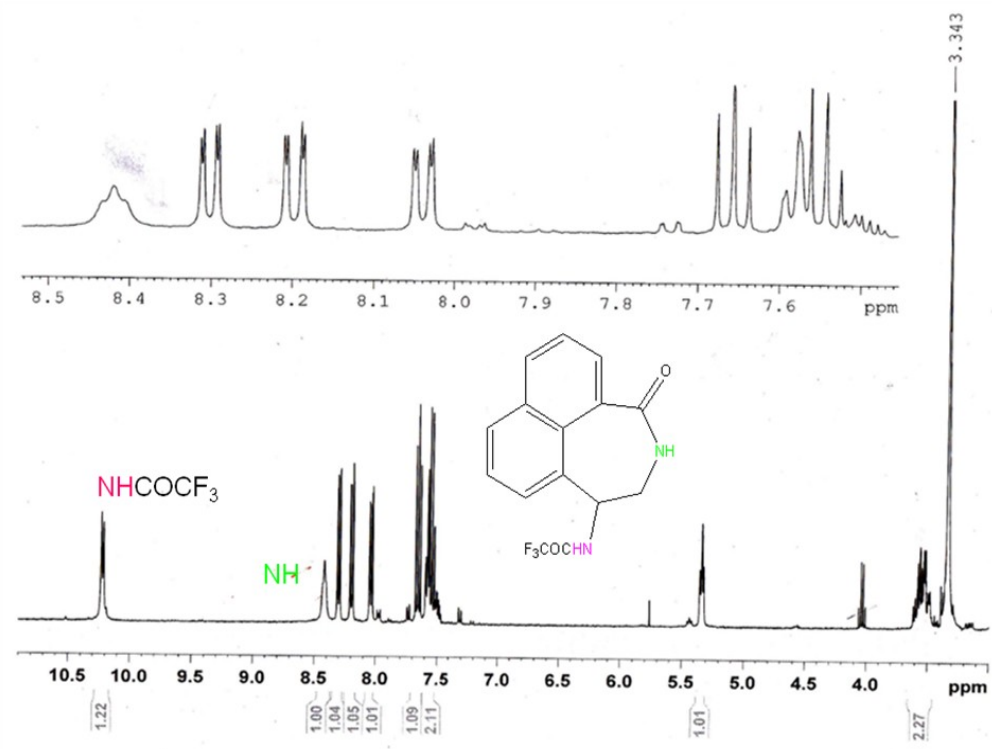
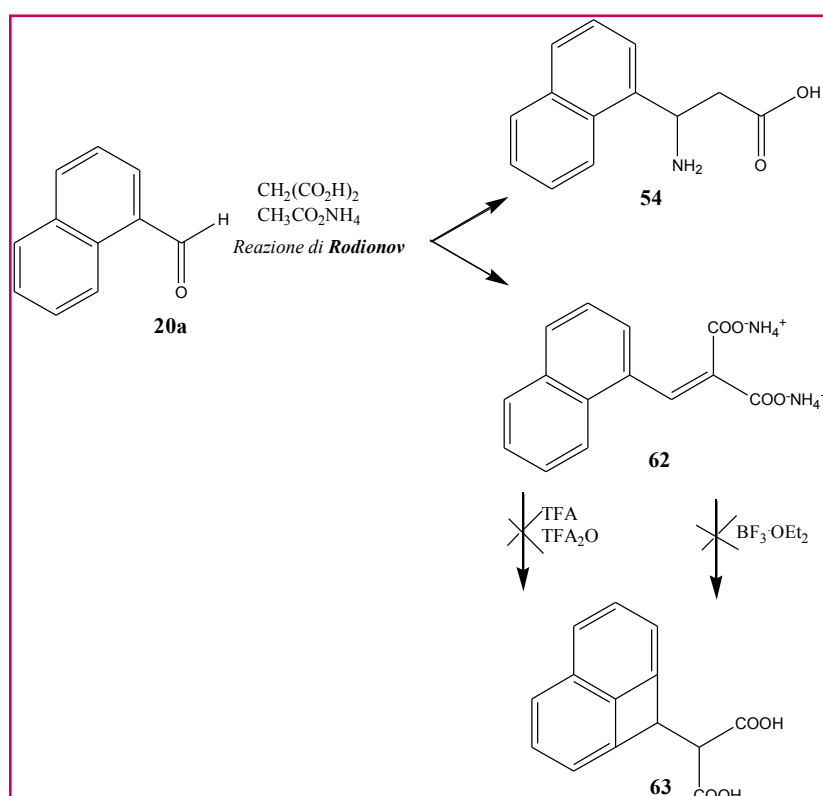


Figura 18. Spettro protonico della *N*-(1-osso-1,2,3,4-tetraidro-nafto[1,8]azepin)-2,2,2-trifluoroacetamide (60).

Tale risultato è stato incoraggiante e interessante, considerato che gli analoghi ottenuti presentano una struttura “somigliante” alla colchicina stessa.

E', inoltre, da sottolineare che dalla 1-naftaldeide per reazione di Rodionov-Johnson, analogamente a quanto avvenuto con la preparazione degli analoghi della colchicina, abbiamo isolato non solo l'aminoacido (**54**) ma anche il corrispondente diacido (**62**) (*Schema 26*). Su di esso abbiamo effettuato prove di ciclizzazione (in acido e anidride trifluoroacetica, oppure in trifluoruro di boro eterato) ma esse non sono andate a buon fine.



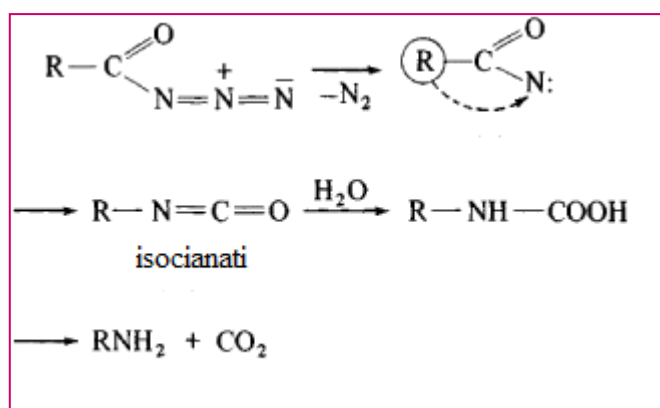
*Schema 26. Prove di ciclizzazione sul diacido (**62**).*

Tali prove ci hanno comunque dato lo spunto per intraprendere un'altra strategia di sintesi (metodica B) di seguito dettagliata.

#### 4.2.3 METODICA B: RIASSETTO DI CURTIUS e RIASSETTO DI ELOY-DERYCKERE

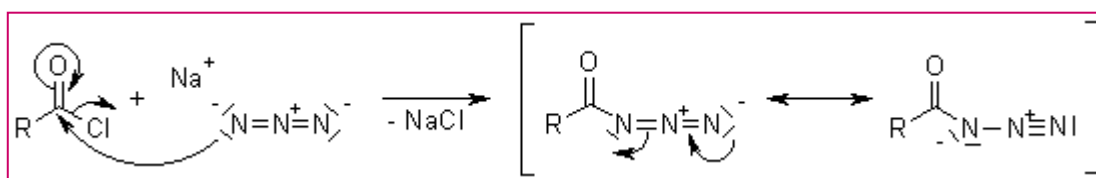
Dati di letteratura ci hanno suggerito che il sistema benzoisochinolonico (*Schema 20*) poteva essere ottenuto a partire da derivati azidici grazie a reazioni di riarrangiamento: Curtius e Eloy e Derickere.

Il riassetto di Curtius riguarda la decomposizione termica di azidi di acidi carbossilici che grazie alla formazione intermedia di isocianati, che se isolati, sono versatili materiali di partenza capaci di reagire con l'acqua per dare la formazione di ammine (*Schema 27*).

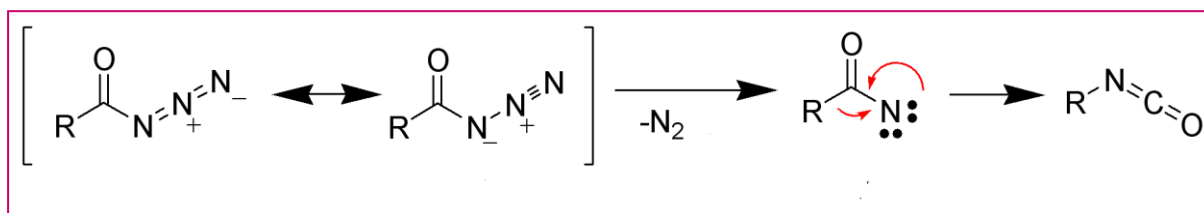


*Schema 27. Riassetto di Curtius.*

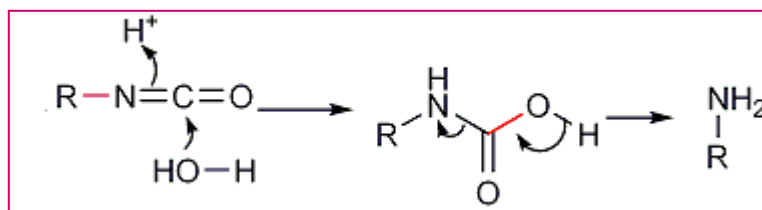
L'acil-azide, analogamente al riassetto di Schmidt, può essere preparata a partire da alogenuri acilici e sali di azide:



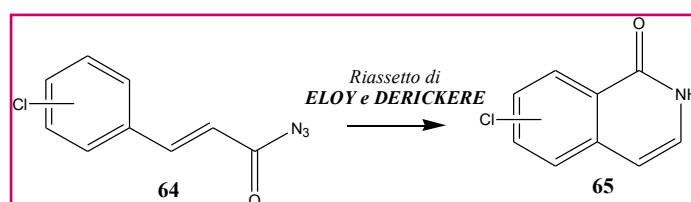
Decomposizione:



L'attacco di acqua al gruppo carbonilico porta ad un acido carbammico che per decomposizione e decarbossilazione spontanea dà ad un'ammina:

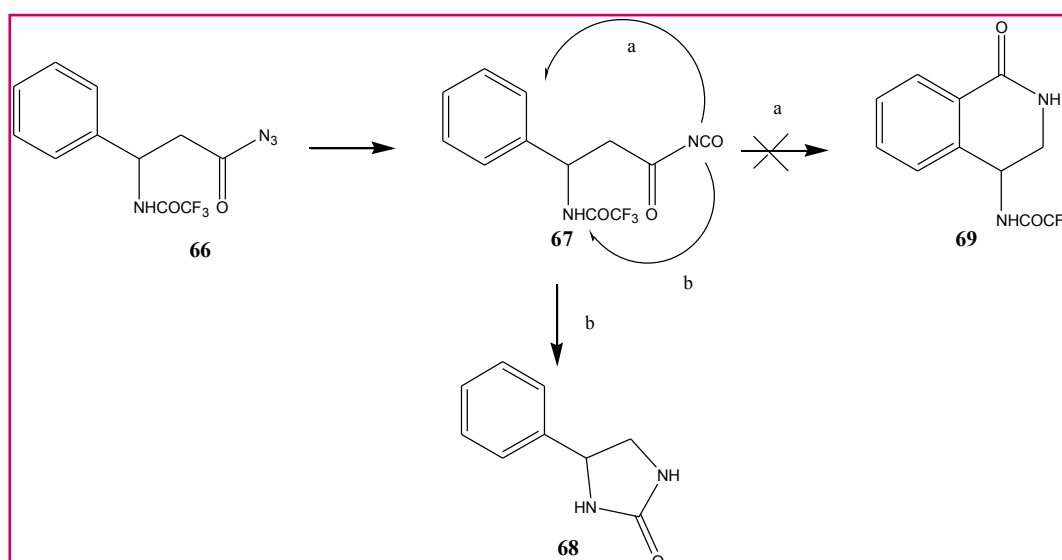


Il metodo di Eloy e Derickere<sup>6</sup> (Schema 28), che non è altro che un'applicazione del riassetto di Curtius, consente di ottenere piridoni del tipo (65) a partire da derivati del tipo (64).



Schema 28. Riassetto di Eloy e Derickere.

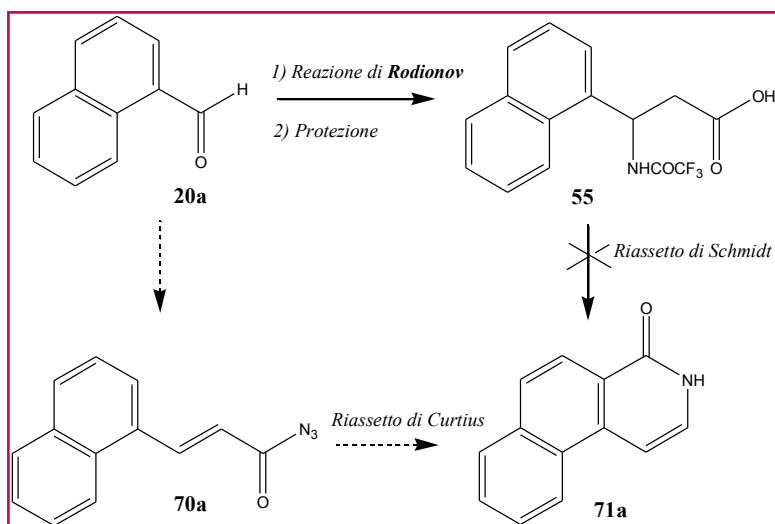
Un esempio è la preparazione del corrispondente isocianato a partire dall'azide della trifluoroacetammide dell'acido 3-fenil-propionico (66). Il riscaldamento dell'azide dell'acido dà l'isocianato che si riassetta secondo Curtius, e grazie a tale riarrangiamento il doppietto elettronico dell'atomo di N attacca preferenzialmente il carbonile ammidico dando luogo alla formazione del sistema ciclico fenil-imidazolin-2-one<sup>3</sup> (68) (Schema 29).



Schema 29. Esempio di riassetto di Eloy e Derickere.

Per la nostra procedura sintetica sono state utilizzate condizioni di reazione favorevoli al riassetto di Curtius.

In sintesi, la strategia sintetica impiegata per la preparazione di (**71a**) ha previsto partendo da opportune naftaldeidi un riassetto di Curtius di opportune azidi (**70a**), e non, come inizialmente progettato, una reazione di Rodionov-Johnson (via  $\beta$ -aminoacidi) e un riassetto di Schmidt (*Schema 30*).

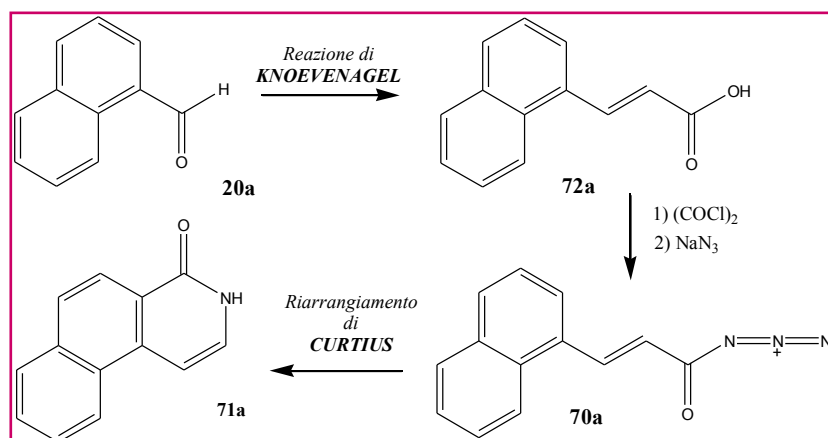


*Schema 30. Schema generale per la sintesi di benzoisochinoloni*

#### 4.2.4 Metodica B: Sintesi degli analoghi dell'Antofina e della Tiloforina- Serie della 1-naftaldeide

La strategia sintetica (*Schema 30*), metodica B, per l'ottenimento di (**71a**) utilizza la 1-naftaldeide (**20a**).

Più precisamente l'aril-aldeide è stata convertita nell'acido cinammico (**72a**) tramite reazione di Knoevenagel e in seguito nella rispettiva acilazide (**70a**). Quest'ultima è relativamente instabile e viene dunque impiegata subito per una reazione di ciclizzazione/estensione secondo il riarrangiamento di Curtius (*Schema 31*)<sup>7</sup>.

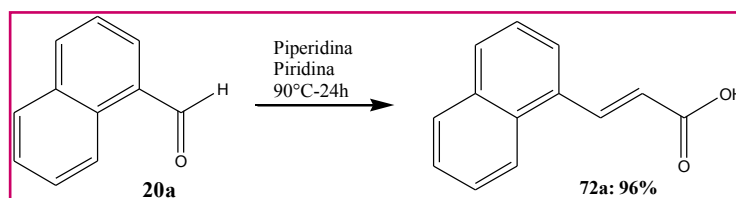


*Schema 31. Schema generale per la sintesi di benzoisochinoloni (Metodica B)*



#### 4.2.5 REAZIONE DI KNOEVENAGEL: Sintesi dell'acido (E)-3-Naftalene-2-propen-1-oico

Nel I passaggio la 1-naftaldeide (**20a**) è impegnata in una reazione di condensazione di Knoevenagel (detta anche modificazione di Doebner) (*Schema 32*). Essa è appunto una variante della condensazione aldolica: l'aldeide reagisce con acido malonico, utilizzando piperidina come catalizzatore e piridina come solvente per 24h a 80-90°C. Si ottiene con rese altissime l'acido (E)-3-naftalen-2-propen-1-oico (**72a**).

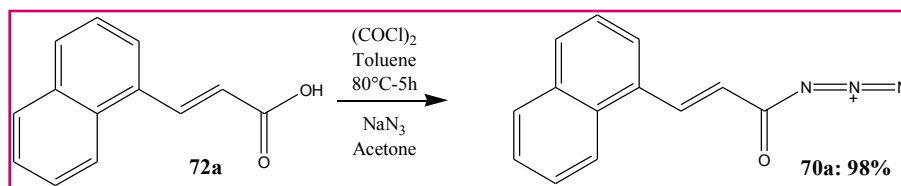


*Schema 32. Reazione di Knoevenagel e rispettiva resa.*

#### 4.2.6 SINTESI DELLE AZIDI

Per ottenere le azidi siamo partiti dai corrispondenti alogenuri di (**72a**) mediante una semplice reazione di sostituzione nucleofila ad opera dell'azituro di sodio. (*Schema 33*).

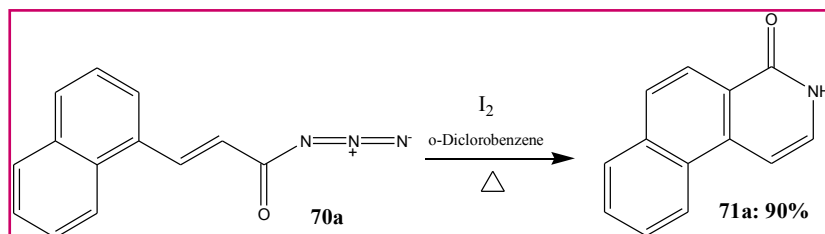
Nel nostro caso l'acido (E)-3-naftalen-2-propen-1-oico (**72a**) viene convertito nel rispettivo cloruro in presenza di cloruro di ossalile e toluene a 80°C per 5 ore. In seguito si fa reagire con azituro di sodio e acetone a temperatura ambiente ottenendo la 3-naftalen-1-il-acriloil azide (**70a**).



*Schema 33. Sintesi dell'azide.*

#### 4.2.7 RIARRANGIAMENTO DI CURTIUS: Sintesi del benzoisochinolone

L'acil-azide appena formata, relativamente instabile, viene sottoposta al riarrangiamento di Curtius. La reazione viene eseguita in presenza di piccole quantità catalitiche di iodio in *o*-diclorobenzene per 2 ore a riflusso (Schema 34). Si ottiene il 3H-benzo[f]isochinolin-4-one (**71a**) che viene purificato per cromatografia su colonna.



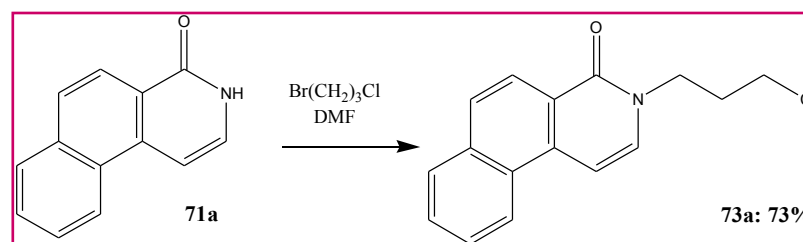
Schema 34: Riarrangiamento di Curtius.

## 4.3 Sintesi del Sistema Naftalenindolizidinico

### 4.3.1 REAZIONE DI CICLIZZAZIONE

La formazione dell'anello pirrolidinico avviene attraverso più passaggi.

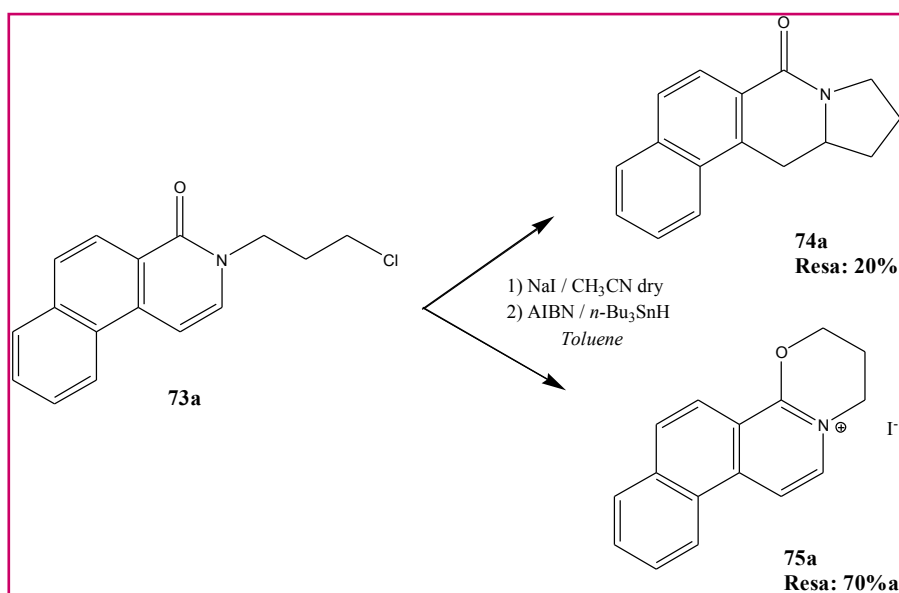
Dapprima si effettua una semplice *N*-alchilazione in presenza di 1-bromo-3-cloropropano in DMF dell'azoto del ciclo, a temperatura ambiente per 5 ore (*Schema 35*). Si ottiene il 3-(3-cloro-propil)-3H-benzo[*f*]isochinolin-4-one (**73a**).



*Schema 35. Reazione di N-alchilazione.*

Per prepararci alla reazione di ciclizzazione, si converte il cloruro in ioduro grazie ad un eccesso di ioduro di sodio in acetonitrile anidro. La reazione si effettua a caldo in un tubo sigillato a 125°C. In seguito lo ioduro ottenuto viene ciclizzato grazie ad una reazione di ciclizzazione radicalica realizzata con tributilstagno idruro e 2,2'-azobisisobutirronitrile (AIBN)<sup>8</sup>.

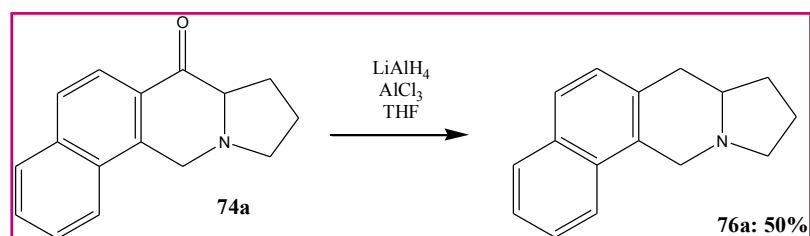
Problema di tale reazione è che essa è difficilmente controllabile ed, inoltre, frequentemente si ha la formazione di prodotti secondari. Tale problematica può essere risolta con un rigoroso controllo nell'aggiunta dell'agente radicalico, aggiunta che deve essere effettuata lentamente a piccole dosi e tempi costanti. Nel nostro caso abbiamo fatto, infatti, uso di una siringa temporizzata nella quale abbiamo inserito una sospensione di AIBN (2,2'-azobisisobutirronitrile) e toluene<sup>9,10</sup>. Come mostrato nello *Schema 36* per la serie 1-naftaldeide abbiamo isolato oltre al prodotto di interesse il 10,11,11a,12-tetraidro-9H-benzo[*f*]pirrolo[1,2-*b*]isochinolin-7-one (**74a**) ed anche il 2,3-diidro-1H-4-ossa-12a-aza-benzofenantrene ioduro (**75a**), come prodotto secondario<sup>11</sup>.



Schema 36. Reazione di ciclizzazione.

#### 4.3.2 REAZIONE DI RIDUZIONE

Il prodotto ciclizzato viene infine sottoposto ad una reazione di riduzione in presenza di litio alluminio idruro e tricloruro di alluminio a temperatura ambiente (Schema 37)<sup>12</sup>. La 7,9,10,11,11a,12-12-esaidro-benzo[f]pirrolo[1,2-b]isochinolina (**76a**) si ottiene con buone rese.



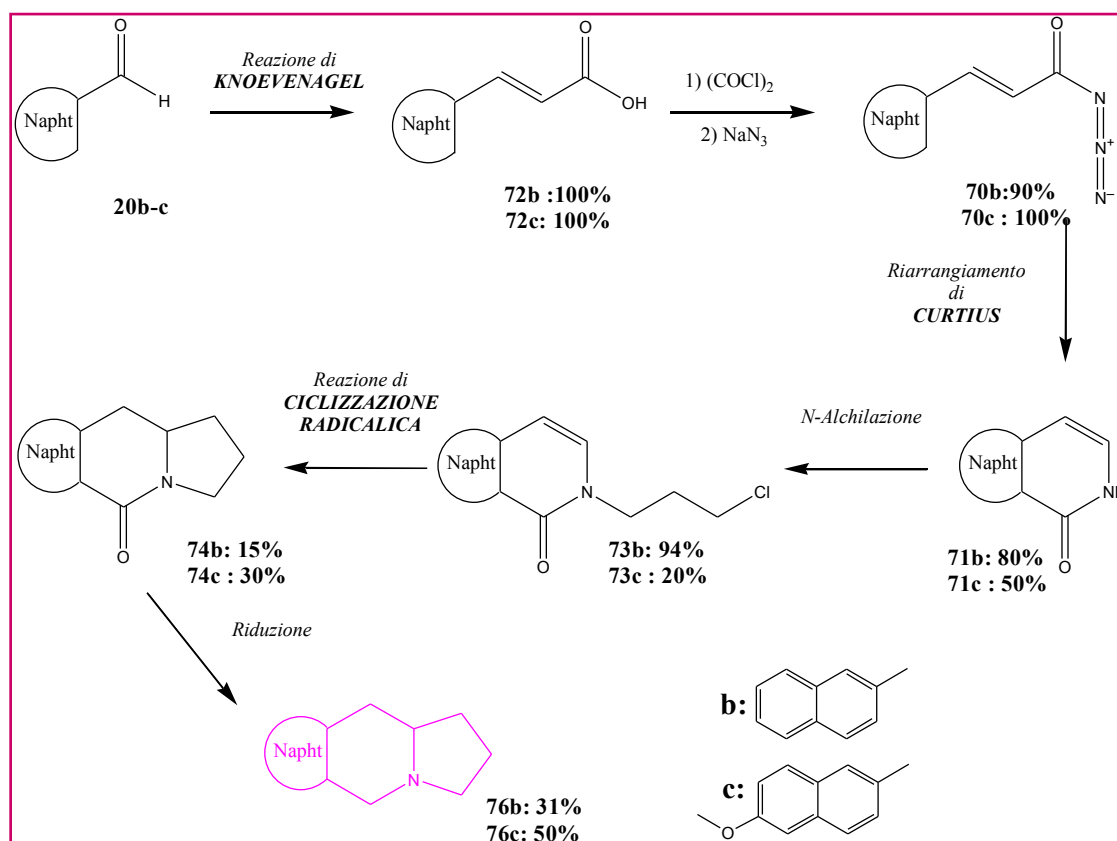
Schema 37. Reazione di riduzione.

#### 4.3.3 Metodica B: Sintesi degli analoghi dell'Antofina e della Tiloforina- Serie della 2-naftaldeide

La metodica descritta è stata applicata alla 2-naftaldeide (**20b**) e alla 6-metossi-2-naftaldeide (**20c**) con l'intento di estenderla poi ad altre naftaldeidi, commercialmente disponibili, al fine di ottenere una nuova library di derivati naftolizidinici (*Schema 38*).

Come riportato il primo step ha riguardato una reazione di Knoevenagel (con acido malonico, piperidina e piridina), seguita dalla formazione dei cloruri e delle azidi grazie al cloruro di ossalile e azituro di sodio. Le azidi ottenute sono state riarrangiate secondo Curtius per dare i derivati benzoisochinolonici. Infine, al fine di effettuare la ciclizzazione radicalica, essi sono stati opportunamente alchilati, poi trasformati in ioduri e a quest'ultimi è stato aggiunto tributilstagno idruro e 2,2'-azobisisobutirronitrile (AIBN).

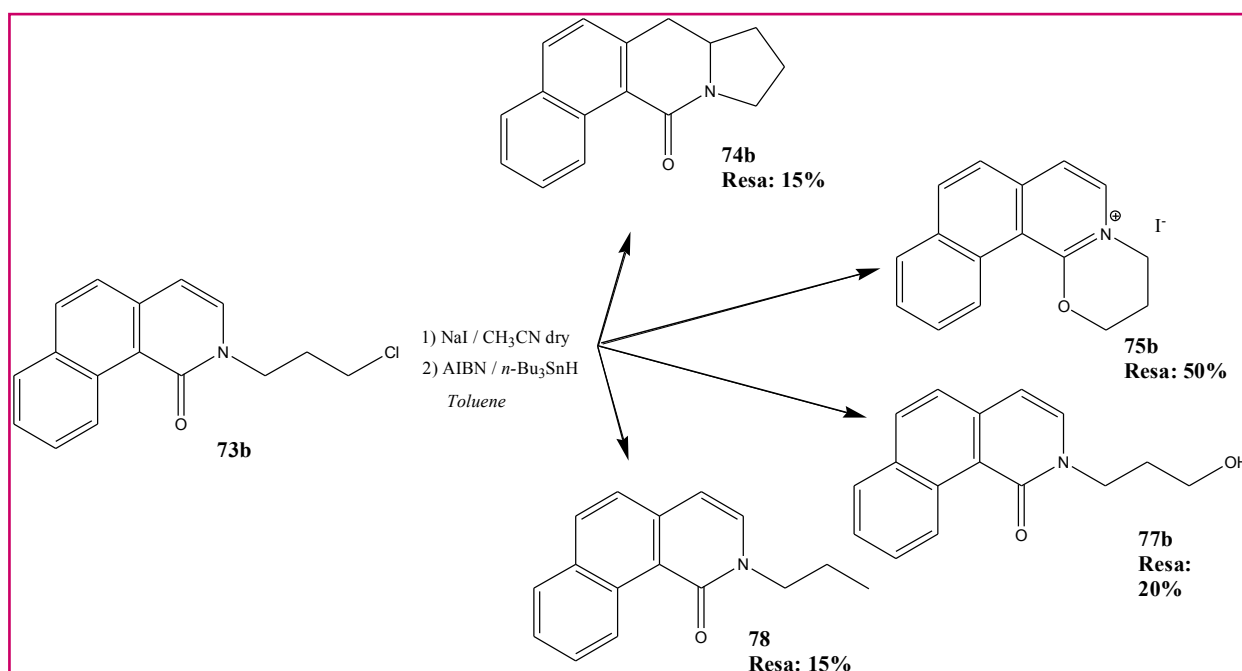
Si sono ottenuti i derivati ciclici attesi, quali interessanti e versatili intermedi, che sono stati ridotti con successo con litio alluminio idruro ottenendo i composti naftalenindolizidinici (**76b-c**) desiderati (*Schema 38*).



*Schema 38. Sintesi di derivati naftalenindolizidinici (76b-c).*

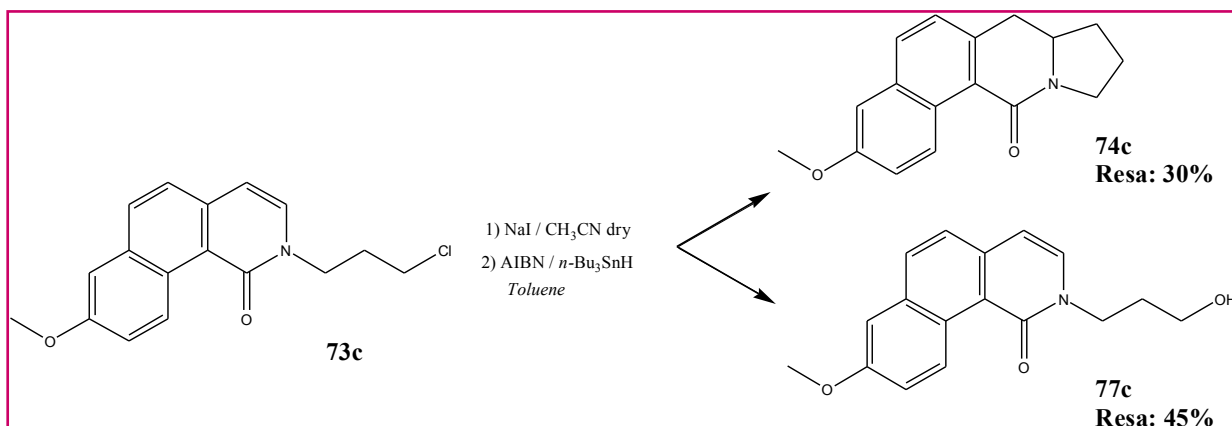
E' da sottolineare che anche nei casi appena descritti, dalla reazione di ciclizzazione radicalica abbiamo isolato più prodotti secondari, completamente caratterizzati e riportati dettagliatamente negli schemi seguenti.

In particolare, per quanto riguarda la serie della 2-naftaldeide abbiamo ottenuto: il 7a,8,9,10-tetraidro-7H-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinolin-12-one (**74b**); il 3,4-diidro-2H-1-ossa-4-aza-benzofenantrene ioduro (**75b**); il 2-(3-idrossi-propil)-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (**77b**) e il 2-propil-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (**78**), come mostrato nello *Schema 39*.



*Schema 39. Reazione di ciclizzazione (starting material: 2-naftaldeide).*

Invece, quando il prodotto di partenza è stata la 6-metossi-2-naftaldeide si sono formati: il 3-metossi-7a,8,9,10-tetraidro-7H-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinolin-12-one (**74c**) e del 2-(3-idrossi-propil)-8-metossi-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (**77c**), come mostrato nello *Schema 40*.



Schema 40. Reazione di ciclizzazione (starting material: 6-metossi-2-naftaldeide).

## BIBLIOGRAFIA

- <sup>(1)</sup> Staerk D., Lykkeberg A.K., Christensen J., Budnik B.A., Abe F., Jaroszewski J.W.; “In Vitro Cytotoxic Activity of Phenanthroindolizidine Alkaloids from *Cynanchum vincetoxicum* and *Tylophora* against Drug-Sensitive and Multidrug-Resistant”; *J. Nat. Prod.*, **2002**, *65*, 1299–1302.
- <sup>(2)</sup> Fu Y., Lee S.K., Min H.Y., Lee T., Lee J., Cheng M., Kima S.; “Synthesis and structure-activity studies of antofine analogues as potential anticancer agents”; *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2007**, *17*,
- <sup>(3)</sup> Dallemagne P., Pham Khanh L., Alsaïdi A., Varlet I., Collot V., Paillet M., Bureau Rn., Rault S.; “Synthesis and biological evaluation of five-Membered heterocycles fused to cyclopenta[c]thiophene as new antitumor agents”; *Bioorganic & medicinal chemistry*, **2003**, *11(7)*, 1161-1167.
- <sup>(4)</sup> Pham L., Dallemagne P., Alsaïdi A., Rault S.; “Synthesis of 7-amino-4,5,6,7-tetrahydrothieno[3,4-c]pyrid-4-ones”; *Heterocycles*, **1997**, *45(3)*, 527-535.
- <sup>(5)</sup> Dallemagne P., Rault S., “Synthesis of 4-aminothieno[2,3-c]pyrid-7-one from 4-aminocyclopenta[b]thiophen-6-one”; *Heterocycles*, **1988**, *27(7)*, 1637-1642.
- <sup>(6)</sup> Eloy and A. Deryckere; “Synthèse d'isocarbostyriles et de chloro-1-isoquinoléines”, *Helv. Chem. Acta*, **1969**, *52*, 1755-1762.
- <sup>(7)</sup> C.-R., Amooru G.Damu, Po-Cheng Chiang, Kenneth F. Bastow, Susan L. Morris-Natschke, Kuo-Hsiung Lee, Tian-Shung Wu; “Total synthesis of phenanthroindolizidine alkaloids (±)-antofine, (±)-deoxypergularinine, and their dehydro congeners and evaluation of their cytotoxic activity”; *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **2008**, *16(1)*, 233-6241.
- <sup>(8)</sup> Okano T., Sakaida T., Eguchi S; “Generation of 6-(Trifluoromethyl)-4,5-dihydro-2(3H)-pyridone and the Application to Synthesis of Some Fused Nitrogen Heterocycles Carrying a Trifluoromethyl Group on the Bridgehead Position via Radical Cyclization of Dihydropyridones”; *J. Org. Chem.*, **1996**, *61* (25), 8826–8830.



<sup>(9)</sup> Giese B.; “Tris (trimethylsilyl) silane as mediator in organic synthesis via radicals”; *Tetrahedron Letters*; 1989, 30(6), 681-684.

<sup>(10)</sup> Osornioa Y.M., Miranda L., Cruz-Almanza R., Muchowskib J.; “Radical cyclizations to quinolone and isoquinolone systems under oxidative and reductive conditions”; *Tetrahedron Letter*, **2004**, 45(13), 2855-2858.

<sup>(12)</sup> Wang Z., Cui M., Wang Q. “Synthesis of (*S*)-(+)-tylophorine and its seco analogues using” *Science in China Series B: Chemistry*, **2009**, 52(9), 1288-1299.

### SITOGRAFIA

<http://www.organic.chemistry.org/namedreactions/beckmannrearrangement.shtm>

<http://www.organic-chemistry.org/namedreactions/svilla>



## 5 CAPITOLO V

### *PARTE SPERIMENTALE*

*«La science est le capitaine, et  
la pratique, ce sont les  
soldats».*

*Léonard de Vinci*



## PARTE SPERIMENTALE

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

Gli spettri IR sono stati registrati con uno spettrometro Perkin Elmer BX-FT-IR in bromuro di potassio.

Gli spettri  $^1\text{H}$  NMR e i  $^{13}\text{C}$  NMR sono stati registrati con uno spettrometro JEOL Lambda 400 MHz e i chemical shifts sono stati riportati in ppm ( $\delta$ ) con  $\text{Me}_4\text{Si}$  come standard interno. I solventi adoperati sono stati  $\text{CDCl}_3$ ,  $\text{DMSO-d}_6$  e  $\text{CD}_3\text{OD}$  e  $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ .

Gli spettri di massa sono stati ottenuti utilizzando uno spettrometro JEOL JMS GCmate a potenziale di ionizzazione di 70eV(EI), mentre le LC-MS con uno spettrometro Waters alliance 2609 (ESI<sup>+</sup>).

Per la cromatografia su strato sottile sono state adoperate lastrine Riedel-de Haen 5 x 10cm di gel di silice 60 GF<sub>254</sub>, spessore 0,2mm; le macchie sulle TLC sono state osservate con luce ultravioletta. La cromatografia su colonna è stata realizzata con gel di silice SDS, Silice 60 A C-X 70-200 $\mu\text{m}$  Chromagel. Per la cromatografia flash abbiamo utilizzato colonne preparative di silice e cicloesano/acetato di etile come eluente.

Le reazioni al microonde sono state effettuate con un'apparecchiatura Biotage Initiator.

I reagenti chimici ed i solventi ad elevato grado di purezza utilizzati sono stati acquistati dalla Sigma-Aldrich-Fluka Chemical Co., Lancaster-Alfa Aesar, Acros e Carlo Erba.

Abbreviazioni:

s: singoletto; d: doppietto; dd: doppio doppietto; t: tripletto; q: quadrupletto; m: multipletto.

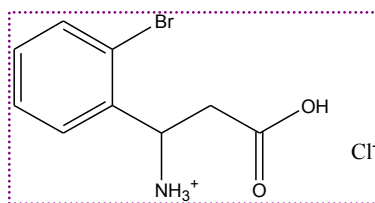
## 5.1 SINTESI DEGLI ANALOGHI DELLA COLCHICINA

### 5.1.1 Procedura generale per la preparazione degli acidi 3-amino-3-arylpropionici

#### Reazione di RODIONOV-JOHNSON

Una miscela costituita da 2-bromo benzaldeide (8 mL; 0,068 mol, 1 eq) (**21a**), acetato d'ammonio (10,5 g; 0,013 mol, 2 eq) e acido malonico (7,13 g; 0,068 mol, 1 eq) è posta a riflusso in etanolo (80 mL) per 6 ore. Il precipitato formatosi viene filtrato ed essicato, ottenendo un prodotto solido biancastro. Successivamente, il solido viene trattato con una soluzione di HCl 1N (150 mL), il cloridrato viene filtrato e distillato sotto pressione ottenendo l'amminoacido desiderato come solido bianco (10,2 g). Il solido recuperato rappresenta invece il diacido acrilico.

Di seguito verranno dettagliate le procedure utilizzate per l'ottenimento di ciascun prodotto.



#### Cloridrato dell'acido 3-ammino-3(2-bromofenil)-propionico (24c)

$C_9H_{11}BrClNO_2$

PM: 280,55 g/mol

P.f.: 200°C

Resa: 53 %

Solido bianco

## Analisi spettroscopica:

### IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ):

Banda del CO: 1686;

Bande principali: 2924; 2360; 1621; 1465; 1284; 1223; 1023; 773.

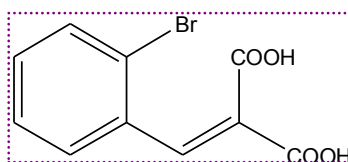
### $^1\text{H-NMR}$ ( $\delta\text{ppm}$ ) (DMSO- $d_6$ ) (400 MHz):

8,80 (s, 3H,  $\text{NH}_3$ ); 7,81 (d,  $J=7,8\text{Hz}$ , 1H); 7,69 (d,  $J=7,8\text{Hz}$ , 1H); 7,32 (m, 2H); 4,89 (t,  $J=6,5\text{Hz}$ , 1H); 3,13 (m, 1H); 2,99 (m, 1H).

### $^{13}\text{C-NMR}$ ( $\delta\text{ppm}$ ) (DMSO- $d_6$ ) (100 MHz):

170,4 (CO); 136,1; 133,0; 130,7; 128,7; 128,1; 123,8; 49,8; 38,0.

LC-MS (ESI):  $t_R = 1,70$  min ;  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  : 245,08.



### Acido 2-(2-bromo)-malonico (25c) (Diacido acrilico)

$\text{C}_{10}\text{H}_7\text{BrO}_4$

PM: 271,06 g/mol

P.f.: 182°C

Resa: 40 %

Solido bianco

**Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Bande del CO: 1711 e 1693;

Bande principali: 3433; 2854; 1624; 1467; 1245; 751.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (400 MHz):**

7,78 (s, 1H); 7,55 (t, 2H, J=7,8Hz); 7,50 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (100 MHz):**

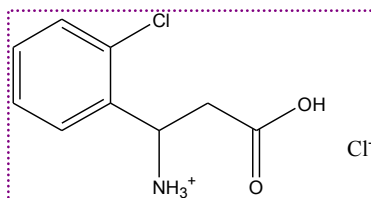
173,8 (CO); 172,1 (CO); 136,6; 135,3; 133,1; 131,9; 129,8; 128,2; 127,9; 124,0.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 5,24 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 272,08.



### Cloridrato dell'acido 3-ammino-3(2-clorofenil)-propionico (24a)

Una miscela costituita dalla 2-cloro benzaldeide (11 mL; 0,1 mol, 1 eq) (**22**), acetato d'ammonio (15,4 g; 0,2 mol, 2 eq) e acido malonico (10,4 g; 0,1 mol, 1 eq) è posta a riflusso in etanolo (100 mL) per 6 ore. Segue procedura descritta precedentemente. Abbiamo ottenuto 10,8 g di cloridrato.



**C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>Cl<sub>2</sub>NO<sub>2</sub>**

**PM:** 236,10 g/mol

**P.f.:** 186°C

**Resa:** 46 %

*Solido bianco*

#### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del CO: 1698;

Bande principali: 3413; 3046; 2038; 1518; 1400; 1228; 1033; 768.

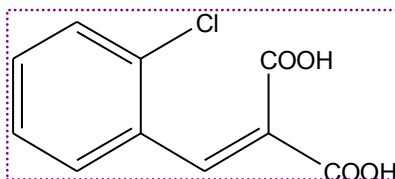
**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (400 MHz):**

8,88 (s, 3H, NH<sub>3</sub>); 7,54 (d, 1H, J=6,8Hz); 7,41 (d, 1H, J=7,8Hz); 7,29 (m, 2H); 4,91 (t, J=6,8Hz, 1H); 3,19 (m, 1H); 3,02 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (100 MHz):**

172,3 (CO); 135,1; 134,3; 132,7; 129,6; 128,6; 123,8; 44,5; 40,0.

LC-MS (ESI):  $t_R = 4,06$  min ;  $m/z [M+H]^+ : 200,20$ .



**Acido 2-(2-cloro)-malonico (25a) (Diacido acrilico)**

**$C_{10}H_7ClO_4$**

**PM:** 226,61 g/mol

**P.f.:** 220°C

**Resa:** 50 %

*Solido bianco*

**Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) ( $cm^{-1}$ ):**

Bande del CO: 1714 e 1693;

Bande principali: 3923; 3015; 2641; 1420; 1247; 924.

**$^1H$ -NMR ( $\delta$ ppm) (DMSO- $d_6$ ) (400 MHz):**

7,72 (s, 1H); 7,54 (d, 1H,  $J=6,8$ Hz); 7,41(d, 1H 7,8Hz); 7,29 (m,2H).

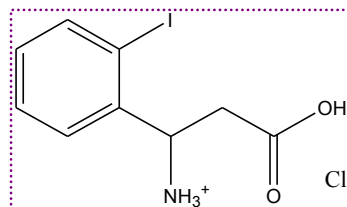
**$^{13}C$ -NMR ( $\delta$ ppm) (DMSO- $d_6$ ) (100 MHz):**

167,0 (CO); 165,0 (CO); 135,2; 133,3; 131,7; 131,5; 131,0; 129,7; 129,2; 127,5.

LC-MS (ESI):  $t_R = 5,12$  min ;  $m/z [M+H]^+ : 227,09$ .

### Cloridrato dell'acido 3-ammino-3(2-iodiofenil)-propionico (24b)

Una miscela costituita dalla 2-iodio benzaldeide (350 mg; 0,0015 mol, 1 eq) (**23**), acetato d'ammonio (234 mg; 0,003 mol, 2 eq) e acido malonico (160 mg; 0,0015 mol, 1 eq) è posta a riflusso in etanolo (10 mL) per 6 ore. Segue procedura descritta precedentemente. Abbiamo ottenuto 35 mg di cloridrato (**24b**).



**C<sub>9</sub>H<sub>11</sub>ClINO<sub>2</sub>**

**PM:** 327,25 g/mol

**P.f.:** 218°C

**Resa:** 7%

*Solido bianco*

#### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del CO: 1699;

Bande principali: 3423; 3325; 2222; 1521; 1420; 1238; 1011; 779.

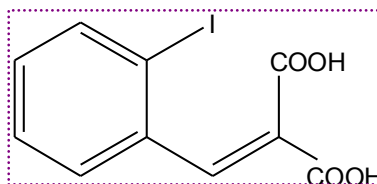
**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (400 MHz):**

8,60 (s, 3H, NH<sub>3</sub>); 7,95 (d, 1H, J=7,8Hz); 7,67 (d, 1H, J=8Hz); 7,47 (m, 2H); 4,76 (t, J=7,8Hz, 1H); 2,99 (m, 1H); 2,91 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (100 MHz):**

175,2 (CO); 134,2; 133,7; 131,7; 129,8; 129,2; 128,8; 50,5; 45,0.

LC-MS (ESI):  $t_R = 4,88$  min ;  $m/z [M+H]^+ : 292,22$ .



**Acido 2-(2-iodio)-malonico (25b) (Diacido acrilico)**

**C<sub>10</sub>H<sub>7</sub>IO<sub>4</sub>**

**PM:** 318,06 g/mol

**P.f.:** 208°C

**Resa:** 90%

*Solido bianco*

**Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Bande del CO : 1852 e 1659;

Bande principali : 3190; 2961; 2809; 1579; 1432; 1297; 1011; 751.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (400 MHz):**

7,74 (s, 1H); 7,42 (d, 1H, J=7,8Hz); 7,31 (t, 1H, J=7Hz); 7,02 (t, 2H, J=7,8Hz).

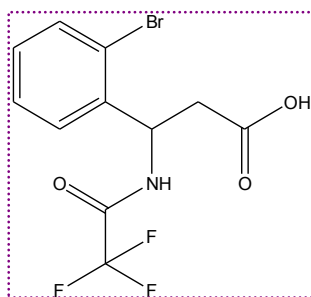
**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (DMSO- d<sub>6</sub>) (100 MHz):**

168,0 (CO); 166,2 (CO); 140,2; 137,6; 134,8; 132,6; 130,7; 129,7; 128,2; 127,5.

LC-MS (ESI):  $t_R = 5,45$  min ;  $m/z [M+H]^+ : 319,08$ .

### 5.1.2 Sintesi dell'acido 3-(2-bromofenil)-3-(2,2,2-trifluoroacetamide)-propionico (28)

In un pallone da 250 mL si mescolano 1g (3,56 mmol, 1 eq) del cloridrato dell'acido 3-ammino-3(2-bromofenil)-propionico (**24c**) in circa 50mL di etere etilico, e si aggiungono lentamente 1,98 mL di anidride trifluoroacetica (1,42 mmol, 4 eq). La reazione viene lasciata a refluxo per un'ora. L'eccesso di anidride è allontanato su pressione ridotta e il prodotto cristallizzato con acqua. I cristalli formati vengono filtrati ed essiccati all'aria. Ottenendo 1,22 g di ammido (**28**).



**C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>BrF<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>**

**PM:** 340,09 g/mol

**P.f.:** 185°C

**Resa:** 100%

*Solido bianco*

#### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del *NH*: 3301;

Banda dell'*OH*: 1440;

Banda del *CF<sub>3</sub>*: 1261; 1185; 1156;

Banda del *CO*: 1712 e 1705;

Bande principali: 2669; 2360; 1818; 1185; 1023.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (400 MHz):**

12,5 (s, 1H, *OH*); 10,1 (d, 1H, *J*=7,8Hz, *NH*); 7,62 (d, 1H, *J*=7,8Hz); 7,42 (m, 2H); 7,23 (m, 1H); 5,56 (m, 1H); 2,81 (m, 1H); 2,69 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (100 MHz):**

170,9 (*CO*); 162,3 (*CO*); 139,6; 132,6; 129,5; 128,2; 127,3; 122,1; 79,2; 50,0.

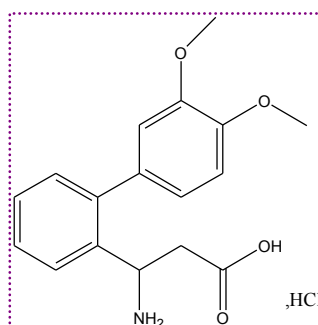
**LC-MS (ESI):**  $t_R = 5,96$  min ;  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> : 341,11.

## 5.2 Preparazione dei bifenil-β-amminoacidi

### METODICA A: Reazione di SUZUKI-MIYAURA

#### 5.2.1 Sintesi del cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(3',4'-dimetossibifenil-2-il)-propionico (29a)

Ad una soluzione di acido 3-(2-bromofenil)-3-(2,2,2-trifluoroacetamide)-propionico (3,2 g, 9,4 mmol, 1 eq) (**28**) in DME è stata aggiunta sotto azoto in successione 1,88 g di 3,4-dimetossifenil acido boronico (10 mmol, 1,1 eq), 4 eq di NaHCO<sub>3</sub> in H<sub>2</sub>O e 0,05 eq di Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>. Tale sospensione è stata riscaldata al micro-onde per 1:30h a 150°C. La miscela è stata portata a secco, il residuo è stato ripreso con poca acqua e lavato con cloroformio. La fase acquosa viene dapprima acidificata con una soluzione di HCl 6M fino a pH 1, e successivamente estratta con cloroformio. Dopo anidrifcazione con MgSO<sub>4</sub>, si evapora a pressione ridotta la fase organica ottenendo il derivato cinnamico. La rimanente fase acquosa è stata saturata con NaCl e tenuta sotto agitazione per 3 ore a temperatura ambiente ottenendo l'amminoacido bifenilico deprotetto sottoforma di cristalli (**29a**) (600 mg) e piccole tracce del derivato cinnamico (**30**).



#### Cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(3',4'-dimetossibifenil-2-il)-propionico (29a)

**C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>ClNO<sub>4</sub>**

**PM:** 337,81 g/mol

**P.f.:** 243°C

**Resa:** 20 %

*Cristalli bianchi*

## Analisi spettroscopica:

### IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):

Banda del CO : 1730;

Bande principali : 3140; 2911; 1522; 1498; 1247; 1141; 1109; 1020.

### <sup>1</sup>H-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (400 MHz):

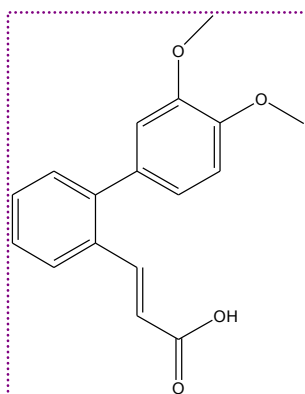
8,75 (s, 2H, NH<sub>2</sub>); 7,88 (d, 1H, J=7,5Hz); 7,47 (m, 1H), 7,42 (m, 1H); 7,27 (dd, 1H, J=8,0-1,0Hz); 7,04 (d, 1H, J=8,5Hz); 7,02 (d, 1H, J=1,5Hz); 6,91 (dd, 1H, J=8,5-1,5Hz); 4,60 (m, 1H); 3,81 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,78 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,08 (dd, 1H, J=16-7,5Hz); 2,94 (dd, 1H, J=16-7,5Hz).

### <sup>13</sup>C-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (100 MHz):

171,0; 148,7; 148,5; 142,3; 135,0; 132,7; 130,8; 128,9; 128,3; 127,3; 121,9; 113,6; 112,5; 56,0 (OCH<sub>3</sub>); 47,6; 39,2.

LC-MS (ESI): t<sub>R</sub> = 6,12 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 302.

HREIMS: [M<sup>-</sup>] m/z 300,1234 (calcolato per C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>4</sub> 300,1236).



### Acido 3-(3',4'-dimetossibifenil-2-il)propen-2-oico (30)

C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>

PM: 284,31 g/mol

P.f.: 166°C



**Resa:** 5 %

*Solido giallino*

**Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ):**

Banda del *CO* : 1693;

Banda dell'*OH* : 3430;

Bande principali : 1622; 1521; 1325; 1252; 1027; 1002.

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\delta\text{ppm}$ ) ( $\text{CDCl}_3$ ) (400 MHz):**

7,87 (d, 1H,  $J=16,6\text{Hz}$ ); 7,70 (d, 1H,  $J=7,8\text{Hz}$ ); 7,42 (m, 3H); 6,94 (d, 1H,  $J=8,8\text{Hz}$ ); 6,86 (m, 2H); 6,40 (d, 1H,  $J=16,6\text{Hz}$ ); 3,94 (s, 3H, *OCH*<sub>3</sub>), 3,88 (s, 3H, *OCH*<sub>3</sub>).

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\delta\text{ppm}$ ) ( $\text{CDCl}_3$ ) (100 MHz):**

172,0 (*CO*<sub>2</sub>*H*); 148,6 (2*C*); 146,2; 142,9; 132,3; 132,2; 130,4; 130,2; 127,4; 127,0; 122,3; 118,1; 113,1; 110,9; 55,9 (2*C*).

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 10,1 \text{ min}$  ;  $m/z$   $[\text{M-H}]^+$  : 285,18.

**HREIMS:**  $[\text{M}^+]$   $m/z$  284,10542 (calcolato per  $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_5$  284,10484).

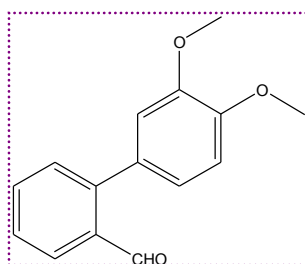
### 5.3 Procedura generale per la preparazione delle bifenil- $\beta$ -carbaldeidi diversamente sostituite

#### **METODICA B: Reazione di SUZUKI-MIYAUURA**

Ad una soluzione (sotto azoto) di 2-bromo benzaldeide opportunamente sostituita (1 eq) (**21a-c**) in DME è stata aggiunta in successione 1,5 eq di acido boronico, 3 eq di  $K_3PO_4 \cdot H_2O$  e 0,05 eq di  $Pd(PPh_3)_4$ . Tale sospensione è stata riscaldata al micro-onde per 1h30 a 150°C. La miscela risultante è stata filtrata, per eliminare la base in eccesso e il filtrato lavato più volte con etere etilico e acetato di etile. In seguito la soluzione ottenuta è stata portata a secco al rotavapor ottenendo un solido grezzo. Il prodotto è stato purificato mediante flash cromatografia (cicloesano/acetato di etile).

#### *5.3.1 Sintesi della 3',4'-dimetossibifenil-2-carbaldeide (31a)*

Ad una soluzione (sotto azoto) di 2-bromo benzaldeide (185 mg, 0,01 mol) (**21a**) in DME, sono stati aggiunti 273 mg di 3,4-dimetossifenil acido boronico (0,015 mol). Segue procedura generale precedentemente descritta. Si ottiene il composto desiderato sottoforma di olio giallino (**31a**) (173 mg).



#### **3',4'-dimetossibifenil-2-carbaldeide (31a)**

**C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>**

**PM:** 242,27 g/mol

**P.f.:** >260°C

**Resa:** 71 %

*Olio giallino*

## **Analisi spettroscopica:**

### **IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del *CO* : 1688;

Bande principali : 1598; 1517; 1247; 1025.

### **<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

10,0 (s, 1H, *CHO*); 8,01 (d, 1H, J=7,8Hz); 7,63 (dd, 1H, J=7,8-1,9Hz); 7,47 (m, 2H); 6,94 (d, 1H, J=8,8Hz); 6,91 (m, 2H); 3,95 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*); 3,91 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*).

### **<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

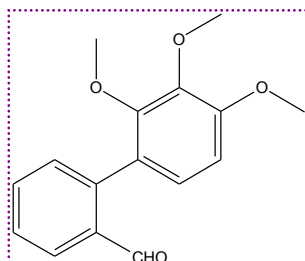
192,7 (*CHO*); 149,3; 148,8; 146,2; 145,7; 133,9; 133,5; 130,7; 127,7; 127,6; 122,9; 113,2; 110,9; 55,9 (*OCH<sub>3</sub>*).

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 10,63 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 243.

**HREIMS:** [M<sup>+</sup>] m/z 242,093876 (calcolato per C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub> 242,094294).

### 5.3.2 Sintesi della 2',3',4'-trimetossibifenil-2-carbaldeide (31b)

Ad una soluzione (sotto azoto) di 2-bromo benzaldeide (315 mg, 0,017 mol) (**21a**) in DME, sono stati aggiunti 540 mg di 2,3,4-trimetossifenil acido boronico (0,025 mol). Segue procedura precedentemente descritta. Si ottiene il composto desiderato sottoforma di solido giallino (**31b**) (323 mg).



### 2',3',4'-trimetossibifenil-2-carbaldeide (31b)

$C_{16}H_{16}O_4$

PM: 272,30 g/mol

P.f.: 240°C

Resa: 70 %

Solido giallino

### Analisi spettroscopica:

IR (KBr) ( $cm^{-1}$ ):

Banda del CO : 1697;

Bande principali : 2939; 2842; 2089; 1594; 1447; 1093.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

9,85 (s, 1H, *CHO*); 8,02 (d, 1H, J=7,8Hz); 7,64 (d, 1H, J=7,8Hz); 7,49 (t, 1H, J=6,8Hz); 7,38 (d, 1H, J=6,8Hz); 7,00 (d, 1H, J=8,8Hz); 6,79 (d, 1H, J=7,8Hz); 3,92 (s, 6H, *OCH<sub>3</sub>*); 3,54 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*).

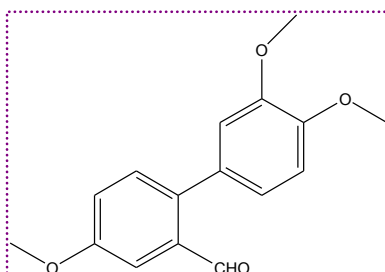
**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

190,7 (*CHO*); 147,3; 146,8; 145,6; 134,7; 133,9; 133,5; 130,7; 127,7; 127,6; 122,9; 115,2; 110,9; 56,9 (*OCH<sub>3</sub>*).

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 10,82 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 273.

### 5.3.3 Sintesi della 3',4,4'-trimetossibifenil-2-carbaldeide (31c)

Ad una soluzione (sotto azoto) di 2-bromo-5-metossi benzaldeide (645 mg, 0,03 mol) (**21b**) in DME sono stati aggiunti 819 mg di 3,4-dimetossifenil acido boronico (0,045 mol). Segue procedura precedentemente descritta. Si ottiene il composto desiderato sottoforma di solido giallino (**31c**) (635 mg).



### 3',4,4'-trimetossibifenil-2-carbaldeide (31c)

$C_{16}H_{16}O_4$

PM: 272,30 g/mol

P.f.: 105°C

Resa: 77%

Solido giallino

### Analisi spettroscopica:

IR (KBr) ( $cm^{-1}$ ):

Banda del CO : 1688;

Bande principali : 1598; 1517; 1247; 1025.

$^1H$ -NMR ( $\delta$ ppm) ( $CDCl_3$ ) (400 MHz):

10,0 (s, 1H, CHO); 8,01 (d, 1H, J=7,8Hz); 7,63 (dd, 1H, J=7,8-1,9Hz); 7,47 (m, 2H); 6,94 (d, 1H, J=8,8Hz); 6,91 (m, 1H); 3,95 (s, 6H,  $OCH_3$ ); 3,91 (s, 3H,  $OCH_3$ ).

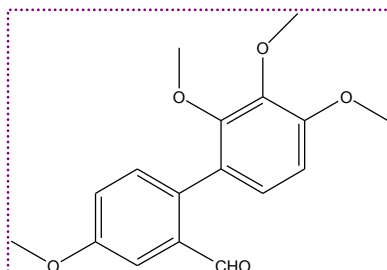
**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

192,5 (*CHO*); 158,9; 148,9; 148,8; 138,9; 134,5; 132,0; 130,1; 122,9; 121,4; 113,1; 110,9;  
109,7; 55,9 (*OCH<sub>3</sub>*); 55,6 (*OCH<sub>3</sub>*).

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 6,72$  min ;  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> : 273.

#### 5.3.4 Sintesi della 2',3',4,4'-tetrametossibifenil-2-carbaldeide (31d)

Ad una soluzione (sotto azoto) di 2-bromo-5-metossi benzaldeide (365 mg, 0,017 mol) (**21b**) in DME sono stati aggiunti 540 mg di 2,3,4-trimetossifenil acido boronico (540 mg). Segue procedura precedentemente descritta. Si ottiene il composto desiderato sottoforma di solido giallino (**31d**) (443 mg).



#### 2',3',4,4'-tetrametossibifenil-2-carbaldeide (31d)

**C<sub>17</sub>H<sub>18</sub>O<sub>5</sub>**

**PM:** 302,32 g/mol

**P.f.:** 130°C

**Resa:** 86%

*Solido giallino*

#### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del CO : 1699;

Bande principali : 1721; 1618; 1528; 1255; 1090.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

9,80 (s, 1H, CHO); 7,51 (d, 1H, J=7,8Hz); 7,31 (m, 1H); 7,20 (dd, 1H, J=8,7-3Hz); 6,97 (d, 1H, J=8,8Hz); 6,78 (d, 1H, J=8,Hz); 3,9 (s, 9H, OCH<sub>3</sub>); 3,54 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).



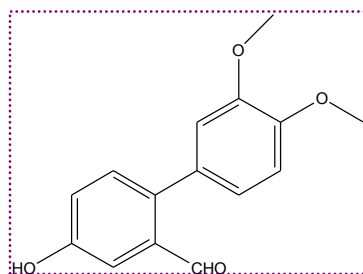
**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

190 (*CHO*); 161,4; 147,9; 147,8; 136,9; 133,6; 132,0; 128,3; 122,9; 120,4; 113,1; 110,9;  
109,7; 56,9 (*OCH<sub>3</sub>*); 56,0 (*OCH<sub>3</sub>*); 55,6 (*OCH<sub>3</sub>*).

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 11,02$  min ;  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> : 303.

### 5.3.5 Sintesi della 4-idrossi-3',4'-dimetossibifenil-2-carbaldeide (31e)

Ad una soluzione (sotto azoto) di 2-bromo-5-idrossi benzaldeide (603 mg, 0,03 mol) (**21c**) in DME sono stati aggiunti 819 mg di 3,4-dimetossifenil acido boronico(0,045 mol). Segue procedura precedentemente descritta. Si ottiene il composto sottoforma di solido giallino (561 mg).



### 4-idrossi-3',4'-dimetossibifenil-2-carbaldeide (31e)

**C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>**

**PM:** 258,27 g/mol

**P.f.:** 186°C

**Resa:** 72%

*Solido giallino*

### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del CO : 1679;

Banda dell'OH : 3424;

Bande principali : 1605; 1498; 1253; 1085.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

9,94 (s, 1H, *CHO*); 7,44 (d, 1H, *J*=2,9Hz); 7,36 (d, 1H, *J*=8,8Hz), 7,15 (dd, 1H, *J*=8,8-2,9Hz); 6,95 (d, 1H, *J*=8,8Hz); 6,87 (m, 2H); 5,21(s, 1H, *OH*); 3,95 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*); 3,92 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

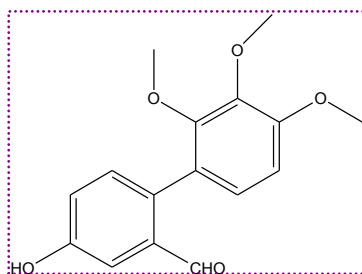
192,5 (*CHO*); 155,1; 148,9; 148,7; 138,9; 134,7; 132,3; 130,0; 122,9; 121,2; 113,1; 112,8; 110,9; 56,0 (*OCH<sub>3</sub>*).

**LC-MS (ESI):** *t<sub>R</sub>* = 5,92 min ; *m/z* [M+H]<sup>+</sup> : 257.

**HREIMS:** [M<sup>+</sup>] *m/z* 258,08921 (calcolato per C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub> 258,08919).

### 5.3.6 Sintesi della 4-idrossi-2',3',4'-trimetossibifenil-2-carbaldeide (31f)

Ad una soluzione (sotto azoto) di 2-bromo-5-idrossi benzaldeide (302 mg, 0,015 mol) (**21c**) in DME sono stati aggiunti 477 mg di 2,3,4-trimetossifenil acido boronico (0,0225 mol). Segue procedura precedentemente descritta. Si ottiene il composto sottoforma di solido giallino (**31f**) (296 mg).



### 4-idrossi-2',3',4'-trimetossibifenil-2-carbaldeide (31f)

**C<sub>16</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub>**

**PM:** 288,30 g/mol

**P.f.:** 132°C

**Resa:** 68 %

*Solido giallino*

### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del CO : 1680;

Banda dell' OH : 3454;

Bande principali : 1602; 1486; 1286; 1095.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

9,78 (s, 1H, CHO); 7,56 (d, 1H, J=2,9Hz); 7,28 (d, 1H, J= 8,8Hz), 7,18 (dd, 1H, J= 8,8-2,9Hz); 6,97 (d, 1H, J= 7,8Hz); 6,78 (m, 2H); 3,93 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 3,53 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

193,2 (*CHO*); 155,8; 153,7; 151,1; 141,9; 134,4; 133,8; 132,7; 125,7; 124,3; 121,6; 112,7;  
107,5; 61,1 (*OCH<sub>3</sub>*); 60,6 (*OCH<sub>3</sub>*); 56,0 (*OCH<sub>3</sub>*).

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 6,04$  min ;  $m/z$  [M-H]<sup>-</sup> : 287.

**HREIMS:** [M<sup>+</sup>]  $m/z$  288,09936 (calcolato per C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>O<sub>5</sub> 288,09975).

## 5.4 Procedura generale per la preparazione dei bifenil- $\beta$ -amminoacidi diversamente sostituiti

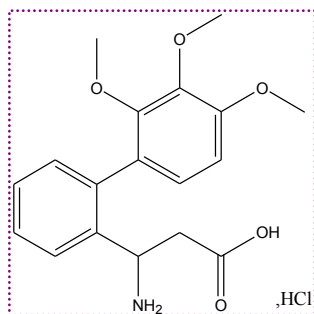
### **METODICA B: Reazione di RODIONOV-JOHNSON**

Le bifenil carbaldeidi (**31b-f**) rispettivamente sono state sottoposte ad una reazione di Rodionov-Johnson. In particolare essere sono state poste a refluxo, in etanolo, per 3h con 1 eq di acido malonico e 2 eq di acetato di ammonio. Segue procedura standard precedentemente descritta. Si sono ottenuti i cloridrati degli aminoacidi desiderati (**29b-f**).

Di seguito verranno dettagliate le procedure utilizzate per l'ottenimento di ciascun prodotto.

#### *5.4.1 Sintesi del cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(2',3',4'-trimetossibifenil-2-il)-propionico (29b)*

Una miscela di 2',3',4'-trimetossibifenil-2-carbaldeide (300mg; 1,1 mmol, 1 eq) (**31b**), acetato d'ammonio (169 mg; 2,2 mmol, 2 eq) e acido malonico (114 mg; 1,1 mmol, 1 eq) è posta a riflusso in etanolo (50 mL) per 4 ore. Segue procedura descritta precedentemente. Il prodotto finale precipita come cloridrato per aggiunta di acetone (**29b**) (50 mg).



#### **Cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(2',3',4'-trimetossibifenil-2-il)-propionico (29b)**

**C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>ClNO<sub>5</sub>**

**PM:** 366,36 g/mol

**P.f.:** >260°C

**Resa:** 17%

*Cristalli bianchi*

**Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del *CO* : 3396;

Bande principali : 2956; 2551; 2160; 1630; 1570; 1397; 1024; 768.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (400 MHz):**

7,43 (d, 1H, J=8,8Hz); 7,28 (d, 1H, J=2,9Hz); 7,13 (m, 2H); 6,98 (dd, 1H, J= 7,8-19Hz d, 1H, J=1,9Hz); 6,82 (d, 1H, J=1,9Hz); 5,18 (m, 1H); 3,73 (s, 6H, *OCH*<sub>3</sub>); 3,33 (s, 3H, *OCH*<sub>3</sub>); 3,0 (m, 2H).

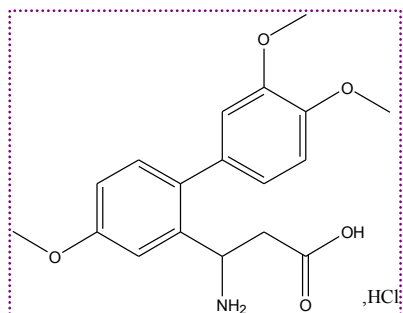
**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (100 MHz):**

170,7 (*CO*<sub>2</sub>H); 163,4, 151,3; 151,1; 138,2; 137,5; 133,6; 133,4; 123,2; 118,6; 115,5; 113,0; 112,5; 58,5 (2C, *OCH*<sub>3</sub>); 58,1 (*OCH*<sub>3</sub>); 50,2; 39,4.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 7,02 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 332.

#### 5.4.2 Sintesi del cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(3',4,4'-trimetossibifenil-2-il)-propionico (29c)

Una miscela di 3',4,4'-trimetossibifenil-2-carbaldeide (630 mg; 2,3 mmol, 1 eq) (**31c**), acetato d'ammonio (355 mg; 4,6 mmol, 2 eq) e acido malonico (240 mg; 2,3 mmol, 1 eq) è posta a riflusso in etanolo (100 mL) per 4 ore. Segue procedura descritta precedentemente. Il prodotto finale precipita come cloridrato per aggiunta di acetone (**29c**) (196 mg).



#### **Cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(3',4,4'-trimetossibifenil-2-il)-propionico (29c)**

**C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>ClNO<sub>5</sub>**

**PM:** 366,81 g/mol

**P.f.:** 233°C

**Resa:** 26%

*Cristalli bianchi*

#### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del CO : 1716;

Banda dell'OH : 3033;

Bande principali : 1615; 1497; 1408; 1245; 1174; 1016.



**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CD<sub>3</sub>OD) (400 MHz):**

7,26 (d, 1H, J=88Hz); 7,18 (d, 1H, J=1,9Hz); 7,02 (m, 2H); 6,93 (d, 1H, J=1,9Hz); 6,86 (dd, 1H, J= 7,8-19Hz); 4,79 (m, 1H); 3,87 (s, 3H, *OCH*<sub>3</sub>); 3,86 (s, 3H, *OCH*<sub>3</sub>), 3,83 (s, 3H, *OCH*<sub>3</sub>); 2,99 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CD<sub>3</sub>OD) (100 MHz):**

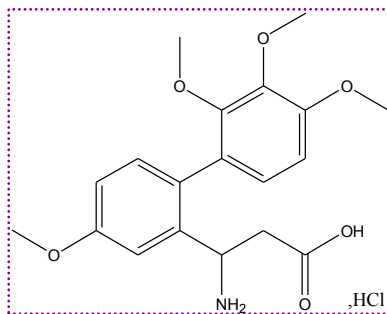
172,7 (CO<sub>2</sub>H); 161,2, 150,3; 150,1; 136,3; 135,5; 133,6; 133,4; 123,2; 115,6; 114,5; 113,0; 112,3; 56,5 (2C, *OCH*<sub>3</sub>); 56,1 (*OCH*<sub>3</sub>); 49,0 (nascosto dal segnale del solvente); 39,4.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 4,36 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 330.

**HREIMS:** [M<sup>+</sup>] m/z 331,14131 (calcolato per C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>5</sub> 331,14194).

#### 5.4.3 Sintesi del cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(2',3',4,4'-tetrametossibifenil-2-il)-propionico (29d)

Una miscela di 2',3',4,4'-tetrametossibifenil-2-carbaldeide (625 mg; 2,07 mmol, 1eq) (**31d**), acetato d'ammonio (319 mg; 4,14 mmol, 2eq) e acido malonico (215 mg; 2,07 mmol, 1eq) è posta a riflusso in etanolo (100 mL) per 4 ore. Segue procedura descritta precedentemente. Il prodotto finale precipita come cloridrato per aggiunta di acetone (**29d**) (191 mg).



#### Cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(2',3',4,4'-tetrametossibifenil-2-il)-propionico (29d)

$C_{19}H_{24}ClNO_6$

PM: 396,39 g/mol

P.f.: 192°C

Resa: 25%

Cristalli bianchi

#### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del CO : 1724;

Banda dell'OH : 3055;

Bande principali : 1608; 1489; 1402; 1294; 1240; 1079.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CD<sub>3</sub>OD) (400 MHz):**

7,26 (d, 1H, J=8,8Hz); 7,20 (d, 1H, J=1,9Hz); 7,05 (dd, 1H, J= 8,8-1,9Hz); 6,98 (d, 1H, J=8,8Hz); 6,91 (m, 1H); 4,50 (dd, 1H, J=8,8-5,8Hz); 3,89 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,88 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,83 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,59 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2,91 (dd, 1H, J=17,5-8,8Hz); 2,75 (dd, 1H, J=17,6-5,9Hz).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CD<sub>3</sub>OD) (100 MHz):**

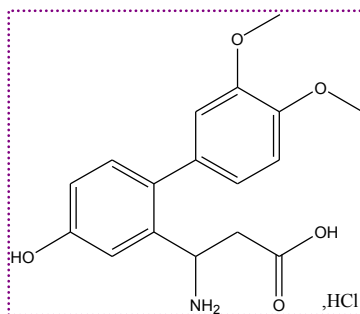
173,7 (CO<sub>2</sub>H); 161,4; 155,2; 152,5; 143,5; 137,7; 133,5; 131,2; 127,4; 127,1; 115,6; 112,3; 109,8; 61,8 (OCH<sub>3</sub>); 61,5 (OCH<sub>3</sub>); 56,6 (OCH<sub>3</sub>); 56,1 (OCH<sub>3</sub>); 50,4; 39,2.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 4,57 min ; m/z [M-H]<sup>-</sup> : 360.

**HREIMS:** [M<sup>+</sup>] m/z 362,1596 (calcolato per C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>6</sub> 362,1604).

#### 5.4.4 Sintesi del cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(4-idrossi-3',4'-dimetossibifenil-2-il)-propionico (29e)

Una miscela di 4-idrossi-3',4'-dimetossibifenil-2-carbaldeide (550 mg; 2,13 mmol, 1eq) (**31e**) con aggiunta di acetato d'ammonio (329 mg; 4,14 mmol, 2eq) e acido malonico (222 mg; 2,13 mmol, 1eq) è posta a riflusso in etanolo (100 mL) per 4 ore. Segue procedura descritta precedentemente. Il prodotto finale precipita come cloridrato per aggiunta di acetone (**29e**) (75 mg).



#### Cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(4-idrossi-3',4'-dimetossibifenil-2-il)-propionico (29e)

**C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>ClNO<sub>5</sub>**

**PM:** 352,34 g/mol

**P.f.:** 240°C

**Resa:** 10%

*Cristalli bianchi*

#### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del CO : 1734;

Banda dell'OH : 3044;

Bande principali : 1494; 1403; 1354; 1244; 1025.

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\delta\text{ppm}$ ) ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) (400 MHz):**

7,15 (d, 1H,  $J=8,8\text{Hz}$ ); 7,06 (d, 1H,  $J=2,9\text{Hz}$ ); 7,02 (d, 1H,  $J=7,8\text{Hz}$ ); 6,93 (d, 1H,  $J=1,9\text{Hz}$ ); 6,87 (m, 2H); 4,75 (d, 1H,  $J=5,8\text{Hz}$ ); 3,87 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3,84 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ); 3,02 (dd, 1H,  $J=17,6-7,8\text{Hz}$ ); 2,94 (dd, 1H,  $J=17,6-5,8\text{Hz}$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\delta\text{ppm}$ ) ( $\text{DMSO-d}_6$ ) (100 MHz):**

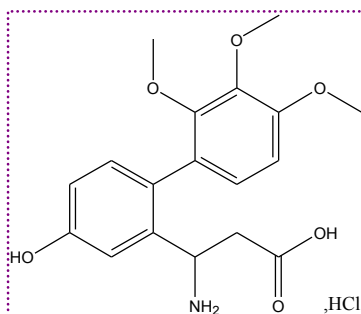
172,5 ( $\text{CO}_2\text{H}$ ); 157,0; 148,3; 147,7; 139,1; 132,8; 131,4, 131,2; 121,3; 114,7; 113,2; 112,8; 111,6; 55,5 (2C,  $\text{OCH}_3$ ); 48,7; 41.

**LC-MS (ESI):**  $t_{\text{R}} = 4,10 \text{ min}$  ;  $m/z$   $[\text{M-H}]^-$  : 316.

**HREIMS:**  $[\text{M}^+]$   $m/z$  317,12591 (calcolato per  $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}_5$  317,12629).

#### 5.4.5 Sintesi del cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(4-idrossi-2',3',4'-trimetossibifenil)-propionico (29f)

Una miscela di 4-idrossi-2',3',4'-trimetossibifenil-2-carbaldeide (567 mg; 1,96 mmol, 1eq) (**31f**), acetato d'ammonio (303 mg; 3,9 mmol, 2 eq) e acido malonico (203 mg; 1,96 mmol, 1 eq) è posta a riflusso in etanolo (500 mL) per 4 ore. Segue procedura descritta precedentemente. Il prodotto finale precipita come cloridrato per aggiunta di acetone (**29f**) (160 mg).



#### Cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(4-idrossi-2',3',4'-trimetossibifenil)-propionico (29f)

$C_{18}H_{22}ClNO_6$

PM: 409,36 g/mol

P.f.: 260°C

Resa: 23%

*Cristalli bianchi*

#### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del CO : 1615;

Banda dell'OH : 3237;

Bande principali : 1595; 1487; 1410; 1292; 1094.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>, 90°C) (400 MHz):**

6,99 (d, 1H, J=2,9Hz); 6,92 (d, 1H, J=7,8Hz); 6,80 (m, 2H); 6,70 (dd, 1H, J=7,8-2,9Hz); 3,99 (m, 1H); 3,83 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 3,78 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 2,29 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (100 MHz):**

172,9 (CO<sub>2</sub>H); 157,0; 152,8; 151,1; 141,7; 140,2; 131,4; 127,4; 126,5; 125,4; 114,5; 112,7; 108,0; 60,6 (OCH<sub>3</sub>); 60,4 (OCH<sub>3</sub>); 55,8 (OCH<sub>3</sub>), 49,2, 40,1.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 4,24 min ; m/z [M-H]<sup>-</sup> : 346.

**HREIMS:** [M<sup>+</sup>] m/z 348,1435 (calcolato per C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>6</sub> 348,1447).

## 5.5 Procedura generale per la preparazione dei trifluoro-dibenzocicloeptanoni diversamente sostituiti

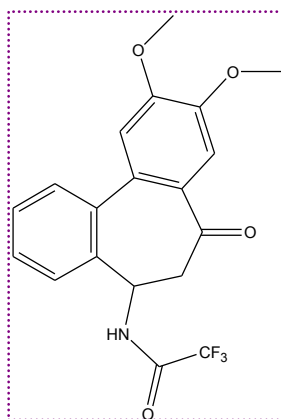
### Reazione di CICLIZZAZIONE “ONE-POT”

Una miscela dei cloridrati degli acidi 3-ammino-3-(bifenil-2-il) propionici opportunamente sostituiti (**29a-f**) rispettivamente e di acido trifluoroacetico (50 eq) è stata posta sotto agitazione a temperatura ambiente per un'ora. In seguito sono stati aggiunti 25 eq di anidride trifluoroacetica e la reazione è stata lasciata a riflusso per 3h. La soluzione in seguito viene evaporata, si aggiunge acqua e il precipitato formatosi viene successivamente filtrato. Esso è purificato mediante flash cromatografia (cicloesano/acetato di etile) ottenendo i composti (**32a-f**).

Di seguito verranno dettagliate le procedure utilizzate per l'ottenimento di ciascun prodotto.

#### 5.5.1 Sintesi della *N*-(9,10-dimetossi-7-osso-6,7-diidro-5H-dibenzo[*a,c*]ciclopten-2-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (**32a**)

Una miscela del cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(3',4'-dimetossibifenil-2-il)-propionico (**29a**) (600mg, 1,6 mmol, 1 eq) e di acido trifluoroacetico (50 eq) è stata posta sotto agitazione a temperatura ambiente per un'ora. In seguito sono stati aggiunti 25 eq di anidride trifluoroacetica, la reazione è stata lasciata a riflusso per 3h. Segue procedura descritta precedentemente. Si ottengono 410 mg di prodotto desiderato (**32a**).



**C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>4</sub>**

**PM:** 379,33 g/mol



**P.f.:** 205°C

**Resa:** 61%

*Solido bianco*

**Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Bande del CO : 1725 e 1702;

Bande del CF<sub>3</sub> : 1215; 1183 e 1167;

Bande principali : 3335; 2962; 1518; 1359; 1273; 1026.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

7,45 (m, 2H); 7,40 (m, 1H); 7,30 (d, 1H, J= 7,8Hz), 7,28 (s, 1H); 6,95 (s, 1H); 6,73 (d, 1H, J=4,4Hz, NH); 5,46 (m, 1H); 4,01 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,98 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>), 3,22 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

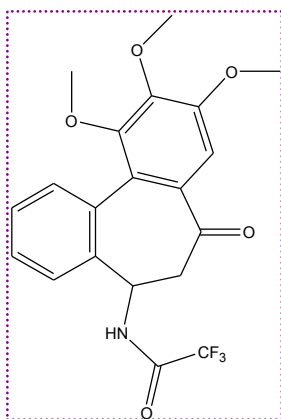
199,1; 156,4 (NHCOF<sub>3</sub>); 153,1; 149,2; 137,0; 136,5; 132,0; 131,1; 130,4; 129,2; 128,6; 115,4 (q, CF<sub>3</sub>); 112,6; 111,4; 56,3 (OCH<sub>3</sub>); 56,2 (OCH<sub>3</sub>); 51,9; 49,1.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 9,18 min ; m/z [M-H]<sup>-</sup> : 378.

**HREIMS:** [M]<sup>-</sup> m/z 378,0938 (calcolato per C<sub>19</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub> 378,0953).

5.5.2 Sintesi della *N*-(9,10,11-trimetossi-7-osso-6,7-diidro-5*H*-dibenzo[*a,c*]ciclopten-2-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (32b)

Una miscela del cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(2',3',4'-trimetossibifenil-2-il)-propionico (**29b**) (245 mg, 0,6 mmol, 1 eq) e di acido trifluoroacetico (50 eq) è stata posta sotto agitazione a temperatura ambiente per un'ora. In seguito sono stati aggiunti 25 eq di anidride trifluoroacetica, la reazione è stata lasciata a riflusso per 3h. Segue procedura descritta precedentemente. Si ottengono 100 mg di prodotto desiderato (**32b**).



***N*-(9,10,11-trimetossi-7-osso-6,7-diidro-5*H*-dibenzo[*a,c*]ciclopten-2-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (32b)**

**C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>5</sub>**

**PM:** 409,36 g/mol

**P.f.:** 83°C

**Resa:** 10%

*Solido bianco*

**Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Bande del CO : 1713 e 1682;

Bande del CF<sub>3</sub> : 1232; 1193 e 1163;

Bande principali : 2928; 1713; 1586; 1336; 1113; 1018.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) (400 MHz):**

9,26 (s, 1H, *NH*); 7,95 (m, 4H); 7,47 (s, 1H); 5,56 (m, 1H); 3,94 (s, 6H, *OCH<sub>3</sub>*); 3,58 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*); 3,31 (dd, 1H, J=17,6-3,9Hz); 3,04 (dd, 1H, J=17,6-12,8Hz).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) (100 MHz):**

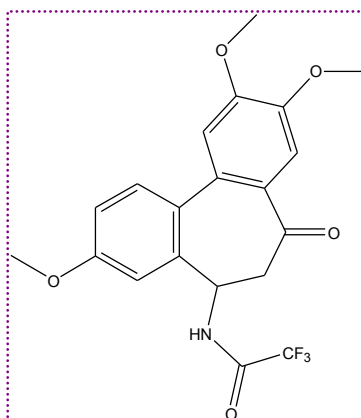
2014; 159,6 (q, *NHCOCF<sub>3</sub>*); 154,5; 151,9; 146,7; 139,1; 136,1; 132,7; 132,6; 128,9; 128,8; 128,1; 122,8; 116,2 (q, *CF<sub>3</sub>*); 107,4; 61,6 (*OCH<sub>3</sub>*); 61,2 (*OCH<sub>3</sub>*); 56,4 (*OCH<sub>3</sub>*); 53,2; 48,6.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 6,68 min ; m/z [M-H]<sup>-</sup> : 408.

**HREIMS:** [M<sup>+</sup>] m/z 409,11491 (calcolato per C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>5</sub> 409,11367).

5.5.3 Sintesi della *N*-(3,9,10-trimetossi-7-osso-6,7-diidro-5H-dibenzo[*a,c*]ciclopten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (32c)

Una miscela di cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(3',4,4'-trimetossibifenil-2-il)-propionico (**29c**) (169 mg, 0,46 mmol, 1 eq) e di acido trifluoroacetico (50 eq) è stata posta sotto agitazione a temperatura ambiente per un'ora. In seguito sono stati aggiunti dolcemente 25 eq di anidride trifluoroacetica, la reazione è stata lasciata a riflusso per 3h. Segue procedura descritta precedentemente. Si ottengono 100 mg di prodotto desiderato (**32c**).



***N*-(3,9,10-trimetossi-7-osso-6,7-diidro-5H-dibenzo[*a,c*]ciclopten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (32c)**

**C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>5</sub>**

**PM:** 409,36 g/mol

**P.f.:** 180°C

**Resa:** 53%

*Solido bianco*

**Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Bande del CO : 1722 e 1667;

Bande del CF<sub>3</sub> : 1245; 1210 e 1166;

Bande principali : 3315; 2928; 2850; 1598; 1498; 1273.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) (400 MHz):**

9,22 (s, 1H, *NH*); 7,48 (d, 1H, *J*=8,8Hz); 7,17 (s, 1H); 7,04 (s, 1H), 6,99 (dd, 1H, *J*=8.8-2,9Hz); 6,94 (d, 1H, *J*=2,9Hz), 5,55 (m, 1H); 3,98 (s, 3H, *OCH*<sub>3</sub>); 3,88 (s, 3H, *OCH*<sub>3</sub>); 3,83 (s, 3H, *OCH*<sub>3</sub>); 3,25 (dd, 1H, *J*=18,5-2,9Hz); 3,09 (dd, 1H, *J*=18.5-11.9Hz).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

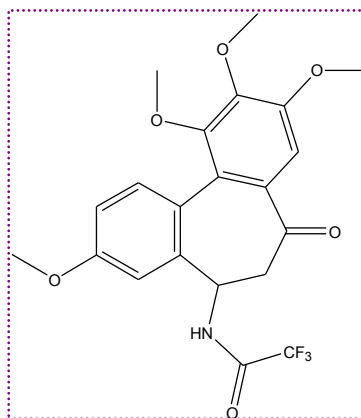
200,3; 160; 153,9; 153,7 (*NHCOCF*<sub>3</sub>); 149,7; 140,5; 132,8; 132,5; 131,2; 129,6; 115,6 (*CF*<sub>3</sub>); 113,7; 113,1; 112,1; 109,4; 56,2 (*OCH*<sub>3</sub>); 56,1 (*OCH*<sub>3</sub>); 55,6 (*OCH*<sub>3</sub>); 52,6; 48,7.

**LC-MS (ESI):** *t<sub>R</sub>* = 6,49 min ; *m/z* [M-H]<sup>-</sup> : 408.

**HREIMS:** [M<sup>+</sup>] *m/z* 439,12413 (calcolato per C<sub>21</sub>H<sub>20</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>6</sub> 439,12423).

#### 5.5.4 Sintesi della *N*-(3,9,10,11-tetrametossi-7-osso-6,7-diidro-5*H*-dibenzo[*a,c*]ciclopten-5-il)- 2,2,2-trifluoroacetamide (32d)

Una miscela del cloridrato dell'acido 3-Ammino-3-(2',3',4,4'-tetrametossibifenil)-propionico (**29d**) (169 mg, 0,46 mmol, 1 eq) e di acido trifluoroacetico (50 eq) è stata posta sotto agitazione a temperatura ambiente per un'ora. In seguito sono stati aggiunti 25 eq di anidride trifluoroacetica, la reazione è stata lasciata a riflusso per 3h. Segue procedura descritta precedentemente. Si ottengono 41 mg di prodotto desiderato (**32d**).



#### *N*-(3,9,10,11-tetrametossi-7-osso-6,7-diidro-5*H*-dibenzo[*a,c*]ciclopten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (32d)

$C_{21}H_{20}F_3NO_6$

PM: 439,38 g/mol

P.f.: 37°C

Resa: 90%

Solido bianco

#### **Analisi spettroscopica:**

IR (KBr) ( $cm^{-1}$ ):

Bande del CO : 1727 e 1679;

Bande del  $CF_3$  : 1210; 1163 e 1111;

Bande principali : 3430; 2925; 2849; 1613; 1579; 1485; 1336.

**$^1H$ -NMR ( $\delta$ ppm) ( $(CD_3)_2CO$ ) (400 MHz):**

9,25 (d, 1H,  $J=6,8$ Hz, *NH*); 7,41 (d, 1H,  $J= 8,8$ Hz); 6,95 (m, 2H); 6,88 (s, 1H); 5,56 (m, 1H);  
3,91 (s, 6H, *OCH<sub>3</sub>*); 3,82 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*); 3,56 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*); 3,28 (dd, 1H,  $J=17,5-$  3,9Hz);  
3,02 (dd, 1H,  $J=17,5-13,6$ Hz).

**$^{13}C$ -NMR ( $\delta$ ppm) ( $(CD_3)_2CO$ ) (100 MHz):**

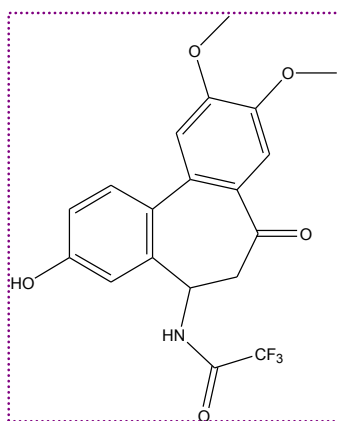
201,5; 160,4; 157,1 (*NHCOF<sub>3</sub>*); 154,1; 151,8; 146,8; 140,7; 135,9; 134,1; 124,7; 124,5; 117  
(*CF<sub>3</sub>*); 113,2; 108,7; 107,6; 61,4 (*OCH<sub>3</sub>*); 61,2 (*OCH<sub>3</sub>*); 56,4 (*OCH<sub>3</sub>*); 55,5 (*OCH<sub>3</sub>*); 53,2;  
48,5.

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 6,40$  min ;  $m/z$   $[M-H]^-$  : 438.

**HREIMS:**  $[M^+]$   $m/z$  409.11502 (calcolato per  $C_{20}H_{18}F_3NO_5$  409.11367).

5.5.5 Sintesi della *N*-(3-idrossi-9,10-dimetossi-7-osso-6,7-diidro-5*H*-dibenzo[*a,c*]ciclopten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (32e)

Una miscela del cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(4-idrossi-3',4'-dimetossibifenil)propionico (**29e**) (80 mg, 0,25 mmol, 1 eq) e di acido trifluoroacetico (50 eq) è stata posta sotto agitazione a temperatura ambiente per un'ora. In seguito sono stati aggiunti 25 eq di anidride trifluoroacetica, la reazione è stata lasciata a riflusso per 3h. Segue procedura descritta precedentemente. Si ottengono 50 mg di prodotto desiderato (**32e**).



***N*-(3-idrossi-9,10-dimetossi-7-osso-6,7-diidro-5*H*-dibenzo[*a,c*]ciclopten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (32e)**

$C_{19}H_{16}F_3NO_5$

PM: 395,33 g/mol

P.f.: 225°C

Resa: 50%

*Solido bianco*

**Analisi spettroscopica:**

IR (KBr) ( $cm^{-1}$ ):

Bande del CO : 1727 e 1706;



Bande del  $\text{CF}_3$  : 1210; 1169 e 1122;

Bande principali : 2924; 1641; 1618; 1496; 1360; 1275.

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\delta\text{ppm}$ ) ( $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$ ) (400 MHz):**

9,22 (d, 1H,  $J=7,5\text{Hz}$ , *NH*); 8,83 (s, 1H, *OH*); 7,39 (d, 1H,  $J=8,8\text{Hz}$ ); 7,18 (s, 1H); 7,02 (s, 1H); 6,90 (m, 2H); 5,50 (m, 1H); 3,99 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*); 3,89 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*); 3,25 (dd, 1H,  $J=18,6-11,7\text{Hz}$ ); 3,10 (dd, 1H,  $J=18,6-2,9\text{Hz}$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\delta\text{ppm}$ ) ( $\text{CDCl}_3$ ) (100 MHz):**

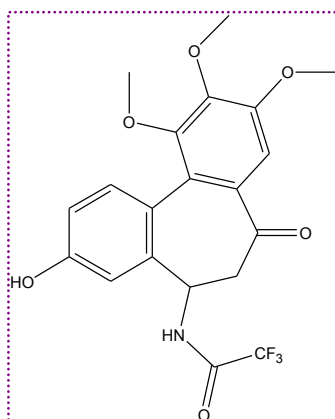
200,4; 158,4; 156,1 (*NHCOF<sub>3</sub>*); 153,8; 149,5; 140,6; 132,9; 132,8; 131,0; 128,5; 116,2 (*CF<sub>3</sub>*); 115,9; 113,1; 112,0; 110,1; 56,2 (*OCH<sub>3</sub>*); 56,1 (*OCH<sub>3</sub>*); 52,6; 48,7.

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 5,84$  min ;  $m/z$   $[\text{M-H}]^-$  : 394.

**HREIMS:**  $[\text{M}^+]$   $m/z$  395,09889 (calcolato per  $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{F}_3\text{NO}_5$  395,09802).

5.5.6 Sintesi della *N*-(3-idrossi-9,10,11-trimetossi-7-osso-6,7-diidro-5*H*-dibenzo[*a,c*]ciclopten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (32f)

Una miscela del cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(4-idrossi-2',3',4'-trimetossibifenil)-propionico (29f) (100 mg, 0,29 mmol, 1 eq) e di acido trifluoroacetico (50 eq) è stata posta sotto agitazione a temperatura ambiente per un'ora. In seguito sono stati aggiunti dolcemente 25 eq di anidride trifluoroacetica, la reazione è stata lasciata a riflusso per 3h. Segue procedura descritta precedentemente. Si ottengono 57 mg di prodotto desiderato (32f).



***N*-(3-idrossi-9,10,11-trimetossi-7-osso-6,7-diidro-5*H*-dibenzo[*a,c*]ciclopten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (32f)**

**C<sub>20</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>6</sub>**

**PM:** 425,36 g/mol

**P.f.:** 122°C

**Resa:** 46%

*Solido bianco*

**Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Bande del CO : 1713 e 1678;

Bande del  $CF_3$  : 1212; 1163 e 1110;

Bande principali : 2938; 1585; 1487; 1336; 999.

**$^1H$ -NMR ( $\delta$ ppm) (DMSO- $d_6$ ) (400 MHz):**

9,21 (s, 1H, *NH*); 8,70 (s, 1H, *OH*); 7,30 (d, 1H,  $J=7,8$ Hz); 6,86 (m, 3H); 5,52 (m, 1H); 3,90 (s, 6H, *OCH<sub>3</sub>*); 3,54 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*); 3,24 (dd, 1H,  $J=18,5-3,9$ Hz); 3,01 (dd, 1H,  $J=18,5-13,6$ Hz).

**$^{13}C$ -NMR ( $\delta$ ppm) (DMSO- $d_6$ ) (100 MHz):**

201,6; 158,3; 157,1 (*NHCOCF<sub>3</sub>*); 153,9; 151,9; 146,7; 140,7; 135,9; 134,1; 125,1; 123,3; 116,7 (*CF<sub>3</sub>*); 115,2; 109,6; 107,5; 61,3 (*OCH<sub>3</sub>*); 61,2 (*OCH<sub>3</sub>*); 56,4 (*OCH<sub>3</sub>*); 53,1; 48,6.

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 6,08$  min ;  $m/z$  [M-H]<sup>-</sup> : 424.

**HREIMS:** [M<sup>+</sup>]  $m/z$  426,1153 (calcolato per C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>6</sub> 426,1164).

## 5.6 Procedura generale per la sintesi dei dibenzocicloeptanoli

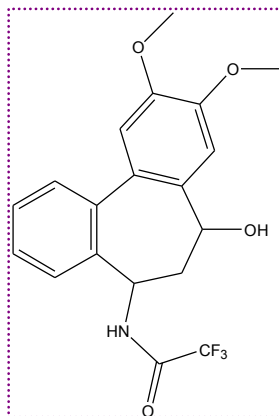
### Reazione di RIDUZIONE

Ad una miscela dei trifluoro-dibenzocicloeptanoni opportunamente sostituiti (**32a-f**) in metanolo sono stati aggiunti 2 eq di NaBH<sub>4</sub> e sono stati lasciati sotto agitazione a temperatura ambiente per 2 ore. In seguito la reazione è stata portata a secco e ad essa è stata aggiunta acqua, si ha la formazione di un precipitato che viene isolato per filtrazione. Si ottengono gli alcoli desiderati (**42a-f**) (Miscela di diastereoisomeri).

Di seguito verranno dettagliate le procedure utilizzate per l'ottenimento di ciascun prodotto.

#### 5.6.1 Sintesi della *N*-(7-idrossi-9,10-dimetossi-6,7-diidro-5*H*-dibenzo[*a,c*]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (**42a**)

Ad una miscela di *N*-(9,10-dimetossi-7-osso-6,7-diidro-5*H*-dibenzo[*a,c*]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (140 mg, 0,37 mmol, 1 eq) (**32a**) e metanolo sono stati aggiunti 2 eq di NaBH<sub>4</sub> e lasciati sotto agitazione a temperatura ambiente per 2 ore. Segue procedura descritta precedentemente. Si ottiene l'alcool desiderato (**42a**) (120 mg) (Miscela di diastereoisomeri: 15% *cis* + 85% *trans*).



#### ***N*-(7-idrossi-9,10-dimetossi-6,7-diidro-5*H*-dibenzo[*a,c*]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (**42a**)**

**C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>4</sub>**

**PM:** 377,40 g/mol

**P.f.:** 240°C

**Resa:** 85%

*Solido bianco*

Si riporta di seguito l'analisi spettroscopica del *trans* diastereoisomero cristallizzato in etere etilico.

### **Analisi spettroscopica:**

#### **IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Bande del CO : 1707;

Bande del CF<sub>3</sub> : 1217; 1187 e 1142;

Bande principali : 3547; 3297; 1566; 1506; 1023; 987.

#### **<sup>1</sup>H-NMR (δppm) ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) (400 MHz):**

10,02 (d, 1H, J=7,8Hz, NH), 7,37 (m, 3H); 7,23 (m, 2H); 6,98 (s, 1H); 5,47 (d, 1H, J=3,9Hz, OH); 4,57 (m, 1H); 4,20 (m, 1H); 3,82 (s, 6H, OCH<sub>3</sub>); 2,65 (dd, 1H, J=12,1-7,3Hz) 2,08 (dd, 1H, J=11,7-7,3Hz).

#### **<sup>13</sup>C-NMR (δppm) ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) (100 MHz):**

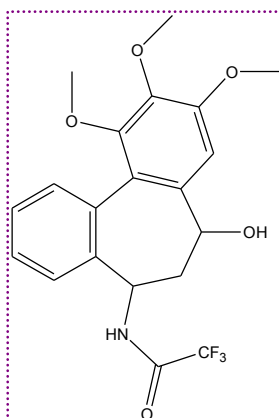
155,6 (NHCOCF<sub>3</sub>); 148,2; 147,7; 137,9; 137,4; 134,4; 128,2; 12,5; 127,4; 122,4; 115,9 (CF<sub>3</sub>); 111,8; 107,3; 66,5; 55,7 (OCH<sub>3</sub>); 55,5 (OCH<sub>3</sub>); 48,4; 47,0.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 8,53 min ; m/z [M-H]<sup>-</sup> : 380.

**HREIMS:** [M<sup>+</sup>] m/z 381,11794 (calcolato per C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>4</sub> 381,11876).

5.6.2 Sintesi della *N*-(7-idrossi-9,10,11-trimetossi-6,7-diidro-5*H*-dibenzo[*a,c*]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (42b)

Ad una miscela di *N*-(9,10,11-trimetossi-7-osso-6,7-diidro-5*H*-dibenzo[*a,c*]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (28 mg, 0,067 mmol, 1eq) (**32b**) e metanolo sono stati aggiunti 2 eq di NaBH<sub>4</sub> e lasciati sotto agitazione a temperatura ambiente per 2 ore. Segue procedura descritta precedentemente. Si ottiene l'alcool desiderato (**42b**) (16 mg) (Miscela di diastereoisomeri: 15% *cis* + 85% *trans*).



***N*-(7-idrossi-9,10,11-trimetossi-6,7-diidro-5*H*-dibenzo[*a,c*]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (42b)**

**C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>5</sub>**

**PM:** 411,37 g/mol

**P.f.:** 100°C

**Resa:** 58%

*Solido bianco*

Si riporta di seguito l'analisi spettroscopica del *trans* diastereoisomero cristallizzato in etere etilico.

## **Analisi spettroscopica:**

### **IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Bande del CO : 1712;

Bande del CF<sub>3</sub> : 1215; 1191 e 1145;

Bande principali : 2923; 2849; 1599; 1485; 1404; 1329; 1077; 1004.

### **<sup>1</sup>H-NMR (δppm) ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) (400 MHz):**

9,04 (s, 1H, *NH*); 7,41 (m, 4H); 7,18 (s, 1H); 4,79 (m, 1H); 4,57 (d, 1H, J=4,9Hz, *OH*); 4,32 (m, 1H); 3,90 (s, 3H, *OCH*<sub>3</sub>); 3,86 (s, 3H, *OCH*<sub>3</sub>); 3,53 (s, 3H, *OCH*<sub>3</sub>); 2,64 (d, 1H, J=11,7-6,8Hz); 2,22 (d, 1H, J=11,7-6,8Hz).

### **<sup>13</sup>C-NMR (δppm) ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) (100 MHz):**

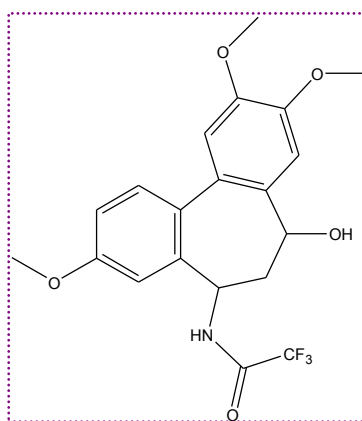
157,0 (*NHCOCF*<sub>3</sub>); 154,3; 151,4; 142,3; 139,5; 139,1; 134,1; 131,0; 128,5; 128,3; 127,5; 122,8; 117,0 (*CF*<sub>3</sub>); 103,9; 68,7; 61,1 (*OCH*<sub>3</sub>); 61,0 (*OCH*<sub>3</sub>); 56,2 (*OCH*<sub>3</sub>); 49,7; 47,5.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 6,25 min ; m/z [M-H]<sup>-</sup> : 410.

**HREIMS:** [M<sup>+</sup>] m/z 411,13031 (calcolato per C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>5</sub> 411,12932).

### 5.6.3 Sintesi della *N*-(7-idrossi-3,9,10-trimetossi-6,7-diidro-5H-dibenzo[*a,c*]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (42c)

Ad una miscela di *N*-(3,9,10-trimetossi-7-osso-6,7-diidro-5H-dibenzo[*a,c*]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (25 mg, 0.06 mmole, 1 eq) (**32c**) e metanolo sono stati aggiunti 2 eq di NaBH<sub>4</sub> e lasciati sotto agitazione a temperatura ambiente per 2 ore. In seguito la reazione è stata portata a secco e ad essa è stata aggiunta acqua, si ha la formazione di un precipitato che viene isolato per filtrazione. Si ottiene l'alcool desiderato (**42c**) (17 mg) (Miscela di diastereoisomeri: 35% *cis* + 65% *trans*).



### *N*-(7-idrossi-3,9,10-trimetossi-6,7-diidro-5H-dibenzo[*a,c*]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (42c)

**C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>5</sub>**

**PM:** 411,37 g/mol

**P.f.:** 245°C

**Resa:** 68%

*Solido bianco*

Si riporta di seguito l'analisi spettroscopica del *trans* diastereoisomero cristallizzato in etere etilico.



## **Analisi spettroscopica:**

### **IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Bande del CO : 1729;

Bande del CF<sub>3</sub> : 1211; 1178 e 1143;

Bande principali : 3255; 3078; 2931; 1611; 1493; 1242; 1042.

### **<sup>1</sup>H-NMR (δppm) ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) (400 MHz):**

9,03 (d, 1H, J=7.8Hz, *NH*); 7,35 (d, 1H, J=8,8Hz); 6,98 (m, 4H); 4,81 (m, 1H); 4,56 (d, 1H, J=4,9Hz, *OH*); 4,45 (m, 1H); 3,89 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*); 3,86 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*); 3,82 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*); 2,73 (dd, 1H, J=11,7-6,8Hz); 2,33 (dd, 1H, J=11,7-6,8Hz).

### **<sup>13</sup>C-NMR (δppm) ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) (100 MHz):**

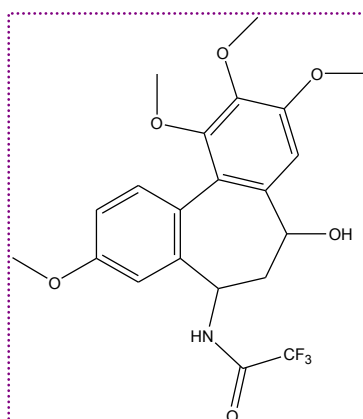
160,1; 159,2 (*NHCOCF<sub>3</sub>*); 149,9; 149,3; 140,4; 135,1; 131,1; 130,3; 128,8; 116,2 (*CF<sub>3</sub>*); 112,9; 112,8; 109,9; 108,4; 68,2; 56,3 (*OCH<sub>3</sub>*); 55,5 (*OCH<sub>3</sub>*); 49,8; 48,3.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 6,09 min ; m/z [M-H]<sup>-</sup> : 410.

**HREIMS:** [M]<sup>-</sup> m/z 410,1201 (calcolato per C<sub>20</sub>H<sub>19</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>5</sub> 410,1215).

#### 5.6.4 Sintesi della *N*-(7-idrossi-3,9,10,11-tetrametossi-6,7-diidro-5H-dibenzo[*a,c*]ciclopte-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (42d)

Ad una miscela di *N*-(3,9,10,11-tetrametossi-7-osso-6,7-diidro-5H-dibenzo[*a,c*]ciclopten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (20 mg, 0.045 mmoli, 1 eq) (**32d**) e metanolo sono stati aggiunti 2 eq di NaBH<sub>4</sub> e lasciati sotto agitazione a temperatura ambiente per 2 ore. In seguito la reazione è stata portata a secco e ad essa è stata aggiunta acqua, si ha la formazione di un precipitato che viene isolato per filtrazione. Si ottiene l'alcool desiderato (**42d**) (13 mg) (Miscela di diastereoisomeri: 10% *cis* + 90% *trans*).



#### *N*-(7-idrossi-3,9,10,11-tetrametossi-6,7-diidro-5H-dibenzo[*a,c*]ciclopte-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (42d)

**C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>6</sub>**

**PM:** 441,40 g/mol

**P.f.:** 190°C

**Resa:** 65%

*Solido bianco*

Si riporta di seguito l'analisi spettroscopica del *trans* diastereoisomero cristallizzato in etere etilico.

## **Analisi spettroscopica:**

### **IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Bande del CO : 1706;

Bande del CF<sub>3</sub> : 1236; 1189 e 1152;

Bande principali : 2928; 2852; 1610; 1485; 1458; 1073.

### **<sup>1</sup>H-NMR (δppm) ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) (400 MHz):**

8,91 (d, 1H, J=7,8Hz, *NH*); 7,24 (d, 1H, J=7,8Hz); 7,04 (s, 1H); 6,80 (m, 2H); 4,64 (dd, 1H, J=11,7-7,8Hz); 4,44 (d, 1H, J=3,9Hz, *OH*); 4,21 (m, 1H); 3,77 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*), 3,73 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*); 3,69 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*); 2,51 (dd, 1H, J=11,7-6,8Hz); 2,08 (dd, 1H, J=11,7-6,8Hz).

### **<sup>13</sup>C-NMR (δppm) ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) (100 MHz):**

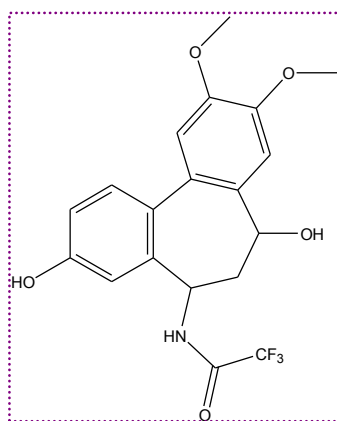
160,1; 157,2 (*NHCOCF<sub>3</sub>*); 154,1; 151,5; 142,3; 141,1; 139,0; 132,2; 126,2; 122,2; 115,8 (*CF<sub>3</sub>*); 112,3; 109,2; 103,9; 68,4 ; 61,0 (*OCH<sub>3</sub>*); 56,2 (*OCH<sub>3</sub>*); 55,4 (*OCH<sub>3</sub>*); 49,8; 47,4.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 6,34 min ; m/z [M-H]<sup>-</sup> : 440.

**HREIMS:** [M<sup>+</sup>] m/z 441,13934 (calcolato per C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>6</sub> 441,13988).

### 5.6.5 Sintesi della *N*-(3,7-diidrossi-9,10-dimetossi-6,7-diidro-5*H*-dibenzo[*a,c*]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (42e)

Ad una miscela di *N*-(3-idrossi-9,10-dimetossi-7-osso-6,7-diidro-5*H*-dibenzo[*a,c*]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (20 mg, 0.05 mmole, 1 eq) (**32e**) e metanolo sono stati aggiunti 2 eq di NaBH<sub>4</sub> e lasciati sotto agitazione a temperatura ambiente per 2 ore. In seguito la reazione è stata portata a secco e ad essa è stata aggiunta acqua, si ha la formazione di un precipitato che viene isolato per filtrazione. Si ottiene l'alcool desiderato (**42e**) (13 mg) (Miscela di diastereoisomeri: 15% *cis* + 85% *trans*).



### *N*-(3,7-diidrossi-9,10-dimetossi-6,7-diidro-5*H*-dibenzo[*a,c*]cicloepten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (42e)

**C**<sub>21</sub>**H**<sub>22</sub>**F**<sub>3</sub>**N**O<sub>6</sub>

**PM:** 441,40 g/mol

**P.f.:** >260°C

**Resa:** 65%

*Solido bianco*

Si riporta di seguito l'analisi spettroscopica del *trans* diastereoisomero cristallizzato in etere etilico.

## **Analisi spettroscopica:**

### **IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Bande del CO : 1727;

Bande del CF<sub>3</sub> : 1217; 1191 e 1141;

Bande principali : 3291; 2933; 1618; 1588; 1493; 1052; 1025.

### **<sup>1</sup>H-NMR (δppm) ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) (400 MHz):**

9,00 (d, 1H, J=6,8Hz, *NH*); 8,63 (s, 1H, *OH*); 7,31 (s, 1H); 7,23 (d, 1H, J=7,8Hz); 6,94 (s, 1H); 6,88 (d, 1H, J=2,9Hz); 6,84 (dd, 1H, J=7,8-2,9Hz); 4,76 (m, 1H); 4,56 (d, 1H, J=4,9Hz, *OH*); 4,46 (m, 1H); 3,87 (s, 6H, *OCH<sub>3</sub>*); 2,72 (dd, 1H, J=11,7-6,8Hz); 2,29 (dd, 1H, J=11,7-6,8Hz).

### **<sup>13</sup>C-NMR (δppm) ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) (100 MHz):**

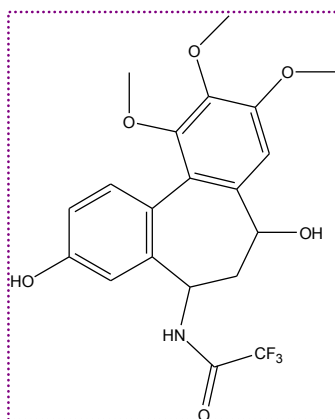
158,0; 150,0; 149,7 (*NHCOCF<sub>3</sub>*); 149,6; 140,6; 135,4; 130,4; 130,1; 129,5; 115,6 (*CF<sub>3</sub>*); 115,1; 113,3; 110,9; 108,9; 68,3; 56,5 (*OCH<sub>3</sub>*); 56,4 (*OCH<sub>3</sub>*); 49,9; 48,5.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 5,38 min ; m/z [M-H]<sup>-</sup> : 396.

**HREIMS:** [M<sup>+</sup>] m/z 397,11267 (calcolato per C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>5</sub> 397,11367).

5.6.6 Sintesi della *N*-(3,7-diidrossi-9,10,11-trimetossi-6,7-diidro-5H-dibenzo[*a,c*]ciclopten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (42f)

Ad una miscela di *N*-(3-idrossi-9,10,11-trimetossi-7-osso-6,7-diidro-5H-dibenzo[*a,c*]ciclopten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (20 mg, 0.047 mmole, 1 eq) (**32f**) e metanolo sono stati aggiunti 2 eq di NaBH<sub>4</sub> e lasciati sotto agitazione a temperatura ambiente per 2 ore. In seguito la reazione è stata portata a secco e ad essa è stata aggiunta acqua, si ha la formazione di un precipitato che viene isolato per filtrazione. Si ottiene l'alcool desiderato (**42f**) (10 mg) (Miscela di diastereoisomeri: 15% *cis* + 85% *trans*).



***N*-(3,7-diidrossi-9,10,11-trimetossi-6,7-diidro-5H-dibenzo[*a,c*]ciclopten-5-il)-2,2,2-trifluoroacetamide (42f)**

**C<sub>20</sub>H<sub>20</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>6</sub>**

**PM:** 427,37 g/mol

**P.f.:** >260°C

**Resa:** 50%

*Solido bianco*

Si riporta di seguito l'analisi spettroscopica del *trans* diastereoisomero cristallizzato in etere etilico.

## **Analisi spettroscopica:**

### **IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Bande del CO : 1725;

Bande del CF<sub>3</sub> : 1220; 1184 e 1143;

Bande principali : 2931; 1586; 1485; 1401; 1337; 1067.

### **<sup>1</sup>H-NMR (δppm) ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) (400 MHz):**

8,96 (s, 1H, *NH*); 8,56 (s, 1H, *OH*); 7,26 (d, 1H, J=8,8Hz); 7,15 (s, 1H); 6,84 (m, 2H); 4,72 (m, 1H); 4,53 (d, 1H, J=3,9Hz, *OH*); 4,35 (m, 1H); 3,88 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*); 3,84 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*); 3,51 (s, 3H, *OCH<sub>3</sub>*); 2,63 (m, 1H); 2,18 (m, 1H).

### **<sup>13</sup>C-NMR (δppm) ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO) (100 MHz):**

157,8; 153,9 (*NHCOCF<sub>3</sub>*); 153,8; 151,4; 141,0; 138,9; 133,3; 132,2; 124,9; 122,3; 114,7 (*CF<sub>3</sub>*); 114,4; 110,1; 103,9; 68,4; 61,0 (*OCH<sub>3</sub>*); 60,9 (*OCH<sub>3</sub>*); 56,2 (*OCH<sub>3</sub>*); 49,8; 47,4.

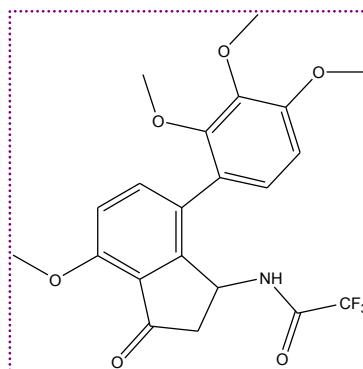
**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 5,63 min ; m/z [M-H]<sup>-</sup> : 426.

**HREIMS:** [M<sup>+</sup>] m/z 428,1309 (calcolato per C<sub>20</sub>H<sub>21</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>6</sub> 428,1321).

## 5.7 Sintesi della *N*-[4-metossi-3-osso-7-(2,3,4-trimetossifenil)-2,3-diidro-1*H*-indan-1-one]-2,2,2-trifluoroacetamide (41)

### REAZIONE di FRIEDEL-CRAFTS

90 mg del cloridrato dell'acido 3-ammino-3-(2',3',4,4'-tetrametossibifenil)-propionico (0,25 mmol, 1 eq) (**29d**) vengono fatti reagire con 2-3 mL di cloruro di tionile per circa 20 minuti. Successivamente la soluzione viene portata a secco, lavata più volte con etere etilico e nuovamente riportata a secco al rotavapor. In seguito il cloruro formatosi viene solubilizzato in diclorometano e vengono aggiunti ad esso 2 eq di AlCl<sub>3</sub>. La reazione è lasciata un'ora a refluxo e poi portata a secco. Il residuo si riprende con acqua, lasciato sotto agitazione e il prodotto formatosi isolato per filtrazione (**41**) (27 mg).



### *N*-[4-metossi-3-osso-7-(2,3,4-trimetossifenil)-2,3-diidro-1*H*-indan-1-one]-2,2,2-trifluoroacetamide (41)

**C<sub>21</sub>H<sub>22</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>5</sub>**

**PM:** 425,40 g/mol

**P.f.:** 210°C

**Resa:** 24%

*Solido marroncino*

### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Bande del CO : 1724 e 1702;



Bande del  $\text{CF}_3$  : 1204; 1178 e 1100;

Bande principali : 3295; 2940; 1486; 1462; 1090.

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\delta\text{ppm}$ ) ( $\text{CDCl}_3$ ) (400 MHz):**

7,48 (d, 1H,  $J=8,3\text{Hz}$ ); 7,00 (d, 1H,  $J=8,3\text{Hz}$ ); 6,83 (d, 1H,  $J=8,3\text{Hz}$ ); 6,72 (d, 1H,  $J=8,3\text{Hz}$ ); 5,52 (s, 1H, *NH*); 4,05 (m, 1H); 3,99 (s, 3H, *OCH*<sub>3</sub>); 3,89 (s, 3H, *OCH*<sub>3</sub>); 3,88 (s, 3H, *OCH*<sub>3</sub>); 3,66 (s, 3H, *OCH*<sub>3</sub>); 3,19 (dd, 1H,  $J=18,5-7,8\text{Hz}$ ); 2,52 (dd, 1H,  $J=18,5-3,5\text{Hz}$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\delta\text{ppm}$ ) ( $\text{CDCl}_3$ ) (100 MHz):**

200,4; 156,4 (*NHCOF*<sub>3</sub>); 157,2; 154,1; 151,4; 150,4; 142,4; 138,7; 128,9; 124,8; 124,3; 124,2; 115,3 (*CF*<sub>3</sub>); 111,6; 107,9; 61,2 (*OCH*<sub>3</sub>); 60,8 (*OCH*<sub>3</sub>); 56,1 (*OCH*<sub>3</sub>); 56,0 (*OCH*<sub>3</sub>); 47,0, 44,7.

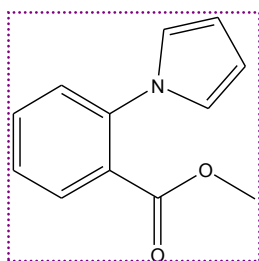
**LC-MS (ESI):**  $t_R = 6,07$  min ;  $m/z$  [ $\text{M-H}$ ]<sup>-</sup> : 438.

**HREIMS:** [ $\text{M}^+$ ]  $m/z$  439,12638 (calcolato per  $\text{C}_{21}\text{H}_{20}\text{F}_3\text{NO}_6$  439,12423).

## 5.8 Procedura sintetica per l'ottenimento del pirrolo indanone (49).

### *1° Step*

Una miscela di 1,28 mL di 2,5-dimetossitetraidrofurano (1 mmol, 1 eq) e di 1,48 mL della 4-cloropiridina cloridrata (1 eq) in 50 mL di 1,4diossano è lasciata sotto agitazione a temperatura ambiente per 30 minuti. In seguito 1,28 mL di antranilato di metile (1 mmol, 1 eq) (**46**) vengono aggiunti goccia a goccia, la reazione è posta per 2 ore a riflusso. La miscela risultante è portata a secco, ripresa più volte con etere etilico e filtrata. Il filtrato è estratto in acqua, anidrificato con solfato di magnesio e portato a secco. Il prodotto ottenuto si presenta sottoforma di olio (**47**) (1,65 g).



### *Acido benzoico 2-pirrolo metil estere (47)*

$C_{12}H_{11}NO_2$

**PM:** 201,22 g/mol

**P.f.:** 80°C

**Resa:** 83%

*Olio marroncino*

### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Bande del CO : 1723;

Bande principali : 3445; 1603; 1502; 1296; 1085; 728.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

7,80 (d, 1H, J=6,8Hz); 7,57 (t, 1H, J=8,7Hz); 7,41 (t, 2H, J=8,7Hz); 6,82 (m, 2H); 6,31 (m, 2H); 3,71 (s, 3H, OCH<sub>3</sub>).

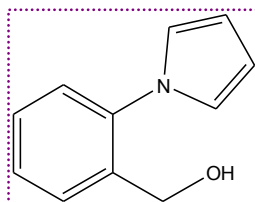
**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

167,3 (CO); 140,1; 132,1; 131,2; 130,3; 127,7; 127,5; 126,5; 121,8; 109,6; 103,1; 52,3 (OCH<sub>3</sub>).

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 6,73 min ; m/z [M-H]<sup>+</sup> : 202.

**2° Step**

In un pallone a tre colli si pongono 1,50 g di 2-pirrolo metil estere (7,4 mmol, 1 eq) (**47**) in 20 mL di tetraidrofurano anidro sotto agitazione. A una temperatura di zero gradi vengono aggiunti lentamente 850 mg di litio alluminio idruro (2 mol, 3 eq); la reazione è poi posta a riflusso per 3h. In seguito si porta la reazione a secco, si aggiunge acqua (per eliminare il litio alluminio idruro) e si filtra. Si isola un precipitato che si scioglie con etere etilico, si anidrifca e si porta a secco la fase organica, si ottiene il corrispondente alcol (**48**) (1,35 g).



**2-pirrolo-fenil-1-metanol (**48**)**

**C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>NO**

**PM:** 173,21 g/mol

**P.f.:** 100°C

**Resa:** 94%

*Solido nero*

## Analisi spettroscopica:

### IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):

Bande dell'*OH* : 3401;

Bande principali : 2924; 1501; 1327; 1015; 729.

### <sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):

7,57 (d, 1H, J=8,3Hz); 7,40 (m, 2H); 7,31 (m, 1H); 6,86 (m, 2H); 6,33 (m, 2H); 4,56 (d, 2H, J=5,8Hz);

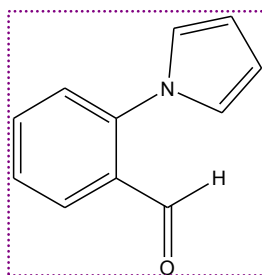
### <sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):

139,7; 136,0; 129,2; 129,0; 128,5; 127,8; 126,5; 122,3; 121,8; 109,3; 61,4.

LC-MS (ESI): t<sub>R</sub> = 5,83 min ; m/z [M-H]<sup>+</sup> : 174.

## 3° Step

Una miscela di 1,30 g di 2-pirrolo-fenil-1-metanolo (7,5 mmol, 1 eq) (**48**) in 50 mL di diclorometano è posta sotto agitazione. Ad essa vengono aggiunti lentamente 2,6 g di biossido di manganese (3 mol, 4 eq) e la reazione è posta a riflusso per 2h. In seguito la sospensione viene filtrata su celite, per eliminare l'eccesso di MnO<sub>2</sub>, e portata a secco al rotavapor. Il grezzo è purificato per cromatografia su colonna (4:1 Diclorometano/Cicloesano), ottenendo la 2-pirrolo-1-benzaldeide (50 mg) (**45**) e il 3-aza-ciclopenta[a]inden-8-one (1,20 mg) (**49**).



### 2-pirrolo-1-benzaldeide (**45**)

**C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>NO**

**PM:** 171,20 g/mol

**P.f.:** 110°C

**Resa:** 4%

*Solido bianco*

### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Bande del *CO* : 1688;

Bande principali : 3430; 2924; 1598; 1495; 1331; 750.

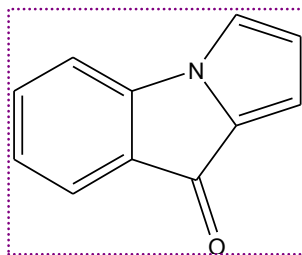
**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

9,81 (s, 1H, *CHO*); 8,01 (d, 1H, J=7,8Hz); 7,69 (m, 2H); 7,51 (m, 2H); 7,31 (m, 1H); 6,93 (m, 2H); 6,40 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

190,0 (*CHO*); 139,5; 134,6; 130,2; 129,8; 128,2; 127,5; 126,4; 123,7; 122,7; 110,5.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 6,05 min ; m/z [M-H]<sup>-</sup> : 172.



### **3-aza-ciclopentafalinden-8-one (49)**

**C<sub>11</sub>H<sub>7</sub>NO**

**PM:** 169,18 g/mol

**P.f.:** 128°C

**Resa:** 90%

*Solido verde scuro*

**Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Bande del CO : 1681;

Bande principali : 3426; 3124; 1616; 1497; 1310; 756.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

7,57 (d, 1H, J=7,8Hz); 7,44 (t, 1H, J=6,8Hz); 7,13 (m, 3H); 6,77 (m, 1H); 6,30 (m, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

176,4 (CO); 134,1; 126,2; 125,4; 124,5; 123,5; 119,4; 115,9; 113,9; 110,52; 109,8.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 9,72 min ; m/z [M-H]<sup>+</sup> : 170.

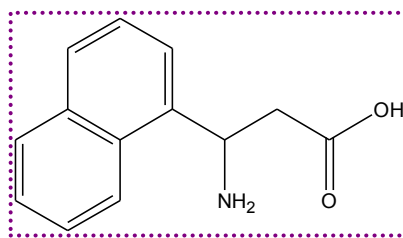
## 5.9 SINTESI DEGLI ANALOGHI DELL'ANTOFINA e DELLA TILOFORINA

(VIA ARIL- $\beta$ -AMINOACIDI)

### 5.9.1 Preparazione dell'acido 3-naftalen-1-il-3-(2,2,2-trifluoroacetilamide)-propionico

#### 1°Step: Reazione di RODIONOV-JOHNSON

Una miscela di 1-Naftaldeide (13,5 mL; 0,1 mol, 1 eq) (**20a**), acetato d'ammonio (15,5 g; 0,2 mol, 2 eq) e acido malonico (10,4 g; 0,1 mol, 1 eq) è posta a riflusso in etanolo (150 mL) per 6 ore. Si forma un precipitato che viene filtrato ed essiccato. Si ottiene un solido biancastro che l'analisi spettroscopica conferma essere l'amminoacido 3-ammino-3-naftalen-1-il-propionico desiderato (14,4 g) (**54**). Il filtrato corrisponde al rispettivo diacido acrilico (**62**)



#### Acido 3-ammino-3-naftalen-1-il-propionico (54)

$C_{13}H_{13}NO_2$

PM: 215,25 g/mol

P.f.: 260°C

Resa: 67%

Solido bianco

#### Analisi spettroscopica:

IR (KBr) ( $cm^{-1}$ ):

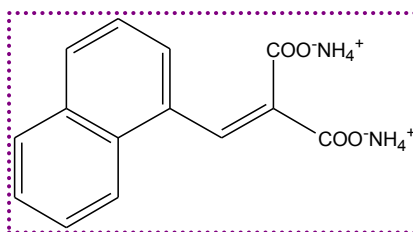
Banda dell' $NH$  : 3258;

Bande del  $CO$  : 1556;

Bande principali : 2922; 2488; 1671; 1387; 776.

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\delta\text{ppm}$ ) (DMSO- $d_6$ ) (400 MHz):**

8,72(s, 2H,  $\text{NH}_2$ ); 8,15 (d,  $J=8,6\text{Hz}$ , 1H); 7,92 (d,  $J=8\text{Hz}$ , 1H); 7,82 (dd,  $J=8,4-6,5\text{Hz}$ , 1H); 7,65 (d,  $J=6,5\text{Hz}$ , 1H); 7,52 (m, 3H); 5,06 (m, 1H); 2,59 (m, 1H); 2,53 (m, 1H).



**Dicarbossilato di diammonio del 2-naftalen-1-il-metilen-malonico (62)**

$\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4$

**PM:** 276,29 g/mol

**P.f.:** 240°C

**Resa:** 20%

*Solido bianco*

**Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ):**

Bande del  $\text{CO}$  : 1560 e 1623;

Bande principali : 3423; 3053; 2928; 2170; 1690; 801.

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\delta\text{ppm}$ ) (DMSO- $d_6$ ) (400 MHz):**

8,20 (s, 1H); 8,0 (t,  $J=7,8\text{Hz}$ , 3H); 7,61 (m, 4H).



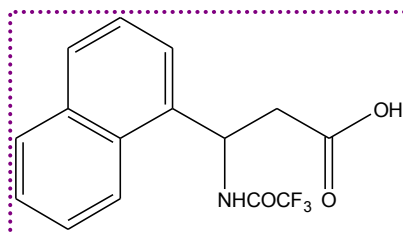
**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (100 MHz):**

167,3 e 165,02 (CO); 137,3; 132,9; 131,4; 130,7; 130,0; 128,6; 127,1; 126,5; 125,9; 125,4; 123,7; 123,2.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 9,452 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 241,27.

**2°Step: Protezione del Gruppo Aminico**

In seguito a 13,2 g (61,4 mmol, 1 eq) del composto ottenuto vengono addizionati circa 50 mL di anidride trifluoroacetica. La reazione viene lasciata a riflusso per un'ora. L'eccesso di anidride è allontanato per distillazione a pressione ridotta e il prodotto poi cristallizzato con acqua. I cristalli formati sono stati filtrati ed essiccati all'aria. Si ottengono 6,1 g di solido giallo: l'acido 3-naftalen-1-il-3-(2,2,2-trifluoroacetilamide)-propionico (**55**).



**Acido 3-naftalen-1-il-3-(2,2,2-trifluoroacetilamide)-propionico (55)**

**C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>3</sub>**

**PM:** 311,26 g/mol

**P.f.:** 193°C

**Resa:** 32%

*Solido giallo*

**Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda dell'*NH* : 3288;

Bande del *CO* : 1709 e 1712;

Bande del  $CF_3$ : 1219; 1185 e 1182;

Bande principali : 2622; 2346; 1565; 1236; 772.

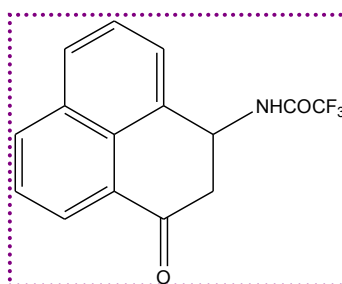
**$^1H$ -NMR ( $\delta$ ppm) (DMSO-  $d_6$ ) (400 MHz):**

12,5 (s, 1H, *OH*); 8,11 (d,  $J=8,4$ Hz, 1H, *NH*); 7,96 (m, 1H); 7,88 (m, 1H); 7,55 (m, 5H); 6,06 (m, 1H); 3,00 (dd,  $J=16,4-9,5$ Hz, 1H); 2,90 (dd,  $J=16,4-5$ Hz, 1H).

## 5.10 Preparazione della *N*-(3-osso-2,3-diidro-1*H*-fenalen)-2,2,2-trifluoroacetamide

### REAZIONE di FRIEDEL-CRAFTS

A 5 g dell'acido 3-naftalen-1-il-3-(2,2,2-trifluoroacetilamide)-propionico (1,6 mol, 1 eq) (**55**) vengono aggiunti 3,5 mL di cloruro di tionile (4,8 mol, 3 eq) e la miscela viene fatta reagire a caldo per circa 20 minuti. La reazione viene poi portata a secco grazie ad una pompa ad acqua, lavata più volte con etere etilico e nuovamente riportata a secco al rotavapor. Il cloruro formatosi viene solubilizzato in diclorometano e ad esso vengono aggiunti 2 eq di  $\text{AlCl}_3$  (425 mg, 3,19 mmol). La reazione è lasciata un'ora a refluxo, poi si evapora il solvente a pressione ridotta, si riprende con acqua/ghiaccio e lasciata sotto agitazione per una decina di minuti. Il solido arancione formatosi (**58**) è isolato per filtrazione (3,5 g).



### *N*-(3-osso-2,3-diidro-1*H*-fenalen)-2,2,2-trifluoroacetamide (**58**)

$\text{C}_{15}\text{H}_{10}\text{F}_3\text{NO}_2$

**PM:** 293,24 g/mol

**P.f.:** 174°C

**Resa:** 60%

*Solido arancione*

### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ):**

Banda dell'*NH*: 3271;

Bande del *CO*: 1720 e 1715;

Bande del *CF*<sub>3</sub>: 1208; 1158 e 1147;

Bande principali : 2616; 1548; 1217; 827; 767.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (400 MHz):**

10,23 (d, J=7,7Hz, 1H, *NH*); 8,32 (d, J=7,8Hz, 1H); 8,13 (d, J=6,8Hz, 1H); 8,0 (d, J=7,8Hz, 1H); 7,75 (t, J=7,8Hz, 1H); 7,68 (t, J=7,8Hz, 1H); 7,60 (d, J=6,8Hz, 1H); 5,76 (m, 1H); 3,19 (dd, J=16-5,8Hz, 1H); 3,09 (dd, J=16-7,2Hz, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (DMSO- d<sub>6</sub>) (100 MHz):**

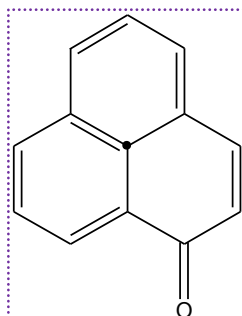
194,7 (*CO*); 156,1; 155,9; 134,2; 133,0; 131,7; 130,0; 128,8; 128,0; 126,5; 125,5; 114,7; 47,9; 43,1.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 6,41 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 292,04.

5.11 Sintesi della: N-(2-osso-1,2,3,4-tetraidro-nafto[1,8]azepin)-2,2,2-trifluoroacetamide (**59**); N-(1-osso-1,2,3,4-tetraidro-nafto[1,8]azepin)-2,2,2-trifluoroacetamide (**60**); Fenalen-1-one (**61**).

### METODO DI SCHMIDT

Ad una soluzione di 200 mg di N-(3-osso-2,3-diidro-1H-fenalen)-2,2,2-trifluoroacetamide (0,68 mmol, 1 eq) (**58**) e di 2-3 mL di acido trifluoroacetico vengono addizionati 88 mg di azoturo di sodio (1,3 mmol, 2 eq), la reazione è riscaldata a riflusso per sei ore. Il solvente è evaporato e il residuo ripreso con acqua e poi estratto con acetato di etile. Le fasi organiche riunite sono state anidrificate, concentrate sotto pressione e purificate cromatograficamente (2:8 Acetato di etile/ Cicloesano). Abbiamo isolato e caratterizzato i seguenti composti: Fenalen-1-one (**61**) (50 mg); N-(2-osso-1,2,3,4-tetraidro-nafto[1,8]azepin)-2,2,2-trifluoroacetamide (**59**) (35 mg); N-(1-osso-1,2,3,4-tetraidro-nafto[1,8]azepin)-2,2,2-trifluoroacetamide (**60**) (20 mg).



### Fenalen-1-one (**61**)

**C<sub>13</sub>H<sub>8</sub>O**

**PM:** 180,20 g/mol

**P.f.:** 220°C

**Resa:** 50%

*Olio arancione*

## Analisi spettroscopica:

### IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):

Banda del CO: 1638;

Bande principali: 3432; 2922; 1576; 1236; 825; 772.

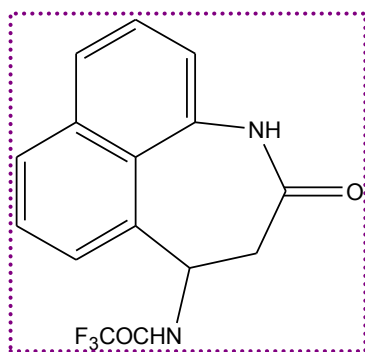
### <sup>1</sup>H-NMR (δppm) (DMSO- d<sub>6</sub>) (400 MHz):

8,64 (d, J=7,84Hz, 1H); 8,22 (d, J=7,84Hz, 1H); 8,04 (d, J=7,8Hz, 1H); 7,78 (m, 3H); 7,61 (t, J=7,8Hz, 1H); 6,74 (d, J=9,76Hz, 1H).

### <sup>13</sup>C-NMR (δppm) (DMSO- d<sub>6</sub>) (100 MHz):

185,9 (CO); 141,8; 134,9; 132,1; 131,9; 131,4; 130,4; 129,2; 129,2; 127,8; 127,5; 127,1; 126,6.

LC-MS (ESI): t<sub>R</sub> = 6,16 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 181,33.



### *N-(2-osso-1,2,3,4-tetraidro-nafto[1,8]azepin)-2,2,2-trifluoroacetamide (59)*

C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

PM: 308,26 g/mol

P.f.: 260°C

Resa: 40%

*Solido giallo*

## Analisi spettroscopica:

### IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):

Banda del *NH*: 3268;

Bande dei *CO*: 1700 e 1673

Bande principali: 3088 ; 1550 ; 1204 ; 1179 ; 1165; 823.

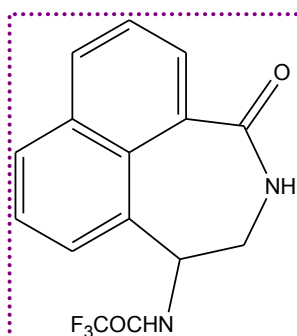
### <sup>1</sup>H-NMR (δppm) (DMSO- d<sub>6</sub>) (400 MHz):

10,23 (s, 1H, *NH*); 10,20 (d, J=6,84Hz, 1H, *NHCOCF*<sub>3</sub>); 7,96 (d, J=8,8Hz, 1H); 7,72 (d, J=6,84Hz, 1H) ; 7,50 (m, 3H); 7,29 (d, J=7,8Hz, 1H); 5,41 (m, 1H); 3,14 (m, 2H, *CH*<sub>2</sub>).

### <sup>13</sup>C-NMR (δppm) (DMSO- d<sub>6</sub>) (100 MHz):

171,2 (*CO*); 156 (*CO*); 135,8; 134,9; 133,5; 132,6; 131,6; 130,1; 126,2; 125,3; 124,8; 118,2; 59,2; 55,2 (*CF*<sub>3</sub>); 52,3.

LC-MS (ESI): t<sub>R</sub> = 5,80 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 309,07.



### *N*-(1-osso-1,2,3,4-tetraidro-nafto[1,8]azepin)-2,2,2-trifluoroacetamide (60)

C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>F<sub>3</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

PM: 308,26 g/mol

P.f.: 260°C

**Resa:** 10%

*Solido giallo*

**Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del *NH* : 3268;

Bande dei *CO* : 1702 e 1675;

Bande principali : 3098 ; 1562 ; 1208 ; 1179 ; 1165; 824; 726.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (400 MHz):**

10,23 (d, J=6,5Hz, 1H, *NHCOCF<sub>3</sub>*); 8,42 (s, 1H, *NH*); 8,29 (d, J=8,8Hz, 1H); 8,19 (d, J=7,8Hz, 1H); 8,02 (d, J=6,8Hz, 1H); 7,65 (m, 3H); 5,33 (m, 1H); 3,14 (m, 2H, *CH<sub>2</sub>*).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (100 MHz):**

170,2 (*CO*); 155,8 (*CO*); 135,1; 134,0; 133,4; 132,6; 131,6; 130,0; 126,3; 125,2; 125,1; 118,2; 58,7; 55,2 (*CF<sub>3</sub>*); 51,4.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 4,16 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 309,10.



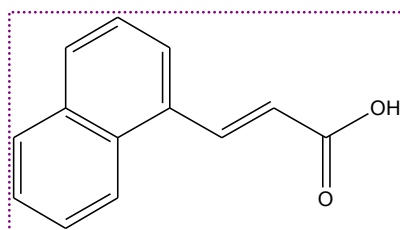
## 5.12 SINTESI DEGLI ANALOGHI DELL'ANTOFINA E TILOFORINA (“VIA AZIDI”)

### 5.12.1 Preparazione degli acidi (E)-3-Naftalene propen-2-oici

### 5.12.2 Sintesi dell' acido (E)-3-naftalen-2-propen-1-oico(72a)

#### Reazione di KNOEVENAGEL

Ad una miscela di 1-naftaldeide (8 g, 5,2 mol, 1 eq) (**20a**), acido malonico (6,4 g, 6,2 mol, 1,2 eq) e piperidina (0,60 mL, 6,15 mmol, 0,12 eq) è stata addizionata di 10 mL di piridina e agitata per 8 ore a 80-90°C. In seguito è stata aggiunta alla miscela una soluzione di HCl 1N e lasciata sotto agitazione per alcune ore. Il precipitato è stato filtrato sotto vuoto, lavato con acqua e esano e seccato in stufa. Abbiamo ottenuto 9,75 g di acido (E)-3-naftalen-2-propen-1-oico (**72a**).



#### Acido (E)-3-naftalen-2-propen-1-oico (72a)

**C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>**

**PM:** 198,22 g/mol

**P.f.:** 210°C

**Resa:** 96%

*Solido giallino*

## **Analisi spettroscopica:**

### **IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del *CO*: 1681;

Bande principali: 3428; 3405; 1616; 1295; 1255; 1095; 826.

### **<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (400 MHz):**

8,40 (d, J=16,6Hz, 1H); 8,20 (d, J=8,8Hz, 1H); 8,02 (m, 3H); 7,63 (m, 3H); 6,61 (d, J=16,6Hz, 1H).

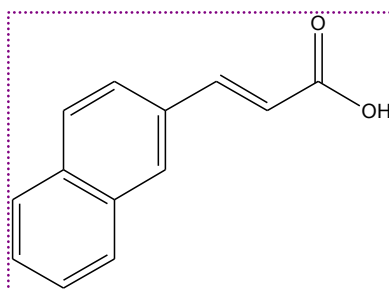
### **<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (100 MHz):**

167,4 (*CO*); 140,1; 133,3; 130,9; 130,7; 130,4; 128,7; 127,1; 126,3; 125,7; 125,2; 122,9; 121,9.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 6,40 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 199,07.

### 5.12.3 Sintesi dell' acido (E)-3-naftalen-2-propen-1-oico (72b)

Ad una miscela di 2-naftaldeide (2 g, 1,2 mol, 1 eq) (**20b**), acido malonico (1,6 g, 1,5 mol, 1,2 eq) e piperidina (0,60 mL, 1,53 mmol, 0,12 eq) sono stati addizionati 10 mL di piridina e agitata per 8 ore a 80-90°C. In seguito, si aggiunge alla miscela, una soluzione di HCl 1N ed essa è si lascia sotto agitazione per alcune ore. Il precipitato è stato filtrato sotto vuoto, lavato con acqua e esano e seccato in stufa fino a peso costante. Abbiamo ottenuto 2,6 g di Acido (E)-3-naftalen-2-propen-1-oico (**72b**).



### (E)-3-naftalen-2-propen-1-oico (72b)

**C<sub>13</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>**

**PM:** 198,22 g/mol

**P.f.:** 214°C

**Resa:** 100%

*Solido giallo scuro*

### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del CO: 1679;

Bande principali: 3427; 1625; 1287; 1253; 1089; 856.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (400 MHz):**

8,17 (s, 1H); 7,87 (m, 4H); 7,75 (d, J=16,6Hz, 1H); 7,53 (m, 2H); 6,67 (d, J=16,6Hz, 1H).

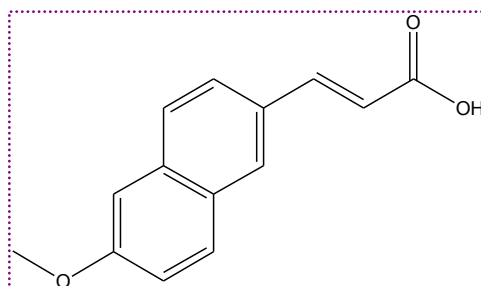
**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (100 MHz):**

167,6 (CO); 143,9; 133,7; 132,9; 131,8; 129,7; 128,5; 128,4; 127,7; 127,2; 126,7; 123,9;  
119,5.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 6,45 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 199,08.

#### 5.12.4 Sintesi dell' acido (E)- 3-(6-metossi-naftalen)-2-propen-1-oico (72c)

Ad una miscela di 6-Metossi-2-naftaldeide (5 g, 2,6 mol, 1 eq) (**20c**), acido malonico (4,5 g, 3,2 mol, 1,2 eq) e piperidina (274 mL, 3,22 mol, 0,12 eq) sono stati aggiunti circa 25 mL di piridina ed essa è stata agitata per 8 ore a 80-90°C. In seguito, si aggiunge alla miscela una soluzione di HCl 1N e si lascia sotto agitazione per alcune ore. Il precipitato è stato filtrato sotto vuoto, lavato con acqua e esano e seccato in stufa fino a peso costante. Abbiamo ottenuto 6,7 g di acido (E)- 3-(6-metossi-naftalen)-2-propen-2-oico (**72c**).



#### Acido (E)- 3-(6-metossi-naftalen)-2-propen-1-oico (72c)

**C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>**

**PM:** 228,24 g/mol

**P.f.:** 218°C

**Resa:** 100%

*Solido marrone*

#### **Analisi spettroscopica**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del CO: 1678;

Bande principali: 3466; 1620; 1175; 1097; 816.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (400 MHz):**

8,08 (s, 1H); 7,71 (m, 4H); 7,34 (d, J=2,5Hz, 1H); 7,20 (dd, J=2,4-9Hz, 1H); 6,59 (m, 1H); 3,87 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (100 MHz):**

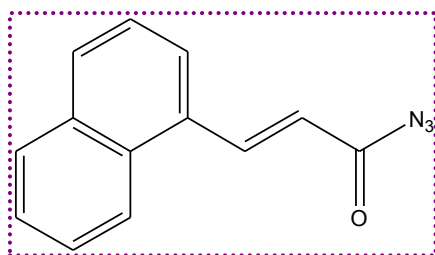
167,7 (CO); 158,3; 144,2; 135,3; 130; 129,5; 128,2; 127,4; 126,7; 124,5; 119,2; 118,2; 106,2; 55,3.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 6,42 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 229,10.

## 5.13 Preparazione delle azidi

### 5.13.1 Sintesi del 3-naftalen-1-il-acriloloil azide (70a)

Una miscela di 4 g di (E)-3-naftalen-2-propen-1-oino (2 mol, 1 eq) (**72a**) e 3,46 mL di cloruro di ossalile (4 mol, 2 eq) in 150 mL di toluene è stata riscaldata per 5 ore a 80°C. Si raffredda poi a temperatura ambiente e si concentra a pressione ridotta, ottenendo quantitativamente il cloruro dell'acido. Esso è stato aggiunto immediatamente ad una sospensione di 3,91 g di NaN<sub>3</sub> (6 mol, 3 eq) in 100 mL di acetone posti in un bagno di ghiaccio. La reazione è stata agitata per 2 ore a temperatura ambiente, filtrata ed il solvente evaporato per distillazione sotto pressione ottenendo 4,7 g di 3-naftalen-1-il-acriloloil azide (**70a**).



### 3-naftalen-1-il-acriloloil azide (70a)

C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O

PM: 223,23 g/mol

P.f.: 160°C

Resa: 98%

*Olio marroncino*

### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del N<sub>3</sub>: 2142;

Bande principali : 3429; 1685; 1618; 1221; 1048; 880.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

8,63 (d, J=13,6Hz, 1H); 8,19 (d, J=11,6Hz, 1H); 7,94 (m, 2H); 7,79 (d, J=6,8Hz, 1H) 7,54 (m, 3H); 6,55 (d, J=13,6Hz, 1H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

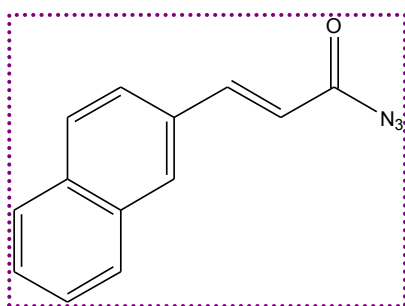
172,0 (CO); 143,5; 133,6; 131,4; 130,7; 128,2; 128,8; 127,1; 126,3; 125,5; 125,4; 123,0; 121,3

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 5,76$  min ;  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> : 213,07.



### 5.13.2 Sintesi del 3-naftalen-2-il-acriloloil azide (70b)

Una miscela di 2 g di (E)-3-naftalen-2-propen-1-oico (1 mol, 1 eq) (**72b**) e 1,80 mL di cloruro di ossalile (2 mol, 2 eq) in 100 mL di toluene è stata riscaldata per 5 ore a 80°C. Si raffredda poi a temperatura ambiente e si concentra a pressione ridotta, ottenendo quantitativamente il cloruro dell'acido. Esso è stato aggiunto immediatamente ad una sospensione di 1,95 g di NaN<sub>3</sub> (3 mol, 1,5 eq) in 50 mL di acetone, posti in un bagno di ghiaccio. La reazione è stata agitata per 2 ore a temperatura ambiente, filtrata ed il solvente evaporato per distillazione sotto pressione ottenendo 1,85 g di 3-naftalen-2 il-acriloloil azide (**70b**).



### 3-naftalen-2il-acriloloil azide (70b)

**C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O**

**PM:** 223,23 g/mol

**P.f.:** 156°C

**Resa:** 90%

*Solido giallo*

### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del N<sub>3</sub>: 2142;

Bande principali : 3465; 1678; 1619; 1177; 1052; 982.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

7,96 (d, J=16Hz, 1H); 7,83 (m, 4H); 7,67 (dd, J=2-8,3Hz, 1H); 7,54 (m, 2H); 6,55 (d, J=16Hz, 1H).

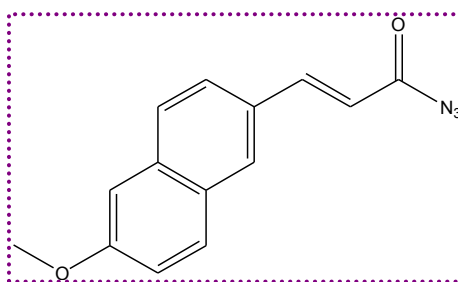
**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

172,0 (CO); 146,7; 134,5; 133,1; 131,2; 131,0; 128,8; 128,7; 127,8; 127,7; 126,8; 123,3; 119,0.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 6,44 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 213,13.

### 5.13.3 Sintesi del 3-(6-metossi-naftalen)-2-il-acriloil azide (70c)

Una miscela di 4 g di (E)-3-(6-metossi-naftalen)-2-propen-1-oico (1,75 mol, 1 eq) (**72c**) e 3 mL di cloruro di ossalile (3,5 mol, 2 eq) in 150 mL di toluene è stata riscaldata per 5 ore a 80°C. Si raffredda poi a temperatura ambiente e si concentra a pressione ridotta, ottenendo quantitativamente il cloruro dell'acido. Esso è stato aggiunto immediatamente ad una sospensione di 1,70 g di NaN<sub>3</sub> (2,62 mol, 1,5 eq) in 60 mL di acetone, posti in un bagno di ghiaccio. La reazione è stata agitata per 2 ore a temperatura ambiente, filtrata ed il solvente evaporato per distillazione sotto pressione ottenendo 4,2 g di 3-(6-metossi-naftalen)-2-il-acriloil azide (**70c**).



### 3-(6-Metossi-naftalen)-2-il-acriloil azide (70c)

**C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>**

**PM:** 253,26 g/mol

**P.f.:** 124°C

**Resa:** 100%

*Solido giallo*

### **Analisi spettroscopica**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del N<sub>3</sub> a 2135;

Bande principali : 3430; 1692; 1614; 1166; 1063; 827.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

7,90 (t, J=6,8Hz, 2H); 7,77 (m, 2H); 7,63 (dd, J=2-8,8Hz, 1H); 7,13 (d, J=2,5Hz, 1H); 6,50 (d, J=15,8Hz, 1H); 3,94 (s, 3H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

173,0 (CO); 159,2; 147,0; 136,1; 130,8; 130,3; 129,1; 128,5; 127,6; 124,1; 119,6; 117,9; 106,0; 55,4.

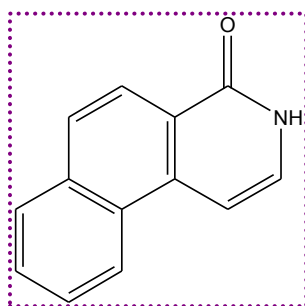
**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 7,48 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 243,19.

## 5.14 Preparazione dei benzoisochinoloni

### RIARRANGIAMENTO DI CURTIUS

#### 5.14.1 Sintesi del 3H-Benzo[f]isochinolin-4-one (71a)

Una miscela di 3-naftalen-1-il-acrilil azide (2 g, 4 mmol) (**70a**) e di iodio (in quantità catalitiche) è posta a riflusso per 2 ore in 40 mL di *o*-diclorobenzene. Dopo raffreddamento a temperatura ambiente, il composto si isola per filtrazione, si lava con *n*-esano e si lascia essiccare all'aria. Si ottengono 1,55 g di 3H-benzo[f]isochinolin-4-one (**71a**).



#### 3H-Benzof[f]isochinolin-4-one (71a)

**C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>NO**

**PM:** 195,22 g/mol

**P.f.:** 236°C

**Resa:** 90%

*Solido nero*

#### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del CO: 1633;

Bande principali : 2923; 1600; 1554; 1235; 1095; 741.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

11,6 (s, 1H, *NH*); 8,64 (d, J=8,8Hz, 1H); 8,17 (d, J=8,8Hz, 1H); 8,01 (d, J=8Hz, 1H); 7,90 (d, J=8Hz, 1H); 7,71 (m, 2H); 7,43 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

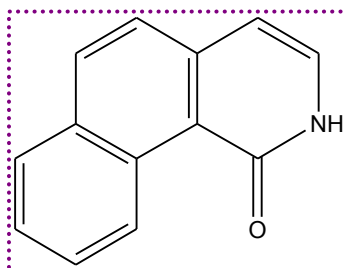
161,7 (*CO*); 143,5 ; 134,3; 130,5; 128,5; 128,4; 128,1; 126,9; 126,4; 124,4; 123,2; 122,8; 100,3.

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 5,60$  min ;  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> : 196,05.

**HREIMS:** [M]<sup>-</sup>  $m/z$  195,0675 (calcolato per C<sub>13</sub>H<sub>9</sub>NO 195,0684).

#### 5.14.2 Sintesi del 2H-Benzo[h]isochinolin-1-one (71b)

Una miscela di 3-Naftalen-2-il-acriloloil azide (1 g, 2 mmol) (**70b**) e di iodio (in quantità catalitiche) è posta a riflusso per 2 ore in 40 mL di *o*-diclorobenzene. Dopo raffreddamento a temperatura ambiente, il composto si isola per colonna cromatografica (eluente:acetato). Si ottengono 700 mg di 2H-benzo[h]isochinolin-4-one (**71b**)



#### 2H-Benzo[h]isochinolin-1-one (71b)

$C_{13}H_9NO$

PM: 195,22 g/mol

Resa: 80%

Olio nero

#### Analisi spettroscopica:

IR (KBr) ( $cm^{-1}$ ):

Banda del CO a 1641;

Bande principali : 3465; 1605; 1544; 1288; 1098; 822.

$^1H$ -NMR ( $\delta$ ppm) (DMSO- $d_6$ ) (400 MHz):

11,2 (s, 1H, NH); 10,1 (d, J=7,8Hz, 1H); 8,04 (d, J=8,8Hz, 1H); 7,73 (m, 2H); 7,53 (m, 2H); 7,33 (m, 2H).

$^{13}C$ -NMR ( $\delta$ ppm) (DMSO-  $d_6$ ) (100 MHz):

164,3 (CO); 140,4; 134,0; 132,2; 131,8; 129,0; 128,3; 128,2; 127,1; 126,3; 124,7; 119,5; 107,4.

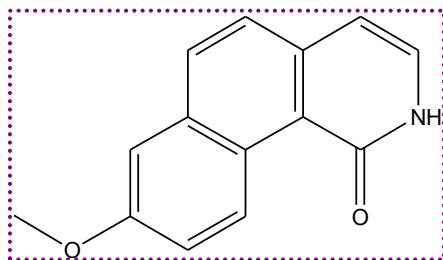
**LC-MS (ESI):**  $t_R = 5,78$  min ;  $m/z$   $[M+H]^+$  : 196,09.

**HREIMS:**  $[M^-]$   $m/z$  195,0686 (calcolato per  $C_{13}H_9NO$  195,0684).



### 5.14.3 Sintesi dell' 8-metossi-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (71c)

Una miscela di 3-(6-metossi-naftalen)-2-il-acrioloil azide (1 g, 4 mmol) (**70c**) e di iodio (in quantità catalitiche) è posta a riflusso per 2 ore in 40 mL di *o*-diclorobenzene. Dopo raffreddamento a temperatura ambiente, il composto si isola per filtrazione, si lavato con *n*-esano e si lascia essiccare all'aria ottenendo 450 mg di 8-metossi-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (**71c**).



### **8-Metossi-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (71c)**

**C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>**

**PM:** 225,24 g/mol

**Resa:** 50%

*Olio nero*

### **Analisi spettroscopica**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del CO: 1637;

Bande principali : 3399; 2975; 1048; 1325; 1072; 862.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (400 MHz):**

11,5 (s, 1H, NH); 10,0 (d, J=8,7Hz, 1H); 8,07 (d, J=8,7Hz, 1H); 7,68 (d, J=9,5Hz, 1H); 7,30 (m, 3H); 6,70 (d, J=7,3Hz, 1H); 3,89 (s, 3H).

**$^{13}\text{C}$ -NMR ( $\delta\text{ppm}$ ) (DMSO- $d_6$ ) (100 MHz):**

162,5 (CO); 157,0; 137,6; 133,5; 132,5; 129,5; 128,4; 128,0; 126,0; 125,6; 118,7; 107,9;  
105,6; 55,2.

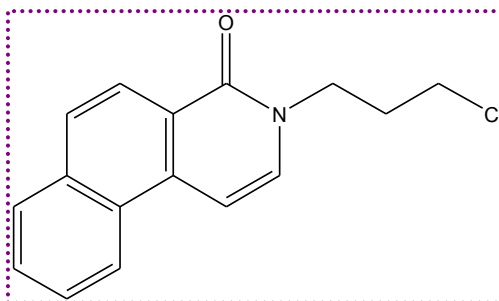
**LC-MS (ESI):**  $t_R = 5,82$  min ;  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  : 226,10.

**HREIMS:**  $[\text{M}^-]$   $m/z$  225,0799 (calcolato per  $\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{NO}$  225,079).

## 5.15 Preparazione dei derivati naftalenindolizidinici.

### 5.15.1 Sintesi del 3-(3-Cloro-propil)-3H-benzo[f]isochinolin-4-one (73a)

Ad una sospensione di NaH (60% dispersione in olio, 48 mg, 2 mmol) in DMF (5mL), raffreddata in un bagno di ghiaccio, viene aggiunta sotto agitazione una soluzione di 3H-benzo[f]isochinolin-4-one (195 mg, 1 mmol, 1 eq) (**71a**) in DMF (15 mL). La miscela è stata addizionata lentamente ad una soluzione di 1-bromo-3-cloropropano (630 mg, 4 mol, 4 eq) in 5 mL di DMF e lasciata agitare a temperatura ambiente per 5 ore. Il solvente è stato evaporato, si è aggiunta acqua e la soluzione acquosa è stata estratta con cloroformio. La fase cloroformica è stata lavata con ghiaccio, anidrificata su solfato di sodio e distillata sotto pressione. Il residuo è stato purificato su colonna cromatografica (Eluente: acetato di etile/ Cicloesano 1:2) ottenendo 200 mg di 3-(3-cloro-propil)-3H-benzo[f]isochinolin-4-one (**73a**).



### 3-(3-Cloro-propil)-3H-benzo[f]isochinolin-4-one (73a)

**C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>ClNO**

**PM:** 271,74 g/mol

**P.f.:** 180°C

**Resa:** 73%

*Solido nero*

### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del *CO*: 1647;

Bande principali : 3455; 2955; 1620; 1421; 1116; 765.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

8,44 (m, 1H); 8,38 (m, 2H); 7,95 (m, 1H); 7,87 (d, J=8Hz, 1H); 7,68 (m, 1H); 7,42 (d, J=8Hz, 1H); 7,31 (d, J=8Hz, 1H), 4,28 (t, J=6,8Hz, 2H); 3,63 (t, J=6,8Hz, 2H); 2,38 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

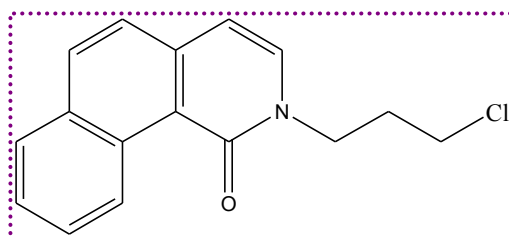
162,3 (*CO*); 135,7; 134,8; 133,1; 132,7; 128,7; 128,3; 127,3; 126,7; 123,7; 123,6; 123,4; 101,5; 47,2; 41,9; 31,1.

**LC-MS (ESI):**  $t_R = 6,96$  min ;  $m/z$  [M+H]<sup>+</sup> : 272,14.

**HREIMS:** [M<sup>-</sup>]  $m/z$  271,0776 (calcolato per C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>NOCl 271,0764).

### 5.15.2 Sintesi del 2-(3-cloro-propil)-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (73b)

Ad una sospensione di NaH (60% dispersione in olio, 273 mg, 2 mmol) in DMF (5 mL) raffreddata in un bagno di ghiaccio, viene aggiunta sotto agitazione una soluzione di 2H-benzoiso[h]chinolin-1-one (1,11 g, 1 mmol, 1 eq) (**71b**) in DMF (15 mL). La miscela è stata addizionata lentamente ad una soluzione di 1-bromo-3-cloropropano (2,25 mL, 2,27 mol, 4 eq) in 5 mL di DMF e lasciata agitare a temperatura ambiente per 5 ore. Il solvente è stato evaporato, si è aggiunta acqua e la soluzione acquosa è stata estratta con cloroformio. La fase cloroformica è stata lavata con ghiaccio, anidrificata su solfato di sodio e distillata sotto pressione. Il residuo è stato purificato su colonna cromatografica (Eluente: acetato di etile/ Cicloesano 1:2) ottenendo 1,42 g di 2-(3-cloro-propil)-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (**73b**)



### 2-(3-Cloro-propil)-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (73b)

$C_{16}H_{14}ClNO$

PM: 271,74 g/mol

Resa: 94%

*Olio marrone*

#### **Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) ( $cm^{-1}$ ):**

Banda del CO: 1649;

Bande principali: 3433; 1610; 1532; 1126; 782.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

10,2 (d, J=8,7Hz, 1H); 8,02 (m, 1H); 7,91 (d, J=8,0Hz, 1H); 7,75 (m, 1H); 7,62 (m, 1H); 7,53 (d, J=8,8Hz, 1H); 7,42 (d, J=6,8Hz, 1H); 6,66 (d, J=7,0Hz, 1H); 4,32 (t, J=5,8Hz, 2H); 3,64 (t, J=5,8Hz, 2H); 2,40 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

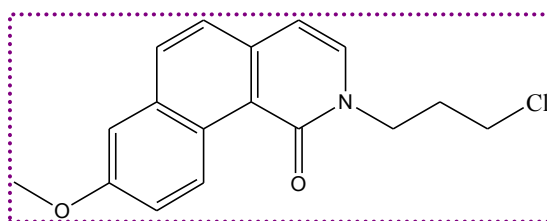
162,4 (CO); 138,9; 133,8; 133,3; 132,4; 131,9; 128,3; 128,2; 127,1; 126,3; 124,4; 123,6; 106,6; 47,8; 42,1; 36,4.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 7,44 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 272,14.

**HREIMS:** [M<sup>-</sup>] m/z 271,0776 (calcolato per C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>NOCl 271,0764).

### 5.15.3 Sintesi del 2-(3-cloro-propil)-8-metossi-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (73c)

Ad una sospensione di NaH (60% dispersione in olio, 106 mg, 4 mmol) in DMF (5 mL) raffreddata in un bagno di ghiaccio, viene aggiunta sotto agitazione una soluzione di 8-metossi-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (500 mg, 1 mmol, 1 eq) (71c) in DMF (15 mL). La miscela è stata addizionata lentamente ad una soluzione di 1-bromo-3-cloropropano (1,38 mL, 8,8 mmol, 4 eq) in 5 mL di DMF e lasciata agitare a temperatura ambiente per 5 ore. Il solvente è stato evaporato, si è aggiunta acqua e la soluzione acquosa è stata estratta con cloroformio. La fase cloroformica è stata lavata con ghiaccio, anidrificata su solfato di sodio e distillata sotto pressione. Il residuo è stato purificato su colonna cromatografica (eluente: acetato di etile/Cicloesano 1:2) ottenendo 120 mg di 2-(3-Cloro-propil)-8-metossi-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (73c).



### 2-(3-Cloro-propil)-8-metossi-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (73c)

$C_{17}H_{16}ClNO_2$

**PM:** 301,77g/mol

**Resa:** 20%

*Olio marrone*

### **Analisi spettroscopica**

**IR (KBr) ( $cm^{-1}$ ):**

Banda del CO: 1648;

Bande principali : 3435; 2923; 1048; 1012; 788.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

10,1 (d, J=9,2Hz, 1H); 7,93 (d, J=10Hz, 1H); 7,50 (d, J=9,5Hz, 1H); 7,34 (m, 2H); 7,24 (d, J=2,5Hz, 1H); 6,62 (d, J=7Hz, 1H); 4,30 (t, J=6,3Hz, 2H); 3,95 (s, 3H); 3,62 (t, J=5,3Hz, 2H); 2,39 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

162,4 (CO); 157,5; 137,2; 134,1; 132,8; 132,3,128,9; 126,7; 125,1; 119,8; 119,1, 107,8; 106,6; 55,2; 47,7; 42,1; 39,8.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 7,45 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 302,16.

**HREIMS:** [M<sup>-</sup>] m/z 301,0877 (calcolato per C<sub>17</sub>H<sub>16</sub>NO<sub>2</sub>Cl 301,087).



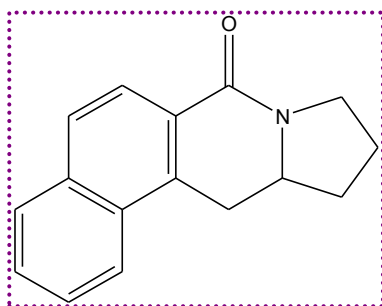
## 5.16 Reazione di CICLIZZAZIONE RADICALICA

### 5.16.1 Sintesi di: 10,11,11a,12-tetraidro-9H-benzo[f]pirrolo[1,2-b]isochinolin-7-one (74a) e 2,3-diidro-1H-4-osso-12a-aza-benzofenantrene ioduro (75a)

Una soluzione di 3-(3-cloro-propil)-3H-benzo[f]isochinolin-4-one (380 mg, 1,3 mmol, 1 eq) (**73a**) e NaI (1,04 g, 7 mmol, 5 eq) in 30 ml di acetonitrile anidro è stata agitata e riscaldata per 12 h in un tubo sigillato a 125°C.

Dopo raffreddamento a temperatura ambiente, la miscela è stata filtrata e concentrata a rotavapor, ottenendo quantitativamente lo iodopropilisochinolone.

In seguito è stata aggiunta lentamente una soluzione di AIBN (2,2'-azobisisobutirronitrile) (560 mg, 3,4 mmol, 2,5 eq) in 10 ml di toluene (facendo uso di una siringa temporizzata) e *n*-Bu<sub>3</sub>SnH (318 mg, 1,09 mmol, 0,8 eq) in 100 ml di toluene, in un intervallo di tempo di 6 ore. La reazione è stata lasciata a riflusso per altre 6 h. In seguito si evapora sotto pressione, si estrae più volte con acetato di etile e si lava con una soluzione acquosa satura di NaF al 20%. Le fasi organiche riunite si anidrificano, si portano a secco e in seguito si purificano su colonna cromatografica (eluente: Acetato di etile/Cicloesano, 1:1). Si isolano e si caratterizzano i seguenti prodotti: 10,11,11a,12-tetraidro-9H-benzo[f]pirrolo[1,2-b]isochinolin-7-one (**74a**) (20 mg) e di 2,3-diidro-1H-4-osso-12a-benzofenantrene ioduro (**75a**) (340 mg).



### 10,11,11a,12-tetraidro-9H-benzo[f]pirrolo[1,2-b]isochinolin-7-one (74a)

**C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>NO**

**PM:** 237,30 g/mol

**Resa:** 20%

**P.f.:** >260°C

*Olio arancione*

### **Analisi spettroscopica:**

#### **IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del CO : 1646 ;

Bande principali: 3427; 2963; 2873; 1823; 1446; 761.

#### **<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

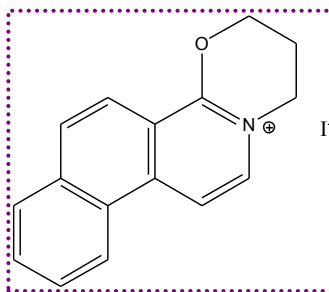
8,18 (d, J=7,8 Hz, 1H); 8,06 (m, 1H); 7,90 (m, 1H); 7,83 (d, J=8,8 Hz, 1H); 7,58 (m, 2H);  
3,97 (m, 2H); 3,78 (m, 2H); 2,97 (t, J=14,6 Hz, 1H); 2,43 (m, 1H); 1,91 (m, 2H); 1,36 (m, 1H).

#### **<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

163,5 (CO); 135,0; 134,9; 132,3; 130,2; 128,7; 127,4; 127,1; 126,4; 124,0; 123,9; 56,3; 44,7;  
33,8; 30,5; 23,0.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 6,31 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 238,13.

**HREIMS:** [M<sup>-</sup>] m/z 237,1151 (calcolato per C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>NO 237,1154).



### **2,3-diidro-1H-4-osso-12a-aza-benzofenantrene ioduro(75a)**

**C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>INO**

**PM:** 363,19 g/mol

**Resa:** 70%

**P.f.:** >260°C

*Solido grigio*

**Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Bande principali : 1639; 1580; 1522; 1402; 1082; 745.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (400 MHz):**

8,99 (d, J=8,7Hz, 1H); 8,75 (d, J=7,8Hz, 1H); 8,37 (d, J=6,8Hz, 1H); 8,28 (d, J=6,8Hz, 1H);  
8,18 (m, 2H); 7,95 (m, 2H); 4,93 (t, J=5,8Hz, 2H); 4,64 (t, J=5,8Hz, 2H); 2,54 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (100 MHz):**

157,9; 137,8; 134,5; 134,7; 131,2; 130,8; 129,1; 128,8; 127; 125,1; 119,7; 117,9; 112,2; 69,2;  
49,9; 30,7.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 4,30 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 238,16.

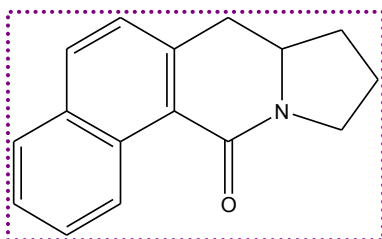
5.16.2 Sintesi dei: 7a,8,9,10-tetraidro-7H-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinolin-12-one (74b); 3,4-diidro-2H-1-oxa-4a-aza-benzofenantrene ioduro (75b); 2-(3-idrossi-propil)-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (77b); 2-Propil-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (78)

Una soluzione di 2-(3-cloro-propil)-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (1 g, 3,69 mmol, 1 eq) (73b) e NaI (2,76 g, 1,84 mol, 5 eq) in 100 ml di acetonitrile anidro è stata agitata e riscaldata per 12 h in un tubo sigillato a 125°C.

Dopo raffreddamento a temperatura ambiente, la miscela è stata filtrata e concentrata a rotavapor, ottenendo quantitativamente il prodotto iodio-propilisoquinolone.

In seguito una soluzione di 2,2'-azobisisobutirronitrile (1,70 mg, 1,03 mol, 2,5 eq) in 20 ml di toluene è stata aggiunta lentamente (facendo uso di una siringa temporizzata) e *n*-Bu<sub>3</sub>SnH (1,31 mL, 4,9 mmol, 1,2 eq) in 120 ml di toluene, in un intervallo di tempo di 6 ore. La reazione è stata lasciata a riflusso per altre 6 ore. In seguito si evapora sotto pressione, si estrae più volte con acetato di etile e si lava con una soluzione acquosa satura di NaF al 20%. Le fasi organiche riunite si anidrificano, si portano a secco e in seguito si purificano su colonna cromatografica (eluente: Acetato di etile/ Cicloesano, 1:1).

Si isolano e si caratterizzano i seguenti prodotti: 7a,8,9,10-tetraidro-7H-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinolin-12-one (74b) (45 mg); 3,4-diidro-2H-1-oxa-4a-aza-benzofenantrene ioduro (75b) (1,12 g); 2-(3-idrossi-propil)-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (77b) (75 mg); 2-propil-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (78) (500 mg).



**7a,8,9,10-tetraidro-7H-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinolin-12-one (74b)**

**C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>NO**

**PM:** 237,30 g/mol

**Resa:** 15%

**P.f.:** 240°C

*Olio arancione*

## Analisi spettroscopica:

### IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):

Banda del CO: 1636 ;

Bande principali : 3428; 2931; 1984; 1665; 1265; 739.

### <sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):

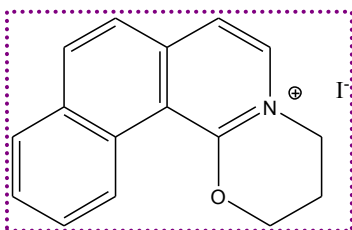
9,41 (d, J=9Hz, 1H); 7,87 (d, J=7,8Hz, 1H); 7,80 (d, J=7,8Hz, 1H); 7,59 (m, 1H); 7,48 (m, 1H); 7,26 (d, J=6,2Hz, 1H); 3,90 (m, 3H); 3,08 (dd, J=4,8-15,6Hz, 1H); 3,00 (m, 1H); 2,36 (m, 1H); 2,15 (m, 1H); 2,04 (s, 1H); 1,95 (m, 1H).

### <sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):

164,0 (CO); 137,9; 136,3; 133,1; 132,0; 131,4; 128,0; 127,5; 126,6; 125,5; 125,2; 55,7; 45,1; 36,5; 33,5; 23,3; 13,6.

LC-MS (ESI): t<sub>R</sub> = 6,50 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 238,22.

HREIMS: [M<sup>-</sup>] m/z 237,1165 (calcolato per C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>NO 237,1154).



### 3,4-diidro-2H-1-osso-4a-aza-benzofenantrene ioduro (75b)

C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>INO

PM: 363,19 g/mol

Resa: 50%

P.f.: 188°C

*Solido giallo*

**Analisi spettroscopica:**

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Bande principali: 3435; 2765; 1645; 1319; 749.

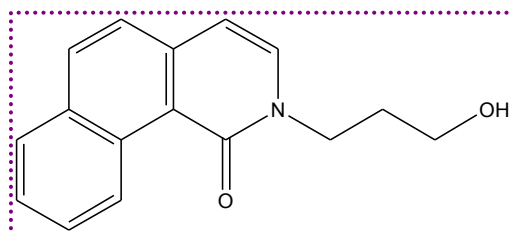
**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (400 MHz):**

9,32 (d, J=8Hz, 1H); 8,54 (d, J=8,3Hz, 1H); 8,36 (d, J=6,8Hz, 1H); 8,27 (d, J=7,8Hz, 1H); 8,07 (d, J=8,8Hz, 1H); 8,00 (d, J=6,8Hz, 1H); 7,95 (m, 2H); 5,10 (t, J=5,3Hz, 2H); 4,71 (t, J=6Hz, 2H); 2,57 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (DMSO-d<sub>6</sub>) (100 MHz):**

159,0; 141,0; 137,6; 135,0; 133,0; 129,9; 129,8; 128,6; 128,4; 128,; 127,2; 124,5; 116,9; 69,6; 54,9; 50,7.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 4,18 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 238,16.



**2-(3-idrossi-propil)-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (77b)**

**C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub>**

**PM:** 253,30 g/mol

**Resa:** 15%

**P.f.:** >260°C

*Olio arancione*

## Analisi spettroscopica

**IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda dell'*OH*: 3400;

Banda del *CO*: 1649;

Bande principali : 2239; 1610; 1096; 834; 750.

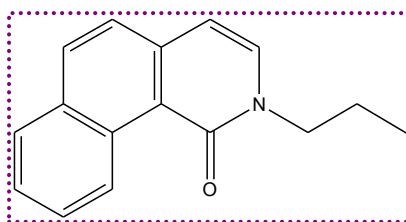
**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

10,2 (d, J=9Hz, 1H); 8,00 (d, J=8,5Hz, 1H); 7,89 (d, J=7,8Hz, 1H); 7,74 (m, 1H); 7,62 (m, 1H); 7,49 (d, J=8,8Hz, 1H); 7,31 (d, J=7,3Hz, 1H); 6,67 (d, J=7Hz, 1H); 4,31(t, J=6,1Hz, 2H); 3,56 (t, J=6,1Hz, 2H); 2,01 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

163,9; 139,3; 134,2; 132,9; 132,7; 132,1; 128,6; 128,2; 127,7; 126,7; 124,7; 119,5; 107,9; 58,1; 45,9; 32,7.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 5,89 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 254,98.



### **2-propil-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (78)**

**C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>NO**

**PM:** 237,30 g/mol

**Resa:** 20%

**P.f.:** 200°C

*Olio arancione*

## **Analisi spettroscopica:**

### **IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Banda del CO: 1650;

Bande principali: 3448; 2240; 1947; 1609; 752.

### **<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

10,2 (d, J=8,5Hz, 1H); 8,00 (d, J=8,5Hz, 1H); 7,90 (d, J=8,5Hz, 1H); 7,74 (m, 1H); 7,61 (m, 1H); 7,51 (d, J=7,5Hz, 1H); 7,34 (d, J=6,3Hz, 1H); 6,63 (d, J=6,4Hz, 1H); 4,10 (t, J=5,8Hz, 2H); 1,91 (m, 2H); 1,03 (t, J=7,3Hz, 3H).

### **<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

160,1; 138,9; 134,9; 133,3; 131,9; 131,3; 128,2; 127,9; 126,3; 126; 124,5; 122,4; 106; 50,7; 27,6; 21,9.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 7,31 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 238,22.



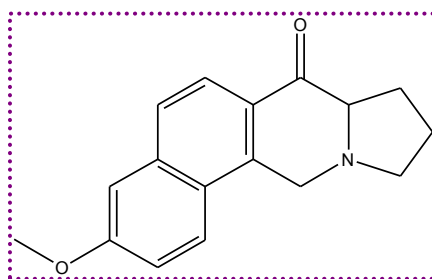
5.16.3 Sintesi dei: 3-metossi-7a,8,9,10-tetraidro-7H-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinolin-12-one (74c); 2-(3-idrossi-propil)-8-metossi-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (77c)

Una soluzione di 2-(3-cloro-propil)-8-metossi-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (400 mg, 1,3 mmol, 1 eq) (73c) e NaI (1 g, 6,64 mmol, 5 eq) in 50 ml di acetonitrile anidro è stata agitata e riscaldata per 12 h in un tubo sigillato a 125°C.

Dopo raffreddamento a temperatura ambiente, la miscela è stata filtrata e concentrata a rotavapor, ottenendo quantitativamente il prodotto iodiopropilisochinolone.

In seguito una soluzione di 2,2'-azobisisobutirronitrile (540 mg, 3,32 mmol, 2,5 eq) in 20 ml di toluene è stata aggiunta lentamente (facendo uso di una siringa temporizzata) ad una soluzione del derivato iodato e *n*-Bu<sub>3</sub>SnH (465 mg, 1,6 mmol, 1,2 eq) in 120 ml di toluene, in un intervallo di tempo di 6 ore. La reazione è stata lasciata a refluxo per altre 6 h. La reazione è stata lasciata a riflusso per altre 6 h. In seguito si evapora sotto pressione, si estrae più volte con acetato di etile e si lava con una soluzione acquosa satura di NaF al 20%. Le fasi organiche riunite si anidrificano, si portano a secco e in seguito si purificano su colonna cromatografica (eluente: Acetato di etile/ Cicloesano, 1:1).

Si isolano e si caratterizzano i seguenti prodotti: 3-metossi-7a,8,9,10-tetraidro-7H-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinolin-12-one (74c) (100 mg) e 2-(3-idrossi-propil)-8-metossi-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (77c) (150 mg).



**3-metossi-7a,8,9,10-tetraidro-7H-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinolin-12-one**  
**(74c)**

**C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub>**

**PM:** 267,32 g/mol

**Resa:** 30%

**P.f.:** 230°C

*Olio arancione*

## Analisi spettroscopica:

### IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):

Banda del CO: 1622 ;

Bande principali: 3434; 2929; 1437; 1238; 1074; 782.

### <sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):

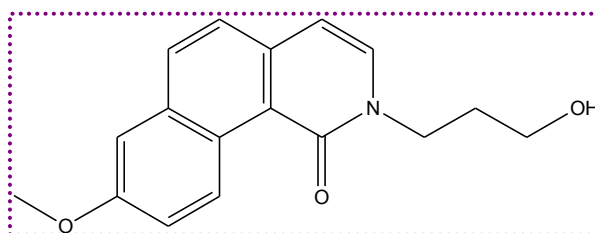
9,35 (d, J=8,7Hz, 1H); 7,76 (d, J=8,2Hz, 1H); 7,24 (m, 2H); 7,09 (d, J=2,7Hz, 1H); 3,90 (m, 3H, OCH<sub>3</sub>); 3,87 (m, 3H) 3,04 (dd, J=3,9-15,4Hz, 1H); 2,95 (m, 1H); 2,34 (m, 1H); 2,14 (m, 1H); 1,94 (m, 1H); 1,80 (m, 1H).

### <sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):

164,0 (CO); 150,7; 142,7; 135,9; 134,3; 131,7; 127,9; 126,5; 125,7; 119,9; 106,2; 56,2; 55,8; 45,8; 37,5; 33,7; 23,8.

LC-MS (ESI): t<sub>R</sub> = 6,54 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup>: 268,48.

HREIMS: [M<sup>-</sup>] m/z 267,1246 (calcolato per C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>2</sub> 267,1259).



### 2-(3-idrossi-propil)-8-metossi-2H-benzo[h]isochinolin-1-one (77c)

C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>

PM: 283,32 g/mol

Resa: 45%

P.f.: 250°C

Olio giallo

## Analisi spettroscopica

### IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ):

Banda dell'*OH*: 3427;

Banda del *CO* : 1645;

Bande principali : 1607; 1430; 1360; 1254; 750.

### $^1\text{H-NMR}$ ( $\delta\text{ppm}$ ) ( $\text{CDCl}_3$ ) (400 MHz):

10,1 (d,  $J=11,3\text{Hz}$ , 1H); 7,94 (d,  $J=7,3\text{Hz}$ , 1H); 7,50 (d,  $J=9\text{Hz}$ , 1H); 7,36 (d,  $J=9\text{ Hz}$ , 1H); 7,24 (m, 2H); 6,71 (d,  $J=7,3\text{Hz}$ , 1H); 4,32 (s, 2H); 3,94 (s, 3H, *OCH*<sub>3</sub>); 3,92 (d,  $J=8,3\text{Hz}$ , 1H); 3,58 (t,  $J=4,6\text{Hz}$ , 2H).

### $^{13}\text{C-NMR}$ ( $\delta\text{ppm}$ ) ( $\text{CDCl}_3$ ) (100 MHz):

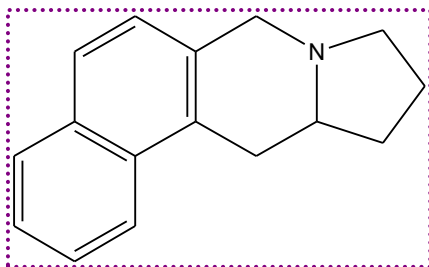
171,2; 163,4; 157,8; 138,2; 135,4; 134,7; 133,2; 129,8; 127,6; 126,5; 119,9; 118,7; 108,7; 57,5; 55,8; 46,7; 32,3.

LC-MS (ESI):  $t_R = 5,89\text{ min}$  ;  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  : 284,20.

## 5.17 Reazione di RIDUZIONE

### 5.17.1 Sintesi di: 7,9,10,11,11a,12-esaidro-benzo[f]pirrolo[1,2-b]isochinolina (76a)

In un pallone a due colli, sotto azoto e raffreddando con un bagno di ghiaccio e acetone, si prepara una sospensione di  $\text{AlCl}_3$  (73 mg, 0,54 mmol, 2 eq) e  $\text{LiAlH}_4$  (83 mg, 2,20 mmol, 8 eq) in 25 mL di THF anidro a  $-20^\circ\text{C}$ . Ad essa aggiungiamo una soluzione di 65 mg di 10,11,11a,12-tetraidro-9H-benzo[f]pirrolo[1,2-b]isochinol-7-one (**74a**) solubilizzato in 20 mL di THF anidro. Si lascia sotto agitazione al buio per un'ora e in seguito a temperatura ambiente per 4 ore. Successivamente l'eccesso di  $\text{LiAlH}_4$  viene distrutto con l'aggiunta di una soluzione di KOH al 20% (a  $0^\circ\text{C}$ ), e la miscela viene filtrata su celite e poi lavata con cloroformio/metanolo 6:3. Si anidrifca su solfato di sodio e si evapora a pressione ridotta. Il grezzo ottenuto si purifica su colonna di allumina (eluente 1:1 Acetato di etile/ cicloesano), ottenendo 30 mg di 7,9,10,11,11a,12-esaidro-benzo[f]pirrolo[1,2-b]isochinolina (**76a**)



### 7,9,10,11,11a,12-esaidro-benzo[f]pirrolo[1,2-b]isochinolina (76a)

$\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}$

PM: 223,31 g/mol

Resa: 50%

P.f.:  $>260^\circ\text{C}$

Olio giallo

## **Analisi spettroscopica:**

### **IR (KBr) (cm<sup>-1</sup>):**

Bande principali : 2923; 1646; 1461; 1262; 780.

### **<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

7,94 (d, J=8,8Hz, 1H); 7,80 (d, J=7,8Hz, 1H); 7,64 (d, J=8,8Hz, 1H); 7,50 (m, 2H); 7,18 (d, J=8,8Hz, 1H); 4,26 (d, J=14,6Hz, 1H); 3,75 (t, J=6,8Hz, 1H), 3,59 (dd, J=2,9-9,7Hz, 1H); 3,48 (dd, J=2,9-15,6Hz, 1H); 3,38 (t, J=8,8Hz, 1H); 2,90 (t, J=10,7Hz, 1H); 2,26 (m, 1H); 1,98 (m, 2H); 1,69 (m, 2H).

### **<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

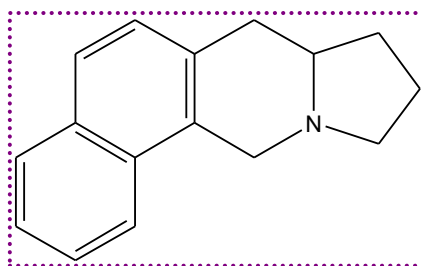
132,2; 132,1; 129,6; 128,6; 128,2; 125,9; 125,8; 125,1; 124,8; 122,7; 60,2; 56,3; 54,5; 32,5; 29,5; 21,3.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 4,22 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 224,7.

**HREIMS:** [M<sup>-</sup>] m/z 223,1352 (calcolato per C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N 223,1361).

5.17.2 Sintesi della 7,7a,8,9,10,12-esaidro-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinolina (76b)

In un pallone a due colli, sotto azoto e raffreddando con un bagno di ghiaccio e acetone, si prepara una sospensione di  $\text{AlCl}_3$  (40 mg, 0,3 mmol, 2 eq) e  $\text{LiAlH}_4$  (45 mg, 1,18 mmol, 8 eq) in 10 mL di THF anidro a  $-20^\circ\text{C}$ . Ad essa aggiungiamo una soluzione di 35 mg di 7a,8,9,10-tetraidro-7H-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinol-12-one (**74b**) solubilizzato in 10 mL di THF anidro. Si lascia sotto agitazione al buio per un'ora e in seguito a temperatura ambiente per 4 ore. Successivamente l'eccesso di  $\text{LiAlH}_4$  viene distrutto con l'aggiunta di una soluzione di KOH al 20% (a  $0^\circ\text{C}$ ), e la miscela viene filtrata su celite e poi lavata con cloroformio/metanolo 6:3. Si anidrifca su solfato di sodio e si evapora a pressione ridotta. Il grezzo ottenuto si purifica su colonna di allumina (eluente: Acetato di etile/ cicloesano 1:1), ottenendo 10 mg di 7,9,10,11,11a,12-esaidro-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinolina (**76b**).



**7,7a,8,9,10,12-esaidro-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinolina (76b)**

**$\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}$**

**PM:** 223,31 g/mol

**Resa:** 31%

**P.f.:**  $>260^\circ\text{C}$

*Olio giallo*

**Analisi spettroscopica**

**IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ):**

Bande principali : 2958; 2931; 2768; 1265; 739.

**<sup>1</sup>H-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (400 MHz):**

7,82 (t, J=7,3Hz, 1H); 7,66 (d, J=9,6Hz, 1H); 7,50 (m, 2H); 7,25 (d, J=7,5Hz, 1H); 4,73 (d, J=14,6Hz, 1H); 3,76 (t, J=8 Hz, 2H), 3,68 (d, J=13,3Hz, 1H); 3,45 (m, 1H); 3,03 (dd, J=2,9-16,3Hz, 1H); 2,85 (t, J=11,2Hz, 1H); 2,42 (m, 1H); 2,21 (m, 2H); 1,94 (m, 2H).

**<sup>13</sup>C-NMR (δppm) (CDCl<sub>3</sub>) (100 MHz):**

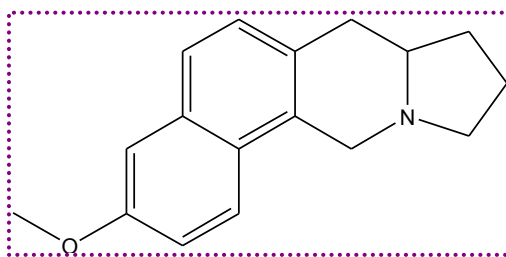
131,3; 131,1; 129,7; 128,7; 127,4; 126,4; 125,2; 125,0; 123,9; 121,1; 50,9; 50,4; 50,2; 30,6; 30,0; 20,1.

**LC-MS (ESI):** t<sub>R</sub> = 4,32 min ; m/z [M+H]<sup>+</sup> : 224,2.

**HREIMS:** [M<sup>-</sup>] m/z 223,1363 (calcolato per C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>N 223,1361).

5.17.3 Sintesi della: 3-metossi-7,7a,8,9,10,12-esaidro-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinolina (76c)

In un pallone a due colli, sotto azoto e raffreddando con un bagno di ghiaccio e acetone, si prepara una sospensione di  $\text{AlCl}_3$  (40 mg, 0,3 mmol, 2 eq) e  $\text{LiAlH}_4$  (45 mg, 1,18 mmol, 8 eq) in 10 mL di THF anidro a  $-20^\circ\text{C}$ . Ad essa aggiungiamo una soluzione di 40 mg di 3-metossi-7a,8,9,10-tetraidro-7H-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinolin-12-one (**74c**) solubilizzato in 10 mL di THF anidro. Si lascia sotto agitazione al buio per un'ora ed in seguito a temperatura ambiente per 4 ore. Successivamente l'eccesso di  $\text{LiAlH}_4$  viene distrutto con l'aggiunta di una soluzione di KOH al 20% (a  $0^\circ\text{C}$ ), e la miscela viene filtrata su celite e poi lavata con cloroformio/metanolo 6:3. Si anidrifca su solfato di sodio e si evapora a pressione ridotta. Il grezzo ottenuto si purifica su colonna di allumina (eluente: 1:1 Acetato di etile/cicloesano), ottenendo 10 mg di 3-metossi-7,7a,8,9,10,12-esaidro-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinolina (**76c**).



**3-metossi-7,7a,8,9,10,12-esaidro-benzo[h]pirrolo[1,2-b]isochinolina (76c)**

$\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}$

**PM:** 253,34 g/mol

**Resa:** 50%

**P.f.:**  $>260^\circ\text{C}$

*Olio giallo*



## Analisi spettroscopica

### IR (KBr) ( $\text{cm}^{-1}$ ):

Bande principali: 3436; 2300; 1627; 1604; 1242; 725.

### $^1\text{H-NMR}$ ( $\delta\text{ppm}$ ) ( $\text{CDCl}_3$ ) (400 MHz):

7,74 (t,  $J=9,3\text{Hz}$ , 1H); 7,56 (d,  $J=8\text{Hz}$ , 1H); 7,18 (m, 3H); 4,69 (d,  $J=15,1\text{Hz}$ , 1H); 3,90 (s, 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3,88 (d,  $J=2,6\text{Hz}$ , 1H); 3,65 (m, 1H); 3,43 (m, 1H); 3,06 (dd,  $J=2-14,1\text{Hz}$ , 1H); 2,88 (m, 1H); 2,46 (m, 2H); 2,17 (m, 1H); 2,08 (m, 1H); 1,67 (m, 1H).

### $^{13}\text{C-NMR}$ ( $\delta\text{ppm}$ ) ( $\text{CDCl}_3$ ) (100 MHz):

160,1; 133,5; 132,4; 129,0; 128,2; 125,4; 123,7; 123,6; 118,3; 106,6; 55,2; 54,9; 53,1; 36,5; 36,4; 30,8; 30,7.

LC-MS (ESI):  $t_R = 4,40$  min ;  $m/z$   $[\text{M}+\text{H}]^+$  : 254,01.

HREIMS:  $[\text{M}^-]$   $m/z$  253,1477 (calcolato per  $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{NO}$  253,1467).



## 6 CAPITOLO IV

### *RISULTATI BIOLOGICI*

*“La vera cosa importante  
nella scienza non è tanto  
scoprire nuovi fatti, ma  
piuttosto nuovi modi di  
pensarli”*

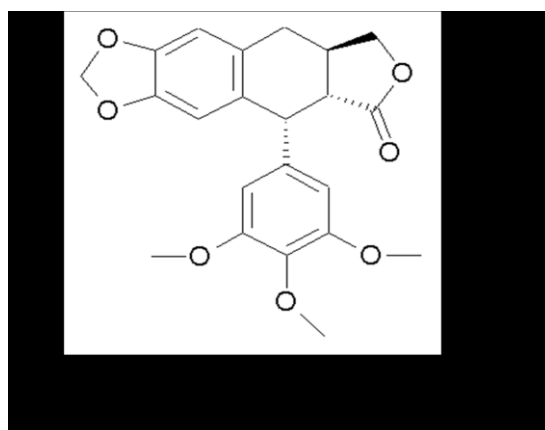
**William Henry Bragg**  
(1862-1942)



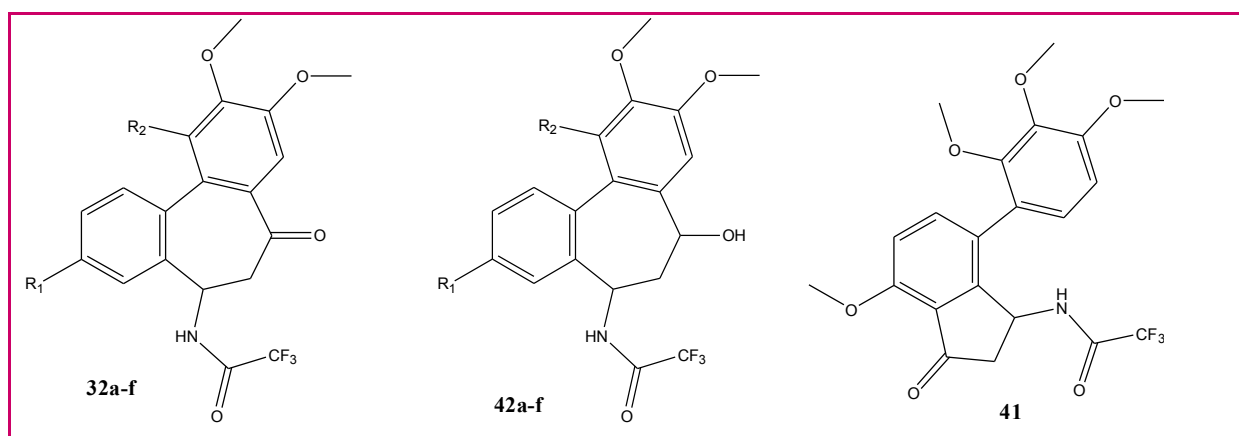
I composti e alcuni intermedi preparati sono stati testati per valutarne un'attività citotossica su cellule KB di carcinoma epidermoide, *in vitro*. Il lavoro è stato condotto grazie ad una collaborazione con il gruppo di lavoro diretto dal dottor Cresteil presso l'Istituto di Chimica delle Sostanze Naturali a Gif sur Yvette (Francia). I risultati sono espressi in termini di percentuale di inibizione della crescita di cellule KB, alla concentrazione di  $10^{-5}$ M e  $10^{-6}$ M, e di IC<sub>50</sub>.

## 6.1 RISULTATI BIOLOGICI *in vitro* PER GLI ALLOCOLCHICINOIDI

Degli allocolchicini sintetizzati si è misurata la citotossicità nei confronti delle cellule KB a  $10^{-5}$ M e  $10^{-6}$ M (in triplicato), con docetaxel a  $2,5 \cdot 10^{-10}$ M come riferimento. L'inibizione della polimerizzazione della tubulina è stata anche valutata a  $6,7 \cdot 10^{-5}$ M (in triplicato) utilizzando desossipodofillotossina (DPPT) come riferimento.



I risultati sono espressi in termini di percentuale di inibizione e IC<sub>50</sub>, e solamente i composti che hanno mostrato una percentuale di inibizione superiore al 45% sono stati testati in seguito come inibitori della tubulina (*Tabella 3*).

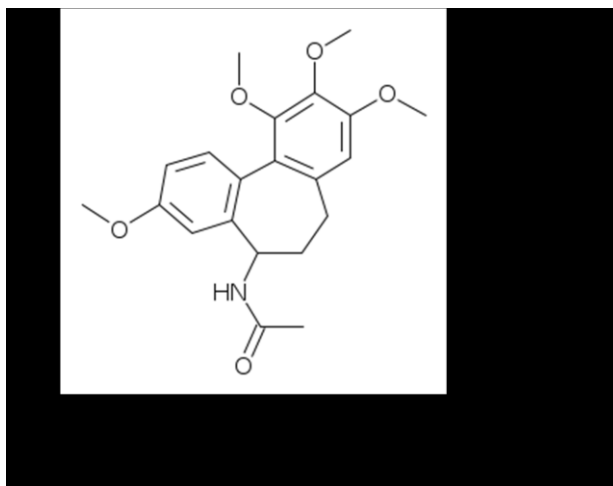


*Strutture dei composti testati*

R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	Composto	KB cells inhibition			Tubulin inhibition	
			Inh % a 10 <sup>-5</sup> M	Inh % a 10 <sup>-6</sup> M	IC <sub>50</sub> ± SD (μM)	Inh % a 6.710 <sup>-5</sup> M	IC <sub>50</sub> ±SD(μM)
H	H	<b>32a</b>	92	0	-	12	-
		<b>42a</b>	9	0	-	23	-
H	OMe	<b>32b</b>	91	18	2.950 ± 0.650	48	80 ± 7
		<b>42b</b>	8	0	-	89	13 ± 4
OMe	H	<b>32c</b>	38	0	-	63	60 ± 5
		<b>42c</b>	9	0	-	2	-
OMe	OMe	<b>32d</b>	96	98	0.045 ± 0.005	89	12 ± 3
		<b>42d</b>	94	0	1.595 ± 0.410	18	-
OH	H	<b>32e</b>	40	0	-	24	-
		<b>42e</b>	2	0	-	13	-
OH	OMe	<b>32f</b>	96	37	0.330 ± 0.120	62	37 ± 2
		<b>42f</b>	60	0	-	29	-
-	-	<b>41</b>	97	0	1.250 ± 0.340	33	-
-	-	<b>Dppt</b>	100	100	0.003 ± 0.001	100	3.2 ± 0.2
-	-	<b>NCME</b>	-	-	0.019 ± 0.001		0.7 ± 0.1

Tabella 3. Dati relativi alla citotossicità dei composti preparati. La desossipodofillotossina (Dppt) e l'*N*-acetil colchinolo metil-etere (NCME) sono stati impiegati come riferimento.

I risultati mostrano che tra i tredici composti testati, tre di essi esercitano un'attività citotossica verso le cellule KB (**32b**, **42d** e **41**) con  $IC_{50}$  micromolare e due di essi (**32d** e **32f**) con valori sub-micromolari. Il composto più potente è stato il derivato tetrametossile (**32d**) con un  $IC_{50}$  di 45 nM, stesso ordine di grandezza del noto analogo della colchicina: NCME ( $IC_{50}=19$  nM)<sup>1</sup>. Questo risultato appare particolarmente interessante ed importante. È da sottolineare che (**32d**) è stato testato come miscela racemica, mentre NCME (*N*-acetilcolchinolo metil-etero) è un composto otticamente attivo.



L'inibizione della polimerizzazione della tubulina sembra parzialmente correlata alla citotossicità esercitata verso le cellule KB e il composto (**32d**), il derivato più citotossico ha mostrato un  $IC_{50}$  nei confronti della tubulina di 12  $\mu$ M. Questo effetto inibitorio rimane comunque inferiore rispetto a NCME ( $IC_{50}=0,7$   $\mu$ M).

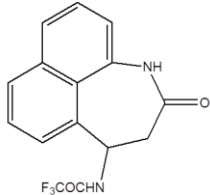
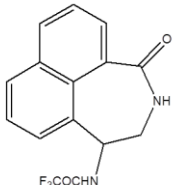
Per quanto riguarda le relazioni struttura-attività, i composti dibenzocicloeptanoni (**32a-f**) appaiono avere una maggiore citotossicità rispetto ai corrispondenti 7-idrossi (**42a-f**). Inoltre, i composti (**32a-f**) inibiscono più fortemente la tubulina piuttosto ai loro analoghi idrogenati (**42a-f**), ad eccezione dell'alcol (**42b**).

D'altra parte, l'assenza di un gruppo metossilico in posizione  $R_2$  appare dannoso sia per la citotossicità che per l'inibizione della tubulina, vedi (**32a**), (**42a**), (**42c**), (**32e**) e (**42e**); solo (**32c**) inibisce debolmente la tubulina con  $IC_{50}=60$   $\mu$ M. Questo risultato è coerente con la relazione struttura-attività stabilita per la colchicina e i suoi analoghi: la rimozione o la demetilazione dei gruppi metossilici in posizione  $R_2$  diminuisce la potenza (esso è indispensabile per la stabilizzazione del complesso tubulina-colchicina)<sup>2</sup>.

Infine, per i composti che già portano in R<sub>2</sub> un gruppo metossilico, un ulteriore gruppo OMe in posizione R<sub>1</sub> sembra favorevole a migliorare l'attività, vedi composto (32d) rispetto (32b). La sostituzione invece in R<sub>1</sub> con un gruppo idrossilico, risulta diminuirne l'attività (composto 32f).

È interessante notare che anche il derivato indanonico (la *N*-[4-metossi-3-osso-7-(2,3,4-trimetossifenil)-2,3-diidro-1H-indan-1-one]-2,2,2-trifluoro-acetamide (41), forse proprio grazie alla presenza di quattro gruppi metossilici, ha mostrato un moderato effetto citotossico nei confronti delle cellule KB.

Si è misurata la citotossicità anche dei derivati (59) e (60), strutturalmente somiglianti alla colchicina stessa. I risultati però non sono stati positivi, probabilmente l'assenza dei sostituenti ha avuto un effetto rilevante.

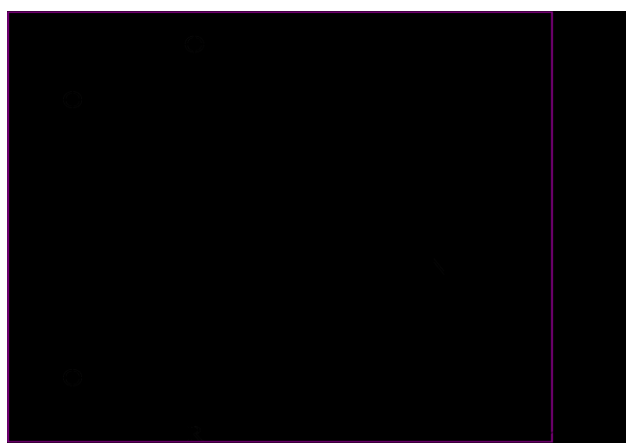
Composto: 59			Composto: 60		
Inh % a 10 <sup>-5</sup> M	0		Inh % a 10 <sup>-5</sup> M	3	
Inh % a 10 <sup>-6</sup> M	0		Inh % a 10 <sup>-5</sup> M	0	
IC <sub>50</sub> (μM)	/		IC <sub>50</sub> (μM)	/	



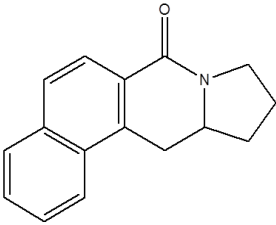
## 6.2 RISULTATI BIOLOGICI *in vitro* PER GLI ANALOGHI DELL'ANTOFINA E TILOFORINA

Lo studio degli analoghi dell'antofina e della tiloforina rappresenta la seconda parte della ricerca. Le molecole preparate nel lavoro, rispetto agli analoghi naturali, portano un anello fenantrenico al posto del naftalenico.

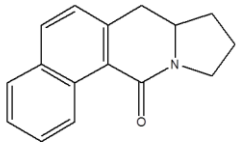
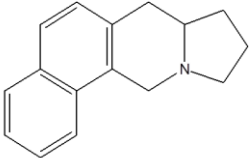
Si tratta di molecole ad attività antitumorale, ma che presentano differenti meccanismi d'azione rispetto alla colchicina. Esse sono state preparate impiegando metodiche semplici, versatili e con materiali di partenza poco costosi. Anche di esse è stata valutata *in vitro* la citotossicità nei confronti delle cellule KB a concentrazione  $10^{-5}M$  e  $10^{-6}M$ .



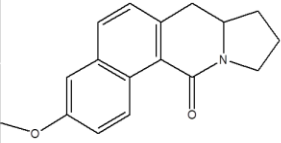
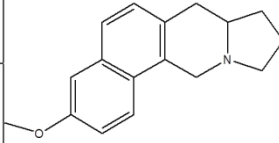
Di seguito si riportano i risultati ottenuti:

Composto: <b>74a</b>		
Inh % a $10^{-5}M$	100	
Inh % a $10^{-6}M$	45	
IC <sub>50</sub> ( $\mu M$ )	/	

- ❖ Per la serie 1-naftaldeide, la molecola (**74a**) è citotossica a  $10^{-5}M$  sulle cellule KB ma perde circa metà della sua attività citotossica a  $10^{-6}M$ .

Composto: <b>74b</b>			Composto: <b>76b</b>		
Inh % a 10 <sup>-5</sup> M	100		Inh % a 10 <sup>-5</sup> M	100	
Inh % a 10 <sup>-5</sup> M	100		Inh % a 10 <sup>-5</sup> M	28	
IC <sub>50</sub> (μM)	620.0		IC <sub>50</sub> (μM)	2590.0	

- ❖ Per la serie della 2-naftaldeide, il composto (**74b**) è più attivo rispetto al (**76b**) dimostrando l'importanza del carbonile del ciclo naftalenico.

Composto: <b>74c</b>			Composto: <b>76c</b>		
Inh % a 10 <sup>-5</sup> M	100		Inh % a 10 <sup>-5</sup> M	71	
Inh % a 10 <sup>-5</sup> M	12		Inh % a 10 <sup>-5</sup> M	1	
IC <sub>50</sub> (μM)	2850.0		IC <sub>50</sub> (μM)	/	

- ❖ Per la serie della 6-metossi-2-naftaldeide, viene confermata l'importanza del carbonile presente sul ciclo naftalenico.

Confrontando, poi l'IC<sub>50</sub> di (**74b**) e di (**74c**) non risulta particolarmente importante la presenza del metossile come sostituente del ciclo.

### 6.3 Conclusione e prospettive

In sintesi sono stati preparati numerosi analoghi della colchicina: nello specifico sei di-benzocicloeptanoni (**32a-f**) e sei di-benzocicloeptanoli (**42a-f**) alcuni dei quali (in particolare i composti **32d** e **32f**) mostrano ottima citotossicità nei confronti delle cellule KB, correlata ad un effetto inibitorio parziale sulla polimerizzazione della tubulina.

Il composto (**42b**) non è citotossico ma anch'esso presenta un effetto anti-tubulinico.

Se questa mancanza di attività è dovuta all'incapacità di (**42b**) di raggiungere i siti intracellulari, ciò potrebbe suscitare nuovi interessi mirati allo sviluppo di nuovi agenti in grado di inibire più specificamente questo target.

La metodica di sintesi messa a punto ci ha consentito quindi di ottenere nuove library di analoghi di allocolchicinoidi, ma anche parallelamente si sono preparati analoghi dell'antofina e della tiloforina.

Successivi studi di modellizzazione molecolare e di relazione struttura-attività saranno mirati a precisare la natura e la posizione dei vari sostituenti sui sistemi eterociclici al fine di comprendere quale sia la migliore interazione possibile, migliorando conseguentemente l'attività citotossica dei derivati preparati rispetto agli analoghi di origine naturale.

## 6.4 Attività biologica: protocolli sperimentali

### 6.4.1 CELL CULTURE AND PROLIFERATION ASSAY

The human epidermoid carcinoma KB cell lines were obtained from ECACC (Salisbury, UK) and grown in D-MEM medium supplemented with 10% fetal calf serum (Invitrogen), in the presence of penicilline, streptomycine and fungizone in 75cm<sup>3</sup> flask under 5% CO<sub>2</sub>. Cells were plated in 96-well tissue culture microplates at a density of 650 cells/well in 200µl medium and treated 24h later with compounds dissolved in DMSO with compound concentrations ranged 0.5nM to 10µM using a Biomek 3000 automate (Beckman). Controls received the same volume of DMSO (1% final volume). After 72h exposure MTS reagent (Promega) was added and incubated for 3h at 37°C: the absorbance was monitored at 490nm and results expressed as the inhibition of cell proliferation calculated as the ratio [(OD490 treated/OD490 control)×100]. For IC<sub>50</sub> determinations (50% inhibition of cell proliferation) experiments were performed in separate duplicate.

### 6.4.2 TUBULIN POLYMERIZATION INHIBITION

Sheep brain microtubule proteins were purified by two cycles of assembly /disassembly at 37°C/0°C in MES buffer: 100 mM MES (2-[N-morpholino]ethane sulfonic acid, pH 6.6), 1 mM EGTA (ethyleneglycolbis[β-aminoethyl ether]-N,N,N',N'-tetracetic acid), 0.5 mM MgCl<sub>2</sub>. All samples were dissolved in DMSO. Basically, inhibition of tubulin polymerization was conducted as initially described in the evaluated compound<sup>3</sup> (1µL) was added to microtubule solution (150 µL) and incubated for 10 min at 37°C followed by 5 min at 0 °C. The tubulin polymerization rate was measured by turbidimetry at 350 nm using deoxypodophyllotoxin (Dppt) as reference compound. Compounds were first tested at 6.7 10<sup>-5</sup>M and results were given as the percentage of inhibition for the less active compounds. Compounds showing higher activities were then tested at concentrations ranged 33 to 2µM to determine their IC<sub>50</sub>.

### 6.4.3 CRISTALLOGRAPHIC STUDY

I cristalli di (42a) ottenuti per l'analisi a raggi X sono stati ottenuti da una soluzione di etere etilico, per lenta evaporazione. Gli esperimenti di diffrazione a raggi X per i monocristalli di (42a) sono stati realizzati con grafite monocromatizzata, Mo Kα radiazione, su un Bruker-

Nonius Kappa CCD area detector diffrattometro at 296 K. Il trattamento dei dati è stato effettuato con un programma APEX II<sup>4</sup>.

Di seguito sono riportati i relativi dati cristallografici.

The crystal structure was solved by direct methods using SHELXTL package<sup>5</sup> and refined using SHELX97 All non-hydrogen atoms were refined anisotropically<sup>6</sup>.

Positions of all H-atoms, which were placed geometrically, were fixed during refinement.

Crystallographic data of **42a**: Crystal size: 0.35×0.21×0.18mm. Formula C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>F<sub>3</sub>NO<sub>4</sub>, formula weight 381.34, crystal system monoclinic, space group P 21/n, a=9.013(3) Å, b=11.993(4) Å, c=17.706 (7)Å, α= 90°, β=102.325 (14), γ= 90°, V = 1869.7 (11) Å<sup>3</sup>, Z=4, calculated density =1.355g/cm<sup>3</sup>, μ=0.114 mm<sup>-1</sup>, Rint=0.0631, R[F<sub>2</sub>>2σ(F<sub>2</sub>)] = 0.0631, wR(F<sub>2</sub>) = 0.1385.

## BIBLIOGRAFIA

<sup>(1)</sup> Nakagawa-Goton K., Jung M.K., Hamel E., Wu C.-C., Bastow K.F., Brossi A., Ohta S., Lee K.-H.; “Antitumor agents 238. Anti-tubulin and in vitro cytotoxic effects of N-substituted allocolchicinoids”; *Heterocycles*, **2005**, *65*, 541-550.

<sup>(2)</sup> Andreu J., Ramirez B.P, Gorbunoff M., Ayala D., and Timasheff S.N.; “Role of the Colchicine Ring A and Its Methoxy Groups in the Binding to Tubulin and Microtubule Inhibition”; *Biochemistry*, **1998**, *37* (23), 8356–8368.

<sup>(3)</sup> Zavala F., Guenard D., Robin J.P., Brown E.; “Structure-antitubulin activity relationships in steganacin congeners and analogs. Inhibition of tubulin polymerization in vitro by (+-)-isodeoxypodophyllotoxin”; *J. Med.Chem.*, **1980**, *23*(5), 546-549.

<sup>(4)</sup> Bruker. APEX2 (Version 2.1). Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA, **2006**.

<sup>(5)</sup> SHELXTL, Version 5.1. Bruker AXS Inc., Madison, Wisconsin, USA, **1997**.

<sup>(6)</sup> Sheldrick, G. M., SHELX97. Program for the Refinement of Crystal Structures. University of Gottingen, Germany, **1997**.



